



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS

THAISA ABRANTES SOUZA GUSMÃO

**DESENVOLVIMENTO DE PÃO DE FORMA SEM GLÚTEN COM FARINHA DE
ARROZ VERMELHO, ENZIMA TRANSGLUTAMINASE MICROBIANA e
PREBIÓTICO: AVALIAÇÃO TECNOLÓGICA, SENSORIAL E
ARMAZENABILIDADE**

CAMPINA GRANDE – PB

2017



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE
PROCESSOS**



THAISA ABRANTES SOUZA GUSMÃO

**DESENVOLVIMENTO DE PÃO DE FORMA SEM GLÚTEN COM FARINHA DE
ARROZ VERMELHO, ENZIMA TRANSGLUTAMINASE MICROBIANA e
PREBIÓTICO: AVALIAÇÃO TECNOLÓGICA, SENSORIAL E
ARMAZENABILIDADE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Processos como parte das exigências para obtenção do título de Doutor.

Orientadores:

Profa. Dra. Maria Elita Martins Duarte

Prof. Dr. Mário Eduardo Rangel Moreira Cavalcanti-Mata

CAMPINA GRANDE – PB

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

G982d Gusmão, Thaisa Abrantes Souza.
Desenvolvimento de pão de forma sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico : avaliação tecnológica, sensorial e armazenabilidade / Thaisa Abrantes Souza Gusmão. – Campina Grande, 2017.
164 f. il. color.

Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, 2017.
"Orientação: Profa. Dra. Maria Elita Martins Duarte, Prof. Dr. Mário Eduardo Rangel Moreira Cavalcanti-Mata".
Referências.

1. Doença Celiaca. 2. Farinhas Alternativas. 3. MTgase. 4. Inulina. 5. Pão Isento de Glúten. I. Duarte, Maria Elita Martins. II. Cavalcanti-Mata, Mário Eduardo Rangel Moreira. III. Título.

CDU 66.05(043)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PROCESSOS



Tese defendida e aprovada no dia 08 de Junho de 2017

Banca Examinadora:

Prof^ª. Dra. Maria Elita Martins Duarte
Orientadora (UAEALi/CTRN/UFCG)

Prof. Dr. Mário Eduardo Rangel Moreira Cavalcanti-Mata
Orientador (UAEALi/CTRN/UFCG)

Prof^ª. Dra. Julice Dutra Lopes
Examinadora (DEQ/CT/UFPB)

Prof. Dr. Ricardo Targino Moreira
Examinador (DEA/CT/UFPB)

Prof^ª Dra. Ângela Maria Santiago
Examinadora (DQ/CCT/UEPB)

Prof^ª Dra. Mércia Melo De Almeida Mota
Examinadora (UAEALi/CTRN/UFCG)

A DEUS, presença constante em meu caminho. Aos meus amores, meus pais, Felix e Eliane, minha filha Isabella e meu esposo Rennan.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A realização deste trabalho só foi possível com a ajuda e apoio de pessoas especiais que estiveram ao meu lado ajudando-me no que fosse possível para que ao final, tudo desse certo.

As palavras podem não expressar todo o sentimento de gratidão que lhes devo em especial:

A Deus, arquiteto do universo, por me ter abençoado sempre durante esta caminhada, dando-me forças para seguir em frente.

A meus pais, Felix e Eliane, por todo esforço, renúncia, dedicação e, sobretudo, pelos valores e ensinamentos.

Ao meu esposo Rennan, por todo amor, companheirismo e paciência nas horas mais difíceis.

Por estar ao meu lado em todos os momentos e por ter sido meu braço direito durante toda a pesquisa. Amo-te!

A minha filha, Isabella, que nasceu enquanto estava fazendo o doutorado; espero que o exemplo seja seguido por ela.

A minha sogra, Dona Claudia, por ter cuidado com tanto carinho e amor de Isabella, durante o período de término do doutorado. Sou-lhe eternamente grata!

Aos meus familiares que me incentivaram o tempo todo para que fosse possível chegar ao final; muito obrigada, minha família querida, por tudo.

Aos meus orientadores, Dra. Maria Elita e Dr. Mario Eduardo, pelos ensinamentos e confiança depositada. Foi um privilégio trabalhar ao lado de vocês contribuindo para minha formação profissional.

Aos professores da banca examinadora, por reservarem um pouco do seu tempo na dedicação a este trabalho.

À Universidade Federal de Campina Grande e ao Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos, pela oportunidade de formação e crescimento.

Aos alunos Henrique Vilarim e Handsson Araújo que se dedicaram em me ajudar. Vocês foram muito importantes para a realização desta pesquisa.

A todos os meus colegas de trabalho, técnicos e professores da Unidade Acadêmica de Engenharia de Alimentos (CTRN/UFCG).

Obrigada à Ajinomoto do Brasil, pelo fornecimento das enzimas e informações.

À Universidade Estadual de Campinas, pelo apoio na realização das análises de RVA e a todos os demais que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA A TODOS!

EPÍGRAFE

“O futuro pertence àqueles que acreditam na beleza de seus sonhos.”

Eleanor Roosevelt

SUMÁRIO

RESUMO.....	XVIII
ABSTRACT.....	XIX
LISTA DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE TABELAS.....	XV
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1 Pão.....	5
2.1.1 Histórico e aspectos tecnológicos.....	5
2.1.2 Perfil da panificação no Brasil.....	6
2.2 Glúten.....	7
2.2.1 Doença celíaca.....	8
2.2.2 Pão sem glúten: aspectos tecnológicos.....	10
2.3 Farinhas alternativas sem glúten.....	14
2.4 Arroz vermelho.....	15
2.5 Coadjuvantes na fabricação de pães sem glúten.....	18
2.5.1 Enzima transglutaminase.....	20
2.5.2 Aplicação da MTGase na panificação.....	22
2.5.3 Regulamentação da MTGase no Brasil.....	23
2.6 Prebióticos.....	23
2.6.1 Inulina.....	24
2.7 Análise sensorial.....	26
2.8 Armazenamento.....	28

3. MATERIAL E MÉTODOS.....	30
3.1 Matéria-prima.....	30
3.2 Obtenção da farinha do arroz vermelho.....	30
3.2.1 Moagem.....	30
3.3 Caracterização da farinha de arroz vermelho.....	30
3.3.1 Análise granulométrica diferencial.....	30
3.3.2 Microscopia eletrônica de varredura.....	32
3.3.3 Propriedades de pasta (RVA).....	33
3.3.4 Análise de difração de raios X (DRX).....	34
3.3.5 Determinação do grau de cristalinidade.....	35
3.3.6 Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	35
3.3.7 Análise de espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).....	36
3.3.8 Caracterização físico-química.....	37
3.3.9 Determinação da composição mineral.....	38
3.4 Produção dos pães de forma.....	39
3.4.1 Formulação.....	39
3.4.2 Planejamento experimental.....	40
3.4.3 Processo de fabricação dos pães.....	42
3.5 Análise dos pães.....	43
3.5.1 Análises físicas.....	43
3.5.1.1 Volume específico.....	43
3.5.1.2 Análise de cor.....	44

3.5.1.3 Perfil de textura.....	44
3.5.1.4 Perda de peso ao assar.....	46
3.5.1.5 Salto de forno e formato.....	46
3.5.2 Análises físico-químicas.....	46
3.5.2.1 pH e acidez.....	46
3.5.2.2 Teor de água.....	47
3.6 Análises microbiológicas.....	47
3.7 Análise sensorial.....	48
3.8 Armazenamento.....	49
3.9 Análise estatística dos resultados.....	50
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1 Caracterização da farinha de arroz vermelho.....	52
4.1.1 Análise granulométrica.....	52
4.1.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	54
4.1.3 Propriedades de pasta (RVA) da farinha de arroz vermelho e polvilho doce.....	55
4.1.4 Análise de difração de raios X e cristalinidade.....	58
4.1.5 Caracterização térmica por calorimetria exploratória diferencial.....	60
4.1.6 Análise de espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).....	62
4.1.7 Caracterização físico-química, física e composição mineral.....	63
4.2 Planejamento experimental e análise dos resultados.....	70
4.3 Análise física dos pães.....	93
4.3.1 Perda de peso ao assar, salto de forno e formato.....	93

4.4 Avaliação microbiológica dos pães.....	96
4.5 Análise sensorial.....	96
4.5.1 Análise de componentes principais (ACP).....	109
4.5.2 Mapa de preferência interno.....	110
4.6 Armazenamento dos pães sem glúten.....	115
5. CONCLUSÕES.....	130
6. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	132
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	133
ANEXOS.....	158
APÊNDICE 1.....	161
APÊNDICE 2.....	163

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Gráfico da preferência dos celíacos em relação a produtos sem glúten.....	11
Figura 2	Principais regiões produtoras de arroz vermelho no Brasil.....	16
Figura 3	Curva de viscosidade típica do RVA, apresentando parâmetros comunitários analisados.....	34
Figura 4	Difratograma (DRX) típico para amostra de farinha.....	35
Figura 5	Espectro infravermelho sobreposto registrado no analisador FTIR.....	37
Figura 6	Etapas de produção do pão de forma sem glúten.....	43
Figura 7	Demonstração da curva que relaciona a força e o tempo necessários para a TPA (perfil de textura) do pão de forma.....	45
Figura 8	Representação Gráfica da análise instrumental do perfil de textura.....	45
Figura 9	Forma de distribuição das amostras de pão de forma sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina) para avaliação sensorial.....	49
Figura 10	Modelos de distribuição granulométrica aplicados ao conjunto de partículas da farinha de arroz vermelho.....	53
Figura 11	Micrografias da farinha de arroz vermelho com aumento de 150 (A), 500 (B), 1000 (C) e 4000 (D) vezes.....	55
Figura 12	Difratogramas de raios X do mix da farinha de arroz vermelho e polvilho doce.....	60

Figura 13	Espectros de absorção na região do infravermelho do mix das farinhas de arroz vermelho e polvilho doce.....	63
Figura 14	Farinha de arroz vermelho utilizada na pesquisa.....	68
Figura 15	Diagrama de pareto para a variável resposta pH.....	73
Figura 16	Gráfico dos valores observados e preditos para a variável pH.....	75
Figura 17	Superfície de resposta para a variável resposta pH.....	75
Figura 18	Diagrama de pareto para a variável resposta acidez.....	76
Figura 19	Gráfico dos valores observados e preditos para a variável acidez.....	78
Figura 20	Superfície de resposta para a variável resposta acidez.....	78
Figura 21	Diagrama de pareto para a variável resposta volume específico.....	79
Figura 22	Gráfico dos valores observados e preditos para a variável volume específico.....	81
Figura 23	Superfície de resposta para a variável resposta volume específico.....	81
Figura 24	Diagrama de pareto para a variável resposta firmeza.....	86
Figura 25	Gráfico dos valores observados e preditos para a variável firmeza.....	87
Figura 26	Superfície de resposta para a variável resposta firmeza.....	88
Figura 27	Diagrama de pareto para a variável resposta mastigabilidade.....	89
Figura 28	Gráfico dos valores observados e preditos para a variável mastigabilidade.....	91
Figura 29	Superfície de resposta para a variável resposta mastigabilidade.....	91
Figura 30	Aspecto interno (estrutura do miolo) dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico.....	95
Figura 31	Gráfico box plot para os atributos analisados na análise sensorial.....	101

Figura 32	Correlação entre a cor instrumental e a cor sensorial.....	105
Figura 33	Porcentagens de aprovação, indiferença e rejeição dos pães sem glúten.....	106
Figura 34	Histograma de frequência para intenção de compra.....	108
Figura 35	Bidimensional da Análise de Componentes Principais dos atributos sensoriais das amostras de pão sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina).....	110
Figura 36	Dendograma (A) e mapa de preferência interno (B) para o atributo aparência.....	112
Figura 37	Dendograma (A) e mapa de preferência interno (B) para o atributo cor do miolo.....	112
Figura 38	Dendograma (A) e mapa de preferência interno (B) para o atributo aroma.....	113
Figura 39	Dendograma (A) e mapa de preferência interno (B) para o atributo sabor.....	113
Figura 40	Dendograma (A) e mapa de preferência interno (B) para o atributo maciez.....	114
Figura 41	Dendograma (A) e mapa de preferência interno (B) para o atributo impressão global.....	114
Figura 42	Comportamento da variável teor de água durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C.....	116
Figura 43	Comportamento da variável pH durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C.....	118
Figura 44	Comportamento da variável acidez durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C.....	120

Figura 45	Comportamento da variável volume específico durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C	121
Figura 46	Comportamento da variável firmeza durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C	123
Figura 47	Comportamento da variável luminosidade (L^*) durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C	125
Figura 48	Comportamento da variável intensidade do amarelo (b^*) durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C	127
Figura 49	Comportamento da variável intensidade do vermelho (a^*) durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C	128

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Reatividade da transglutaminase microbiana da Ajinomoto para várias proteínas.....	22
Tabela 2	Mesclas da farinha de arroz vermelho e polvilho doce.....	33
Tabela 3	Parâmetros utilizados nas análises de calorimetria exploratória diferencial.....	36
Tabela 4	Formulação do pão de forma isento de glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina).....	40
Tabela 5	Valores reais e codificados das variáveis de entrada % MTgase e tempo de fermentação (min) para elaboração do pão de forma sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima MTgase e prebiótico (inulina).....	41
Tabela 6	Matriz do planejamento fatorial 2^2 com 3 pontos centrais para elaboração do pão sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima MTgase e prebiótico (inulina).....	41
Tabela 7	Análise granulométrica da farinha de arroz vermelho.....	52
Tabela 8	Coefficiente de determinação e parâmetros dos modelos.....	54
Tabela 9	Propriedades de pasta do mix de farinha de arroz vermelho e polvilho doce.....	56
Tabela 10	Grau de cristalinidade calculado para o mix de farinha de arroz vermelho e polvilho doce.....	59
Tabela 11	Valores dos picos de intensidade no ângulo de difração 2θ para classificação da cristalinidade.....	59
Tabela 12	Valores obtidos na análise do DSC para o mix da farinha de arroz vermelho e polvilho doce.....	61
Tabela 13	Caracterização físico-química, física e de minerais da farinha de arroz vermelho.....	64
Tabela 14	Resultados das variáveis dependentes do planejamento experimental para formulação dos pães sem glúten.....	70

Tabela 15	Análise de variância (ANOVA) para o modelo de 1ª ordem diante da variável resposta pH.....	74
Tabela 16	Análise de variância (ANOVA) para o modelo de 1ª ordem diante da variável resposta acidez.....	77
Tabela 17	Análise de variância (ANOVA) para o modelo de 1ª ordem diante da variável resposta volume específico.....	80
Tabela 18	Respostas dos parâmetros do perfil de textura do pão de forma sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina).....	84
Tabela 19	Análise de variância (ANOVA) para o modelo de 1ª ordem diante da variável resposta firmeza.....	87
Tabela 20	Análise de variância (ANOVA) para o modelo de 1ª ordem diante da variável resposta mastigabilidade.....	90
Tabela 21	Intervalos de valores das variáveis otimizadas.....	92
Tabela 22	Salto de forno dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina).....	93
Tabela 23	Formato dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina).....	94
Tabela 24	Resultado das análises microbiológicas dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina).....	96
Tabela 25	Análise sensorial dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina).....	97
Tabela 26	Notas máximas, mínimas, médias, desvios padrão e coeficiente de concordância entre julgadores (CC) da análise sensorial quanto aos parâmetros aparência, sabor, textura, impressão global e intenção de compra.....	104
Tabela 27	Valores da escala de intenção de compra e número de julgadores por nota para as quatro formulações e ponto central da análise sensorial.....	107

Tabela 28	Comportamento da variável teor de água durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C.....	116
Tabela 29	Comportamento da variável pH durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C.....	118
Tabela 30	Comportamento da variável acidez durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C.....	119
Tabela 31	Comportamento da variável volume específico durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C.....	121
Tabela 32	Comportamento da variável firmeza durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C.....	123
Tabela 33	Comportamento da variável luminosidade (L*) durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C.....	125
Tabela 34	Comportamento da variável intensidade do amarelo (b*) durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C.....	127
Tabela 35	Comportamento da variável intensidade do vermelho (a*) durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18°C.....	128

RESUMO

GUSMÃO, T.A.S. **Desenvolvimento de pão de forma sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico: avaliação tecnológica, sensorial e armazenabilidade.** 2017. 183f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, PB.

Esta pesquisa teve, como objetivo, elaborar pão isento de glúten para doentes celíacos, utilizando a enzima transglutaminase microbiana como adjunto de panificação e prebiótico (inulina) e verificar o efeito na qualidade tecnológica, sensorial e armazenabilidade dos pães. Inicialmente, foi realizada a caracterização físico-química, granulométrica, morfológica e de minerais presentes na farinha de arroz vermelho. A farinha de arroz vermelho (FA), polvilho doce (PD) e suas mesclas (100% FA; 75% FA e 25% PD; 50% FA e 50% PD; 100% PD) foram submetidas à análise de reologia (RVA), espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), difração de raios X e calorimetria exortória diferencial (DSC). O processo de fabricação dos pães isentos de glúten foi estudado mediante planejamento experimental fatorial completo 2^2 com 3 experimentos no ponto central, sendo as variáveis independentes [(% enzima transglutaminase microbiana e tempo de fermentação (min)]. As variáveis dependentes do planejamento foram: cor (L^* , a^* e b^*), teor de água, acidez, pH, volume específico e perfil de textura. Utilizou-se, para avaliar as características sensoriais dos pães, um teste de aceitação e de intenção de compra com 60 julgadores não treinados. O armazenamento dos pães de forma pré-assados sob congelamento a -18°C foram estudados durante o período de 90 dias, sendo avaliados periodicamente (01, 05, 15, 30, 60 e 90 dias) em relação à cor, pH, acidez, firmeza e volume específico. A farinha de arroz vermelho apresentou granulometria indicada para a produção de produtos de panificação, não sendo possível descrever uma geometria exata para as partículas. Apresentou alta concentração de fibras ($8,80\text{ g }100\text{g}^{-1}$), proteínas ($8,00\text{ g }100\text{g}^{-1}$), potássio ($465,24\text{ mg }100\text{g}^{-1}$), fósforo ($245,50\text{ mg }100\text{g}^{-1}$) e zinco ($24,44\text{ mg }100\text{g}^{-1}$). A farinha de arroz vermelho e suas mesclas com polvilho doce apresentaram características reológicas adequadas à produção de pães isentos de glúten. A farinha de arroz vermelho apresentou difratogramas de raios X referentes ao padrão de cristalinidade A e o mix com polvilho doce cristalinidade do tipo B. Em relação ao planejamento estatístico, para os atributos teor de água e cor, não foi possível estabelecer modelos significativos. A adição de MTGase e a elevação do seu nível aumentaram o teor de água, o volume específico, a firmeza e a mastigabilidade dos pães. Para abranger o maior número possível de atributos otimizado, foram mantidos os níveis de teor de enzima transglutaminase microbiana entre 0,5 e 1,0% com o tempo de fermentação entre 60-80 (min). Todas as formulações foram bem aceitas sensorialmente, com médias acima de 6,0, exceto para o atributo maciez. A formulação do ponto central (1,0% enzima transglutaminase microbiana e 80 min de tempo de fermentação) foi a que apresentou os maiores índices de aceitação e preferência, com escore 5 (certamente compraria) e escore 4 (possivelmente compraria) para a análise de intenção de compra. Os pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina) apresentaram características de qualidade aceitáveis durante o armazenamento sob congelamento a -18°C , por 60 dias. Esses resultados mostram que o uso de farinha de arroz vermelho e enzima transglutaminase microbiana em formulações de pão sem glúten, são uma opção para o público celíaco obter produtos com qualidade física e sensorial.

Palavras-chave: doença celíaca; farinhas alternativas; MTGase; inulina; novos produtos

ABSTRACT

This research aimed to characterize the red rice flour and formulate gluten-free bread for celiacs, applying microbial transglutaminase enzyme as the adjunct of baking and prebiotic (inulin) and verify the effect on the technological, sensorial quality and storability of the breads. First, it determined the physical-chemical, granulometric, morphological characterization and the minerals present in the red rice flour were determined. Red rice flour (FA), sweet manioc starch (PD) and its mixtures (100% FA, 75% FA and 25% PD, 50% FA and 50% PD, 100% PD) were submitted to rheology analysis (RVA), Fourier transform infrared (FTIR) absorption spectroscopy, X-ray diffraction and differential expository calorimetry (DSC). In the second stage, processing of gluten-free breads and physical, physical-chemical, sensory and storageability were performed. The breadmaking process was studied by a full factorial design 2^3 with 3 experiments in the central point, and the independent variables [(% microbial transglutaminase enzyme and fermentation time (min))]. The dependent variables in the experimental planning were: Color (L^* , a^* and b^*), water content, acidity, pH, specific volume, firmness, elasticity, chewiness and cohesiveness. We were used to evaluate the sensory characteristics of bread an acceptance test and purchase intent with 60 judges untrained. The storage formulations of gluten-free form loaves under freezing at -18°C were studied over a period of 90 days and were periodically evaluated at baseline and at predetermined intervals of 01, 05, 15, 30, 60 and 90 Days in relation to color (L^* , a^* and b^*), pH, acidity, firmness and specific volume. The red rice flour showed granulometry indicated for the production of bakery products, and it is not possible to describe an exact geometry for the particles. Showed high concentration of fibers ($8,80.\text{g}.100\text{g}^{-1}$), proteins ($8,00.\text{g}.100\text{g}^{-1}$), potassium ($465,24.\text{mg}.100\text{g}^{-1}$), phosphorus ($245,50.\text{mg}.100\text{g}^{-1}$) and zinc ($24.44\text{mg } 100\text{g}^{-1}$). The red rice flour and its mixtures with sweet manioc starch presented rheological characteristics suitable for the production of gluten-free breads. The red rice flour presented x-ray diffractograms related to the crystallinity pattern A and the mix with sweet pozzolan type B crystallinity. Regarding statistical planning, it was not possible to establish significant models for water and color attributes (L^* , a^* and b^*). The addition of MTgase and the elevation of its level increased the water content, the specific volume and firmness of the bread chewiness. To cover as many optimized attributes as possible, it was possible to maintain levels of microbial transglutaminase enzyme content between 0.5 and 1.0% with the fermentation time between 60-80 (min). All formulations were well accepted sensorially, with averages above 6.0, except for the softness attribute. The PC formulation (1.0% MTgase and 80 min TF) presented the best attributes, greater acceptance and preference, presenting the highest scores: 5 (would certainly buy) and score 4 (possibly buy) for the intention analysis of purchase. Gluten-free breads with red rice flour, microbial transglutaminase enzyme and prebiotic (inulin) had acceptable quality characteristics during storage under freezing at -18°C for 60 days. These results show that the use of red rice flour and microbial transglutaminase enzyme in gluten-free bread formulations is an option for the celiac public to obtain products with physical and sensory quality.

Keywords: celiac disease; alternative flours; MTgase; inulin; new product

1 INTRODUÇÃO

A doença celíaca é considerada uma desordem sistêmica imuno-mediada, desencadeada pelo glúten, proteína encontrada no trigo, aveia, centeio, cevada e malte, em pessoas geneticamente susceptíveis (SILVESTER; DUERKSEN, 2013). Atualmente, a doença tem-se evidenciado quando se compara com anos anteriores. O consumo de glúten por pessoas que apresentam intolerância provoca um estado inflamatório no intestino delgado causando danos e modificações na arquitetura da mucosa desse órgão. Em graus mais avançados as alterações podem provocar achatamento completo das vilosidades intestinais prejudicando, assim, a absorção de nutrientes (LEBWOHL et al., 2016). A doença é caracterizada por diarreia crônica, vômito, anorexia, dor abdominal e deficiência nutricional (KELLY et al., 2015).

Nos últimos anos muitas pesquisas têm sido realizadas com foco na produção de pães isentos de glúten a fim de encontrar substitutos similares ao glúten, de vez que ele proporciona propriedades viscoelásticas à massa tradicional de pão (DEORA et al., 2014; MANSBERGER et al., 2014; MANCEBO et al., 2015; RONDA et al., 2017). Os pães isentos de glúten têm, como ingredientes básicos, a utilização de farinhas de arroz, mandioca, milho, soja e fécula de batata. Algumas pesquisas têm sugerido a utilização de outros cereais com o intuito de aperfeiçoar a aparência global, propriedades sensoriais, propriedades tecnológicas e vida de prateleira de pães isentos de glúten (GULSUM et al., 2016).

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um alimento amplamente consumido. Há muitos cultivares especiais de arroz que contêm pigmentos coloridos, preto, vermelho e marrom. O arroz vermelho, ou “arroz da terra”, é forma espontânea de *Oryza sativa* que tem despertado interesse crescente dos consumidores devido ao sabor, à textura e ao valor nutricional apresentando elevados teores de ferro e zinco. Seu pigmento vermelho é uma proantocianina, importante por melhorar a digestibilidade e pela ação antioxidante, sendo benéfica para o sistema cardiovascular (LI et al., 2016).

O arroz vermelho é um componente relevante da dieta em diversos estados do sertão nordestino tendo grande importância econômica e social (PEREIRA, 2007). O plantio é realizado por pequenos agricultores utilizando sementes nativas ou variedades tradicionais selecionadas ao longo do tempo, caracterizadas pela variabilidade, adaptabilidade às condições de cultivo e ampla base genética (PORTO et al., 2007).

A farinha de arroz possui baixa capacidade de retenção de gás e por isso pães elaborados com base nesse ingrediente apresentam alguns problemas tecnológicos, tais como baixo volume, textura e estrutura do miolo não adequado. Para minimizar essas características nos pães têm sido utilizadas gomas, enzimas, hidrocoloides, as quais conferem propriedades viscoelásticas às massas (WITCZAK et al., 2010).

Nos trabalhos que envolvem os pães sem glúten busca-se empregar enzimas como proteases, lípases e amilases como substratos que substituem a farinha de trigo, visando complementar as deficiências tecnológicas apresentadas pelas formulações sem glúten. Mais recentemente a utilização da transglutaminase, uma enzima capaz de criar moléculas maiores pela união de substratos proteicos menores, tem chamado a atenção para a possibilidade de fortalecimento e estabilização da rede de glúten em muitos produtos de panificação. Ela surge neste cenário como nova ferramenta tecnológica, indo na contramão da maioria das enzimas utilizadas em alimentos que quebram o substrato em compostos menores (GRAGNANI, 2010).

Uma alternativa para produzir pão de farinha de arroz é o uso da transglutaminase microbiana, uma enzima de baixo custo e maior aplicação na indústria de alimentos. Na área de panificação a transglutaminase microbiana provoca a formação de ligações covalentes entre as frações de proteína conduzindo a uma melhora nas propriedades visco-elásticas do glúten que têm efeito positivo no comportamento reológico das massas em geral. Essas ligações fazem com que essas proteínas apresentem capacidade de retenção de ar durante a fermentação, papel semelhante ao desempenhado pelo glúten (MOHAMMADI et al., 2015).

Os prebióticos são definidos como ingredientes seletivamente fermentáveis que permitem modificações específicas na composição e/ou na atividade da microbiota gastrointestinal, que resultam em benefícios ao bem-estar e à saúde do homem. Como benefícios fisiológicos e pato-fisiológicos da ação dos ingredientes prebióticos tem-se a melhora das funções intestinais, da absorção mineral (em especial de cálcio) e da saúde dos ossos; modulação da produção de peptídeos gastrointestinais do metabolismo de energia e da saciedade; regulação/modulação das funções imunológicas, alívio da constipação, melhora das funções de barreira intestinal, inibição de patógenos, redução do risco de infecções intestinais, de obesidade, de diabetes tipo 2, de síndromes metabólicas e de câncer de cólon (OLVEIRA; GONZÁLEZ-MOLERO, 2016).

Dentre os ingredientes prebióticos mais utilizados estão os componentes alimentares não digeríveis com propriedades funcionais semelhantes à fibra dietética como, por exemplo, a inulina e a oligofrutose que estão presentes naturalmente em mais de 36 mil plantas e que industrialmente é extraída da raiz de chicória (RONKART et al., 2009).

O desenvolvimento de um pão sem glúten com adição de prebióticos permite a agregação de um valor nutritivo maior ao produto, contribuindo para o bom funcionamento do organismo. No entanto, além da qualidade nutricional os alimentos sem glúten devem ser aceitos pelos consumidores. A análise sensorial exerce papel muito importante no desenvolvimento de novos produtos, o que permite a identificação de atributos sensoriais que influenciam a aceitação por meio de testes afetivos, análise descritiva e quantitativa (ALENCAR et al., 2015).

Neste contexto, este trabalho teve, como objetivo geral, elaborar um pão de forma isento de glúten formulado com farinha de arroz vermelho e enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina) com o intuito de que esse pão possa contribuir para o desenvolvimento de novos produtos com elevada qualidade nutricional para pessoas que tenham intolerância ao glúten, gerando alternativa ao maior aproveitamento do arroz vermelho na alimentação humana.

1.1 Objetivos específicos

- a) Caracterizar a farinha de arroz vermelho através da análise granulométrica diferencial, microscopia eletrônica de varredura; composição físico-química (teor de água, cinzas, proteínas, lipídios, amido, fibras, açúcares totais e redutores), minerais (potássio, fósforo, cálcio, ferro, manganês e zinco);
- b) Determinar as propriedades reológicas, grau e tipo de cristalinidade, perfil térmico e identificar as bandas características dos grupos funcionais do mix da farinha de arroz vermelho e polvilho doce;
- c) Estudar o processo de produção de pão de forma adicionado de prebiótico (inulina) formulado com farinha de arroz vermelho mediante metodologia de planejamento fatorial e análise de superfície de resposta tendo, como variáveis independentes: % enzima (MTgase: 0,5;1,0 e 1,5%) e tempo de fermentação (60, 80 e 100 min) e como

variáveis dependentes: análises físicas (perfil de textura, cor e volume específico) e físico-químicas (pH, acidez e teor de água);

- d) Avaliar a viabilidade da enzima transglutaminase microbiana (MTgase) utilizada como coadjuvante de tecnologia visando corrigir as alterações no produto causadas pela substituição da farinha de trigo pela farinha de arroz vermelho;
- e) Determinar as faixas de utilização da enzima transglutaminase microbiana e o tempo de fermentação que proporcionem melhor resultado na produção dos pães sem glúten;
- f) Realizar análise microbiológica dos pães sem glúten;
- g) Realizar teste de aceitação e intenção de compra com cinco formulações do planejamento experimental;
- h) Avaliar os parâmetros de qualidade (cor (L^* , a^* e b^*), pH, acidez, firmeza e volume específico) das cinco formulações de pães de forma obtidas do planejamento experimental sob congelamento a -18°C , durante o período de armazenamento de 90 dias, sendo avaliados periodicamente no início e em intervalos predeterminados de 01, 05, 15, 30, 60 e 90 dias.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Pão

2.1.1 Histórico e aspectos tecnológicos

A história do pão se confunde com a história do homem. Há cerca de 12.000 anos os seres humanos começavam a comer uma massa crua feita apenas de água e farinha. Contudo, foram os egípcios, por volta de 3.000 anos a.C. que consumiam as primeiras versões da massa fermentada que hoje conhecemos. Em 1202, foram adotadas, na Inglaterra, as primeiras normas para regular o preço dos pães e o lucro de seus produtores (ESTELLER, 2004).

Hoje a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define no Brasil, Pão como “o produto obtido pela cocção, em condições tecnologicamente adequadas, de uma massa fermentada ou não, preparada com farinha de trigo e/ou outras farinhas que contenham naturalmente proteínas formadoras de glúten ou adicionadas das mesmas e água, podendo conter outros ingredientes” (ANVISA, 2005).

Segundo Gellynck et al. (2009) os consumidores consideram o pão alimento básico e tradicional, consumido principalmente no café da manhã como fonte adequada de energia e elemento fundamental para uma alimentação equilibrada. Além disso, a aparência, o sabor, o aroma e a textura de pães, são fatores que afetam a percepção do consumidor em relação à qualidade do produto. Tradicionalmente, espera-se que o pão apresente um aroma de fermento e trigo, a textura do miolo macia e úmida, crosta seca e crocante (REHMAN; AWAN, 2011).

O pão é considerado um alimento popular de grande importância nutricional pelo seu elevado teor em carboidratos complexos. É um dos produtos alimentícios mais estudados com relação às características tecnológicas, como a elasticidade da massa, o aspecto da crosta, crocância, volume e sabor, em diferentes situações de produção, como o tratamento da massa, a qualidade da farinha, entre outras. Em todo o mundo diversas formulações de massa foram desenvolvidas para a fabricação de pão empregando ingredientes para conferir sabores especiais que, atualmente, se tornaram parte essencial do caráter do produto (CAUVAIN; YOUNG, 2009).

O principal ingrediente na fabricação do pão é a farinha de trigo que contribui para as características específicas, na massa, como textura e simetria, pois retém o gás produzido durante a fermentação e cocção. A elasticidade da massa se deve ao glúten, que representa 80

– 90% das proteínas totais da farinha de trigo. Quando hidratados, o glúten se comporta como um líquido viscoso e confere extensibilidade e textura, permitindo que a massa se expanda durante a fermentação. A gliadina e a glutenina, são subfrações do glúten, indicador de qualidade do pão, pois promovem maior volume específico e melhoram a qualidade proteica; além disso, a qualidade do glúten apresenta correlação positiva com a estabilidade da massa. No processo de fabricação do pão a etapa de mistura e homogeneização dos ingredientes é essencial para que o glúten desenvolva a estrutura do miolo (BARAK; MUDGIL; KHATKAR, 2013).

2.1.2 Perfil da panificação no Brasil

O setor de panificação possui papel fundamental no desenvolvimento econômico e social do país. No Brasil, este setor é responsável por 2% do Produto Interno Bruto (PIB), e se encontra entre os seis maiores segmentos industriais. O índice de crescimento das empresas de Panificação e Confeitaria em 2015 foi de 2,7%, com o faturamento chegando a R\$84,7 bilhões. O setor representa cerca de 818 mil empregos diretos e 1,8 milhão de forma indireta (ABIP, 2015).

O segmento de panificação no Brasil era composto, em 2014 por 63 mil panificadoras observando-se que a Região Sudeste possui a maior quantidade (43%), seguida pela Região Nordeste (24%), enquanto a Norte possui o menor número, sendo responsável por somente 5%. Entre os Estados São Paulo possui a maior concentração (12.764), seguido pelo Rio de Janeiro, com 7.400, enquanto Roraima apresenta o menor número (91). No ano de 2015 o número de empresas que compõem o setor se manteve estável e continua sendo 63,2 mil (ABIP, 2015).

O consumo per capita de pães no Brasil está situado na faixa dos 33 kg por habitante/ano, o que vem a ser, segundo a ABIP, pouco mais da metade dos 60 kg/habitante/ano recomendados pela ONU. Mesmo assim, os brasileiros consumiram impressionantes 6,6 milhões de toneladas de pão. Argentinos consomem 70 kg/per capita/ano, enquanto que os chilenos comem 90 kg/per capita/ano (ABIP, 2015).

Os pães industrializados foram consumidos em 57% dos lares brasileiros, com alta de 3,8 milhões de domicílios frente ao dado do mesmo prazo de 2013. Os pães brancos seguiram na liderança de mercado e dominaram o ranking de consumo, embora as versões de pães

industrializados integral e com grãos tenham avançado 50%, chegando a mais lares (ABIMA, 2015).

No período de 2010 a 2015 tivemos a primeira grande revolução no setor de panificação quando o negócio padaria foi reinventado, surgindo o foco na profissionalização da gestão e padaria gourmet ou padaria com foco no food-service com vários momentos de consumo. Virá agora a segunda grande revolução do setor de panificação e confeitaria, que é a criação de centenas de fábricas de pães e confeitaria. Serão as centrais de produção com produtos congelados, ampliando a venda de pães, confeitaria e salgados, para o mercado. Teremos, nesses próximos 10 anos, a ampliação do mix de pães no Brasil com qualidade muito superior à atual. O processo de congelamento irá auxiliar na estabilização da qualidade do produto (ABIP, 2016).

2.2 Glúten

O pão é um alimento tradicional geralmente preparado a partir de farinha de trigo sendo o glúten o componente do trigo responsável pela qualidade do pão. O glúten é constituído pelas frações proteicas de glutenina e gliadina após hidratação. Enquanto a gliadina proporciona viscosidade e capacidade de expansão à massa, a glutenina é responsável pelas propriedades de elasticidade e coesão da massa (Demirkesen et al., 2010).

A doença celíaca é resultado da interação do glúten com a imunidade, fatores genéticos e ambientais. O glúten é uma proteína presente no trigo, cevada, centeio, aveia e malte. Em indivíduos predispostos geneticamente, o peptídeo gliadina, presente no glúten, provoca uma inflamação crônica no epitélio intestinal aumentando a permeabilidade intestinal e, conseqüentemente, provocando uma reação imunológica, que causa a atrofia das vilosidades intestinais (RE et al., 2013).

Apesar das importantes funções tecnológicas do glúten na massa do pão, ele pode desencadear a doença celíaca, em que o tratamento indicado é uma dieta isenta desse elemento. A produção de produtos de panificação isenta de glúten torna-se um grande desafio tecnológico. De acordo com o Codex Alimentarius Commission (2008) em alimentos considerados isentos de glúten é solicitado que o nível de glúten não exceda 20 mg kg⁻¹ no alimento.

O glúten não é eliminado quando os alimentos são processados termicamente; por isso, deve ser substituído por outras farinhas alternativas ao trigo, como é o caso da farinha de arroz, do amido de milho, da farinha de milho, de fubá, da farinha de mandioca e da fécula de batata (DE LA HERA et al., 2013).

2.2.1 Doença celíaca

A doença celíaca é a intolerância alimentar mais comum no mundo. Cerca de 1 % da população é diagnosticada com a doença celíaca, o que torna uma das doenças mais prevalentes geneticamente. Em geral, 49% dos pacientes são diagnosticados com a doença em idade inferior a 15 anos, sendo predominante em mulheres (TANPOWONG et al., 2013). Relatava-se, nas décadas passadas, que o povo europeu era o único atingido por essa doença. No entanto, dados epidemiológicos esclarecem que na América do Norte e Sul, África e Austrália, a doença celíaca é um caso emergente e preocupante no âmbito da saúde pública (CATALADO; MONTALTO, 2007).

De acordo com Gandolfi et al. (2000) a doença celíaca não deve ser, no Brasil, considerada rara. Em Brasília (capital do país) a prevalência de doença celíaca entre doadores de sangue é de 1:618 (0,166%). Em seu estudo, por Almeida et al. (2008), encontraram certa prevalência de doença celíaca de 4,8% entre parentes de primeiro grau residentes em Brasília.

Quando o indivíduo tem, como parte de sua dieta, o consumo de trigo e cereais, o glúten pode vir a induzir à doença, que foi desencadeada por um fator ambiental. Ela também é desencadeada geneticamente quando a pessoa apresenta genes que codificam o antígeno leucocitário humano HLA-DQ2 e HLA-DQ8. Desta maneira, indivíduos de uma mesma família podem apresentar a doença de forma assintomática ou alguns sintomas que, após tratamento com dieta isenta de glúten, desaparecem. Além disso, pode ocorrer imunização quanto ao peptídeo gliadina, que promoverá a morte dos enterócitos, danos às vilosidades e hiperplasia das criptas (THAPA, 2011).

As principais associações entre pacientes celíacos são a dispepsia, síndrome do intestino irritável e cólicas intestinais (SAPS et al., 2013). Dentre os danos causados nas vilosidades intestinais, essa doença ainda pode provocar alguns sintomas como deficiência de micronutrientes (ferro, folato, vitamina B12, A, D, E, K), redução da densidade óssea, diarreia, infertilidade, refluxo esofágico, doença autoimune, osteopenia, osteoporose,

macrocitose, depressão, fadiga crônica e diabetes tipo I. Em crianças, a doença celíaca pode apresentar-se silenciosamente. Entretanto, os principais sintomas são: má absorção de nutrientes (anemia e deficiência de ferro), anorexia, diarreia e distensão abdominal, vômitos e déficit no crescimento. O sintoma primário da doença é caracterizado por baixa estatura (NASCIMENTO; TAKEITI; BARBOSA, 2012).

