

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

PAOLA MARIA LOPES DA SILVA

**PRODUÇÃO DE PÃES DE FORMA COM ENZIMAS AMIOLÍTICAS: α -AMILASE
FÚNGICA E α -AMILASE MALTOGÊNICA**

CURITIBA
2016

PAOLA MARIA LOPES DA SILVA

**PRODUÇÃO DE PÃES DE FORMA COM ENZIMAS AMIOLÍTICAS: α -AMILASE
FÚNGICA E α -AMILASE MALTOGÊNICA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Alimentos ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Setor de Tecnologia da Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a Dr^a Agnes de Paula Scheer

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Michele Rigon Spier

CURITIBA

2016

Silva, Paola Maria Lopes da
Produção de pães de forma com enzimas amilolíticas: α -Amilase
Fúngica e α -Amilase Maltogênica / Paola Maria Lopes da
Silva. – Curitiba, 2016.
114 f. : il.; tabs.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor
de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de
Alimentos.

Orientadora: Agnes de Paula Scheer
Coorientadora: Michele Rigon Spier
Bibliografia: p. 97-107

1. Pão. 2. Enzimas de fungos. I. Scheer, Agnes de Paula.
II. Spier, Michele Rigon. III. Título.

CDD 660.28449

PAOLA MARIA LOPES DA SILVA

**PRODUÇÃO DE PÃES DE FORMA COM ENZIMAS
AMIOLÍTICAS: α -AMILASE FÚNGICA E α -AMILASE
MALTOGÊNICA**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Orientadora: 
Prof.^a. Dr.^a. AGNES DE PAULA SCHEER
Setor de Tecnologia, UFPR


Prof. Dr. IVO MOTTIN DEMIATE
Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia, UEPG


Prof.^a. Dr.^a. NINA WASZCZYŃSKYJ
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 13 de setembro de 2016.

AGRADECIMENTOS

À Deus por me fazer persistir.

Ao meu esposo Christian, que me deu força, apoio, carinho e ajuda.

Aos meus pais João Manoel e Tânia que sempre torceram pelo meu sucesso.

Às minhas irmãs, sobrinhas e sobrinho, cunhadas e cunhados, sogros e avós, por fazerem minha vida mais feliz.

Às minhas orientadoras prof^a Agnes de Paula Scheer e Michele Rigon Spier, que me deram atenção, ajuda e conhecimentos necessários durante o desenvolvimento do projeto.

À empresa Granotec do Brasil, que acreditou no meu potencial, apoiando e colaborando com meu projeto, bem como o pessoal do laboratório reológico e padaria experimental, grandes colegas de trabalho que contribuíram com conhecimentos, discussões e amizade.

Aos meus colegas do Programa de Pós-Graduação que contribuíram com o desenvolvimento do projeto.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos pela oportunidade.

RESUMO

Amilases são utilizadas como agentes de anti-endurecimento de produtos panificáveis, proporcionando maior maciez durante a vida útil, o que é especialmente interessante para pães industrializados, tais como o pão de forma. Vários tipos de equipamentos têm sido utilizados para prever o comportamento da massa durante a panificação. A complexidade dos requisitos significa que nenhum dispositivo é capaz de prever todas as propriedades e, portanto, novos testes são lançados continuamente. O equipamento Mixolab® Chopin realiza a mistura da massa em diferentes temperaturas, permitindo o estudo das propriedades da massa, tais como enfraquecimento, gelatinização, estabilidade do gel e retrogradação em um único teste. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito das enzimas comerciais α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica na qualidade dos pães de forma durante o armazenamento (1º, 4º, 7º, 10º e 14º dias após a produção) e usando testes reológicos prévios com a inovadora ferramenta Mixolab®. O delineamento composto central rotacional (DCCR) 2², foi utilizado para avaliar a influência das enzimas comerciais α -amilase fúngica (0 a 40 ppm) e α -amilase maltogênica (0 a 120 ppm) nos pães e parâmetros reológicos, aplicando a metodologia de superfície de resposta. Superfícies de resposta e modelos matemáticos foram obtidos analisando as respostas: parâmetro C5 (Nm) do Mixolab, que corresponde a retrogradação, volume específico (cm³/g) e firmeza (N) dos pães. Os resultados mostraram efeito positivo na adição das enzimas α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica ($p < 0,05$) na redução do parâmetro C5 (Nm), aumento no volume específico (cm³/g) e diminuição da firmeza no 14º dia após a produção, utilizando o *blend* 40 ppm da α -amilase fúngica + 60 ppm da α -amilase maltogênica.

Palavras-chave: Pão de forma, amilases fúngica e maltogênica comerciais, firmeza de pães, reologia Mixolab®, produção de pães.

ABSTRACT

Amylases are used as anti-staling agents in bakery products, providing increased softness during the shelf life, which is especially interesting for industrialized breads, such as pan bread. Several types of equipment have been used to predict dough behavior during breadmaking. The complexity of requirements means that no device is able to predict all the properties, and therefore, new tests are launched continuously. The equipment Chopin Mixolab® mixes the dough at different temperatures, allowing the study of dough mixing properties such as weakening, gelatinization, gel stability and retrogradation in one test. The objective of this study was to evaluate the effect of the commercial enzymes fungal amylase and maltogenic amylase on the quality of pan bread during storage (1st, 4th, 7th, 10th and 14th days after the production), and using the previous rheological analysis with the innovative tool Mixolab®. A 2² central composite rotational design (CCRD) was used to evaluate the influence of the commercial fungal (0 to 40 ppm) and maltogenic (0 to 120 ppm) enzymes on bread and rheological parameters, applying the response surface methodology. Surface responses and mathematical models were obtained analyzing the responses: the parameter C5 (Nm), that correspond to retrogradation, from Mixolab®, specific volume (cm³/g), and bread firmness (N). The results showed the positive effect of the addition of fungal α -amylase and maltogenic α -amylase ($p < 0.05$) on reduction of C5 (Nm) parameter, increase of bread volume (cm³/g) on 14th day after the production, using the blend 40 ppm of fungal α -amylase + 60 ppm maltogenic α -amylase.

Key-words: Pan bread, commercial fungal and maltogenic amylases, bread firmness, Mixolab® rheology, bread making

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	ILUSTRAÇÃO DO GRÃO DE TRIGO ATRAVÉS DE UM CORTE LONGITUDINAL NA CREASE. ESTRUTURAS MORFOLÓGICAS ESTÃO INDICADAS.....	16
FIGURA 2	(A) ESTRUTURA PARCIAL DA AMIOSE E (B) ESTRUTURA PARCIAL DA AMILOPECTINA FORMANDO LIGAÇÕES α -1,6 NAS RAMIFICAÇÕES.....	22
FIGURA 3	SÍTIOS DE ATAQUE E PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO DE ENZIMAS AMIOLÍTICAS.....	33
FIGURA 4	REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA ANÁLISE DE FARINOGRAFIA MEDIDO EM FU – FARINOGRAPH UNITS VERSUS TEMPO.....	39
FIGURA 5	EXEMPLO DE ALVEOGRAMA DE FARINHA DE TRIGO COM INDICAÇÃO DOS PARÂMETROS.....	39
FIGURA 6	GRÁFICO MIXOLAB® - PARÂMETROS LIGADOS AO TORQUE.....	41
FIGURA 7	A) SÓLIDO EM TRÊS DIMENSÕES ILUSTRANDO A DISTRIBUIÇÃO DOS ATRIBUTOS DA COR. B) REPRESENTAÇÃO DE UM SÓLIDO DE COR NO ESPAÇO DE COR $L^*a^*b^*$	44
FIGURA 8	ESPAÇO COLORÍMETRICO L^*C^*h PARA AS COORDENADAS ANGULARES.....	45
FIGURA 9	FLUXOGRAMA MÉTODO DIRETO DE MISTURA PARA A PRODUÇÃO DOS PÃES DE FORMA.....	57
FIGURA 10	POSIÇÃO DO PÃO NO EQUIPAMENTO BVM (ESQUERDA) E ILUSTRAÇÃO DO MOVIMENTO DO LASER PARA LEITURA (DIREITA).....	59
FIGURA 11	RESULTADO DA ANÁLISE DE TEXTURA DE PÃES NO MÉTODO PADRÃO AACC 74-09.01. O PICO INDICA A FORÇA REQUERIDA PARA COMPRIMIR A AMOSTRA.....	60
FIGURA 12	SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA O DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO C5 (Nm) DA ANÁLISE MIXOLAB®.....	74
FIGURA 13	SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA O DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO VOLUME ESPECÍFICO (cm^3/g) DOS PÃES DE FORMA.....	88

FIGURA 14	SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA O DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO FIRMEZA (N) DOS PÃES DE FORMA APÓS 14 DIAS DE FABRICAÇÃO.....	93
FIGURA 15	(A) CURVA PADRÃO OBTIDA A PARTIR DE SOLUÇÃO DE GLICOSE COM CONCENTRAÇÃO INFERIOR À 1,0 g.L-1. (B) CURVA PADRÃO OBTIDA A PARTIR DE SOLUÇÃO DE MALTOSE COM CONCENTRAÇÃO INFERIOR À 1,0 g.L-1.....	111
FIGURA 16	IMAGENS DAS FATIAS DE PÃES DE FORMA QUE FORAM SUBMETIDAS AO SCANNER. A) FÓRMULAS α -AMILASE FÚNGICA / α -AMILASE MALTOGÊNICA: F1 (5,858 / 17,573); F2 (5,858 / 102,427); F3 (34,142 / 17,573); F4 (34,142 / 102,427); F5 (0 / 60); F6 (40 / 60). B) F7 (20 / 0); F8 (20 / 120); F0 (20 / 60).....	113

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FARINHA DE TRIGO COM EXTRAÇÃO DE 70%.....	18
TABELA 2	ENZIMAS APLICADAS AO PROCESSO DE PANIFICAÇÃO, DOSAGENS E AÇÃO.....	25
TABELA 3	DEFINIÇÃO DOS PARÂMETROS DA ANÁLISE DE ALVEOGRAFIA.....	40
TABELA 4	PARÂMETROS MIXOLAB®, ABREVIÇÕES E DESCRIÇÕES.....	42
TABELA 5	DESCRIÇÃO DO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DCCR E DIFERENTES DOSAGENS DAS VARIÁVEIS α -AMILASE FÚNGICA E α -AMILASE MALTOGÊNICA PARA PÃO DE FORMA.....	61
TABELA 6	FORMULAÇÕES DOS PÃES DE FORMA.....	62
TABELA 7	RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS DA FARINHA DE TRIGO....	64
TABELA 8	RESULTADOS DE COLORÍMETRIA EXPERIMENTAL DA FARINHA DE TRIGO.....	655
TABELA 9	CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DA FARINHA DE TRIGO – ALVEOGRAFIA.....	66
TABELA 10	PARÂMETROS DA ANÁLISE DE FARINOGRAFIA DA FARINHA DE TRIGO.....	67
TABELA 11	MÉDIA DOS PARÂMETROS OBTIDOS DA ANÁLISE MIXOLAB® PARA AS FORMULAÇÕES COM AS ENZIMAS α -AMILASE FÚNGICA E α -AMILASE MALTOGÊNICA CONFORME PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL - DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL (DCCR).....	69
TABELA 12	TABELA DE REGRESSÃO DO DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO C5 (Nm) DA ANÁLISE MIXOLAB®.....	73
TABELA 13	TABELA ANOVA PARA O DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO C5 (Nm) DA ANÁLISE MIXOLAB®.....	73
TABELA 14	MÉDIA DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA ENZIMA α -AMILASE FÚNGICA AO LONGO DAS ETAPAS DE PANIFICAÇÃO.....	76

TABELA 15	MÉDIA DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA ENZIMA α -AMILASE MALTOGÊNICA AO LONGO DAS ETAPAS DE PANIFICAÇÃO.....	77
TABELA 16	TEOR DE UMIDADE DAS FATIAS DE PÃO DURANTE A VIDA ÚTIL.....	80
TABELA 17	RESULTADOS DE ATIVIDADE DE ÁGUA DAS FATIAS DE PÃO DURANTE A VIDA ÚTIL.....	81
TABELA 18	COLORAÇÃO DA CROSTA DOS PÃES DE FORMA AVALIADA ATRAVÉS DO COLORÍMETRO KONICA MINOLTA.....	83
TABELA 19	DIÂMETRO MÉDIO DOS ALVÉOLOS OBTIDOS PELO SOFTWARE IMAGE J.....	84
TABELA 20	MÉDIA DO VOLUME ESPECÍFICO OBTIDOS PELO EQUIPAMENTO BVM – BREAD VOLUME METER DOS PÃES DE FORMA.....	85
TABELA 21	TABELA DE REGRESSÃO DO DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO VOLUME ESPECÍFICO (cm ³ /g) DOS PÃES DE FORMA.....	86
TABELA 22	TABELA ANOVA PARA O DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO VOLUME ESPECÍFICO (cm ³ /g) PARA OS PÃES DE FORMA.....	87
TABELA 23	MÉDIA DA FIRMEZA OBTIDA PELA ANÁLISE DE TEXTURA INSTRUMENTAL PARA AS FORMULAÇÕES COM AS ENZIMAS α -AMILASE FÚNGICA E α -AMILASE MALTOGÊNICA DURANTE A VIDA ÚTIL DOS PÃES DE FORMA.....	89
TABELA 24	TABELA DE REGRESSÃO DO DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO FIRMEZA (N) DOS PÃES DE FORMA 14 DIAS APÓS A FABRICAÇÃO.....	91
TABELA 25	TABELA ANOVA PARA O DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO FIRMEZA (N) PARA OS PÃES DE FORMA NO DIA 14 APÓS A FABRICAÇÃO.....	92
TABELA 26	CONCENTRAÇÃO DE GLICOSE (g.L ⁻¹) OBTIDA APÓS PROJEÇÃO DA CURVA PADRÃO.....	112
TABELA 27	CONCENTRAÇÃO DE MALTOSE (g.L ⁻¹) OBTIDA APÓS PROJEÇÃO DA CURVA PADRÃO.....	112

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
1.2	Objetivos	10
2	REVISÃO DA LITERATURA	11
2.1	O Pão	11
2.1.1	Histórico	11
2.1.2	Legislação	11
2.1.3	Produção e Consumo	13
2.1.4	O Trigo (<i>Triticum aestivum</i>)	14
2.1.4.1	Cultivo e Produção	14
2.1.4.2	Estrutura do Grão de Trigo	16
2.1.4.3	Processo de Moagem	17
2.1.5	A Farinha de Trigo	18
2.1.5.1	Minerais e Fibras	18
2.1.5.2	Lipídeos	19
2.1.5.3	Proteínas do Trigo	19
2.1.5.4	Amido do Trigo	21
2.1.5.4.1	Retrogradação do Amido	23
2.1.5.4.2	Aplicações de Enzimas na Redução/Atraso da Firmeza de Pães	25
2.1.6	Água	26
2.1.7	Fermento	27
2.1.8	Açúcar	28
2.1.9	Sal	29
2.1.10	Gordura	29
2.1.11	Aditivos Melhoradores	30
2.1.12	Coadjuvantes Tecnológicos	32
2.2	Processamento do Pão de Forma	33
2.2.1	Mistura	34
2.2.2	Divisão e Modelagem	35
2.2.3	Fermentação	35
2.2.4	Cocção	36
2.2.5	Resfriamento	37
2.3	Controle de Qualidade da Farinha de Trigo	37
2.3.1	Controle de Qualidade Reológico	38
2.3.2	Análise do Amido Danificado	43
2.3.3	Análise Colorimétrica	43
2.3.4	Análise de Textura	45
2.3.5	Análise de Volume	46
2.3.6	Análise de Atividade de Água	46
2.4	Delineamento Experimental	47
3	MATERIAL E MÉTODOS	48

3.1	Material.....	48
3.2	Equipamentos	48
3.3	Preparo das Amostras.....	49
3.4	Determinação dos Parâmetros Físico-Químicos	50
3.4.2	Determinação da Umidade da Farinha de Trigo e dos Pães	50
3.4.3	Determinação da Atividade de Água.....	51
3.4.4	Determinação da Matéria Mineral	51
3.4.5	Determinação do Amido Danificado.....	51
3.4.6	Determinação de Proteínas Totais.....	52
3.5	Análises Reológicas	52
3.5.1	Análise de Alveografia	52
3.5.2	Análise de Farinografia	53
3.5.3	Análise no Mixolab®	54
3.6	Determinação da Atividade Amilolítica das Enzimas Comerciais.....	54
3.6.1	Determinação da Atividade das Amilases Comerciais.....	55
3.6.2	Determinação das Atividades Amilolíticas das Amostras	56
3.7	A Produção dos Pães de Forma	56
3.7.1	Determinação do Volume dos Pães.....	58
3.7.2	Avaliação da Textura dos Pães de Forma	59
3.7.3	Porosidade dos Alvéolos.....	60
3.7.4	Delineamento Experimental	60
3.7.5	Análises Estatísticas	63
4	RESULTADOS	64
4.1	Avaliação da Farinha de Trigo.....	64
4.1.1	Análises Físico-químicas da Farinha de Trigo	64
4.1.2	Análises Reológicas da Farinha de Trigo	66
4.1.2.1	Resultados da Análise de Alveografia.....	66
4.1.2.2	Resultados da Análise de Farinografia.....	67
4.1.2.3	Resultados da Análise de Mixolab®.....	68
4.2	Atividade enzimática das amilases.....	75
4.3	Avaliação dos Pães de Forma.....	78
4.3.1	Resultados de Umidade e Atividade de Água Durante a Vida Útil.....	78
4.3.2	Resultados de Cor Instrumental.....	82
4.3.3	Resultados de Diâmetro dos Alvéolos	84
4.3.4	Resultados de Volume Específico	85
4.3.5	Resultados de Firmeza Instrumental	88
4.3.6	Desejabilidade	93
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

1 INTRODUÇÃO

O envelhecimento com aumento da firmeza do pão durante a vida útil é considerada um dos maiores e difíceis desafios técnicos e econômicos da indústria de panificação. Cerca de 85 milhões de toneladas de farinha de trigo por ano são destinadas à panificação nos Estados Unidos, enquanto, 6 milhões de toneladas aplicadas no Brasil, segundo dados da Associação Brasileira da Indústria do Trigo - Abitrigo (2015). Presume-se que 10 a 15% dos pães produzidos são descartados porque não atendem às demandas de qualidade dos consumidores quanto ao sabor, à maciez, às características da casca, miolo e cor. A possibilidade de prolongar o frescor dos pães poderia gerar uma economia de 2 milhões de toneladas anualmente, que corresponde a 40% do consumo anual de pães nos Estados Unidos da América (WHITEHURST, OORT, 2010; PALACIOS, SCHWARZ, D'APPOLONIA, 2004).

O pão é um dos alimentos mais populares do mundo, sendo produzido em grande escala pelas indústrias, comercializado nos estabelecimentos comerciais tais como supermercados, padarias e confeitarias. Garantir as características sensoriais durante a vida útil do produto é um desafio, visto que pães de forma apresentam em média 14 dias, enquanto que o pão francês de apenas 4 horas (MATVEEVA, BELLIDO, GAZZOLA, 2012). O sabor é o atributo mais apreciado em um alimento, e a textura o principal fator para rejeitá-lo (GOMES-RUFFI, et al., 2012; ESTELLER, LANNES, 2005). Assim, torna-se interessante diminuir a firmeza do miolo de pães de forma e contribuir na sua aceitabilidade. Entretanto, as indústrias apresentam dificuldades em prever, a partir de análises reológicas na farinha de trigo, a dosagem ideal de aditivos para manter a textura do produto final, antecipando as características da vida de prateleira.

As principais enzimas empregadas na panificação são as amilases, sendo classificadas como coadjuvantes de tecnologia, segundo a RDC nº 540 da ANVISA (BRASIL, 1997). O grupo de enzimas amilolíticas representado pela α -amilase maltogênica e α -amilase fúngica hidrolisam as ligações glicosídicas α -1,4. A maltodextrina, oligossacarídeos e maltotriose são hidrolisados, principalmente, para produzir maltose (WHITEHURST, OORT, 2010; GOESTAERT, et al., 2009a). A enzima α -amilase maltogênica hidrolisa a extremidade da cadeia da amilopectina, mantendo intacta a estrutura primária, o que resulta em grânulos de amido com

reduzida taxa de recristalização. Assim, a característica de menor firmeza do pão é mantida durante a vida útil do produto, aumentando o período de venda dos pães (MATVEEVA, BELLIDO, GAZZOLA, 2012).

A avaliação do comportamento reológico da farinha de trigo é realizada, tradicionalmente, utilizando equipamentos como o alveógrafo e farinógrafo. Entretanto, esses equipamentos nem sempre são capazes de oferecer todas as características necessárias do comportamento da massa (VÁSQUEZ, et al., 2005; BANU, et al., 2011). Assim, o equipamento Mixolab® permite investigar o comportamento termomecânico da massa, no qual se prevê a qualidade do produto final através da simulação do processo de panificação (CHIOTELLI, ROLÉE, MESTE, 2004; COLLAR, BOLLAIN, ROSELL, 2007; STOENESCU, et al., 2010; BANU, et al., 2011). A técnica Mixolab® permite a caracterização completa das farinhas em termos de (i) qualidade proteica, determinando a absorção de água, estabilidade, elasticidade e propriedades de enfraquecimento; (ii) o comportamento do amido durante a gelatinização e retrogradação; (iii) a modificação da consistência da massa quando há adição de aditivos; e (iv) a atividade enzimática (COLLAR, BOLLAIN, ROSELL, 2007; STOENESCU, et al., 2010; BANU, VASILEAN, APRODU, 2010).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da combinação de diferentes dosagens enzimáticas de enzimas comerciais (α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica) sobre o parâmetro de retrogradação C5 (Nm) do equipamento Mixolab®; o volume específico (cm^3/g) e a firmeza (N) instrumental de pães de forma.

1.2 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem como principal objetivo avaliar o efeito da combinação de diferentes dosagens enzimáticas de enzimas comerciais (α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica), no parâmetro de retrogradação C5 (Nm) do equipamento Mixolab®; o volume específico (cm^3/g) e a firmeza (N) instrumental no 14º dia de vida útil de pães de forma.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Realizar análises reológicas da farinha de trigo e da farinha de trigo tratada com as enzimas amilolíticas comerciais *Spring Alfa 140.000* – α -amilase fúngica, e *Spring Nova G3* – α -amilase maltogênica, da empresa Granotec do Brasil;
- Produzir pães de forma com a farinha de trigo tratada com as enzimas amilolíticas utilizando planejamento experimental do delineamento composto central rotacional (DCCR), com planejamento 2^2 mais 4 pontos centrais;
- Determinar a atividade enzimática das enzimas α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica por meio de metodologia DNS (ácido dinitrossalicílico);
- Monitorar a atividade enzimática ao longo das etapas do processamento da produção de pães;
- Avaliar pela análise de textura a firmeza (N) dos pães tratados com as enzimas amilolíticas no período de 1, 4, 7, 10 e 14 dias após a fabricação armazenados em temperatura ambiente e em embalagem plástica de polipropileno;
- Aplicar a Metodologia de Superfície de Resposta para a obtenção de modelos que expliquem a influência das variáveis α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica para as respostas: parâmetro de retrogradação C5 (Nm) do Mixolab®, volume específico (cm^3/g) e firmeza (N) instrumental no 14º dia após a fabricação dos pães de forma, com o auxílio do programa *Statistica 12.0®*.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O PÃO

2.1.1 Histórico

O início da produção de pão de massa fermentada consta ter sido 20 ou 30 séculos antes de Cristo (a.C.), e é atribuído aos egípcios. Na Roma antiga, no ano 100 a.C., havia quase trezentos padeiros. No Oriente, o alimento assumiu formas diversas com o *pitta* e o *chapati*. Na Idade Média o pão era sinônimo de status, e só os nobres tinham acesso à farinha de melhor qualidade. No Brasil os portugueses trouxeram o hábito de comer pães, substituindo a farinha de trigo por farinhas locais, como a farinha de mandioca (CANELLA-RAWLS, 2006). O trigo chegou às terras brasileiras em 1534, trazido por Martim Afonso de Souza, que desembarcou na capitania de São Vicente. O clima quente dificultou a expansão da cultura. Cartas dos colonizadores registram a falta do trigo e reclamam dos pães preparados com farinha de mandioca. No século XIX foi instalado o primeiro moinho de trigo na sede da colônia, o Rio de Janeiro, onde iniciou-se o hábito do consumo de pão de farinha de trigo (ABITRIGO, 2015; ALMEIDA NETO, 2008).

O pão de forma começou a ser produzido no início do século XX para atender os consumidores que precisavam de um pão mais prático e que durasse mais tempo. Nesse período a industrialização estava no auge, principalmente na Europa e na América do Norte. Em 1930 iniciou a produção industrial em escala do pão de forma, aumentando as vendas de alimentos (OLIVEIRA, 2014).

2.1.2 Legislação

Segundo a Resolução RDC nº 263 da ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2005) “pães são os produtos obtidos da farinha de trigo

e / ou outras farinhas, adicionados de líquido, resultantes do processo de fermentação ou não e cocção, podendo conter outros ingredientes, desde que não descaracterizem os produtos. Podem apresentar cobertura, recheio, formato e textura diversos”.

A definição da Resolução RDC n° 90 da ANVISA (BRASIL, 2000b) descreve o pão de forma como sendo um produto obtido pela cocção da massa em formas, apresentando miolo elástico e homogêneo, com poros finos e casca fina e macia. Ainda, de acordo com mesma resolução, a composição dos pães deve conter os ingredientes obrigatórios que são: farinha de trigo e / ou outras farinhas que contenham naturalmente proteínas formadoras de glúten ou adicionadas das mesmas, água e demais ingredientes específicos para cada produto de acordo com sua classificação e / ou designação. Os ingredientes opcionais para os pães podem ser fibras, sal (cloreto de sódio), açúcar, mel e outros carboidratos que confirmam sabor doce, leite e derivados, óleos e gorduras, sementes e farinhas de cereais, leguminosas, raízes e tubérculos, ovos, proteínas, frutas secas ou cristalizadas, produtos cárneos, recheio, chocolates, coberturas, condimentos e outros ingredientes que não descaracterizem o produto (BRASIL, 2000b).

A RDC n° 540 da ANVISA (BRASIL, 1997) define “Coadjuvante de Tecnologia de Fabricação” como toda substância, excluindo os equipamentos e utensílios utilizados na elaboração e/ou conservação de um produto, que não se consome por si só como ingrediente alimentar e que se emprega intencionalmente na elaboração de matérias-primas, alimentos ou seus ingredientes, para obter uma finalidade tecnológica durante o tratamento ou fabricação. Deverá ser eliminada do alimento ou inativada, podendo admitir-se no produto final a presença de traços de substância, ou seus derivados”. Nesse contexto, surgem as enzimas, amplamente utilizadas na indústria de panificação. A resolução RDC de n° 205 da ANVISA (BRASIL, 2006) define que “enzimas são proteínas capazes de catalisar reações bioquímicas, aumentando sua velocidade sem interferir no processo resultando em alterações desejáveis nas características de um alimento durante o seu processamento”.

2.1.3 Produção e Consumo

O índice de crescimento das empresas de Panificação e Confeitaria em 2014 foi de 8,02%, atingindo R\$ 82,5 bilhões e, sendo o segundo ano consecutivo que o setor apresenta uma elevação menor que 10%, mostrando uma desaceleração no setor, devido à alta nos custos. O número de empresas que compõem o setor de Panificação no Brasil é de 63,2 mil (ABIP, 2014).

Em 2012, a média de consumo do pão de trigo no Brasil é de 33,5 kg anuais por habitante segundo dados da ABIP (Associação Brasileira da Indústria da Panificação e Confeitaria, 2014). O consumo recomendado pelas Organizações Mundiais de Saúde – OMS, é de 60,00 kg/ano, resultando assim, em um consumo abaixo do recomendado pela OMS, e também, baixo se comparado ao consumo como por exemplo no Chile (98 kg/ano por habitante) e Argentina (82,5 kg por ano por habitante).

Diversos fatores influenciam o baixo consumo de pão no Brasil, dentre eles, pode-se elencar o hábito cultural, concorrência com outros produtos (milho, mandioca), poder aquisitivo populacional, qualidade e variedade de produtos. Existem, também, grandes diferenças regionais no consumo do pão, pois a concentração está nas regiões Sul, cerca de 43 kg a 45 kg ao ano, acima da média nacional, e no Sudeste, com consumo de cerca de 35 kg per capita, enquanto outras, como no Nordeste, atinge somente 10 kg por pessoa/ano (ABIP, 2014).

2.1.4 O Trigo (*Triticum aestivum*)

2.1.4.1 Cultivo e Produção

O trigo é uma gramínea do gênero *Triticum* de ciclo anual, cultivada durante a estação do inverno, consumido em forma de farinha ou ração animal. No Brasil, a produção anual oscila em torno de 6 milhões de toneladas, com o cultivo do trigo nas regiões Sul (RS, SC e PR), Sudeste (MG e SP) e Centro-Oeste (MS, GO e DF). O consumo se mantém inalterado nos últimos anos, com a demanda brasileira em 10 milhões de toneladas. Historicamente, a cultura do trigo foi estabelecida no Sul do país, onde se encontra 90% da produção. Contudo, com a evolução das pesquisas de melhoramento genético, o trigo começa a avançar no Brasil Central (EMBRAPA TRIGO, 2014).

Em busca de produtividade, conteúdo de farinha no grão, teor de nutrientes, resistência a doenças ou adaptação ao clima e ao solo, pesquisadores e agricultores no mundo já testaram milhares de cruzamentos, obtendo cerca de 30 mil variedades de trigo. O maior volume de produção do trigo no Brasil provém da espécie *Triticum aestivum*. Três espécies de trigo são adequadas a um tipo de aplicação em produtos alimentícios, sendo:

- *Triticum aestivum* - Trigo comum, é a espécie mais cultivada, respondendo por mais de quatro quintos da produção mundial, e o mais utilizado na fabricação do pão. A proporção das várias substâncias que compõem o grão (amido, minerais, vitaminas e proteínas) oscila conforme a variedade. A mais consumida no Brasil, *Triticum aestivum* L., tem um teor de proteína em torno de 14% (base 12% de umidade).

- *Triticum compactum* – Trigo com um teor de proteínas da ordem de 8% (base 12% de umidade), produzindo glúten mais fraco (menor que $200 \cdot 10^{-4}$ J). É utilizado para a fabricação de biscoitos e bolos mais macios e menos crocantes.

- *Triticum durum* - Indicado para massas (macarrão). É o trigo mais duro, resultado do elevado teor de proteínas e força do glúten. Possui endosperma amarelo, o qual confere tonalidade às massas. A média de proteína da safra 2014 foi de 13,2%

(base 12% de umidade) nos Estados Unidos da América (USW, 2014; ABITRIGO, 2015).

Segundo informações da Embrapa (2014), em 2013 foram disponibilizadas 106 cultivares de trigo para as diferentes regiões tritícolas do Brasil, sendo trigos de primavera.

Na região sul do país, nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, são cultivados trigos da classe pão, melhorador, básico e outros usos. Na região sudeste nos estados de São Paulo e Minas Gerais, são cultivadas as classes pão, melhorador e básico. Na região centro-oeste, nos estados de Mato Grosso do Sul, Goiás e Distrito Federal, são cultivadas as classes pão e melhorador. A região norte e nordeste do Brasil utiliza trigo importado, americano e canadense, e trigo das outras regiões do país (EMBRAPA, 2014).

De acordo com pesquisa da Abitrigo (2015), a espécie de trigo *Triticum aestivum L.* é a mais utilizada para moagem no Brasil e, a destinação das farinhas no mercado brasileiro é dividida em:

- Panificação: aproximadamente 55%
- Macarrão: cerca de 17%
- Biscoitos: cerca de 13%
- Uso doméstico: cerca de 11%
- Outros segmentos: 4%

No Brasil, a estimativa de perdas quantitativas de grãos armazenados, corresponde a médias anuais de 10%, podendo atingir perda total em alguns armazéns (BESKOW; DECKERS, 2005). Também devem ser consideradas as perdas qualitativas, uma vez que comprometem a inocuidade e a aptidão tecnológica dos grãos armazenados. Dentre as principais causas que colaboram para as perdas qualitativas de grãos destacam-se: a carência de estrutura física para armazenagem; logística deficiente; escassez de treinamento e de capacitação para colaboradores; e a ausência de segregação dos produtos agrícolas de acordo com sua qualidade tecnológica e inocuidade (EMBRAPA, 2014).

2.1.4.2 Estrutura do Grão de Trigo

As características morfológicas do grão de trigo são mostradas na FIGURA 1.

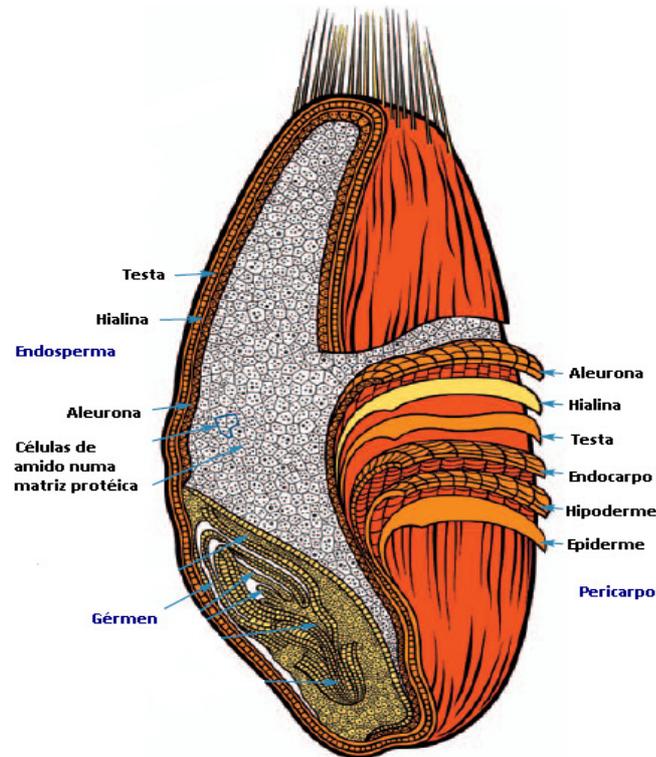


FIGURA 1 - ILUSTRAÇÃO DO GRÃO DE TRIGO ATRAVÉS DE UM CORTE LONGITUDINAL NA CREESE. ESTRUTURAS MORFOLÓGICAS ESTÃO INDICADAS.
FONTE: POPPER, SCHÄFER, FREUND (2006).

As características morfológicas do grão indicam uma forma ovalada com um sulco longitudinal, chamado *crease*. O embrião (gérmen) está em uma das extremidades do grão enquanto na outra há existência de pelos. O pericarpo circunda todo grão e atua como um revestimento protetor composto por várias camadas. A aleurona é a camada interna que rodeia o endosperma amiláceo e o embrião. O endosperma amiláceo é a reserva da semente de trigo, constituindo de 74,9% a 86,5% da massa do grão, é composto de amido e proteínas solúveis – albumina e globulina, e insolúveis – gliadina e glutenina (POMERANZ, 1988; POPPER, SCHÄFER, FREUND, 2006; CARVALHO JUNIOR, 2006). As células do endosperma contêm basicamente quatro estruturas: paredes celulares, grânulos de amido envoltos em uma matriz proteica (alto conteúdo de fibra insolúvel – celulose e β -glucanas, e solúvel – pentosanas) e corpos proteicos (POPPER, SCHÄFER, FREUND, 2006). A forma do grão pode variar de acordo com o cultivar e a região de cultivo (POMERANZ, 1988).

O trigo é classificado no Brasil segundo a Instrução Normativa – IN de nº 38, de 30 de novembro de 2010, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA (BRASIL, 2010), sendo o trigo destinado à moagem o Trigo Grupo II. A IN nº38 classifica ainda o trigo em “Tipo” onde são levados em consideração os parâmetros de umidade (%), peso do hectolitro, matérias estranhas e impurezas, e total de defeitos (%). Ainda, o trigo do Grupo II pode ser classificado em “Classes”, as quais abrangem melhorador, pão, doméstico, básico e outros usos, levando em consideração os parâmetros de força de glúten (10^{-4} J), estabilidade (min) e número de queda (s).

2.1.4.3 Processo de Moagem

O processo de moagem do grão de trigo dá origem à farinha e ao farelo de trigo, em média, na seguinte proporção: farinha de trigo - 75%; farelo de trigo - 25% (ABITRIGO, 2015). As farinhas devem ser enriquecidas com ferro e ácido fólico conforme Resolução – RDC nº 344 da ANVISA (BRASIL, 2002) devido aos altos índices de anemia e de doenças causadas pela deficiência de ácido fólico na população brasileira.

O trigo é selecionado para moagem em razão da farinha que se deseja obter. Diante disso, considera-se o teor de proteína total, o cultivar dos grãos e propriedades reológicas de força e estabilidade. Podem ocorrer misturas de grãos ou farinhas a fim da obtenção de parâmetros qualitativos desejáveis para o produto final (LORENZ, KULP, 1991).

Através das fases de moagem do trigo são obtidos uma série de produtos com diversas características químicas: farinha de rotura, farinha de redução, sêmola vestida, farelo fino, farelo grosso (QUAGLIA, 1991). A composição química da farinha de trigo depende da taxa de extração da farinha do grão (ELIASSON, LARSSON, 1993).

Considerando a composição do grão de trigo, teoricamente, na moagem, seria possível separar 85% do endosperma amiláceo em farinha, porém, na prática o rendimento da moagem (extração) atinge valores máximos de 75% (QUAGLIA, 1991; LORENZ, KULP, 1991).

2.1.5 A Farinha de Trigo

Pelo processo de moagem os componentes do grão são separados, sendo que, o principal produto derivado de trigo é a farinha (endosperma amiláceo), seguida do farelo (pericarpo e camadas superficiais de aleurona) e do gérmen. A farinha de trigo é composta em maior proporção de endosperma. Dependendo do seu grau de extração poderá ser constituída de maior ou menor quantidade dos outros componentes do grão (BENNION, 1970).

Eliasson e Larsson (1993) apresentaram a composição química da farinha de trigo extraída a uma taxa de extração de 70% do grão (TABELA 1).

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA FARINHA DE TRIGO COM EXTRAÇÃO DE 70%

Componente	Concentração
Amido	72,0 – 77,0%
Proteínas Totais	8,0 – 12,0%
Lipídeos	1,1 – 1,2%
Cinzas (matéria mineral)	0,41 – 0,43%
Fibras	Traços

FONTE: ELIASSON, LARSSON (1993)

2.1.5.1 Minerais e Fibras

Os minerais e fibras estão concentrados no pericarpo, assim a quantidade na farinha de trigo é afetada pela taxa de extração, sendo um indicador do grau de separação do endosperma amiláceo do pericarpo durante o processo de moagem (LORENZ, KULP, 1991).

2.1.5.2 Lipídeos

Os lipídeos do trigo estão dispersos por toda a sua estrutura, sendo um dos grupos de substâncias mais importantes presentes no gérmen. Foi observada a presença de lipídeos no pericarpo e no endosperma amiláceo. No pericarpo os lipídeos estão distribuídos na camada da aleurona e encontram-se ligados às estruturas das proteínas e dos grânulos de amido (CARVALHO JUNIOR, 2006). Os lipídeos participam das interações entre o amido e proteínas, e das proteínas gliadina e gluteninas entre si (BENNION, 1970).

2.1.5.3 Proteínas do Trigo

Para Cauvain (2003), o conteúdo proteico do trigo ou da farinha pode ser visto através de dois ângulos: o conteúdo de proteína total e a quantidade de proteína “funcional”, onde o termo “funcional” refere-se à habilidade da proteína em produzir massa com propriedades reológicas desejáveis (força e estabilidade).

As proteínas do trigo podem ser divididas em dois grupos: proteínas formadoras de glúten e proteínas não formadoras de glúten (XIJUN, et al., 2014). Essas proteínas fazem parte de frações solúveis e insolúveis de proteínas. As proteínas solúveis, cerca de 20% das proteínas totais, correspondem à albumina e enzimas do tipo globulina, bem como algumas glicoproteínas. Essas proteínas não contribuem para as propriedades de formação da massa da farinha de trigo (DAMODARAN, PARKIN, FENNEMA, 2010).

As proteínas formadoras de glúten são as gliadinas e as gluteninas, constituem cerca de 80% do total de proteínas. Essas possuem solubilidade limitada em água (TORRES, et al., 2009). Assim, as proteínas do glúten podem ser divididas de acordo com a solubilidade em solução de álcool-água. Por exemplo, em solução de 70 a 90% v/v de etanol a gliadina é solúvel (gliadina representa de 40% a 50% do total de proteínas do trigo) e a glutenina insolúvel em solução de etanol e solúvel em álcali ou ácido (glutenina representa de 30% a 40% das proteínas do trigo) (XIJUN, et al., 2014; EL-DASH, CAMARGO, DIAZ, 1983).

A gliadina e a glutenina são ricas em asparagina, prolina e aminoácidos sulfurados. O glúten tem uma composição de aminoácidos, sendo a glutenina e a prolina responsáveis por mais de 40% de seus resíduos de aminoácidos (DAMODARAN, PARKIN, FENNEMA, 2010). Na porção de gliadina, em 80% da fração as pontes dissulfeto são ou ausentes (ω -gliadina) ou presente como ligações cruzadas intracadeia (α / β , γ -gliadina) com, provavelmente, um número ímpar de cisteína. A porção menor que é aproximadamente de 20% apresenta ligações por pontes dissulfeto intercadeias (WIESER, BUSHUK, MACRITCHIE, 2006). Gliadina e glutenina são classificadas em função da sua massa molecular e de sua capacidade de agregação (TORRES, et al., 2009). Gliadinas tem massa molecular entre 30.000 e 80.000 Daltons e são extremamente pegajosas quando hidratadas. Gluteninas tem massa molecular variando de 80.000 a mais de 10 milhões (XIJUN, et al., 2014; WIESER, BUSHUK, MACRITCHIE, 2006; EL-DASH, CAMARGO, DIAZ, 1983).

A baixa solubilidade do glúten em água é atribuída a seu baixo teor de resíduos de lisina, arginina, ácido glutâmico e ácido aspártico (menos 10% do total de resíduos de aminoácidos). Cerca de 30% dos resíduos de aminoácidos são hidrofóbicos e contribuem muito na capacidade de formar agregados proteicos e de se ligar a lipídeos e outras substâncias não polares (DAMODARAN, PARKIN, FENNEMA, 2010).

Quando a farinha de trigo é misturada a água, com aplicação de forças de tensão e cisalhamento, há o desenvolvimento da massa e o desenvolvimento do glúten que apresenta uma rede proteica. As gluteninas conferem viscosidade e elasticidade, enquanto que as gliadinas são responsáveis pela extensibilidade da massa (TORRES, et al., 2009). Os teores elevados de glutamina e aminoácidos hidroxilados do glúten são responsáveis por suas propriedades de ligação à água. Por sua vez, as ligações hidrogenônicas entre glutamina e os resíduos hidroxilados dos polipeptídeos do glúten contribuem para suas propriedades de coesão-adesão (DAMODARAN, PARKIN, FENNEMA, 2010).

A elasticidade e extensibilidade inerentes ao glúten são características oriundas dos aminoácidos que compõem suas proteínas formadoras (CARVALHO JUNIOR, 2006). Os resíduos de cisteína e cistina (aminoácidos sulfurados) das porções de gliadina e glutenina são responsáveis por 2–3 mol% do total de resíduos de aminoácidos do glúten e são os principais responsáveis pela característica da estrutura elástica e extensível do glúten, durante a formação da massa, pois sofrem

reações de intercâmbio sulfidril-dissulfeto, resultando em polimerização extensa das proteínas do glúten (EL-DASH, CAMARGO, DIAZ, 1983).

2.1.5.4 Amido do Trigo

O principal carboidrato do trigo, o amido, é uma mistura de dois polímeros, a amilose (cerca de 25%) e a amilopectina (cerca de 75%) que são classificados como D-glucanos pois são polímeros de glucose. As moléculas de amilose e amilopectina estão agrupadas de forma radial formando grânulos que contêm regiões cristalinas e não cristalinas em camadas alternadas. (CAUVAIN, 2003; POPPER, SHÄFER, FREUND, 2006; DAMODARAN, PARKIN, FENNEMA, 2010). Segundo Tester, Karkalas, Qi (2004) a forma do grânulo (redondo, oval, poliédrico), o tamanho de partícula (2 a 100 μm) e a distribuição do tamanho de partícula (unimodal, bimodal, trimodal) dos grânulos são características da origem botânica.

A amilose é uma molécula essencialmente linear, com os átomos em arranjo helicoidal, pois as ligações glicosídicas entre suas unidades de glucose e são em sua maior parte do tipo α -1,4, e há um pequeno grau de ramificação. Já a amilopectina apresenta uma molécula ramificada, com ligações glicosídicas do tipo α -1,4 e do tipo α -1,6, sendo essa última, responsável pela ramificação (CAUVAIN, 2003; SINGH, et al., 2010).

Uma molécula de amilose contém cerca de 200 a 2000 subunidades de glucose com estrutura de hélice simples. A molécula de amilopectina é muito maior, com cerca de 6000 a 100000 subunidades de glucose, caracterizando por frequente ramificação no átomo C6 (POPPER, SHÄFER, FREUND, 2006).

A FIGURA 2 apresenta a estrutura da amilose (A) e da amilopectina (B) em três dimensões, onde os anéis são piranoses. As ramificações se repetem regularmente, em cerca de 15 a 30 unidades de glucose em média (CAUVAIN, 2003).

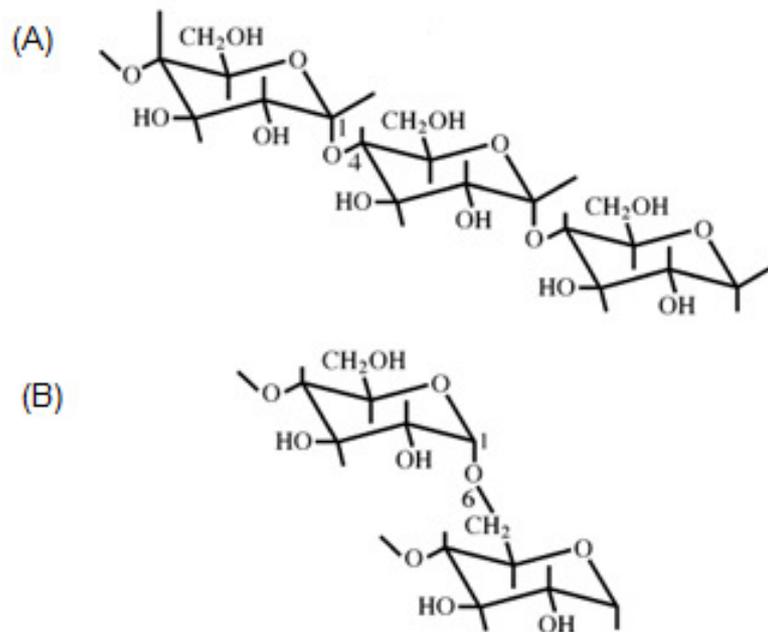


FIGURA 2 – (A) ESTRUTURA PARCIAL DA AMILOSE E (B) ESTRUTURA PARCIAL DA AMILOPECTINA FORMANDO LIGAÇÕES α -1,6 NAS RAMIFICAÇÕES
 FONTE: CAUVAIN (2003).

A granulometria do amido depende do genótipo do trigo, sendo que, comumente, existem grânulos do tipo-B com diâmetro menor que $9,9\ \mu\text{m}$ e grânulos do tipo-A com diâmetro maior que $9,9\ \mu\text{m}$ (encontrado em maior quantidade no amido de trigo e com maior conteúdo de amilose). Também já foram relatados grânulos do tipo-C, porém como há dificuldade de diferenciá-los do tipo-B, são enquadrados nessa classificação. A distribuição do tamanho de grânulo de amido do trigo é uma característica que pode afetar sua composição química e a funcionalidade, tais como o teor de amilose, de lipídeos e as características de gelatinização (CAUVAIN, 2003; SINGH, et al., 2010; ZENG, GAO, LI, 2014; TESTER, KARKALAS, QI, 2004).

Segundo Singh, et al. (2010) em amidos de trigo, a amilopectina contribui na absorção de água, inchaço, e gelatinização de grânulos de amido, enquanto que a amilose e lipídeos tendem a retardar esses processos. Jane e Chen (1992) concluíram que a distribuição do comprimento das cadeias de amilopectina e tamanho da molécula de amilose produzem efeitos sinérgicos sobre a viscosidade de pastas de amido.

Os grânulos de amido intactos são quase insolúveis em água, mas os grânulos incham devido à ruptura das membranas de superfície. Uma das propriedades físicas mais importantes do amido é a sua capacidade de gelatinização quando aquecido em água. A temperatura na qual os grânulos incham e rompem para

formar o gel depende da origem botânica do amido. Muitos fatores afetam a temperatura de gelatinização, sendo o principal a presença de água, que diminui a temperatura de transição vítrea (CAUVAIN, 2003; ELIASSON, 2005). Segundo Eliasson e Larsson (1993) a temperatura de gelatinização do amido de trigo é dependente da porcentagem de água disponível no meio. Analisando a birrefringência do amido, nota-se a temperatura de gelatinização variando de 52-65°C.

O aquecimento contínuo dos grânulos de amido, em excesso de água, resulta em mais hidratação e inchaço do grânulo, perda da cristalinidade, lixiviação de compostos solúveis (principalmente amilose) e, enfim, a ruptura total dos grânulos. Esses fenômenos resultam na gelatinização do amido (DAMODARAN, PARKIN, FENNEMA, 2010; WANG, CHOI, KERR, 2004).

Os grânulos de amido da farinha de trigo, em função da variedade do grão, da ação mecânica durante o processo de moagem e, também, em função do ataque de insetos durante o armazenamento dos grãos, podem ser danificados, perdendo a estrutura essencial de grânulo. O amido danificado é mais suscetível à hidrólise por enzimas amilolíticas. Assim, a capacidade e a velocidade de absorção de água é aumentada significativamente, porém, não há retenção suficiente da água, diminuindo a estabilidade da massa e favorecendo o processo de gelatinização (CARVALHO JUNIOR, 2006; ELIASSON, 2005).

2.1.5.4.1 Retrogradação do Amido

Após o resfriamento, o amido gelatinizado pode sofrer um fenômeno denominado de retrogradação. As moléculas de amido se reassociam parcialmente, formando um precipitado ou um gel. A firmeza do gel depende da extensão da associação da zona de formação. (ELIASSON, 2005; DAMODARAN, PARKIN, FENNEMA, 2010; WHITEHURST, OORT, 2010). A formação de zonas de associação é influenciada (facilitada ou dificultada) pela presença de outros ingredientes como gorduras, proteínas, açúcares, ácidos, enzimas e quantidade de água presente, além da proporção de amilose e amilopectina presentes (WANG, CHOI, KERR, 2004).

As características de retrogradação da amilose e amilopectina são cineticamente diferentes. A amilose retrograda mais rapidamente, tendo forte

tendência em se reassorciar por meio da formação de pontes de hidrogênio com outras moléculas de amilose adjacentes. Formam estruturas cristalinas de duplas hélices quando a solução esfria e se mantém por longo período de tempo. A amilopectina retrograda em uma taxa muito menor em um tempo maior que a amilose (THARANATHAN, 2002).

Nos produtos de panificação, em que existe quantidade suficiente de umidade para gelatinização dos grânulos de amido, a retrogradação da amilose pode ser completada durante o período de resfriamento dos pães que ocorre em temperatura ambiente. Acredita-se que a retrogradação da amilopectina envolva principalmente a associação de suas ramificações externas e requeira um tempo muito maior, em comparação à retrogradação da amilose, o que ocorre com o tempo, após o resfriamento do produto (DAMODARAN, PARKIN, FENNEMA, 2010).

A retrogradação é um fenômeno complexo e varia de acordo com diversos fatores, como: temperatura e tempo de armazenamento, fonte de amido, presença de outros componentes e condições de processamento. A principal influência da retrogradação é observada na textura (ELIASSON, 2005; THARANATHAN, 2002).

Assim, a retrogradação do amido é um dos fatores de aumento da firmeza de pães, bem como ligações entre proteína – amido, característica da rede de glúten ou desenvolvimento da rede de glúten que também podem contribuir com mudanças de textura. Diferentes estratégias podem ser utilizadas para atrasar a firmeza de pães, como o uso de enzimas como as amilases, que inibem a complexação de amido-proteína por produtos da dextrinização e redução da cristalização da amilopectina (BARRET, et al., 2005).

2.1.5.4.2 Aplicações de Enzimas na Redução/Atraso da Firmeza de Pães

As enzimas comumente utilizadas em processo de panificação, sua aplicação e as dosagens (indicadas pelo fabricante Novozymes¹) estão apresentadas na TABELA 2.

TABELA 2 – ENZIMAS APLICADAS AO PROCESSO DE PANIFICAÇÃO, DOSAGENS E AÇÃO

Enzima	Produto Comercial	Dosagens²	Ação
Amilases Fúngicas	Fungamyl®	5 a 50 FAU	Modificações do amido
Amilases Maltogênicas	Novamyl®	100 a 1000 MANU	
Amiloglucosidase	Amyloglucosidase AMG®	30 a 300 AGU	
Hemicelulase	Pentopan® Mono BG	50 a 300 FXU (W)	Modificações nas cadeias de hemicelulose, pentose, xilose, arabinose.
Lipase	Lipopan® F	10 a 20 ppm	Modificações na cadeia lipídica
Glucose Oxidase	Gluzyme® Mono	10 a 50 ppm	Modificações na cadeia de glucose
Asparaginase	Acrilaway®	145 a 570 ppm	Conversão do aminoácido asparagina em ácido aspártico

FONTES: MATVEEVA, BELLIDO, GAZZOLA (2012).

Barret, et al. (2005), Goesart, et al. (2009b), Lagrain, et al. (2008), Léon, Durán e Barber (2002) e Caballero, Gómez, Rosell (2007), verificaram em suas pesquisas que enzimas amilolíticas apresentaram efeito sobre a textura em pães durante a vida de prateleira, concluindo que tais enzimas reduziram a recristalização do amido.

Gomes-Ruffi et al. (2012) realizaram a pesquisa da ação de emulsificantes em sinergia com enzimas amilolíticas adicionados à farinha de trigo e verificaram melhor característica de volume dos pães de forma e diminuição da firmeza durante a vida de prateleira de até 10 dias. Wang, Choi e Kerr (2004) observaram o efeito da adição do glúten na velocidade de recristalização do amido, sugerindo que o glúten pode retardar a perda de água em grânulos de amido.

¹ Novozymes - multinacional dinamarquesa que produz enzimas. www.novozymes.com

² *FAU – Fungal α -amylase Units; MANU – Maltogenic Amylase Units; AGU – Amyloglucosidase Units; FXU (W) – Fungal Xylanase Units

2.1.6 Água

A água é fundamental na elaboração de pães, possui a função de hidratar os componentes da farinha e dissolver parte das proteínas. A presença de água e batimento mecânico promove a união das proteínas que darão origem à rede de glúten e um meio favorável às atividades fermentativas e enzimáticas (QUAGLIA, 1991; BENNION, 1970). A água pode conter íons de cálcio e magnésio naturalmente que determinam a dureza da água, que é classificada em: água mole (até 50 ppm), água parcialmente dura (50 a 100 ppm) e água dura acima de 100 ppm. Para panificação a água deve ser parcialmente dura, pois, uma água dura retarda o processo fermentativo e a água mole torna a massa pegajosa, podendo afetar também a ação das enzimas da farinha e indireta e negativamente o sabor do pão. O potencial hidrogeniônico (pH) da água para panificação deve ser neutro a ácido, em torno de 4 a 5, pois também pode afetar a atividade enzimática e o processo fermentativo (BENNION, 1970; QUAGLIA, 1991; CANELLA-RAWLS, 2006).

A quantidade de água absorvida pela farinha para formação da massa dependerá de diversos fatores como: a granulometria, o conteúdo proteico e a umidade da farinha; o grau higrométrico do ambiente e a consistência desejada da massa (QUAGLIA, 1991). As propriedades da massa irão variar de acordo com a quantidade de água adicionada e demais líquidos presentes na formulação, sendo efetuada a devida compensação. A quantidade pode variar de 20 a 60% de água (ZANETTI et al., 2009). A insuficiência de água tornará a massa firme e difícil para trabalhar, produzindo pães com pouco volume e aparência externa pobre e, já a quantidade excessiva de água torna a massa mole dificultando o molde pois estará muito fluída produzindo pães com baixa qualidade. O nível ótimo de água é realmente o máximo de quantidade que pode se colocar na massa para adequado desenvolvimento da rede de glúten (CAUVAIN, 2003).

A temperatura da água adicionada à farinha deve ser ajustada a fim de obter uma massa com temperatura adequada ao final do batimento (26 a 28 °C), controlando assim, a atividade da levedura (ZANETTI, et al., 2009).

2.1.7 Fermento

Segundo a Resolução RDC nº 38 da ANVISA (BRASIL, 1977), fermentos biológicos são destinados para o preparo de pães, sendo definido como “produto obtido de culturas puras de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) por procedimento tecnológico adequado e empregado para dar sabor próprio e aumentar o volume e a porosidade dos produtos forneados”. Ainda, de acordo com a resolução os fermentos biológicos são classificados de acordo com seu teor de umidade em:

- Fermento Fresco, também denominado: “Fermento Prensado”, “Fermento Verde” e “Levedura Prensada”, contendo no máximo 75% de umidade;
- Fermento Seco, também denominado: “Fermento Desidratado” e “Levedura Seca”, contendo no máximo 12% de umidade.

No processo de panificação a sacarose é hidrolisada pela invertase das leveduras, a frutose, então, é disponibilizada para as bactérias ácido lácticas e é usada em co-fermentação como maltose (ROCKEN, RICK, REINKEMEIER, 1992).

Assim, a levedura produz dióxido de carbono que expandirá a massa durante a fase de fermentação e nos primeiros minutos de cocção (CAUVAIN, 2003). A produção do dióxido de carbono e etanol ocorre, durante o processo de panificação, através da fermentação alcoólica de açúcares fermentescíveis presentes na massa. O gás carbônico confere ao pão a leveza e volume, e o álcool contribui na expansão da massa durante a cocção, responsável por grande parte do aroma do pão. Os compostos de sabor e aroma são resultados do metabolismo secundário da levedura aumentando, assim, o sabor e aroma característico de produtos panificados (CANELLA-RAWLS, 2006; PATTISON, HOLY, 2001).

2.1.8 Açúcar

Segundo a Resolução RDC nº 271 da ANVISA (BRASIL, 2005) o açúcar “é a sacarose obtida a partir do caldo de cana-de-açúcar (*Saccharum officinarum L.*) ou de beterraba (*Beta alba L.*)”. São também considerados açúcares os monossacarídeos e demais dissacarídeos, podendo ser apresentado em diversas granulometrias e formas de apresentação.

Segundo Quaglia (1991), os açúcares presentes na massa de pão podem ser:

- Açúcares presentes na farinha;
- Maltose, açúcar derivado da ação da α -amilase sobre o amido;
- Açúcares adicionados, usualmente sacarose.

A sacarose contribui para a doçura do produto bem como a coloração da crosta (CAUVAIN, 2003). Os efeitos de cor e aroma se dão pela reação dos açúcares e aminoácidos – reação de Maillard (QUAGLIA, 1991). A reação de Maillard é chamada de reação de escurecimento não enzimático que ocorre entre açúcares e proteínas, na cocção dos produtos (ZANETTI, et al., 2009).

O açúcar também tem efeito sobre a propriedade de absorção e tempo de desenvolvimento da massa. Elevados níveis de açúcar podem inibir a atividade da levedura (QUAGLIA, 1991; CAUVAIN, 2003). Em geral, são utilizados de 0,5 a 4% sobre peso da farinha na formulação de pães (ZANETTI, et al., 2009).

O açúcar também melhora a textura do miolo ao atuar como retentor de umidade da massa (CANELLA-RAWLS, 2006) mantendo por mais tempo a maciez inicial e retardando o processo de endurecimento dos pães (QUAGLIA, 1991; ZANETTI, et al., 2009).

2.1.9 Sal

Segundo a Resolução RDC nº 28 da ANVISA (BRASIL, 2000a) “sal para o consumo humano é o composto por cloreto de sódio cristalizado extraído de fontes naturais, adicionado obrigatoriamente de iodo”.

O uso do sal na panificação tem função sensorial e tecnológica, contribuindo com o aroma, o sabor e favorecendo a coloração da crosta do pão (PFLAUM, et al., 2013; CAUVAIN, 2003; QUAGLIA, 1991).

Durante a mistura da massa o sal auxilia na formação do glúten, pois o glúten formado apresenta maior resistência em consequência das forças de atração eletrostáticas que ocorrem na rede de glúten com sal, devido a sua natureza iônica (QUAGLIA, 1991; PFLAUM, et al., 2013). Sem sal, a massa fica pegajosa e quebradiça, difícil de ser manipulada, e resulta em um pão pobre em volume e textura (CANELLA-RAWLS, 2006).

Por ser higroscópico, o sal tem efeito nas características de conservação do pão, em clima seco auxilia a manter a qualidade, pois diminui a perda de umidade. Em clima úmido causa o declínio da durabilidade, pois aumenta a velocidade da diminuição da crocância da casca (QUAGLIA, 1991; CANELLA-RAWLS, 2006). A porcentagem mais indicada de sal em uma massa é de 1,5% a 2,0% no máximo (QUAGLIA, 1991; ZANETTI, et al., 2009).

2.1.10 Gordura

Os triglicerídeos, ou óleos e gorduras, vêm sendo utilizados há séculos na panificação. Podem ser utilizados a margarina, manteiga, gordura hidrogenada, ou os óleos (CANELLA-RAWLS, 2006).

As gorduras são utilizadas para dar sabor, cor, textura e melhorar a retenção de gás da massa e, assim, aumentar o volume e a maciez dos pães (CAUVAIN, 2003; QUAGLIA, 1991; ZANETTI, et al., 2009). Esses efeitos se devem a ação emulsificante dos lipídeos polares sobre o amido e as proteínas, auxiliando, ainda, na retenção dos gases na massa produzindo uma crosta mais fina e macia (QUAGLIA, 1991; EL-

DASH, CAMPOS, GERMANI, 1994). As gorduras também auxiliam no manuseio da massa, deixando-a menos pegajosa (ZANETTI, et al., 2009).

Durante a gelatinização do amido a amilose é lixiviada do grânulo e, ao formar o gel, a longa cadeia dos ácidos graxos e lipídeos adicionados como emulsificantes se fixam a hélice da amilose, retardando o processo de retrogradação (QUAGLIA, 1991). A dosagem de gordura em massa de pães é, em geral, de 1 a 4% sobre a massa de farinha (ZANETTI, et al., 2009).

2.1.11 Aditivos Melhoradores

Segundo a Resolução RDC nº 540 da ANVISA (BRASIL, 1997) “aditivo alimentar é qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento. Ao agregar-se poderá resultar em que o próprio aditivo ou seus derivados se convertam em um componente de tal alimento. Esta definição não inclui os contaminantes ou substâncias nutritivas que sejam incorporadas ao alimento para manter ou melhorar suas propriedades nutricionais”.

Os aditivos são utilizados para melhorar o potencial de panificação de farinhas. Diferentes processos utilizam diferentes formulações de aditivos, assim, a funcionalidade do aditivo depende do padrão do produto que se deseja obter (CAUVAIN, 2003).

Os aditivos podem ser classificados como reforçadores da massa e amaciadores de miolo. Geralmente, a fortificação da massa é atribuída à interação das proteínas do glúten com o surfactante, já a maciez é explicada pela complexação da amilose com o surfactante (LORENZ, KULP, 1991).

De acordo com Cauvain (2003), há uma variação entre os aditivos utilizados em panificação que são divididos, em geral, em agentes oxidantes, redutores e emulsificantes.

Os agentes oxidantes se complexam com as moléculas de proteína do glúten gerando mais força e elasticidade à massa, pois promovem a formação de ligação

dissulfeto, aumentando a elasticidade das massas, resistência ao amassamento e maior tolerância à fermentação (CAUVAIN, 2003; SANDHU, MANTHEY, SIMSEK, 2011). Os agentes oxidantes utilizados em panificação são o ácido ascórbico, azodicarbonamida e bromato de potássio, sendo esse último proibido no Brasil pela Lei nº10.273 (BRASIL, 2001). A dosagem do ácido ascórbico na panificação varia, normalmente, entre 50 ppm e 300 ppm sobre a massa de farinha. As dosagens de azodicarbonamida são limitadas em 45 ppm (CARVALHO JUNIOR, 2001).

Os agentes redutores tais como a L-cisteína, são adicionados à massa para proporcionar maior extensibilidade e maquinabilidade, pois diminuem a resistência da rede de glúten, modificando as ligações dissulfeto em ligações do tipo SH (enxofre hidrogênio). A dosagem da L-cisteína varia de 5 ppm a 50 ppm (CAUVAIN, 2003; CARVALHO JUNIOR, 2001).