Além da doença celíaca diversas evidências recentes comprovam a existência de uma alteração encontrada por especialistas na área como “sensibilidade não-celíaca ao glúten” (non-celiac gluten sensitivity-NCGS). Diferentemente do que ocorre na doença celíaca, na NCGS o trato gastrointestinal e a permeabilidade da barreira intestinal são preservadas e as alterações histológicas dos vilos e das criptas não são intensas havendo, todavia, o estabelecimento de inúmeros distúrbios para o paciente que mantém uma alimentação convencional, rica em glúten (HEYMAN, 2012).

O diagnóstico da doença é realizado com base nos exames de biópsia de intestino, imunoglobulina A (IgA), anticorpo antitransglutaminase tecidual (hTTG) e anticorpo antiendomísio (EMA); os métodos sorológicos são considerados menos invasivos de melhor custo-benefício quando comparados à biópsia intestinal (WAKIN-FLEMING et al., 2013). O Ministério da Saúde preconiza o seguinte protocolo de exames para a detecção da doença celíaca: realização de endoscopia digestiva alta com biópsia de intestino delgado; testes sorológicos que incluem dosagens de anticorpos antigliadina, antiendomísio e antitransglutaminase (BRASIL, 2010).

O tratamento da doença celíaca tem, como principal objetivo, a recuperação das vilosidades intestinais e se baseia na exclusão de alimentos que contenham glúten: trigo, centeio, cevada, aveia e malte, uma vez que pequenas quantidades são consideradas prejudiciais. Em alguns casos é recomendada a suplementação de micronutrientes. Torna-se interessante o consumo de vegetais, frutas, oleaginosas, carnes, aves, peixes, queijos e leites, com o objetivo de repor os micronutrientes não absorvidos antes da descoberta da doença (PIETZAK, 2013).

Em função de o tratamento ser unicamente dietoterápico, é imprescindível o acompanhamento do paciente na avaliação do seu estado nutricional, orientação relativa à escolha e preparo de alimentos, verificação e adequação da ingestão dietética (ARAÚJO et al., 2010).

No Brasil, com o objetivo de minimizar as dificuldades da adesão ao tratamento, surgiram as Associações de Celíacos. Em fevereiro de 1994 os pais de alguns celíacos fundaram a ACELBRA (Associação de Celíacos do Brasil - Seção São Paulo), que objetiva sobretudo orientar os pacientes quanto à doença e à dieta sem glúten, assim como divulgar a doença. Além disso, a ACELBRA visa, ainda, exigir o cumprimento da Lei nº 8.543 (Brasil, 1992) na área de vigilância sanitária, que obriga as indústrias alimentícias a imprimir, em caracteres destacados, uma advertência nos rótulos e nas embalagens de produtos industrializados que contêm glúten ou seus derivados.

Em 2003 foi publicada a Lei nº 10.674, que obriga os produtos alimentícios comercializados a portar informação sobre a presença de glúten como medida preventiva e de controle da doença celíaca. Assim, todos os alimentos industrializados deverão conter, em seu rótulo e obrigatoriamente, as inscrições “contém glúten” ou “não contém glúten”, conforme o caso. A advertência deve ser impressa no rótulo e embalagens de produtos, assim como em cartazes e materiais de divulgação com caracteres em destaque, nítidos e de fácil leitura. Esta é uma medida preventiva e de controle da doença (BRASIL, 2003).

2.2.2 Pão sem glúten: aspectos tecnológicos

O crescimento do mercado dos alimentos sem glúten é uma das histórias de sucesso mais notáveis que emerge das tendências dos alimentos se enquadrarem na categoria de Saúde e Bem-estar. A categoria de alimentos sem glúten conta com 20% de todo o mercado dos produtos relacionados com intolerâncias alimentares, em valores de vendas, que também engloba produtos sem lactose, com cerca de 60% e alimentos para diabéticos, que perfazem o restante. As categorias de panificação e confeitaria detêm 70% das vendas de todos os produtos sem glúten. Em 2012 os valores de vendas dos produtos sem glúten em panificação e confeitaria alcançaram US\$ 1,4 bilhões enquanto a soma das vendas de todos os alimentos sem glúten orbitou ao redor dos US\$ 2 bilhões (HUDSON, 2012).

O projeto de se fabricar um pão sem glúten foi motivado pelas pesquisas realizadas pela ACELBRA, que mostram a preferência dos celíacos pelos produtos sem glúten, conforme a Figura 1.

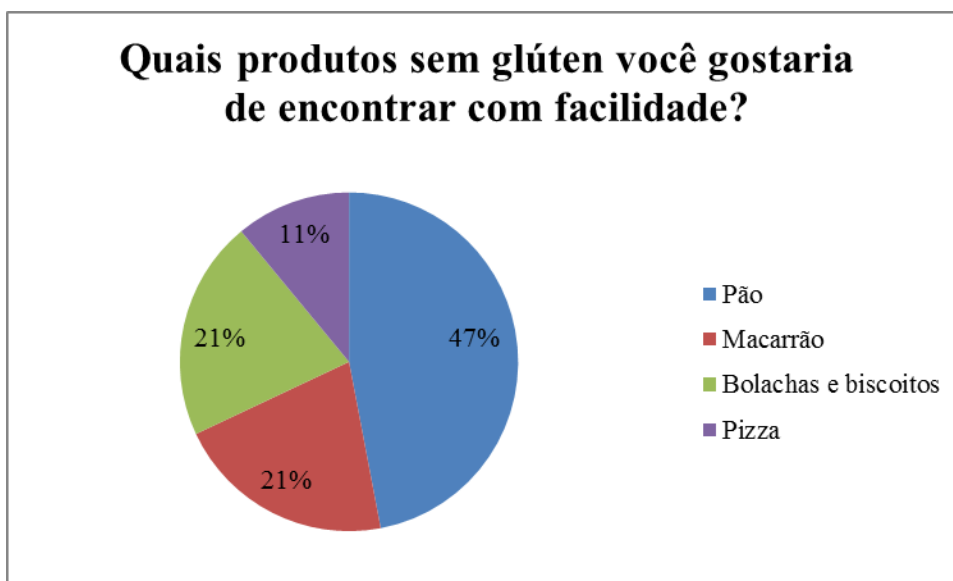


Figura 1: Gráfico da preferência dos celíacos em relação aos produtos sem glúten.

Fonte: ALCEBRA, 2004.

Os produtos de panificação e confeitaria sem glúten deram, então, um grande salto de produto de nicho para “pessoas doentes” visando à categoria de Saúde e Bem-estar. Nos Estados Unidos a empresa General Mills confirmou essa tendência através de uma pesquisa que identificou que, apesar de aproximadamente 1% da população do país sofrer da doença celíaca, cerca de 12% dos lares americanos reduziram ou eliminaram o glúten de sua dieta (MARIOTTI; ALMPRESE, 2012).

A dieta dos celíacos é restrita quando comparada com a dos não celíacos. Embora haja disponibilidade de produtos industrializados que possam ser consumidos por celíacos, a oferta de produtos sem glúten que substituam suas versões com glúten necessita de expansão. Para ampliar sua variedade de pratos e opções de refeições os celíacos recorrem às receitas caseiras e quando o tema engloba a substituição de alimentos cujo elemento principal de sua composição seja a farinha de trigo, a dificuldade tecnológica é maior. Já existem opções para massas, como o macarrão de arroz que, do ponto de vista sensorial, é saboroso. Os bolos são outra opção de grande aceitabilidade; no entanto os pães e as pizzas ainda deixam a desejar quando comparados com suas versões com glúten (ALMEIDA; FERNANDES, 2011).

O glúten com sua reologia ímpar tem-se mostrado como grande desafio aos pesquisadores no desenvolvimento de pães sem glúten. As diversas estratégias implementadas buscam mimetizar essa rede proteica quaternária ou substituí-la pela função tecnológica de outras matérias-primas. Não obstante, o desenvolvimento do pão sem glúten engloba barreiras

tecnológicas não exclusivas no campo das matérias-primas, mas também no processamento e na vida de prateleira.

A crescente procura por pão sem glúten de alta qualidade representa uma tarefa desafiadora para o tecnólogo de cereais devido à baixa qualidade para panificação das farinhas sem glúten, como consequência da ausência da rede de glúten (HÜTTNER; DALBELLO; ARENDT, 2010). A farinha de arroz torna-se cada vez mais popular como substituto da farinha de trigo na preparação de produtos consumidos por pacientes celíacos e/ou intolerantes ao trigo. É a farinha de grão cereal mais adequada para a fabricação de produtos sem glúten em virtude do seu sabor suave, coloração branca, alta digestibilidade e propriedades hipoalergênicas, conferindo crocância e firmeza ao produto final. Além disso, a mistura de farinha de arroz, amido de milho e de mandioca pode produzir pães de alta qualidade (ROSELL; MARCO, 2008).

Nos últimos anos houve avanços na pesquisa sobre desenvolvimento de produtos de panificação sem glúten. Os testes envolvem a utilização de amidos, gomas, hidrocoloides, proteínas e fibra prebiótica (inulina), amaranto, quinoa e trigo sarraceno com o objetivo de promover maior aceitação sensorial e vida de prateleira (GALLAGHER; GORMELEY; ARENDT, 2004a; ANDERSSON et al., 2011). A utilização de isolado proteico do leite, leite em pó e soro do leite, resultam em pães volumosos e macios (GALLAGHER; GORMELEY; ARENDT, 2004b). A adição de fibras nesse tipo de pães proporciona a massa com volume e maciez, além de uma aparência externa atraente e uniforme (SABANIS; LEBESI; TZIA, 2009). As enzimas glicose oxidase e transglutaminase podem ser incorporadas nas fórmulas de pães para melhorar a qualidade global do produto pois elas modificam o comportamento elástico e viscoso de pães (GUJRAL; ROSELL, 2004; ARENDT; RENZETTI, 2009).

Strouts (2009) comentou que a produção de produtos panificáveis sem glúten se centraliza no uso de grãos como arroz e milho combinados especialmente com amidos e hidrocoloides. Essas combinações de ingredientes podem auxiliar na recuperação das características de massa perdidas pela omissão do glúten nas receitas.

A mistura de farinha de arroz (45%), amido de milho (35%) e amido de mandioca (20%) foi comparada com pães sem glúten feitos com 100% de farinhas de arroz, milho e mandioca, por López et al. (2004). Os produtos cresceram pela ação de agente químico de crescimento. A análise dos pães mostrou que os pães de farinha de arroz apresentaram os melhores resultados para maciez e consistência com pequenos alvéolos homogeneamente

distribuídos seguidos pelos de amido de milho e os de amido de mandioca. O amido de mandioca resultou em pães com miolo extensível, gomoso e de granulação fechada sem alvéolos, com características sensoriais indesejáveis. A mistura de farinha e amidos originou pães com miolos compostos por células de tamanho uniforme bem distribuídos e sabor e aparência agradáveis.

Clerici e El-dash (2008) estudaram o emprego de farinha extrusada de arroz como substituto do glúten na produção de pães de arroz. A fórmula trabalhada se assemelhava a uma formulação padrão de pão e foi substituída a farinha de trigo pela farinha de arroz. No seu trabalho os autores concluíram que foi possível usar a farinha pré-gelatinizada de arroz como substituto de glúten na proporção de 10 g para cada 100 g de farinha de arroz crua no pão.

Pruska-Kędzior et al. (2006) estudaram as propriedades fermentativas e de forneamento de pães sem glúten comparando as formulações à base de amido e farinhas alternativas. Esses autores, trabalhando com farinha de milho e amido de batata (4:1), amido de milho e amido de batata (4:1), amido de milho, amido de batata e farinha de arroz (1:2:2) e amido de milho, amido de batata e trigo-sarraceno (1:2:2) estudaram os seguintes métodos de fermentação: 20 minutos a 35 °C, 40 minutos a 35 °C, 40 minutos a 35 °C com adição de 0,25 partes de sementes de linhaça adicionada e um método em dois estágios 48 h de fermentação seguido de formação de massa e fermentação por 40 minutos a 35 °C. Os resultados contendo farinha de arroz e fermentação de 40 minutos a 35°C apresentaram o miolo mais branco, fechado e atraente.

Alvarez-Jubete et al. (2010) estudaram as propriedades de panificação e a microestrutura de pães sem glúten preparados com farinhas de pseudocereais: amaranto, quinoa e trigo-sarraceno. As formulações à base de farinha de arroz tiveram 50% dessa farinha substituída pela farinha dos pseudocereais. Todos os volumes específicos se apresentaram entre 1,29 e 1,63 cm³ g⁻¹. Não houve diferença significativa na pontuação da análise sensorial dos pães com pseudocereais e o controle. A análise do perfil de textura indicou que a firmeza cresceu na seguinte ordem: amaranto, quinoa, trigo-sarraceno e farinha de arroz (controle).

Um estudo do tipo auditoria realizado na capital de um estado brasileiro identificou apenas 188 variedades de produtos sem glúten (quinze pães, 9%) disponíveis nas poucas lojas certificadas pela Associação Brasileira de Celíacos. Os produtos eram 26-85% mais caros do

que as contrapartes similares contendo glúten disponíveis em lojas regulares. Os pães sem glúten foram 33% mais caros ($p < 0,01$) (DO NASCIMENTO et al., 2014). A escassa disponibilidade e o alto custo de opções sem glúten podem dificultar o consumo regular e comprometer o tratamento da doença celíaca (ESTÉVEZ et al., 2016).

2.3 Farinhas alternativas sem glúten

De acordo com a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, farinhas “são os produtos obtidos de partes comestíveis de uma ou mais espécies de cereais, leguminosas, frutos, sementes, tubérculos e rizomas por moagem e ou outros processos tecnológicos considerados seguros para a produção de alimentos” (BRASIL, 2005).

A busca por matérias-primas alternativas ao trigo se torna cada vez mais necessária a fim de se propor alternativas viáveis tecnologicamente. Farinhas provenientes de diferentes grãos e sementes têm sido amplamente utilizadas em pães, bolos, massas alimentícias e biscoitos devido aos seus benefícios à saúde que, além das fibras alimentares, os produtos elaborados com essas farinhas podem fornecer ainda vitaminas, proteínas, minerais e carboidratos, o que contribui para a redução do risco de várias doenças, como câncer, diabetes, obesidades e doenças cardiovasculares (CHANG, 2007).

Dentre as fontes possíveis e que vêm sendo estudadas desde então, pode-se destacar os tubérculos, como a mandioca, inhame e batata doce, as farinhas ricas em proteínas, como as farinhas de soja, amendoim, grão de bico e os outros cereais, como milho, arroz, milheto, sorgo e também o triticale (GUILHERME; JOKL, 2005).

As farinhas alternativas surgem como opção à farinha de trigo; todavia, são de forma sistemática, inferiores tecnologicamente a essa matéria-prima, substituindo-a entretanto, necessitando que um complemento ou aditivo seja agregado à formulação para torná-la panificável.

Inúmeros estudos têm sido realizados no sentido de substituir parcialmente o trigo na elaboração de produtos de panificação devido às restrições econômicas, exigências comerciais, enriquecimento nutricional, novas tendências de consumo e hábitos alimentares específicos (ANGIOLONI; COLLAR, 2009).

A farinha de arroz é um produto versátil, pois tem gosto suave, apresenta propriedades hipoalergênicas, baixos níveis de sódio e carboidratos de fácil digestão e por isso é uma das

mais indicadas para elaborar produtos sem glúten (SIVARAMAKRISHNAN, SENGE, CHATTOPADHYAY, 2004). No entanto, cereais sem glúten, como o arroz, não preenchem as necessidades indispensáveis para processar produtos fermentados panificáveis, pois quando a farinha de arroz é amassada com água não ocorre a formação de uma massa viscoelástica que retém o CO₂ formado durante a fermentação e, conseqüentemente, o produto resultante tem baixo volume específico e apresenta características muito distintas do pão de trigo.

2.4 Arroz vermelho

O arroz (*Oryza sativa*) é uma das culturas alimentares mais importantes do mundo. É o segundo cereal mais produzido após o milho e fornece mais de um quinto do consumo de calorias, é uma cultura de cereal básica variando na cor dos grãos, de branco, vermelha e preta (SHAO et al., 2014).

O arroz vermelho é praticamente desconhecido como planta cultivada nas principais regiões produtoras de arroz, com exceção do oeste da África e pequenas áreas de países como o Brasil, Índia, China e Argentina. O arroz de pericarpo vermelho mais conhecido pertence à mesma espécie do arroz branco (*Oryza sativa* L.) e se caracteriza por apresentar ramificações secundárias nas panículas, espiguetas persistentes no pedicelo e lígulas com até 10 mm de comprimento (PEREIRA, 2004).

Não se sabe ao certo quando as primeiras sementes de arroz vermelho chegaram ao Ocidente. Sabe-se, porém, que no caso da espécie *O. sativa* L., vieram do Oriente para a cidade de Veneza, pela rota das especiarias, depois do século XV. Dali o arroz vermelho foi levado para Portugal de onde, por sua vez, acabou sendo transportado para o Brasil; cujas primeiras sementes de arroz vermelho foram introduzidas na Capitania do Maranhão, no século XVII, tendo sido trazidas pelos primeiros colonos oriundos do Arquipélago dos Açores. Na Região Norte aquele arroz foi disseminado entre os lavradores de então, que passaram a denominá-lo de arroz vermelho, arroz da terra e arroz de Veneza (PEREIRA, 2004).

O arroz vermelho é cultivado, sobretudo na região Nordeste, nos Estados da Paraíba, Rio Grande do Norte, Pernambuco, Ceará, Bahia e Alagoas, sendo também encontrado em alguns municípios do norte de Minas Gerais (regiões demarcadas pelos retângulos brancos-

Figura 2). Em todas essas áreas sua produção está relacionada com o hábito alimentar das populações locais (PEREIRA, 2004).

A Paraíba é o Estado que mais produz arroz vermelho no Brasil; só em 2012, mesmo com a seca, foram produzidas 400 toneladas. O grão também é conhecido como arroz da terra em todo o Vale do Piancó, que reúne 21 municípios e cerca de dois mil produtores cultivam esse tipo de arroz. A saca com 60 kg de arroz vermelho é vendida por R\$ 150 (BRASIL, 2013). Enquanto a região do Vale do Apodi – RN, segundo a Associação dos Produtores de Arroz do Vale do Apodi (APAVA) em 2013, o volume de produção alcançou 480 toneladas de arroz vermelho, resultado apontado como positivo.



Figura 2: Principais regiões produtoras de arroz vermelho no Brasil.

Fonte: PEREIRA (2004).

O arroz vermelho possui necessidades fisiológicas por água, luz e nutrientes muito próximas às das cultivares de arroz branco. No campo sofre o processo de debulha ou degranação natural, que acarreta a germinação de suas sementes por ocasião da semeadura do arroz branco. Apresenta, também, maior rusticidade que as cultivares de arroz branco, resistindo melhor às condições adversas do meio ambiente; assim, lotes de arroz branco podem ficar contaminados com arroz vermelho, o que deprecia muito a qualidade comercial dos lotes (FRANÇA et al., 2008).

Apesar de ser considerada planta invasora, o arroz vermelho é um dos principais componentes da dieta das populações que habitam grande parte do semiárido nordestino brasileiro, sendo cultivada principalmente como lavoura de subsistência. Apesar da pressão seletiva para sua eliminação, sobretudo no Rio Grande do Sul, seu cultivo persistiu em vários locais como variedades crioulas, principalmente no nordeste do País, tendo resultado em processos de adaptação que levaram a grande diversidade genética (PEREIRA et al., 2009).

Além disto, tem-se verificado demanda crescente por esse tipo de produto em restaurantes de grandes centros consumidores do País, como São Paulo, Rio de Janeiro e Brasília (BOÊNO; ASCHERI, BASSINELLO, 2011). Este aumento na procura tem motivado alguns centros de pesquisa no desenvolvimento de trabalhos que gerem informações sobre essas variedades, como no caso da EMBRAPA Meio-Norte (SINIMBU, 2010) e o IAC-Instituto Agrônômico (FARIA, 2010).

Os grãos de arroz vermelho apresentam, em geral, menor comprimento, maior espessura e forma meio-alongada. Quanto ao aspecto nutricional, Walter (2009) observou, em seu experimento, que os grãos de arroz vermelho se destacaram por apresentar maior teor de proteína, fósforo, cálcio, magnésio, potássio, ferro, manganês e zinco em relação ao arroz branco. Pereira et al. (2009) também encontraram resultado semelhante para os teores de ferro e zinco.

Entre as variedades de arroz vermelho encontradas existem diferenças expressivas, especialmente em relação ao teor de proteína que é, em média, de 7,5%, podendo oscilar entre 5% e 13% em função das diferenças varietais (KENNEDY; BURLINGAME, 2003). Sua proteína é constituída por diferentes frações proteicas; albumina, globulina, prolamina e glutelina (VELOSO NAVES, 2007).

O arroz pigmentado (vermelho ou preto) é capaz de reduzir o risco de doenças cardiovasculares por ser rico em compostos fenólicos incluindo as antocianinas, ácidos

fenólicos e prócianidinas (NIU et al, 2013). Ácidos fenólicos apresentam efeitos positivos sobre várias doenças crônicas humanas como câncer, obesidade e diabetes (SHAO et al., 2014). A glutelina é a proteína de armazenamento principal do endosperma do arroz e contém os oito aminoácidos essenciais necessários à nutrição humana, além de apresentar os teores mais elevados do aminoácido essencial lisina (JIANG et al., 2003). O arroz pigmentado é classificado como alimento funcional potente, uma vez que contém grandes quantidades de compostos fenólicos, especialmente as antocianinas no pericarpo (YAWADIO et al., 2007).

Os grandes diferenciais entre o arroz vermelho e o branco são os compostos funcionais, os teores de fibras e os de minerais (YAWADIO et al., 2007; ASCHERI et al., 2012). O arroz vermelho, tal como o arroz branco, apresenta valores semelhantes em relação aos teores de carboidratos (77,5-79,3 g 100 g⁻¹), proteína (6,9-7,8 g 100 g⁻¹) e valor calórico (357,5-363,9 kcal 100 g⁻¹) de arroz vermelho. Já em relação aos teores de lipídio (1,6-2,3 g 100 g⁻¹), minerais (1,1-1,3 g 100 g⁻¹) e fibra (2,5- 3,3 g 100 g⁻¹), o arroz vermelho apresenta valores superiores ao arroz branco (ASCHERI et al., 2012). Assim, a utilização do arroz vermelho é uma alternativa para a elaboração de novos produtos agregando valor, permitindo o máximo aproveitamento e a diversificação do consumo deste ingrediente alimentar, além do que a coloração avermelhada pode conferir, a este arroz, substâncias fenólicas (TIAN et al., 2004; ZHOU et al., 2004; NAM et al., 2005) e antocianinas (HYUN; CHUNG, 2004; PANTINDOL et al., 2006).

2.5 Coadjuvantes na fabricação de pães sem glúten

O glúten, responsável pelas propriedades de extensibilidade, elasticidade, viscosidade e retenção de gás da massa, contribui para a aparência e estrutura do miolo dos pães, visto que a obtenção de produtos isentos de glúten se torna tecnologicamente difícil sendo, muitas vezes, necessária à combinação de diversos ingredientes e alteração dos processos tradicionais. A massa sem glúten não tem capacidade de reter o gás gerado durante a fermentação e o forneamento, originando pão com baixo volume específico e miolo firme e borrachento (MOORE et al., 2004).

Para a substituição da farinha de trigo tem sido utilizada principalmente a farinha de arroz que também pode ser combinada com farinhas e amidos à base de outros cereais e tubérculos. Devido à diferente proporção das frações de proteínas de estocagem, a farinha de

arroz é incapaz de desenvolver rede proteica similar ao glúten; assim, aditivos como hidrocoloides, emulsificantes, produtos lácteos, proteínas, amido gelatinizado e enzimas têm sido utilizados visando melhorar as qualidades reológicas da massa, o volume final, as características estruturais e de textura, bem como a vida de prateleira de pães sem glúten (GALLAGHER, GORMLEY; ARENDT, 2004).

Os hidrocoloides aumentam a viscosidade da massa melhorando a capacidade de retenção de gás e gerando produtos com maior volume e miolos com melhores características estruturais e de textura. Vários hidrocoloides, como hidroxipropilmetil-celulose, carboximetil-celulose, gomas locuste, guar e xantana, pectina, β -glucana, estão sendo investigados visando à melhoria das propriedades dos pães sem glúten. No geral, os hidrocoloides são adicionados em níveis que variaram de 1 a 4% (base farinha) e os melhores resultados em termos de volume e textura foram obtidos pela incorporação de 1 a 2%. Os resultados são variáveis em função da formulação e das condições de processamento (DEMIRKESEN et al., 2010).

Ingredientes proteicos como a farinha de soja, o isolado proteico de soja, o leite e o isolado proteico do leite são utilizados para melhorar a aparência, o sabor e as características do miolo de pães sem glúten, podendo contribuir também para aumentar o valor nutricional das formulações (RIBOTTA et al., 2004).

Enzimas são proteínas que otimizam (ou aceleram) reações químicas. Este processo de emprego de enzimas, catálise enzimática, é amplamente utilizado na indústria de alimentos e vem crescendo substancialmente em função de dois fatores que são a alta especificidade do catalisador e o apelo de “natural”, pois muitas vezes permite a eliminação de aditivos químicos das formulações e, conseqüentemente dos rótulos dos alimentos. Nos trabalhos que envolvem os pães sem glúten, busca-se empregar as enzimas sobre outros substratos que substituem a farinha de trigo visando complementar as deficiências tecnológicas apresentadas pelas formulações sem glúten (VAN OORT, 2010b). São ingredientes úteis na panificação devido à sua capacidade de aperfeiçoar o processamento da massa promovendo a rede de proteína e a qualidade de produtos panificados (RENZETTI; BELLO; ARENDT, 2008; GURJAL; ROSELL, 2004).

Dentre as enzimas a transglutaminase (TG) é a que tem sido mais estudada para o desenvolvimento de pães sem glúten. A TG também tem sido aplicada em vários processos alimentícios na indústria, por sua capacidade única em alterar sua funcionalidade (BABIN; DICKINSON, 2001).

Os efeitos da incorporação de ingredientes proteicos podem ser melhorados pela adição de transglutaminase, enzima que catalisa reações entre proteínas, podendo formar redes proteicas o que contribui para a estrutura de pães sem glúten. Renzetti, Bello e Arendt (2008) observaram que o efeito da transglutaminase nas propriedades do pão sem glúten depende dos níveis de enzima adicionados e também da fonte proteica presente na formulação.

Os efeitos combinados da incorporação de hidrocoloides, proteínas e enzimas também resultaram na melhoria das propriedades do pão sem glúten. Marco e Rosell (2008) observaram aumento de volume e redução da dureza do miolo de formulações à base de farinha de arroz após a inclusão de isolado proteico de soja, hidroxipropilmetil-celulose e transglutaminase.

As pesquisas indicam que os hidrocoloides, bem como os agregados proteicos obtidos por ação da transglutaminase, podem contribuir para a maior retenção de umidade e maciez do miolo durante o armazenamento, prolongando a vida-de-prateleira de pães sem glúten (MOORE et al., 2006; ONYANGO et al., 2009). Estudos recentes vêm mostrando que a adição de emulsificantes pode auxiliar a manutenção da maciez do miolo e, conseqüentemente, contribuir para a extensão da vida útil de pães sem glúten (NUNES et al., 2009; ONYANGO; UBENHND; LINDHAUER, 2009).

2.5.1 Enzima Transglutaminase

A transglutaminase (TG; proteína-glutamina γ -glutamyltransferase, EC 2.3.2.13) é uma enzima capaz de catalisar reações de fácil transferência entre resíduos dos aminoácidos glutamina e lisina pela formação de ligações covalentes cruzadas entre proteínas tal como, peptídeos e várias aminas primárias. Devido à sua habilidade de modificar proteínas, a TGase apresenta potencial de aplicação na indústria de alimentos para o desenvolvimento de novos produtos e modificação das propriedades de produtos já existentes, como capacidade de emulsificação e formação de gel, viscosidade, textura e valor nutricional (CUI; ZHANG, 2007).

As transglutaminases são encontradas em vários tecidos e fluídos corporais de mamíferos, peixes e plantas. Os primeiros estudos de aplicação e forma de ação desta enzima foram realizados na década de 80 e utilizaram enzima extraída de fígados de cobaias e plasma

de bovinos. Contudo, devido ao alto custo de obtenção, produções de extratos de coloração avermelhadas, dificuldades de extração e purificação dessas enzimas de origem animal, pouco interessante para a indústria alimentícia, foram realizados diversos estudos sobre fontes alternativas de origem microbiana para produção da enzima (MACEDO; SETTE; SATO, 2007).

Atualmente, diversas linhagens de *Streptomyces* sp. têm sido relatadas por apresentar elevada atividade de transglutaminase, entre elas *Streptomyces platensis*, *Streptomyces hygroscopicus* e *Streptomyces lividans*. Além dos actinomicetos, alguns *Bacillus* sp. (como o *Bacillus circulans*) também foram descritos como produtores de transglutaminase (NAGY; SZAKACS, 2008).

A transglutaminase microbiana (MTgase) apresenta crescente aplicação na indústria de alimentos, em virtude da sua propriedade de catalisar a formação de ligações cruzadas entre proteínas, sendo capaz de unir pedaços de carne, formar geis proteicos resistentes à temperatura, melhorar a textura de massas e pães e formar filmes proteicos, entre outras. A Tabela 1 exibe a reatividade da MTgase comercializada no Brasil pela empresa Ajinomoto em diversas fontes de proteínas.

No Brasil, a Ajinomoto detém a tecnologia e o mercado de diferentes preparações da TG, cujo nome comercial é “ACTIVA”, e se diferenciam conforme o tipo de aplicação. A TG comercial é produzida por fermentação microbiológica, catalisando as reações de ligações cruzadas entre moléculas de proteína. As ligações são covalentes, bastante estáveis, ocorrendo entre os aminoácidos glutamina e lisina (AJINOMOTO, 2015).

Tabela 1: Reatividade da transglutaminase microbiana da Ajinomoto para várias proteínas.

Alimento	Proteína	Reatividade
Leite	Caseína	***
	Caseinato de sódio	***
	A-Lactoglobulina	*
	B-Lactoglobulina	*
Ovo	Proteína da clara (ovoalbumina)	*
	Proteína da gema	**
	Mioglobina	*
Carne	Colágeno	**
	Gelatina	***
	Miofibrila: Miosina	***
	Miofibrila: Actina	X
Soja	Globulina 11S	***
	Globulina 7S	***
Trigo	Gliadina	**
	Glutenina	**

*** Reage muito bem; ** Reage bem; * Reage dependendo das condições; x em geral não reage.

Fonte: (SAKAMOTO; HUMAZAWA; MOTOKI, 2006)

2.5.2 Aplicação da MTgase na panificação

Na área de panificação a MTGase provoca a formação de ligações covalentes entre as frações de proteína conduzindo a uma melhora nas propriedades visco-elásticas do glúten que têm efeito positivo no comportamento reológico das massas em geral (CABALLERO et al., 2005).

Diversos estudos utilizaram a MTGase em produtos de panificação para melhorar a qualidade de produtos e matérias-primas. Aalmi e Leekavathi (2008) estudaram o efeito da enzima na produção de espaguete obtendo alterações visíveis no comportamento da massa, na qualidade do espaguete seco, nas qualidades de cozimento e na microestrutura dos espaguetes cozidos. Os melhores resultados foram obtidos com a adição da enzima nas farinhas de qualidade inferior, com menor conteúdo de proteína.

A MTGase também foi utilizada em estudos para desenvolvimento de massas sem glúten. Moore et al. (2006) estudaram a adição da enzima nos níveis 0,0; 0,1; 1,0 e 10,0%, em formulações com farinhas de arroz, batata e milho, goma xantana e várias fontes de proteína (soro de leite em pó, soja e ovo em pó). Os resultados mostraram ser possível criar uma rede

de proteínas para a produção de pão sem glúten com a utilização da enzima sendo que sua eficiência é dependente da quantidade de enzima e das fontes de proteína usadas. Collar, Bollaín e Angioloni (2005) também utilizaram a enzima para produção de pães de forma e obtiveram melhor coesividade, volume, intensidade de aroma e sabor típico, com a utilização de 0,5% de MTGase (base seca de farinha).

Em um estudo realizado em massa de pão congelada, Huang et al. (2008) mostraram que com 0,5% de MTGase (base seca de farinha) as massas, após cinco semanas a -18 °C, apresentaram uma rede de glúten menos fraturada do que as massas controle; já os pães produzidos com 1,5% de MTGase (base seca da farinha) apresentaram volume específico igual ao pão padrão fresco, após as mesmas cinco semanas a -18 °C. Kim et al. (2008) também obtiveram resultados positivos no volume específico e na firmeza de pães congelados, ao usar MTGase em sua formulação.

Storck et al. (2009) avaliaram a influência da TG em diferentes concentrações (0%, 0,5%, 1,0% e 1,5%) em pães de forma com farinha de arroz com alto teor de amilose. Os autores analisaram peso, volume específico, percentual de peso perdido no forneamento e textura e verificaram que o volume específico dos pães de arroz aumentou quando foi adicionado 1,5% da transglutaminase e a perda de peso dos pães no forneamento não foi influenciada. A adição de 0,5% de transglutaminase diminuiu a firmeza e aumentou a adesividade, não afetando a dureza. A adição de maiores concentrações de enzima não afetou a textura.

2.5.3 Regulamentação da MTGase no Brasil

Segundo a resolução RDC nº 348, de 02 de dezembro de 2003 da ANVISA, a MTGase está incluída na tabela de enzimas cujo parágrafo único informa que o limite de uso dessa enzima será em “*quantum satis*”, ou seja, quantidade suficiente para obter o efeito desejado no alimento (ANVISA, 2003).

2.6 Prebióticos

O grande avanço dos alimentos funcionais na Europa deixa claro que é possível estimular mercados estagnados. A conscientização dos consumidores sobre a importância de ter um sistema digestivo saudável aumentou significativamente nos últimos cinco anos, o que

se deve, em grande parte, ao êxito dos produtos lácteos probióticos em toda a Europa. Mas, como não é fácil acrescentar probióticos a produtos panificados, as indústrias de panificação não podiam aproveitar esta oportunidade. Uma solução chegou na forma dos ingredientes prebióticos. Esses ingredientes podem ser adicionados ao pão e outros produtos panificados e oferecem a possibilidade de tirar vantagem da tendência atual para elaborar produtos que melhoram a saúde digestiva (RENHE et al., 2008).

Os prebióticos são definidos como ingredientes fermentáveis porém não digeríveis, cujos efeitos beneficiam o hospedeiro por estimular o crescimento seletivo e ativar o metabolismo de bactérias promotoras da saúde no trato intestinal, principalmente as bifidobactérias. A principal ação dos prebióticos é estimular o crescimento e/ou a ativação do metabolismo de muitos grupos de bactérias benéficas no trato intestinal (SILVA et al., 2008).

Segundo Reig e Anesto (2002) para que uma substância ou grupo de substâncias possa ser definido como prebiótica, deve cumprir os seguintes requisitos: ser de origem vegetal, formar parte de um conjunto heterogêneo de moléculas complexas, não ser digerida pelas enzimas digestivas, ser parcialmente fermentada pelas bactérias colônicas e ser osmoticamente ativa.

Dentre os ingredientes prebióticos mais utilizados estão os componentes alimentares não digeríveis com propriedades funcionais semelhantes à fibra dietética como, por exemplo, a inulina e a oligofrutose que estão presentes naturalmente em mais de 36 mil plantas, e que, industrialmente, é extraída da raiz de chicória e são fermentadas no cólon por bactérias específicas que promovem benefícios à saúde (RONKART et al., 2009).

2.6.1 Inulina

A inulina é amplamente reconhecida como fibra alimentar pelas autoridades, em todo o mundo. Medições com o Método de Frutanos AOAC mostram as quantidades exatas para poder rotular a inulina como fibra alimentar na embalagem. A incorporação da inulina no pão oferece uma ampla gama de oportunidades interessantes de marketing. O pão pode ser posicionado como prebiótico oferecendo, como benefício, o fato de ajudar o seu organismo a produzir mais bactérias benéficas. A adição de inulina melhora o caráter nutricional sem afetar o sabor, pois é uma fibra de sabor neutro. De modo geral, a inulina permite, às indústrias, fazer pães com sabor excelente e com uma vantagem nutricional adicional,

comprovada cientificamente, que atrai os consumidores que buscam melhorar seu sistema digestivo como parte da sua alimentação diária (GAWLIK-DZIKI et al., 2015).

A inulina ocorre naturalmente em milhares de plantas e vegetais como a alcachofra, alho poró e cebola, mas a raiz da chicória é uma fonte particularmente rica (15-17%) e uma das mais pesquisadas por cientistas devido aos seus benefícios nutricionais. Um sistema digestivo saudável tem tudo a ver com uma alimentação equilibrada e nutritiva e as fibras têm papel chave nisto. A inulina é uma fibra solúvel que tem o mesmo efeito das fibras de frutas, vegetais, pão integral e cereais (APOLINARIO et al., 2014).

Quando consumida, a inulina não é digerida chegando intacta aos intestinos, onde ela fermenta. Quando isto acontece as bifidobactérias benéficas são estimuladas seletivamente em detrimento das bactérias prejudiciais, fato conhecido como efeito bifidogênico ou prebiótico. Uma flora intestinal saudável significa que o sistema digestivo trabalha melhor, o que é benéfico para o bem-estar e para a saúde. As pesquisas também demonstram que quando o sistema digestivo funciona bem as pessoas se sentem melhor por dentro e por fora, gerando um “fator de bem-estar” (MENSINK et al., 2015).

Segundo a resolução RDC nº 18/1999 ANVISA, a inulina está inclusa na tabela de fibras cujo parágrafo único informa para que ela tenha ação prebiótica à porção do produto pronto para consumo devendo fornecer no mínimo 3 g de inulina se o alimento for sólido ou 1,5 g se o alimento for líquido. Na tabela de informação nutricional deve ser declarada a quantidade de inulina, abaixo de fibras alimentares. O uso do ingrediente não deve ultrapassar 30 g na recomendação diária do produto pronto para consumo, conforme indicação do fabricante.

Korus et al. (2006) avaliaram a influência da adição de prebiótico na qualidade do pão sem glúten e no conteúdo de inulina e fruto-oligossacarídeos. Os melhores efeitos sobre as características sensoriais do pão sem glúten foram observados quando aplicadas doses médias de prebióticos, sendo que o pão suplementado com 5% de inulina obteve maior pontuação sensorial.

Capriles e Areas (2013) demonstraram que a aplicação de 4% de inulina em pães sem glúten melhorou as propriedades tecnológicas dos pães caracterizados por volume específico maior devido, provavelmente, ao aumento da capacidade de retenção de dióxido de carbono (CO₂). Esses resultados ainda mostram que os pães enriquecidos com inulina fornecem

benefícios nutricionais (11% de fibra dietética) e funcionais para pacientes com doença celíaca.

Morais et al. (2014) avaliaram o perfil sensorial (ADQ) de pães sem glúten suplementados com inulina (0,75%). Os testes foram realizados por pessoas treinadas e com doença celíaca. Dentre os pães analisados destacou-se o pão fortificado com inulina devido à cor, à porosidade e à textura melhoradas.

2.7 Análise Sensorial

As indústrias de alimentos necessitam inovar continuamente seus produtos com o objetivo de atrair e satisfazer os consumidores, além de manter a liderança de mercado. Os principais fatores que impulsionam a preferência por alimentos são aparência, sabor, aroma, textura do produto e fatores culturais, disponibilidade, custo e benefícios que o alimento pode fornecer (FAVALLI; SKOV; BYRNE, 2013).