Os emulsificantes quando adicionados à massa apresentam interação com o amido e proteínas formadoras do glúten, aumentando a tolerância à fermentação, a maciez e volume dos pães (CAUVAIN 2003). No processamento de pães os emulsificantes são divididos em dois grupos: os condicionadores de massa e os amaciantes (CARVALHO JUNIOR, 2001).

Os emulsificantes condicionadores apresentam interação com as proteínas gliadina e glutenina, promovendo maior tolerância à fermentação favorecendo a retenção de gás, resultando em pães com maior volume e com miolo mais uniforme. Já os amaciantes interagem com a cadeia de amido diminuindo a firmeza dos pães durante a vida de prateleira. Dentro do grupo de amaciantes os principais emulsificantes para panificação são a lecitina de soja, monoglicérides (dosagem de 500 a 5000 ppm) e diglicérides. No grupo de emulsificantes condicionadores estão o diacetil tartárico éster de mono e diglicérides (datem) (dosagem de 500 a 5000 ppm) e o polisorbato. Os emulsificantes são estearoil – 2 lactil lactato de sódio (SSL - dosagem de 500 a 5000 ppm) e estearoil – 2 lactil lactato de cálcio, que apresentam característica amaciante e condicionante (CARVALHO JUNIOR, 2001).

A Resolução RDC nº 383 da Anvisa (BRASIL, 1999) aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos 7 – produtos de panificação e biscoitos.

2.1.12 Coadjuvantes Tecnológicos

Enzimas são catalisadores orgânicos, constituídas por estruturas proteicas e seu sistema de atuação é comumente comparado ao esquema chave-fechadura pela especificidade da chave para com a fechadura e pela possível reutilização da chave (ZANETTI, et al., 2009). As enzimas α -amilases (de origem fúngica ou naturalmente presentes no trigo), hemicelulases e algumas proteases são usualmente utilizadas em panificação (CAUVAIN, 2003).

A Resolução RDC nº 383 da Anvisa (BRASIL, 1999) também estabelece os limites para o uso de enzimas como coadjuvantes de tecnologia.

A α -amilase fúngica de *Aspergillus oryzae* em pó, é rotineiramente adicionada na farinha de panificação para compensar os baixos teores naturais de amilase da farinha de trigo e açúcares fermentescíveis para as leveduras. Seu suplemento estimula o crescimento de levedura, volume de fermentação e melhora a qualidade do pão (HOPEK, ZIOBRO, ACHREMOWICZ, 2006).

As α -amilases são endoenzimas por clivarem as moléculas de amilose e de amilopectina internamente, produzindo oligossacarídeos. A α -amilase age apenas nas ligações α -1,4 (DAMODARAN, PARKIN, FENNEMA, 2010) formando também algumas unidades de menor peso molecular tais como a glicose.

As α -amilases maltogênicas hidrolisam ligações glicosídicas α -1,4 de polímeros de amido quase que exclusivamente em maltose (GOESAERT, et al., 2009b). As α -amilases maltogênicas são ativas na temperatura de gelatinização do amido, e inativadas após o forneamento do pão (MATVEEVA, BELLIDO, GAZZOLA, 2012). Alguns estudos sugerem que a α -amilase maltogênica produzida por *Bacillus stearothermophilus* possui característica de exoamilase em altas temperaturas, porém, é caracterizada como uma endoamilase (GOESTAERT, BIJTTEBIER, DELCOUR, 2010; GOESAERT, et al., 2009b).

A α -amilase maltogênica hidrolisa as extremidades da cadeia de amilopectina, a estrutura primária da cadeia fica intacta, resultando em grânulos de amido com reduzida taxa de retrogradação e recristalização. Assim, a resiliência e a maciez dos pães são mantidas durante a vida de prateleira do produto (MATVEEVA, BELLIDO, GAZZOLA, 2012).

Whitehurst, Oort (2009) sugerem na FIGURA 3 a ação amilolítica da α -amilase, α -amilase maltogênica, β -amilase e amiloglucosidase na estrutura da amilopectina.

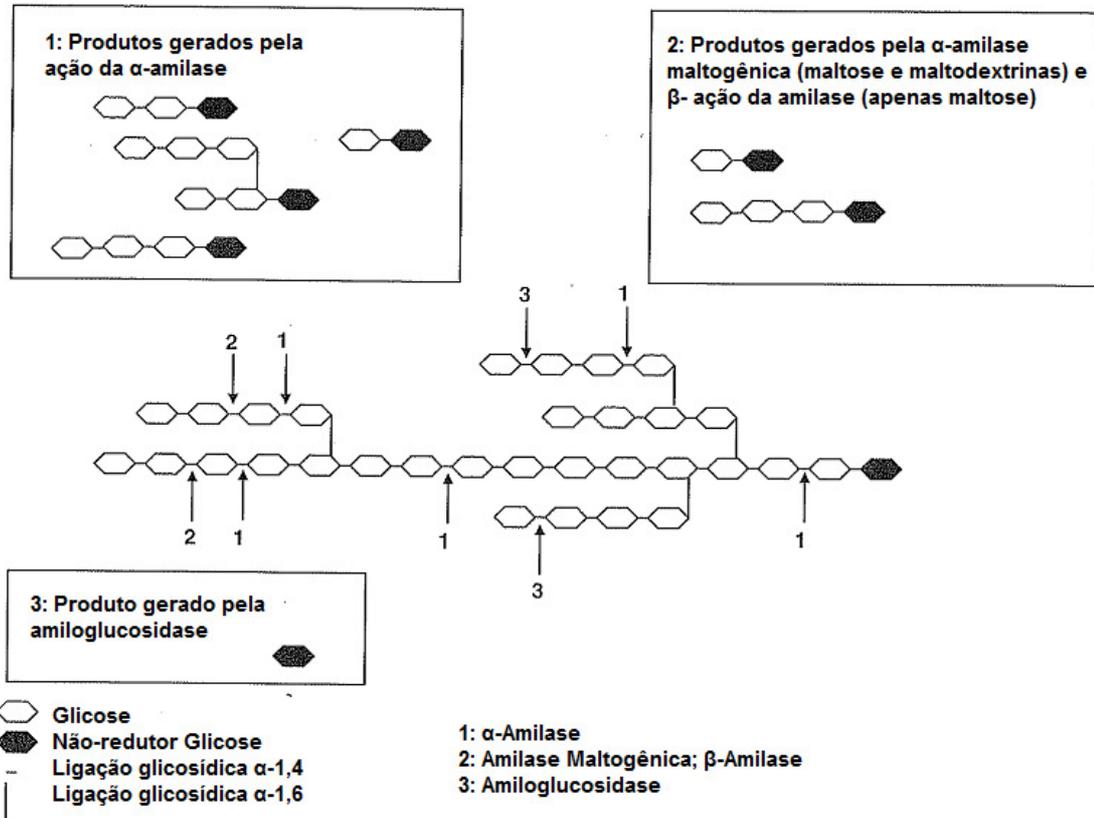


FIGURA 3 - SÍTIOS DE ATAQUE E PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO DE ENZIMAS AMIOLÍTICAS
 FONTE: WHITEHURST, OORT (2009).

2.2 PROCESSAMENTO DO PÃO DE FORMA

São vários os métodos de processamento do pão, que podem ser agrupados em dois tipos principais: método direto e indireto. No método indireto os ingredientes são misturados em dois estágios, sendo que no primeiro é elaborada uma massa (esponja) com o propósito de permitir a propagação do fermento antes de adicioná-lo aos demais ingredientes que compõem a massa. No método indireto é possível fabricar quantidades maiores de massa a partir de uma menor quantidade de levedura. No método direto os ingredientes são misturados em um único estágio, sem nenhum procedimento preliminar, sendo mais rápido que o método indireto, onde os

ingredientes devem ser misturados até perfeita homogeneização (QUAGLIA, 1991; CANELLA-RAWLS, 2006; ZANETTI, et al., 2009).

O processamento do pão, de modo geral, consiste nas etapas de mistura da massa, divisão, repouso, moldagem, fermentação, cocção (assamento) e resfriamento.

2.2.1 Mistura

A massa para pão é composta basicamente por farinha de trigo e água e pode ser obtida através de procedimentos que envolvem a mistura, o batimento / amassamento (QUAGLIA, 1991).

Em essência, a mistura é a homogeneização dos ingredientes e o amassamento tem impacto no desenvolvimento da rede de glúten, que só será desenvolvida após a mistura inicial (CAUVAIN, 2003), quando a mistura de farinha de trigo e água é amassada, formando uma massa viscoelástica (DAMODARAN, PARKIN, FENNEMA, 2010).

Para Cauvain (2003), os processos que ocorrem na fase de mistura podem ser resumidos como:

- A dispersão uniforme de todos os ingredientes da formulação;
- Dissolução e hidratação dos ingredientes, em particular as proteínas da farinha e o amido danificado;
- O desenvolvimento da rede de glúten resultante da energia mecânica de mistura;
- A incorporação de bolhas de ar no interior da massa;
- Formação de uma massa com propriedades adequadas para o processamento subsequente.

2.2.2 Divisão e Modelagem

A divisão e a pesagem da massa são etapas sucessivas ou simultâneas que seguem à mistura ou, em alguns processos, à fermentação. Esse processo tem por objetivo a obtenção de frações de massa em quantidade determinada, regulares e apropriadas aos pães que devem ser fabricados (GUARIENTI, 2004). Nessa etapa a massa é dividida em partes iguais, seguida de boleamento, para que adquira forma arredondada e superfície lisa (EL-DASH, CAMARGO, DIAZ, 1983). Após esse processo, a massa é mantida em repouso por alguns minutos cobertas para evitar o ressecamento superficial pela perda de umidade para o meio ambiente (ZANETTI, et al., 2009).

A modelagem tem o objetivo dar a forma desejada ao pão. Para pão de forma a massa é colocada na modeladora, para obter o modelo tradicional que é tipo rocambole. A dobra da massa deve ficar em contato com a superfície da forma de assamento para que o pão não assuma um formato irregular (ZANETTI, et al., 2009).

2.2.3 Fermentação

A fermentação da massa constitui uma etapa básica no processo de panificação, responsável pela textura e aroma do pão, pela formação de alvéolos internos e pelo aumento do volume da massa (GUARIENTI, 2004). Durante esse processo, o oxigênio e nutrientes da massa são consumidos rapidamente pelas leveduras, com formação de gás carbônico e água (HOSENEY, 1994).

De acordo com Quaglia (1991) e Canella-Rawls (2006) a fermentação biológica pode ser dividida em duas fases: o 'repouso' e o 'dimensionamento'. O 'repouso' é definido como o período que a fermentação primária ocorre entre o final do amassamento e pesagem da massa, durante o qual a massa sofre uma série de transformações que conferem propriedades físicas que a permitem cortá-la e moldá-la. Já o 'dimensionamento', fermentação secundária, indica o intervalo de tempo compreendido desde que é moldada até o assamento. A temperatura da massa em torno de 28°C é fundamental para a atividade do fermento.

O tempo ótimo de fermentação da massa é determinado quando o volume da massa atinge o ponto ótimo de retenção dos gases e é determinado por fatores como: método de fabricação empregado, quantidade de leveduras, temperatura da fermentação e a qualidade da farinha e dos ingredientes (EL-DASH, CAMPOS, GERMANI, 1994). Um curto tempo de fermentação produz pães de volume reduzido, miolo fechado, crosta grossa e cor avermelhada da crosta. Já um tempo excedente de fermentação resulta em pães com alveolagem grosseira, textura ruim e sabor e aroma excessivamente ácidos (GUARIENTI, 2004).

Em casos de temperaturas acima de 28°C a fermentação deve ser curta, de 1 hora à 1 hora e 30 minutos. Para tempos de fermentação entre 2 a 4 horas a temperatura deverá ser de 25 a 27°C e, para períodos mais longos, de 23 a 25°C (QUAGLIA, 1991).

2.2.4 Cocção

No forno, o volume da massa aumenta (chamado de salto de forno) devido à produção contínua de gás carbônico resultante do processo fermentativo até a desnaturação enzimática e morte celular da levedura. O amido gelatiniza e o glúten sofre coagulação, retendo bolhas de gás e formando a textura do miolo (EL-DASH, CAMARGO, DIAZ, 1983).

As enzimas presentes na massa são inativadas em diferentes temperaturas de massa, sendo que a α -amilase se mantém ativa até 75°C. A partir de 98°C ocorre a evaporação de água e inicia-se a formação de coloração da casca devido à reação de Maillard e caramelização superficial. O álcool evapora e é liberado o aroma característico da cocção (BENNION, 1970; CANELLA-RAWLS, 2006).

Cada produto tem especificidades em relação ao forneamento. Por isso, a temperatura precisa ser avaliada de acordo com o equipamento em questão e com relação às características do produto (ZANETTI, et al., 2009). O tempo de cocção varia de acordo com o tipo e tamanho do pão, para pães de forma, a temperatura varia de 200°C a 220°C, de 30 a 40 minutos (CARVALHO JUNIOR, 2001).

2.2.5 Resfriamento

O resfriamento do pão é uma etapa tão importante quanto às demais. O produto deve ser resfriado em ambiente limpo e livre de contaminações, principalmente por esporos de mofo (GUARIENTI, 2004).

Na indústria de pães, devido ao alto volume, o resfriamento ocorre através de esteiras em temperatura ambiente antes de serem fatiados e embalados (ZANETTI, et al., 2009). Os pães de forma devem ser retirados das formas para o resfriamento e posteriormente, fatiados e embalados. O fatiamento e o empacotamento realizados com o pão quente podem favorecer o desenvolvimento de fungos, do tipo *Rhizopus nigricans*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.* e *Neurospora sitophila*. Para combater fungos e algumas bactérias na crosta dos produtos de panificação podem ser utilizados antimofos líquidos que são borrifados sobre os pães após o resfriamento (CARVALHO JUNIOR, 2001).

2.3 CONTROLE DE QUALIDADE DA FARINHA DE TRIGO

A reologia é o estudo de como os materiais deformam quando uma força é aplicada. Tradicionalmente, as medições são realizadas com farinógrafo ou alveógrafo e referidas como medições reológicas (HOSENEY, 1994). A determinação das propriedades reológicas da massa é essencial para a produção de pães, pois impactam no comportamento da massa durante a manipulação mecânica, influenciando, assim, na qualidade no volume dos pães, nos quais, pode-se citar volume dos pães, tolerância da massa ao batimento, características do miolo, rendimento, cor da crosta, salto de forno, firmeza do miolo e tolerância à fermentação (DHAKA, GULIA, KHATKAR, 2012; XHABIRI, et al., 2013; CARVALHO JUNIOR, 2001).

2.3.1 Controle de Qualidade Reológico

As propriedades reológicas da massa têm importância na qualidade do produto final e são necessárias para prever o comportamento dos distintos tipos de farinha durante o processo de panificação. Quaglia (1991) e Carvalho Junior (2006) sugeriram os seguintes equipamentos tradicionais para o controle de qualidade reológico da farinha de trigo: Farinógrafo, Extensógrafo, Alveógrafo e *Falling Number*.

O farinógrafo é um equipamento que registra a resistência da massa à mistura. A resistência oferecida à massa pelas pás do misturador é transmitida através de um dinamômetro para uma caneta que traça uma curva resposta (FIGURA 4). A parte ascendente, início do gráfico (FIGURA 4), indica um aumento na resistência com o tempo de mistura e é interpretada como o tempo de desenvolvimento da massa (TD). O ponto de máxima resistência é identificado como o desenvolvimento ótimo da massa, e é seguido de uma diminuição na consistência e resistência à mistura (POMERANZ, 1988).

Obtém-se também a absorção de água que representa a quantidade de água necessária para que a massa atinja a consistência de 500 UF (Unidades Farinográficas). Também é fornecido o tempo ótimo de mistura e a estabilidade da massa, que é o tempo que a massa permanece consistente durante o batimento, e o índice de tolerância à mistura (ITM) que é o valor da diferença da consistência (em UF) entre o pico da curva no pico máximo e a curva após 5 minutos do ponto de consistência máximo (POMERANZ, 1988; SANTOS, et al., 2015).

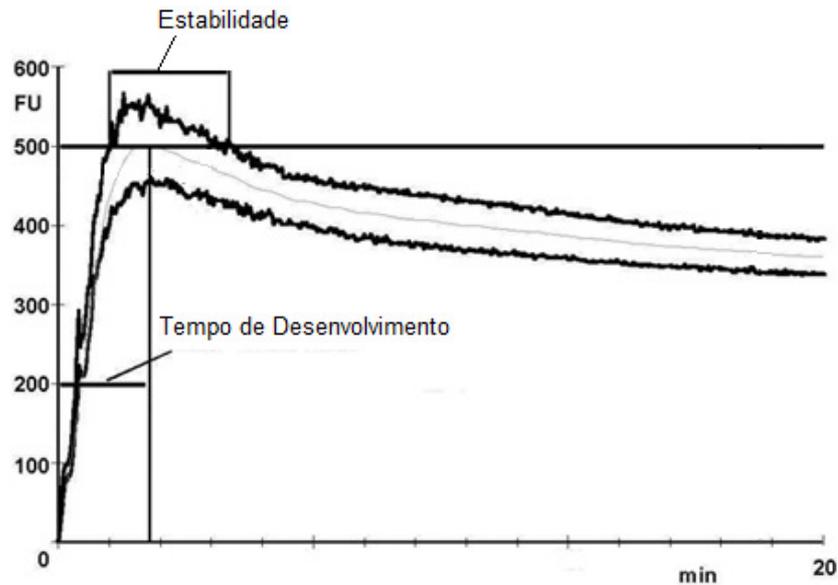


FIGURA 4 - REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DA ANÁLISE DE FARINOGRAFIA MEDIDO EM FU – FARINOGRAPH UNITS VERSUS TEMPO
 FONTE: BENNION (1970).

O alveógrafo Chopin utilizado para determinar as características de tenacidade, extensibilidade e de força da farinha, é composto por uma masseira (equipada com pá para mistura e extrusão da massa), câmara de repouso e um aparato onde a massa teste é colocada. Sob pressão de um volume de ar determinado, a massa é tensionada até sua ruptura. Então será obtido um gráfico chamado de alveograma – FIGURA 5 (CHOPIN, 2015).

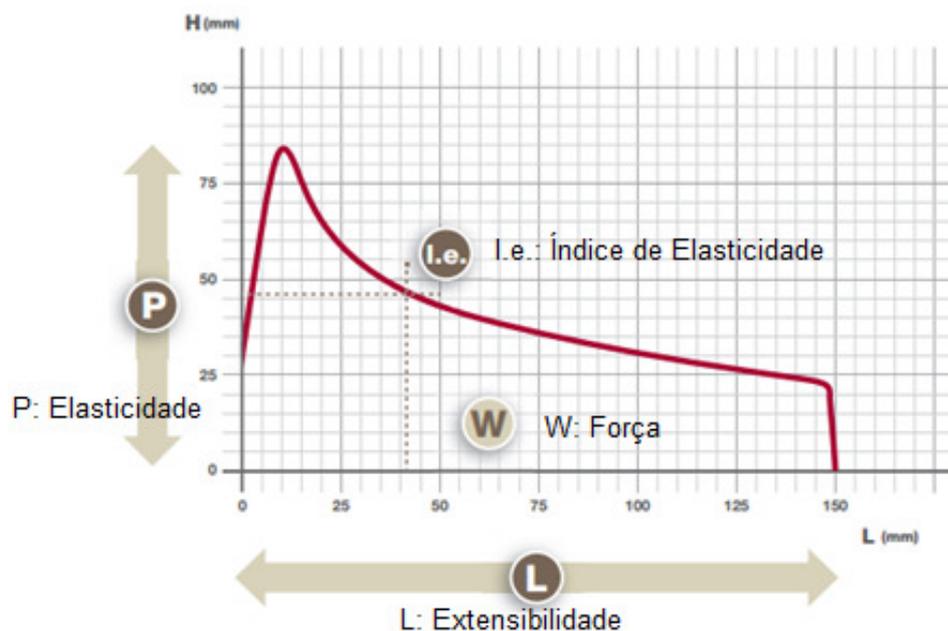


FIGURA 5 – EXEMPLO DE ALVEOGRAMA DE FARINHA DE TRIGO COM INDICAÇÃO DOS PARÂMETROS.
 FONTE: CHOPIN (2015)

Os parâmetros obtidos no alveograma são apresentados na (TABELA 3) (SANTOS, et al., 2015).

TABELA 3 – DEFINIÇÃO DOS PARÂMETROS DA ANÁLISE DE ALVEOGRAFIA.

Parâmetro	Definição
P	Elasticidade ou tenacidade é a média da altura máxima no eixo das ordenadas, medida em mm e multiplicada pelo fator 1,1. O valor é expresso sem decimais. Esse resultado é relativo à resistência da massa à deformação.
L	Extensibilidade é a média do eixo das abscissas medida no momento da ruptura da bolha. O resultado é expresso em mm e sem decimais e é relativo a extensibilidade da massa.
P/L	Relação da curva dos valores de elasticidade por extensibilidade
W	Força da massa corresponde ao trabalho mecânico necessário para expandir a bolha até sua ruptura, expressa em 10^{-4} J
I.e.	Índice de Elasticidade: $P200/P$ P200 é medido após o equipamento insuflar 200 ml de ar na massa, que corresponde a 4 cm após o início da curva. A relação $P200/P$ é relativa a elasticidade da massa.

FONTE: SANTOS, et al. (2015).

O equipamento *Falling Number* realiza a medida indireta da atividade da α amilase endógena do trigo, sendo o resultado expresso em segundos. Quanto menor o valor de *Falling number* maior é a atividade enzimática e, do inverso, quanto maior o valor de *Falling number*, menor a atividade enzimática. Para valores altos de *Falling number* haverá dificuldade de fermentação do pão com um miolo duro e compacto e aparência pálida. Já um valor excessivo baixo a massa se torna pegajosa e difícil de trabalhar, com miolo gomoso e casca muito escura (QUAGLIA, 1991).

O amilógrafo determina a viscosidade de uma suspensão de farinha-água em função da temperatura. Deste modo avalia as características de gelatinização do amido, atividade amilolítica e propriedade de retrogradação (QUAGLIA, 1991).

O equipamento mais recente utilizado para determinar a qualidade reológica da massa é o Mixolab® do fabricante Chopin Technologies (Villeneuve-la-Garenne, França), que permite caracterizar o comportamento físico-químico da massa quando submetida à mistura e variação de temperatura (XHABIRI, et al., 2013). O Mixolab® é

um método semelhante aos métodos clássicos: farinógrafos, mixógrafos, extensógrafos ou alveógrafos, os quais realizam a previsão de qualidade do produto final simulando os passos do processo de panificação (STOENESCU, et al., 2010).

De acordo com Collar, Bollain e Rosell (2007), os resultados analíticos utilizando o equipamento Mixolab® permitem a caracterização completa de farinhas, se comparado aos equipamentos tradicionais, em termos de:

- Qualidade das proteínas pela determinação dos parâmetros absorção de água, estabilidade, elasticidade e propriedades de enfraquecimento;
- Comportamento do amido durante a gelatinização e retrogradação;
- Modificação da consistência quando adicionados aditivos;
- Indicação da atividade enzimática de proteases, amilases.

O resultado da análise no Mixolab® será um gráfico, chamado *standard* conforme FIGURA 6 (AACC, 2010; CHOPIN 2012).

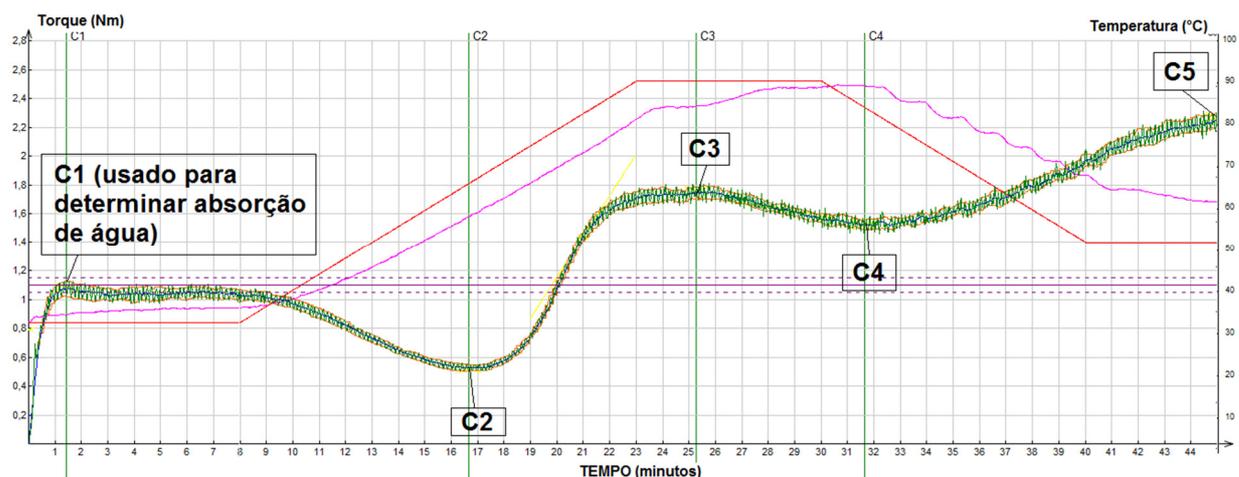


FIGURA 6 – GRÁFICO MIXOLAB® - PARÂMETROS LIGADOS AO TORQUE.

A CURVA VERDE INDICA O TORQUE REGISTRADO PELO SENSOR EM Nm; A CURVA VERMELHA INDICA A TEMPERATURA DE MISTURA (°C); A CURVA ROSA INDICA A TEMPERATURA DA MASSEIRA (°C); E A CURVA PÚRPURA CENTRAL INDICA A CONSISTÊNCIA (1,1 Nm) QUE DEVE SER ATINGIDA DURANTE A DETERMINAÇÃO DA HIDRATAÇÃO. C1, C2, C3, C4 E C5: CONSTANTES DO TESTE.

FONTE: ADAPTADO AACC (2010), CHOPIN (2012)

A descrição dos parâmetros da análise Mixolab® está na (TABELA 4).

TABELA 4 – PARÂMETROS MIXOLAB®, ABREVIACÕES E DESCRIÇÕES

Parâmetro	Abreviação	Descrição
Absorção de água (%)	WA	A absorção de água é medida em um primeiro teste a fim de encontrar a quantidade ideal para que a massa formada tenha consistência de 1,1 Nm +/- 0,05 Nm no torque de C1.
Torque C1	C1	Consistência objetivo que deve ser de 1,1 Nm +/- 0,05 Nm
Torque C2	C2	Menor torque da massa durante o aquecimento. Quando é iniciado o aquecimento da massa, a proteína enfraquece, resultando em um decréscimo da consistência.
Torque C3	C3	Torque máximo de gelatinização do amido.
Torque C4	C4	C4 representa a estabilidade da massa ao aquecimento. C4 aparecerá apenas se houver um decréscimo da medida de C3 (maior que 0,04Nm).
Torque C5	C5	C5 representa o torque obtido no final do teste, após o resfriamento da massa onde é observado a retrogradação do amido.
Tempo para C1 (min)	T1	Tempo necessário para atingir C1
Estabilidade (min)	<i>Stability</i>	A estabilidade é o tempo próximo de 1 em que o torque é maior ou igual ao valor real de C1 (C1-11%).
Amplitude (Nm)	Amplitude	Largura da curva em C1. Quanto maior o valor, mais elástica é a farinha.
<i>Slope</i> α (Nm/min)	α	Velocidade de enfraquecimento da proteína pelo efeito do calor.
<i>Slope</i> β (Nm/min)	β	Velocidade da gelatinização do amido.
<i>Slope</i> γ (Nm/min)	γ	Velocidade da degradação enzimática

FONTE: ADAPTADO AACC (2010), CHOPIN (2012).

2.3.2 Análise do Amido Danificado

Como consequência da moagem do trigo, parte dos grânulos de amido são danificados mecanicamente, o que influencia nas propriedades reológicas do amido. Os danos nos grânulos de amido se correlacionam com as variáveis absorção de água, velocidade de fermentação, cor, volume e vida de prateleira dos pães (LEMAN, et al., 2006; GUTKOSKI, et al., 2007a).

Grânulos fragmentados produzidos durante a moagem não apresentam birrefringência e a porcentagem de danificação varia com a sensibilidade de moagem e a dureza do grão de trigo. A absorção de água durante o amassamento e a degradação enzimática do amido aumenta com a intensidade de danificação (GUTKOSKI, et al., 2007a).

A determinação do amido danificado presente na farinha de trigo pode ser realizada por método amperométrico ou método espectrofotométrico. Ranhotra, Gelrothe e Eisenbraun (1992) realizaram um estudo comparativo entre os métodos analíticos amperométrico e espectrofotométrico, com o objetivo de criar uma correlação entre os métodos e os resultados em porcentagem de amido danificado. Os pesquisadores concluíram que, para muitos tipos de farinhas, em especial farinhas de panificação os resultados da análise amperométrica podem ser convertidas nos resultados da análise espectrofotométrica.

2.3.3 Análise Colorimétrica

A cor da farinha de trigo afeta muito a cor do produto final. Geralmente uma cor branca creme é desejada para farinha destinada ao preparo de pães. A cor pode ser determinada usando o colorímetro Konica Minolta, método que propicia resultados rápidos em valores de L^* , a^* e b^* por análise de reflectância (CAUVAIN, 2003).

A tonalidade, luminosidade e saturação são os três atributos da cor que podem ser dispostos em conjunto para criação de um sólido tridimensional, conforme FIGURA 7 A. As tonalidades formam o aro externo do sólido, com a luminosidade com

eixo central e a saturação avançando horizontalmente nos raios (KONICA MINOLTA, 1998).

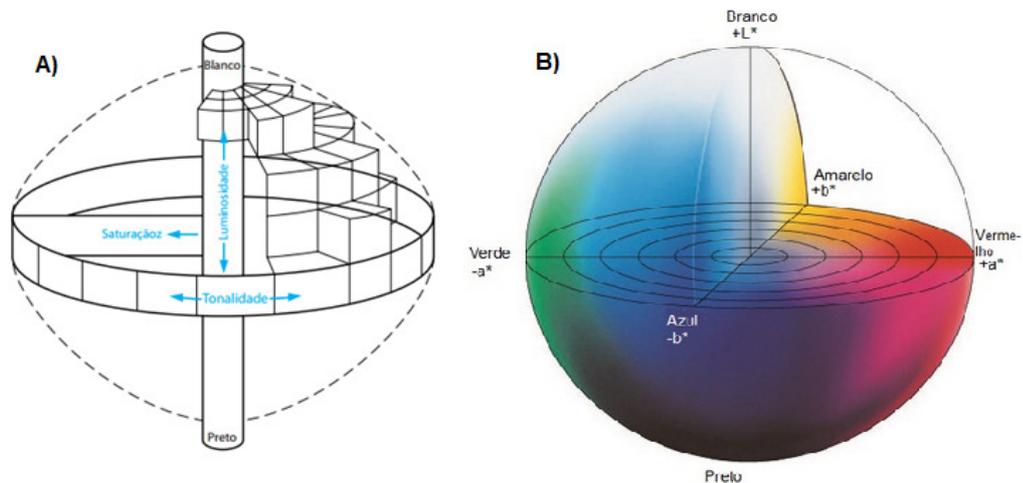


Figura 7- A) SÓLIDO EM TRÊS DIMENSÕES ILUSTRANDO A DISTRIBUIÇÃO DOS ATRIBUTOS DA COR. B) REPRESENTAÇÃO DE UM SÓLIDO DE COR NO ESPAÇO DE COR $L^*a^*b^*$
 FONTE: KONICA MINOLTA (1998)

Muitos métodos foram criados para a determinação das cores, no entanto, em 1976 o método definido pela *CIE – Comissão Internationale de l'Eclairage* chamado espaço colorimétrico $L^*a^*b^*$ (também conhecido como *CIE LAB*) foi criado para dar maior uniformidade nas análises colorimétricas. Nesse sistema L^* indica a luminosidade enquanto a^* e b^* são as coordenadas cromáticas. A FIGURA 7 B representa um sólido de cores no espaço de cor $L^*a^*b^*$, onde:

- + L^* indica a direção do branco,
- - L^* indica a direção do preto,
- + a^* indica a direção do vermelho,
- - a^* indica a direção do verde,
- + b^* indica a direção do amarelo,
- - b^* a direção do azul (KONICA MINOLTA, 1998).

Segundo a Konica Minolta (1998) o centro do sólido é considerado acromático.

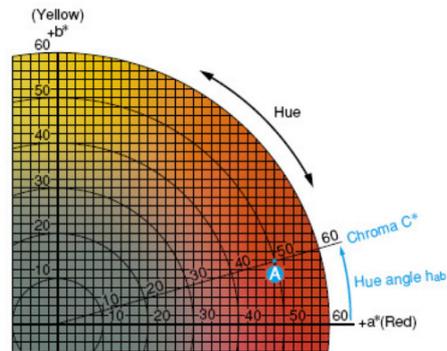


FIGURA 8 – ESPAÇO COLORÍMETRICO L^*C^*h PARA AS COORDENADAS ANGULARES
 FONTE: KONICA MINOLTA (1998)

O espaço colorimétrico L^*C^*h (FIGURA 8) é medido no mesmo diagrama do $L^*a^*b^*$, no entanto, usa as coordenadas polares em vez das coordenadas cartesianas. O índice C^* (croma) mede o grau de saturação da cor, e o h é o ângulo *hue* (termo utilizado para definir as cores em vermelho, azul, amarelo, vermelho, ou mesmo a mistura desta) que especifica a cor. O valor de C^* é zero no centro e aumenta conforme aumenta a distância do centro. Ângulo *Hue* (h) é expresso em graus, onde 0° está no eixo $+a^*$, 90° no eixo $+b^*$, 180° no eixo $-a^*$ e 270° no eixo $-b^*$ (KONICA MINOLTA, 1998).

2.3.4 Análise de Textura

A textura é analisada pelo atributo de qualidade que denota o frescor do produto e a excelência da preparação de alimentos, que contribui para o prazer de comer (SZCZESNIAK, 2002).

A análise de textura instrumental determina quantitativamente a força requerida para comprimir o centro da fatia de pão em uma distância pré-determinada (AACC, 1999). O protocolo *Bread Firmness* do equipamento texturômetro determina a textura de pães e similares em termos de firmeza, sendo a firmeza, neste método, definida como força, em gramas, quilogramas ou em Newtons (CRUZ, 2012).

Os valores avaliados na análise de textura instrumental servem de referência para avaliação geral de formulações, processos e funcionalidade de ingredientes ao longo da vida de prateleira (NOVOZYMES, 2005).

2.3.5 Análise de Volume

O volume é uma importante medida de qualidade de pães fermentados e, tradicionalmente tem sido determinada por métodos de deslocamento de sementes (AACC, 2014). Na metodologia por deslocamento de sementes o volume específico do pão assado é calculado em relação a sua massa (cm^3/g), onde se determina o volume de sementes necessárias para cobrir a amostra até um ponto pré-estabelecido em um béquer padronizado e com volume conhecido (GUTKOSKI, et al., 2005).

Em outubro de 2014 a AACC - *American Association of Cereal Chemists*, entidade responsável pela aprovação de métodos reconhecidos internacionalmente, aprovou o método de determinação do volume de pães por topografia a laser, pelo método BVM – *Bread Volume Meter*, onde a topografia a laser é usada para modelar digitalmente uma amostra e determinar o volume específico (AACC, 2014).

2.3.6 Análise de Atividade de Água

A estabilidade química e biológica de um alimento depende da disponibilidade da água livre, bem como o conteúdo de água total. No pão parte da água presente pode estar ligada a grupos químicos reativos das numerosas moléculas e macromoléculas que o compõe (açúcares, amido, proteínas simples ou conjugadas). A água livre é a porção de moléculas não comprometidas nas uniões intermoleculares e disponíveis para serem metabolizadas por parte das bactérias e é expressa como a_w “*Water Activity*” ou atividade de água (QUAGLIA, 1991).

A qualidade do pão deve-se muito às propriedades das proteínas e do amido presentes na farinha de trigo. O papel da água durante o processo de cocção dos pães é fundamental e, durante o armazenamento, muitas características sensoriais sofrem mudanças gerando o endurecimento do pão, conhecido como *staling*, que estão frequentemente ligados à movimentação da água no pão (CAUVAIN, 2003).

Para pães os valores de atividade de água inferiores a 0,75 indicam melhor conservação biológica dos produtos a uma umidade relativa de 18 a 25% (QUAGLIA, 1991). A análise de atividade de água pode ser realizada por técnicas laboratoriais e

também através de equipamentos segundo metodologia da *Association of Official Agricultural Chemists* - AOAC 978.18, onde é criada uma atmosfera especial para a amostra e realizada a medida manometricamente da água livre presente no alimento.

2.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento experimental é aplicado com objetivo de avaliar e selecionar variáveis significativas que afetam uma determinada resposta ou processo bem como suas possíveis interações. Possibilita a obtenção de modelos matemáticos apropriados para descrever certo fenômeno, utilizando o mínimo possível de experimentos. Permite eficiência e economia no processo experimental, sendo que o uso de métodos estatísticos na análise dos dados resulta em conclusões com objetividade científica (CALADO; MONTGOMERY, 2003).

A Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) é uma ferramenta eficiente para otimizar as propriedades de alimentos processados. Baseia-se na variação simultânea de vários fatores (variáveis independentes), previamente selecionados por sua influência nas propriedades do processo (variáveis dependentes ou respostas). Utilizando técnicas matemáticas e estatísticas, os resultados experimentais indicam uma combinação de níveis de fatores dentro de uma região ótima (BOX; HUNTER; HUNTER, 1978; BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2007).

Esta metodologia fundamenta-se na construção de modelos matemáticos empíricos que geralmente empregam funções polinomiais, quadráticas ou de ordem superior, para descreverem o sistema estudado e, conseqüentemente, dão condições de explorar (modelar e deslocar) o sistema até atingir uma região ótima (máximo e mínimo) da superfície de resposta investigada (CALADO; MONTGOMERY, 2003).

3 MATERIAL E MÉTODOS

A caracterização físico-química, a reologia da farinha de trigo, a produção dos pães de forma, o scanner das fatias dos pães e a avaliação da textura foram realizadas nos laboratórios da empresa Granotec do Brasil S.A. localizada em Curitiba, Paraná. A análise de atividade de água dos pães de forma foi realizada no laboratório de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, a determinação da atividade enzimática das enzimas amilolíticas e o monitoramento ao longo das etapas de panificação foi realizado no laboratório de Eng^a Enzimática do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos (PPGEAL) da Universidade Federal do Paraná.

3.1 MATERIAL

Para a realização do experimento foram utilizados os seguintes materiais:

- Farinha de trigo tipo 1 (embalagem de 25 kg);
- Fermento biológico seco instantâneo, armazenado em geladeira a 7°C;
- Sal refinado;
- Gordura vegetal tipo pastosa (livre de gordura trans);
- Açúcar refinado;
- Enzimas comerciais *Spring Alfa 140.000* – α -amilase fúngica (atividade mínima de 140.000 SKB/g), e *Spring Nova G3* – α -amilase maltogênica (atividade mínima de 10.000 MANU/ g) produzidas pela Novozymes, padronizadas e distribuídas pela empresa Granotec do Brasil, conforme fichas técnicas (Anexos 1 e 2).

3.2 EQUIPAMENTOS

Para as análises físico-químicas e reológicas realizadas na Granotec do Brasil, foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Colorímetro, Konica Minolta, Modelo CR-410 (Japão);
- Estufa, Quimis, Modelo Q314M222 (Brasil);
- Forno Mufla, Quimis, Modelo Q318M24 (Brasil);
- Mixolab®, Chopin, Modelo Mixolab 1 (França);
- Alveógrafo, Chopin, Modelo Alveoconsistógrafo NG (França);
- SDmatic, Chopin, Modelo SD (França);
- Scanner, HP, *scanjet* 2200c (Estados Unidos da América);
- Texturômetro, Stable Micro System, Modelo TA.XT2i (Inglaterra).

Para a determinação de atividade de água dos pães foi utilizado o equipamento:

- Determinador de Atividade de Água, Aqualab, Séries 3/3TE (Estados Unidos da América).

Para a determinação da atividade das enzimas amilolíticas comerciais realizados no laboratório de Eng^a Enzimática do Programa de Pós-Graduação de Engenharia de Alimentos, foram utilizados os equipamentos:

- Balança semi-analítica, Sartorius;
- Banho-maria, Tecnal;
- Centrífuga,
- Espectrofotômetro, Pró-Análise, UV-1600.

3.3 PREPARO DAS AMOSTRAS

A farinha de trigo foi submetida as análises físico-químicas e reológicas na forma pura e também adicionadas das enzimas comerciais α -amilase fúngica (*Spring Alfa 140.000*) e α -amilase maltogênica (*Spring Nova G3*).

A dosagem³ das enzimas foi realizada sobre a massa de farinha, conforme a na ficha técnica do fabricante e delineamento experimental. A homogeneização das amostras foi realizada em misturador Chopin, MR2L (França).

3.4 DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS

3.4.1 Determinação da Cor da Farinha de Trigo e dos Pães

A cor da farinha de trigo e da crosta dos pães foi mensurada em equipamento colorímetro Konica Minolta, modelo CR-410 (Japão), não havendo necessidade de preparo da amostra. Deve-se posicionar o canhão de medida do colorímetro na amostra, de maneira que seja ocupada toda a área de medida, então, foram dados três *flashes* e o resultado foi a média dos três *flashes*.

Foram determinados os parâmetros L^* ou luminosidade (preto 0 / branco 100), a^* (verde - / vermelho +), b^* (azul - / amarelo +). A partir dos parâmetros a^* e b^* foram determinados os índices croma (C^*), que indica a pigmentação ou saturação da cor, e *hue* (h), que representa o ângulo de tonalidade (medido em graus), através das seguintes equações (KONICA MINOLTA, 1998; HUNTERLAB, 2006):

$$C^* = \sqrt{(a^{*2} + b^{*2})} \quad (1)$$

$$h = [\arctang\left(\frac{b^*}{a^*}\right)] \quad (2)$$

3.4.2 Determinação da Umidade da Farinha de Trigo e dos Pães

³ As dosagem mínima e máxima indicadas pelo fabricante estão na ficha técnica da *Spring Alfa 140.000* – Anexo 1, e *Spring Nova G3* – Anexo 2

A análise de umidade foi realizada em estufa convencional conforme metodologia analítica oficial AACC 44-14.02 (1999), método aplicado as amostras de farinhas e pães. Duas fatias das extremidades e duas fatias centrais dos pães foram moídas em liquidificador, então, foram pesados de 2 g de amostra nas cápsulas previamente zeradas, incubadas em estufa a 130°C. As amostras permaneceram por 1 h na estufa, retiradas e colocadas no dessecador para o resfriamento, com as capsulas fechadas. Após o resfriamento foram pesadas para posterior cálculo para a determinação da umidade.

3.4.3 Determinação da Atividade de Água

A análise de atividade de água dos pães foi realizada segundo metodologia da *Association of Official Agricultural Chemists* - AOAC 978.18 (1995), onde é criada uma atmosfera especial para a amostra e realizada a medida manometricamente da água livre presente no alimento. Foram utilizadas duas fatias das extremidades e duas fatias centrais dos pães previamente moídas em liquidificador.

3.4.4 Determinação da Matéria Mineral

Foi determinado o conteúdo de matéria mineral da farinha de trigo conforme metodologia oficial da *International Association for Cereal Science and Technology* - ICC 104/1 (1990), onde as amostras foram calcinadas em forno mufla a 900°C por 3 horas.

3.4.5 Determinação do Amido Danificado

A análise de amido danificado da farinha de trigo foi realizada no equipamento SDmatic Chopin, modelo SD (França) conforme metodologia oficial AACC 76-33.01 (2007).

Nesse método, foi preparada uma solução com água, ácido bórico, iodeto de potássio e tiosulfato de sódio. Essa solução foi aquecida pelo equipamento até 36°C com a presença de corrente elétrica, que resulta na geração de iodo. O equipamento mede a corrente do iodo gerado, então, automaticamente insere 1 g de farinha de trigo, previamente pesada, na solução. O sensor do equipamento mede, então, a taxa de abaixamento da corrente.

O resultado foi mostrado no equipamento em UCD – *Unit Chopin Doubaix*, que foi convertido matematicamente para % de amido danificado, unidade da análise do Método Espectofotométrico – AACC 76-31.01 (2014).

3.4.6 Determinação de Proteínas Totais

A determinação de proteínas totais da farinha de trigo foi realizada segundo o método Kjeldhal AACC 46-12.01 (1999), utilizando-se fator de conversão de nitrogênio de 5,75.

3.5 ANÁLISES REOLÓGICAS

Na farinha de trigo pura foram realizadas as análises reológicas de alveografia, farinografia e Mixolab®. Na farinha de trigo contendo as enzimas amilolíticas, α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica, foi realizada a análise Mixolab®, conforme o delineamento experimental.

3.5.1 Análise de Alveografia

Foi realizada a análise de alveografia no equipamento Alveógrafo Chopin, modelo Alveoconsistógrafo NG (França), conforme metodologia oficial AACC 54-30.02 (1999). Para a análise de alveografia a umidade da farinha foi previamente realizada pois essa determina a quantidade de solução salina (2,5 % NaCl P.A.) a ser adicionada para a formação da massa na masseira do equipamento (AACC, 1999).

A massa foi misturada por 8 minutos e depois abriu-se a porta de extrusão da masseira e mudou-se o sentido do braço de mistura para que a massa fosse extrusada. Foram retirados 5 pedaços de massas teste que foram padronizados no tamanho e altura, e colocadas em câmara de descanso até o 28º minuto. Neste momento foi realizada a insuflação das massas para a determinação dos parâmetros do teste (AACC, 1999).

3.5.2 Análise de Farinografia

A análise de farinografia foi realizada no farinógrafo Brabender, modelo Farinograph® - E (Alemanha), que registra a resistência da massa durante a mistura conforme metodologia AACC 54-22.02 (2011). A análise foi usada para avaliar a absorção de farinhas, determinar a estabilidade e outras características da massa durante a mistura (AACC, 2011).

Para a análise, é informada no equipamento junto com a previsão de absorção de água da farinha (geralmente a primeira absorção informada é 60% na base de 14% de umidade) a umidade. O sistema, com estes dados, informa a quantidade de amostra que deve ser pesada (AACC, 2011).

O equipamento inicia a análise quando o usuário clicar o ícone *Start* do software, então, a farinha foi colocada na masseira. Após o *Start* do equipamento, com a farinha na masseira, faz-se a inclusão da água através da bureta do equipamento até a indicação da absorção indicada (AACC, 2011).

Verifica-se nos minutos iniciais se foi atingido o torque 500 UB (+/- 20 UB). Caso, não seja atingido o torque, para-se o teste e inicia-se outro com hidratação adaptada, informada pelo software para que seja alcançada a consistência de 500 UB (AACC, 2011).

3.5.3 Análise no Mixolab®

Determinou-se o comportamento reológico com o uso do equipamento Mixolab® Chopin, modelo 1 (França) equipado com software versão 4.05, conforme metodologia oficial AACCC 54-60.01 (2010). Para a análise, determina-se previamente a umidade da farinha, informada no software do equipamento junto com a previsão de absorção de água da farinha (geralmente a primeira absorção informada é 60% na base de 14% de umidade). O software informa a quantidade de farinha que deve ser pesada, aproximadamente 45 g, com precisão de +/- 0,01 g (AACCC, 2010).

A análise é iniciada quando o usuário clica o ícone *Start* do software, então, coloca-se a farinha na masseira bem como o *nozzle* sobre ela. Através do *nozzle* o equipamento injeta a água da análise (AACCC, 2010). A quantidade de água (absorção de água) adicionada pode ser previamente determinada no farinógrafo Brabender (Alemanha). Os parâmetros determinados na análise são o tempo de desenvolvimento da massa (TD) (min.), estabilidade (Est.) (min.), torque máximo durante a mistura a 30°C (C1) (Nm), torque mínimo da massa durante a mistura e aumento da temperatura (C2) (Nm), torque máximo da massa que corresponde ao pico de gelatinização (C3) (Nm), torque mínimo no estágio de temperatura máxima de 90°C, associado à atividade amilolítica (C4) (Nm) e torque após o resfriamento até 50°C (C5) (Nm), associado à retrogradação e, para produtos panificados, quanto menor o valor, menor será o aumento de firmeza durante a vida útil.

3.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE AMILOLÍTICA DAS ENZIMAS COMERCIAIS

A determinação da atividade das enzimas se faz necessária, pois serve de ponto de partida para especificação da concentração em formulações de pães. Na ausência de adição de enzimas podem não ser encontrados resultados esperados em relação ao volume e a coloração do pão, pois pode haver falta de substrato (resultantes da hidrólise amilolítica) para a levedura e açúcares que participam da reação de Maillard e caramelização, resultando em um pão com menor volume específico e coloração esbranquiçada. Altas dosagens enzimáticas, além do especificado, podem reduzir a elasticidade da massa, tornando-a pegajosa durante o processamento, além da diminuição de volume e coloração escura do pão (BECKER, BARATTO, GELINSKI, 2009; QUEJI, SCHEMIN, TRINDADE, 2006).

A determinação da atividade enzimática foi realizada nas enzimas α -amilase fúngica do fabricante Novozymes (nome comercial *Spring Alfa 140.000*) de *Aspergillus oryzae* e α -amilase maltogênica do fabricante Novozymes (nome comercial *Spring Nova G3*) purificada de *Bacillus stearoothermophilus* produzida por fermentação submersa do *Bacillus subtilis*.

Foi realizado o monitoramento das atividades enzimáticas ao longo das etapas de panificação experimental, sendo coletadas aproximadamente 25 gramas de massa, que foi identificada e congelada em freezer para posterior análise. Os pontos de coleta foram:

- Após a mistura lenta (ML) da massa na masseira;
- Após a mistura rápida (MR) na masseira;
- Após a fermentação da massa (FM) (antes do forneamento);
- Produto acabado (PÃO).

3.6.1 Determinação da Atividade das Amilases Comerciais

Para a atividade das enzimas α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica (glicano 1,4- α -glicanohidrolase) foi realizado o preparo com diluição da enzima em água ultrapura 1:1000, 1:1500 e 1:2000. Foi adicionado 0,1 mL de cada solução enzimática aos tubos, com 0,2 mL de solução de amido solúvel P.A. 10 g/L e 0,2 mL de tampão acetato 0,1 M pH 5,0, incubados por 10 min. a 40°C para a α -amilase fúngica e a 60°C para a α -amilase maltogênica. As reações foram paralisadas

adicionando-se 0,2 mL do ácido dinitrosalicílico (DNS) e incubação em banho-maria a 100°C por 5 minutos. Então os tubos contendo as reações foram resfriados em banho de gelo e adicionados de 1 mL de água destilada. Após a homogeneização foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 540 nm (SAUCEDO-CASTAÑEDA, et al., 1991; BECKER, BARATTO, GELINSKI, 2009).

Para a amostra branco, o preparo enzimático foi adicionado somente após interromper a reação enzimática. Uma unidade de atividade foi definida como a quantidade de enzima capaz de liberar 1 μ mol de glicose por minuto, ou 1 μ mol de maltose por minuto, utilizando uma curva padrão de glicose / maltose de acordo com Miller (1959), Alazard e Raimbault (1981). A curva padrão, bem como os teores de glicose / maltose equivalente encontram-se apresentados no Anexo 3.

3.6.2 Determinação das Atividades Amilolíticas das Amostras

Para a determinação das atividades amilolíticas das amostras do monitoramento da panificação, foi necessário um preparo prévio das amostras. Na forma de sólida (massa e pão) foi retirada uma alíquota de 10 g da amostra e dissolvida em 100 mL de água destilada (o volume foi determinado em função da concentração de açúcares presentes. Foram realizados testes preliminares com dissolução em 50 mL). Após a dissolução, o volume foi centrifugado (5000 rpm / 15 min). Como as amostras continham açúcar não redutor (sacarose) foi necessário realizar a hidrólise da amostra, retirando 2,0 mL do sobrenadante, adicionado 2,0 mL de ácido clorídrico (HCl) 2 N, aquecido em banho maria em ebulição por 10 minutos, resfriado em banho de gelo onde foi acrescentado 2,0 mL de hidróxido de sódio (NaOH) 2N para a neutralização, completando o volume total de 6,0 mL.

O volume de 1,0 mL da solução foi utilizado para a determinação da atividade enzimática pelo método do ácido dinitrosalicílico (DNS) descrito por Miller (1959) (MALDONADE, CARVALHO, FERREIRA, 2013).

3.7 A PRODUÇÃO DOS PÃES DE FORMA

A produção dos pães de forma foi realizada na padaria experimental da empresa Granotec do Brasil. As formulações para o preparo dos pães estão descritas no item 3.7.1 Delineamento Experimental. Foi utilizado o método direto de mistura conforme etapas apresentadas no fluxograma da FIGURA 9 (GRANOTEC, 2011).

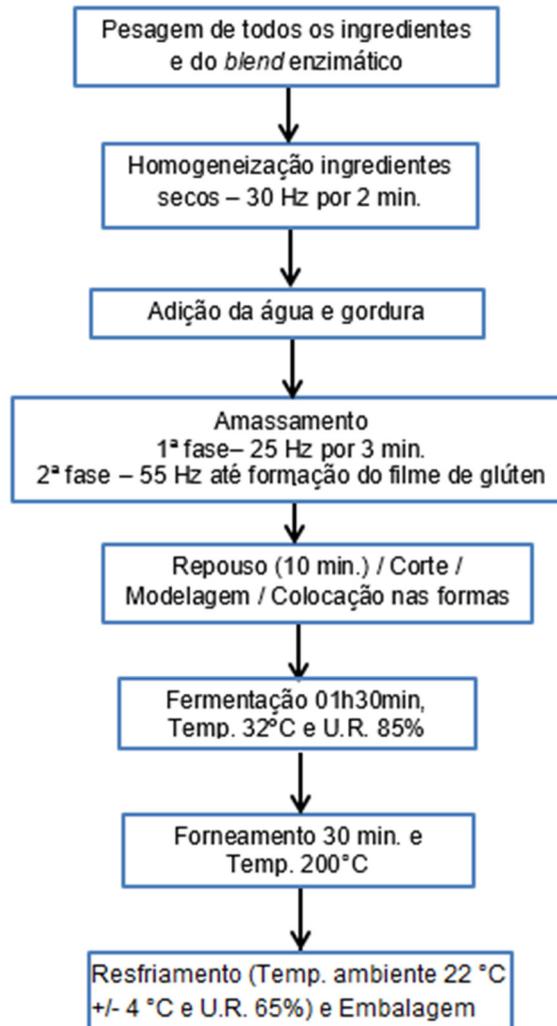


FIGURA 9 – FLUXOGRAMA MÉTODO DIRETO DE MISTURA PARA A PRODUÇÃO DOS PÃES DE FORMA.

FONTE: GRANOTEC (2011)

Para a pesagem dos ingredientes foi utilizada balança de precisão semi-analítica e para pesagem das enzimas α -amilase fúngica (*Spring Alfa 140.000*) e α -amilase maltogênica (*Spring Nova G3*) foi usada balança de precisão analítica. A quantidade de água adicionada foi baseada na absorção de água da farinha de trigo determinada previamente na análise Mixolab®, descontando os ingredientes presentes na formulação.

Foram utilizadas masseiras Diosna, modelo SP12 (Alemanha), com controles via software, de temperatura e velocidade. A primeira fase da mistura dos ingredientes secos foi conduzida a velocidade de 35 Hz por 2 minutos e, após a adição da água e gordura a mistura, a velocidade foi reduzida para 25 Hz por 3 minutos. A velocidade então foi aumentada para 55 Hz até a formação do filme de glúten (aproximadamente 6 minutos). Foi realizada a medida da temperatura final da massa.

A massa foi retirada da masseira e dividida em 6 peças de 550 g cada. As peças foram colocadas na mesa e boleadas, deixando-as repousar por 10 minutos cobertas com plástico. Após, foram modeladas em modeladora Perfecta (Brasil) em regulagem nº 8 que indica a abertura do cilindro.

Então, a massa modelada foi colocada nas formas previamente untadas com gordura vegetal hidrogenada e colocadas na câmara de fermentação por 01h30min, em temperatura de $32 \pm 1^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de 85%.

Para a cocção dos pães o forno foi pré-aquecido. Os pães foram assados por 30 minutos em temperatura de 200°C no teto e 210°C no lastro. Após a cocção, os pães foram retirados do forno e imediatamente desenformados para resfriar até a temperatura ambiente (em média 25°C e umidade relativa de 65%). Após resfriados, os pães foram aspergidos com anti-mofo dissolvido em álcool de cereais, Conserv da TFF (Brasil), fatiados em fatiadora automática Perfecta (Brasil) (fatia de 12,5 mm de largura), e embalados separadamente em embalagem polipropileno do tipo *zip*.

3.7.1 Determinação do Volume dos Pães

O volume dos pães foi obtido por topografia a laser no equipamento *BVM – Bread Volume Meter* (Perten), conforme metodologia oficial AACCC 10-14.01 (2014). O equipamento possui balança interna que deve ser zerada no início de cada teste utilizando um peso padrão de 1 kg. O pão de forma inteiro foi colocado nos suportes do equipamento e, então, iniciado o teste. Na FIGURA 10 está ilustrado o funcionamento do equipamento. O pão gira em torno de seu eixo enquanto o laser se move longitudinalmente para realizar as medições.



FIGURA 10– POSIÇÃO DO PÃO NO EQUIPAMENTO BVM (ESQUERDA) E ILUSTRAÇÃO DO MOVIMENTO DO LASER PARA LEITURA (DIREITA)
 FONTE: MANUAL DE OPERAÇÕES BVM, 2014.

Após a leitura do laser, o software mostrará o resultado de volume específico (cm^3/g).

3.7.2 Avaliação da Textura dos Pães de Forma

A análise de textura dos pães foi realizada no texturômetro, Stable Micro System, Modelo TA.XT2i (Inglaterra), equipado com probe cilíndrico de 25 mm e com software *Texture Expert Exceed*, conforme metodologia padrão AACC 74-09.01 – *Measurement of Bread Firmness by Universal Testing Machine* (AACC, 1999).

Após 1, 4, 7, 10 e 14 dias de fabricação dos pães, os pães foram analisados, sendo selecionados 3 pares de 2 fatias extraídas da parte central do pão (com espessura de 12,5 mm cada), sendo realizadas 3 medidas de firmeza de cada pão.

Um par de fatias de pão sobrepostos foram colocados na plataforma do equipamento, de forma que o probe ao descer, entrasse em contato com o miolo e não com as camadas mais externas (casca). O probe penetrou 7mm através do miolo do pão para a medida da firmeza, então o probe retornou à posição inicial. Após a realização do teste, o *software* apresentou um gráfico FIGURA 11 e o resultado analítico que foi a firmeza definida como força (Newtons) (CRUZ, 2012).

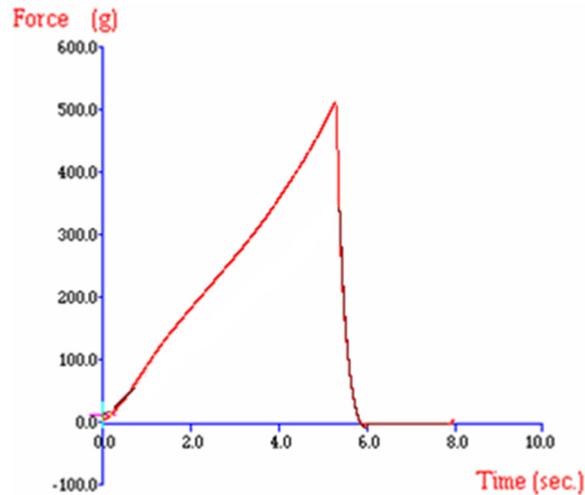


FIGURA 11 - RESULTADO DA ANÁLISE DE TEXTURA DE PÃES NO MÉTODO PADRÃO AACC 74-09.01. O PICO INDICA A FORÇA REQUERIDA PARA COMPRIMIR A AMOSTRA.
 FONTE: AACC (1999).

3.7.3 Porosidade dos Alvéolos

A análise de porosidade dos alvéolos foi realizada escaneando as fatias do pão (12,5 mm) em *scanner* HP *scanjet* 2200c (Estados Unidos da América). Foi utilizado o software ImageJ versão 1.49, Wayne Rasband, National Institutes of Health (Estados Unidos da América) para avaliação dos alvéolos. Foram determinados os parâmetros alveolares de diâmetro médio (mm).

3.7.4 Delineamento Experimental

O delineamento composto central rotacional (DCCR), com planejamento 2^2 mais 4 axiais e composto central (resolução do cubo: V+) foi aplicado. As duas variáveis independentes foram: a dosagem de α -amilase fúngica (*Spring Alfa 140.000*) e a dosagem de α -amilase maltogênica (*Spring Nova G3*), conforme TABELA 5. Os demais componentes da formulação dos pães mantiveram-se constantes bem como os parâmetros do processo.

Este delineamento teve como objetivo verificar os efeitos do comportamento da atividade amilolítica nas características dos pães na vida útil (firmeza) e as

mudanças na retrogradação avaliada reologicamente no equipamento Mixolab® (parâmetro C5).

TABELA 5 – DESCRIÇÃO DO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL DCCR E DIFERENTES DOSAGENS DAS VARIÁVEIS α -AMILASE FÚNGICA E α -AMILASE MALTOGÊNICA PARA PÃO DE FORMA

FORMULAÇÃO DOS PÃES DE FORMA	α- amilase fúngica (ppm)	α- amilase maltogênica (ppm)
F1	5,858 (-1)	17,573 (-1)
F2	5,858 (-1)	102,427 (+1)
F3	34,142 (+1)	17,573 (-1)
F4	34,142 (+1)	102,427 (+1)
F5	0 (-1,41421)	60,000 (0)
F6	40,000 (+1,41421)	60,000 (0)
F7	20,000 (0)	0 (-1,41421)
F8	20,000 (0)	120,000 (+1,41421)
F0	20,000 (0)	60,000 (0)
F0	20,000 (0)	60,000 (0)
F0	20,000 (0)	60,000 (0)
F0	20,000 (0)	60,000 (0)

A TABELA 6 apresenta a composição das 7 formulações dos pães de forma, onde é possível observar as diferentes concentrações das variáveis (enzimas α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica) e os demais componentes da formulação têm seus valores fixos.

TABELA 6-FORMULAÇÕES DOS PÃES DE FORMA

Componente	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F0	F0	F0	F0
Farinha de trigo	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%
Açúcar refinado	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%
Gordura	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%	4%
Sal	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%	2%
Fermento seco	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%	1,5%
Água	q.s. 50-60%											
α -amilase fúngica	5,858 ppm	5,858 ppm	34,142 ppm	34,142 ppm	0	40 ppm	20 ppm					
α -amilase maltogênica	17,573 ppm	102,427 ppm	17,573 ppm	102,427 ppm	60 ppm	60 ppm	0	120 ppm	60 ppm	60 ppm	60 ppm	60 ppm

3.7.5 Análises Estatísticas

Os dados obtidos foram submetidos aos testes de normalidade e se seguem distribuição normal (Shapiro-Wilk, Anderson-Darling e Kolmogorov-Smirnov) para verificação da normalidade dos dados obtidos. Para os dados com distribuição normal foi empregada a análise de variância ANOVA e o pós-teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

As análises ANOVA e o modelo de regressão foram realizados no STATISTICA 12.0 (Stat-Soft, Tulsa, OK, USA) no intervalo de 95% de confiança, para validação do modelo estatístico apresentado na EQUAÇÃO (3):

$$x = \beta_0 + \beta_1 \times \alpha AF + \beta_2 \times \alpha AM + \beta_3 \times \alpha AF^2 + \beta_4 \times \alpha AM^2 + \beta_5 \times \alpha AF \times \alpha AM \quad (3)$$

Onde:

- x : referente às variáveis dependentes, parâmetro da análise Mixolab® C5 (Nm), volume específico (cm³/g) e firmeza (N);
- β_n : coeficiente dos parâmetros;
- αAF : variável independente α -amilase fúngica;
- αAM : variável independente α -amilase maltogênica.

Após a realização dos ensaios do delineamento composto central rotacional (DCCR), com planejamento 2² mais 4 axiais e composto central (resolução do cubo: V+), a (s) variável (is) independente (s) significativas foram selecionadas e a metodologia de superfície de resposta foi aplicada para a avaliação das variáveis independentes (dosagem de α -amilase fúngica (*Spring Alfa 140.000*) e a dosagem de α -amilase maltogênica (*Spring Nova G3*)) nas respostas do parâmetro C5 (Nm) da análise Mixolab® (parâmetro da retrogradação, que indica o aumento de firmeza dos pães durante a vida útil), volume específico (cm³/g) e firmeza (N) dos pães de forma no 14º dia após a fabricação, com objetivo de obter um ponto ótimo com menor parâmetro C5 (Nm), maior volume específico (cm³/g) e menor firmeza (N) dos pães de forma. Foi avaliado o efeito combinado das variáveis independentes (concentração da α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica) sobre as variáveis dependentes (parâmetros C5 (Nm) da análise Mixolab®, volume específico (cm³/g) e firmeza (N)) utilizando o software STATISTICA 12.0 (Stat-Soft, Tulsa, OK, USA) através da desejabilidade.