A qualidade do alimento compreende três aspectos fundamentais: nutricional, sensorial e microbiológico. Com certeza o aspecto de qualidade sensorial é o mais intimamente relacionado à escolha do alimento. De nada vale para o consumidor um produto que possua excelentes características químicas, físicas, nutricionais ou microbiológicas, que seja considerado de excelente qualidade, se a característica sensorial deste produto não preencher as necessidades de quem o consumirá. Então, por meio da análise sensorial, as características de interesse relativas à qualidade sensorial do alimento são identificadas e adequadamente estudadas (MINIM, 2013).

A análise sensorial, segundo a NBR 12.806 (ABNT, 1993) é definida como uma disciplina científica usada para evocar, medir, analisar e interpretar reações das características dos alimentos e materiais como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição.

A análise sensorial é uma ferramenta aplicável em todas as etapas da tecnologia de alimentos, desde a concepção de um novo produto alimentício até a padronização e avaliação do nível de qualidade do produto. Para tanto, dispõe-se de diferentes tipos de testes: discriminativos, afetivos e descritivos. Os testes sensoriais são incluídos como garantia de qualidade por serem uma medida multidimensional integrada possuindo vantagens importantes, tais como, ser capaz de identificar a presença ou ausência de diferenças

perceptíveis, definir características sensoriais significativas de um produto de forma rápida, capaz de detectar particularidades que não podem ser detectadas por outros procedimentos analíticos (DUTCOSKY, 2013).

Os testes sensoriais são incluídos como garantia de qualidade por serem uma medida multidimensional integrada possuindo vantagens relevantes, tais como, ser capazes de identificar a presença ou ausência de diferenças perceptíveis, definir características sensoriais influentes de um produto de forma rápida, capaz de detectar particularidades que não podem ser detectadas por outros procedimentos analíticos (MININ, 2013).

A qualidade sensorial dos pães é comumente avaliada por meio de Análise Descritiva e teste de aceitação, este último considerado o mais importante por fornecer dados sobre a percepção do produto pelo consumidor, permitindo observar variações devidas à idade, gênero, classe social e cultura, entre outros. Em ambos os testes o pão é avaliado principalmente quanto à aparência, textura, aroma e sabor (PURLIS, 2012).

Os testes afetivos não requerem treinamento dos provadores e são importantes por expressar a opinião dos consumidores sobre o produto a ser testado. É uma ferramenta valorosa, pois determina diretamente a opinião do consumidor em relação às ideias, características específicas ou globais de determinado produto sendo por isso também denominado teste de consumidor (DUTCOSKY, 2013).

É muito utilizado para comparar produtos concorrentes, desenvolvimento de novos produtos e melhoria da qualidade. Entre os métodos sensoriais existentes para medir a aceitação e preferência de um grupo de provadores, o que utiliza escala hedônica de nove centímetros é o mais aplicado, devido à sua simplicidade, confiabilidade e validade de seus resultados (STONE; SIDEL, 2004).

No estudo de Laureati et al. (2012), pacientes celíacos e indivíduos não celíacos não apresentam diferenças na percepção de análise sensorial de pães isentos de glúten. Os principais parâmetros sensoriais considerados neste estudo de desenvolvimento e otimização de pães isentos de glúten à base de amido de milho e farinha de arroz, foram: pães macios, porosidade uniforme do miolo, sabor adocicado, aroma e sabor suave de milho.

2.8 Armazenamento

O estudo da vida de prateleira (armazenamento) é de grande interesse, em função dos pães sem glúten apresentar vida de prateleira curta. Atenção especial deve ser dada às condições de estocagem de pães preassados, desde que ela tenha papel fundamental na qualidade tecnológica dos pães e seu comportamento durante o envelhecimento (ROSELL; SANTOS, 2010). Os pães podem após passar pelo preassamento, ser estocados de quatro maneiras diferentes antes do reassamento: à temperatura ambiente, sob atmosfera modificada, sob refrigeração ou sob congelamento (SLUIMER, 2005).

A vida de prateleira de pães estocados em temperatura ambiente e bem embalados, é limitada (SLUIMER, 2005). A contagem de microrganismos aumenta significativamente durante a estocagem de pães sem adição de agentes antimicrobianos a temperatura ambiente (KARAOGLU; KOTANCILAR; GURSES, 2005). Em torno de cinco dias, mofo na superfície se tornam visíveis, sinalizando o fim da vida de prateleira. A estocagem congelada é um dos métodos mais eficientes para retardar os processos de envelhecimento do pão (MANDALA; SOTIRAKOGLU, 2005) e de equilíbrio de umidade do miolo. Além disso, ela preserva o aroma de pão fresco (SLUIMER, 2005).

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

Há grande quantidade de informação disponível na literatura sobre o congelamento de alimentos; no entanto, existem poucos dados relatados sobre alimentos de alta porosidade, como os pães. O congelamento de uma matriz porosa úmida é um problema muito específico. De fato, uma transferência simultânea de calor e difusão de umidade existe e é complicada ainda pela transição da água a gelo (HAMDAMI et al., 2010). Vários pesquisadores têm focado seus estudos nas propriedades e nas mudanças termofísicas que ocorrem durante o congelamento de pães preassados (HAMDAMI; MONTEAU; LE BAIL, 2006; LUCAS et al., 2005; LUCAS; LE RAY; DAVENEL, 2005).

O pão pode ser congelado, estocado no estado congelado e descongelado mais facilmente que uma massa. Pães, após o congelamento, não requerem atividade de levedura ou propriedades de retenção de gás, os quais são fatores de qualidade importantes em massas

não assadas. Porém, o sucesso do congelamento do pão também requer cuidado e atenção em todos os aspectos de operação. Congelamento, estocagem congelada e descongelamento impróprio do pão podem aumentar o envelhecimento (VULICEVIC et al., 2004).

Vários problemas podem aumentar com a estocagem congelada de pães pré-assados sob condições controladas de congelamento por um prolongado período de tempo (RIBOTTA; LE BAIL, 2007). Com o aumento do tempo de estocagem do pão pré-assado, a qualidade do pão pode sofrer mudanças como a redução do volume específico, a perda de água, o aumento da dureza do miolo e a perda de aroma resultando na deterioração do produto (BÁRCENAS; ROSELL, 2006; VULICEVIC et al., 2004). Baseado em propriedades físicas e escores sensoriais, o período de estocagem congelada dos pães pré-assados está entre 12 e 20 semanas (VULICEVIC et al., 2004).

3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados nos Laboratórios de Engenharia de Alimentos (LEA), Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) da Universidade Federal de Campina Grande, Laboratório de Cereais da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LTA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB).

3.1 Matéria-prima

Para a realização dos experimentos foram utilizados o arroz vermelho *Oryza sativa* L. (fabricante Patoense - com teor de água inicial de aproximadamente 11% b.u.) e o polvilho doce (fabricante Yoki), obtidos no comércio local de Campina Grande, PB.

3.2 Obtenção da farinha de arroz vermelho

3.2.1 Moagem

As amostras de arroz foram submetidas à operação unitária de moagem, em processo de batelada (10 g), no moinho de facas, fabricante Tecnal, com seu conjunto de facas regulado para 1 mm, utilizando peneira de 10 Mesh. Após a moagem as farinhas de arroz vermelho foram acondicionadas em embalagens de polietileno de alta densidade (PEAD) fechadas hermeticamente e mantidas em temperatura ambiente de $25\text{ °C} \pm 3,0\text{ °C}$.

3.3 Caracterização da farinha

3.3.1.1 Análise granulométrica diferencial

A análise granulométrica foi realizada através do peneiramento de 100 g da farinha de arroz vermelho, caracterizado pelas pesagens das peneiras com as frações por medidas diretas utilizando uma série de peneiras padronizadas na faixa de 9 a 200 Mesh, com agitador eletromagnético, fabricante Bertel, para peneiras redondas. A superfície de peneiramento das peneiras (malha) é constituída por aberturas quadradas, formadas por fios trançados

perpendicularmente. As aberturas estão relacionadas entre si por uma progressão geométrica, possibilitando a comparação dos resultados da análise. O tempo total de peneiramento foi de 10 minutos e a análise foi realizada em triplicata, segundo metodologia descrita por Gusmão et al. (2016)

Foram aplicados dois modelos matemáticos Gates-Gaudin-Schuhmann (GGS- Equação 1) e o Modelo de Rosin-Rammler-Bennet (RRB - Equação 3) para avaliar a distribuição do conjunto de partículas da farinha de arroz vermelho. Para obtenção dos parâmetros dos modelos de distribuição granulométrica foi necessário realizar a linearização dos dois modelos (Equações 2 e 4, respectivamente).

- Modelo matemático Gates-Gaudin-Schuhmann (GGS)

$$X_f = \left(\frac{a_n}{k_{GGS}} \right)^{I_{GGS}} \quad (1)$$

em que:

X_f – fração mássica do material mais fino do que a abertura da peneira (kg/kg total);

a_n – é a abertura da peneira de ordem n (m);

K_{GGS} é o parâmetro que representa o tamanho médio das partículas (μm);

I_{GGS} é o parâmetro que representa a dispersão (adimensional), também chamado de derivada de Schuhmann;

- Linearização do modelo de Gates-Gaudin-Schuhmann

$$\ln X_f = I_{GGS} \ln \left(\frac{a_n}{K_{GGS}} \right) = I_{GGS} \ln a_n - I_{GGS} \ln K_{GGS} \quad (2)$$

- Modelo matemático ROSIN-Rammler-Bennet (RRB)

$$X_f = 1 - \exp\left[-\left(a_n / K_{RRB}\right)^{I_{RRB}}\right] \quad (3)$$

em que:

K_{RRB} é o parâmetro que representa o tamanho médio das partículas (μm);

I_{RRB} é o parâmetro que representa a dispersão (adimensional);

- Linearização do modelo de Rosin-Rammler-Bennet

$$f = 1 - \exp\left[-\left(\frac{a_n}{K_{RRB}}\right)^{I_{RRB}}\right]$$

$$1 - X_f = \exp\left[-\left(\frac{a_n}{K_{RRB}}\right)^{I_{RRB}}\right] \quad (4)$$

$$\ln(1 - X_f) = -\left(\frac{a_n}{K_{RRB}}\right)^{I_{RRB}}$$

$$\ln(-\ln(1 - X_f)) = I_{RRB} \ln\left(\frac{a_n}{K_{RRB}}\right) = I_{RRB} \ln a_n - I_{RRB} \ln K_{RRB}$$

3.3.1.2 Microscopia eletrônica de varredura

As avaliações morfológicas foram realizadas segundo metodologia de Park et al. (2015) em Microscópio Eletrônico de Varredura – MEV, modelo SSX-550, fabricante Shimadzu. Inicialmente, a amostra de farinha de arroz vermelho foi fixada em uma placa metálica com fita de carbono; em seguida, foi colocada em uma câmara metalizadora para que ocorra o recobrimento de ouro; logo depois foram levadas para o MEV que foi operado com uma energia de 15 kV. O aspecto geral da farinha de arroz vermelho foi avaliado com ampliações de 150, 500, 1000 e 4000 vezes.

3.3.1.3 Propriedades de pasta (RVA) da farinha de arroz vermelho e polvilho doce

As propriedades de pasta (perfil viscoamilográfico) das amostras de farinha de arroz (FA) e polvilho doce (PD) e ainda a mescla das duas farinhas utilizando as proporções conforme descrito na Tabela 2, foram determinadas de acordo com o método 162 da International Association for Cereal Science and Technology (ICC, 1996). Esta análise foi realizada em triplicata e utilizou-se uma suspensão de amostra moída (3 g em 25 mL) corrigida para 14% de teor de água. O perfil de análise utilizado consistiu nas seguintes etapas: a temperatura inicial de 25 °C se manteve durante 2 minutos; depois, aumentou gradativamente por 5 minutos até a temperatura de 95 °C, permanecendo constante por 3 minutos. O resfriamento também foi feito gradualmente com diminuição da temperatura do sistema até atingir a temperatura de 25 °C. Os parâmetros avaliados foram temperatura e tempo de início de formação da pasta, viscosidade máxima, quebra da viscosidade, viscosidade final e capacidade de retrogradação (Figura 3). O resultado final foi expresso em RVU (unidades rápido viscoamilográficas), equivalente a 12 centipoise (cP), segundo fabricante do equipamento (Warriewood, AUS).

Tabela 2: Mesclas da farinha de arroz vermelho e polvilho doce

Formulações	Farinha de arroz vermelho (FA)	Polvilho doce (PD)
F1	100%	-
F2	50%	50%
F3	75%	25%
F4	-	100%

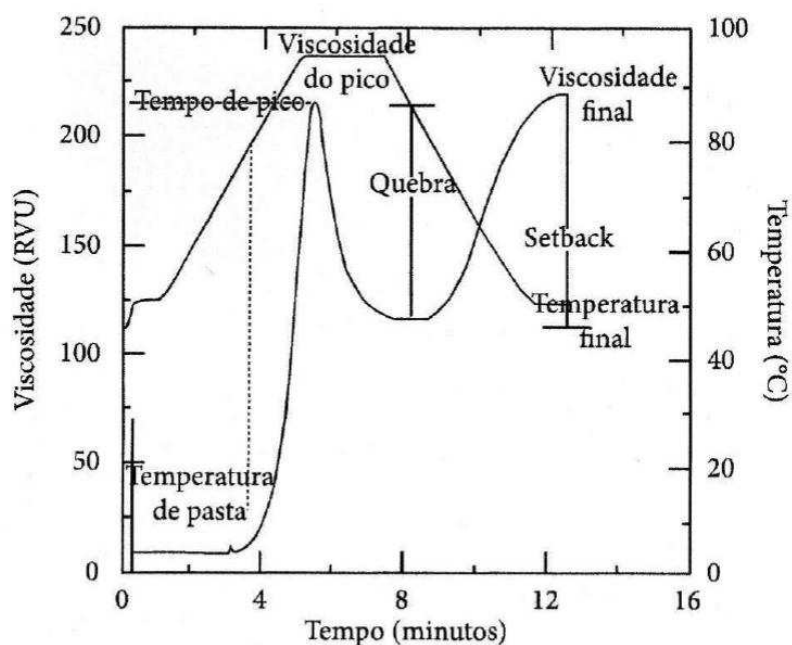


Figura 3: Curva de viscosidade típica do RVA apresentando parâmetros comumente analisados

Fonte: Newport Scientific (2001)

3.3.1.4 Análise de difração de raios X (DRX)

Os difratogramas de raios X do mix de farinha de arroz vermelho e polvilho doce (Tabela 2) foram obtidos em Difratorômetro de raios X – Shimadzu – XRD – 7000, utilizando radiação $K\alpha$ do cobre ($1,5418 \text{ \AA}$), 40 kV, 30 mA, com um passo de 0,05 e taxa de varredura de $0,5 \text{ }^\circ/\text{min}$ na temperatura ambiente. A faixa de varredura da difração foi ajustada para ângulos de 5° a 65° (2θ). Os difratogramas foram utilizados para identificação das fases que compõem um material cristalino. A leitura de um difratômetro foi realizada por meio de um gráfico que fornece o registro das contagens por segundo (proporcional à intensidade difratada) versus a difração do ângulo 2θ (feixe transmitido). A Figura 4 representa um difratograma típico para uma amostra de farinha. Foram realizadas as leituras dos três picos mais intensos são utilizados para iniciar o procedimento de identificação na sua ordem de intensidade.

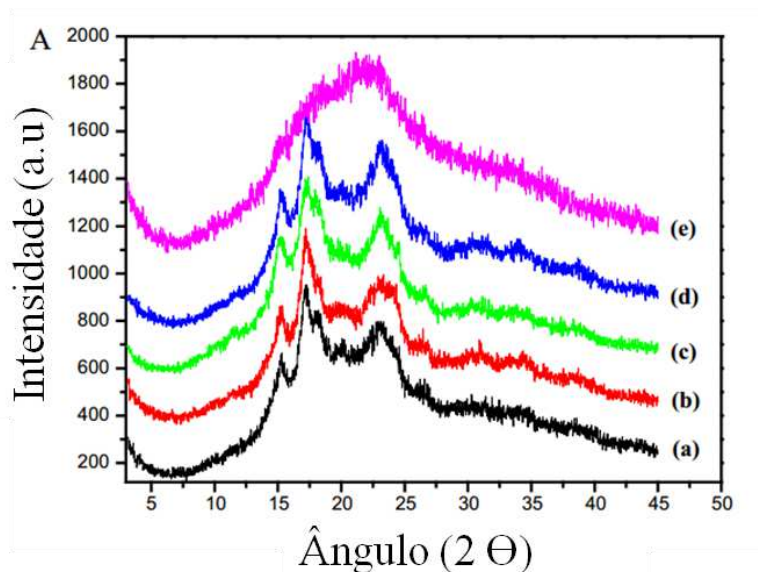


Figura 4: Difratograma (DRX) típico para amostra de farinha

3.3.1.5 Determinação do grau de cristalinidade

O percentual de cristalinidade do mix de farinha de arroz vermelho e polvilho doce (Tabela 2) foi obtido pelo método de ajuste dos picos dos difratogramas de raios X, através do software estatístico Fityk versão 0.9.3 (GNU General Public License – 2010). O modelo matemático utilizado para o ajuste das gaussianas em cada difratograma foi o de Levenberg-Marquardt. Considerou-se, para os cálculos, a razão do somatório das áreas dos picos cristalinos pela área total de todas as gaussianas, de acordo com a Equação 5.

$$X_c(\%) = \frac{I_c}{(I_c + I_a)} * 100 \quad (5)$$

em que:

X_c é o grau de cristalinidade, I_c o somatório das áreas dos picos cristalinos e I_a a área do halo amorfo.

3.3.1.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Para a análise de Calorimetria Exploratória Diferencial utilizou-se o equipamento DSC 8500 Perkin Elmer, na faixa de 20 a 120 °C com varredura de 10 °C/min em

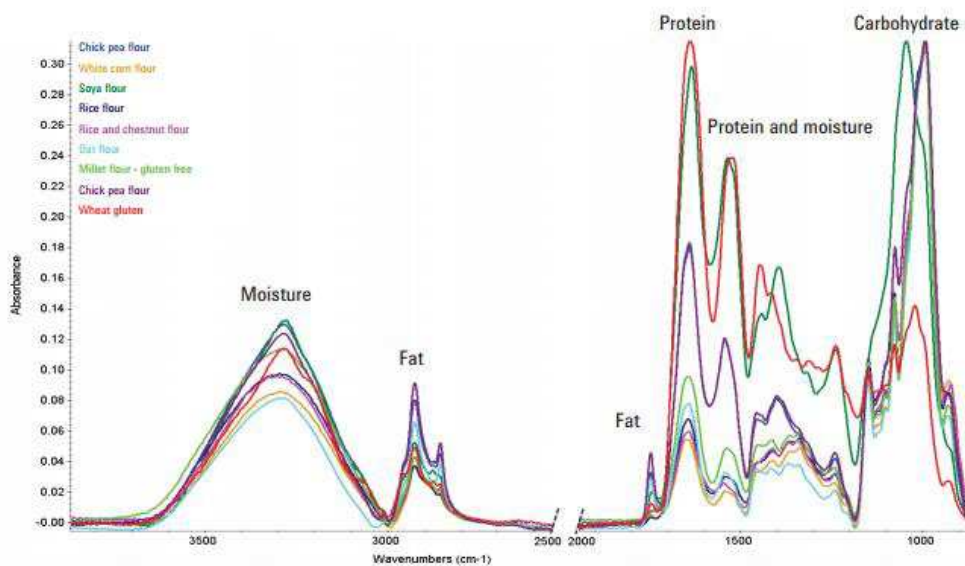
atmosfera de N₂ (gás de purga). Na Tabela 3 são apresentados os parâmetros utilizados na análise de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Foram determinadas a temperatura de gelatinização, a temperatura de pico endotérmico e a entalpia de gelatinização.

Tabela 3: Parâmetros utilizados nas análises de calorimetria exploratória diferencial.

Temperatura inicial	20 °C
Temperatura final	120 °C
Taxa de aquecimento	10°C/min
Cadinho no sensor DSC	Vazio
Fluxo de N ₂ (gás de purga)	50 mL/min

3.3.1.7 Análise de espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

O mix das farinhas de arroz vermelho e polvilho doce (Tabela 2) foram submetidos à análise em espectrofotômetro de absorção na região do infravermelho utilizando um equipamento Spectrum 400 da Perkin Elmer. A técnica FTIR foi usada para identificar as bandas características dos grupos funcionais (C-H; OH; C-OH; C-O-C; C-O; C-C) e fornecer informações em forma de picos. Com base nos picos o valor do teor de água, proteína, lipídios, cinzas e carboidratos, foram determinados nos materiais desenvolvidos nesta pesquisa utilizando a faixa de varredura de 4000 a 650 cm⁻¹. Na Figura 5 se encontram os espectros infravermelhos; as bandas de infravermelhos características dos principais componentes tais como proteínas, carboidratos, lipídios e teor de água, podem ser claramente discernidas nos espectros.



Moisture: teor de água; Fat: Lipídios; Protein: Proteínas; Carbohydrate: Carboidratos.

Figura 5: Espectro infravermelho sobreposto registrado no analisador FTIR

3.3.1.8 Caracterização físico-química e física da farinha de arroz vermelho

As determinações: teor de água, atividade de água (Aa), cinzas, proteínas, lipídios, carboidratos (amido), fibra bruta, teor de açúcares redutores, açúcares totais, valor calórico e cor (L^* , a^* , b^*) foram realizadas na farinha de arroz vermelho, em triplicata, de acordo com as metodologias descritas a seguir.

O teor de água foi quantificado em estufa a 105 °C até peso constante, conforme método oficial nº 925.10 da AOAC International (1997); A atividade de água foi medida por método direto, a 25 °C, através do analisador Aqualab 3T, da Decagon Devices e o resíduo mineral fixo (cinzas) por incineração total da matéria orgânica em forno mufla a 550 °C, como descrito no método oficial da AOAC International (1997).

Para avaliação do teor de proteínas utilizou-se a digestão das amostras pelo método de Kjeldahl, em bloco digestor e destilador de nitrogênio Tecnal modelo TE 036/1, para avaliar a porcentagem de nitrogênio. A conversão para proteína bruta foi feita usando-se o fator 5,95, conforme metodologia oficial nº 960.52 da AOAC International (1997); o teor de lipídios totais foi obtido pelo método de extração contínua por solvente, em determinador de gordura

Tecnal modelo TE-044 do tipo Soxhlet, conforme metodologia oficial nº 920.39C da AOAC International (1997).

O conteúdo de fibra bruta foi quantificado segundo o método Ba 6a-05 da AOAC (2009) que consistiu em digestão ácida (H_2SO_4 1,25%) com refluxo por 30 minutos a partir da ebulição; lavagem da amostra com água quente até sua neutralização; digestão alcalina (NaOH 1,25%) com refluxo por 30 minutos a partir da ebulição e lavagem da amostra com água quente até a neutralização e posteriormente lavagem da amostra utilizando 5 mL de acetona e 5 mL de álcool etílico, transferência da amostra do “bag” de nylon para cadinho de Gooch e filtragem a vácuo. Na sequência, as amostras foram colocadas em estufa a $105\text{ }^\circ\text{C}/3\text{--}4$ h, pesadas e colocadas em mufla a $550\text{ }^\circ\text{C}/2$ h e novamente pesadas para o cálculo do percentual de fibra bruta.

Para determinação dos carboidratos (amido) foram realizadas a hidrólise ácida do amido e posterior determinação de açúcares totais e redutores por titulação com aquecimento segundo Lane e Eynon (1934).

A cor da farinha de arroz vermelho foi realizada utilizando-se o colorímetro digital modelo CR 300 (Minolta, New Jersey, USA), determinada de acordo com o Sistema CIE- $L^*a^*b^*$ (Commission Internationale L’Eclairage) em que os parâmetros L^* (luminosidade variando de 0 a 100), a^* ($-a^*$ a $+a^*$ indicando verde a vermelho) e b^* ($-b^*$ a $+b^*$ indicando azul a amarelo) foram analisados conforme metodologia de Altamirano-Fortoul, Rosell (2011).

O valor calórico foi calculado por meio da utilização dos coeficientes de Atwater e Woods (1896), cujos carboidratos produzem $4,0\text{ kcal g}^{-1}$, lipídeos $9,0\text{ kcal g}^{-1}$ e proteína $4,0\text{ kcal g}^{-1}$.

3.3.1.9 Determinação da composição mineral

Os minerais foram quantificados por fluorescência de raios X por energia dispersiva a partir das cinzas obtidas. O espectrômetro de fluorescência de raios X utilizado foi o modelo EDX-720, fabricante Shimadzu. De acordo com o princípio da técnica o analisador irradia raios X na amostra e o sistema detecta os sinais de fluorescência gerados. A energia de excitação utilizada foi de 50 kV e detector operando a $-176\text{ }^\circ\text{C}$. A amostra foi colocada em cubeta coberta por um filme de polipropileno de $5\text{ }\mu\text{m}$ de espessura (GUSMÃO et al., 2015).

3.4 Produção dos pães de forma

3.4.1 Formulação

As formulações foram desenvolvidas em conformidade com a área de panificação, em que a soma das farinhas deve ser equivalente a 100% e os demais ingredientes são calculados com base na quantidade de farinha, como pode ser observado na Tabela 4.

Foi produzido um pão sem farinha de trigo com características similares às do pão de forma tradicional, através de diferentes combinações na formulação da base amilácea constituída de 50% de farinha de arroz vermelho e 50% de polvilho doce. Outros ingredientes, como leite em pó, ovos, óleo de canola, vinagre de maçã e melhorador de farinha, foram adicionados à massa a fim de proporcionar melhores características sensoriais, de acordo com as propriedades funcionais de cada ingrediente, ou seja, um pão com sabor e aparência global característico.

A enzima transglutaminase microbiana utilizada neste experimento foi a Activa STG-M® (mistura de MTGase e amido, fornecida pela empresa Ajinomoto do Brasil (São Paulo – SP).

Tabela 4: Formulação do pão de forma isento de glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina)

		Ingredientes	(%)	Quantidade
Farinhas		Farinha de arroz vermelho	50	200 g
		Polvilho doce	50	200 g
		Total farinhas	100	400 g
% base de farinhas		Água	45	180 mL
		Açúcar	5,8	23 g
		Fermento biológico seco (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	3	12 g
		Vinagre de maçã	3,8	15 mL
		Melhorador de farinha*	1,15	4,6 g
		Sal	1,15	4,6 g
		Leite em pó	11,5	46 g
		Ovo	-	1 un
		Óleo de canola	7,5	30 mL
		Anti mofo	0,3	1,2 g
		Inulina	3,0	12 g
		MTgase	**	**

*Ingredientes: Amido de milho, Estabilizantes Polisorbato 8, Ácido Ascórbico e Enzima Alfa amilase

**A quantidade de MTgase variou conforme planejamento experimental (0,5%; 1,0%; 1,5%).

3.4.2 Planejamento experimental

O processo do pão sem glúten com farinha de arroz vermelho foi estudado mediante planejamento experimental fatorial completo 2^2 com três experimentos no ponto central sendo as variáveis independentes % MTgase e tempo de fermentação (min), avaliadas em dois níveis (-1 e +1) conforme valores indicados na Tabela 5, totalizando 7 experimentos. As variáveis dependentes do planejamento foram: análises físicas [cor (L^* , a^* e b^*), perfil de textura e volume específico] e físico-químicas [teor de água, pH e acidez]. A Tabela 6 contém a matriz de planejamento utilizada para o estudo.

Tabela 5: Valores reais e codificados das variáveis de entrada % MTgase e tempo de fermentação (min) para elaboração do pão de forma sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima MTgase e prebiótico (inulina)

Variáveis independentes	Níveis		
	-1	0	1
MTgase (%)*	0,5	1,0	1,5
Tempo de fermentação (min)	60	80	100

*Valores expressos em % total de farinha.

Tabela 6: Matriz do planejamento fatorial 2^2 com 3 pontos centrais para elaboração do pão sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima MTgase e prebiótico (inulina)

Ensaio	MTgase (%)	Tempo de fermentação (min)
	X1	X2
1	0,5 (-1)	60 (-1)
2	1,5 (+1)	60 (-1)
3	0,5 (-1)	100 (+1)
4	1,5 (+1)	100 (+1)
5	1,0 (0)	80 (0)
6	1,0 (0)	80 (0)
7	1,0 (0)	80 (0)

As faixas utilizadas no trabalho para teor de transglutaminase microbiana e tempo de fermentação foram baseadas em experimentos preliminares e também na literatura sobre a produção de pães.

Para cada resposta obtida foi realizada uma Análise de Variância através de regressão linear, para verificar a influência dos fatores sobre os valores obtidos, além de verificar se houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos. O modelo de regressão que foi utilizado está representado na Equação 6.

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_1 x_2 \quad (6)$$

em que:

y = variável resposta;

β_i = estimadores dos parâmetros do modelo;

x_i = fatores codificados (variáveis independentes).

Nos casos em que houve diferença estatisticamente significativa foram geradas as superfícies de resposta a fim de visualizar a faixa de otimização. Os cálculos da ANOVA e os gráficos foram obtidos através do programa Statistica versão 5.0 (STATSOFT, 2004).

3.4.3 Processo de fabricação dos pães

A enzima MTGase foi misturada à farinha seca (farinha de arroz vermelho e polvilho doce) por 2 minutos; em seguida, os demais ingredientes foram misturados em batedeira industrial na velocidade máxima, durante 10 minutos; posteriormente, a massa foi distribuída em formas de alumínio retangulares para pão (17 x 7 x 6 cm). A fermentação foi realizada em câmara de fermentação controlada com condições de temperatura e umidade relativa de 40 °C e 80-82%, respectivamente. A fermentação dos pães foi realizada por (60, 80 e 100 minutos), conforme planejamento experimental, com a retirada de três unidades de cada experimento para assamento em forno a 200 °C por aproximadamente 30 min; em seguida, foram resfriados em temperatura ambiente, desenformados e embalados em embalagens plásticas transparentes de polietileno de alta densidade (PEAD), identificados e congelados em freezer a -18° C. Essa temperatura foi escolhida baseada em trabalhos na literatura que utilizaram armazenamento congelado de pães preassados (DODIC et al., 2007; LERAY et al., 2010). Para as análises os pães foram descongelados em forno elétrico a 220 °C por 20 minutos. A Figura 6 exibe as etapas de elaboração do pão de forma sem glúten com farinha de arroz vermelho e polvilho doce acrescido da enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina).

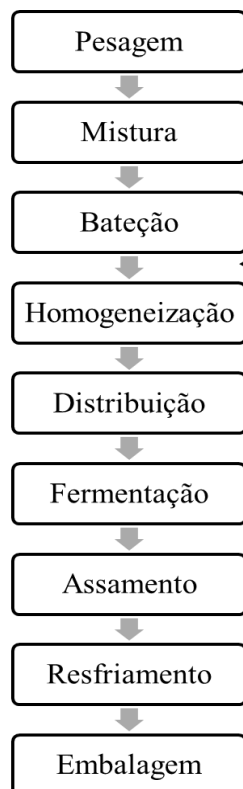


Figura 6: Etapas de produção do pão de forma sem glúten

3.5 Análise dos pães

As amostras de cada ensaio do delineamento foram analisadas no primeiro dia de armazenamento, conforme procedimentos de análise descritos nos itens 3.5.1 a 3.5.6.

3.5.1 Análises físicas

3.5.1.1 Volume específico

Os pães foram cortados em fatias de aproximadamente 2 cm e pesados em balança semianalítica. O volume específico foi determinado pelo método de deslocamento de sementes de paníço calculando-se o resultado pela razão entre o volume (cm^3) e massa do pão (g), sendo expresso em cm^3g^{-1} (AACC 10-11, 2000). O cálculo do volume específico foi realizado através da Equação 7.

$$V_{\text{esp}} = \frac{V}{m} \quad (7)$$

em que:

V_{esp} é o volume específico ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$);

V é o volume do pão (cm^3);

m é a massa do pão (g).

3.5.1.2 Análise de cor

A cor do miolo dos pães foi realizada utilizando-se o colorímetro digital modelo CR 300 (Minolta, New Jersey, USA), determinada de acordo com o Sistema CIE-L*a*b* (Commission Internationale L'Eclairage) em que os parâmetros L* (luminosidade variando de 0 a 100), a* (-a* a +a* indicando verde a vermelho) e b* (-b* a +b* indicando azul a amarelo) foram analisados conforme metodologia de Altamirano-Fortoul e Rosell (2011). Foram utilizadas 10 fatias de cada pão para análise cortadas em fatias de aproximadamente 2 cm de espessura.

3.5.1.3 Perfil de textura

A textura foi analisada, segundo o método 74-09 da AACC (2000), em texturômetro modelo TA-XT2 (Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido). A resistência detectada pelo aparelho é registrada na forma de uma curva típica de força-deformação do alimento e resulta em um gráfico de força/tempo (Figura 7) característico para cada tipo de produto, permitindo avaliar parâmetros como a adesividade (A3), a coesividade (A2/A1), elasticidade (T2/T1) e a firmeza (H) (Figura 8).

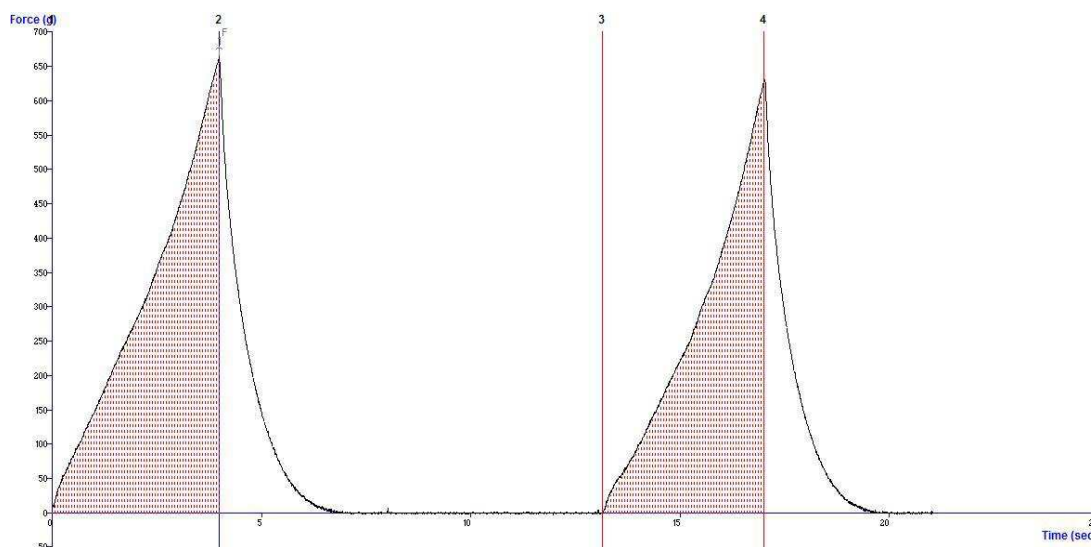


Figura 7: Demonstração da curva que relaciona a força e o tempo necessários para a TPA (perfil de textura) do pão de forma

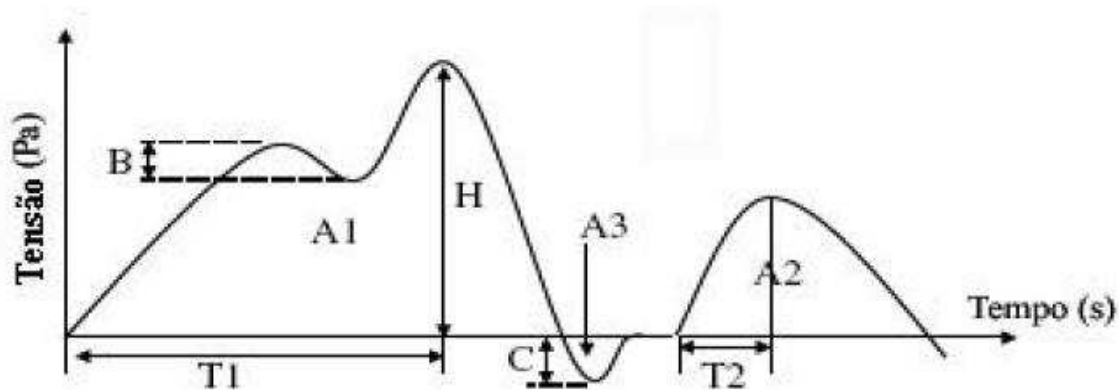


Figura 8: Representação Gráfica da análise instrumental do perfil de textura

Fonte: Kealy (2006)

Para a análise foi utilizado o probe SMS P/36R na plataforma HDP/90, nas seguintes condições de operação: medida de força em compressão, velocidade de pré-teste: 1,0 mm/s, velocidade de teste: 1,7 mm/s, velocidade de pós-teste: 10,0 mm/s, distância de penetração de 40%. Os parâmetros de textura determinados foram: firmeza, mastigabilidade, elasticidade e coesividade. Foram utilizadas dez fatias de 25 mm de espessura.

3.5.1.4 Perda de peso ao assar

A perda de peso ao assar (PPA) foi obtida utilizando-se o peso anterior e posterior ao forneamento segundo metodologia de El- Dash (1978) e foi calculada segundo a Equação 8.

$$PPA = \frac{PA - PP}{PA} \times 100\% \quad (8)$$

em que,

PPA = Porcentagem da perda de peso ao assar (%)

PA = Peso anterior ao assamento (gramas)

PP = Peso posterior ao assamento (gramas)

3.5.1.5 Salto de forno e formato

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

A análise de formato dos pães foi realizada de acordo com Bodroza-Solarov et al. (2008). Medidas da altura, largura e comprimento do pão assado foram realizados, e o formato foi obtido pela relação altura/comprimento. Relação igual a 0,5 indica um pão de formato regular, uma relação maior que 0,5 indica um formato esférico enquanto que uma relação < 0,5 indica um formato plano. As análises foram realizadas com o auxílio de um paquímetro digital (Pantec, AAKER, China).

3.5.2 Análises físico-químicas

3.5.2.1 pH e acidez

Para a determinação do pH e acidez foram homogeneizados 10 gramas de cada amostra com 90 mL de água destilada e o pH da suspensão resultante foi determinado utilizando-se potenciômetro modelo Q400 (Quimis, São Paulo, Brasil), previamente calibrado e operado de acordo com as instruções do fabricante. Em seguida, a suspensão foi titulada

com solução de NaOH 0,1N até pH 8,5. A acidez titulável foi expressa em mL de NaOH 0,1N consumido por 10 g de pão (ROBERT et al., 2006).

3.5.2.2 Teor de água

Para a análise do teor de água o pão foi triturado pesando-se 2 g da amostra em cápsula de alumínio tarada. O conjunto (triplicata) foi colocado em estufa a 105 °C por 24 horas. Após desidratação foram mantidos em um dessecador contendo sílica-gel até atingir a temperatura ambiente, sendo então pesados. O teor de água foi calculado pela diferença entre o peso inicial e o final das amostras (g) dividido pelo peso inicial da amostra (g) e expresso em porcentagem (AOAC, 1997).

3.6 Análises microbiológicas

O controle microbiológico foi realizado nas sete formulações do planejamento experimental estabelecido pela legislação para produtos de panificação segundo RDC nº 12 de 02 de Janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), que aprova o regulamento técnico sobre os padrões microbiológicos para alimentos. Foram determinados: Número mais provável de Coliforme Totais e Termotolerantes e *Salmonella* sp.

- Coliformes Totais e Termotolerantes: O número mais provável foi quantificado a partir da metodologia descrita pela American Public Health Association (APHA, 2001). A amostra foi preparada diluindo-se 25 g da amostra em 225 mL de água peptonada (10^{-1}) e seguintes diluições (10^{-2} , 10^{-3}). O teste presuntivo foi realizado em tubos com caldo LST- Lauril Sulfato Triptose incubados a 35 °C por 24-48 h. Em cada tubo com presença de gás foi transferida uma alçada para a realização do teste confirmativo em tubos contendo caldo E.coli-EC (Coliformes Termotolerantes) incubados em banho-maria a 45,5 °C por 24 h e em tubos caldo Verde Brilhante – VB (Coliformes Totais) incubados em estufa a 35 °C por 24-48 h. Os resultados foram expressos em Número Mais Provável por grama (NMP.g⁻¹) a partir da tabela de referência.