4 RESULTADOS

4.1 AVALIAÇÃO DA FARINHA DE TRIGO

4.1.1 Análises Físico-químicas da Farinha de Trigo

A (TABELA 7) apresenta as características gerais da farinha de trigo em relação a umidade (%), cinzas base seca (%), proteína total (%) e amido danificado (%).

TABELA 7 - RESULTADOS FÍSICO-QUÍMICOS DA FARINHA DE TRIGO

Parâmetros	Resultado	Legislação*
Umidade (%)	13,75 ± 0,06	Máx 15%
Cinzas base seca (%)	0,52 ± 0,01	Máx 0,8%
Proteína Total (%)	10,70 ± 0,10	Mín 7,5%
Amido Danificado (%)	5,77 ± 0,08	N.A.

NOTA: média ± desvio padrão (n=3); * Instrução Normativa nº8 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2005); N.A.: Não Aplicável

O teor médio de umidade (13,75%), de cinzas (0,52%) e de proteína (10,70%) estão de acordo com o padrão especificado pela legislação brasileira, da Instrução Normativa nº8 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2005) o qual cita que a farinha de trigo Tipo 1 deve conter no máximo 15% de umidade, 0,8% de cinzas e no mínimo 7,5% de proteína.

Scheuer, et al. (2014) avaliaram farinha de trigo panificável brasileira e encontraram teores de 13,63% de umidade, 10,91% de proteína e 0,53% de cinzas. Os autores Hadnadev, Torbica, Hadnadev (2011) avaliaram farinha de trigo panificável na Sérvia, onde foi encontrado os teores de 13,10% de umidade para farinha de trigo, 11,40% de proteína e 0,47% de cinzas. Dhaka, Gulia e Khatkar (2012) avaliaram variedades de trigo panificável na Índia, e verificaram média de proteína foi de 12,22% para trigo. Esses autores afirmaram que o conteúdo e a composição da proteína do trigo é um critério muito importante na determinação da qualidade do trigo, pois, tem

relação com a absorção de água da farinha, estabilidade da massa, resistência e elasticidade da massa.

O teor de amido danificado da farinha de trigo obtido foi de 5,77%. Aquarone, et al. (2001) e Hopek, Ziobro e Achremowicz (2009) recomendam valores de amido danificado de 4 a 8% para o processo de panificação, o que auxilia a hidrólise que ocorre pelas enzimas α -amilase, pois haverá maior disponibilidade de cadeias de amido com extremidades para a hidrólise em maltose.

A TABELA 8 apresenta os resultados de cor instrumental no espaço L^* , a^* , b^* , C^* e h . A farinha de trigo apresentou luminosidade (L^*) de 92,52, o valor de a^* foi negativo e próximo de zero, indicando que não há tendência da cor da farinha para verde (negativo) ou vermelho (positivo). O valor de b^* foi de 11,13 indicando tendência da cor para o amarelo. Segundo Gutkoski, et al. (2007b) a cor da farinha de trigo é avaliada pelas medidas de luminosidade (L^*) e intensidade de amarelo (b^*), onde a luminosidade é afetada pelo conteúdo de farelo, enquanto a intensidade de amarelo está relacionada com a quantidade de pigmentos carotenóides presentes no trigo.

TABELA 8 - RESULTADOS DE COLORÍMETRIA EXPERIMENTAL DA FARINHA DE TRIGO

Parâmetros	Resultado
L^*	92,52 \pm 0,04
a^*	-0,48 \pm 0,02
b^*	11,13 \pm 0,01
C^*	11,14 \pm 0,01
h	90° \pm 0,011

NOTA: média \pm desvio padrão (n=3); L^* = positivo indica direção do branco e negativo indica direção para o preto, a^* = positivo indica direção do vermelho e negativo indica a direção para o verde, b^* = positivo indica direção do amarelo e negativo indica a direção para o azul, C^* = saturação da cor, h = ângulo *hue* onde 0° está no eixo $+a^*$, 90° no eixo $+b^*$, 180° no eixo $-a^*$ e 270° no eixo $-b^*$.

Os autores Ortolan, Hecktheuer e Miranda (2010) avaliaram a cor da farinha de trigo, em seus estudos, verificando o valor de luminosidade (L^*) de 94,86. Em relação às coordenadas de cromaticidade a^* e b^* foi encontrado -1,37 e 7,67, respectivamente.

4.1.2 Análises Reológicas da Farinha de Trigo

Nos itens a seguir estão apresentados os resultados referentes às análises reológicas de alveografia, farinografia e Mixolab®.

4.1.2.1 Resultados da Análise de Alveografia

Os resultados obtidos para a análise de alveografia da farinha de trigo estão apresentados na TABELA 9.

TABELA 9 - CARACTERIZAÇÃO REOLÓGICA DA FARINHA DE TRIGO – ALVEOGRAFIA

	RESULTADOS
<i>Alveografia</i>	
Tenacidade – P (mm _{H2O})	129,50 ± 0,707
Extensibilidade – L (mm)	70,00 ± 0,703
Relação da curva – P/L	1,83 ± 0,045
Força – W (10 ⁻⁴ J)	333,50 ± 13,44

NOTA: média ± desvio padrão (n=3)

Na análise de alveografia, o valor de tenacidade (P) para a amostra estudada foi de 129,50 mm_{H2O} (± 0,707), de extensibilidade (L) de 70,00 mm (± 0,703). Para a relação entre tenacidade / extensibilidade (P/L) foi obtido o valor de 1,83 (±0,045) e valor de força do glúten (W) de 333,50*10⁻⁴ J (± 13,44). Segundo a Instrução Normativa nº 38 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2010), a farinha de trigo apresentou valor força referente ao trigo para pão, uma vez que seu valor foi superior a 220*10⁻⁴ J. Para Fernandes, Pereira, Germani, Oiano-Neto (2008), valores de força entre 150 a 280 *10⁻⁴ J e de relação de tenacidade / extensibilidade entre 0,5 a 1,7 de farinha refinada são indicados para a produção de pães de forma, portanto, os resultados encontrados no presente estudo indicam uma farinha panificável.

4.1.2.2 Resultados da Análise de Farinografia

A TABELA 10 apresenta os parâmetros da análise de farinografia da farinha de trigo.

TABELA 10 - PARÂMETROS DA ANÁLISE DE FARINOGRRAFIA DA FARINHA DE TRIGO

ANÁLISE	RESULTADOS
<i>Farinografia</i>	
Absorção de água – Abs (%) base 14% de umidade	61,87 ± 0,15
Tempo de desenvolvimento da massa – TD (min)	2,23 ± 0,25
Estabilidade – Est (min)	12,50 ± 0,42
Índice de tolerância à mistura – ITM (UF)	32,33 ± 0,58

NOTA: média ± desvio padrão (n=3)

Pela análise de farinografia foram obtidos dados a respeito da absorção de água, estabilidade, tempo de desenvolvimento e índice de tolerância à mistura da farinha de trigo. A média de absorção de água encontrada foi de 61,87 % (base 14 % de umidade). Puppo, Calvelo e Anón (2005) obtiveram 60,8% como resultado para absorção de água de amostras comerciais de farinha de trigo e, de acordo com estes autores, farinhas com elevada qualidade tecnológica para produção de pães são aquelas que apresentam absorção de água entre 60 e 64%. Assim, de acordo com os resultados encontrados, pode-se afirmar que o parâmetro absorção da farinha de trigo é indicado para a produção de pães.

A estabilidade da massa é reconhecida como um parâmetro indicador de resistência ao amassamento e melhor qualidade tecnológica. Em relação à estabilidade, foi obtido o valor de 12,50 min (± 0,42). Segundo a Instrução Normativa nº 38 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 2010), a farinha de trigo apresentou estabilidade referente ao trigo para pão, uma vez que seu valor foi superior a 10 minutos e inferior a 14 minutos (Trigo Melhorador). De acordo com Fernandes, et al. (2008), farinha de trigo refinada com boa qualidade tecnológica para a produção de pães é aquela que exhibe tempo de estabilidade de 7,5 min ou mais, assim, de acordo com o resultado encontrado (12,5 min.), pode-se afirmar que a amostra é apta para a produção de pães.

Foi obtido o ITM de 32,33 UF ($\pm 0,58$) e, para panificação, são desejáveis valores de ITM menores que 80 UF, pois quanto maior for este índice, mais fraca será a farinha (FERNANDES, et al., 2008).

4.1.2.3 Resultados da Análise de Mixolab®

A farinha de trigo sem tratamento (controle – C) e as formulações (F) foram caracterizadas em termos de qualidade proteica e comportamento térmico-mecânico através da análise Mixolab®. Os principais parâmetros encontrados da análise, tempo de desenvolvimento - TD (min.), estabilidade - Est. (min.), C1 (Nm), C2 (Nm), C3 (Nm), C4 (Nm) e C5 (Nm) podem ser observados na TABELA 11 onde resultados apresentados e indicados com letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente ao nível de 5% ($p < 0,05\%$).

A absorção de água, o tempo de desenvolvimento da massa, estabilidade e enfraquecimento são parâmetros que se referem às características da massa durante a mistura à temperatura constante, 30 °C, que descrevem o comportamento da massa durante o processo de amassamento (BONET, BLAZCZAK, ROSELL, 2006).

A absorção de água dos testes foi mantida constante em 61,6%, base 14% de umidade da farinha de trigo, a fim de verificar a influência da dosagem enzimática.

Observando o parâmetro de TD (Tempo de Desenvolvimento), a farinha C (Controle) apresentou o maior TD, de 2,285 min., seguida da F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) (1,445 min.). O menor tempo de desenvolvimento foi da F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) (1,267 min.) e as demais formulações não apresentaram diferença significativa no TD ao nível de 5% ($p < 0,05\%$). O maior TD da formulação F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) pode ser explicado pela sua composição onde, a ausência de α -amilase fúngica resulta na não sinergia entre as enzimas e diminuição da hidrólise das cadeias amilolíticas nos primeiros minutos de mistura (30 °C), o que impacta no menor TD encontrado nos testes. Hadnadev, Torbica e Hadnadev (2011) encontraram TD de farinha de trigo de 1,43 min. Banu, et al. (2011) verificaram em estudos que amostras de farinha de trigo adicionadas de α -amilase fúngica possuem menor tempo de desenvolvimento comparada a farinha controle (sem adição da enzima).

TABELA 11 - MÉDIA DOS PARÂMETROS OBTIDOS DA ANÁLISE MIXOLAB® PARA AS FORMULAÇÕES COM AS ENZIMAS α -AMILASE FÚNGICA E α -AMILASE MALTOGÊNICA CONFORME PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL - DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL (DCCR)

PARÂMETRO	TD (min.)	Est. (min.)	C1 (Nm)	C2 (Nm)	C3 (Nm)	C4 (Nm)	C5 (Nm)
Formulações							
(αAF / αAM)							
F1 (6 / 18) ⁽¹⁾	1,350 ± 0,014 ^{bc}	3,730 ± 0,014 ^c	1,121 ± 0,008 ^{ab}	0,414 ± 0,020 ^c	1,653 ± 0,004 ^c	1,330 ± 0,014 ^c	1,947 ± 0,010 ^{cd}
F2 (6 / 102) ⁽²⁾	1,395 ± 0,004 ^{bc}	3,715 ± 0,177 ^c	1,096 ± 0,001 ^{ab}	0,329 ± 0,001 ^{de}	1,503 ± 0,003 ^d	1,207 ± 0,004 ^e	1,726 ± 0,001 ^{ef}
F3 (34 / 18) ⁽³⁾	1,415 ± 0,120 ^{bc}	2,625 ± 0,106 ^d	1,095 ± 0,002 ^{ab}	0,326 ± 0,005 ^{de}	1,459 ± 0,001 ^f	1,230 ± 0,001 ^{de}	1,838 ± 0,012 ^{def}
F4 (34 / 102) ⁽⁴⁾	1,325 ± 0,008 ^{bc}	2,900 ± 0,141 ^d	1,091 ± 0,021 ^{ab}	0,332 ± 0,003 ^{de}	1,500 ± 0,003 ^{de}	1,150 ± 0,014 ^f	1,720 ± 0,014 ^{ef}
F5 (0 / 60)	1,470 ± 0,064 ^b	5,700 ± 0,071 ^b	1,147 ± 0,021 ^a	0,477 ± 0,001 ^b	1,715 ± 0,007 ^b	1,390 ± 0,014 ^b	2,160 ± 0,001 ^b
F6 (40 / 60)	1,268 ± 0,004 ^c	2,480 ± 0,028 ^d	1,091 ± 0,01 ^{ab}	0,305 ± 0,007 ^e	1,382 ± 0,003 ^g	1,155 ± 0,016 ^f	1,440 ± 0,003 ^g
F7 (20 / 0)	1,325 ± 0,035 ^{bc}	3,005 ± 0,007 ^{cd}	1,085 ± 0,004 ^{ab}	0,333 ± 0,001 ^{de}	1,498 ± 0,002 ^{de}	1,255 ± 0,001 ^c	1,961 ± 0,001 ^{cd}
F8 (20 / 120)	1,400 ± 0,141 ^{bc}	2,475 ± 0,247 ^d	1,075 ± 0,009 ^{ab}	0,339 ± 0,012 ^d	1,474 ± 0,002 ^f	1,135 ± 0,007 ^f	1,702 ± 0,002 ^f
F0 (20 / 60)	1,425 ± 0,014 ^{bc}	2,910 ± 0,014 ^d	1,124 ± 0,001 ^{ab}	0,341 ± 0,004 ^d	1,477 ± 0,004 ^f	1,240 ± 0,003 ^d	1,905 ± 0,001 ^{cd}
F0 (20 / 60)	1,405 ± 0,064 ^{bc}	2,910 ± 0,015 ^d	1,122 ± 0,001 ^{ab}	0,343 ± 0,003 ^d	1,476 ± 0,001 ^f	1,233 ± 0,001 ^{de}	1,998 ± 0,003 ^c
F0 (20 / 60)	1,415 ± 0,078 ^{bc}	2,910 ± 0,014 ^d	1,124 ± 0,012 ^{ab}	0,345 ± 0,001 ^d	1,474 ± 0,009 ^f	1,235 ± 0,002 ^{de}	1,949 ± 0,007 ^{cd}
F0 (20 / 60)	1,415 ± 0,035 ^{bc}	2,900 ± 0,013 ^d	1,125 ± 0,004 ^{ab}	0,343 ± 0,004 ^d	1,480 ± 0,014 ^{ef}	1,229 ± 0,005 ^{de}	1,845 ± 0,005 ^{de}
C	2,285 ± 0,007 ^a	11,405 ± 0,059 ^a	1,052 ± 0,049 ^b	0,512 ± 0,017 ^a	1,845 ± 0,010 ^a	1,554 ± 0,012 ^a	2,306 ± 0,008 ^a

NOTA: α AF = α -amilase fúngica, α AM = α -amilase maltogênica, TD = Tempo de Desenvolvimento, Est. = Estabilidade da massa, C1 = Consistência objetivo que deve ser de 1,1 Nm +/- 0,05 Nm, C2 = Menor torque da massa durante o aquecimento, C3 = Torque máximo de gelatinização do amido, C4 = estabilidade da massa durante o aquecimento, C5 = torque final após o resfriamento da massa; média \pm desvio padrão (n=3); ⁽¹⁾F1 refere-se à proporção exata (5,858 / 17,573); ⁽²⁾F2 refere-se à proporção exata (5,858 / 102,427); ⁽³⁾F3 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573); ⁽⁴⁾F4 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573); C refere-se à Controle, sem tratamento. Médias com letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% (p<0,05%)

O parâmetro de estabilidade indica a resistência da massa à mistura, quanto mais elevado o tempo, mais resistente é a massa. O Mixolab® inicia o teste como a análise tradicional de farinografia (20 min. à temperatura constante de 30 °C) e, a partir do oitavo minuto ocorre o aquecimento da massa (4 °C/min. até 90 °C) que resulta na diminuição da resistência da massa ao batimento (CHOPIN, 2012). Em relação a média de estabilidade (Est.), nota-se que a amostra C tem o maior tempo (11,405 min.) pois está isenta de enzimas, portanto não há hidrólise das cadeias amilolíticas, mantendo a estrutura e resistência da massa a mistura. Hadnadev, Torbica e Hadnadev (2011) verificaram estabilidade da farinha de trigo pura panificável de 11,18 min. Entre as formulações a F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) apresentou o maior tempo (5,70 min.), indicando, assim como no TD, que a ausência da enzima α -amilase fúngica diminui a hidrolisação das cadeias amilolíticas durante a mistura. F1 (6 ppm α AF / 18 ppm α AM) e F2 (6 ppm α AF / 102 ppm α AM) apresentaram estabilidade de 3,730 e 3,715 min., respectivamente, e, correspondem às formulações com menor dosagem da enzima α -amilase fúngica, indicando que essa enzima tem maior atuação na hidrólise amilolítica durante a mistura na temperatura constante de 30 °C. Banu, et al. (2011) observaram que o aumento da dose de α -amilase fúngica reduz a estabilidade da massa durante o batimento mecânico, devido a maior hidrólise amilolítica. A formulação F7 (20 ppm α AF / 0 ppm α AM) apresentou estabilidade de 3,005 min., contendo ausência da enzima α -amilase maltogênica. As demais formulações (F3, F4, F6, F8 e F0) não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% ($p < 0,05\%$) sendo, em média, de 2,764 min.

De acordo com a metodologia padrão AACCC 54-60.01 (2010), o parâmetro C1 (Nm) deve estar entre 1,05 e 1,15 Nm e, observando as médias dos resultados, F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) obteve o maior valor de C1 (1,147 Nm), enquanto a amostra C apresentou o menor C1 (1,052 Nm). As demais formulações não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% ($p < 0,05\%$).

No aquecimento ocorre a agregação e desnaturação da proteína (ROSELL, FOEGEDING, 2007), o que resulta numa diminuição da consistência da massa (parâmetro C2 [Nm]), que é o valor de torque mínimo produzido durante a mistura sujeito ao aumento de temperatura. A amostra C apresentou o maior torque C2 (0,512 Nm), o que representa maior resistência da massa, seguida da amostra F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) (0,477 Nm) que contém ausência de α -amilase fúngica, a qual oferece substrato para a enzima α -amilase maltogênica que age na extremidade da

cadeia, portanto, a enzima α -amilase maltogênica apresentou menor hidrólise mantendo a consistência da massa maior comparada as demais formulações. Hadnadev, Torbica e Hadnadev (2011) avaliaram amostra de farinha de trigo sem tratamento e obtiveram o valor de 0,55 Nm para o parâmetro C2 (Nm). O menor torque C2 (Nm) foi obtido pela formulação F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) de 0,305 Nm, seguidos das amostras F3 (34 ppm α AF / 18 ppm α AM), F4 (34 ppm α AF / 102 ppm α AM), F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) e F7 (20 ppm α AF / 0 ppm α AM), sendo 0,326, 0,332, 0,329 e 0,333 Nm, respectivamente, demonstrando que além da desnaturação proteica que ocorre diante do aumento de temperatura da massa durante a mistura, a hidrólise amilolítica também têm interferência na diminuição da consistência da massa. Banu, et al. (2011) observaram comportamento similar da massa em relação ao parâmetro C2 (Nm), quando houve o aumento da dose de α -amilase fúngica e redução do torque C2 (Nm), indicando que a hidrólise amilolítica é incrementada durante o aquecimento da massa e início da gelatinização do amido na temperatura próxima de 60 °C.

Com o contínuo aquecimento da massa (4 °C / min.), inicia-se a gelatinização dos grânulos de amido presentes na massa, o que resulta no aumento da consistência da massa e o torque C3 (Nm) no Mixolab® (ROSELL, COLLAR, HAROS, 2007; ROSELL, et al., 2007). A amostra C apresentou o maior torque de 1,845 Nm. Hadnadev, Torbica e Hadnadev (2011) verificaram torque C3 de 2,35 Nm para amostra de farinha de trigo panificável. As formulações F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) e F1 (6 ppm α AF / 18 ppm α AM) também apresentaram o maior torque C3 (Nm), de 1,715 Nm e 1,653 Nm, respectivamente, indicando que as enzimas maltogênica e fúngica possuem sinergia e, quando houve baixa ou nula concentração da α -amilase fúngica houve diminuição do substrato da α -amilase maltogênica, que resultou em um maior torque C3 (Nm) devido a menor hidrólise amilolítica. O menor torque C3 (Nm) foi da F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM), de 1,382 Nm, que corresponde a formulação que demonstrou maior sinergia entre as enzimas e conseqüente diminuição da consistência da massa. Para as demais formulações houve diferença significativa ao nível de 5% ($p < 0,05\%$).

A redução na viscosidade é resultado da quebra física dos grânulos, devido à tensão, cisalhamento mecânico e atividade enzimática (ROSELL, COLLAR, HAROS, 2007). O parâmetro C4 (Nm) é referente ao menor torque durante o pico de temperatura da análise (90°C) e início do resfriamento da massa, também sendo uma

medida da atividade amilásica (COLLAR, BOLLAIN, ROSELL, 2007). O maior torque C4 (Nm) foi referente a amostra C (1,554 Nm), pois não houve adição de enzimas amilolíticas. Hadnadev, Torbica e Hadnadev (2011) encontraram torque C4 de 2,01 Nm para amostra de farinha de trigo sem tratamento. Verificou-se que houve diminuição do torque C4 (Nm) das formulações, sendo, os menores valores referentes as formulações F4 (34 ppm α AF / 102 ppm α AM), F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) e F8 (20 ppm α AF / 120 ppm α AM) de 1,150, 1,155 e 1,135 Nm, respectivamente, o que demonstrou que houve maior hidrólise que resultou na redução da consistência da massa. O maior torque das formulações para o parâmetro C4 foi de F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) sendo 1,390 Nm, onde a ausência da enzima α -amilase fúngica diminui a hidrólise enzimática, pois a α -amilase maltogênica tem especificidade de hidrolisar a extremidade das cadeias de amido, o que manteve a maior consistência da massa.

Subseqüentemente, com o resfriamento da massa ocorre a retrogradação e a consistência é aumentada (torque C5 [Nm]) (COLLAR, BOLLAIN, ROSELL, 2007; BANU, et al., 2011). O torque final medido na análise Mixolab® é determinado após o resfriamento da massa de 50°C. A amostra C apresentou o maior torque, sendo de 2,306 Nm, pois não contém adição de ingredientes ou enzimas amilolíticas que poderiam diminuir a consistência da massa. O maior torque C5 (Nm) entre as formulações foi da F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) de 2,160 Nm, indicando que a ausência da α -amilase fúngica interfere na hidrólise entre as enzimas, não ocorrendo a diminuição da retrogradação e, conseqüentemente, do torque C5 (Nm). O menor torque C5 (Nm) obtido foi da formulação F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) de 1,440 Nm, indicando houve maior hidrolisação das cadeias amilolíticas, o que resultou na diminuição da consistência da massa ao final do ensaio, resultando na aptidão da conservação da característica de frescor do pão ao longo da vida útil. De acordo com Banu, et al. (2011) o torque C5 (Nm) corresponde ao período de retrogradação e, em seus estudos amostras que continham α -amilase fúngica na composição obtiveram valores menores do torque (2,78 Nm) comparado ao torque da amostra controle (2,93 Nm), valores superiores comparados ao do presente estudo. A diminuição do torque final C5 (Nm) de farinhas com enzimas α -amilase também foi previamente observado por autores Rojas, Rossel e Benedito (1999), que resultou na diminuição da firmeza ao longo da vida útil dos pães.

A TABELA 12 apresenta os efeitos estimados, com 95% de confiança, das variáveis: dosagem da enzima α -amilase fúngica e dosagem da enzima α -amilase maltogênica, em contribuir para diminuição do torque C5 (Nm), da análise Mixolab®.

TABELA 12 – TABELA DE REGRESSÃO DO DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO C5 (Nm) DA ANÁLISE MIXOLAB®

	Efeitos	Desvio Padrão	p
Média / Intercepção	1,926	0,032	-
αAF	-0,283	0,045	0,008
α-AF²	-0,128	0,050	0,082(*)
α-AM	-0,175	0,045	0,030
α-AM²	-0,098	0,050	0,146(*)
αAF * αAM	0,052	0,064	0,480(*)

NOTA: α AF = α -amilase fúngica, α AM = α -amilase maltogênica; (*) estatisticamente não significativa ao nível de 5% de significância.

Observando os resultados da TABELA 12, nota-se que os parâmetros significativos ($p < 0,05$) na resposta C5 (Nm) foram os lineares (AF e AM) para as variáveis α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica, enquanto que os demais parâmetros não apresentaram influência significativa. Em relação ao C5 (Nm), quanto menor valor, menor retrogradação da massa, o que indica menor firmeza ao longo da vida útil e, nota-se que para ambas as enzimas o efeito linear foi negativo, ou seja, contribuindo para a redução da retrogradação, sendo a α -amilase fúngica com o maior efeito (-0,283). A TABELA 13 apresenta o modelo para análise de variância (ANOVA), desconsiderando os parâmetros não significativos ao nível de 5%.

TABELA 13 – TABELA ANOVA PARA O DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO C5 (Nm) DA ANÁLISE MIXOLAB®

Variáveis	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}
Regressão	0,224	2	0,112	6,647	4,256
Resíduo	0,152	9	0,017		
Falta de ajuste	0,139	6	0,023	5,659	8,941
Erro puro	0,012	3	0,004		
Total	0,376	11			

$R^2 = 0,596$; $R^2_{aj} = 0,506$; %Var = 96,723%

NOTA: SQ: soma dos quadrados; GL: graus de liberdade; MQ: quadrado médio; F: distribuição de Fischer.

Observando-se o F_{calc} da variável Regressão, nota-se valor superior ao valor teórico (F_{tab}), portanto, o valor teórico está na região onde o erro está distribuído pela função de Fischer ($\alpha = 5$). O F_{calc} da falta de ajuste foi menor que o F_{tab} indicando que não há relação estatística entre a falta de ajuste e o erro puro. O R^2 (0,596) e o R^2_{aj} (0,506) encontrados foram menores do que esperado, contudo, de acordo com os resultados (TABELA 13) foi possível gerar a superfície de resposta (FIGURA 12), para verificar o comportamento da resposta C5 (Nm) na região experimental estudada, plotada a partir da equação obtida para essa resposta (EQUAÇÃO 4).

$$C5 = 1,850 - 0,142 \times \alpha AF - 0,088 \times \alpha AM \quad (4)$$

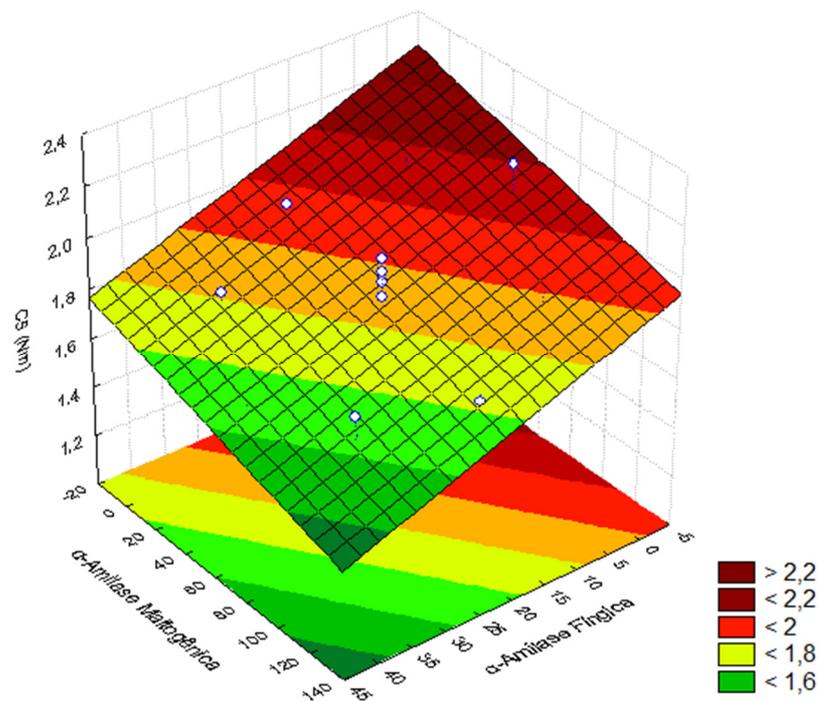


FIGURA 12 – SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA O DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO C5 (Nm) DA ANÁLISE MIXOLAB®

Na FIGURA 12, observa-se pela superfície de resposta a tendência das enzimas amilolíticas em contribuir para a diminuição do parâmetro C5 (Nm) na região de ótimo (<1,6), quanto maior a dosagem das variáveis independentes (α-amilase fúngica e α-amilase maltogênica).

4.2 ATIVIDADE ENZIMÁTICA DAS AMILASES

As duas enzimas comerciais em pó, *Spring Alfa 140.000* – α -amilase fúngica e *Spring Nova G3* – α -amilase maltogênica produzidas pela Novozymes, padronizadas e distribuídas pela empresa Granotec do Brasil, tiveram suas atividades enzimáticas avaliadas através da técnica DNS. De acordo com os resultados obtidos para a atividade enzimática das amostras, a atividade da α -amilase fúngica do produto *Spring alfa 140.000* foi de 1482,895 U/g, sendo indicado pelo fabricante de 140000 SKB/g. Para a enzima α -amilase maltogênica do produto *Spring Nova G3* a atividade foi de 4679,239 U/g, sendo indicado pelo fabricante 10000 MANU/g. Becker, Baratto e Gelinski (2009) avaliaram uma enzima comercial α -amilase (*Spring Life B*) produzidas pela Novozymes e distribuídas pela empresa Granotec do Brasil, encontrando a atividade enzimática de 4991 e 5851 U/g para α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica, respectivamente, utilizando o método do ácido dinitrosalicílico (DNS). Os resultados desses autores demonstram proximidade com os resultados encontrados no presente estudo. As diferenças encontradas podem ser justificadas por variações nas condições reacionais que não são determinadas pelo fabricante e que são relevantes para a atividade enzimática (BECKER, BARATTO, GELINSKI, 2009; PANDEY, 2000).

Os resultados das atividades enzimáticas ao longo das etapas de panificação experimental estão apresentados na TABELA 14 para a atividade da enzima α -amilase fúngica e na TABELA 15 para a atividade da enzima α -amilase maltogênica.

Avaliando os resultados, nota-se que há diferença significativa para ambas as enzimas durante o processamento dos pães. Na etapa ML a formulação F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) apresentou maior valor de atividade enzimática fúngica (43,053 U/g) e a formulação F4 (34 ppm α AF / 102 ppm α AM) maior atividade enzimática maltogênica (42,046 U/G), indicando que as enzimas presentes nas formulações já iniciaram a hidrólise amilolítica nos primeiros 3 minutos da mistura em, aproximadamente, 12°C. Os menores valores encontrados nessa fase foram de 11,357 U/g fúngica e 16,170 U/g maltogênica, para as amostras F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) e F7 (20 ppm α AF / 0 ppm α AM), respectivamente, que correspondem às formulações com ausência das enzimas avaliadas.

TABELA 14 - MÉDIA DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA ENZIMA α -AMILASE FÚNGICA AO LONGO DAS ETAPAS DE PANIFICAÇÃO

PARÂMETRO	ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA ENZIMA α - AMILASE FÚNGICA (U / g)			
	ML	MR	FM	PÃO
Formulações				
(αAF / αAM)				
F1 (6 / 18) ⁽¹⁾	24,116 \pm 0,164 ^f	4,303 \pm 0,040 ^c	2,139 \pm 0,196 ^{cd}	65,453 \pm 0,640 ^g
F2 (6 / 102) ⁽²⁾	29,168 \pm 0,237 ^d	1,205 \pm 0,290 ^{de}	4,006 \pm 0,085 ^b	88,061 \pm 0,086 ^c
F3 (34 / 18) ⁽³⁾	31,034 \pm 0,049 ^c	5,468 \pm 0,662 ^b	1,326 \pm 0,461 ^{de}	84,448 \pm 0,633 ^d
F4 (34 / 102) ⁽⁴⁾	36,158 \pm 0,224 ^b	4,345 \pm 0,488 ^c	0,533 \pm 0,047 ^e	90,457 \pm 0,646 ^b
F5 (0 / 60)	11,357 \pm 0,505 ^h	0,816 \pm 0,023 ^e	0 ^g	58,111 \pm 0,158 ⁱ
F6 (40 / 60)	43,053 \pm 0,074 ^a	8,051 \pm 0,073 ^a	17,342 \pm 0,484 ^a	109,201 \pm 0,284 ^a
F7 (20 / 0)	25,410 \pm 0,580 ^e	1,013 \pm 0,018 ^e	0 ^f	61,224 \pm 0,317 ^h
F8 (20 / 120)	24,357 \pm 0,504 ^f	2,211 \pm 0,298 ^d	1,085 \pm 0,120 ^{de}	79,300 \pm 0,424 ^e
F0 (20 / 60)	13,772 \pm 0,323 ^g	4,746 \pm 0,359 ^{bc}	3,789 \pm 0,299 ^b	71,900 \pm 0,141 ^f
F0 (20 / 60)	13,397 \pm 0,208 ^g	4,346 \pm 0,206 ^c	3,414 \pm 0,231 ^b	71,600 \pm 0,283 ^f
F0 (20 / 60)	13,522 \pm 0,031 ^g	4,496 \pm 0,006 ^{bc}	3,539 \pm 0,055 ^b	71,650 \pm 0,212 ^f
F0 (20 / 60)	13,272 \pm 0,384 ^g	4,246 \pm 0,348 ^c	3,289 \pm 0,408 ^{bc}	71,400 \pm 0,566 ^f

NOTA: α AF = α -amilase fúngica, α AM = α -amilase maltogênica, ML = mistura lenta da masseira, MR = mistura rápida da masseira, FM = fermentação da massa; média \pm desvio padrão (n=3); ⁽¹⁾F1 refere-se à proporção exata (5,858 / 17,573); ⁽²⁾F2 refere-se à proporção exata (5,858 / 102,427); ⁽³⁾F3 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573); ⁽⁴⁾F4 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573). Médias com letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% (p<0,05)

TABELA 15 - MÉDIA DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA ENZIMA α -AMILASE MALTOGÊNICA AO LONGO DAS ETAPAS DE PANIFICAÇÃO

PARÂMETRO	ATIVIDADE ENZIMÁTICA DA ENZIMA α -AMILASE MALTOGÊNICA (U / g)			
	ML	MR	FM	PÃO
Formulações				
(αAF / αAM)				
F1 (6 / 18) ⁽¹⁾	26,305 \pm 0,431 ^f	13,189 \pm 0,267 ^b	8,299 \pm 0,423 ^{def}	81,156 \pm 0,221 ^c
F2 (6 / 102) ⁽²⁾	30,398 \pm 0,563 ^d	7,444 \pm 0,628 ^{de}	11,119 \pm 0,168 ^{ab}	96,240 \pm 0,339 ^b
F3 (34 / 18) ⁽³⁾	36,262 \pm 0,370 ^b	11,300 \pm 0,425 ^c	8,043 \pm 0,060 ^{ef}	76,188 \pm 0,266 ^e
F4 (34 / 102) ⁽⁴⁾	42,046 \pm 0,065 ^a	18,197 \pm 0,279 ^a	12,333 \pm 0,471 ^a	103,196 \pm 0,277 ^a
F5 (0 / 60)	27,456 \pm 0,645 ^e	7,286 \pm 0,404 ^{de}	5,476 \pm 0,673 ^g	57,070 \pm 0,099 ^h
F6 (40 / 60)	32,109 \pm 0,154 ^c	10,203 \pm 0,037 ^c	9,932 \pm 0,455 ^{bc}	79,011 \pm 0,016 ^d
F7 (20 / 0)	16,170 \pm 0,240 ^h	7,207 \pm 0,292 ^e	0 ^h	54,247 \pm 0,350 ⁱ
F8 (20 / 120)	27,002 \pm 0,003 ^{ef}	8,359 \pm 0,507 ^d	7,345 \pm 0,488 ^f	72,016 \pm 0,022 ^f
F0 (20 / 60)	17,720 \pm 0,312 ^g	10,308 \pm 0,152 ^c	9,482 \pm 0,258 ^{cde}	65,466 \pm 0,235 ^g
F0 (20 / 60)	17,670 \pm 0,241 ^g	10,458 \pm 0,06 ^c	9,582 \pm 0,117 ^{bode}	65,566 \pm 0,094 ^g
F0 (20 / 60)	17,420 \pm 0,595 ^g	11,208 \pm 0,294 ^c	9,332 \pm 0,470 ^{cdef}	65,316 \pm 0,447 ^g
F0 (20 / 60)	17,920 \pm 0,112 ^g	10,708 \pm 0,413 ^c	9,832 \pm 0,237 ^{bcd}	65,816 \pm 0,260 ^g

NOTA: α AF = α -amilase fúngica, α AM = α -amilase maltogênica, ML = mistura lenta da maseira, MR = mistura rápida da maseira, FM = fermentação da massa; média \pm desvio padrão (n=3); ⁽¹⁾F1 refere-se à proporção exata (5,858 / 17,573); ⁽²⁾F2 refere-se à proporção exata (5,858 / 102,427); ⁽³⁾F3 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573); ⁽⁴⁾F4 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573). Médias com letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% (p<0,05)

Nas demais etapas de MR (26 °C por 6 minutos), FM (32 °C por 1:30h) e o pão assado (forneamento a 200 °C por 30 min.), verificou-se que as formulações F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) e F4 (34 ppm α AF / 102 ppm α AM) continuaram apresentando os maiores resultados para atividade enzimática fúngica e maltogênica. As formulações F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) e F7 (20 ppm α AF / 0 ppm α AM) apresentaram os menores resultados, indicando que a ausência das enzimas diminui a hidrólise amilolítica. Bosmans, et al. (2013) verificaram que a adição de diferentes enzimas na formulação de pães aumentou o nível de açúcares redutores no pão, demonstrando que amilases de diferentes fontes possuem atividade durante o cozimento.

Os baixos resultados de atividade enzimática encontrados para ambas as enzimas durante o monitoramento sugerem que deve haver maior aprimoramento na metodologia utilizada.

4.3 AVALIAÇÃO DOS PÃES DE FORMA

4.3.1 Resultados de Umidade e Atividade de Água Durante a Vida Útil

Na TABELA 16 e 17 estão os resultados das médias do teor de umidade e atividade de água das fatias de pães ao longo da vida útil (1, 4, 7, 10 e 14 dias após a fabricação).

Avaliando o conteúdo de umidade entre as formulações, nota-se que F3 (34 ppm α AF / 18 ppm α AM) apresentou o maior teor de umidade (36,86%) no dia 1 após a fabricação, enquanto F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) apresentou o menor teor de umidade (35,35%). As demais formulações não apresentaram diferença significativa ao nível de 5% entre as umidades. No dia 4 após a fabricação o valor máximo de umidade foi encontrado na F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) de 36,93% e o menor valor foi para as formulações F7 (20 ppm α AF / 0 ppm α AM) e F4 (34 ppm α AF / 102 ppm α AM) de 35,20 e 35,43%, respectivamente. No sétimo dia após a fabricação foi verificado que as formulações F1 (6 ppm α AF / 18 ppm α AM) e F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) apresentaram os maiores teores de umidade de 35,99% e 36,67%, respectivamente, enquanto as formulações F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) e F7 (20 ppm α AF / 0 ppm α AM) apresentaram os menores percentuais (ambas 35,22%). F8 (20 ppm α AF / 120 ppm α AM) apresentou o maior percentual de umidade no dia 10 (36,93%), enquanto F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) apresentou o menor percentual (34,20%). No último dia de avaliação da vida útil (dia 14) as formulações F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) e F7 (20 ppm α AF / 0 ppm α AM) tiveram os menores percentuais de 33,99 e 33,02%, respectivamente, o que sugere que a ausência de uma das enzimas no *blend* correspondeu aos pães com menor teor de umidade ao final da vida útil.

Observa-se que durante a vida útil houve diminuição no teor de umidade das formulações de pães de, em média, 35,00 – 36,96% no dia 1 para 32,95 – 35,22% no dia 14, indicando que houve perda de água durante o armazenamento em todas as formulações, independente das dosagens enzimáticas utilizadas. Nos estudos de Goesert, et al. (2009b), durante a vida útil dos pães (dia 0 até o dia 6) o conteúdo de umidade diminuiu, sendo um decréscimo de uma umidade inicial entre 44 – 45% para

40 – 42%. Barrett, et al. (2005) observaram que após duas semanas de armazenamento o conteúdo de umidade dos pães estabilizou em 31% ($\pm 0,43$).

Para os resultados de atividade de água dos pães de forma produzidos, verificou-se que não houve diferença e significativa ao nível de 5% ($P < 0,05\%$) entre as amostras nos mesmos dias do teste. Analisando os resultados dos pães ao longo da vida útil, foi possível verificar que somente a formulação F0 (20 ppm α AF / 60 ppm α AM) apresentou diferença significativa ao nível de 5% ($P < 0,05\%$) ao longo da vida útil, de $0,932 \pm 0,010$ no dia 0 para $0,911 \pm 0,009$ no dia 14. Nos estudos de Barrett, et al. (2005), a atividade de água em pães contendo adição de um *blend* de enzimas contendo α -amilase fúngica, α -amilase maltogênica e xilanase fúngica (0,2 g/kg de farinha) foi de $0,90 (\pm 0,008)$ no dia 0 para $0,86 (\pm 0,02)$ após o armazenamento (2 semanas), estando de acordo com os resultados obtidos no presente estudo.

TABELA 16 – TEOR DE UMIDADE DAS FATIAS DE PÃO DURANTE A VIDA ÚTIL

PARÂMETRO	Umidade (%)				
	1º Dia	4º Dia	7º Dia	10º Dia	14º Dia
Formulações					
(αAF / αAM)					
F1 (6 / 18) ⁽¹⁾	36,015 ± 0,052 ^{abA}	35,990 ± 0,150 ^{abcA}	35,990 ± 0,085 ^{aA}	35,765 ± 0,049 ^{bcA}	34,055 ± 0,014 ^{abB}
F2 (6 / 102) ⁽²⁾	35,610 ± 0,028 ^{abA}	36,050 ± 0,007 ^{abcA}	35,930 ± 0,092 ^{abcA}	35,895 ± 0,071 ^{bcA}	33,470 ± 0,056 ^{abB}
F3 (34 / 18) ⁽³⁾	36,865 ± 0,064 ^{aA}	35,765 ± 0,028 ^{bcB}	35,620 ± 0,028 ^{bcB}	35,630 ± 0,055 ^{bcB}	36,865 ± 0,064 ^{aA}
F4 (34 / 102) ⁽⁴⁾	36,425 ± 0,032 ^{abA}	35,430 ± 0,035 ^{cB}	35,430 ± 0,098 ^{bcB}	35,350 ± 0,163 ^{bcB}	33,020 ± 0,056 ^{bB}
F5 (0 / 60)	35,350 ± 0,099 ^{bA}	36,085 ± 0,092 ^{abcB}	35,225 ± 0,035 ^{cB}	34,200 ± 0,021 ^{dC}	34,210 ± 0,056 ^{abC}
F6 (40 / 60)	36,320 ± 0,007 ^{abB}	36,935 ± 0,188 ^{aA}	36,675 ± 0,098 ^{aA}	36,165 ± 0,035 ^{abB}	34,950 ± 0,014 ^{abC}
F7 (20 / 0)	36,190 ± 0,124 ^{abA}	35,205 ± 0,025 ^{cA}	35,225 ± 0,071 ^{cA}	35,085 ± 0,041 ^{cdA}	33,065 ± 0,077 ^{bC}
F8 (20 / 120)	36,010 ± 0,542 ^{abBC}	36,705 ± 0,122 ^{abAB}	35,940 ± 0,086 ^{abcBC}	36,935 ± 0,051 ^{aA}	35,205 ± 0,035 ^{aC}
F0 (20 / 60)	36,010 ± 0,038 ^{abA}	35,765 ± 0,024 ^{bcA}	35,925 ± 0,093 ^{abcA}	35,370 ± 0,075 ^{bcA}	34,155 ± 0,021 ^{abA}
F0 (20 / 60)	35,910 ± 0,098 ^{abA}	35,965 ± 0,071 ^{abcA}	35,435 ± 0,040 ^{bcA}	35,465 ± 0,024 ^{bcA}	34,240 ± 0,011 ^{abA}
F0 (20 / 60)	35,465 ± 0,063 ^{abA}	36,040 ± 0,064 ^{abcA}	35,440 ± 0,055 ^{bcA}	35,075 ± 0,141 ^{cdA}	33,975 ± 0,066 ^{abA}
F0 (20 / 60)	36,055 ± 0,033 ^{abA}	36,785 ± 0,035 ^{abA}	36,350 ± 0,048 ^{abA}	36,075 ± 0,039 ^{abcA}	34,970 ± 0,078 ^{abB}

NOTA: α AF = α -amilase fúngica, α AM = α -amilase maltogênica; média ± desvio padrão (n=3); ⁽¹⁾F1 refere-se à proporção exata (5,858 / 17,573); ⁽²⁾F2 refere-se à proporção exata (5,858 / 102,427); ⁽³⁾F3 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573); ⁽⁴⁾F4 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573). Médias com letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% (P<0,05%). Médias com letras maiúsculas iguais, na mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% (p<0,05%)

TABELA 17 - RESULTADOS DE ATIVIDADE DE ÁGUA DAS FATIAS DE PÃO DURANTE A VIDA ÚTIL

PARÂMETRO	Atividade de Água				
	1º Dia	4º Dia	7º Dia	10º Dia	14º Dia
Formulações					
(αAF / αAM)					
F1 (6 / 18) ⁽¹⁾	0,921 ± 0,010 ^{aA}	0,913 ± 0,006 ^{aA}	0,901 ± 0,008 ^{aA}	0,908 ± 0,004 ^{aA}	0,917 ± 0,009 ^{aA}
F2 (6 / 102) ⁽²⁾	0,912 ± 0,012 ^{aA}	0,905 ± 0,013 ^{aA}	0,915 ± 0,007 ^{aA}	0,904 ± 0,006 ^{aA}	0,910 ± 0,014 ^{aA}
F3 (34 / 18) ⁽³⁾	0,919 ± 0,007 ^{aA}	0,906 ± 0,003 ^{aA}	0,902 ± 0,005 ^{aA}	0,906 ± 0,006 ^{aA}	0,905 ± 0,017 ^{aA}
F4 (34 / 102) ⁽⁴⁾	0,930 ± 0,008 ^{aA}	0,908 ± 0,003 ^{aA}	0,899 ± 0,010 ^{aA}	0,905 ± 0,005 ^{aA}	0,912 ± 0,003 ^{aA}
F5 (0 / 60)	0,911 ± 0,006 ^{aA}	0,935 ± 0,006 ^{aA}	0,909 ± 0,007 ^{aA}	0,906 ± 0,005 ^{aA}	0,911 ± 0,006 ^{aA}
F6 (40 / 60)	0,919 ± 0,008 ^{aA}	0,905 ± 0,005 ^{aA}	0,903 ± 0,003 ^{aA}	0,903 ± 0,008 ^{aA}	0,908 ± 0,003 ^{aA}
F7 (20 / 0)	0,923 ± 0,008 ^{aA}	0,903 ± 0,004 ^{aA}	0,910 ± 0,007 ^{aA}	0,909 ± 0,004 ^{aA}	0,911 ± 0,013 ^{aA}
F8 (20 / 120)	0,924 ± 0,009 ^{aA}	0,902 ± 0,008 ^{aA}	0,911 ± 0,012 ^{aA}	0,902 ± 0,002 ^{aA}	0,909 ± 0,010 ^{aA}
F0 (20 / 60)	0,922 ± 0,011 ^{aA}	0,905 ± 0,011 ^{aA}	0,913 ± 0,009 ^{aA}	0,906 ± 0,005 ^{aA}	0,907 ± 0,015 ^{aA}
F0 (20 / 60)	0,924 ± 0,007 ^{aA}	0,912 ± 0,004 ^{aA}	0,912 ± 0,007 ^{aA}	0,911 ± 0,007 ^{aA}	0,910 ± 0,014 ^{aA}
F0 (20 / 60)	0,927 ± 0,010 ^{aA}	0,907 ± 0,010 ^{aA}	0,912 ± 0,012 ^{aA}	0,908 ± 0,006 ^{aA}	0,909 ± 0,004 ^{aA}
F0 (20 / 60)	0,932 ± 0,010 ^{aA}	0,908 ± 0,006 ^{aAB}	0,905 ± 0,008 ^{aB}	0,909 ± 0,004 ^{aAB}	0,911 ± 0,009 ^{aAB}

NOTA: α AF = α -amilase fúngica, α AM = α -amilase maltogênica; média ± desvio padrão (n=3); ⁽¹⁾F1 refere-se à proporção exata (5,858 / 17,573); ⁽²⁾F2 refere-se à proporção exata (5,858 / 102,427); ⁽³⁾F3 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573); ⁽⁴⁾F4 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573). Médias com letras minúsculas iguais, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% (P<0,05%). Médias com letras maiúsculas iguais, na mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% (p<0,05%).

4.3.2 Resultados de Cor Instrumental

Foram avaliados os parâmetros de cor instrumental da crosta dos pães obtidos, apresentados na TABELA 18. Notou-se diferença significativa ao nível de 5% ($p < 0,05\%$) para os parâmetros avaliados, sendo que para a luminosidade L^* os maiores valores indicam pães mais brancos, e as formulações com ausência de uma das enzimas, F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) e F7 (20 ppm α AF / 0 ppm α AM) apresentaram os maiores valores, de 54,940 e 54,790, respectivamente, indicando que houve menor hidrólise do amido e menor caramelização dos açúcares durante o forneamento. A formulação F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) foi pertencente ao pão com menor valor de luminosidade (49,285), indicando uma amostra mais escura, com maior sinergia enzimática e açúcares livres para a caramelização durante o forneamento.

Avaliando a croma a^* , os maiores resultados indicam amostras mais avermelhadas, onde as formulações F0 (20 ppm α AF / 60 ppm α AM), seguida da F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM), tiveram os maiores resultados (média de 16,843 e 16,660, respectivamente), e as amostras F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) e F7 (20 ppm α AF / 0 ppm α AM) foram as menos vermelhas (16,100 e 16,160, respectivamente), formulações com ausência de uma das enzimas.

Para a croma b^* , quanto maiores os valores mais amarelos foram os pães, e o maior valor foi de F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM), de 16,675, e os pães menos amarelos foram F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) e F7 (20 ppm α AF / 0 ppm α AM), sendo 15,305 e 16,675, respectivamente.

O parâmetro C^* indica a saturação da cor, onde o maior valor foi de F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) e os menores resultados de F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) e F7 (20 ppm α AF / 0 ppm α AM). Não houve diferença significativa para o parâmetro *hue* – h , que o valor médio foi de 89,978, indicando que a cor está localizada no eixo $+b^*$. Os autores Esteller e Lannes (2005) realizaram a avaliação de pães de forma para a fixação de qualidade e, ao verificarem a cor da crosta de pães de forma encontraram valores médios de $48,14 \pm 0,94$ para L^* , $17,19 \pm 0,13$ para a^* e 29,01 para o parâmetro b^* , indicando valores mais escuros dos que encontrados no presente estudo.

TABELA 18 - COLORAÇÃO DA CROSTA DOS PÃES DE FORMA AVALIADA ATRAVÉS DO COLORÍMETRO KONICA MINOLTA

PARÂMETRO	L^*	a^*	b^*	C^*	h
Formulações					
(αAF / αAM)					
F1 (6 / 18) ⁽¹⁾	52,790 ± 0,014 ^e	16,480 ± 0,014 ^c	17,675 ± 0,007 ^g	24,166 ± 0,015 ^e	89,995 ± 0,007 ^a
F2 (6 / 102) ⁽²⁾	53,970 ± 0,028 ^d	16,460 ± 0,014 ^c	19,215 ± 0,021 ^f	25,487 ± 0,011 ^d	89,970 ± 0,042 ^a
F3 (34 / 18) ⁽³⁾	54,065 ± 0,007 ^c	16,500 ± 0,014 ^c	17,660 ± 0,014 ^g	24,169 ± 0,001 ^e	89,975 ± 0,035 ^a
F4 (34 / 102) ⁽⁴⁾	51,845 ± 0,007 ^f	16,525 ± 0,064 ^c	19,375 ± 0,007 ^e	25,553 ± 0,013 ^d	89,975 ± 0,035 ^a
F5 (0 / 60)	54,940 ± 0,057 ^a	16,100 ± 0,141 ^d	15,305 ± 0,007 ⁱ	23,431 ± 0,015 ^f	89,980 ± 0,028 ^a
F6 (40 / 60)	49,285 ± 0,021 ^k	16,660 ± 0,028 ^{bc}	22,310 ± 0,014 ^a	27,513 ± 0,071 ^a	89,995 ± 0,007 ^a
F7 (20 / 0)	54,790 ± 0,014 ^b	16,160 ± 0,028 ^d	16,675 ± 0,007 ^h	22,265 ± 0,005 ^g	89,975 ± 0,035 ^a
F8 (20 / 120)	50,880 ± 0,014 ⁱ	16,745 ± 0,007 ^{ab}	21,710 ± 0,014 ^b	27,284 ± 0,050 ^b	89,975 ± 0,035 ^a
F0 (20 / 60)	51,535 ± 0,007 ^h	16,870 ± 0,014 ^a	19,625 ± 0,035 ^{cd}	25,880 ± 0,018 ^c	89,975 ± 0,035 ^a
F0 (20 / 60)	51,410 ± 0,014 ⁱ	16,800 ± 0,014 ^{ab}	19,685 ± 0,021 ^c	25,879 ± 0,025 ^c	89,975 ± 0,035 ^a
F0 (20 / 60)	51,620 ± 0,028 ^g	16,835 ± 0,007 ^{ab}	19,615 ± 0,021 ^d	25,849 ± 0,011 ^c	89,975 ± 0,035 ^a
F0 (20 / 60)	51,535 ± 0,021 ^h	16,865 ± 0,035 ^a	19,650 ± 0,014 ^{cd}	25,895 ± 0,024 ^c	89,975 ± 0,035 ^a

NOTA: α AF = α -amilase fúngica, α AM = α -amilase maltogênica; média ± desvio padrão (n=3); ; L^* = positivo indica direção do branco e negativo indica direção para o preto, a^* = positivo indica direção do vermelho e negativo indica a direção para o verde, b^* = positivo indica direção do amarelo e negativo indica a direção para o azul, C^* = saturação da cor, h = ângulo *hue* onde 0° está no eixo + a^* , 90° no eixo + b^* , 180° no eixo - a^* e 270° no eixo - b^* ; ⁽¹⁾F1 refere-se à proporção exata (5,858 / 17,573); ⁽²⁾F2 refere-se à proporção exata (5,858 / 102,427); ⁽³⁾F3 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573); ⁽⁴⁾F4 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573). Médias com letras iguais, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% (p<0,05%).

4.3.3 Resultados de Diâmetro dos Alvéolos

A TABELA 19 apresenta os resultados de diâmetro médio dos alvéolos, das fatias de pães, obtidos através do software ImageJ. As imagens das fatias de pão submetidas ao scanner estão no ANEXO 4.

TABELA 19 - DIÂMETRO MÉDIO DOS ALVÉOLOS OBTIDOS PELO SOFTWARE IMAGE J

PARÂMETRO	DIÂMETRO DOS ALVÉOLOS (mm)
Formulações	
(αAF / αAM)	
F1 (6 / 18) ⁽¹⁾	1,590 \pm 0,098 ^a
F2 (6 / 102) ⁽²⁾	1,536 \pm 0,041 ^a
F3 (34 / 18) ⁽³⁾	1,314 \pm 0,030 ^a
F4 (34 / 102) ⁽⁴⁾	1,352 \pm 0,037 ^a
F5 (0 / 60)	1,972 \pm 0,056 ^a
F6 (40 / 60)	1,500 \pm 0,074 ^a
F7 (20 / 0)	1,304 \pm 0,060 ^a
F8 (20 / 120)	1,266 \pm 0,047 ^a
F0 (20 / 60)	1,444 \pm 0,055 ^a
F0 (20 / 60)	1,390 \pm 0,046 ^a
F0 (20 / 60)	1,444 \pm 0,027 ^a
F0 (20 / 60)	1,390 \pm 0,036 ^a

NOTA: α AF = α -amilase fúngica, α AM = α -amilase maltogênica; média \pm desvio padrão (n=5); ⁽¹⁾F1 refere-se à proporção exata (5,858 / 17,573); ⁽²⁾F2 refere-se à proporção exata (5,858 / 102,427); ⁽³⁾F3 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573); ⁽⁴⁾F4 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573). Médias com letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% (p<0,05%)

A avaliação do tamanho dos alvéolos foi realizada selecionando cinco diferentes alvéolos de uma fatia de pão, em triplicata, e apresentando sua média. Observando os resultados de diâmetro dos alvéolos das fatias de pão, notou-se que não houve diferença significativa ao nível de 5% (p<0,05%) e o resultado médio foi de 1,437 mm. De acordo com Esteller e Lannes (2005) quando massas são cilindradas, essas expulsam o ar durante a modelagem, tendendo à formação de produtos com miolo mais homogêneo, com maior número de alvéolos. Esses autores identificaram pães de forma com diâmetro médio de 0,38 mm dos alvéolos. Os autores Castiglioni, et al. (2014) identificaram a variação de 0,42 mm no diâmetro dos alvéolos de pães

de forma até 2,84 mm, estando de acordo com os resultados obtidos nesse estudo. Lagrain, Leman, Goesaert e Delcour (2008) verificaram que o uso de enzimas α -amilase maltogênica aumentaram a média do diâmetro dos alvéolos, aumentando a porosidade dos pães.

4.3.4 Resultados de Volume Específico

A TABELA 20 apresenta os resultados de volume específico (cm^3/g) dos pães de forma.

TABELA 20 - MÉDIA DO VOLUME ESPECÍFICO OBTIDOS PELO EQUIPAMENTO *BVM – BREAD VOLUME METER* DOS PÃES DE FORMA

PARÂMETRO	VOLUME ESPECÍFICO (cm^3/g)
Formulações	
(αAF / αAM)	
F1 (6 / 18) ⁽¹⁾	4,873 \pm 0,070 ^{bc}
F2 (6 / 102) ⁽²⁾	4,893 \pm 0,035 ^{bc}
F3 (34 / 18) ⁽³⁾	5,185 \pm 0,106 ^{abc}
F4 (34 / 102) ⁽⁴⁾	5,285 \pm 0,070 ^{abc}
F5 (0 / 60)	5,185 \pm 0,070 ^{abc}
F6 (40 / 60)	5,845 \pm 0,035 ^a
F7 (20 / 0)	4,545 \pm 0,106 ^c
F8 (20 / 120)	5,305 \pm 0,070 ^{abc}
F0 (20 / 60)	5,299 \pm 0,707 ^{abc}
F0 (20 / 60)	5,601 \pm 0,707 ^{ab}
F0 (20 / 60)	5,295 \pm 0,707 ^{abc}
F0 (20 / 60)	5,287 \pm 0,707 ^{abc}

NOTA: α AF = α -amilase fúngica, α AM = α -amilase maltogênica; média \pm desvio padrão (n=3); ⁽¹⁾F1 refere-se à proporção exata (5,858 / 17,573); ⁽²⁾F2 refere-se à proporção exata (5,858 / 102,427); ⁽³⁾F3 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573); ⁽⁴⁾F4 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573). Médias com letras iguais não diferem entre si ao nível de 5% (p<0,05)

A análise de volume específico mostrou que houve diferença estatística entre as formulações dos pães, sendo que a formulação F7 (20 ppm α AF / 0 ppm α AM) apresentou o menor resultado de volume específico (4,545 cm^3/g), seguida das formulações F1 (6 ppm α AF / 18 ppm α AM) e F2 (6 ppm α AF / 102 ppm α AM), 4,873

e 4,893 cm³/g, respectivamente, formulações essas que continham as menores dosagens da enzima α -amilase fúngica, o que resulta em uma menor quantidade de açúcares hidrolisados (substrato para levedura) e, conseqüentemente, menor volume específico dos pães. De acordo com Gomes-Ruffi, et al. (2012) e Hopek, Ziobro e Achremowicz (2006) as amilases fornecem açúcares fermentescíveis para o crescimento da levedura e produção de gás, principalmente antes do estágio de forneamento, o que aumenta o volume dos pães. O maior volume específico obtido foi na formulação F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) de 5,845 cm³/g, onde a sinergia entre as enzimas aumentou o volume específico dos pães devido a maior hidrólise amilolítica. Goesaert, et al. (2009), Bosmans, et al. (2013), Gomes-Ruffi, et al. (2012), Kim, Maeda e Morita (2006) afirmaram que a ação das amilases diminui a viscosidade da massa durante a gelatinização do amido no forno, o que resulta no aumento do volume dos pães adicionados de α -amilases. Estudos preliminares de Gomes-Ruffi, et al. (2012) mostraram que o volume específico de pães produzidos com um *blend* de enzimas α -amilase maltogênica e α -amilase fúngica foi de 5,65 cm³/g, já nos estudos de Kim, Maeda e Morita (2006) o volume específico de pães com adição somente da α -amilase fúngica foi, em média de 3,60 cm³/g, assim, quando são utilizadas enzimas em forma de *blend*, há maior volume específico nos pães de forma devido a maior sinergia enzimática.

A TABELA 21 apresenta os efeitos estimados, com 95% de confiança, das variáveis: dosagem da enzima α -amilase fúngica e dosagem da enzima α -amilase maltogênica, em contribuir para o aumento do volume específico dos pães de forma.

TABELA 21 – TABELA DE REGRESSÃO DO DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO VOLUME ESPECÍFICO (cm³/g) DOS PÃES DE FORMA

	Efeitos	Desvio Padrão	p
Média / Interceção	5,366	0,077	-
αAF	0,408	0,109	0,033
α-AF²	0,065	0,121	0,626(*)
α-AM	0,297	0,109	0,072(*)
α-AM²	-0,513	0,121	0,024
αAF * αAM	0,043	0,155	0,801(*)

NOTA: α AF = α -amilase fúngica, α AM = α -amilase maltogênica; (*) estatisticamente não significativa ao nível de 5% de significância.

Observando os resultados da TABELA 21, nota-se que os parâmetros significativos ($p < 0,05$) na resposta volume específico (cm^3/g) foram os parâmetros linear (α -amilase fúngica) e quadrático (α -amilase maltogênica) para as variáveis, enquanto que os demais parâmetros não apresentaram influência significativa. Em relação ao volume específico (cm^3/g) dos pães de forma, o efeito positivo indica o maior volume, pois indica que maior quantidade de substrato foi disponibilizado para a fermentação. Nota-se que a enzima α -amilase fúngica o efeito linear positivo (0,408), ou seja, contribuindo para o aumento de volume específico dos pães. A TABELA 22 apresenta o modelo para análise de variância (ANOVA), onde foram desconsiderados os parâmetros não significativos ao nível de 5% (α -AF², α -AM e α AF * α AM)

TABELA 22 – TABELA ANOVA PARA O DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO VOLUME ESPECÍFICO (cm^3/g) PARA OS PÃES DE FORMA

Variáveis	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}
Regressão	0,813	2	0,407	8,439	4,256
Resíduo	0,434	9	0,048		
Falta de ajuste	0,362	6	0,060	2,521	8,941
Erro puro	0,072	3	0,024		
Total	1,247	11			

$R^2 = 0,652$; $R^2_{aj} = 0,575$; %Var = 94,243%

NOTA: SQ: soma dos quadrados; GL: graus de liberdade; MQ: quadrado médio; F: distribuição de Fischer.