- **Salmonella sp:** A pesquisa de Salmonella foi realizada pelo método do *Food and Drug Administration* (FDA, 2011) que consiste inicialmente no pré-enriquecimento da amostra utilizando-se caldo lactosado a 35 °C por 24 h, seguido por etapa de enriquecimento seletivo com caldo Tetrionato e caldo Selenito Cistina. A próxima etapa foi inocular em Ágar Bismuto Sulfito e Ágar Xilose Lisina Desoxicolato. As colônias típicas foram isoladas e submetidas a testes bioquímicos confirmatórios.

3.7 Análise sensorial

O teste de aceitação foi realizado utilizando-se uma ficha de avaliação (Apêndice 2) por meio de escala hedônica de nove pontos (9 = gostei muitíssimo, 5 = não gostei nem desgostei e 1 = desgostei muitíssimo), para os atributos aparência, cor do miolo, aroma, sabor, maciez e impressão global. Para complementar os resultados de aceitação dos pães de forma sem glúten, foi questionada a intenção de compra em relação a cada amostra, por meio da escala de 5 pontos (5 = certamente compraria, 3 = talvez comprasse, talvez não comprasse, 1 = certamente não compraria). Também foi realizado um teste de preferência global no qual os julgadores teriam que informar qual foi a amostra que ele preferiu.

Os consumidores foram recrutados com a divulgação feita por convites em forma de cartazes e murais *online*, para toda a comunidade da UFCG. O teste de aceitação foi realizado com 60 consumidores de pão de forma, entre alunos de graduação, pós-graduação, funcionários e professores da UFCG não treinados e com idade superior a 18 anos.

As amostras foram servidas aos julgadores em cabines individuais do Laboratório de Análise Sensorial, avaliados sob luz branca e temperatura ambiente permitindo, desta forma, conforto e individualidade aos julgadores. A apresentação das amostras foi feita em copinhos plásticos brancos descartáveis contendo $\frac{1}{4}$ da fatia de cada amostra e codificados aleatoriamente com algarismos de três dígitos, acompanhados de água a temperatura ambiente e biscoito água e sal para limpeza do palato entre as amostras. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos balanceados (Figura 9).



Figura 9: Forma de distribuição das amostras de pão de forma sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina) para avaliação sensorial.

Os pães foram considerados aceitos quando tiveram médias \geq a 6,0, equivalente ao termo hedônico “gostei ligeiramente”.

O teste foi realizado com prévia aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos (CAAE –54102116.6.0000.5182), para atender às exigências éticas e científicas dispostas na Resolução 466/ 2012 do Conselho Nacional de Saúde (CNS, 2012) (ANEXO A). Os julgadores estavam cientes dos objetivos da pesquisa, segundo o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE 1).

Para o cálculo de Índice de Aceitabilidade do produto (IA), foi utilizada a equação 9

$$IA(\%) = \frac{A}{B} \times 100 \quad (9)$$

Em que:

A= nota média obtida para o produto

B= nota máxima dada ao produto.

O IA com boa repercussão tem sido considerado \geq 70% (DUTCOSKY, 2013).

3.8 Armazenamento

Após a produção e assamento dos pães as amostras foram acondicionadas em embalagens de polietileno e mantidas em temperatura de congelamento de $-18 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3,0 \text{ }^\circ\text{C}$. Os parâmetros de qualidade desses produtos foram acompanhados pelas análises de firmeza, teor de água, volume específico, pH, acidez e cor. As metodologias utilizadas para determinação

desses parâmetros foram as mesmas utilizadas para avaliar os pães produzidos mediante planejamento experimental (item 3.5). O monitoramento dos parâmetros de qualidade foi realizado durante 12 semanas de armazenamento, sendo avaliados periodicamente (01, 05, 15, 30, 60 e 90 dias). Para a realização das análises as amostras foram descongeladas em forno elétrico a 220 °C, por 20 minutos.

3.9 Análise estatística dos resultados

Os resultados da caracterização da farinha de arroz vermelho foram avaliados por meio do desvio-padrão e análise de variância entre as repetições. Aplicou-se um delineamento inteiramente casualizado (DIC), para análise comparativa das médias pelo Teste de Tukey nível de 5% de probabilidade, através do software Assistat, versão 7.7 (SILVA; AZEVEDO, 2016).

Os dados obtidos no planejamento experimental foram analisados segundo a metodologia de superfície de resposta utilizando-se o programa Statistica 5.0 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA); em seguida foi realizada a análise de variância do modelo (ANOVA). A partir da equação de regressão obtida foram plotadas as superfícies de resposta para obtenção dos pontos ótimos do experimento.

Os resultados do teste de aceitação e intenção de compra foram comparados por meio de análise de variância seguida do teste de Tukey e as diferenças foram consideradas significativas para valores de $p \leq 0,05$. A concordância entre os julgadores foi avaliada pela metodologia sugerida por Silva et al. (2011), através do programa computacional Consensor. As respostas sensoriais foram avaliadas pela metodologia da Análise de Componentes Principais (ACP). Também foram elaborados mapas de preferência interno para cada atributo sensorial; Para isto foi realizada a análise de agrupamento (“cluster analysis”) para as amostras seguida da análise de escala multidimensional. Essas análises foram realizadas no programa Statistica 5.0. Também foram realizadas análises através de histogramas de frequência e calculados os índices de aceitação e rejeição das notas atribuídas aos atributos da análise sensorial (STATSOFT, 2004).

Os dados experimentais de teor de água, pH, acidez, volume específico, firmeza e os parâmetros de cor: luminosidade (L^*), intensidade de amarelo ($+b^*$) e intensidade de vermelho ($+a^*$) dos pães sem glúten submetidos ao armazenamento sob congelamento a -18

°C por 90 dias, foram analisados estatisticamente através do software Assistat, versão 7.7. Foi utilizado um delineamento experimental fatorial, com dois fatores: 6 períodos de armazenamento (1, 5, 15, 30, 60 e 90 dias) e cinco formulações de pães com três repetições por tratamento. A comparação entre médias foi feita por meio do teste de Tukey a 5% de probabilidade.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização da farinha de arroz vermelho

4.1.1 Análise Granulométrica

A Tabela 7 contém os resultados da análise granulométrica da farinha de arroz vermelho. A característica granulométrica da matéria-prima processada constitui aspecto importante na formulação de produtos de panificação pois uma distribuição adequada de partículas permite maior uniformidade ao produto final.

Tabela 7: Análise granulométrica da farinha de arroz vermelho

Peneira (Mesh)	a_n médio (μm)	Massa retida* (g)	X_f (g. g^{-1} total)	$\ln a_n$	$\ln X_f$	$\ln (-\ln(1-X_f))$
9	1981	-	1	7,59	0,00	-
16	991	1,1	0,989	6,90	-0,01	1,51
32	495	38,0	0,609	6,20	-0,50	-0,06
60	248	38,5	0,224	5,51	-1,50	-1,37
80	175	11,2	0,112	5,16	-2,19	-2,13
100	147	9,7	0,015	4,99	-4,20	-4,19
200	74	1,4	0,001	4,30	-6,91	-6,91
Fundo	-	0,1	-	-	-	-

X_f – fração mássica que atravessou as peneiras; a_n – abertura da peneira.

*valor médio da triplicata

De acordo com a Tabela 7 as frações granulométricas da farinha de arroz vermelho que tiveram o maior quantitativo foram nas peneiras de 32 e 60 Mesh, com valores maiores que 38%. Observou-se que o menor quantitativo foi na peneira de 16 Mesh, correspondendo a 1,1% de partículas retidas. Outros autores, como Kim e Shim (2014) estudaram a influência do tamanho de partículas de farinha de arroz na produção de *cupcake* isento de glúten e encontraram um quantitativo de partículas maior que 40% na peneira de 200 Mesh. Clerice e El-Dash (2008b) trabalharam com farinha de arroz apresentando 63% de tamanho entre 60 e 80 mesh e 37% acima de 100 mesh.

Baiocchi (2011) estudou o aproveitamento do subproduto de arroz para a indústria de panificação e encontrou, na análise granulométrica, uma média de partículas retidas de 10,9 e 53,0% para as peneiras de 32 e 60 mesh, respectivamente. Em estudo realizado por De la Hera et al. (2013) foi sugerido que o tamanho de partícula poderia influenciar muito o

desenvolvimento de massa de pão sem glúten, durante a fermentação e nas características finais do pão. Em particular, as farinhas grossas são mais adequadas para fazer o pão sem glúten pois essas partículas não podem ser facilmente desagregadas durante o processo de mistura. Como resultado, eles teriam maior disponibilidade de massa para reter gás durante a fermentação, o que poderia, por sua vez, levar a um volume maior de pão.

Ainda analisando a Tabela 7, percebe-se que a farinha de arroz vermelho produzida apresentou granulometria apropriada para diversos produtos: pães, bolos, biscoitos e massas, variando ao tamanho de partículas entre 248 e 991 μm (0,248 mm e 0,991 mm). A capacidade da farinha em absorver água está relacionada com a distribuição do tamanho das partículas sendo que as partículas menores da farinha absorvem mais água e mais rapidamente que as partículas maiores. A uniformidade na granulometria é mais importante que o próprio tamanho das partículas, sendo um aspecto relevante na panificação pois favorece distribuição melhor da água pela massa, reduz o tempo de mistura e melhora algumas características sensoriais (aparência, sabor e textura) (HOSENEY, 2010).

A Figura 10 representa os gráficos gerados com os dois modelos de distribuição granulométrica testados Modelo de Gates-Gaudin-Schuhmann (GGS) e Modelo de Rosin-Rammler-Bennet (RRB). Na Tabela 8 se encontram os coeficientes de determinação e parâmetros dos modelos.

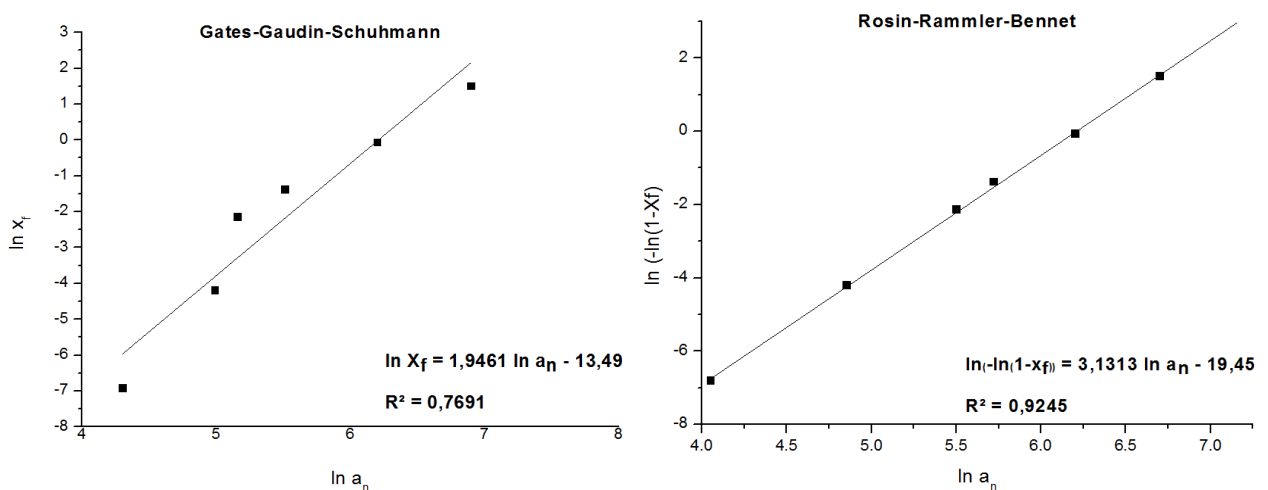


Figura 10: Modelos de distribuição granulométrica aplicados ao conjunto de partículas da farinha de arroz vermelho

Tabela 8: Coeficiente de determinação e parâmetros dos modelos

MODELO	R ²	I _{GGS}	K _{GGS} (µm)	I _{RRB}	K _{RRB} (µm)
GGS	0,7691	1,946	1022,5	-	-
RRB	0,9245	-	-	3,131	498

A regressão linear aplicada aos dados experimentais indicou um ajuste melhor ao modelo de Rosin-Rammler-Bennet (RRB) em comparação com o método de Gates-Gaudin-Schuhmann (GGS), com coeficiente de determinação de 0,9245. O modelo de RRB representou a distribuição do conjunto de partículas da farinha de arroz vermelho com diâmetro médio de partículas de 498 µm.

4.1.2 Microscopia eletrônica de varredura

Podem ser visualizadas, na Figura 11, as micrografias da farinha de arroz vermelho, obtidas com aumento de 150, 500, 1000 e 4000 vezes, respectivamente.

Uma composição heterogênea foi observada nas micrografias da farinha de arroz vermelho (Figura 11), apresentando estruturas irregulares com aspecto esponjoso e formas indefinidas. Embora algumas partículas tenham visualmente tamanhos próximos, quando é realizada a medição das partículas existe uma variação, pois estão em ampliações diferentes (Figura 11B e 11C). Pode-se identificar alguns grânulos de amido (indicados pelas setas) e também material não amiláceo, que estão aderidos entre si ou aos grânulos de amido (Figura 11D). Ainda é possível visualizar grandes diferenças estruturais entre os grãos das farinhas de arroz vermelho não podendo, assim, descrever uma geometria exata para essas partículas.

Tavares et al. (2012) avaliaram o comportamento morfológico da farinha de arroz crua e submetida a diferentes tipos de torração e também notaram um aspecto globuloso com superfícies cheias de buraco e presença de pequenas partículas que não podem ser diferenciadas entre os componentes da farinha de arroz.

Ferreira (2012) estudou as farinhas de grãos quebrados de arroz *in natura* (FA) e farinha modificada enzimaticamente e seca (FMS), com aumento nas visualizações de 80, 2000 e 4000 vezes e constatou que os grãos da farinha (FA) se apresentaram soltos, porém

com sua integridade preservada e os grãos da farinha (FMS) com aspecto de erosão e pela falta de uniformidade, que também pode ser observada nos grãos de farinhas analisadas.

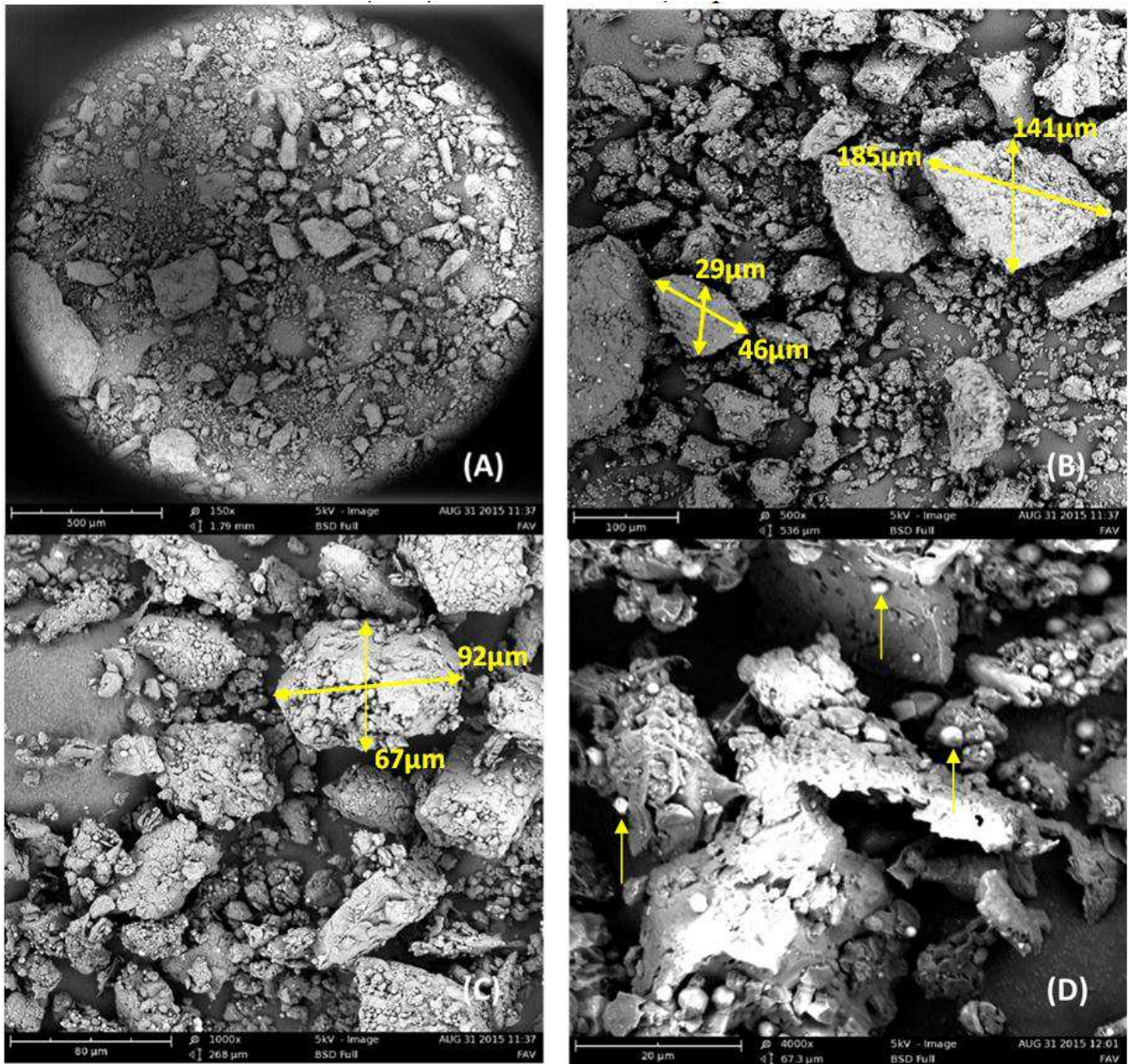


Figura 11: Micrografias da farinha de arroz vermelho com aumento de 150 (A), 500 (B), 1000 (C) e 4000 (D) vezes

4.1.3 Propriedades reológicas da pasta (farinha de arroz vermelho e polvilho doce)

A análise RVA (*Rapid Visco Analyser*) é uma ferramenta importante no estudo da viscosidade de cereais e produtos fonte de amido. Segundo Cozzolino et al. (2012) quando se

realiza esta análise a farinha é submetida a um ciclo de aquecimento e resfriamento que fornece as características reológicas de pasta da amostra em estudo. Os parâmetros de maior importância incluem temperatura de pasta, viscosidade máxima ou pico (*peak*), viscosidade mínima em temperatura constante (*trough*), quebra (*breakdown*), viscosidade final e tendência à retrogradação (*setback*). Na Tabela 9 se encontra o perfil do comportamento das farinhas de arroz vermelho (FA) e de polvilho doce (PD), tal como das mesclas de ambas.

Tabela 9: Propriedades da pasta do mix de farinha de arroz vermelho e polvilho doce

Amostras	Temperatura de pasta (°C)	Tempo de pico (min)	Viscosidade (RVU)				Tendência à retrogradação
			Pico	Mínima	Quebra	Final	
F1	83,13 ^a	4,95 ^a	248,25 ^c	217,03 ^{ab}	32,22 ^d	590,45 ^a	373,42 ^a
F2	75,33 ^b	5,89 ^a	295,92 ^b	231,97 ^a	83,67 ^c	469,39 ^b	237,41 ^b
F3	72,10 ^c	5,18 ^a	289,08 ^b	205,42 ^{bc}	63,95 ^b	338,30 ^c	132,89 ^c
F4	70,07 ^d	3,95 ^a	575,50 ^a	196,11 ^c	379,39 ^a	276,22 ^d	80,11 ^d

F1=100% farinha de arroz vermelho; F2= 50% farinha de arroz vermelho e 50% polvilho doce; F3= 75% farinha de arroz vermelho e 25% polvilho doce; F4= 100% polvilho doce.

RVU= Unidades rápido viscoamilográficas

Médias acompanhadas pela mesma letra, na mesma coluna, não apresentam diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo Teste de Tukey.

O perfil viscoamilográfico expressa o comportamento do material farináceo mediante variações de temperatura e trabalho mecânico. Na fase inicial de aquecimento é registrado um aumento de viscosidade em que os grânulos começam a intumescer e moléculas de baixo peso molecular e amilose começam a ser lixiviadas do grânulo de amido. Após o pico de viscosidade ocorre uma queda em virtude ao rompimento e solubilização de parte dos grânulos, em relação ao aquecimento e à agitação mecânica. No resfriamento os polímeros começam a se reassociar e novamente aumenta a viscosidade representando à tendência a retrogradação (CHUNG; LIU; HOOVER, 2009).

Além de apontar a temperatura mínima para que uma amostra seja cozida, a temperatura da pasta indica o ponto no qual a viscosidade começa a aumentar durante o período de aquecimento (SINGH; SINGH; MacRITCHIE, 2011). Conforme a Tabela 9 pode-se observar que a pasta feita com 100% polvilho doce (F4) possui uma temperatura de pasta significativamente menor que as demais amostras (70,07 °C) ou seja, esta amostra aumenta a

sua viscosidade mais rápido que as demais, o que influenciou nas temperaturas mínimas das mesclas das farinhas. Bartz et al. (2012) encontraram, para o amido de arroz nativo, uma temperatura de 62,95 °C, Clerice e El-Dash (2008) 66 °C, enquanto que o valor encontrado neste estudo foi de 83,13 °C.

Depois de atingir a temperatura da pasta a temperatura aumenta e a viscosidade máxima ou de pico é atingida. A viscosidade máxima está relacionada com a capacidade de absorção de água pelo amido e frequentemente é relacionada com a qualidade final do produto. A diminuição no pico de viscosidade tem sido associada com menor grau de intumescimento dos grânulos de amido e também ao menor teor de amido (GARIMELLA-PURNA et al., 2015).

Jeong, Kang e Shin (2013) mostraram que a viscosidade final indica a capacidade da farinha de formar uma pasta viscosa após cozimento e resfriamento. Foi encontrado, para a farinha de arroz vermelho (F1) um valor elevado de viscosidade final (590,45 RVU) quando comparado com o polvilho doce (276,22 RVU) o que, provavelmente, pode ter ocorrido devido a uma reorganização das moléculas de amilose, amilopectina e proteínas, formando gel a frio firme durante o resfriamento.

O polvilho é uma espécie de farinha muito fina obtida através da decantação do caldo da mandioca e não contém glúten. O polvilho doce é a matéria sólida da decantação, seca e moída e tem sabor mais suave e adocicado. O amido de mandioca, em presença de ácidos orgânicos expostos aos raios ultravioleta do sol, se oxida e adquire propriedades de expansão. Além disso, a oxidação do amido promove alterações nas propriedades de pasta tais como a diminuição na quebra e na tendência à retrogradação (DIAS et al., 2011); com isto a viscosidade do polvilho doce (viscosidade final) e das misturas que contêm polvilho doce é menor, quando comparada com a farinha de arroz.

A retrogradação de amido é um processo no qual as cadeias amilose e amilopectina desagregadas numa pasta de amido gelatinizada se reassociam para formar estruturas mais ordenadas. Esta propriedade tem sido objeto de intensa pesquisa nos últimos 50 anos principalmente devido ao seu efeito prejudicial sobre as qualidades sensoriais e de armazenamento dos alimentos ricos em amido. As características do grânulo de amido, tais como o inchaço, desagregação e retrogradação determinam, em grande parte, a textura e a estabilidade dos alimentos amiláceos (WANG et al., 2015).

Com o valor de 80,11 RVU da tendência à retrogradação e 276,22 RVU para a viscosidade final do polvilho doce, existe uma tendência menor desses amidos de se reassociarem e de formar um produto final menos viscoso o que, para a aplicação em produtos de panificação, pode acarretar em uma textura mais macia. O polvilho doce tem baixa tendência à retrogradação quando comparado à farinha de arroz vermelho, comportamento este verificado em amidos oxidados.

Durante o período de manutenção em alta temperatura ocorre colapso na viscosidade que dá lugar a uma depressão na curva, a chamada quebra. Esta queda da viscosidade é causada pela ruptura dos grânulos intumescidos. Este parâmetro é associado à estabilidade ao aquecimento ou à facilidade de cozimento do amido (LEON et al., 2010); assim, diferenças observadas neste parâmetro revelam diferentes estabilidades dos grânulos de amido ao aquecimento. A farinha de arroz vermelho apresentou o menor valor de quebra entre as amostras (32,22 RVU), mostrando-se estável ao aquecimento enquanto que no polvilho doce se observou o maior valor de quebra (379,39 RVU) apresentando-se menos estável que a farinha de arroz vermelho em relação ao aquecimento, o que pode ser evidenciado pelo tempo de pico de 3,95 minutos, sendo o menor de todas as amostras. Nas mesclas das farinhas quanto maior o percentual de farinha de arroz vermelho menor foi o valor de quebra mostrando que a mesma melhorou a estabilidade das mesclas quando comparado com o polvilho doce.

4.1.4 Análises de difração de raios X e cristalinidade

A Tabela 10 contém os graus de cristalinidade calculados para o mix de farinha de arroz vermelho e polvilho doce. O grau de cristalinidade dos amidos é proporcional à sua composição, os amidos regulares são compostos de 70% a 80% por amilopectina e de 20 a 30% por amilose (LIMA; ANDRADE, 2010). Os graus de cristalinidade encontrados variaram de 20,88 a 25,33% e estão de acordo com a literatura, que diz que o grau de cristalinidade (X_c) para os amidos regulares deve estar compreendido entre 20% e 45% (VAN SOEST; VLIAGENTHART, 1997). Lima et al. (2012) estudaram o grau de cristalinidade de farinhas comerciais e encontraram valores compreendidos entre 26 e 36% para amido de milho e fécula de batata, respectivamente.

Tabela 10: Grau de cristalinidade calculado para o mix de farinha de arroz vermelho e polvilho doce

Amostras	Grau de cristalinidade (%) Xc
F1 (100% FA)	20,88 ^d
F2 (50% FA; 50% PD)	22,14 ^c
F3 (75% FA; 25% PD)	22,93 ^b
F4 (100% PD)	25,33 ^a

FA- Farinha de arroz vermelho; PD- Polvilho doce

*Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A análise por técnica de difração de raios X permite distinguir os três tipos de cristalinidade para os grânulos que, dependendo de sua forma e estrutura cristalina, são denominados A, B e C, apresentando picos de intensidade nos ângulos de difração 2θ (Tabela 11) (CEREDA, 2001; SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI, 2006). Há, ainda, um quarto tipo de cristalinidade, o tipo V, formado pela cristalização da amilose com lipídios (CORRADINI et al., 2005). Esses padrões de cristalinidade dependem, em parte, do comprimento das cadeias de amilopectina, da densidade de empacotamento dentro dos grânulos e da presença de água.

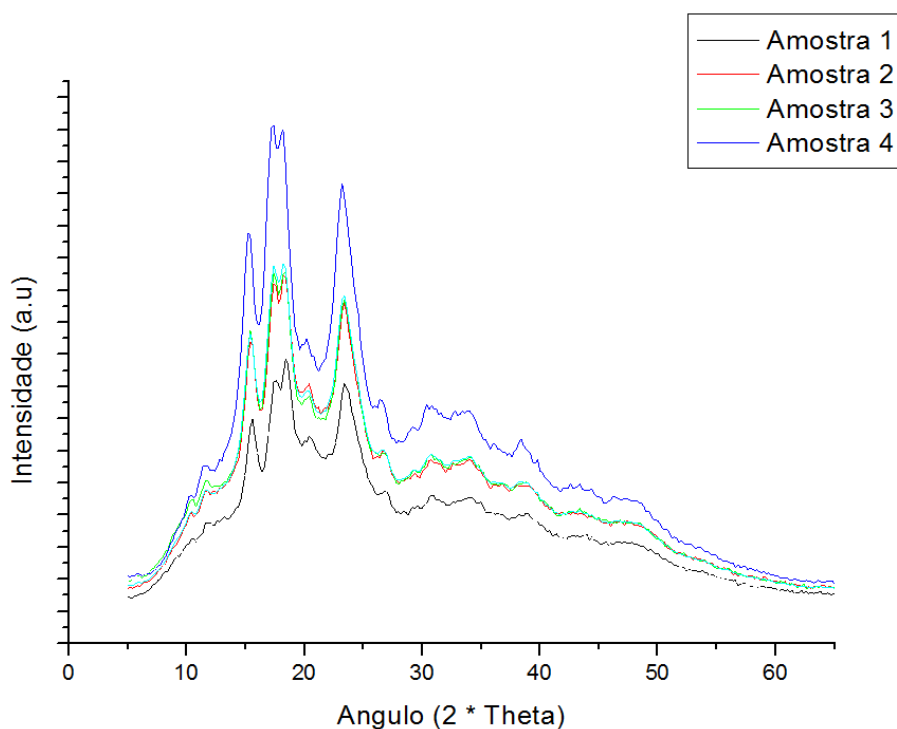
Tabela 11: Valores dos picos de intensidade no ângulo de difração 2θ para classificação da cristalinidade

Tipos de cristalinidade	Picos de intensidade no ângulo de difração 2θ
A	15,3°; 17,1°; 18,2° e 23,5°;
B	5,6°, 14,4°; 17,2°; 22,2° e 24°;
C	5,6°, 15,3°; 17,3° e 23,5°
V	12,6°, 13,2°, 19,4° e 20,6°

Fonte: CEREDA (2001); SAJILATA; SINGHAL; KULKARNI (2006).

Verifica-se, analisando a Figura 12, que a farinha de arroz vermelho (amostra 1) apresentou difratogramas de raios X referentes ao padrão de cristalinidade A. O mix da farinha de arroz vermelho e polvilho doce (Amostras 2 e 3) mostraram padrões de difração de

raios X muito semelhantes e apresentaram difratogramas de raios X com picos em 2θ referentes ao padrão de cristalinidade do tipo B. O polvilho doce (Amostra 4) apresentou difratogramas de raio x referentes ao padrão de cristalinidade B. Os resultados encontrados estão de acordo com os dados relatados por Van Soest e Vliegthart (1997), os quais afirmam que os amidos de cereais apresentam cristalinidade do tipo A, os amidos de tubérculos cristalinidade do tipo B e os amidos de raízes e sementes cristalinidade do tipo C. Lima et al. (2012) verificaram que farinhas de amido de milho e trigo apresentaram difratogramas de raios X com picos em 2θ referentes ao padrão de cristalinidade do tipo A; já as farinhas de fécula de batata e de farinha de banana apresentaram picos característicos de cristalinidade do tipo B.



Amostra1 – 100% FA; Amostra 2- 50% FA e 50% PD; Amostra 3- 75% FA e 25% PD; Amostra 4- 100% PD.
FA- farinha de arroz vermelho; PD- polvilho doce

Figura 12: Difratogramas de raios X do mix da farinha de arroz vermelho e polvilho doce

4.1.5 Caracterização térmica por calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As análises térmicas reúnem o conjunto de técnicas capazes de avaliar o comportamento térmico dos sistemas em condições programadas de temperatura (MOTHÉ, 2002). Abordou-se, neste trabalho, a técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC),

técnica muito útil no estudo do comportamento térmico de sistemas proteicos. Alguns exemplos de eventos térmicos desencadeados pela variação da temperatura são a decomposição, a cristalização, a transição vítrea e mudanças de pesos, entre outros. As análises de DSC são utilizadas para o estudo da transição vítrea, envelhecimento de materiais termoplásticos, grau e qualidade da cristalização, fenômenos calorimétricos em alimentos assim como desnaturação proteica (MATOS, 2012).

O DSC permite determinações quantitativas visto que a área dos picos está relacionada com a energia envolvida no processo. Os dados obtidos na análise do DSC foram: capacidade calorífica de materiais, variação da entalpia (ΔH) e temperatura dos eventos térmicos (Tabela 12).

Tabela 12: Valores obtidos na análise do DSC para o mix da farinha de arroz vermelho e polvilho doce

Amostras	T ₀ °C (gelatinização)	T _p °C (temperatura de pico endotérmico)	T _p – T ₀ °C	ΔH (J/g) (entalpia de gelatinização)
F1 (100% FA)	67,91 ^d	78,38 ^a	10,47 ^a	9,56 ^a
F2 (50% FA; 50% PD)	68,15 ^c	77,52 ^c	9,37 ^c	6,65 ^b
F3 (75% FA; 25% PD)	68,62 ^b	78,12 ^b	9,50 ^b	3,80 ^c
F4 (100% PD)	68,93 ^a	76,57 ^d	7,64 ^d	2,25 ^d

FA- Farinha de arroz vermelho; PD- Polvilho doce

*Letras iguais na mesma coluna não diferem estatisticamente entre si pelo Teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

A entalpia no processo de gelatinização é inversamente proporcional à quantidade de água adicionada. A farinha de arroz vermelho é mais estável termicamente que o polvilho doce, embora apresentem eventos térmicos semelhantes.

Alguns estudos foram realizados para a avaliação das temperaturas de desnaturação das proteínas da farinha de trigo e seus compostos. Para a glutenina as temperaturas obtidas nos estudos foram dois picos de 64,3 °C e 84,2 °C (LÉON; ROSSEL; BARBER, 2003).

Em seus estudos, Rodrigues, Teixeira e Didonet (2009) verificaram, em diferentes cultivares de trigo, a variação das temperaturas de desnaturação, das proteínas que formam o

glúten, por análises de DSC, neste mesmo estudo as temperaturas de desnaturação para a glutenina foram de 53,1 °C e 38,8 °C para os diferentes cultivares.

Nos estudos de Wang et al. (2014) foram correlacionadas as temperaturas de desnaturação das proteínas do trigo com o período de armazenamento dessas proteínas congeladas, sendo que não foram observadas grandes variações nas temperaturas dos eventos térmicos. Para as frações de gluteninas foram obtidos valores de temperaturas de 53,12 °C e após o armazenamento a temperatura de desnaturação variou para 54,7 °C; é possível que essas variações de temperatura podem ocorrer em razão dos diferentes cultivares e outros fatores, como armazenamento.

A temperatura de desnaturação das farinhas foi de aproximadamente 78 °C, demonstrando que o mix da farinha de arroz vermelho e o polvilho doce apresentaram maior resistência térmica quando comparado com estudos encontrados na literatura.

4.1.6 Análise de espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

A análise de espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR) é uma das ferramentas mais importantes e emergentes para analisar cereais e amidos para diferentes parâmetros tecnológicos. É um método rápido, sensível, não destrutivo e pode detectar uma gama de grupos funcionais e é sensível a mudanças na estrutura molecular. O FTIR fornece informações com base na composição química e no estado físico de toda a amostra

O amido é considerado o principal componente das farinhas de arroz vermelho e do polvilho doce e, como tal, espera-se que seja responsável pela maior parte das características do mix dessas farinhas.

O espectro de infravermelho do amido nativo apresenta bandas na região de 2900-3000 cm^{-1} (correspondentes ao estiramento C-H), em 1163, 1150, 1124 e 1103 cm^{-1} , que correspondem ao estiramento C-O e C-C com alguma contribuição do estiramento C-OH. As bandas em 1077, 1067, 1047, 1022, 994 e 928 cm^{-1} são atribuídas às deformações C-OH e CH₂. O grupo C-O-C (éter) presente em um anel de seis átomos (como no monômero de glicose) absorve em 1150-1085 cm^{-1} e dependendo de deformação axial (simétrica ou assimétrica) essas bandas irão se deslocar (SILVERSTEIN; BASSLER; MORRILL, 1991).

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho foi usada para a caracterização do mix das farinhas de arroz vermelho e polvilho doce. A Figura 13 contém,

para as quatro amostras, as bandas referentes a deformações moleculares existentes nas moléculas de amido a 3400 e 1650 cm^{-1} , atribuídas ao estiramento e à deformação angular de ligações -OH , referentes ao pico de teor de água. Além dessas bandas é possível observar a banda próxima a 2926 cm^{-1} , atribuída à deformação axial de ligações C-H (lipídios). As bandas na região 1200 a 1000 cm^{-1} são consideradas bandas características do amido e são atribuídas a vibrações de deformação axial de C-O em alcoois e à vibrações de deformação axial do sistema O-C-O , indicando que a variedade é rica em proteínas. O principal constituinte da farinha de arroz vermelho e do polvilho doce é o amido (carboidrato). Espectros das faixas de amido se originam principalmente da vibração de amilose e amilopectina porque esses são os principais componentes do amido. Os picos foram observados nas regiões abaixo de 800 cm^{-1} .

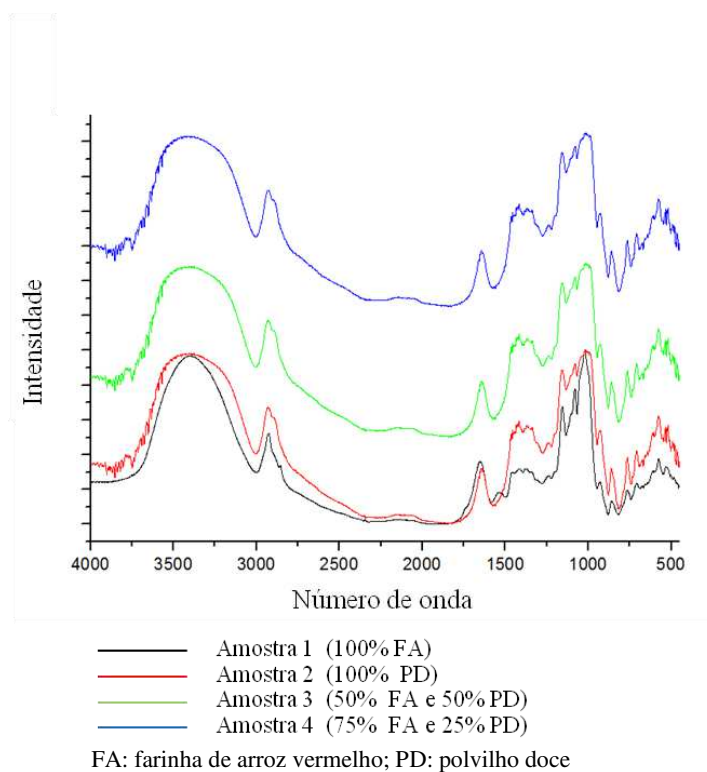


Figura 13: Espectros de absorção na região do infravermelho do mix das farinhas de arroz vermelho e polvilho doce.

4.1.7 Caracterização físico-química, física e composição mineral

Os resultados da caracterização físico-química, física e composição mineral da farinha de arroz vermelho se encontram na Tabela 13.

Tabela 13: Caracterização físico-química, física e composição mineral da farinha de arroz vermelho

Determinação	Valor médio ± desvio padrão
Teor de água (g 100g ⁻¹)	11,10 ± 0,01
Aa	0,56 ± 0,01
Cinzas (g 100g ⁻¹)	1,07 ± 0,05
Proteínas (g 100g ⁻¹)	8,00 ± 0,01
Lipídios (g 100g ⁻¹)	0,95 ± 0,02
Carboidratos (Amido) (g 100g ⁻¹)	76,30 ± 0,01
Fibras (g 100g ⁻¹)	8,80 ± 0,01
Açúcares totais (g 100g ⁻¹)	Traços
Açúcares redutores, em glicose (g 100g ⁻¹)	Traços
Açúcares redutores, em sacarose (g 100g ⁻¹)	Traços
Valor calórico (kcal 100g ⁻¹)	345,75±0,02
L*	74,96±0,05
a*	3,99±0,04
b*	11,48±0,07
Potássio (mg 100g ⁻¹)	465,24±0,10
Fósforo (mg 100g ⁻¹)	248,50±0,25
Cálcio (mg 100g ⁻¹)	68,97±0,17
Ferro (mg 100g ⁻¹)	9,95±0,12
Zinco (mg 100g ⁻¹)	24,44±0,19
Manganês (mg 100g ⁻¹)	5,24±0,14

Como a farinha de arroz vermelho é feita pela simples moagem dos grãos, sem qualquer processo químico envolvido, ela preserva as mesmas características nutricionais do arroz. A composição físico-química da farinha estudada mostra que se trata de um alimento basicamente amiláceo, possuindo valores consideráveis de carboidratos, proteínas e fibras, além de baixos valores de lipídeos e cinzas.