Observando-se o F_{calc} da variável Regressão, nota-se valor superior ao valor teórico (F_{tab}), portanto, o valor teórico está na região onde o erro está distribuído pela função de Fischer ($\alpha = 5$). O F_{calc} da falta de ajuste foi menor que o F_{tab} indicando que não há relação estatística entre a falta de ajuste e o erro puro. O R^2 (0,652) e o R^2_{aj} (0,575) encontrados foram menores do que esperado, contudo, de acordo com os resultados (TABELA 22) foi possível gerar a superfície de resposta (FIGURA 13), para verificar o comportamento do volume específico (cm^3/g) na região experimental estudada, plotada a partir da equação obtida para essa resposta (EQUAÇÃO 5).

$$\text{Volume Específico} = 5,393 + 0,204 \times \alpha AF - 0,263 \times \alpha AM^2 \quad (5)$$

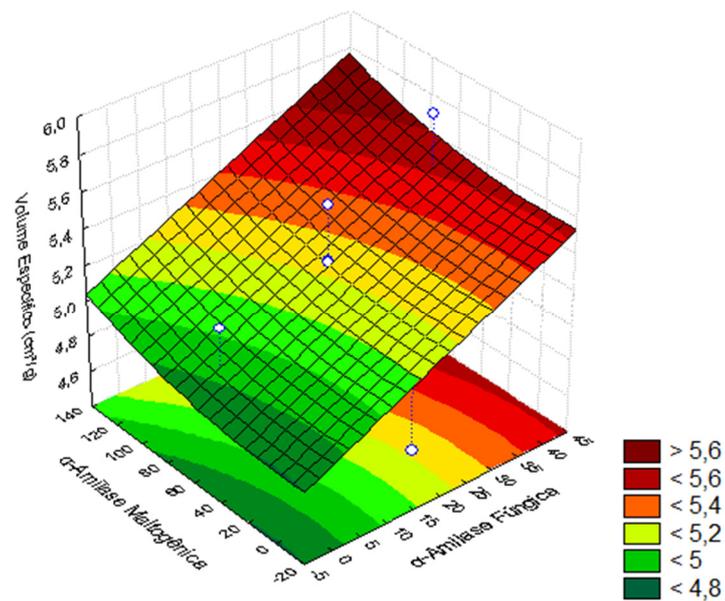


FIGURA 13 – SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA O DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO VOLUME ESPECÍFICO (cm³/g) DOS PÃES DE FORMA

Na FIGURA 13, observa-se pela superfície de resposta a tendência das enzimas amilolíticas em contribuir para o aumento do volume específico (cm³/g) na região de ótimo (>5,6), quanto maior a dosagem enzimática (α-amilase fúngica e α-amilase maltogênica).

4.3.5 Resultados de Firmeza Instrumental

A TABELA 23 apresenta a média dos resultados de firmeza instrumental obtidos ao longo da vida útil para as formulações com as enzimas α-amilase fúngica e α-amilase maltogênica.

TABELA 23 - MÉDIA DA FIRMEZA OBTIDA PELA ANÁLISE DE TEXTURA INSTRUMENTAL PARA AS FORMULAÇÕES COM AS ENZIMAS α -AMILASE FÚNGICA E α -AMILASE MALTOGÊNICA DURANTE A VIDA ÚTIL DOS PÃES DE FORMA

PARÂMETRO	FIRMEZA (Newtons)				
	Dia 1	Dia 4	Dia 7	Dia 10	Dia 14
Formulações					
(αAF / αAM)					
F1 (6 / 18) ⁽¹⁾	1,913 \pm 0,066 ^{aD}	2,558 \pm 0,095 ^{Bc}	3,130 \pm 0,200 ^{bB}	3,195 \pm 0,174 ^{bB}	3,891 \pm 0,057 ^{bA}
F2 (6 / 102) ⁽²⁾	1,798 \pm 0,051 ^{abD}	2,240 \pm 0,025 ^{cdC}	2,482 \pm 0,076 ^{cB}	2,297 \pm 0,114 ^{dBC}	2,915 \pm 0,188 ^{bcdA}
F3 (34 / 18) ⁽³⁾	1,685 \pm 0,128 ^{bcD}	2,248 \pm 0,086 ^{cdC}	2,939 \pm 0,138 ^{bB}	3,040 \pm 0,122 ^{bcB}	3,003 \pm 0,084 ^{bcdA}
F4 (34 / 102) ⁽⁴⁾	1,663 \pm 0,019 ^{bcC}	1,780 \pm 0,040 ^{eC}	2,109 \pm 0,124 ^{deB}	2,169 \pm 0,035 ^{deB}	2,713 \pm 0,067 ^{cdA}
F5 (0 / 60)	1,965 \pm 0,182 ^{aC}	2,483 \pm 0,228 ^{bcB}	3,018 \pm 0,126 ^{bA}	2,866 \pm 0,077 ^{cAB}	3,803 \pm 0,166 ^{bcA}
F6 (40 / 60)	1,545 \pm 0,046 ^{cC}	2,064 \pm 0,135 ^{deB}	2,148 \pm 0,162 ^{cdeAB}	1,964 \pm 0,078 ^{eB}	2,003 \pm 0,110 ^{eA}
F7 (20 / 0)	1,551 \pm 0,017 ^{cD}	3,407 \pm 0,163 ^{aC}	3,685 \pm 0,239 ^{aC}	4,144 \pm 0,038 ^{aB}	5,101 \pm 0,197 ^{aA}
F8 (20 / 120)	1,600 \pm 0,046 ^{bcD}	1,898 \pm 0,074 ^{eC}	2,368 \pm 0,045 ^{cdB}	2,061 \pm 0,138 ^{deBC}	2,475 \pm 0,149 ^{dA}
F0 (20 / 60)	1,279 \pm 0,060 ^{dD}	1,803 \pm 0,061 ^{eC}	1,897 \pm 0,061 ^{eC}	2,167 \pm 0,039 ^{deB}	2,530 \pm 0,063 ^{dA}
F0 (20 / 60)	1,305 \pm 0,751 ^{dE}	1,811 \pm 0,006 ^{eD}	1,902 \pm 0,009 ^{eC}	2,159 \pm 0,025 ^{deB}	3,998 \pm 0,002 ^{bcdA}
F0 (20 / 60)	1,313 \pm 0,758 ^{dD}	1,829 \pm 0,040 ^{eC}	1,918 \pm 0,028 ^{eBC}	2,113 \pm 0,154 ^{deB}	2,523 \pm 0,078 ^{dA}
F0 (20 / 60)	1,282 \pm 0,080 ^{dD}	1,825 \pm 0,045 ^{eC}	1,881 \pm 0,037 ^{eC}	2,187 \pm 0,022 ^{deB}	2,549 \pm 0,037 ^{dA}

NOTA: α AF = α -amilase fúngica, α AM = α -amilase maltogênica; média \pm desvio padrão (n=3); ⁽¹⁾F1 refere-se à proporção exata (5,858 / 17,573); ⁽²⁾F2 refere-se à proporção exata (5,858 / 102,427); ⁽³⁾F3 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573); ⁽⁴⁾F4 refere-se à proporção exata (34,142 / 17,573). Médias com letras iguais minúsculas, na mesma coluna, não diferem entre si ao nível de 5% (P<0,05%). Médias com letras iguais maiúsculas, na mesma linha, não diferem entre si ao nível de 5% (p<0,05%).

Observando os resultados de firmeza instrumental no dia 1 após a fabricação, as formulações F1 (6 ppm α AF / 18 ppm α AM) e F5 (0 ppm α AF / 60 ppm α AM) apresentaram os maiores valores (1,913 e 1,964 N, respectivamente) que indicam maior firmeza, sendo referentes às formulações com as menores dosagens da α -amilase fúngica, sugerindo que essa enzima possui influência no aumento da firmeza dos pães. Os menores valores obtidos de firmeza experimental foram relativos a formulação F0 (20 ppm α AF / 60 ppm α AM) de 1,295 N (média), indicando que houve boa sinergia entre as enzimas, o que ocasionou diminuição da firmeza dos pães devido a hidrólise das cadeias amilolíticas no 1º dia após a fabricação. Bosmans, et al. (2013) e Goesaert, et al. (2009b) não encontraram diferença significativa em termos de firmeza experimental nos pães adicionados da enzima α -amilase maltogênica no dia de fabricação (dia 0).

A partir da avaliação do dia 4 após a fabricação dos pães, notou-se que a formulação F7 (20 ppm α AF / 0 ppm α AM) apresentou a maior firmeza (3,407 N), prosseguindo durante a vida útil, sendo de 3,685 N no dia 7, de 4,144 N no dia 10 e no dia 14 de 5,114 N. Esses resultados indicam que a ausência da enzima α -amilase maltogênica resulta no aumento da firmeza, visto que essa enzima tem a especificidade de hidrolisar as extremidades das cadeias de amido, mantendo a estrutura cristalina interna, o que diminuiu a retrogradação e prolonga a maciez de pães ao longo da vida útil, não sendo verificado no dia 1.

Para as demais formulações, os menores valores encontrados de firmeza no dia 4 foram das amostras F4 (34 ppm α AF / 102 ppm α AM), F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM), F8 (20 ppm α AF / 120 ppm α AM) e F0 (20 ppm α AF / 60 ppm α AM), sendo 1,780, 2,064, 1,898 e 1,817 N, respectivamente, mantendo-se para as avaliações nos dias 7 e 10. No último dia de vida útil dos pães, dia 14, a formulação F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) foi a que obteve o menor resultado de firmeza de 2,003 N, indicando que a presença das enzimas fúngica (maior dosagem indicada pelo fabricante) e a enzima maltogênica (dosagem mediana indicada pelo fabricante), foi a melhor sinergia para a diminuição da firmeza dos pães até 14 dias após a fabricação.

Bosmans, et al. (2013) verificaram que independentemente da origem, a adição de amilases reduz a firmeza do miolo, de tal forma que, após o armazenamento por 7 dias, a firmeza estava significativamente mais baixa nos pães que continham α -amilase maltogênica no dia 7 (1,8 N). Nos estudos de Goesaert, et al. (2009b) é possível verificar que a adição de α -amilase maltogênica (dosagem de 0,17 *Enzyme*

Unit/g) apresentou redução da firmeza no dia 6 (7,35 N) comparado ao controle (16,85 N). Os valores encontrados por esses autores foram diferentes do encontrado no presente estudo, que pode ser atribuído a formulação e processamento utilizados.

Bosmans, et al. (2013), Goesaert, et al. (2009b) e León, Durán e Baber (2002) concluíram em seus estudos que a adição da enzima α -amilase maltogênica resulta na maior maciez do miolo dos pães. A contribuição das amilases pode ser assumida como sendo devido a produção de dextrinas que inibem a formação do complexo proteína – amido (HOPEK, ZIIOBRO, ACHREMOWICZ, 2006).

Também foi avaliado o comportamento da firmeza de cada formulação ao longo da vida útil (1, 4, 7, 10 e 14 dias), onde foi possível observar um aumento significativo ao nível de 5% ($p < 0,05$) desse parâmetro para todas as formulações (F1 a F8, mais pontos centrais F0), indicando que, independente da dosagem de enzimas, ao longo da vida útil os pães há aumento da firmeza. León, Durán e Barber (2002) verificaram que há um aumento linear da firmeza dos pães de forma durante a vida útil.

A TABELA 24 apresenta os efeitos estimados, com 95% de confiança, das variáveis: dosagem da enzima α -amilase fúngica e dosagem da enzima α -amilase maltogênica, em contribuir para diminuição da firmeza (N) dos pães de forma no último dia da vida útil (14).

TABELA 24 – TABELA DE REGRESSÃO DO DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO FIRMEZA (N) DOS PÃES DE FORMA 14 DIAS APÓS A FABRICAÇÃO

	Efeitos	Desvio Padrão	p
Média / Intercepção	2,648	0,117	-
αAF	-0,886	0,164	0,012
α-AF²	0,184	0,182	0,387*
α-AM	-1,258	0,164	0,005
α-AM²	1,001	0,182	0,012
αAF * αAM	0,343	0,233	0,238*

NOTA: α AF = α -amilase fúngica, α AM = α -amilase maltogênica, (*) estatisticamente não significativa ao nível de 5% de significância.

Observando os resultados da TABELA 24, nota-se que os parâmetros significativos ($p < 0,05$) na resposta firmeza (N) foram os parâmetros lineares para ambas enzimas (α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica) e quadrático (α -amilase

maltogênica) para as variáveis, enquanto que os demais parâmetros não apresentaram influência significativa. Em relação a firmeza (N) dos pães de forma, o efeito positivo é o menor valor, pois indica que a retrogradação foi menor, portanto, os pães se tornaram menos firmes ao longo da vida útil. Nota-se que ambas enzimas α -amilase fúngica e enzima α -amilase maltogênica apresentaram o efeito linear negativo (-0,886 e -1,258, respectivamente), contribuindo para a diminuição da firmeza dos pães ao longo da vida útil. A TABELA 25 apresenta o modelo para análise de variância (ANOVA), onde foram desconsiderados os parâmetros não significativos ao nível de 5% (α -AF² e α AF * α AM).

TABELA 25– TABELA ANOVA PARA O DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO FIRMEZA (N) PARA OS PÃES DE FORMA NO DIA 14 APÓS A FABRICAÇÃO

Variáveis	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}
Regressão	6,377	3	2,126	11,859	4,066
Resíduo	1,434	8	0,179		
Falta de ajuste	1,271	5	0,254	4,671	9,013
Erro puro	0,163	3	0,054		
Total	7,811	11			

$R^2 = 0,816$; $R^2_{aj} = 0,748$; %Var = 97,910%

NOTA: SQ: soma dos quadrados; GL: graus de liberdade; MQ: quadrado médio; F: distribuição de Fischer.

Observando-se o F_{calc} da variável Regressão, nota-se valor superior ao valor teórico (F_{tab}), portanto, o valor teórico está na região onde o erro está distribuído pela função de Fischer ($\alpha = 5$). O F_{calc} da falta de ajuste foi menor que o F_{tab} indicando que não há relação estatística entre a falta de ajuste e o erro puro. O R^2 (0,816) e o R^2_{aj} (0,748) encontrados foram menores do que esperado, contudo, de acordo com os resultados (TABELA 25) foi possível gerar a superfície de resposta (FIGURA 14), para verificar o comportamento da firmeza (N) na região experimental estudada, plotada a partir da equação obtida para essa resposta (EQUAÇÃO 6).

$$\text{Firmeza} = 2,723 - 0,443 \times \alpha AF - 0,629 \times \alpha AM + 0,481 \times \alpha AM^2 \quad (6)$$

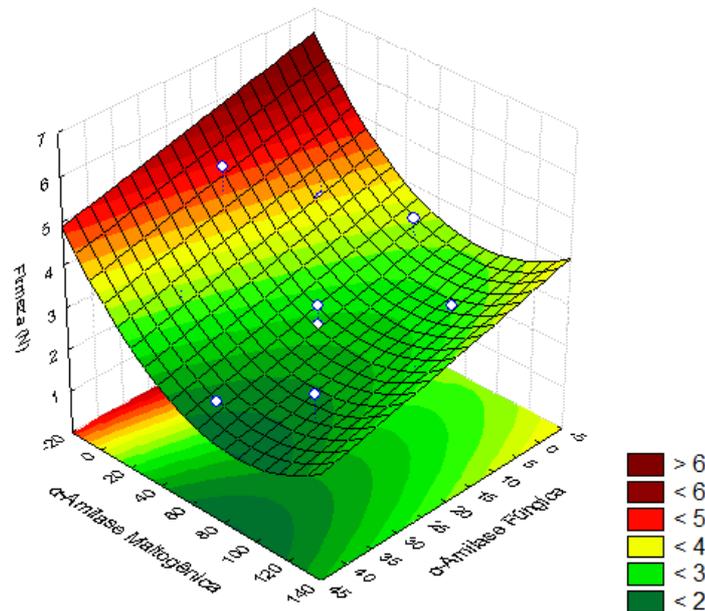


FIGURA 14– SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA O DELINEAMENTO COMPOSTO CENTRAL ROTACIONAL PARA O PARÂMETRO FIRMEZA (N) DOS PÃES DE FORMA APÓS 14 DIAS DE FABRICAÇÃO

Na FIGURA 14, observa-se pela superfície de resposta a tendência das enzimas amilolíticas em contribuir para a diminuição da firmeza (N) na região de ótimo (<2), quanto maior as variáveis independentes (α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica).

4.3.6 Desejabilidade

A função desejabilidade foi utilizada para combinar as variáveis dependentes em uma resposta, a fim de encontrar a melhor resposta. A melhor resposta foi configurada como menor valor para o parâmetro C5 (Nm) da análise Mixolab®, maior volume específico (cm^3/g) e menor firmeza (N) dos pães de forma no dia 14. O perfil de desejabilidade (ANEXO 5) mostrou que o *blend* de 40 ppm de α -amilase fúngica e 120 ppm α -amilase maltogênica foram as ótimas para obtenção das respostas, porém, as dosagens indicadas pela ferramenta não correspondem às formulações realizadas no presente estudo.

Com o objetivo de verificar a viabilidade econômica da aplicação das enzimas nos pães de forma, o custo foi estimado para aplicação em tonelada de farinha de trigo, sendo encontrado de U\$ 32,85 / tonelada de farinha de trigo, para a dosagem de 40 ppm de α -amilase fúngica e 120 ppm α -amilase maltogênica (indicada pelo perfil desejabilidade), e de U\$ 17,25 / tonelada de farinha de trigo, para a formulação F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM), sendo referente as melhores respostas (menor parâmetro C5 [Nm], maior volume [cm³/g] e menor firmeza [N] no 14^o dia da vida útil) no presente estudo.

Assim, foi possível verificar que o menor custo e com resultados ótimos foi da formulação F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM), pois a enzima α -amilase maltogênica apresenta o maior valor por dosagem.

5 CONCLUSÃO

Este trabalho mostrou que a avaliação reológica das formulações através da análise no equipamento Mixolab®, pelo parâmetro da retrogradação C5 (Nm), otimizadas através de um delineamento composto central rotacional (DCCR), com planejamento 2², com duas variáveis independentes (dosagem das enzimas α -amilase fúngica e α -amilase maltogênica), estimou a qualidade tecnológica das amostras quando os resultados foram comparados em relação ao volume (cm³/g) e firmeza instrumental (N) ao longo da vida útil dos pães de forma.

No equipamento Mixolab® a farinha de trigo foi avaliada adicionada do *blend* das enzimas amilolíticas comerciais, sendo que, com o resfriamento da massa durante o teste, ocorreu a retrogradação, medida pelo torque C5 (Nm), onde o menor torque C5 (Nm) obtido foi da formulação F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) (1,440 Nm), indicando que houve maior hidrolisação das cadeias amilolíticas, o que resultou na diminuição da consistência da massa ao final do ensaio e na aptidão da conservação da característica de frescor do pão ao longo da vida útil.

O maior volume específico (cm³/g) dos pães de forma foi da formulação F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM), de 5,845 cm³/g, onde a sinergia entre as enzimas aumentou o substrato da levedura, a maltose, e, conseqüentemente, aumentou o volume dos pães.

A atividade enzimática das enzimas comerciais foi determinada, onde a enzima α -amilase fúngica (*Spring alfa 140.000*) apresentou atividade de 1482,895 U/g e, para a enzima α -amilase maltogênica (*Spring Nova G3*) atividade de 4679,239 U/g. Ao longo do monitoramento do processamento dos pães de forma, notou-se que as formulações F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) e F4 (34 ppm α AF / 102 ppm α AM) apresentaram as maiores atividades enzimáticas, o que indica maior hidrólise e sinergia entre as enzimas.

Os pães de forma foram avaliados em relação a textura instrumental, pelo parâmetro de firmeza (N), ao longo da vida útil, no período de 1, 4, 7, 10 e 14 dias após a fabricação. A menor firmeza (N) foi da amostra F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM), indicando que houve melhor sinergia enzimática, mantendo a estrutura da amilopectina, que resultou na menor retrogradação e, conseqüentemente, firmeza (N) dos pães de forma.

As modelagens apresentadas com auxílio da ferramenta estatística *Statistica* 12.0®, empregando-se a Metodologia de Superfície de Resposta, mostraram-se adequadas podendo ser utilizadas para fins preditivos. Pode-se verificar através do perfil de desejabilidade que o *blend* de 40 ppm de α -amilase fúngica e 120 ppm α -amilase maltogênica foram as ótimas para obtenção das respostas (menor C5 [Nm], maior volume específico [cm^3/g] e menor firmeza [N] dos pães de forma), e que o custo estimado para aplicação foi de U\$ 32,85 / tonelada de farinha de trigo. Em contrapartida, verificou-se que para a formulação F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM), referente as melhores respostas no presente estudo, apresentou o custo estimado de U\$ 17,25 / tonelada de farinha de trigo.

Na avaliação dos resultados da análise reológica realizada no Mixolab®, através do parâmetro ligado a retrogradação, C5 (Nm), notou-se que a formulação F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) apresentou o menor torque (1,440 Nm). F6 (40 ppm α AF / 60 ppm α AM) também obteve o maior volume específico (5,845 cm^3/g) e menor firmeza instrumental (2,003 N) no 14º dia após a fabricação, indicando que a realização prévia da análise no equipamento Mixolab® permite avaliar o comportamento da farinha de trigo adicionada de enzimas amilolíticas, antes processamento dos pães de forma.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC. American Association of Cereal Chemists **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists.** Disponível em: <<http://methods.aaccnet.org/toc.aspx>>. Acesso em: 20/08/2014

AACC. American Association of Cereal Chemists. **AACC 10-14.01:** Determination of Bread Volume by Laser Topography: BVM Method. Minnesota, 2014.

AACC. American Association of Cereal Chemists. **AACC 44-15.02:** Moisture – Air-Oven Methods. Minnesota, 1999.

AACC. American Association of Cereal Chemists. **AACC 46-12.01:** Crude Protein – Kjeldahl Method, Boric Acid Modification. Minnesota, 1999.

AACC. American Association of Cereal Chemists. **AACC 54-30.02:** Alveograph Method for Soft and Hard Wheat Flour. Minnesota, 1999.

AACC. American Association of Cereal Chemists. **AACC 54-60.01:** Determination of Rheological Behavior as a Function of Mixing and temperature Increase in Wheat Flour and Whole Wheat Meal by Mixolab. Minnesota, 2010.

AACC. American Association of Cereal Chemists. **AACC 54-21.02:** Rheological Behavior of Flour by Farinograph: Constant Flour Weight Procedure. Minnesota, 2011.

AACC. American Association of Cereal Chemists. **AACC 74-09.01:** Measurement of Bread Firmness by Universal Testing Machine. Minnesota, 1999.

AACC. American Association of Cereal Chemists. **AACC 76-31.01:** Damaged Starch: Amperometric Method by SDmatic, Minnesota, 2007.

AACC. American Association of Cereal Chemists. **AACC 76-33.01:** Determination of Damaged Starch – Spectrophotometric Method, Minnesota, 2014.

ABIP. Associação Brasileira da Indústria de Panificação e Confeitaria. São Paulo: 2015. **Performance do setor de panificação e confeitaria brasileiro em 2014.** Disponível em: <http://www.propan.com.br/noticia.php?id=1344#.VNS7t53F_il>. Acesso em: 06/02/2015.

ABITRIGO. Associação Brasileira da Indústria do Trigo. São Paulo, 2015. **O Trigo na História.** Disponível em: <<http://www.abitrigo.com.br/index.php?mpg=02.04.00>>. Acesso em: 06/02/2015.

ALAZARD, D.; RAIMBAULT, M. Comparative study of amylolytic enzyme production by *Aspergillus niger* in liquid and solid-state cultivation. **European Journal of applied Microbiology and Biotechnology**, v. 12, p. 113-114, 1981.

ALMEIDA NETO, A. C. **A história da panificação brasileira**. 1.ed. São Paulo: Max Foods, 2008.

AOAC. Association of Official Agricultural Chemists. **AOAC 978.18: Water Activity**. Maryland, 1995.

AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHIMIDELL, W.; LIMA, U.A. **Biotecnologia industrial: biotecnologia na produção de alimentos**. 1. ed. São Paulo: Edgar Blücher, v.4, 2001.

BANU, J.; STOENESCU, G.; IONESCU, V.; APRODU, J. Estimation of the Baking Quality of Wheat Flour Based on Rheological Parameters of the Mixolab Curve. **Czech Journal of Food Sciences**, v.29, p. 35-44, 2011.

BANU, J.; VASILEAN, I.; APRODU, J. Evaluation of rheological behaviour of whole rye and buckwheat blends with whole-wheat flour using Mixolab. **Italian Journal of Food Science**, v.22, p. 83-89, 2010.

BARRET, A. H.; MARANDO, G.; LEUNG, H.; KALETUNÇ, G. Effect of Different Enzymes on the Textural Stability of Shelf-Stable Bread. **American Association of Cereal Chemists**, Columbus, v.82, p. 152-157, 2005.

BARROS NETO, B. de; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria. 3.ed. Campinas: UNICAMP, 2007.

BECKER, N. B.; BARATTO, C. M.; GELINSKI, J. M. L. N. Propriedades das enzimas α -amilase e xylanase comerciais e sua influência na reologia da massa e na qualidade do pão de forma. **Evidência**, Joaçaba, v.9 n.1-2, p. 67-82, 2009.

BENNION, E. B. **Fabricación de Pan**. Acribia: Zaragoza, 1970.

BESKOW, P.; DECKERS, D. Capacidade brasileira de armazenagem de grãos. In: LORINI, I.; BIRCK, N. M. M. **Contaminação fúngica, micotoxinas e sua relação com a infestação de insetos em trigo armazenado**. 2005. 146 p.

BONET, A. BLASZCZAK W., ROSELL, C.M. Formation of homopolymers and heteropolymers between wheat flour and several protein sources by transglutaminase-catalyzed cross-linking. **Cereal Chemistry**, v. 83, p. 655-662, 2006.

BOSMANS, G. M.; LAGRAIN, B.; FIERENS, E.; DELCOUR, J. A. Impact of Amylases on Biopolymer Dynamics during Storage of Straight-Dough Wheat Bread. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, p. 6525-6532, 2013.

BOX, G.E.P.; HUNTER, H.G.; HUNTER, J.S. **Statistics for experiments**. New York: John Wiley Co., 1978.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Aprova a resolução sobre os coadjuvantes de tecnologia de produtos forneados. Resolução CNNPA nº 38, 12/1977. **Diário Oficial da União**. Brasília – DF. Disponível em: <

http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/8d1eb580474594e29c74dc3fbc4c6735/RESOLUCAO_CNNPA_38_1977.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 09/02/2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Aprova o Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares – definições, classificação e emprego. Portaria nº 540, 10/1997. **Diário Oficial da União**. Brasília – DF, 1997. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d1b6da0047457b4d880fdc3fbc4c6735/PORTARIA_540_1997.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 09/02/2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Aprova o Regulamento Técnico que aprova o uso de Aditivos Alimentares, estabelecendo suas funções e seus Limites Máximos para a Categoria de Alimentos 7 – Produtos de Panificação e Biscoitos. Resolução RDC nº 383, 08/1999. **Diário Oficial da União**. Brasília – DF, 1990. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/faa2fb0043447422ba93bbff1ba42680/Resolu%C3%A7%C3%A3o+n%C2%BA+383,+de+05+de+agosto+de+1999+biscoito.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 20/05/2015

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Aprova o Regulamento Técnico referente aos Procedimentos básicos de Boas Práticas de Fabricação em estabelecimentos beneficiadores de sal destinado ao consumo humano e o roteiro de inspeção sanitária em indústrias beneficiadoras de sal. Resolução RDC nº 28, 03/2000. **Diário Oficial da União**. Brasília – DF, 2000a. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/c7624300474588a49268d63fbc4c6735/RDC_28.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 09/02/2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Aprova o Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Pão. Resolução RDC nº 90, 10/2000. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2000b, seção 1. Revogada pela Resolução RDC nº 263, 09/2005. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/1ae52c0047457a718702d73fbc4c6735/RDC_263_2005.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 20/08/2014.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Aprova o Regulamento Técnico sobre Enzimas e Preparações Enzimáticas para Uso na Produção de Alimentos Destinados ao Consumo Humano. RDC nº 205, 11/2006. **Diário Oficial da União**. Brasília – DF, 2006. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/97817a8045a964aa9d5a9fa9166895f7/Resolucao+RDC+n+205+de+14+de+novembro+de+2006.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 20/08/2014.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Aprova o Regulamento Técnico para açúcares e produtos para adoçar. Resolução RDC nº 271, 09/2005. **Diário Oficial da União**. Brasília – DF, 2005. Disponível em: <[http://www.aladi.org/nsfaladi/normasTecnicas.nsf/09267198f1324b64032574960062343c/4207980b27b39cf903257a0d0045429a/\\$FILE/Resoluci%C3%B3n%20N%C2%BA%20271-2005.pdf](http://www.aladi.org/nsfaladi/normasTecnicas.nsf/09267198f1324b64032574960062343c/4207980b27b39cf903257a0d0045429a/$FILE/Resoluci%C3%B3n%20N%C2%BA%20271-2005.pdf)>. Acesso em: 08/02/2015.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Aprova o Regulamento Técnico para Fortificação das Farinhas de Trigo e das Farinhas de Milho com Ferro e

Ácido Fólico. Resolução RDC nº 344, 12/2002. **Diário Oficial da União**. Brasília – DF, 2002. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/f851a500474580668c83dc3fbc4c6735/RDC_344_2002.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 08/05/2015.

BRASIL. Decreto-lei n. 10.273, de 05 de setembro de 2001. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/Leis/LEIS_2001/L10273.htm>. Acesso em: 20/05/2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Aprova o Regulamento técnico de identidade e qualidade da farinha de trigo. Instrução Normativa nº8, de 06/2005. **Diário Oficial da União**, seção 1 Brasília, - DF, 2005. Disponível em: <www.agricultura.gov.br/>. Acesso em: 04/06/2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA. Instrução Normativa nº38, de 30 de novembro de 2010. **Diário Oficial da União**, Brasília, - DF, n.229, p.2, 01 dezembros 2010. Seção1.

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.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de Experimentos usando o Statística**. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais, 2003.

CANELLA-RAWLS, S. **Pão: Arte e Ciência**. 2.ed. São Paulo: Senac, 2006.

CARVALHO JUNIOR, D. **Tecnologia de panificação e formulação de pré-misturas**. Curitiba: Granotec do Brail, 2001.

CARVALHO JUNIOR, D. **Controle de qualidade de trigo e derivados e tratamento e tipificação de farinhas**. Curitiba: Granotec do Brasil, 2006.

CASTIGLIONI, G. L.; JÚNIOR, M. S. S.; SOUZA, T. A. C.; SILVA, F. A.; CALIARI, M. Tamanho dos alvéolos e aceitação de pães de forma enriquecidos com farelo de mandioca. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v.44, p. 127-134, 2014.

CAUVAIN, P. **Bread making: Improving quality**. 1 ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2003.

CHIOTELLI, E.; ROLÉE, A.; LE MESTE, M. Rheological properties of soft wheat flour doughs: effect of salt and triglycerides. **Cereal Chemistry**, v. 81, p. 459-468, 2004.

CHOPIN. Chopin Technologies. Alveograph. France, 2015. Disponível em: <<http://www.chopin.fr/media/produits/pdf/documentation-alveopc.pdf>>. Acesso em: 11/02/2015. Catálogo

CHOPIN. Chopin Technologies. Mixolab applications handbook: Rheological and enzyme analyze. France, 2012 Disponível em: <<http://www.chopin.fr/media/docs/MAB-GB-Web-web.pdf>>. Acesso em: 11/02/2015.

CHOPIN. Chopin Technologies. Rheofermentometer F3: **User's Manual**. France, 2004.

COLLAR, C.; BOLLAIN, C.; ROSELL, C. M. Rheological behavior of formulated bread doughs during mixing and heating. **Food Science Technology International**, v. 13, p. 99-107, 2007.

COSTA, J.A.V. **Estudo da Produção de Amiloglucosidade por *Aspergillus niger* NRRL 3122 em Fermentação Semi-Sólida de Farelo de Arroz**. 203 f. Tese de doutorado em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, 1996.

CRUZ, M. **Teste de Firmeza em Pão de Forma (método AACC)**. Extralab, 2012. Disponível em: < <https://blogextralab.wordpress.com/2012/01/11/firmeza-em-pao-de-forma/>>. Acesso em: 11/11/2015.

CURTI, E.; CARINI, E.; TRIBUZIO, G.; VITTADINI, E. Bread staling: Effect of gluten on physic-chemical properties and molecular mobility. **Food Science and Technology**, v. 59, p. 418-425, 2014.

CZUCHAJOWSKA, Z.; POMERANZ, Y. Gas formation and gas retention I. The system and methodology. **Cereal Foods World**, v. 38, p. 499-503, 1993.

DAMODARAN, S.; PARKIN, L. K.; FENNEMA, O. R. **Química de Alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

DHAKA, V.; GULIA, N.; KHATKAR, B. S. Application of Mixolab® to Assess the Bread Making Quality of Wheat Varieties. **Journal of Food Processing & Technology**, v.1, n.2, p. 1-8, 2012.

DOBRSZCYK B. J.; SALMANOWICZ, B. P. Comparison of predictions of baking volume using large deformation rheological properties. **Journal of Cereal Science**, v.47, p. 292-301, 2011.

EMBRAPA TRIGO. **Cultivos**. Passo Fundo, 2014. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/trigo/cultivos>>. Acesso em: 06/02/2015.

EL-DASH, A.; CAMARGO, C.O.; DIAZ, N.M. **Fundamentos da tecnologia de panificação**. Série tecnologia agroindustrial, n.6. São Paulo: Secretaria da Indústria, Comércio, Ciência e Tecnologia, 1983.