Na amostra da farinha de arroz vermelho o teor de água foi de 11,10 g 100g⁻¹, valor abaixo dos citados em literatura para o arroz polido cru, os quais variam entre 12,33 a 13,2 % e integrais crus, os quais variam entre 12,0 a 13,39% (TACO, 2011). Boêno (2008) encontrou valores para teor de água que variaram de 9,39 a 10,36 g 100g⁻¹ para amostras cruas de arroz vermelho. O manejo pós-colheita dos grãos pode interferir nesses resultados, especialmente se for considerada a condição climática e de armazenamento do grão no local de produção do arroz vermelho.

A Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005) ressalta como requisito específico, que as farinhas, amido de cereais e farelos devem apresentar teor de água máximo de 15% (g 100g⁻¹), o que permite dizer que a farinha de arroz vermelho analisada apresentou teor de água dentro do padrão exigido.

A atividade de água é um dos fatores mais importantes para a indústria de alimentos, pois quantifica a água disponível para o crescimento de microrganismos e as reações que podem alterar os alimentos, o que possibilita a previsão da estabilidade. Seu valor varia numericamente de 0 a 1 (CELESTINO, 2010). O valor da atividade de água da farinha de arroz vermelho foi 0,56. Resultado semelhante foi encontrado por Franco (2015), onde para farinha de arroz e farinha de batata doce encontrou valores de atividade de água de 0,58 e 0,42, respectivamente.

Os teores de proteína foram de 8,0 g 100g⁻¹ e foram semelhantes aos valores encontrados por Massaretto et al. (2011) em amostras de arroz vermelho (8,2 a 9,7 g 100g⁻¹). No trabalho publicado por Sompong et al. (2011), os teores de proteínas em nove variedades de arroz vermelho variaram de 7,2 a 10,4 g 100g⁻¹. Teores proteicos de 7,6 a 9,4 g 100g⁻¹ foram encontrados em 16 genótipos de arroz vermelho, sendo que onze deles foram cultivados na região sul e cinco na região nordeste do Brasil (WALTER et al., 2011).

Entre as variedades de arroz vermelho, também são encontradas diferenças expressivas em relação ao teor de proteína, que pode variar entre 5% e 13% em função das diferenças varietais (HEINEMANN et al., 2008).

Frank et al. (2012) atribuem ao arroz pigmentado preto e vermelho teores proteicos maiores quando comparados aos do arroz não pigmentado. Segundo este autor, a presença de maior teor proteico no arroz varia em relação ao tamanho e formato dos grãos. Este nutriente se encontra em maior concentração nas camadas mais externas do grão e o fato da proporção de farelo rico em proteínas ser maior nos grãos mais longos, em relação aos grãos médios, pode justificar a maior concentração proteica nos grãos longos. Sompong et al. (2011) não constataram tais diferenças.

O arroz possui baixo teor de lipídios sendo observado um teor lipídico de $0,95 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ nos grãos avaliados no presente trabalho (Tabela 13), estando acima da concentração determinada por outros autores para o arroz branco polido, que contêm diferentes valores médios em sua composição entre $0,30$ e $0,62 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ (ASCHIERI et al., 2006; BORGES et al., 2003). Storck, Silva e Comarella (2005), avaliando grãos integrais com pericarpo marrom-claro, obtiveram valores entre $1,2$ e $3,4 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$.

Em função dessas diferenças pode-se afirmar que o teor de lipídio do grão de arroz e, conseqüentemente, da sua farinha, depende principalmente da variedade e do tipo de beneficiamento ao qual o grão de arroz foi submetido, sendo que a maior ou menor intensidade da retirada do pericarpo, perisperma e camada de aleurona tende a influenciar os valores de lipídios apresentados nos mais diversos tipos de arroz comercializados (KONG et al., 2011).

O teor de fibra total foi de $8,8 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$. Da mesma forma que acontece para os lipídios, a maioria das fibras do grão de arroz é perdida no processo de polimento. Em termos de fibra alimentar total, a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2011) descreve valores de $1,6 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ e $4,8 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ para arroz polido e arroz integral, respectivamente. Em um estudo realizado com arroz integral branco, a média encontrada foi de $1,0$ a $3,1 \text{ g } 100 \text{ g}^{-1}$ (KAWASSAKI, 2011). Genótipos de arroz pigmentado, provenientes da Tailândia, SriLanka e China, tiveram teores de fibra entre $2,5$ e $4,5 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ nos grãos de pericarpo vermelho e entre $3,4$ e $4,1 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ nos grãos de pericarpo preto (SOMPONG et al., 2011).

O arroz, assim como outros cereais, é rico em carboidratos, sobretudo amido sendo, por isso, utilizado como fonte de energia na alimentação. O teor de carboidrato disponível (amido) foi de $76,03 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$. Segundo as tabelas de composição centesimal brasileiras o arroz integral não pigmentado apresenta teores que variam de $82,8$ a $83,8 \text{ g } 100\text{g}^{-1}$ de

carboidratos disponíveis (TACO, 2011; USP, 2008), que estão acima do valor encontrado neste estudo. Frei, Siddhuraju e Becker (2003) obtiveram teores entre 72 e 82% avaliando grãos integrais com pericarpo marrom-claro. Esses dados indicam que fatores genéticos, além dos ambientais, influenciam a concentração de carboidratos no grão. O processamento também influencia o percentual de amido sendo este maior no arroz branco polido (87,58%) e no parboilizado polido (85,08%) comparado ao integral (74,12%) (STORCK; SILVA; COMARELLA, 2005).

Ainda na Tabela 13 observa-se que o valor para o teor de cinzas foi de 1,07 g 100g⁻¹. Variações maiores foram encontradas em dezesseis amostras de arroz-vermelho (1,1-2,1 g 100g⁻¹). No mesmo estudo uma amostra de arroz preto e uma de arroz integral não pigmentado apresentaram o mesmo teor de cinzas (1,8 g 100g⁻¹) (WALTER et al., 2011). No arroz integral branco os teores variam entre 1,4 a 1,5 g 100g⁻¹ (KAWASSAKI, 2011; TACO, 2011, USP, 2008).

Severo, Moraes e Augusto-Ruiz (2010) encontraram em seu estudo, os seguintes valores para a composição centesimal de farinha de arroz vermelho de 7,34% de proteína, 0,6% de lipídios e 0,69% de cinzas; já Clerice e El-Dash (2008) obtiveram os valores de proteína 7,56%, lipídeos 0,32% e cinzas 0,27%; neste trabalho os valores obtidos para proteína, lipídeos e cinzas foram maiores.

Os valores do componente L* representam a luminosidade ou brilho das amostras e esses valores variam de zero (preto) a cem (branco). Ainda observando a Tabela 14 constata-se o alto valor para luminosidade da farinha de arroz vermelho (76,99), como pode ser observado na Figura 14. A análise dos resultados permite dizer que para a farinha de arroz vermelho são positivos os valores de a* (vermelho) e de b* (amarelo).



Figura 14: Farinha de arroz vermelho utilizada na pesquisa

Alguns pesquisadores observaram maior conteúdo de matéria mineral em grãos de arroz com pericarpo vermelho e preto, comparado àqueles com pericarpo marrom-claro (ZHANG et al., 2004; MENG; WEI; YANG 2005). Apesar da grande variação observada para o teor de matéria mineral, este não é um bom preditor do valor nutricional pois não revela a quantidade de cada mineral isoladamente. Portanto, foram avaliados os teores de potássio, fósforo, cálcio, ferro, manganês e zinco (Tabela 13).

Os principais minerais encontrados foram fósforo, potássio, cálcio (macrominerais) e ferro, zinco e manganês (microminerais). Entre esses, merecem destaque o ferro e o zinco, pelo papel relevante que desempenham na nutrição e saúde dos indivíduos. Como no caso das proteínas e das vitaminas do complexo B as concentrações de ferro e zinco do arroz podem oscilar bastante conforme a variedade do grão (PASCUAL, 2010).

A concentração de minerais difere nas frações do grão, enquanto no arroz com casca o silício é componente dominante, no arroz integral e polido destacam-se fósforo, potássio e cálcio. Ferro e zinco, dois minerais essenciais para a saúde humana, estão disponíveis em baixas concentrações no grão. O genótipo também afeta, de forma expressiva, o conteúdo de minerais e estudos têm demonstrado maior concentração de alguns minerais em grãos de arroz com pericarpo vermelho e preto (ITANI et al., 2002; MENG; WEI; YANG, 2005).

As diferenças varietais, condições de cultivo (clima, solo, local), além do grau de polimento dos grãos podem afetar a quantidade de minerais no arroz analisado. De forma geral, os minerais se apresentam em maior concentração nas camadas externas do grão, com

aproximadamente 72% no farelo e 28% no grão polido. Entretanto, alguns minerais apresentam distribuição mais uniforme, como o fósforo, permanecendo no arroz branco polido e no arroz integral (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008).

O mineral encontrado em maior quantidade foi o potássio, com média de 465,24 mg 100g⁻¹. Boênio (2008), encontrou valores de 267,07 e 252,81 mg 100g⁻¹ para teor de potássio de diferentes genótipos de arroz vermelho.

Neste estudo foi encontrado o valor de 68,97 mg 100g⁻¹ para o teor de cálcio na farinha de arroz vermelho. O resultado encontrado é maior que os resultados encontrados por Meng, Wei e Yang (2005) em arroz vermelho (40,58 mg 100g⁻¹). Chan et al. (2007), encontraram valores para o teor de cálcio de 12,7 mg 100g⁻¹ para o arroz branco polido.

Em relação à quantidade de ferro e zinco, foi encontrado um valor médio de 9,95 mg 100g⁻¹ e 24,44 mg 100g⁻¹, respectivamente.

No estudo de Pereira et al. (2009), os valores médios para o ferro e o zinco foram, respectivamente, 5,12 mg 100g⁻¹ e 16,66 mg 100g⁻¹ para o arroz branco; já as variedades de arroz vermelho apresentaram, em média, 9,68 mg 100g⁻¹ de ferro, ou seja, quase o dobro dos teores de ferro do arroz branco (5,12 mg 100g⁻¹). Fato semelhante se verificou em relação ao elemento zinco, de vez que o grupo de variedades de arroz vermelho (23,24 mg 100g⁻¹) se destacou das variedades de arroz branco, indicando que o arroz vermelho pode representar excelente alternativa para o combate à subnutrição, em especial junto às populações carentes que têm no arroz, o produto básico da sua dieta alimentar.

É oportuno ressaltar a redução dos teores de ferro e de zinco nos grãos principalmente do elemento ferro, com o processo de polimento do arroz. Como observado por Bassinello et al. (2008), os resultados sugerem que o mineral ferro, por se localizar nas camadas externas do grão do arroz, sofre maior efeito do polimento do que o zinco já que este se encontra mais no interior do grão.

Itani et al. (2002) analisaram ferro, manganês, cobre e zinco nos grãos de arroz polido de 285 cultivares provenientes da China e desta população, as cultivares de arroz vermelho mostraram ser mais ricas em zinco do que em cultivares de arroz branco. Resultados similares também foram encontrados no projeto de biofortificação da Embrapa (BORGES et al., 2007), onde teores de ferro e zinco de 31 acessos de arroz vermelho integral e semi-polido foram quantificados e os resultados mostraram que o arroz vermelho se destaca em relação às variedades de arroz branco mais consumidas pela população.

4.2 Planejamento experimental e análise dos resultados

De acordo com o planejamento experimental, a Tabela 14 ilustra os resultados das variáveis dependentes: cor (L^* , $+a^*$ e $+b^*$), teor de água, pH, acidez e volume específico, para os pães de forma formulados com farinha de arroz vermelho, polvilho doce, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina). Para os atributos teor de água e cor (L^* , a^* e b^*), não foi possível estabelecer modelos significativos, ou seja, os dados experimentais não se ajustaram ao modelo (1ª ordem); este resultado indica que, apesar das variações nas concentrações da enzima e o tempo de fermentação, essas não influenciaram nas características descritas, obtendo-se um produto uniforme para os tratamentos estudados.

Tabela 14: Resultados das variáveis dependentes do planejamento experimental para formulação dos pães sem glúten

Exp	Mtgase (%)	TF (min)	Teor de água (%)	Cor			pH	Acidez ($\text{g } 100\text{g}^{-1}$)	Volume específico ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$)
				L^*	$+a^*$	$+b^*$			
1	0,5	60	26,86±0,49	62,03±0,06	7,43±0,02	16,09±0,21	6,69±0,11	3,21±0,23	2,58±0,62
2	1,5	60	28,64±0,55	60,76±0,18	7,42±0,06	15,74±0,33	6,12±0,06	3,63±0,07	3,18±0,08
3	0,5	100	27,28±0,09	59,19±0,09	6,83±0,17	14,11±0,45	5,76±0,03	4,26±0,21	3,06±0,29
4	1,5	100	27,98±1,53	58,95±0,01	7,55±0,05	15,07±0,08	5,77±0,00	4,27±0,12	3,18±0,36
5	1,0	80	29,03±0,62	61,63±2,46	7,07±0,83	18,47±0,98	5,44±0,01	4,03±0,76	3,66±0,20
6	1,0	80	31,89±0,67	60,29±0,45	8,42±0,29	18,97±1,38	5,47±0,02	4,09±0,12	3,72±0,19
7	1,0	80	31,35±0,03	62,70±1,30	7,18±0,60	18,31±1,57	5,40±0,01	4,65±0,13	3,80±0,15

L^* (Luminosidade), a^* (intensidade de vermelho/verde) e b^* (intensidade de amarelo/azul) - Parâmetros de cor (CIELab).

* média da triplicata (\pm desvio padrão).

MTgase= enzima transglutaminase microbiana e TF= tempo de fermentação.

O teor de água é um parâmetro influente para avaliar a qualidade de pães sem glúten. O teor elevado de água em pães aumenta a atividade microbiana, deixa o produto grudento e borrachudo, alterando sua textura, sendo este um dos fatores responsáveis pela perda da qualidade do produto. Conforme mostrado na Tabela 14, o teor de água variou de 26,86% a 31,89%. A Resolução - RDC n. 90, de 18 de outubro de 2000 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece um limite máximo de 38% de água para pães preparados, exclusivamente com farinha de trigo comum e ou farinha de trigo especial (sêmola/semolina

de trigo) (BRASIL, 2000). Não há resolução alguma para teor de água em pães isentos de glúten.

A adição de MTGase e a elevação do seu nível aumentaram o teor de água dos pães. Mohammadi et al. (2015) relataram resultados similares. Esses autores encontram valores para teor de água em pães sem glúten com goma guar e enzima transglutaminase variando de 36,89% (controle) a 43,22% (goma guar + 10% de Tgase). Presume-se que a reticulação da glutamina e da lisina a MTGase pode aumentar a capacidade de retenção de água; por outro lado, o aumento da absorção de água pode ser devido à eliminação do grupo Glutamina (resultante da atividade da MTGase) e sua conversão em ácido glutâmico. O ácido glutâmico diminui a hidrofobicidade e aumenta a absorção de água.

Em geral, os valores de teor de água relatados para pães isentos de glúten obtidos a partir de formulações diferentes são bastante altos; por exemplo, o pão à base de arroz enriquecido com proteínas apresentou valores de 41,66 a 46,13% (SABANIS; LEBESI; TZIA, 2009).

Dentre os aspectos sensoriais de grande importância para o controle de qualidade a cor pode ser um dos fatores determinantes na aceitação do consumidor por um produto. O impacto visual é comumente utilizado como ferramenta para tornar o alimento mais atrativo, o que pode induzir o consumidor a assimilar um sabor correspondente (DUTKOSKY, 2013).

De acordo com Rolim et al. (2010), o parâmetro L^* está associado à luminosidade das amostras e pode variar de 0 a 100, sendo que os valores mais altos de L^* (próximos de 100) caracterizam as amostras mais claras e os menores valores de L^* (menores que 50) caracterizam amostras mais escuras. A coordenada cromática a^* está associada à dimensão verde-vermelho; valores positivos de a^* indicam amostras na região do vermelho e valores negativos de a^* indicam amostras na região do verde. A coordenada cromática b^* está associada à dimensão azul-amarelo; valores positivos de b^* indicam amostras na região do amarelo e valores negativos de b^* indicam amostras na região do azul.

A cor do pão é o resultado de reações químicas complexas entre proteínas e carboidratos durante o processo de assamento. Além disso, a própria formulação do pão pode alterar a cor do pão final. Pães sem glúten são geralmente identificados por ter cor mais clara do que pães de trigo em virtude de amidos e farinha de arroz (WRONKOWSKA; HAROS; SORAL-SMIETANA, 2013).

A análise de cor instrumental indicou que as amostras apresentaram valor para o parâmetro L^* acima de 50 ($L > 50$) variando de 58,95 a 62,70 caracterizando-se como amostras claras. Os experimentos que foram submetidos há um tempo maior de fermentação obtiveram menores valores de L^* , ou seja, indicando que essas amostras foram mais escuras. Gomez et al. (2003) ressaltam que a cor do miolo é afetada diretamente pelas características da farinha; assim, a cor original da farinha de arroz vermelho apresenta efeito sobre o escurecimento do pão.

Sabanis, Lebezi e Tzia (2009) obtiveram valores de L^* variando de 73,29 a 80,08, a^* variando de -2,36 a -0,55, e b^* variando de -0,22 a 12,72, no estudo da utilização de fibra de cereais em diferentes formulações de pães sem glúten.

Miñarro et al. (2010) avaliaram a influência de proteína unicelular sobre as características do pão sem glúten. Segundo os autores, os pães contendo proteínas unicelulares ficaram mais escuros que a mesma fórmula sem este ingrediente, devido à própria cor da proteína ($L^*=65$, $a^*=6$, e $b=21$). Matos e Rosell (2013); Cornejo e Rosell (2015) encontraram altos valores para L^* , variando de 62,24 a 81,50 e 72,0 a 74,0 respectivamente, em pão sem glúten à base de farinha de arroz.

Em relação aos parâmetros de cromaticidade (a^* e b^*) da crosta, verifica-se que todas as formulações se apresentaram nas regiões do vermelho e do amarelo que, em termos instrumentais da cor, são característicos de valores positivos para ambas as coordenadas.

O resultado para o parâmetro “a” pode ser explicado pela interferência da enzima no processo da Reação de Maillard, que contribui também para pigmentos de coloração escuro-avermelhados (ARAÚJO, 2008). Este aumento é explicado pela adição da farinha de arroz vermelho, tendendo a uma coloração mais escura pela presença de carotenoides e de compostos de coloração mais vermelho-amarelada.

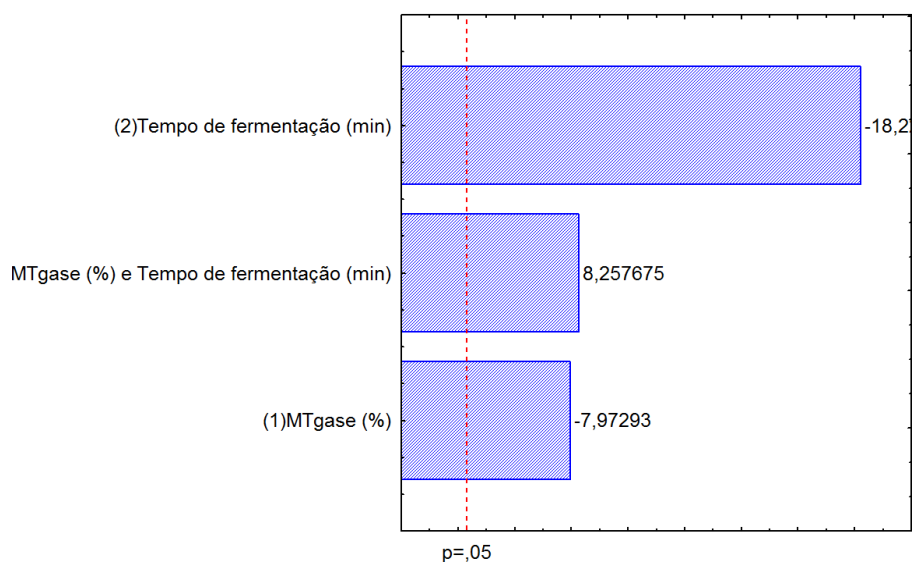
Os valores de b^* variaram de 14,11 a 18,97. A faixa positiva de valores de b^* está dentro dos relatados para pães comerciais mostrando matiz no eixo amarelo (MATOS; ROSELL, 2012). Cornejo e Rosell (2015) estudaram a influência de variedades de grãos longos de arroz em pães sem glúten e encontraram valores do parâmetro b^* variando de 18 a 21.

Segundo Sciarini et al. (2010) que realizaram um estudo sobre avaliação das características tecnológicas de pães com adição de melhoradores, dentre os hidrocoloides analisados apenas a adição de goma carragena e goma xantana não diferiram

significativamente no parâmetro “b” da casca dos pães analisados, em que a adição de carboximetil celulose, alginato e gelatina interferiu neste parâmetro.

Os valores médios encontrados para os parâmetros a* e b* no presente estudo são semelhantes aos encontrados para outros pães sem glúten contendo pseudocereais (trigo sarraceno, amaranto, quinoa, arroz) publicados na literatura, os quais foram caracterizados pelo amarelecimento do miolo (ALENCAR et al., 2015; WRONKOWSKA; HAROS; SORAL-SMIETANA, 2013).

Na Figura 15 se encontra o gráfico de Pareto para a variável pH com nível de 95% de confiança para a estimativa dos efeitos.



Efeito padronizado estimado (valor absoluto)

Figura 15: Diagrama de Pareto para a variável resposta pH

Analisando os efeitos principais das variáveis tempo de fermentação (min) e teor de enzima MTgase sobre a variável pH da Figura 15, percebe-se que a variável que mais influenciou foi o tempo de fermentação sendo cerca de aproximadamente 3 vezes a influência que o teor de enzima, sendo um efeito inversamente proporcional (sinal negativo), ou seja, quanto maior o tempo de fermentação menor o pH dos pães, devido ao maior tempo de atuação da levedura sobre o pão, deixando-o com um teor maior de acidez.

Foi constatado, após análise dos resultados, que os coeficientes do modelo enzima MTgase (X1), tempo de fermentação (X2), a interação entre a enzima MTgase e o tempo de

fermentação (X1X2) e a média, foram estatisticamente significativas para o nível de 95% de confiança. O modelo codificado (Resposta = $\beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_1x_2$) está representado na Equação 10, com os coeficientes estatisticamente significativos em negrito.

$$\text{pH} = \mathbf{6,085} - \mathbf{0,14MTgase} - \mathbf{0,32TF} + \mathbf{0,15MTgase.TF} \quad (10)$$

Os valores para a variável pH se ajustaram ao modelo de 1ª ordem. Os valores médios foram analisados obtendo a análise de variância (ANOVA) como mostrado na Tabela 15. Os valores médios de pH variaram de 5,40 a 6,69 (Tabela 14). Os valores de pH dos experimentos 5, 6 e 7 estão próximos ao valor considerado ótimo para pão, que é de 5,60, recomendado por Quaglia (1991).

Tabela 15: Análise de variância (ANOVA) para o modelo de 1ª ordem diante da variável resposta pH

Fontes de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	1,209	3	0,403	13,43
Resíduo	0,087	3	0,030	-
Falta de Ajuste	0,084	1	0,084	2,80
Erro Puro	0,002	2	0,001	-
Total	1,295	6	-	-
R ² (%)	0,9331	-	-	-
F _{tab 0,95,3,3}	-	-	-	9,28
F _{tab 0,95,1,2}	-	-	-	18,51

Como se pode observar na Tabela 15, o modelo apresentou regressão significativa em nível de 95% de confiança (F_{calculado} superior ao F_{tabelado}) com R² igual a 0,9331, evidenciando que o modelo explicou 93,31% da variação dos dados experimentais. A razão entre F calculado e F tabelado foi 1,45. Segundo Barros Neto et al. (2003) para que o modelo tenha validade estatística de acordo com o Teste F, o valor da razão F calculado em relação a F tabelado deve ser acima de 1,0. A falta de ajuste não foi significativa (F_{calculado} menor que o F_{tabelado}), e isso mostra que o modelo se ajustou aos dados experimentais.

De acordo com a Figura 16 uma baixa dispersão observada implica em um bom ajuste ao modelo estatístico.

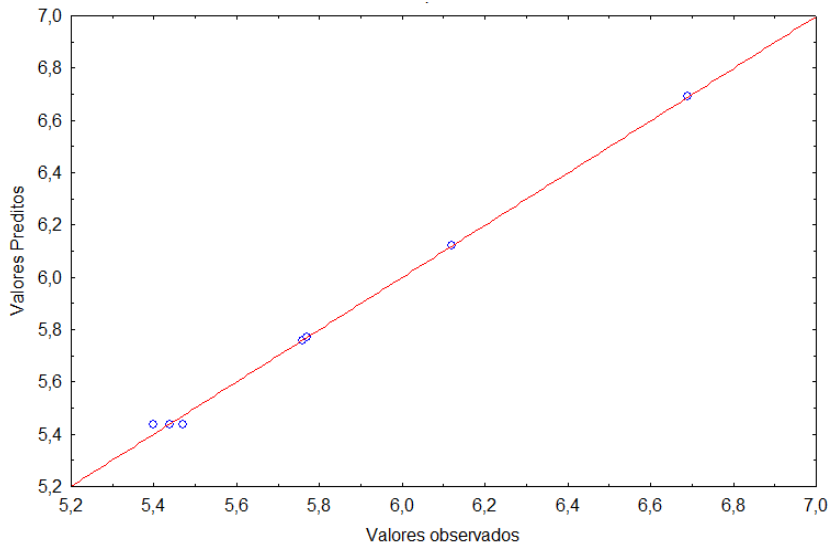


Figura 16: Gráfico dos valores observados e preditos para a variável pH

A Figura 17 representa o gráfico da superfície de resposta gerada com base na variável dependente (variável resposta) pH.

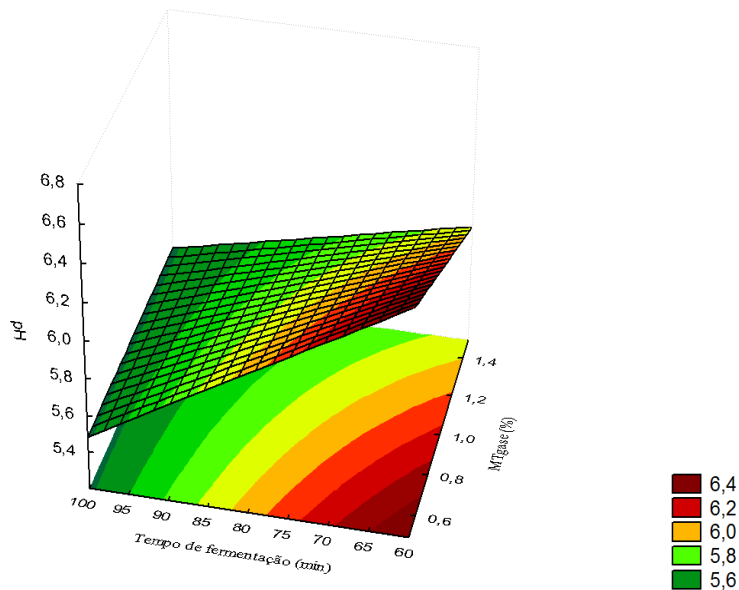


Figura 17: Superfície de resposta para a variável resposta pH

A fermentação é essencial para alcançar o objetivo de tamanho, sabor, textura do pão. Além disso, o fermento ajuda no amadurecimento da massa, através de uma reação química que produz o álcool e o ácido na proteína da farinha, facilitado pela produção de dióxido de

carbono. O sabor típico do pão se desenvolve devido ao fermento. Durante o processo de fermentação o fermento produz vários metabólitos, alguns dos quais escapam durante o processo de cozimento enquanto que outros ficam atrás da massa e formam novos compostos, resultando no desenvolvimento do sabor que esta camada permeia no miolo do pão.

Segundo Quaglia (1991), as condições ótimas para o desenvolvimento das leveduras durante a fermentação da massa fresca, são estabelecidas com valores de pH em torno de 5,0. Quando esta variável atinge valores acima de 6,0, a fermentação pode ficar prejudicada, favorecendo a produção excessiva de glicerina e ácido acético, além do álcool etílico. Como consequência, podem ocorrer problemas de qualidade sensorial nos pães, como sabor desagradável e volume reduzido, o que interfere diretamente na textura do produto.

Com a análise dos resultados de pH (Figura 17) foi possível evidenciar, para todas as formulações utilizadas, que o tempo de 80 minutos de fermentação foi suficiente para obtenção de valores próximos aos padrões.

A Figura 18 exibe o gráfico de Pareto para a variável acidez com nível de 95% de confiança para a estimativa dos efeitos.

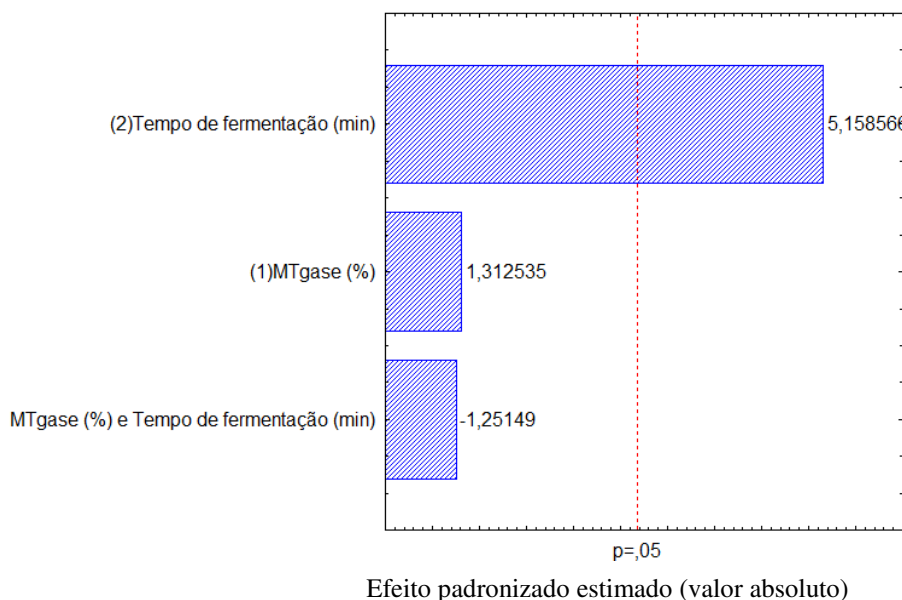


Figura 18: Diagrama de Pareto para a variável resposta acidez

Analisando os efeitos principais da variável tempo de fermentação (min) e teor de enzima MTgase sobre a variável acidez da Figura 18, percebe-se que a variável que mais

influenciou foi o tempo de fermentação, sendo um efeito diretamente proporcional (sinal positivo), ou seja, quanto maior o tempo de fermentação maior também a acidez dos pães.

Foi constatado, após análise dos resultados, que os coeficientes do modelo tempo de fermentação (X2), e a média foram estatisticamente significativas para o nível de 95% de confiança. O modelo codificado (Resposta = $\beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_1x_2$) está representado na Equação 11, com os coeficientes estatisticamente significativos em negrito.

$$\text{Acidez} = \mathbf{3,93} - 0,11\text{MTgase} + \mathbf{0,08\text{TF}} - 0,10\text{MTgase.TF} \quad (11)$$

Os valores para a variável acidez se ajustaram ao modelo de 1ª ordem. Os valores médios foram analisados obtendo a análise de variância (ANOVA) como mostrado na Tabela 16. Os valores médios de acidez dos pães variaram de 3,21-4,29 mL de NaOH 0,1 N.10g⁻¹ de pão (Tabela 14). Os pães apresentaram acidez satisfatória, estando próximo do observado (3,3 mL de NaOH 0,1 N.10g⁻¹ de pão) em pão adicionado somente de leveduras (BELZ et al., 2012).

Tabela 16: Análise de variância (ANOVA) para o modelo de 1ª ordem diante da variável resposta acidez

Fontes de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	0,802	3	0,267	9,97
Resíduo	0,080	3	0,023	-
Falta de Ajuste	0,078	1	0,078	3,39
Erro Puro	0,001	2	0,0005	-
Total	0,883	6	-	-
R ²	0,9088	-	-	-
F _{tab} _{0,95,3,3}	-	-	-	9,28
F _{tab} _{0,95,1,2}	-	-	-	18,51

Como se pode observar na Tabela 16, o modelo apresentou regressão significativa em nível de 95% de confiança (F_{calculado} superior ao F_{tabelado}) com R² igual a 0,9088, evidenciando que o modelo explicou 90,88% da variação dos dados experimentais. A falta de ajuste não foi significativa (F_{calculado} menor que o F_{tabelado}), mostrando que o modelo se ajustou aos dados experimentais.

De acordo com a Figura 19, uma baixa dispersão observada implica em um bom ajuste ao modelo estatístico.

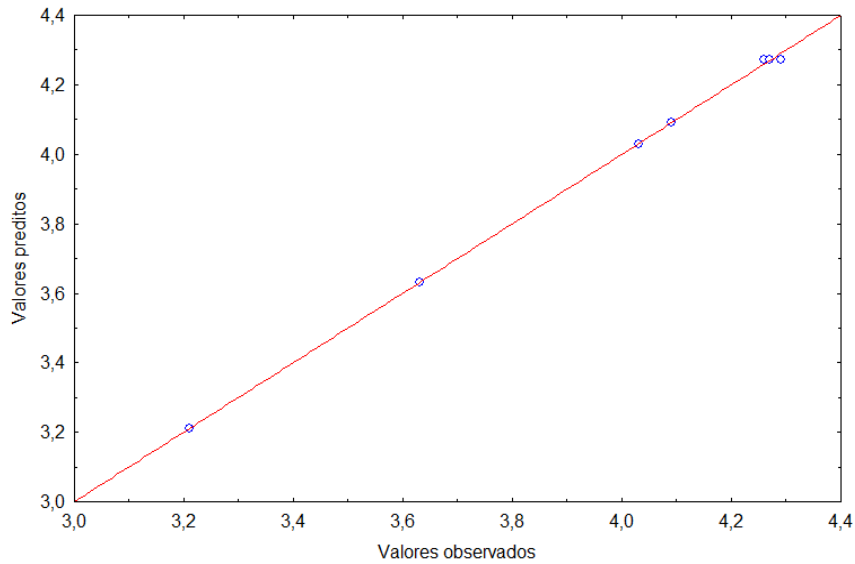


Figura 19: Gráfico dos valores observados e preditos para a variável acidez

A Figura 20 representa o gráfico da superfície de resposta gerada com base na variável dependente (variável resposta) acidez.

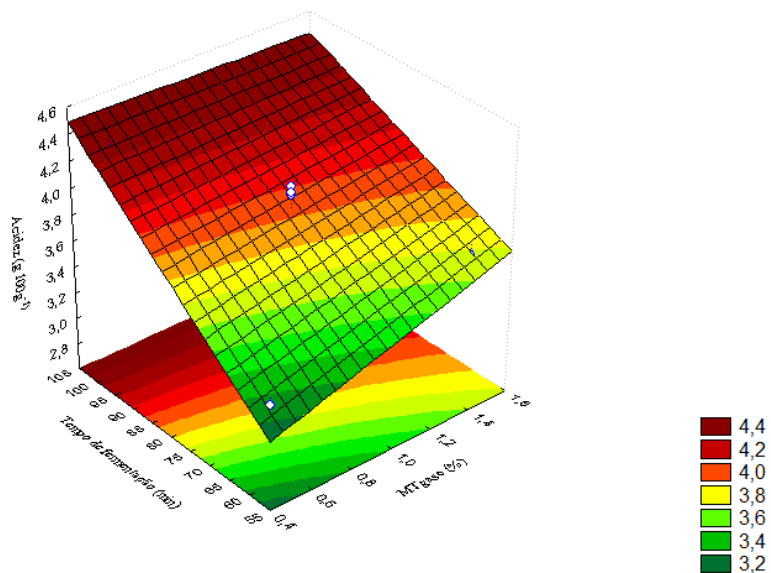


Figura 20: Superfície de resposta para a variável resposta acidez

Tem-se, analisando a superfície de resposta (Figura 20) que principalmente aumentando o tempo de fermentação, obtém-se maior acidez nos pães. O pH e a acidez do pão estão relacionados com os tipos e concentrações das culturas de microrganismos responsáveis pela fermentação, com o teor de Resíduo Mineral Fixo (RMF) da farinha, tempo e temperatura de fermentação, além da concentração de sal na massa (ROBERT et al., 2006).

A Figura 21 exibe o gráfico de Pareto para a variável volume específico com nível de 95% de confiança para a estimativa dos efeitos.

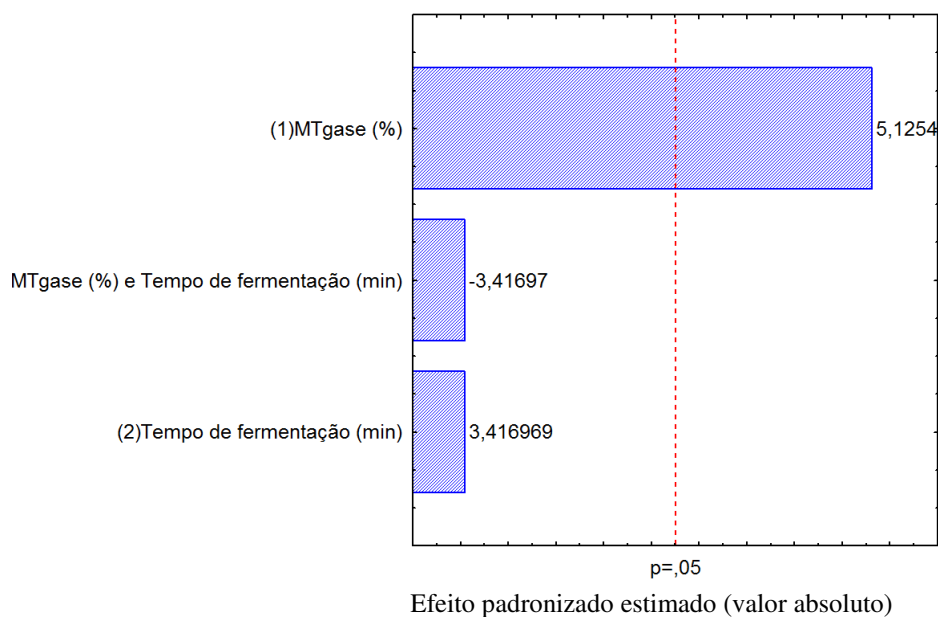


Figura 21: Diagrama de Pareto para a variável resposta volume específico

Analisando os efeitos principais das variáveis tempo de fermentação (min) e teor de enzima MTgase sobre a variável volume específico da Figura 21, percebe-se que a variável que mais influenciou foi o teor de enzima MTgase, sendo um efeito diretamente proporcional (sinal positivo), ou seja, quanto maior o teor de enzima maior também o volume específico dos pães.

Foi constatado, após análise dos resultados, que os coeficientes do modelo enzima MTgase (X_1) e a média foram estatisticamente significativos para o nível de 95% de confiança. O modelo codificado ($\text{Resposta} = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_1x_2$) está representado na Equação 12, com os coeficientes estatisticamente significativos em negrito.

$$\text{Volume específico: } 3,00 + 0,18\text{MTgase} + 0,12\text{TF} - 0,12\text{MTgase.TF} \quad (12)$$

Para a variável de resposta volume específico foi possível estabelecer modelos significativos. Os dados encontrados variaram de 2,58 a 3,80 cm³ g⁻¹ (Tabela 14). Este parâmetro é importante para a aceitação pelos consumidores, visto que os pães com maiores valores de volume específico são normalmente mais preferidos. A Análise de Variância (ANOVA) de regressão foi realizada e está disposta na Tabela 17.