EL-DASH, A.; CAMPOS, J. E.; GERMANI, R. **Tecnologia de farinhas mistas**. Uso de Farinha Mista de Trigo e Sorgo na Produção de Pães. V.4, Brasília: Embrapa, 1994.

ELIASSON, A. C.; LARSSON, K. **Cereals in Bread making – A Molecular Colloidal Approach**. 1. ed. United States of America: Marcel Dekker, 1993.

ELIASSON, A. C. **Starch in Food – Structure, function and application**. New York: Boca Raton, CRC, 2005. 605p.

ESTELLER, M. S.; LANNES, S. C. S. Parâmetros complementares para fixação de identidade e qualidade de produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 802-806, 2005.

FERNANDES, A. F.; PEREIRA, J.; GERMANI, R.; OIANO-NETO, J. Efeito da substituição parcial da farinha de trigo por farinha de casca de batata (*solanum Tuberosum Lineu*). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 56-65, 2008.

GOESTAERT, H.; SLADE, L.; LEVINE, H.; DELCOUR, J. A. Amylases and bread firming – an integrated view. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Belgium, v. 50, p. 345-352, 2009a.

GOESTAERT, H.; LEMAN, P.; BIJTTEBIER, A.; DELCOUR, J. A. Antifirming Effects of Starch Degrading Enzymes in Bread Crumb. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p.2346-2355, 2009b.

GOESTAERT, H.; BIJTTEBIER, A.; DELCOUR, J. A. Hydrolysis of amylopectin by amylolytic enzymes: level of inner chain attack as an important analytical differentiation criterion. **Carbohydrate Research**, v. 345, p. 397-401, 2010.

GOMES-RUFFI, C. R.; CUNHA, R. H.; ALMEIDA, E. L.; CHANG, Y. K.; STEEL, C. J. Effect of the emulsifier sodium stearoyl lactylate and of the enzyme maltogenic amylase on the quality of pan bread during storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 49, p.96-101, 2012.

GRANOTEC. **Pão de Forma e Integral**, Curitiba: 2011. Metodologia Analítica.

GUARIENTI, E. M. **Fazendo pães caseiros**. Passo Fundo: Embrapa, 2004.

GUTKOSKI, L. C.; BRHEM, C. M.; SANTOS, E.; MEZZOMO, N. Efeito de ingredientes na qualidade da massa de pão de forma congelada não fermentada durante o armazenamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, n. 3, p. 460-467, 2005.

GUTKOSKI, L. C.; PAGNUSSAT, F. A.; SPIER, F.; PEDÓ, I. Efeito do teor de amido danificado na produção de biscoitos tipo semi-duros. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 119-124, 2007a.

GUTKOSKI, L.C.; KLEIN, B.; KASTER, B.; GONÇALVES, F. T.; LAMAISON, F. C.; SPIER, F.; FRIEDRICH, M. T. Armazenamento da farinha de trigo enriquecida com ferro e ácido fólico e seu efeito na produção de pão de forma. **Alimento e Nutrição**, Araraquara, v.18, n.1, janeiro / março, 2007b.

HADNADEV, T. D.; TORBICA, A.; HADNADEV, M. Rheological properties of wheat flour substitutes / alternative crops assessed by Mixolab®. **Procedia Food Science**, v.1, p. 328-334, 2011.

HOPEK, M.; ZIOBRO, R.; ACHREMOWICZ, B. Comparison of the effects of microbial α -amylases and scalded flour on bread quality. **Acta Scientiarum Technology**, Cracow, v.5, n. 1, p. 97-106, 2006.

HOSENEY, R. C. **Principles of cereal: science and technology**. 2. Ed. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, 1994.

HUNTERLAB. **Hunter Associates Laboratory**. Inc. Reston. 2006. Color Measurement of Cereal and Cereal Products. Disponível em: <<http://www.hunterlab.com/ColorEducation/ArticlesPapers>>. Acesso em 04 dez. 2015.

ICC. International Association for Cereal Science and Technology. **ICC 104/1: Determination of Ash in Cereals and Cereal Products**, Vienna, 1990.

JANE, J. L.; CHEN, Y. Y. Effects of amylose molecular size and amylopectin branch chain length on paste properties of starch. **Cereal Chemistry**, v.69, p. 60-65, 1992.

KAHRAMAN, K.; SAKIYAN, O.; OZTURK, S.; KOKSEL, H.; SUMNU, G.; DUBAT, A. Utilization of Mixolab® to predict the suitability of flours in terms of cake quality. **European Food Research and Technology**, v.227, p.565-570, 2008.

KIM, J. H. MAEDA, T. MORITA, N. Effect of α - amylase on the dough properties and bread quality of wheat flour substituted with polished flours. **Food Research International**, v. 39, p. 117-126, 2006.

KONICA MINOLTA. Precise color Communication: Color control from perception to instrumentation. **Konica Minolta Sensing**. Japan, 1998.

LAGRAIN, B.; LEMAN, P.; GOESAERT, H.; DELCOUR, J.A. Impact of thermostable amylases during bread making on wheat bread crumb structure and texture. **Food Research International**, v.41, p.819-827, 2008.

LEMAN, P.; BIJTTEBIER, A.; GOESAERT, H.; VANDEPUTTE, G. E.; DELCOUR, J. Influence of amylases on the rheological and molecular properties of partially damaged wheat starch. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Belgium, v. 86, p. 1662-1669, 2006.

LEÓN, A. E.; DURÁN, E.; BARBER, C. B. Utilization of Enzyme Mixtures to Retard Bread Crumb Firming. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. V.50, p.1416-1419, 2002.

LORENZ, K. J.; KULP K. **Handbook of Cereal Science and Technology**. 1. ed. New York: Marcel Dekker, 1991.

MALDONADE, I. R.; CARVALHO, P. G. B.; FERREIRA, N. A. **Protocolo para determinação de açúcares totais em hortaliças pelo método de DNS**. Brasília: Embrapa Hortaliças, 2013. Comunicado Técnico

MATVEEVA, I.; BELLIDO, G.; GAZZOLA, G. **Enzymes in Baking Technology – A Handbook of Novozymes' Solutions**. Araucária, 2012. Customer communication.

MARTINÉZ, F. B.; EL DASH, A. A Efecto de la adición de harina instantánea de maíz en las características reológicas de harina de trigo y elaboración de PAN III. **Arquivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.43, n.4, p.3221-326, 1993.

MILLER, G. L. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 426-428, 1959.

NOVOZYMES. **Texture profile analysis (TPA) measurement for bread**. Switzerland: 2005. Information Sheet.

OLIVEIRA, M. **A história do pão de forma**. São Paulo, 2014. Disponível em: <<http://www.wickbold.com.br/a-historia-do-pao-de-forma/>>. Acesso em: 24/05/2015.

ORTOLAN, F.; HECKTHEUER, L. H.; MIRANDA, M. Z. Efeito do armazenamento à baixa temperatura (-4 °C) na cor e no teor de acidez da farinha de trigo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n.1, p.55-59, 2010.

OTENG-GYANG, K. **Etude de levures amylolytiques em vue de la production de protéines d'organismes unicellulaires**. Thèse de doctorat de troisième cycle em Génie et Technologie Alimentaires, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier, 1979.

PALACIOS, H. R. ; SCHWARZ, P. B.; D'APPOLONIA, B. L. Effect of α -Amylases from Different Sources on the Retrogradation and Recrystallization of Concentrated wheat Starch Gels: Relationship to Bread Stalling. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 5978-5986, 2004.

PANDEY, A.; NIGAM, P.; SOCCOL, C. R.; SOCCOL, V. T.; SINGH, D.; MOHAN, R. Advances in Microbial Amylases. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v.31, p. 135-152, 2000.

PATTISON, T. L.; HOLY, A. V. Effect of selected natural antimicrobials on Baker's yeast activity. **Letters in Applied Microbiology**, v. 33, p.211-215, 2001.

PERTEN. **Installation and Operation Manual BVM**. Perten Instruments Australia, 2014.

PFLAUM, T.; KONITZER, K.; HOFMANN, T.; KOEHLER, P. Analytical and Sensory Studies on the Release of Sodium from Wheat Bread Crumb. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Freising, v. 61, p. 6485-6494, 2013.

POMERANZ, Y. **Wheat: Chemistry and Technology**. 3. ed. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1988.

POPPER, L.; SCHÄFER, W.; FREUND, W. **Future of Flour: A Compendium of Flour Improvement**. 1. ed. Ahrensburg: Agrimedia, 2006.

PUPPO, M. C.; CALVELO, A.; ANÓN, M. C. Physicochemical and rheological characterization of wheat flour dough. **Cereal Chemistry**, v.2, n.82, p.173-181, 2005.

QUAGLIA, G. **Ciencia y tecnología de la panificación**. 1. ed. Zaragoza: Acribia, 1991.

QUEJI, M. F. D.; SHEMIN, M. H. C.; TRINDADE, J. L. F. Propriedades reológicas da massa de farinha de trigo adicionada de alfa-amilase. **Publ. UEPG Ciências Exatas Terra, Ciências Agrícola Engenharia**, Ponta Grossa, v.12, p. 2047-2053, 2006.

ROCKEN, W.; RICK, M.; REINKEMEIER, M. Controlled production of acetic acid in wheat sour doughs. **Zeitschrift fur Lebensmittel-Untersuchung und Forschung**, Berlin, v.195, p.259-263, 1992.

ROJAS, J. A.; ROSSEL, C. M.; BENEDITO, C. Pasting properties of different wheat flour hydrocolloid systems. **Food Hydrocolloids**, v. 13, p. 27-33, 1999.

RANHOTRA, G. S.; GELROTH, J. A.; EISENBRAUN, G. J. Correlation between Chopin and AACC methods of determining damaged starch. **Cereal Chemistry**, Minnesota, v. 70, n. 2, p. 236-237, 1993.

ROSELL, C. M., COLLAR, C., HAROS, M. Assessment of hydrocolloid effects on the thermos-mechanical properties of wheat using the Mixolab. **Food Hydrocolloid**, v.21, p.452-462, 2007.

ROSELL, C. M.; FOEGEDING, A. Interaction of hydroxypropylmethylcellulose with gluten proteins: Small deformation properties during thermal treatment. **Food Hydrocolloid**, v. 21, p.1092-1100, 2007.

ROSSEL, C.M., MARCO, C., GARCÍA-ALVÁREZ, J., SALAZAR, J. Rheological properties of rice-soybean protein composite flours assessed by Mixolab and ultrasound. **Journal of Food Process Eng.** DOI: 10.1111/j.1745-4530.2009.00501.x., 2010.

ROSSEL, C. M.; SANTOS, E.; COLLAR, C. Physical characterization of fiber-enriched bread doughs by dual mixing and temperature constraint using Mixolab®. **European Food Research and Technology**, v. 231, p. 535-544, 2010.

SANTOS, C. M.; NALEVAIKO, F. K. S.; SILVA, P. M. L.; ALMEIDA, P. A. P. **Métodos analíticos aplicados pela Granotec / Granolab ao trigo e à farinha de trigo**. 1. ed., Granotec do Brasil: Curitiba, 2015.

SANDHU, H. P. S.; MANTHEY, F.; SIMSEK, S. Quality of bread made from ozonated wheat (*Triticum aestivum L.*) flour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.91, p.1576-1584, 2011.

SAUCEDO-CASTANEDA, G.; LONSANE, B. K.; KRISHNAIAH, M. M.; NAVARRO, J. M.; ROUSSOS, S.; RAIMBAULT, M. Maintenance of heat and water balances as a scale-up criterion for the production of ethanol by *Schwanniomyces castellii* in a solid state fermentation system. **Process Biochemistry**, v. 27, p. 97-107, 1992.

SCHEUER, P. M.; MATTIONI, B.; BARRETO, P. L. M.; ONTENEGRO, F. M.; GOMES-RUFFI, C. R.; BIONDI, S.; KILPP, M.; FRANCISCO, A. Effects of fat replacement on properties of whole wheat bread. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.50, n.4, p. 704 – 712, 2014.

SINGH, S.; SINGH, N.; ISONO, N.; NODA, T. Relationship of Granule Size Distribution and Amylopectin Structure with Pasting, Thermal, and Retrogradation Properties in Wheat Starch. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, New Delhi, v. 58, n. 2, p. 1180-1188, 2010.

STOENESCU, G.; IONESCU, V.; VASILEAN, I.; APRODU, I.; BANU, I. Prediction the Quality of Industrial Flour Using the Mixolab® Device. **Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Agriculture**, v. 67, n. 2, p. 429-433, 2010.

SZCZESNIAK, A. S. Texture is a sensory property. **Food Quality and Preference**, v. 13, n. 4, p. 215-225, 2002.

THARANATHAN, R. N. Food-derived carbohydrates – Structural complexity and functional diversity. **Critical Reviews in Biotechnology**, v.22, p.65-84, 2002.

TESTER, R.F; KARKALAS, J.; QI, X. Starch – composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**. V.39, p. 151-165, 2004.

TORRES, G. A. M.; SIMIONI, A.; GAMBIM, E.; TOMAZIN, T. **Proteínas de reserva do trigo: Gluteninas**. Passo Fundo, 2009. Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do117_1.htm>. Acesso em: 06/02/2015.

USW. United States Wheat Associates. Arlington, VA, 2014. **Regional Quality Report**. Disponível em: < <http://www.uswheat.org/cropQuality>>. Acesso em: 11/05/2015.

VÁSQUEZ, D.; WATTS, B.; LUKOW, O.; WILLIAMS, P.; ARNTFIELD, S. Dough extensional properties and the quality of hearth and pan breads. Paper presented at the **AACC** International Annual meeting, Orlando, Florida, 2005.

WANG, X.; CHOI, S.; KERR, W. Effect of gluten content on recrystallization kinetics and water mobility in wheat starch gels. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Georgia, v. 84, p. 371-379, 2004.

WHITEHURST, R. J.; OORT, M. V. **Enzymes in Food Technology**. 2. ed. Wiley-Blackwell, 2009. 384p.

WIESER, H.; BUSCHUK, W. MACRITCHIE F. Gliadin and Glutenin: The Unique Balance of Wheat Quality. Chapter 7 – The Polymeric Glutenins. **American Association of Cereal Chemistry**, St. Paul, MN, p. 213-240, 2006.

XIAO, Z.; SORMS, R.; TSANG, A. A quantitative starch-iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities. **Analytical Biochemistry**, 351(1): 146-148, 2006.

XHABIRI, G.; ACOSKI, T. STANOJESKA, M. SINANI, V. The assessment of Rheological Qualities with the Mixolab® of different wheat flours enriched with their bran. **European Scientific Journal**, v. 9, n. 24, p. 154-161, 2013.

XIJUN, L.; JUNJIE, G.; DANLI, W.; LIN, L.; JIARAN, Z. Effects of Protein in Wheat Flour on Retrogradation of Wheat Starch. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 8, p. C1505-C1511, 2014.

ZANETTI, B.; SCHMITZ, F.; APLEVICZ, K.; SCHEUER, P. M. **Apostila de Panificação I**. Ministério da Educação – Secredata de Educação Profissional e Tecnológica. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina – Campus Florianópolis – Continente SC, 2009.

ZENG, J.; GAO, H.; LI, G. Functional properties of wheat starch with different particle size distribution. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Xinxiang, v. 94, p. 57-62, 2014.

ANEXOS

ANEXO 1 – FICHA TÉCNICA DA ENZIMA α -AMILASE FÚNGICA – <i>SPRING ALFA 140.000</i>	109
ANEXO 2 – FICHA TÉCNICA DA ENZIMA α -AMILASE MALTOGÊNICA – <i>SPRING NOVA G3</i>	110
ANEXO 3 – CURVAS PADRÕES E TEORES DE GLICOSE / MALTOSE EQUIVALENTES.....	111
ANEXO 4 IMAGENS DAS FATIAS DE PÃES DE FORMA SUBMETIDAS AO SCANNER.....	113
ANEXO 5 – PERFIS PARA VALORES PREVISTOS PELA DESEJABILIDADE.....	114

ANEXO 1 – FICHA TÉCNICA DA ENZIMA α -AMILASE FÚNGICA – SPRING ALFA 140.000

Cópia não controlada

SPRING ALFA 140.000					 GRANOLAB  GRANOTEC <small>Nutrição e Biotecnologia</small>	
CÓDIGO	REVISÃO	ELABORADOR	APROVADOR	DEPARTAMENTO	DATA APROVAÇÃO	PÁGINA
FT-01-01-0007	02	Silvana Pereira Ramos	Cristiane Fernanda Sato Dopke	Alfa-amilase fúngica	14/08/2014	1/1

Isento da obrigatoriedade de registro sanitário segundo Resolução-RDC nº27, de 06/08/2010.

Descrição:	Preparação enzimática de alfa-amilase fúngica purificada produzida por fermentação submersa de uma cepa selecionada de <i>Aspergillus oryzae</i> . (Conforme RDC N° 26, de 26 de maio de 2009)
Aplicação:	Moinhos de trigo, Indústrias de pães, de Melhoradores e Biscoitos. SPRING ALFA 140.000 pode ser utilizada em moinhos de trigo para o tratamento de farinhas e elaboração de pré-misturas; nas indústrias de pães e biscoitos fermentados; e nas indústrias de melhoradores, como enzima fundamental.
Efeitos:	Eleva o poder fermentativo / Acréscimo de volume dos pães / Melhor cor e sabor dos biscoitos e pães
Composição:	Enzima alfa-amilase fúngica. Fécula de mandioca.
Especificações:	Atividade enzimática alfa-amilase fúngica min.: 140.000 SKB/g Umidade máxima: 8,0% pH ótimo de atuação: 4,0 – 6,0 Temperatura ótima de atuação: 25 - 50°C Temperatura de Inativação acima de 60° C
Dosagem:	3ppm – 20ppm sobre o peso da farinha. 0,15g – 1g/ 50kg de farinha SPRING ALFA 140.000 tem sua dosagem ótima definida pelas características reológicas da farinha de trigo, pelos demais ingredientes utilizados nas formulações, pelo processo e pelas especificações dos produtos finais.
Embalagem/ Estocagem:	Válido por 1 ano. Caixa/barrica de papelão com 15 e/ou 25kg. O produto conserva suas características funcionais, desde que estocado em local seco e fresco e livre de contaminantes químicos e biológicos. Manter a embalagem fechada imediatamente após o uso do produto.

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL* POR 100g	
Valor Calórico	380 Kcal
Carboidratos	46g
Proteínas	48g
Gorduras Totais	Não contém
Gorduras saturadas	Não contém
Gorduras trans	Não contém
Fibra Alimentar	0,44g
Sódio	Não contém

Referência: Resolução RDC N° 360 de 23/12/03

*Estes valores são baseados em especificações, podendo ser considerados como valores típicos.

LIMITES DE GARANTIA

Parâmetro	Limite máx.
Umidade (%)	8,0
Chumbo (Pb)	5ppm

Referências: USP-FCC VIII

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

Parâmetro	Limite
Pesquisa de <i>Salmonella</i> sp/25g	Ausência
Contagem de <i>Coliformes</i> a 45°C NMP/g	< 50
Contagem <i>Estaf. coag. positiva</i> UFC/g	< 5 x 10 ⁶

Referências: Resolução RDC N°. 12, de 02/01/01 - item 28 letra h.

Cuidados no manuseio:

Identificação de perigos: A inalação de poeiras ou aerossóis de enzimas, provindos do manuseamento, pode provocar a sensibilização, podendo causar reações alérgicas em indivíduos sensibilizados. O contato prolongado com a pele pode causar irritações menores.

Segurança: Durante a aplicação utilizar máscara de proteção com filtro tipo P100 (P3) contra partículas, e também luvas impermeáveis de borracha e óculos de proteção ou blindagem para os olhos, a fim de evitar o contato com a pele e mucosas.

Primeiros socorros: Inalação: levar o sinistrado para o ar livre; é necessária assistência médica no caso de dificuldades de respiração.

Contato com a pele: lavar com água abundante, sabão ou outros produtos apropriados. Retirar imediatamente todo o vestuário contaminado.

Contato com os olhos: lavá-los com as pálpebras abertas com água abundante. Em seguida, consultar eventualmente um médico (Oftalmologista). Ingestão: beber água, enxaguar a boca repetidas vezes. No caso de indisposição, consultar um médico.

Medidas de combate a incêndios: Produto extintor: Água ou espuma. Usar aparelho respiratório com admissão de ar independente do ambiente.

ANEXO 2 – FICHA TÉCNICA DA ENZIMA α -AMILASE MALTOGÊNICA – SPRING NOVA G3

Cópia não controlada

Público		SPRING NOVA G3			 GRANOLAB  GRANOTEC Nutrição e Biotecnologia	
CODIGO	REVISAO	ELABORADOR	APROVADOR	DEPARTAMENTO	DATA APROVAÇÃO	PAGINA
FT-01-02-0039	00	Lilian do Rocio Franco da Paz	Fernanda Kassab Siqueira Nalevaiko	Laboratório de Aplicação	30/07/2015	1/1

Isento da obrigatoriedade de registro sanitário segundo Resolução-RDC nº27, de 06/08/2010.

Descrição:	Enzima amilase maltogênica 3ª geração purificada de <i>Bacillus stearothersophilus</i> produzida por fermentação submersa do microorganismo <i>Bacillus subtilis</i> . (Conforme Resolução RDC nº 53, de 07 de outubro de 2014)
Aplicação:	Indústrias de pães, Moinhos e Fábricas de pré-misturas. SPRING NOVA G3 é aplicável nas receitas de pães industriais de longo shelf-life, dos tipos forma, hot-dog, hambúrguer, bisnaguinha e doce, e na formulação de pré-misturas e de melhoradores para pães especiais ou ricos em açúcar.
Efeitos:	Retardo da retrogradação do amido Redução nas dosagens de emulsificantes, açúcares e gorduras Prolongamento do shelf-life e características de maciez e frescor dos pães Melhor textura na crosta e miolo dos pães.
Composição:	Enzima amilase maltogênica. Fécula de mandioca.
Especificações:	Atividade enzimática amilase maltogênica mín.: 10.000 MANU/g pH ótimo de atuação: 4,5 – 6,0 Temperatura ótima atuação: 55 – 75°C Temperatura de Inativação: acima de 90°C Completamente inativada durante a cocção
Dosagem:	30ppm – 60ppm sobre o peso da farinha. 1,5g – 3g/50kg de farinha. SPRING NOVA G3 tem dosagem particular a cada fórmula. Possibilita otimização de dosagem com redução da dose típica de alfa-amilase maltogênica tradicional. Maximiza efeito quando aplicada na mesma dosagem.
Embalagem/ Estocagem:	Válido por 1 ano. Caixa de papelão/ Saco multifoliado com 15 e/ou 25kg. O produto conserva suas características funcionais, desde que estocado em local seco e fresco e livre de contaminantes químicos e biológicos. Manter a embalagem fechada imediatamente após o uso do produto.

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL* POR 100g

Valor Calórico kcal	299
Carboidratos g	58
Proteínas g	14
Gorduras Totais g, das quais:	1
Saturadas g	Não Contém
Monoinsaturadas g	Não Contém
Polinsaturadas g	Não Contém
Gorduras trans g	Não Contém
Colesterol g	Não Contém
Fibra Alimentar g	2,7
Sódio mg	2,7

Referência: Resolução RDC N.º 360 de 23/12/03 | Valores típicos ou de referência baseados em menção as informações nutricionais da mistura.

LIMITES DE GARANTIA

Parâmetro	Limite máx.
Chumbo (Pb)	5ppm

Referências: USP-FCC VIII

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

Parâmetro	Limite
Pesquisa de <i>Salmonella sp</i> /25g	Ausência
Contagem de <i>Coliformes</i> a 45°C NMP/g	< 50
Contagem <i>Estaf. coag. positiva</i> UFC/g	< 5 x 10 ²

Referências: Resolução RDC Nº. 12, de 02/01/01 - item 28 letra h.

Cuidados no manuseio:

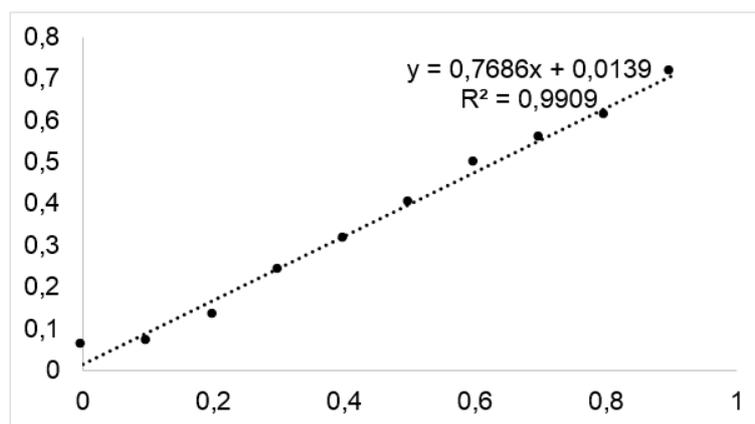
Identificação de perigos: A inalação de poeiras ou aerossóis de enzimas, provindos do manuseamento, pode provocar a sensibilização, podendo causar reações alérgicas em indivíduos sensibilizados. O contato prolongado com a pele pode causar irritações menores.

Segurança: Durante a aplicação utilizar máscara de proteção com filtro tipo P100 (P3) contra partículas, e também luvas impermeáveis de borracha e óculos de proteção ou blindagem para os olhos, a fim de evitar o contato com a pele e mucosas. **Primeiros socorros:** Inalação: levar o sinistrado para o ar livre; é necessária assistência médica no caso de dificuldades de respiração. Contato com a pele: lavar com água abundante, sabão ou outros produtos apropriados. Retirar imediatamente todo o vestuário contaminado. Contato com os olhos: lavá-los com as pálpebras abertas com água abundante. Em seguida, consultar um médico (Oftalmologista). Ingestão: beber água, enxaguar a boca repetidas vezes. No caso de indisposição, consultar um médico. **Medidas de combate a incêndios:** Produto extintor: Água ou espuma. Usar aparelho respiratório com admissão de ar independente do ambiente.

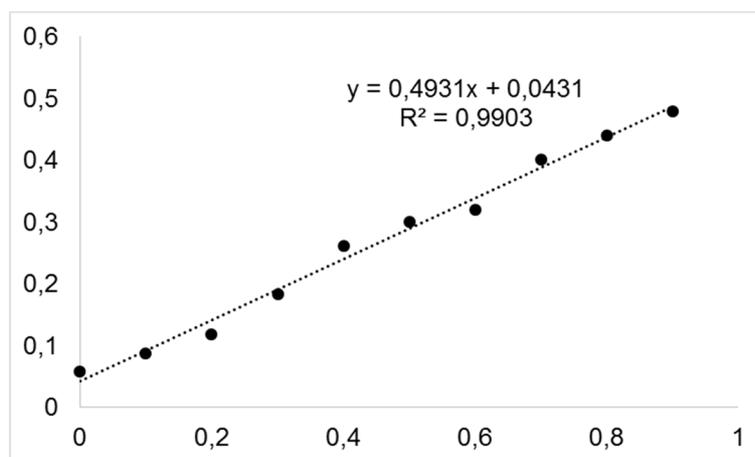
ANEXO 3 – CURVAS PADRÕES E TEORES DE GLICOSE / MALTOSE EQUIVALENTES

As curvas padrões foram elaboradas a partir de uma solução de glicose e outra de maltose com concentração inferior a 1 g.L^{-1} (FIGURA 15). Foram utilizadas concentrações de glicose de 0,0 a 0,9 g.L^{-1} com posterior leitura a 540 nm. Os teores de glicose equivalente (g.L^{-1}) (TABELA 26) e maltose equivalente (TABELA 27) foram obtidos por projeção sobre a curva padrão.

As concentrações de açúcares inicial e final (quantificação de glicose e maltose liberadas) foram determinadas empregando o método descrito por Miller (1959), por meio de reativo DNS, com posterior leitura em espectrofotômetro em 540nm.



(A)



(B)

FIGURA 15 – (A) CURVA PADRÃO OBTIDA A PARTIR DE SOLUÇÃO DE GLICOSE COM CONCENTRAÇÃO INFERIOR À $1,0 \text{ g.L}^{-1}$. (B) (A) CURVA PADRÃO OBTIDA A PARTIR DE SOLUÇÃO DE MALTOSE COM CONCENTRAÇÃO INFERIOR À $1,0 \text{ g.L}^{-1}$

TABELA 26 – CONCENTRAÇÃO DE GLICOSE (g.L⁻¹) OBTIDA APÓS PROJEÇÃO DA CURVA PADRÃO

Glicose (g.L⁻¹)	Absorbância (nm)
0	0,058
0,1	0,072
0,2	0,1339
0,3	0,238
0,4	0,313
0,5	0,401
0,6	0,498
0,7	0,545
0,8	0,612
0,9	0,717

TABELA 27 – CONCENTRAÇÃO DE MALTOSE (g.L⁻¹) OBTIDA APÓS PROJEÇÃO DA CURVA PADRÃO

Glicose (g.L⁻¹)	Absorbância (nm)
0	0,058
0,1	0,0875
0,2	0,118
0,3	0,183
0,4	0,261
0,5	0,3
0,6	0,3205
0,7	0,401
0,8	0,4405
0,9	0,48

ANEXO 4 - IMAGENS DAS FATIAS DE PÃES DE FORMA SUBMETIDAS AO SCANNER

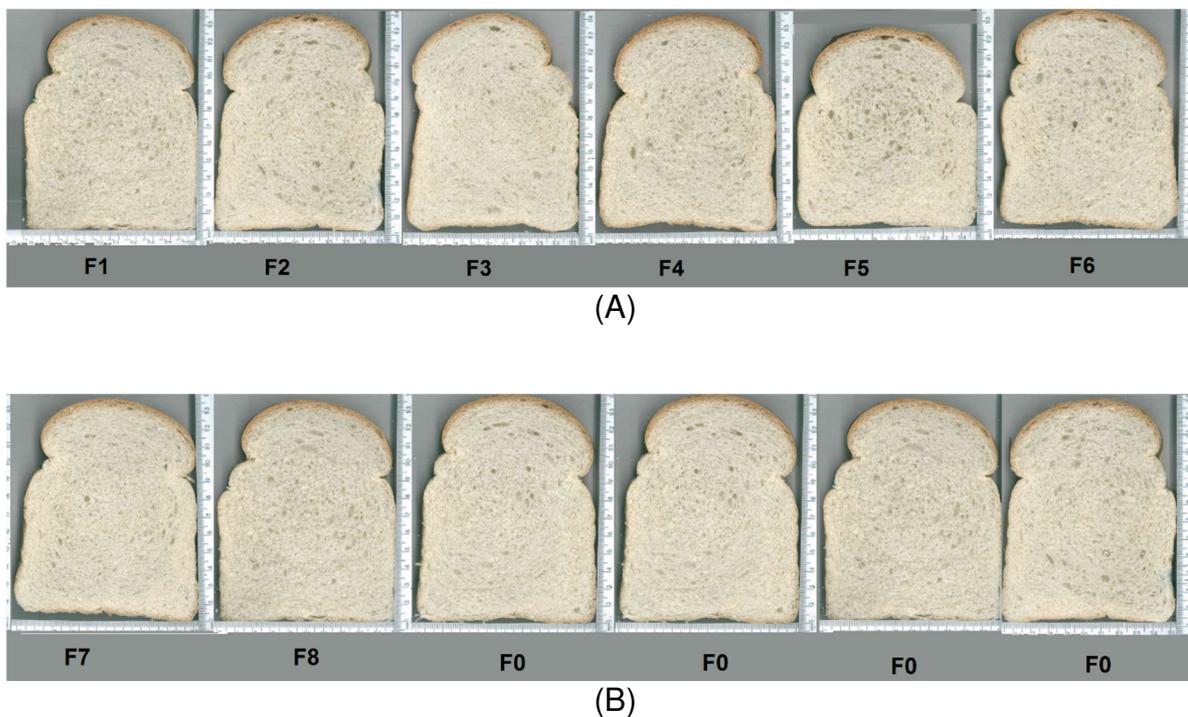


FIGURA 16: IMAGENS DAS FATIAS DE PÃES DE FORMA QUE FORAM SUBMETIDAS AO SCANNER. A) FÓRMULAS α -AMILASE FÚNGICA / α -AMILASE MALTOGÊNICA: F1 (5,858 / 17,573); F2 (5,858 / 102,427); F3 (34,142 / 17,573); F4 (34,142 / 102,427); F5 (0 / 60); F6 (40 / 60). B) F7 (20 / 0); F8 (20 / 120); F0 (20 / 60)

ANEXO 5 – PERFIS PARA VALORES PREVISTOS PELA DESEJABILIDADE

Profiles for Predicted Values and Desirability