Tabela 17: Análise de variância (ANOVA) para o modelo de 1ª ordem diante da variável resposta volume específico

Fontes de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	1,092	3	0,364	16,54
Resíduo	0,067	3	0,022	-
Falta de Ajuste	0,058	1	0,058	2,63
Erro Puro	0,010	2	0,005	-
Total	0,160	6	-	-
R ² (%)	0,9418	-	-	-
F _{tab 0,95,3,3}	-	-	-	9,28
F _{tab 0,95,1,2}	-	-	-	18,51

Como se observa na Tabela 17, o modelo apresentou regressão significativa em nível de 95% de confiança (F_{calculado} superior ao F_{tabelado}) com R² igual a 0,9418, evidenciando que o modelo explicou 94,18% da variação dos dados experimentais. A razão entre F calculado e F tabelado foi 1,78. A falta de ajuste não foi significativa (F_{calculado} menor que o F_{tabelado}) e isto mostra que o modelo se ajustou aos dados experimentais.

De acordo com a Figura 22, uma baixa dispersão observada implica em bom ajuste ao modelo estatístico.

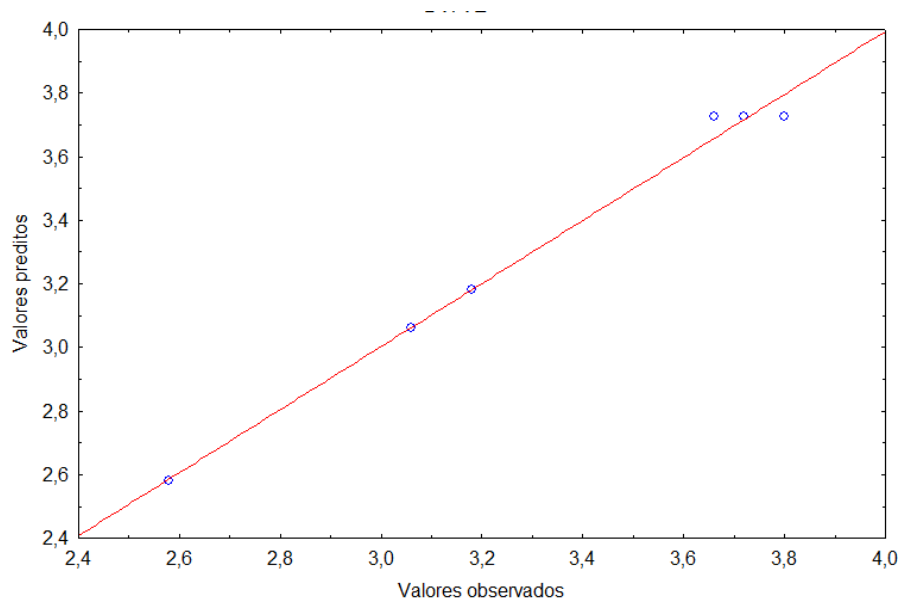


Figura 22: Gráfico dos valores observados e preditos para a variável volume específico

A Figura 23 representa o gráfico da superfície de resposta gerada com base na variável dependente (variável resposta) volume específico.

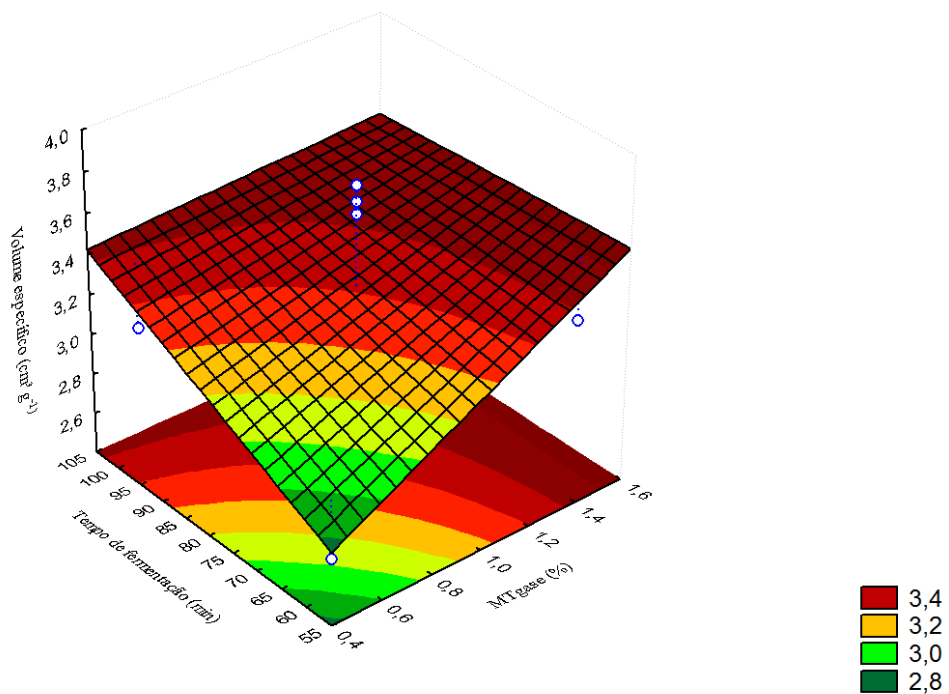


Figura 23: Superfície de resposta para a variável resposta volume específico

O volume específico de pães sem glúten pode variar bastante, dependendo do tipo de farinha, dos aditivos e do processo utilizado. Analisando a superfície de resposta (Figura 23), pode-se verificar que a adição da MTgase se mostrou positiva para essa resposta, fornecendo melhores resultados de volume específico quanto maior a adição de enzima, dentro da faixa estudada. Contudo, é oportuno lembrar que estudos anteriores indicaram que grandes quantidades de MTGase na formulação de pães dificultam seu crescimento, tornando a massa muito forte e assim ocasionando maior resistência (STORK et al., 2013; MOHAMMADI et al., 2015).

O volume específico mostra a relação entre o teor de sólidos e a fração de ar existente na massa assada. Pães com menor volume específico (embatumados) apresentam aspecto desagradável ao consumidor e estão associados ao alto teor de água, falhas no batimento e cocção, pouca aeração, difícil mastigação, sabor impróprio e baixa conservação (ESTELLER; LANNES, 2005).

Em experimento desenvolvido por Kittisuban, Ritthiruangdej e Suphantharika (2014), em que foi testada a adição de transglutaminase e HPMC (hidroxipropilmetilcelulose), foi encontrado que o volume específico de pães com 2% de HPMC aumentou 46,5% com a adição de 1% de transglutaminase, sendo este volume maior quando foram usados 4% de HPMC e sem a enzima, concluindo que a interação de HPMC e transglutaminase nesses níveis apresentam efeito sinérgico. Maiores níveis de transglutaminase (1,5%) resultaram em diminuição no volume específico dos pães. Renzetti, Bello e Arendt (2008) sugerem que a interação da transglutaminase com hidrocoloides poderia exercer maior influência no efeito geral na enzima.

Estudos realizados por Mohamadi et al. (2015) sobre a inserção de goma guar e transglutaminase na formulação de pães sem glúten demonstraram que, conforme houve um valor maior da adição de enzima (10%), menor foi o volume específico apresentado. A atividade da MTgase leva à ligação da glutamina e à lisina e inibe, assim, a expansão das células de gás durante o processo de fermentação resultando em pães com menor volume específico.

Segundo Onyango et al. (2010), a melhor concentração de uso da MTgase para pães com uso de farinha de arroz é 1% p/p. Onyango et al. (2011) comentam que para farinhas de amido de sorgo e fécula de mandioca a melhor concentração de MTgase se encontra na faixa

de 0,5%, salientando que o perfil proteico onde a enzima é adicionada influencia este parâmetro.

Estudo realizado com adição de farinha de “okara” (resíduo do leite de soja) para substituição da farinha de trigo em pães de forma mostrou que a adição desta farinha reduziu o volume específico dos pães (SILVA et al., 2009). Os autores relataram que os pães apresentaram valores médios de 5,41, 4,96, 4,76 e 2,97 $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$ de volume específico, com a adição de 0, 5, 10 e 15% de farinha de “okara”, respectivamente.

Matos e Rosell (2014) avaliaram pães sem glúten comerciais e encontraram valores de volume específico que variaram de 1,54 a 4,79 $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$. Sabanis, Lebesi e Tzia (2009) avaliaram o enriquecimento de produtos assados sem glúten com diferentes fibras de cereais e encontraram valores variando entre 2,7 a 3,9 $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$.

Em seu estudo, Hager e Arendt (2013) objetivaram investigar a qualidade e a estrutura de pães produzidos a partir de diferentes farinhas comerciais isentas de glúten em comparação aos pães de trigo. Os pesquisadores relataram, ainda, que a utilização de trigo sarraceno, arroz, milho, quinoa, sorgo e teff resultaram em pães com qualidade inferior, apresentaram valores de volume específico entre 1,33 e 1,85 $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$. Tais valores foram explicados pela ausência de uma matriz protéica coesa, elasticidade e extensibilidade nas massas geradas por tais ingredientes.

Pongjaruvat et al. (2014) verificaram que a adição de amido de tapioca pré-gelatinizado e transglutaminase com farinha de arroz, em pães sem glúten, aumentou o volume específico do pão de 1,9 $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$ (pão padrão com farinha de arroz) para 2,4 $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$ (pão com amido de tapioca e transglutaminase).

Paciulli et al. (2016) encontraram valores para volumes específicos para pães sem glúten com farinha de castanha variando entre 2,6 a 3,1 $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$. Esses autores atribuíram os baixos volumes específicos devido ao valor elevado de fibras da farinha de castanha (17,2 %). Isso pode ser explicado, pois o teor de fibra poderia reduzir a expansão das células de gás também em produtos sem glúten. Além disso, o teor de açúcar relativamente elevado da farinha de castanha impedem ou reduzem a gelatinização do amido durante o forneamento, resultando em um baixo volume específico.

De acordo com o planejamento experimental, a Tabela 18 ilustra os resultados das variáveis dependentes: firmeza, elasticidade, mastigabilidade e coesividade, para os pães de forma formulados com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e

prebiótico (inulina). Para os atributos elasticidade e coesividade, não foi possível estabelecer modelos significativos, isto é, os dados experimentais não se ajustaram ao modelo (1ª ordem), este resultado indica que, apesar das variações nas concentrações da enzima e o tempo de fermentação, estas não influenciaram nas características descritas, obtendo-se um produto uniforme para os tratamentos estudados.

Tabela 18: Respostas dos parâmetros do perfil de textura do pão de forma sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina)

Exp	MTgase (%)	TF (min)	Elasticidade (mm)	Coesividade (adimensional)	Firmeza (N)	Mastigabilidade (J)
1	0,5	60	0,999±0,01	0,597±0,05	4,704±2,5	2,805±1,12
2	1,5	60	0,999±0,01	0,573±0,04	6,719±1,55	3,846±0,54
3	0,5	100	0,999±0,02	0,653±0,06	4,475±1,23	2,919±1,63
4	1,5	100	0,999±0,01	0,697±0,06	6,687±2,31	4,657±0,71
5	1,0	80	0,999±0,01	0,786±0,07	5,484±1,33	4,306±0,96
6	1,0	80	0,999±0,02	0,806±0,02	5,491±1,45	4,421±0,89
7	1,0	80	0,999±0,01	0,807±0,02	5,414±1,54	4,526±1,15

Para o pão de forma a textura se apresenta como importante indicador de frescor e qualidade para o consumidor, sendo fator imprescindível para a aceitabilidade do produto no mercado.

Os valores de elasticidade foram idênticos para todos os experimentos e por isso não foi possível gerar nenhum modelo matemático. Segundo Ulzijiargal et al. (2013), um pão padrão (com glúten) corresponde para valores de elasticidade em torno de 0,88 a 0,98 mm. Maior elasticidade pode representar características sensoriais mais aceitáveis ao consumidor dado que a textura é um quesito relevante na escolha de um produto (GULARTE, 2009).

Matos e Rosell (2014) encontraram valores de elasticidade que variaram de 0,77 a 0,94 mm quando estudaram o enriquecimento proteico de pães sem glúten à base de arroz. Baixo valor na elasticidade é indicativo de fragilidade, o que reflete a tendência do pão a

desmoronar quando é cortado; portanto, o pão de alta qualidade estará relacionado a altos valores de elasticidade.

Os valores de coesividade variaram de 0,573 a 0,807. De acordo com Jong e Koppelman (2002), a MTGase pode modificar parâmetros como coesividade, por formar novas redes de interação entre os resíduos proteicos.

A coesividade é um parâmetro essencial para se evitar o esfarelamento dos pães durante o fatiamento, embalagem, estocagem, manuseio, consumo (espalhamento de cremes e margarina nas fatias) e ingestão. Está associado às forças de coesão entre os componentes da massa e ao teor de água ligada, propiciando a formação de enlaces químicos que mantêm a estrutura proteína-amido estável (ESTELLER; LIMA; LANNES, 2006). No entanto, os pães de arroz se comportam de maneira diferente dos que contêm glúten, segundo estudos de Matos e Rosell (2014), porque esses produzem massas menos coesas (0,15), com textura mais líquida (STORCK et al., 2013).

Em produtos de farinha de trigo observaram-se maiores valores de coesividade que em pães com farinha de arroz, que resultam em produtos com menor coesividade (STORCK et al., 2013). Esteller e Lannes (2005) obtiveram valor de 0,67 de coesividade para pão de forma com farinha de trigo e Storck et al. (2013) encontraram valores de coesividade que variaram entre 0,11 a 0,17 em pães de arroz enquanto se obtiveram, no presente estudo, valores que se assemelham muito ao pão com farinha de trigo, comprovando a obtenção de um resultado positivo para o uso da transglutaminase.

A Figura 24 ilustra o gráfico de Pareto para a variável firmeza com nível de 95% de confiança para a estimativa dos efeitos.

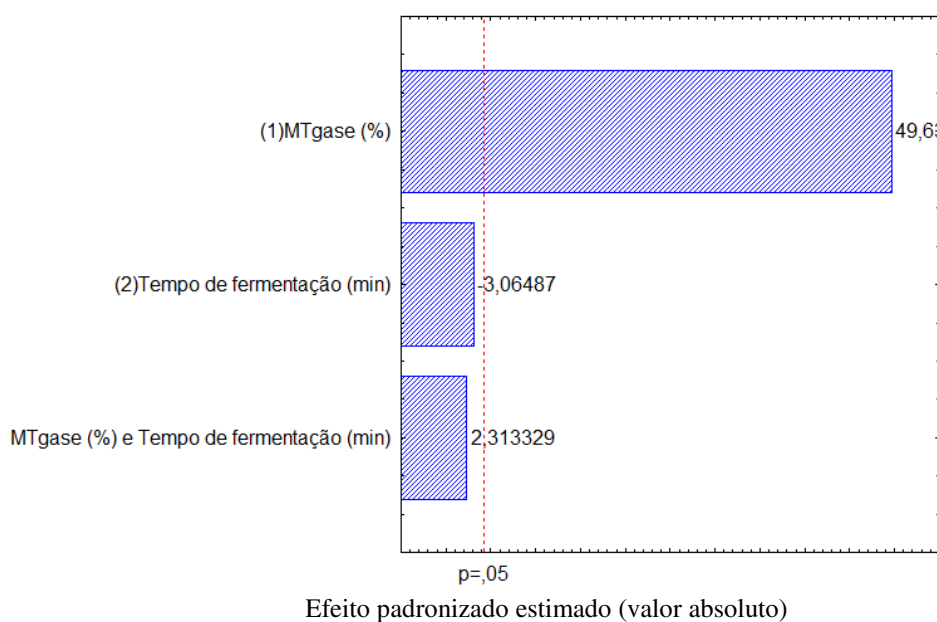


Figura 24: Diagrama de Pareto para a variável resposta firmeza

Analisando os efeitos principais das variáveis tempo de fermentação (min) e teor de enzima MTgase (%) sobre a variável firmeza da Figura 24, conclui-se que a variável que mais influenciou foi o teor de enzima MTgase, sendo um efeito diretamente proporcional (sinal positivo), ou seja, quanto maior o teor de enzima maior também o valor da firmeza dos pães.

Foi comprovado após análise dos resultados, que os coeficientes do modelo enzima MTgase (X1) e a média foram estatisticamente significativos para o nível de 95% de confiança. O modelo codificado ($\text{Resposta} = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_1x_2$) está representado na Equação 13, com os coeficientes estatisticamente significativos em negrito.

$$\text{Firmeza} = \mathbf{5,57} + \mathbf{1,06\text{MTgase}} - 0,07\text{TF} + 0,04\text{MTgase.TF} \quad (13)$$

Para a variável de resposta firmeza (N) foi possível estabelecer modelos significativos. Os dados encontrados variaram de 4,704 a 6,687 N (Tabela 18). A Análise de Variância (ANOVA) de regressão foi realizada e está disposta na Tabela 19.

Tabela 19: Análise de variância (ANOVA) para o modelo de 1ª ordem diante da variável resposta firmeza

Fontes de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	4,494	3	1,498	73,43
Resíduo	0,061	3	0,020	-
Falta de Ajuste	0,058	1	0,058	13,75
Erro Puro	0,004	2	0,002	-
Total	4,555	6	-	-
R ² (%)	0,9866	-	-	-
F _{tab} 0,95,3,3	-	-	-	9,28
F _{tab} 0,95,1,2	-	-	-	18,51

Como se pode observar na Tabela 19, o modelo apresentou regressão significativa em nível de 95% de confiança ($F_{\text{calculado}}$ superior ao F_{tabelado}) com R^2 igual a 0,9866, evidenciando que o modelo explicou 98,66% da variação dos dados experimentais. A razão entre $F_{\text{calculado}}$ e F_{tabelado} foi 7,91. A falta de ajuste não foi significativa ($F_{\text{calculado}}$ menor que o F_{tabelado}), indicando que o modelo se ajustou aos dados experimentais (Figura 25).

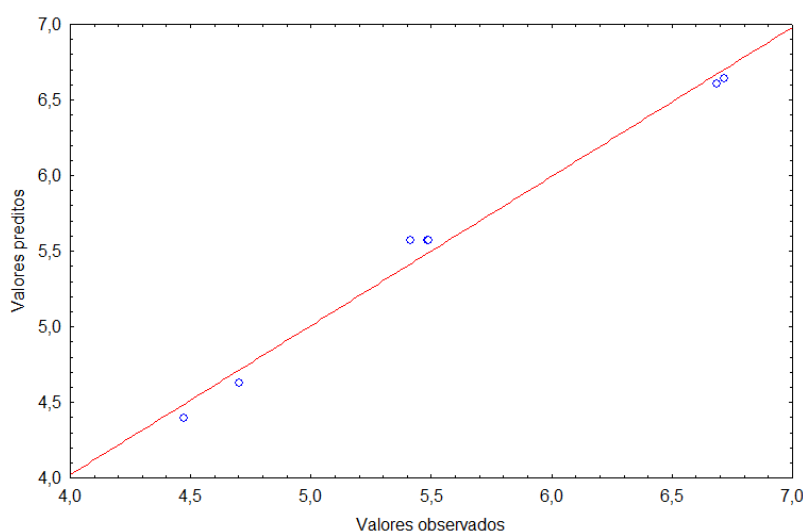


Figura 25: Gráfico dos valores observados e preditos para a variável firmeza

A Figura 26 representa o gráfico da superfície de resposta gerada com base na variável dependente (variável resposta) firmeza.

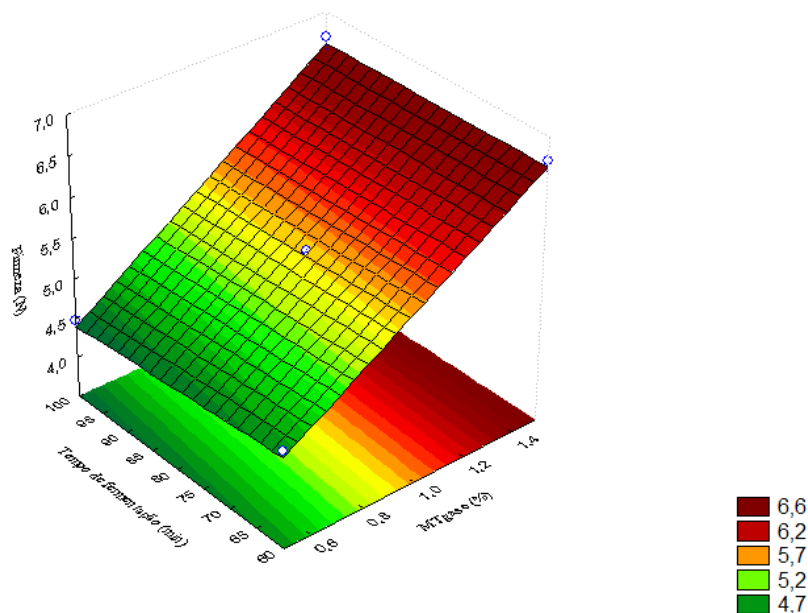


Figura 26: Superfície de resposta para a variável resposta firmeza

Verifica-se, analisando a Figura 26, um acréscimo na firmeza dos pães analisados, sendo os maiores valores representados pela adição de 1,5% de MTGase. Os resultados estão de acordo com o proposto por Storck (2009), em que nesta concentração a enzima teve forte influência na dureza para pães elaborados com farinha de arroz, provocando um aumento substancial neste parâmetro quando usado 1,5% de enzima. Da mesma forma, em trabalho realizado por Gujral e Rosell (2004), foi encontrada maior consistência na massa com o aumento da concentração de transglutaminase. Este aumento indica que mais água está sendo ligada pelas proteínas modificadas na estrutura da massa. Marco e Rosell (2008) encontraram que a adição de transglutaminase promoveu um aumento na dureza da massa, o que pode ser explicado pelo aumento no peso molecular das proteínas resultantes da ligação cruzada.

Esteller e Lannes (2008) relataram que a adição de farinha de centeio promoveu um aumento de 0,61 N na dureza de pães de forma. Segundo os autores, muitos fatores contribuem para as alterações na textura dos pães, como a quantidade de água na massa, diferenças na capacidade de retenção de umidade da farinha e, principalmente, a redução no conteúdo de proteínas na formulação do pão.

Foi encontrado valor médio de firmeza de 3,1 N, para pães de forma sem glúten (Demirkesen et al., 2010) à base de arroz, valor este abaixo do apresentado neste estudo, com adição de MTgase. Alencar et al. (2015) desenvolveram pães sem glúten com farinha de quinoa e amaranto e obtiveram valores para firmeza variando de 2,54 a 5,58 N, sendo as amostras produzidas com farinha de quinoa, que apresentaram menores valores para firmeza.

Hager e Arendt (2013) mostraram que a goma xantana fortaleceu a estrutura do miolo de pão sem glúten, isto é, pão suplementado com goma xantana mostrou um aumento na firmeza.

Matos e Rosell (2012) encontraram, ao analisar diferentes pães sem glúten comerciais, elaborados à base de amido de milho, fécula de batata ou farinha de arroz, encontraram para a grande maioria das amostras valores de firmeza entre 10,33 e 14,60 N.

A Figura 27 ilustra o gráfico de Pareto para a variável mastigabilidade com nível de 95% de confiança para a estimativa dos efeitos.

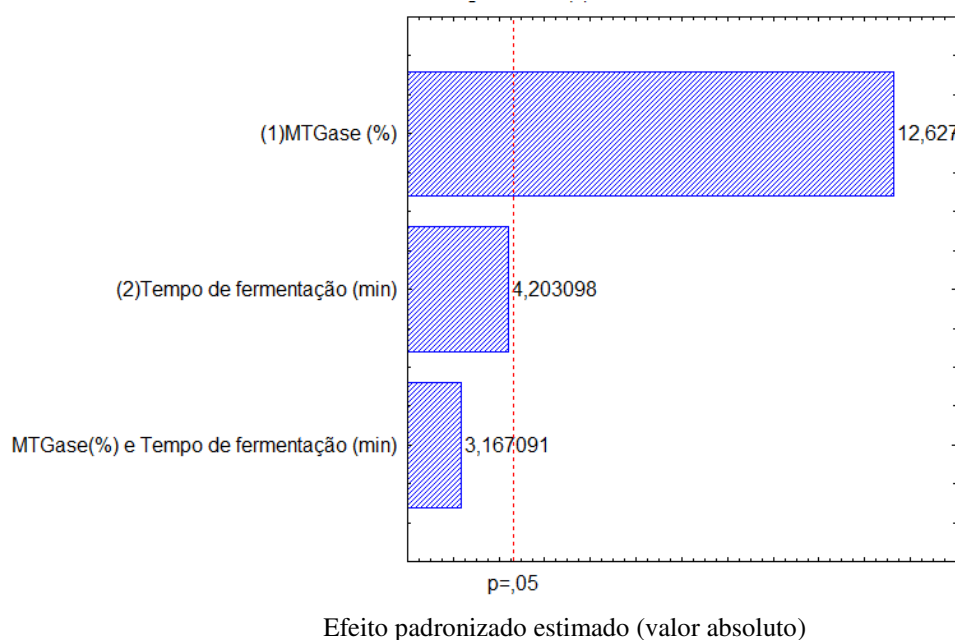


Figura 27: Diagrama de Pareto para a variável resposta mastigabilidade

Analisando os efeitos principais das variáveis tempo de fermentação (min) e teor de enzima MTgase (%) sobre a variável mastigabilidade da Figura 27, percebe-se que a variável que mais influenciou foi o teor de enzima MTgase, sendo um efeito diretamente proporcional (sinal positivo), ou seja, quanto maior o teor de enzima maior também o valor da mastigabilidade dos pães.

Foi constatado, após análise dos resultados, que os coeficientes do modelo enzima MTgase (X1) e a média foram estatisticamente significativos para o nível de 95% de confiança. O modelo codificado ($\text{Resposta} = \beta_0 + \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_1x_2$) está representado na Equação 14, com os coeficientes estatisticamente significativos em negrito.

$$\text{Mastigabilidade} = 3,92 + 0,69\text{MTgase} + 0,23\text{TF} + 0,17\text{MTgase.TF} \quad (14)$$

Para a variável de resposta mastigabilidade (J) foi possível estabelecer modelos significativos. Os dados encontrados variaram de 2,805 a 4,657 J (Tabela 18). A Análise de Variância (ANOVA) de regressão foi realizada e está disposta na Tabela 20.

Tabela 20: Análise de variância (ANOVA) para o modelo de 1ª ordem diante da variável resposta mastigabilidade

Fontes de Variação	Soma Quadrática	Grau de Liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	3,415	3	1,138	23,44
Resíduo	0,146	3	0,049	-
Falta de Ajuste	0,121	1	0,121	10,03
Erro Puro	0,024	2	0,012	-
Total	3,561	6	-	-
R ²	0,9591	-	-	-
F _{tab} 0,95,3,3	-	-	-	9,28
F _{tab} 0,95,1,2	-	-	-	18,51

Pode-se observar, na Tabela 20, que o modelo apresentou regressão significativa em nível de 95% de confiança (F_{calculado} superior ao F_{tabelado}) com R² igual a 0,9591, evidenciando que o modelo explicou 95,91% da variação dos dados experimentais. A razão entre F calculado e F tabelado foi 2,53. Segundo Barros Neto et al. (2003) para que o modelo tenha validade estatística de acordo com o Teste F, o valor da razão F calculado em relação a F tabelado deve ser acima de 1,0. A falta de ajuste não foi significativa (F_{calculado} menor que o F_{tabelado}), sinalizando que o modelo se ajustou aos dados experimentais (Figura 28).

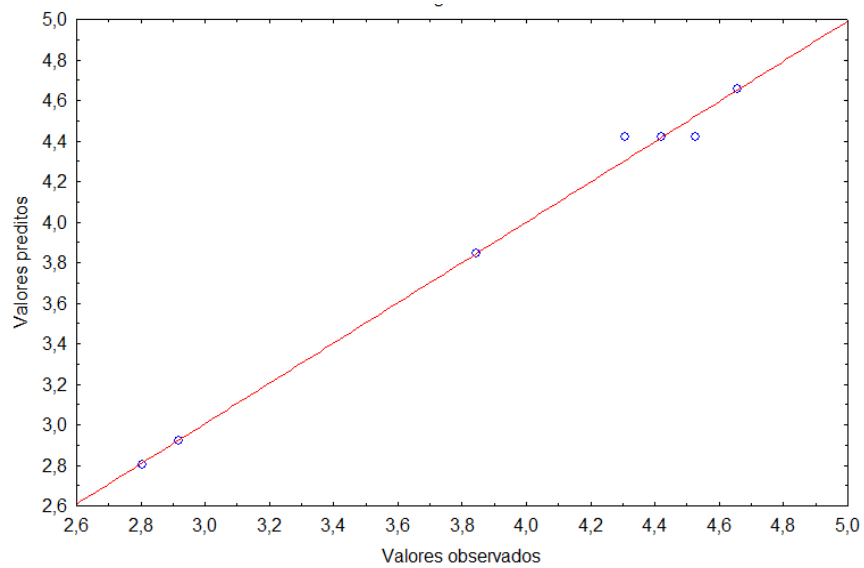


Figura 28: Gráfico dos valores observados e preditos para a variável mastigabilidade

A Figura 29 representa o gráfico da superfície de resposta gerada com base na variável dependente (variável resposta) mastigabilidade.

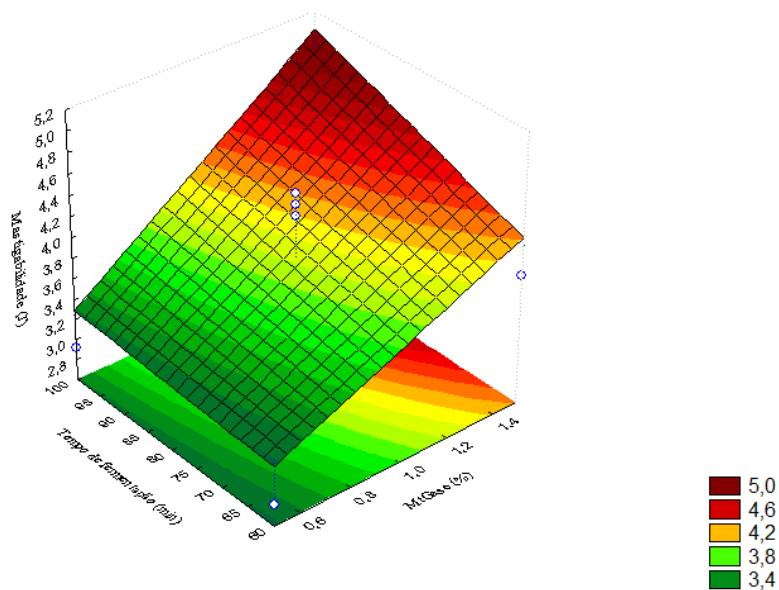


Figura 29: Superfície de resposta para a variável resposta mastigabilidade

Analisando a Figura 29 pode-se observar que a concentração de MTGase aumentou a mastigabilidade dos pães analisados. Resultados maiores de mastigabilidade denotam uma força maior no processo deglutição, o que pode acarretar em um produto com baixa aceitação.

Esses valores de mastigabilidade ficaram abaixo no estudo de Storck et al. (2013), que reportaram valores de mastigabilidade entre 5,83 J a 12,47 J em pães de arroz.

Cornejo e Rosell (2015) encontraram valores para mastigabilidade variando entre 8,97 a 20,26 J para pães sem glúten formulados com farinha de arroz de diversas variedades de grãos.

O objetivo desse estudo foi obter um pão sem glúten que apresentasse características próximas às de um pão padrão (com glúten), obtendo uma maximização do volume específico, juntamente com uma minimização da textura e mastigabilidade, para facilitar a compreensão dos resultados. Na Tabela 21 se encontram os intervalos de otimização de todas as variáveis respostas estudadas de qualidade dos tratamentos. A escolha dos melhores intervalos foi realizada a fim de se encontrar a região que melhor atendesse aos objetivos do presente estudo.

Tabela 21: Intervalos de valores das variáveis otimizadas

Variáveis dependentes	Variáveis independentes	
	Enzima transglutaminase microbiana (%)	Tempo de fermentação (min)
Teor de água	ns*	ns*
pH	0,5-1,0	60-80
Acidez	0,5-1,0	60-80
Volume específico	1,0-1,5	ns*
Luminosidade (L*)	ns*	ns*
Intensidade do amarelo (b*)	ns*	ns*
Intensidade do vermelho (a*)	ns*	ns*
Firmeza	0,5-1,0	ns*
Mastigabilidade	0,5-1,0	ns*
Coabilidade	ns*	ns*
Elasticidade	ns*	ns*

*ns - Não significativo ($p < 0,05$)

Para abranger o maior número de atributos otimizados foi possível manter os níveis de teor de enzima transglutaminase microbiana entre 0,5 e 1,0% com o tempo de fermentação entre 60-80 (min).

4.3 Avaliação física dos pães

4.3.1 Perda de peso ao assar, salto de forno e formato

Na Tabela 22 se encontra os valores da perda de peso ao assar, da altura da massa antes do forno, da altura do pão logo após o assamento e do salto de forno.

Tabela 22: Salto de forno dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina)

Exp	MTgase (%)	TF (min)	Perda de peso ao assar (%)	Altura antes do forno (cm)	Altura depois do forno (cm)	Salto de forno (cm)
1	0,5	60	5,35 ^b	6,35 ^{ab}	5,70 ^a	0,65 ^{abc}
2	1,5	60	5,72 ^b	6,80 ^a	6,20 ^a	0,60 ^{abc}
3	0,5	100	12,43 ^a	5,10 ^b	5,20 ^a	0,15 ^c
4	1,5	100	5,45 ^b	6,10 ^{ab}	5,90 ^a	0,20 ^{bc}
5	1	80	3,88 ^b	7,50 ^a	6,60 ^a	0,85 ^a
6	1	80	4,51 ^b	7,40 ^a	6,55 ^a	0,85 ^a
7	1	80	4,65 ^b	7,20 ^a	6,50 ^a	0,75 ^{ab}

*MTgase= enzima transglutaminase microbiana e TF= tempo de fermentação. Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Observa-se que a altura da massa antes do forno de algumas formulações não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$). Provavelmente essas massas se expandiram para as demais dimensões (largura e/ ou comprimento) ou não apresentaram estrutura para reter o gás produzido e crescer no sentido vertical. O mesmo ocorreu com a altura do pão após o assamento. As formulações que foram submetidas a um tempo de fermentação de 80 min (5, 6 e 7) apresentaram maiores salto de forno diferindo estatisticamente das formulações 3 e 4 que apresentaram menor salto de forno com 100 minutos de fermentação.

A perda de peso ao assar, é uma medida que demonstra a capacidade da massa em reter água, sendo acentuada em pães sem glúten devido à ausência da rede proteica (EVANGELHO et al., 2012). A perda de peso dos pães em função do forneamento variou entre 3,88 e 12,43%. Nobre (2015) encontrou valores entre 8,49 e 11,46% para perda de peso em pães sem glúten com farinha de quinoa e arroz.

As medidas de altura, largura, comprimento e formato dos pães preassados, estão apresentados na Tabela 23. Pelos resultados obtidos observa-se que, apesar dos pães de algumas formulações com diferentes tempos de fermentação não apresentarem diferença significativa quanto à altura, eles apresentaram aumento de largura e/ou do comprimento ($p < 0,05$), o que reflete o aumento de volume dos pães, como apresentado anteriormente (Tabela 26).

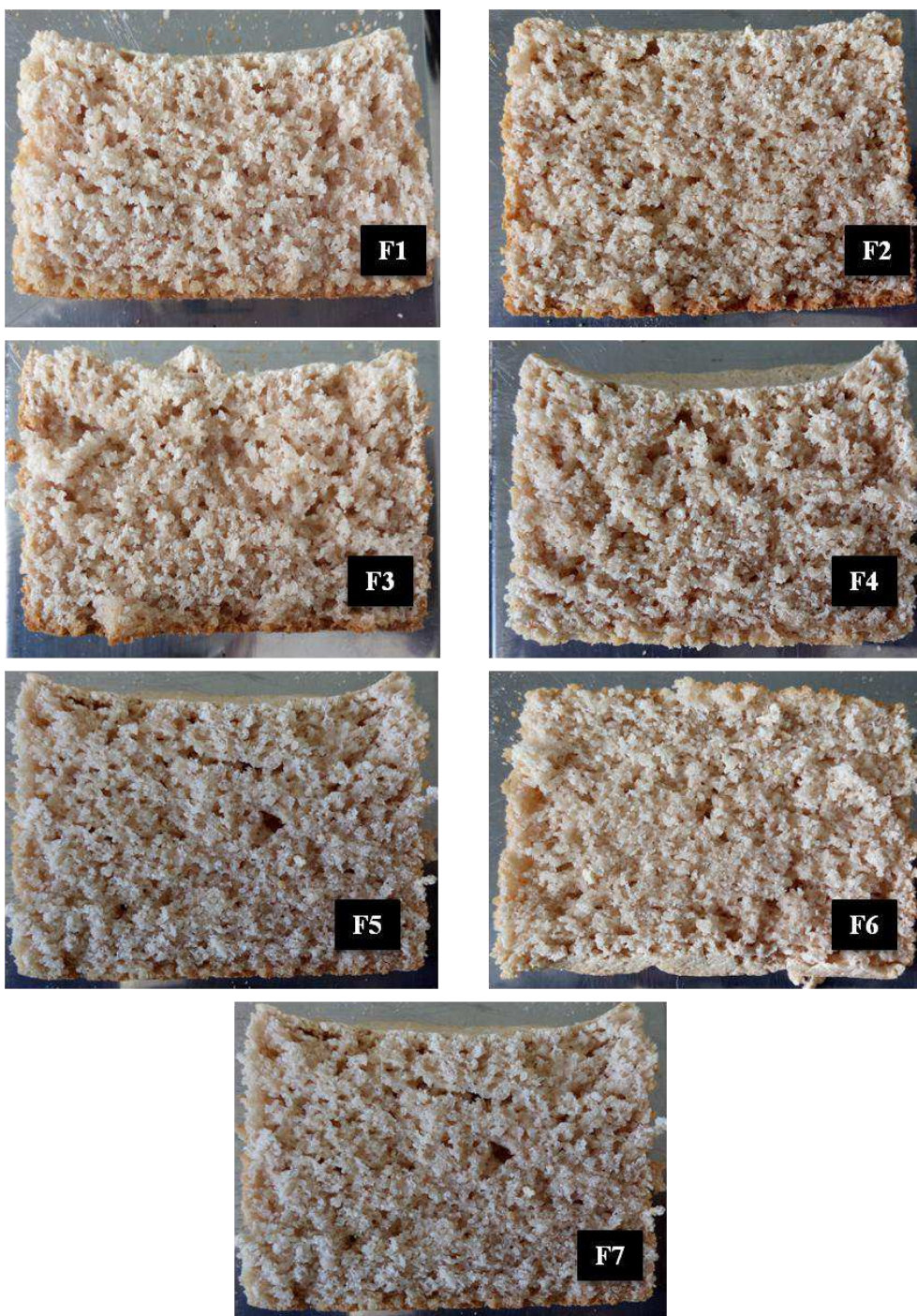
Tabela 23: Formato dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina)

Exp	MTgase (%)	TF (min)	Altura depois do forno (cm)	Largura (cm)	Comprimento (cm)	Formato (altura/comprimento)
1	0,5	60	5,70 ^a	8,55 ^{abc}	21,0 ^a	0,27 ^a
2	1,5	60	6,20 ^a	8,65 ^{abc}	20,8 ^a	0,29 ^a
3	0,5	100	5,20 ^a	8,70 ^{ab}	20,5 ^a	0,25 ^a
4	1,5	100	5,90 ^a	8,75 ^a	20,8 ^a	0,28 ^a
5	1	80	6,60 ^a	8,45 ^c	20,5 ^a	0,32 ^a
6	1	80	6,55 ^a	8,50 ^{bc}	20,5 ^a	0,32 ^a
7	1	80	6,50 ^a	8,60 ^{abc}	20,5 ^a	0,32 ^a

*MTgase= enzima transglutaminase microbiana e TF= tempo de fermentação. Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Com relação ao formato, os pães com diferentes tempos de fermentação não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$). Os pães apresentaram valores, em média, entre 0,27 e 0,32, o que indica um formato tendendo ao plano (valor de formato $< 0,5$).

A Figura 30 ilustra o aspecto interno (estrutura do miolo) dos pães elaborados.



F1=0,5% MTgase e 60 min TF; F2= 1,5% MTgase e 60 min TF; F3= 0,5% MTgase e 100 min TF; F4= 1,5% MTgase e 100 min TF; F5=F6=F7= 1,0% MTgase e 80 min TF.
MTgase= enzima transglutaminase microbiana; TF= Tempo de fermentação

Figura 30: Aspecto interno (estrutura do miolo) dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico

Uma análise das imagens das estruturas do miolo dos pães elaborados neste estudo (Figura 30) indica que elas tiveram um número menor de alvéolos com áreas maiores, característicos de pães sem glúten.

O uso de farinhas de trigo sarraceno, amaranto, quinoa e arroz fornece uma estrutura com alvéolos maiores no pão comparado ao pão sem glúten com uma formulação à base de amido (ALVAREZ-JUBETE; ARENDT; GALLAGHER, 2010). Uma grande variedade de estrutura pode ser encontrada entre os pães sem glúten, alguns apresentando maior área alveolar e outros maior número de alvéolos. Este fato se deve, à diversidade de ingredientes adicionados à massa (MATOS; ROSELL, 2013).

4.4 Avaliação microbiológica dos pães

Os resultados da análise microbiológica estão dispostos na Tabela 24, as quais apresentaram valores inferiores aos limites estabelecidos pela Resolução – RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001 (BRASIL, 2001), confirmando que o processo utilizado para a produção dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina) é satisfatório do ponto de vista de segurança microbiológica.

Tabela 24: Resultado das análises microbiológicas dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina)

Ensaio	Coliformes totais NMP/g	Coliformes a 45°C NMP/g	Pesquisa de Salmonella
1	<0,3	<0,3	Ausência
2	<0,3	<0,3	Ausência
3	<0,3	<0,3	Ausência
4	<0,3	<0,3	Ausência
5	<0,3	<0,3	Ausência
6	<0,3	<0,3	Ausência
7	<0,3	<0,3	Ausência

NMP- Número mais provável

4.5 Análise Sensorial

As características sensoriais dos pães de forma são de fundamental importância para a sua aceitação pelos consumidores e, conseqüentemente, para sua comercialização. Dos

juízes que participaram da análise sensorial desse estudo 62,0% eram do gênero feminino e 38,0% do gênero masculino, com frequência de idade de 85,0% de 17 até 30 anos, 7,0% de 31 até 40 anos, e 8,0% acima de 40 anos. Os juízes apresentaram grau de escolaridade de 56,0% cursando o ensino superior, 27,0% cursando pós-graduação e 17,0% com ensino médio. Com relação à frequência de consumo de pães de forma, 26,0% dos juízes consumiam pelo menos uma vez por semana esse tipo de produto, 44,0% o consumiam de duas a três vezes por semana, 15,0% consumiam diariamente e 15,0% consumiam 1 ou 2 vezes por mês.

Os valores médios da aceitação dos pães de forma sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina), em relação aos atributos sensoriais: aparência, cor do miolo, aroma, sabor, maciez e impressão global, estão dispostos na Tabela 25. Ao analisar os resultados diferença significativa ($p < 0,05$) entre os pães em relação aos atributos aparência, sabor e impressão global. Para os atributos sensoriais de aroma, cor do miolo e maciez, não houve diferença estatística significativa ($p < 0,05$).

Tabela 25: Análise sensorial dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina)

Formulações	Aparência	Cor do miolo	Aroma	Sabor	Maciez	Impressão global	Índice de aceitabilidade (%)
F1	6,8 ^a	7,1 ^a	6,9 ^a	6,8 ^a	5,8 ^a	6,4 ^a	72,59
F2	6,8 ^a	7,2 ^a	6,7 ^a	6,3 ^b	5,8 ^a	6,4 ^a	72,57
F3	6,5 ^{ab}	6,9 ^a	6,9 ^a	6,3 ^b	5,7 ^a	6,4 ^a	72,65
F4	6,2 ^b	6,7 ^a	6,6 ^a	6,6 ^a	6,1 ^a	6,4 ^a	71,19
PC	6,7 ^a	7,2 ^a	7,0 ^a	7,0 ^a	6,3 ^a	6,8 ^b	75,17
Dms	0,64	0,55	0,51	0,68	0,73	0,52	
M.G	6,6	7,0	6,8	6,5	5,9	6,5	
C.V	19,45	15,72	14,85	14,85	20,95	17,65	

F1=0,5% MTgase e 60 min TF; F2= 1,5% MTgase e 60 min TF; F3= 0,5% MTgase e 100 min TF; F4= 1,5% MTgase e 100 min TF; PC= 1,0% MTgase e 80 min TF.

PC = ponto central (experimentos F5, F6 e F7).

MTgase= enzima transglutaminase microbiana; TF= Tempo de fermentação

dms: diferença mínima significativa; M.G: Média geral; C.V: coeficiente de variação em %

Médias seguidas pela mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Para a avaliação sensorial utilizou-se uma escala de 1 a 9 pontos para escala hedônica de aceitação e uma escala de 1 a 5 pontos na escala de intenção de compra, em que quanto mais próximo de “5” e de “9”, ocorria uma aceitabilidade melhor do produto. É notado que todos os pães sem glúten tiveram boa aceitação sensorial.

Os valores médios da maioria dos atributos variaram de 5,7 a 7,2, equivalentes aos termos hedônicos de “gostei ligeiramente” a “gostei moderadamente”. Ressalta-se que a nota 6 (gostei ligeiramente) foi considerada ponto de corte. A maioria dos julgadores atribuiu valores iguais ou maiores a 6 para todas as amostras (Tabela 25). Quanto ao atributo maciez, as formulações F1 (0,5% MTgase e 60 min TF), F2 (1,5% MTgase e 60 min TF) e F3 (0,5% MTgase e 100 min TF) obtiveram escore médio abaixo de 6,0 porém não houve diferença estatística significativa com as demais amostras. Este aspecto necessita ser melhorado em pães sem glúten, pois produtos mais macios são preferidos pelos consumidores que, geralmente, relacionam produtos com menor maciez a produtos sem frescor.

Na ficha de avaliação de um dos julgadores pode-se retirar o seguinte comentário feito sobre a maciez dos pães: “O sabor é muito bom mas em minha opinião a maciez compromete a qualidade sensorial do produto”.

Em um estudo qualitativo realizado com pessoas que foram diagnosticadas com a doença celíaca em Florionópolis- SC (Brasil), ao serem questionados sobre a textura de pães sem glúten, esse atributo recebeu o maior número de comentários negativos. Todos os participantes, mais especialmente os mais recentemente diagnosticados, o descreveram como amassado, elástico, duro, pesado, seco e pastoso. Houve acordo geral entre os participantes de que o pão ideal sem glúten deve ter uma crosta crocante e um miolo macio (DO NASCIMENTO et al., 2017).

De fato, a textura é um dos principais fatores que determinam a qualidade de qualquer alimento dado e desempenha papel relevante na aceitação de produtos alimentícios, pelos consumidores (SAHIN; SAMNU, 2006).

Em um estudo no qual se compararam as percepções de indivíduos celíacos e não celíacos em pães sem glúten, Laureati et al. (2012) descobriram que as preferências em ambos os grupos estavam positivamente correlacionadas com "porosidade" e "suavidade", e negativamente correlacionadas com "elástico" e "adesivo" descritores sensoriais. Morais et al. (2014) descobriram que a textura do pão isento de glúten é crucial para determinar a

aceitabilidade do consumidor - enquanto a suavidade era uma característica desejável, a dureza e a mastigação eram fatores de desagrado.

Em relação ao atributo aparência todas as amostras foram bem aceitas, as formulações F1, F2, F3 e PC não diferiram estatisticamente entre si mas diferiram estatisticamente da formulação F4, que não diferiu da amostra F3. A percepção visual-tátil interfere diretamente na aceitação dos consumidores (LASSOUED et al., 2008). Portanto, os atributos relativos ao pão, em especial a aparência geral, são importantes e despertam o interesse e o desejo de consumo.

Em relação aos atributos cor do miolo e aroma as formulações foram bastante semelhantes entre si, não havendo diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Sendo esses os atributos que receberam as maiores notas pelos julgadores, ou seja, tiveram aceitabilidade boa para todas as amostras. Na ficha sensorial pode-se retirar o seguinte comentário sobre o aroma e a cor dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina): “Não senti diferença em relação ao aroma e a cor também ficou bastante similar. De maneira geral, todos estavam acima do esperado”.

Os escores médios obtidos para o atributo sabor demonstraram que as formulações F2 (1,5% MTgase e 60 min TF) e F3 (0,5% MTgase e 100 min TF) foram as menos aceitas (extremos do estudo), diferindo significativamente das formulações F1 (0,5% MTgase e 60 min TF), F4 (1,5% MTgase e 100 min TF) e PC (1,0% MTgase e 80 min TF), que obtiveram melhores resultados; porém, ao se fazer a análise com base na escala hedônica, percebe-se haver diferença entre a nota 6 (gostei ligeiramente) e a nota 7 (gostei moderadamente), de forma que é possível afirmar que houve maior preferência pelo sabor da formulação PC que obteve média 7,0 neste atributo, fato confirmado pelo coeficiente de concordância de 38,57% (Tabela 26).

De acordo com Do Nascimento et al. (2017), devido à maior variedade de produtos sem glúten doce no mercado, de acordo com os entrevistados há maior necessidade de pães saborosos, não recheado ou temperado, adequados para fazer sanduíche. Conveniência e versatilidade foram altamente elogiados. Também foi mencionado que o pão cortado (pão de forma) poderia ser vendido em pequenas embalagens com poucas fatias, devido ao fato de que em muitas famílias há apenas uma pessoa com doença celíaca. A conveniência é um conceito multifacetado mas no domínio dos alimentos geralmente sugere que algum tipo de esforço é economizado ou reduzido. Tornou-se parte dos padrões contemporâneos de consumo

alimentar de famílias de diferentes grupos sociais, afetando a preparação de refeições e hábitos alimentares (DANIELS et al., 2015).

A impressão global reflete a avaliação de maneira geral a todos os atributos analisados; desta forma, a formulação PC (1,0% MTgase e 80 min TF) obteve o maior escore 6,8 diferindo estatisticamente ($p < 0,05$) das demais amostras que obtiveram escores médios de 6,4. Este resultado pode ser comparado com a preferência global entre as amostras em que, a formulação do ponto central foi a que apresentou maior preferência pelos julgadores (34%), seguido das formulações F1 (22%) e F2 (22%). As formulações com os maiores tempos de fermentação (F3 e F4) foram as menos preferidas com 14% e 8%, respectivamente.

Pagliarini et al. (2010) avaliaram seis amostras comerciais de pão sem glúten comumente consumidas na Itália. Os autores observaram que a maciez apresentou uma tendência oposta em relação à textura de borracha: as amostras que apresentaram maior maciez foram consideradas menos elásticas e vice-versa. Soares Júnior et al. (2009) verificaram redução nos escores médios relacionados ao atributo textura em pães à medida que a farinha de trigo foi substituída por farelo de arroz torrado e atribuíram, como uma das causas dessa redução, as características tecnológicas das fibras e seus efeitos sobre outros componentes do alimento. Destacam, ainda, a necessidade de adequar maior nível de fibra com a menor mudança possível nas características sensoriais, principalmente a textura de alimentos alternativos, tornando o produto aceitável pelo consumidor.

Sabanis, Lebezi e Tzia (2009) avaliaram os efeitos da adição de fibras nas características sensoriais e aceitação global de pães sem glúten e obtiveram formulações consideradas aceitáveis pelos consumidores. Os autores utilizaram goma guar e pectina nas formulações levando a um aspecto e textura mais característicos e semelhantes em relação aos pães de forma comercializados, com adição de farinha de trigo. Capriles e Arêas (2012) constataram que a adição de inulina melhorou a estrutura de pães sem glúten, consequentemente aumentando sua aceitabilidade nos atributos de sabor, textura e aparência.

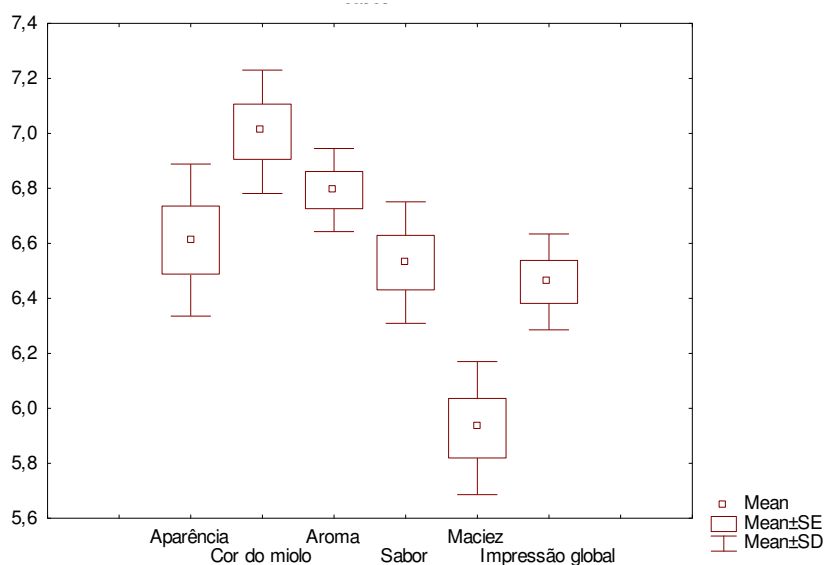
O Índice de Aceitação (IA) foi calculado a partir das médias das notas atribuídas pelos avaliadores, em que a formulação PC (1,0% MTgase e 80 min TF) foi a que teve o maior índice de aceitabilidade (75,17%), porém as outras formulações apresentaram valores acima de 70%. Segundo Dutcosky (2013) para que um produto possa ser considerado aceitável é necessário que se obtenham resultados com no mínimo de 70% de aprovação.

De maneira similar, Gewehr (2010) obteve índices de aceitabilidade superiores a 70% ao analisar pães de forma sem glúten adicionados de quinoa, não tendo encontrado diferença estatística significativa entre os produtos em relação aos parâmetros sensoriais analisados, mesmo considerando teores crescentes de quinoa.

Os consumidores consideram que a disponibilidade de um produto com preços razoáveis / nutricionalmente equilibrado não serve para nada se não atende às suas expectativas sensoriais. Este comportamento é consistente com os resultados de estudos anteriores que relatam que as características sensoriais, representadas pela resposta integrada de estímulos químicos e físicos transmitidos pela aparência, aroma, sabor e textura do alimento, são os principais fatores para a aceitação de um produto alimentar (Laureati et al., 2012).

Seja qual for a verdadeira motivação para consumir alimentos sem glúten, observa-se uma demanda crescente por produtos isentos de glúten nas tendências do mercado e se acredita que a maior demanda venha de países como o Reino Unido, Itália, Estados Unidos, Espanha, Alemanha, Austrália e até mesmo Brasil (ROSELL; MATOS, 2015).

A Figura 31 representa um gráfico box plot para os atributos analisados na análise sensorial.



Mean= média; Mean±SE= média± erro padrão; Mean±SD= média± desvio padrão

Figura 31: Gráfico box plot para os atributos analisados na análise sensorial

O grande objetivo do gráfico Box plot é verificar a distribuição dos dados analisados. Assim, as conclusões retiradas ao analisar um blox plot são: centro dos dados (a média ou mediana) e a amplitude dos dados (máximo-mínimo). Com a média e o desvio padrão temos a variabilidade dos dados em torno da média (medida de dispersão da média). Com a média e o erro padrão, temos o intervalo de confiança, mostrando em que faixa o valor médio será.

O atributo maciez foi o que obteve a menor média e o atributo cor do miolo foi o que obteve a maior média entre as amostras analisadas. Esses resultados podem ser comparados com o valor da média geral (Tabela 25), cujos valores foram de 5,9 e 7,0, respectivamente. Em relação à variabilidade das notas, os atributos aparência e maciez apresentaram maiores variabilidades e, conseqüentemente, maiores valores de desvio padrão. O atributo aroma obteve menor variabilidade e menores valores para o desvio padrão.

Observa-se que a distribuição dos dados foi simétrica, podendo ser justificado por não haver diferença estatística significativa na maioria dos atributos. Quando a distribuição dos dados é simétrica, a linha que representa a mediana estará localizada mais ou menos no centro do retângulo e as duas linhas que partem das extremidades do retângulo terão aproximadamente os mesmos comprimentos.

A Tabela 26 contém as notas máximas e mínimas, a média e o desvio-padrão dos dados para os atributos: aparência, sabor, textura, impressão global e intenção de compra e os coeficientes de concordância entre os julgadores.

O valor dos coeficientes de concordância é a quantificação da dispersão das notas dos julgadores (SILVA et al., 2011). O coeficiente de concordância se baseia em que a consistência de avaliações está condicionada à concordância entre os julgadores e indica preferências divergentes entre o grupo de julgadores. Pode-se observar, na Tabela 26, que a menor concordância ocorreu no julgamento do atributo maciez para todas as amostras, ou seja, um número menor de julgadores concordou com a nota atribuída ao teste sensorial.

Pode-se observar que o parâmetro cor do miolo apresentou o maior coeficiente de concordância entre os julgadores para a formulação PC (1,0% MTgase e 80 min TF), com o valor de 40,39%, sendo esta amostra a que obteve os maiores coeficientes de concordância para os demais atributos e, em contrapartida, foi o que apresentou o maior índice de aceitabilidade.

O menor coeficiente de concordância foi para o atributo maciez para a formulação F3 (0,5% MTgase e 100 min TF), significando que 19,69% dos 60 julgadores concordam entre si

com a média de 5,7. Observa-se que na maioria dos tratamentos o coeficiente de concordância é maior quanto mais próximo de 7 (gostei moderadamente) for a média e menor o valor do desvio padrão.

Esses resultados estão coerentes com a maior e a menor variância dessas propriedades apontadas pelo Mapa de preferência interno (Figuras 36 a 41).

Tabela 26: Notas máximas, mínimas, médias, desvios padrão e coeficiente de concordância entre julgadores (CC) da análise sensorial, quanto aos parâmetros aparência, sabor, textura, impressão global e intenção de compra

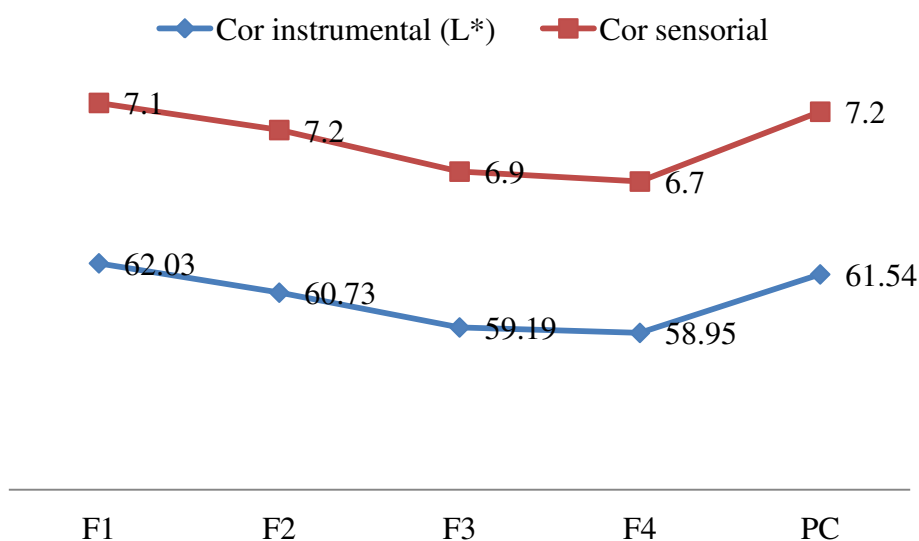
Formulações	Nota	Aparência	Cor do miolo	Aroma	Sabor	Maciez	Impressão global	Intenção de Compra
F1	Máx.	9	9	9	9	9	9	5
F1	Mín.	3	2	3	2	2	2	1
F1	D.P.	1,44	1,54	1,59	1,62	1,58	1,48	1,11
F1	Média	6,8	7,1	6,9	6,8	5,8	6,4	3,6
F1	C.C. (%)	32,88	35,79	31,82	33,73	28,83	40,23	33,23
F2	Máx.	9	9	9	9	9	9	5
F2	Mín.	1	2	3	2	2	2	1
F2	D.P.	1,87	1,46	1,42	1,8	1,93	1,66	1,04
F2	Média	6,8	7,2	6,7	6,3	5,8	6,4	3,7
F2	C.C. (%)	34,82	36,4	30,92	25,46	27,17	26,22	30,62
F3	Máx.	9	9	9	9	9	9	5
F3	Mín.	4	3	4	1	1	4	1
F3	D.P.	1,35	1,35	1,53	1,62	2,07	1,38	1,22
F3	Média	6,8	7,1	6,9	6,3	5,7	6,4	3,4
F3	C.C. (%)	36,57	39,53	29,37	30,31	19,69	32,6	21,89
F4	Máx.	9	9	9	9	9	9	5
F4	Mín.	1	2	3	2	2	4	1
F4	D.P.	1,63	1,7	1,48	1,5	1,72	1,38	1,03
F4	Média	6,2	6,7	6,6	6,6	6,1	6,4	3,5
F4	C.C. (%)	35,53	35,88	31,92	35,44	27,39	35,97	32,38
PC	Máx.	9	9	9	9	9	9	5
PC	Mín.	4	3	4	3	1	4	2
PC	D.P.	1,54	1,4	1,5	1,61	1,76	1,33	0,78
PC	Média	6,7	7,2	7,0	7,0	6,3	6,8	4,0
PC	C.C. (%)	31,32	40,39	36,06	38,57	28,61	37,17	45,41

F1=0,5% MTgase e 60 min TF; F2= 1,5% MTgase e 60 min TF; F3= 0,5% MTgase e 100 min TF; F4= 1,5% MTgase e 100 min TF; PC= 1,0% MTgase e 80 min TF.

PC = ponto central (experimentos F5, F6 e F7).

MTgase= enzima transglutaminase microbiana; TF= Tempo de fermentação

A Figura 32 representa os valores da cor instrumental (parâmetro L*) e da cor do miolo avaliada na análise sensorial; embora estejam em escalas distintas, é possível verificar a concordância em todas as formulações. Os maiores valores da cor instrumental (maiores valores de L*), ou seja, pães com coloração mais clara foram obtidos nas formulações F1 (0,5% MTGase e 60 min TF), F2 (1,5% MTgase e 60 min TF) e PC (1,0% MTgase e 80 min TF) que tiveram menor tempo de fermentação em relação às demais amostras. Paralelamente na avaliação sensorial, as maiores notas foram atribuídas a essas formulações; assim, pode-se afirmar que os julgadores tiveram maior aceitação pelas amostras com coloração mais clara.



Cor sensorial: Nota atribuída à análise sensorial (escala hedônica de nove pontos)

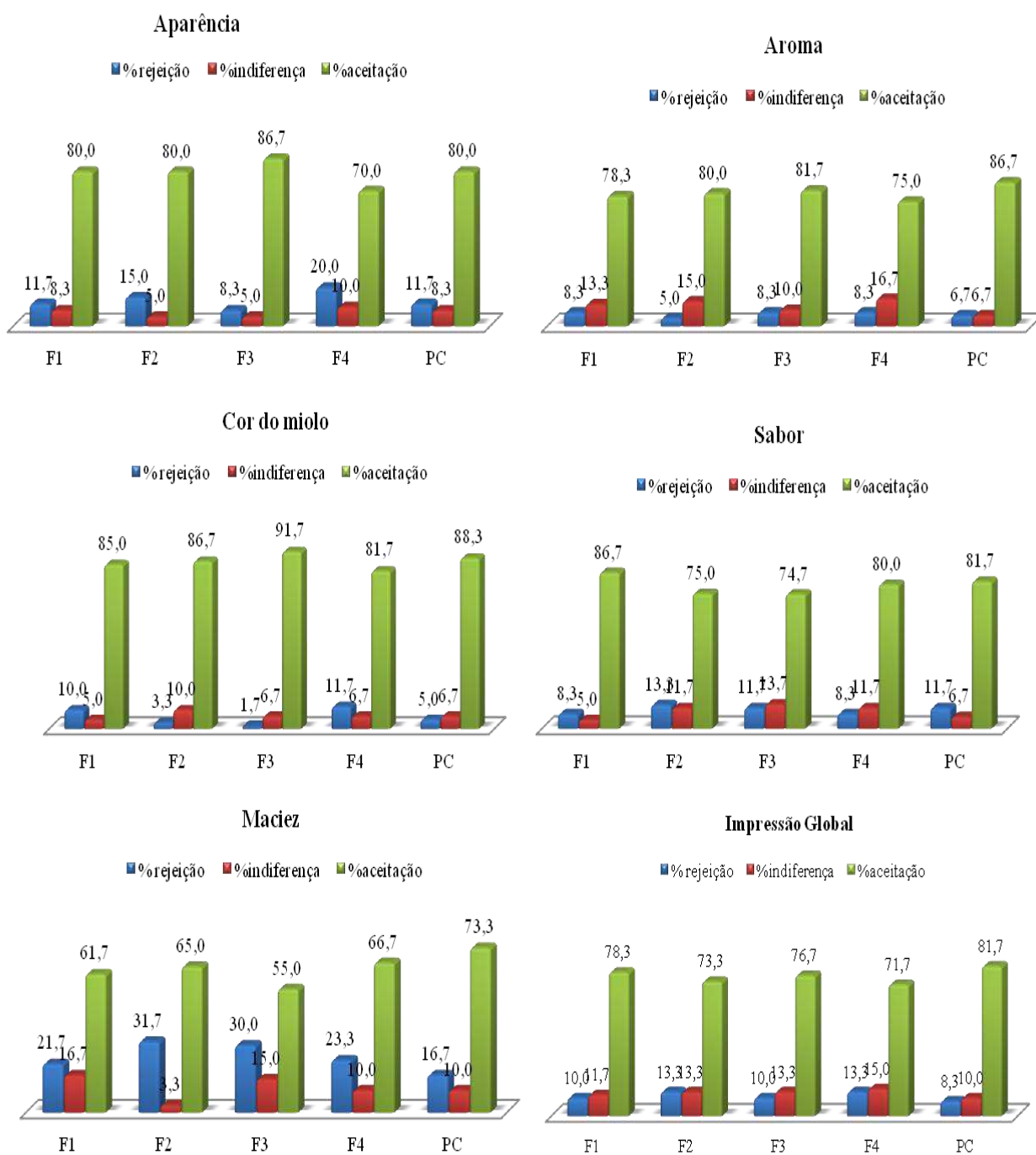
F1=0,5% MTgase e 60 min TF; F2= 1,5% MTgase e 60 min TF; F3= 0,5% MTgase e 100 min TF; F4= 1,5% MTgase e 100 min TF; PC= 1,0% MTgase e 80 min TF.

PC = ponto central (experimentos F5, F6 e F7).

MTgase= enzima transglutaminase microbiana; TF= Tempo de fermentação

Figura 32: Correlação entre a cor instrumental e a cor sensorial

Na Figura 33 se encontram as porcentagens de aprovação, indiferença e rejeição dos atributos (aparência, aroma, cor do miolo, sabor, maciez e impressão global) avaliados na análise sensorial.



*% de aprovação= porcentagem de notas de 6 a 9; % de indiferença= porcentagem de notas 5; % de rejeição= porcentagem de notas de 1 a 4.

F1=0,5% MTgase e 60 min TF; F2= 1,5% MTgase e 60 min TF; F3= 0,5% MTgase e 100 min TF; F4= 1,5% MTgase e 100 min TF; PC= 1,0% MTgase e 80 min TF.

PC = ponto central (experimentos F5, F6 e F7).

MTgase= enzima transglutaminase microbiana; TF= Tempo de fermentação

Figura 33: Porcentagens de aprovação, indiferença e rejeição dos pães sem glúten.

Analisando a Figura 33, pode-se observar que todas as formulações obtiveram alto índice de aceitação (>60 %), exceto a formulação F3 (0,5% MTgase e 60 min TF) para o

atributo maciez, apresentando o valor de 55% de aceitação, 30% de rejeição e 15 % de indiferença. O atributo maciez foi representado pelos maiores índices de rejeição (16,7 a 31,7%). Esse resultado está de acordo com as menores médias (<6,0) obtidas para este parâmetro no teste de aceitação (Tabela 25).

Os atributos aparência, aroma e cor do miolo tiveram os maiores percentuais para o índice de aceitação e os menores percentuais para o índice de rejeição, ou seja, foram os atributos mais aceitos em todas as formulações, com a maioria das notas da escala hedônica variando de 6 (gostei ligeiramente) a 9 (gostei extremamente).

Seguido do teste de aceitação foi utilizada uma escala de intenção de compra. Pode-se utilizá-la como indicativo de provável venda do produto. A Tabela 27 contém os valores da escala de intenção de compra e número de julgadores por nota para as quatro formulações e ponto central da análise sensorial. A Figura 34 ilustra os resultados para a intenção de compra das amostras de pão de forma sem glúten, por meio de uma distribuição de frequência das notas correspondentes à escala utilizada para avaliação. Foi utilizada escala estruturada de cinco pontos, variando de “certamente não compraria” a “certamente compraria”.

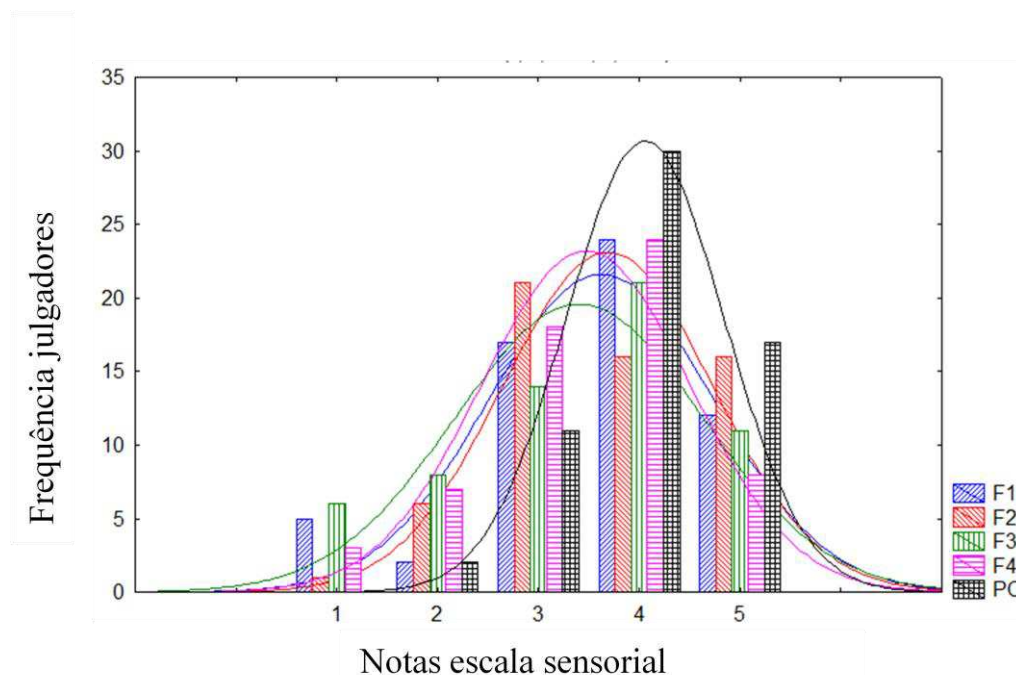
Tabela 27: Valores da escala de intenção de compra e número de julgadores por nota para as quatro formulações e ponto central da análise sensorial

Escala		F1	F2	F3	F4	PC
1	Certamente não compraria	5	1	6	3	0
2	Provavelmente não compraria	2	5	7	7	2
3	Talvez comprasse, talvez não comprasse	15	20	11	18	9
4	Provavelmente compraria	22	15	20	24	29
5	Certamente compraria	16	19	16	8	20

F1=0,5% MTgase e 60 min TF; F2= 1,5% MTgase e 60 min TF; F3= 0,5% MTgase e 100 min TF; F4= 1,5% MTgase e 100 min TF; PC= 1,0% MTgase e 80 min TF.

PC = ponto central (experimentos F5, F6 e F7).

MTgase= enzima transglutaminase microbiana; TF= Tempo de fermentação



F1=0,5% MTgase e 60 min TF; F2= 1,5% MTgase e 60 min TF; F3= 0,5% MTgase e 100 min TF; F4= 1,5% MTgase e 100 min TF; PC= 1,0% MTgase e 80 min TF.

PC = ponto central (experimentos F5, F6 e F7).

MTgase= enzima transglutaminase microbiana; TF= Tempo de fermentação

Figura 34: Histograma de frequência para intenção de compra

Na Tabela 27 e na Figura 34 pode-se observar que apenas o ponto central (PC) apresentou um número maior de julgadores para a nota “5”, correspondente a “certamente compraria”, obtendo a maioria de julgadores na nota “4”, correspondente a “provavelmente compraria”, ou seja, teve maior aceitação de acordo com a avaliação dos julgadores. Nas formulações F1 (0,5% MTgase e 60 min TF) e F3 (0,5% MTgase e 100 min TF) houve o predomínio para a frequência de notas certamente não compraria, demonstrando que essas formulações foram menos preferidas pelos julgadores em relação às demais.

Morais et al. (2014) observaram que os consumidores apresentaram baixa intenção de compra em relação às amostras de pão de forma sem glúten com adição de prebióticos e edulcorantes. A maioria dos consumidores “provavelmente não compraria” as amostras avaliadas, seguidas pela opção de “tenho dúvida se compraria”.

Pereira et al. (2013), obtiveram, ao elaborar pães sem glúten de batata com farinha de chia, maior expectativa de compra para as formulações com menores percentuais de substituição, representada pelo termo “Certamente compraria” alcançando 40%.

A atitude positiva dos julgadores quanto à sua intenção de compra leva as formulações estudadas a merecerem atenção especial pois, apesar dos desenvolvimentos tecnológicos na área de alimentos, a presença de pães sem glúten no mercado, ainda é escassa (CAPRILES; ARÊAS, 2011).

O sucesso do alimento no mercado depende de seu desempenho junto ao consumidor. A determinação da aceitação e/ou preferência do produto se torna indispensável no processo de desenvolvimento de novos produtos, bem como no melhoramento de processos e na substituição de ingredientes.

4.5.1 Análise de componentes principais (ACP)

No gráfico da ACP (Figura 35) cada amostra de pão é representada por um ponto, no qual cada ponto corresponde ao valor médio atribuído pela equipe sensorial. Amostras similares ocupam regiões próximas no gráfico e são caracterizadas pelos vetores (atributos) que se apresentam mais próximos a elas. Observa-se que as amostras apresentam características sensoriais diferentes entre si visto que estão situadas em quadrantes diferentes.

A maior parte das variações que ocorreram entre as amostras foi explicada pelo Componente Principal 1, mas quando avaliada e associada ao Componente Principal 2 observou-se que os dois componentes explicaram 86,14% das informações contidas nos valores médios das sensoriais, isto é, a variabilidade entre as amostras pôde ser bem explicada utilizando apenas esses dois eixos.

Observa-se que a formulação PC (1,0% MTgase e 80 min TF) foi discriminada das demais formulações quanto ao sabor, maciez e impressão global enquanto a formulação F1 (0,5% MTgase e 60 min TF) foi discriminada pela aparência, aroma e cor do miolo. Não foram expostas por nenhum dos atributos sensoriais, as formulações F2 (1,5% MTgase e 60 min TF), F3 (0,5% MTgase e 100 min TF) e F4 (1,5% MTgase e 100 min TF), já que ambas as amostras se encontram distantes dos atributos no espaço vetorial e em quadrantes opostos, o que indica correlação negativa em quanto aos atributos sensoriais. Apesar de não serem discriminadas por nenhum atributo sensorial, essas formulações obtiveram boa qualidade global.

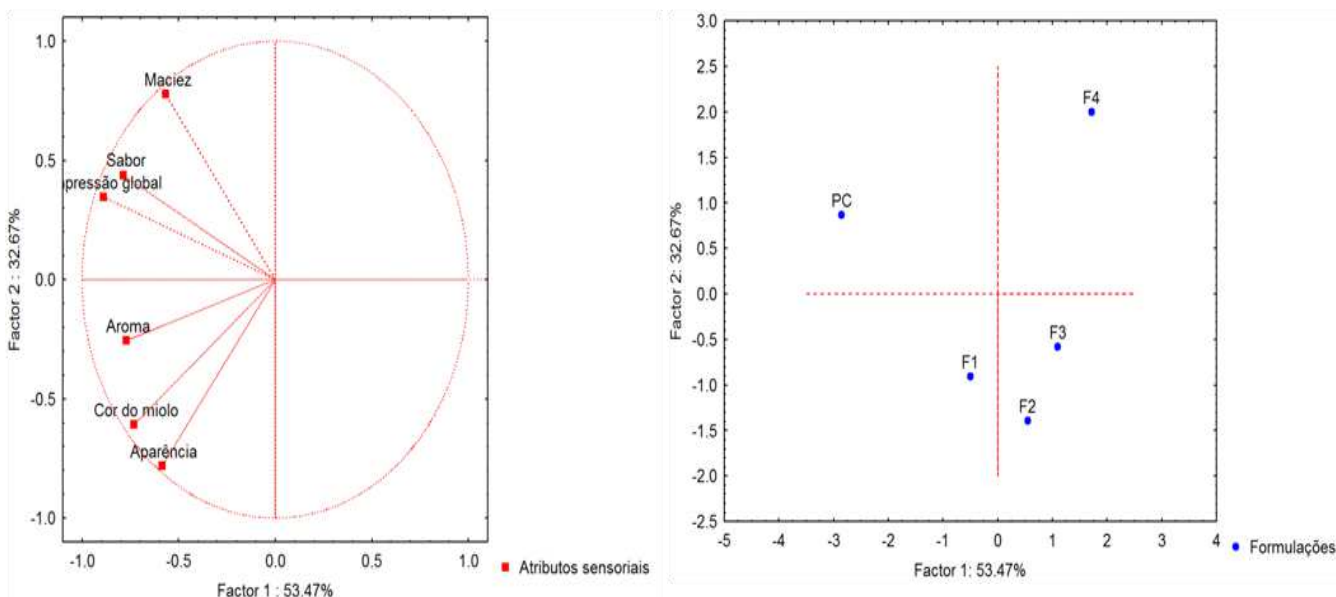


Figura 35: Bidimensional da Análise de Componentes Principais dos atributos sensoriais das amostras de pão sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina)

4.5.2 Mapa de preferência interno

A técnica mapa de preferência interno tem, como objetivo, aprimorar a análise das respostas hedônicas geradas pelos julgadores, fornecendo informações acerca de como os julgadores são segmentados em função de suas preferências em relação aos produtos avaliados, considerando as respostas individuais de cada consumidor.

Para obtenção do Mapa de Preferência Interno os dados de aceitação foram organizados numa matriz de amostras (em linhas) e consumidores (em colunas). Os dados foram submetidos à Análise de Componentes Principais (ACP) a partir da matriz de covariâncias.

As respostas individuais geraram um espaço sensorial multidimensional representado por dimensões que explicam a variação total das respostas. Foram utilizadas a primeira e a segunda dimensão geradas que, juntas, explicaram cerca de 70% da variabilidade das respostas, percentual reduzido mas comumente citado na literatura em mapas de preferência (NORONHA, 2003).

No espaço sensorial afetivo as amostras estão representadas por números enquanto os julgadores foram representados por pontos, que simbolizam a ponta de um vetor que indica a direção de preferência em relação ao conjunto de amostras. Desta forma, os julgadores se encontram alocados próximos às amostras que representam suas preferências individuais. Os julgadores situados próximos ao centro do gráfico não fizeram distinção entre as amostras.

Nas Figuras 36 a 41 se encontram os dendogramas e os mapas de preferência internos para a aparência, aroma, cor do miolo, sabor, maciez e impressão global e textura dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina). A escala multidimensional, que resulta no mapa de preferência interno, apresenta a dispersão espacial dos consumidores em relação às preferências pelos pães sendo que cada consumidor é representado como um ponto no espaço. A aglomeração espacial das amostras de pães sem glúten indica uma semelhança na aceitação das mesmas.

Numa tentativa de explorar melhor as informações fornecidas pela representação gráfica do Mapa de Preferência, foi realizada uma Análise de Agrupamento (*Cluster Analysis*), que resulta em um dendograma que agrupa as amostras de acordo com as preferências do consumidor.

A aplicação da escala multidimensional pode ser avaliada pelo “stress value”, valor este que, quando menor 0,01, indica que o modelo obtido está bem ajustado aos dados (JOHNSON; WICHERN, 1992; KRUSKAL; WISH, 1978). O “stress value”, neste trabalho, foi igual a 0,0000 para todos os atributos sensoriais.

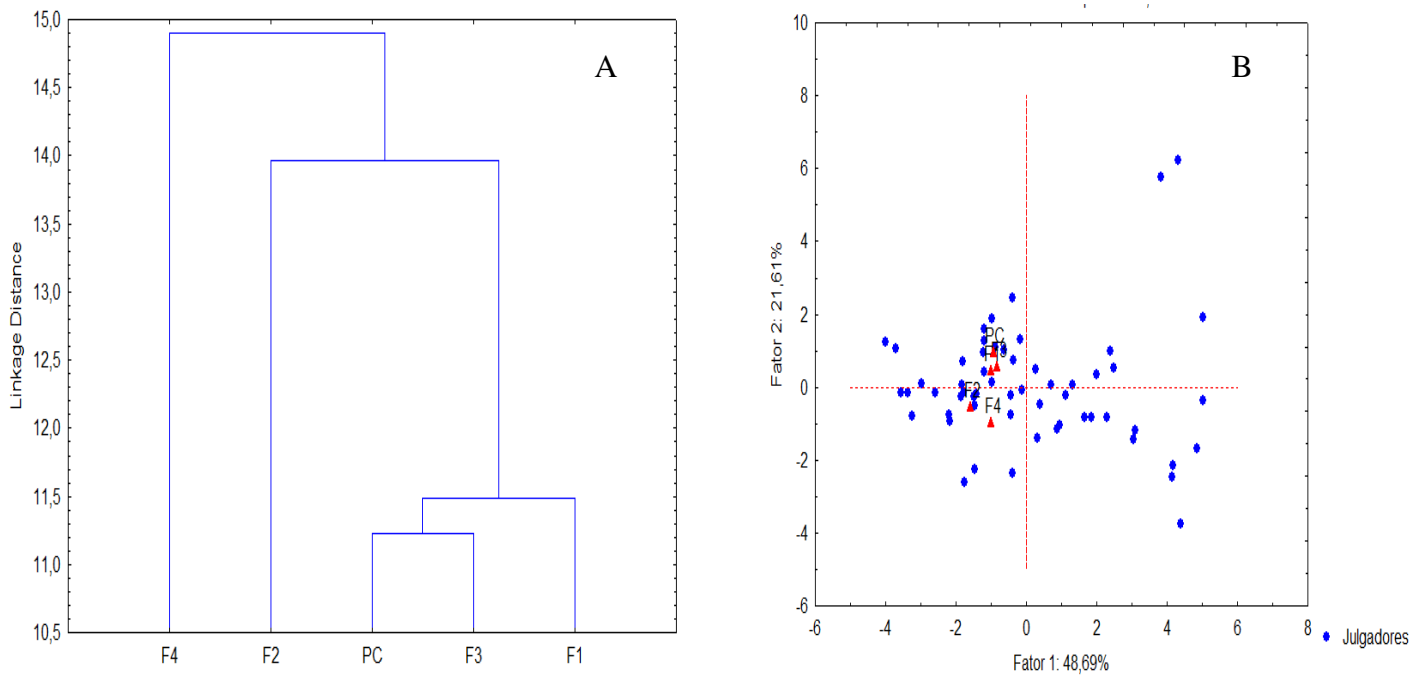


Figura 36: Dendrograma (A) e mapa de preferência interno (B) para o atributo aparência

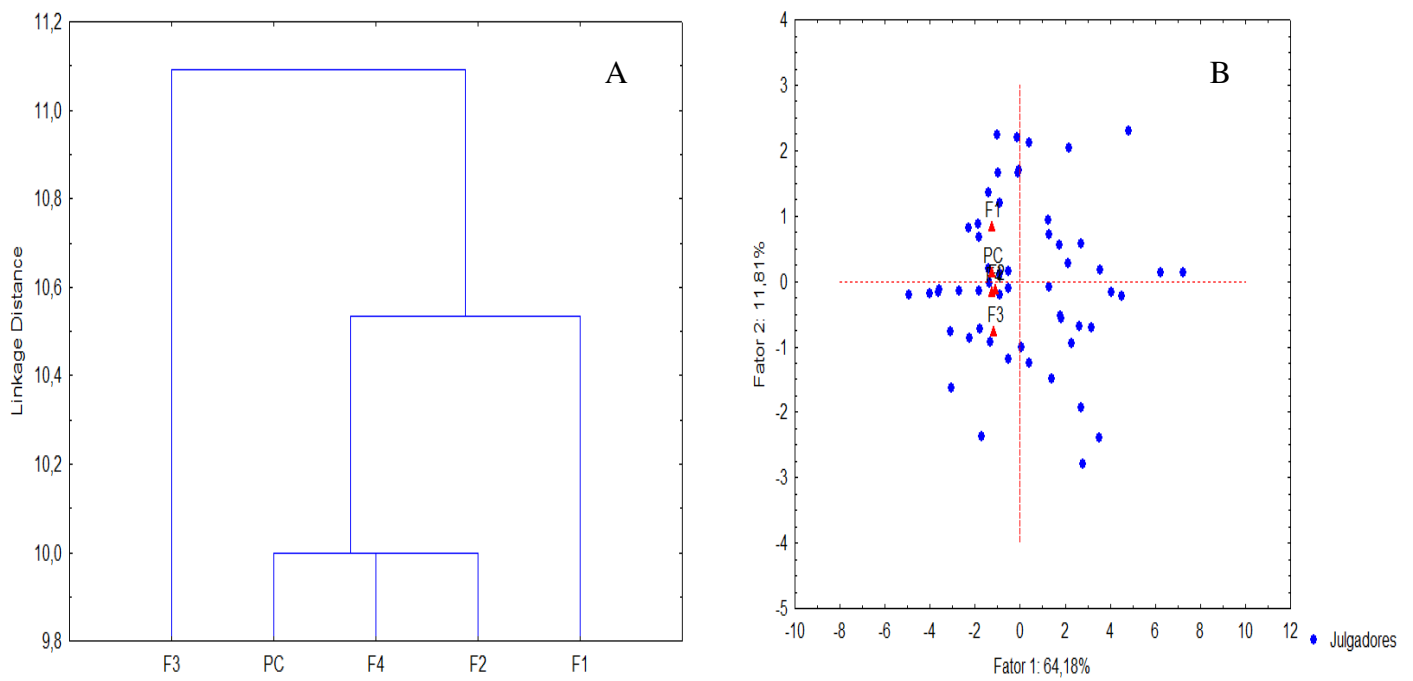


Figura 37: Dendrograma (A) e mapa de preferência interno (B) para o atributo aroma

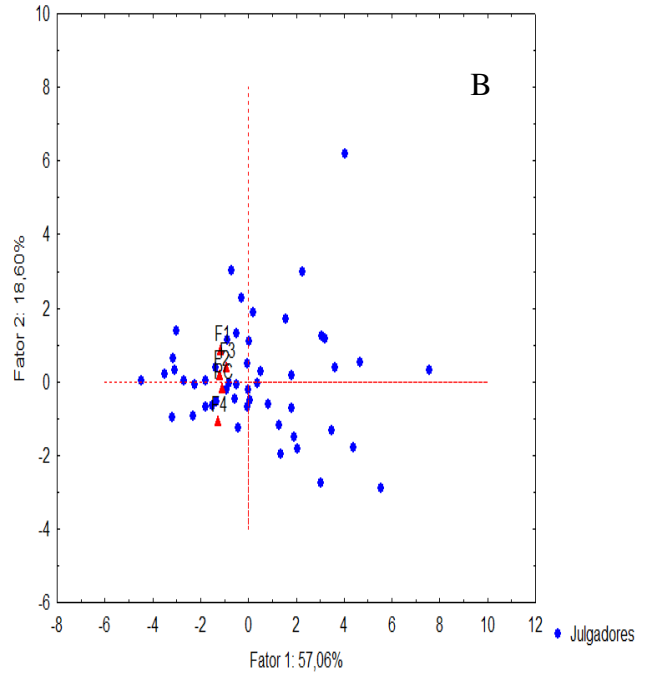
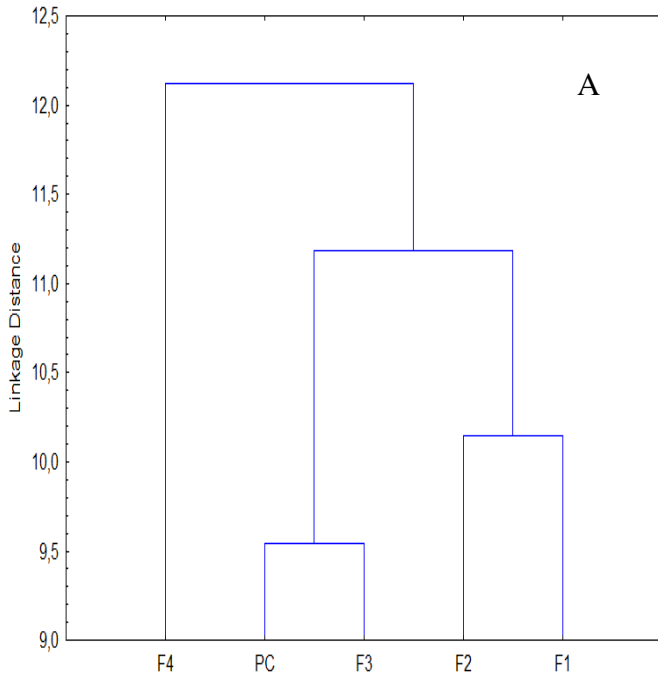


Figura 38: Dendrograma (A) e mapa de preferência interno (B) para o atributo cor do miolo

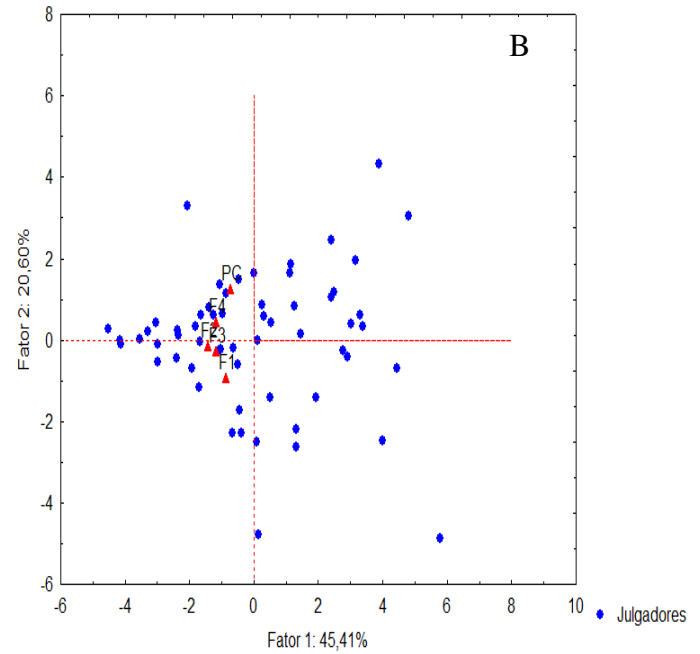
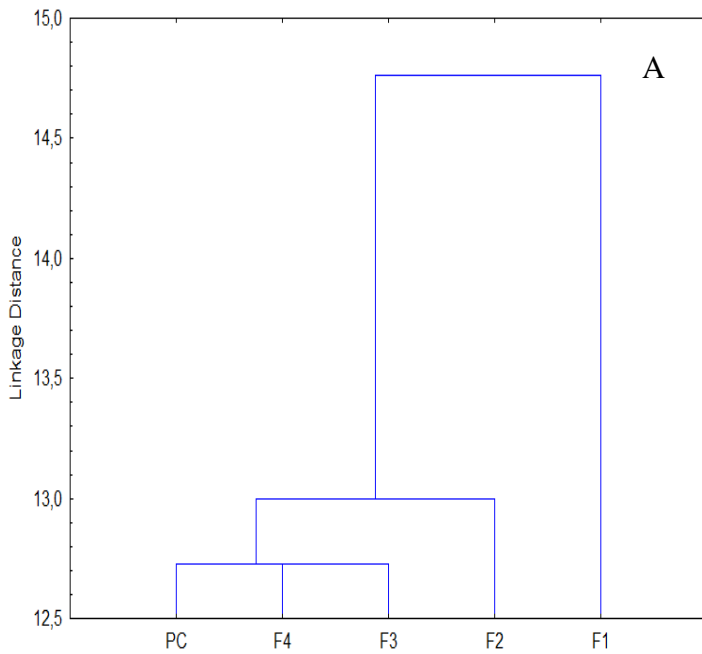


Figura 39: Dendrograma (A) e mapa de preferência interno (B) para o atributo sabor

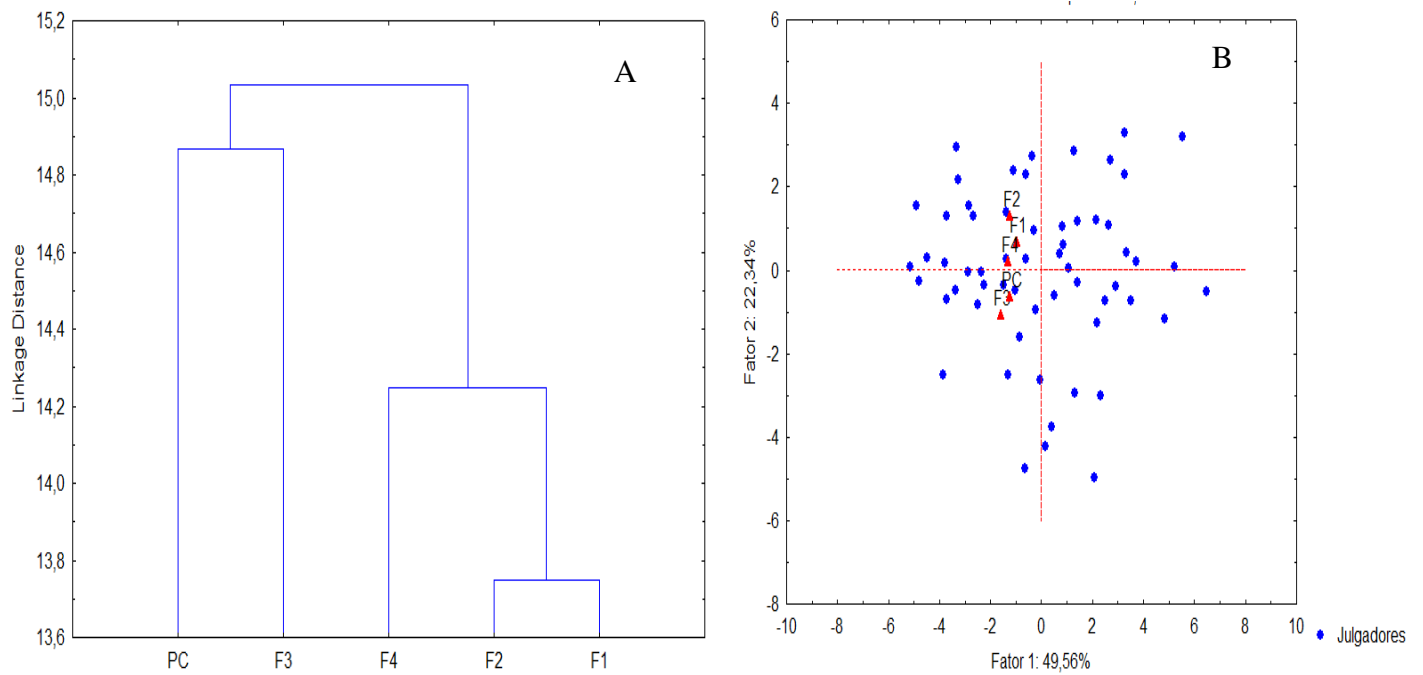


Figura 40: Dendrograma (A) e mapa de preferência interno (B) para o atributo maciez

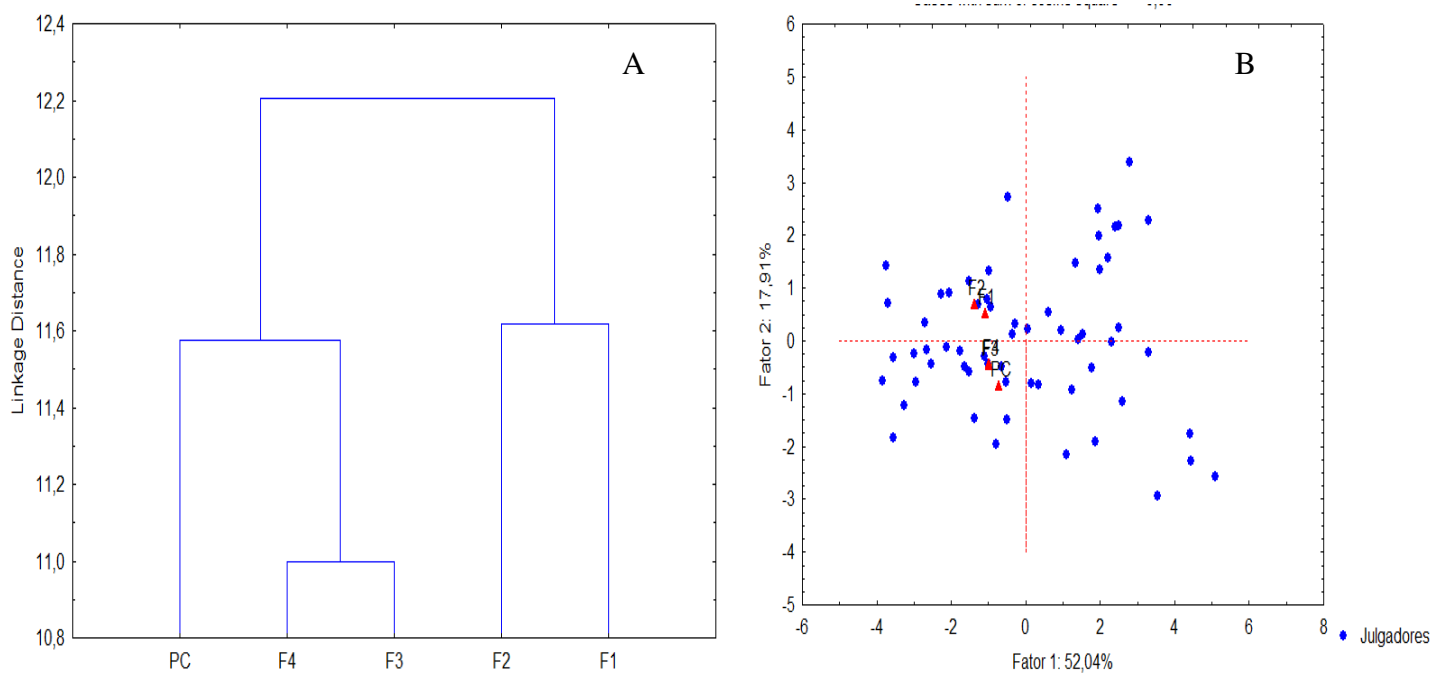


Figura 41: Dendrograma (A) e mapa de preferência interno (B) para o atributo impressão global

Observa-se nas Figuras 36A a 41^a, que para todos os atributos ocorreu a formação dos mesmos 2 grupos ou *clusters*: um grupo para as formulações F1 (0,5% MTgase e 60 min TF) e F2 (1,5% MTgase e 60 min TF) e um grupo para as formulações F3 (0,5% MTgase e 100 min TF), F4 (1,5% MTgase e 100 min TF) e PC (1,0% MTgase e 80 min TF).

Nas Figuras 36B a 41B, pode-se observar que todas as formulações obtiveram preferências semelhantes à dos julgadores, o que pode ser comprovado pelos valores médios obtidos e por não haver diferença significativa na maioria dos atributos sensoriais entre os pães. A maior dispersão espacial foi para os atributos aroma e maciez o que pode ser comprovado pelos valores obtidos para coeficiente de concordância (Tabela 26), que foram 29,3% e 19,89%, respectivamente.

Os julgadores também foram separados em dois grupos distintos: o primeiro situado à esquerda, que preferiu todas as formulações e o segundo situado à direita que não preferiram nenhum dos pães, o que é demonstrado pelos pontos afastados de todas as amostras.

4.6 Armazenamento dos pães sem glúten

O processo de congelamento em panificação é amplamente utilizado para melhorar a disponibilidade de pão fresco para o consumidor. As consequências do congelamento na massa e no pão de trigo, bem como a forma de reduzir seus impactos negativos, têm sido estudadas durante anos. No entanto, poucos trabalhos relatam estudos sobre pães sem glúten.

Massas congeladas fazem parte de uma tecnologia emergente na área de panificação, pois permitem que pães sejam produzidos industrialmente em escala e assados no ponto de venda; no entanto, o processo de congelamento é muito agressivo à massa e se dá grande perda de qualidade quando os produtos são assados. Este problema é solucionado quando enzimas que reforçam o glúten e disponibilizam açúcares para o fermento são adicionadas à massa. O desafio de fazer um pão de qualidade sem glúten é enorme e enzimas como transglutaminases podem ajudar nesse processo.

Nas Tabelas 28 a 35 e nas Figuras 42 a 49 se encontram os comportamentos das variáveis: teor de água, pH, acidez, volume específico, firmeza, luminosidade (L*), intensidade de amarelo (+b*) e intensidade de vermelho (+b*) das cinco formulações de pães

sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase e prebiótico (inulina), durante o armazenamento por 90 dias sob congelamento à -18 °C.

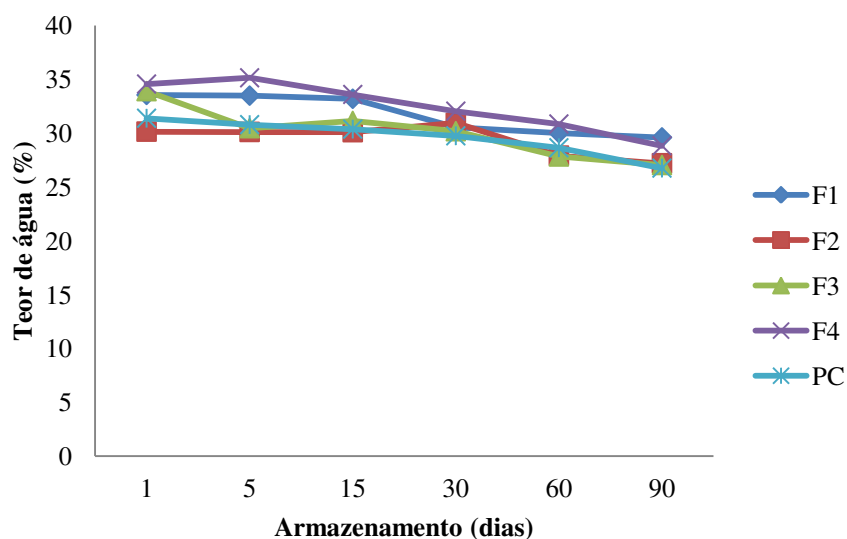
Tabela 28: Comportamento da variável teor de água durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

Período de armazenamento (dias)	F1	F2	F3	F4	PC
1	33,54 aC	30,13 bE	33,89 aB	34,55 bA	31,37 aD
5	33,47 bB	30,10 bcE	30,45 cD	35,13 aA	30,78 bC
15	33,18 cB	30,08 cE	31,12 bC	33,58 cA	30,36 cD
30	30,54 dC	30,94 aB	30,17 dD	32,03 dA	29,74 dE
60	30,00 eB	27,90 dD	27,82 eE	30,84 eA	28,63 eC
90	29,59 fA	27,19 eC	27,03 fD	28,82 fB	26,74 fE

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

F1-0,5% MTgase e 60 min TF; F2- 1,5% MTgase e 60 min TF; F3- 0,5% MTgase e 100 min TF; F4 1,5% MTgase e 100 min TF; PC: F5, F6 e F7= 1,0% MTgase e 80 min TF

MTgase: Enzima transglutaminase microbiana; TF: Tempo de fermentação



F1: $y = -0,937x + 35,00$; F2: $y = -0,584x + 31,43$; F3: $y = -1,2326x + 34,39$; F4: $y = -1,2306x + 36,79$; PC: $y = -0,8634x + 32,65$

Figura 42: Comportamento da variável teor de água durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

Analisando os resultados da Tabela 28 e Figura 42, observa-se que houve diminuição linear no valor da variável teor de água, para todos os experimentos. Os valores no início do armazenamento variaram de 30,13 a 34,55% e após 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C eles foram de 26,74 a 29,59%. Em razão da inexistência de um referencial de umidade para pão sem glúten na legislação brasileira, foi utilizada a RDC n.º 90, já revogada. O valor do teor de água registrado para o pão sem glúten tipo francês corrobora com o valor recomendado que estabelece teor máximo de 38% (BRASIL, 2000).

Comparando as cinco formulações de pão sem glúten entre si, percebe-se que houve diferença estatística da atividade de água a 5% de probabilidade, de acordo com o teste de Tukey. Os pães pré-assados podem perder água nas etapas de congelamento e de estocagem congelada. A presença de fibra na formulação através da adição da farinha de arroz vermelho e do prebiótico (inulina), pode ter ajudado o pão a reter a quantidade de água necessária para inibir a formação das ligações de hidrogênio entre os polímeros de amido e entre amido e as proteínas. A água retida também pode ter favorecido uma minimização de mudanças elástico-plásticas relacionadas à modificação da estrutura do amido.

Para as formulações com os menores tempos de fermentação: F1 (0,5% MTgase e 60 min TF), F2 (1,5% MTgase e 60 min TF) e PC (1,0% MTgase e 80 min TF), nota-se uma perda menor de água entre o período inicial de armazenamento (tempo 01) e 15 dias de armazenamento. A partir desse período o teor de água vai sendo reduzido de forma significativa até o período de 90 dias de armazenamento.

As formulações dos pães sem glúten deste trabalho contêm diferentes fontes de amidos como arroz, polvilho doce; o conteúdo de amido é maior em pães sem glúten do que em pães de trigo. Durante o congelamento o amido pode sofrer danos, absorvendo menos água. Leray et al. (2010) estudaram o armazenamento de pães sem glúten com farinha de amaranto sob congelamento a -18 °C e verificaram que o teor de água diminuiu de 46,25 para 45,63% em 28 dias, resultado este próximo ao observado no presente estudo.

As formulações de pão sem glúten foram compatíveis com os valores encontrados por Pagliarini, Laureati e Lavelli (2010) em seis marcas italianas de pães sem glúten e por Matos e Rosell (2012) em onze diferentes formulações de pães sem glúten comerciais.

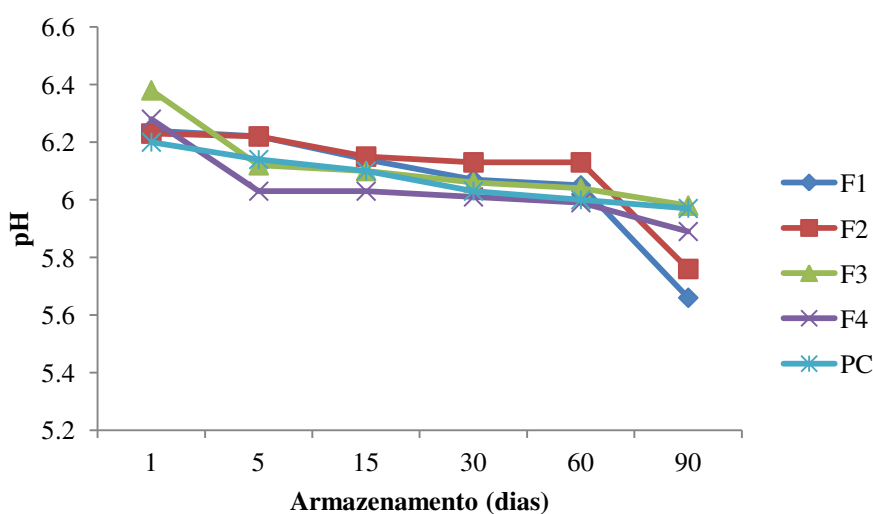
Tabela 29: Comportamento da variável pH durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

Período de armazenamento (dias)	F1	F2	F3	F4	PC
1	6,24 aA	6,23 aA	6,38 aA	6,28 aA	6,20 aA
5	6,22 aA	6,22 aA	6,12 abA	6,03 abA	6,14 aA
15	6,14 aA	6,15 aA	5,77 cB	6,03 abA	6,10 aA
30	6,07 aA	6,13 aA	6,06 bA	6,01 bA	6,03 aA
60	6,05 aA	6,13 aA	6,04 bA	5,99 bA	6,00 aA
90	5,66 bB	5,76 bAB	5,98 bcA	5,89 bAB	5,97 aA

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

F1-0,5% MTgase e 60 min TF; F2- 1,5% MTgase e 60 min TF; F3- 0,5% MTgase e 100 min TF; F4 1,5% MTgase e 100 min TF; PC: F5, F6 e F7= 1,0% MTgase e 80 min TF

MTgase: Enzima transglutaminase microbiana; TF: Tempo de fermentação



F1: $y = -0,0994x + 6,413$; F2: $y = -0,0754x + 6,3673$; F3: $y = -0,0651x + 6,3413$; F4: $y = -0,0597x + 6,2473$; PC: $y = -0,0469x + 6,2373$

Figura 43: Comportamento da variável pH durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

Após análise dos resultados da Tabela 29 verifica-se, comparando as cinco formulações de pão sem glúten, que os valores médios da variável pH foram estatisticamente iguais, na maior parte do período de 90 dias de armazenamento.

Houve um decréscimo do pH para todas as formulações entre os dias 1 e dias 5 de armazenamento; posteriormente, notou-se uma manutenção do pH entre 05 e 60 dias, exceto para a formulação F3 no período de 15 dias de armazenamento e após este período ocorreu novamente um decréscimo do pH até o final do armazenamento, para todas as formulações. As formulações com os menores tempos de fermentação F1 e F2 (60 minutos) obtiveram o menor valor de pH ao final dos 90 dias de armazenamento.

O valor do pH está diretamente relacionado com os ingredientes presentes na formulação dos pães. Para o polvilho doce a média dos valores de pH encontrado foi de 6,76. A maioria dos trabalhos realizados com pães sem glúten cita a redução do pH como responsável pelas mudanças tecnológicas da massa e nutricionais e de conservação do pão (KOMLENIC et al., 2010).

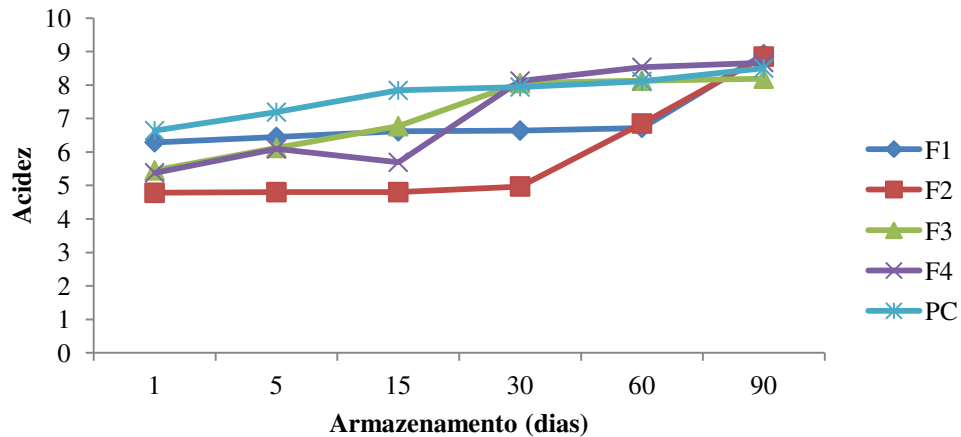
Tabela 30: Comportamento da variável acidez durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

Período de armazenamento (dias)	F1	F2	F3	F4	PC
1	6,29 eB	4,78 dE	5,45 fC	5,38 fD	6,64 fA
5	6,45 dB	4,80 dD	6,12 eC	6,09 dC	7,19 eA
15	6,62 cC	4,80 dE	6,77 dB	5,69 eD	7,84 dA
30	6,64 cD	4,97 cE	8,06 cB	8,12 cA	7,94 cC
60	6,72 bD	6,85 bC	8,13 bB	8,53 bA	8,11 bB
90	8,92 aE	8,85 aD	8,19 bB	8,67 bA	8,50 bC

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

F1-0,5% MTgase e 60 min TF; F2- 1,5% MTgase e 60 min TF; F3- 0,5% MTgase e 100 min TF; F4 1,5% MTgase e 100 min TF; PC: F5, F6 e F7= 1,0% MTgase e 80 min TF

MTgase: Enzima transglutaminase microbiana; TF: Tempo de fermentação



F1: $y=0,3994x+5,542$; F2: $y=0,762x+3,1747$; F3: $y=0,6006x+5,018$; F4: $y=0,7486x+4,46$; PC: $y=0,3474x+6,4873$

Figura 44: Comportamento da variável acidez durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

A acidez fornece valores para avaliar o estado de conservação dos alimentos e apresentou resultados semelhantes entre as formulações apesar de haver diferença estatística significativa ($p < 0,05$). Houve um aumento da acidez para as formulações submetidas a menores tempos de fermentação (F1, F2 e PC) a partir de 30 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C. As formulações F3 e F4 (100 minutos de fermentação) obtiveram aumento na acidez com 5 dias de armazenamento.

Pereira et al. (2004) estudaram diferentes tipos de polvilho, formulações de massas não congeladas e congeladas na caracterização física, química, estrutural e sensorial do pão de queijo e constataram que os valores mais baixos de pH e mais elevados de acidez titulável são justificados pela intensidade da atividade microbiana, que aumenta com o aumento da fermentação da fécula.

A degradação proteica, proteólise, ocorre através da seguinte ação: algumas bactérias ácido-láticas produzem proteases, além de acidificar o meio que, por consequência, ativa a protease presente naturalmente na farinha. Um processo de decomposição, seja por hidrólise, oxidação ou fermentação, altera quase sempre a concentração dos íons de hidrogênio. Os pães produzidos neste trabalho apresentaram forte sabor ácido.

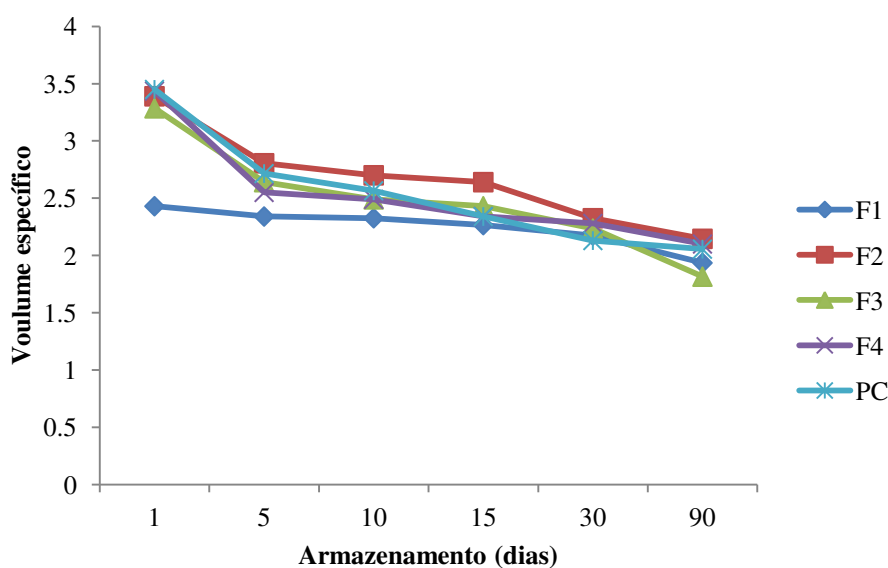
Comparando as Figuras 43 e 44, observa-se que, conforme ocorre o aumento da acidez, há uma diminuição do pH e vice-versa. Essa relação inversa entre pH e acidez também foi destacada por Miranda e El-Dash (2002) para farinha de trigo e por Ruiz et al. (2003) para farinha de arroz.

Tabela 31: Comportamento da variável volume específico durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

Período de armazenamento (dias)	F1	F2	F3	F4	PC
1	2,43 aD	3,39 aB	3,28 aC	3,43 aAB	3,45 aA
5	2,34 bE	2,80 bA	2,64 bC	2,55 bD	2,71 bB
15	2,32 bD	2,70 cA	2,49 cC	2,49 cC	2,56 cB
30	2,26 cD	2,64 dA	2,43 cB	2,34 dC	2,34 dC
60	2,17 dC	2,32 eA	2,23 dB	2,28 eAB	2,13 eC
90	1,93 eC	2,14 fA	1,81 eD	2,10 fAB	2,05 fB

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

F1-0,5% MTgase e 60 min TF; F2- 1,5% MTgase e 60 min TF; F3- 0,5% MTgase e 100 min TF; F4 1,5% MTgase e 100 min TF; PC: F5, F6 e F7= 1,0% MTgase e 80 min TF. MTgase: Enzima transglutaminase microbiana; TF: Tempo de fermentação



F1: $y = -0,0866x + 2,548$; F2: $y = -0,2207x + 3,44$; F3: $y = -0,2464x + 3,345$; F4: $y = -0,2181x + 3,295$; PC: $y = -0,2559x + 3,438$

Figura 45: Comportamento da variável volume específico durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

Analisando os resultados da Tabela 31 e Figura 45, percebe-se que a variável volume específico apresentou diferença estatística durante o armazenamento por 90 dias. Ocorreu diminuição do volume específico em relação aos dias de armazenamento sob congelamento.

Pode-se observar que as formulações F2 e F4, que continham maior teor de enzima na sua formulação (1,5%) obtiveram maior volume específico ao final do armazenamento com valores de 2,14 e 2,10 cm³ 100g⁻¹, respectivamente.

Este impacto negativo já foi largamente discutido para pães de trigo (GIANNOU; TZIA, 2007; DODIC ET AL., 2007; MANDALA; KAPETANAKOU; KOSTAROPOULOS, 2008). Dodic et al. (2007) observaram uma diminuição de 5% do volume específico para pães armazenados a -18 °C durante uma semana. Este trabalho sofreu diminuição média do volume específico de 36,6% em 90 dias de armazenamento, além de uma perda de volume específico devido ao passo de congelamento crítico para o pão sem glúten, em virtude ao pequeno volume específico normalmente obtido para esse tipo de pão; de fato, o volume específico de pão de trigo é pelo menos duas vezes superior ao volume específico de produtos sem glúten, o que é explicado pela presença da rede de glúten.

Bárcenas e Rosell (2006) não verificaram efeito significativo no volume específico do pão reassado devido ao período de estocagem congelada. Carr et al. (2006) verificaram que o peso e o volume específico dos pães pré-assados, congelados e estocados congelados por até 7 dias e reassados foram mais baixos que os seus respectivos sem estocagem congelada.

Outro fator importante na qualidade dos produtos armazenados sob congelamento é a influência do tempo de armazenamento. A estrutura da matriz proteica parece ficar interrompida durante o armazenamento prolongado e repetidos ciclos de congelamento e descongelamento, resultando no enfraquecimento das propriedades de força da massa, perda de retenção de gás e deterioração da qualidade do produto (YI; KERR, 2009).

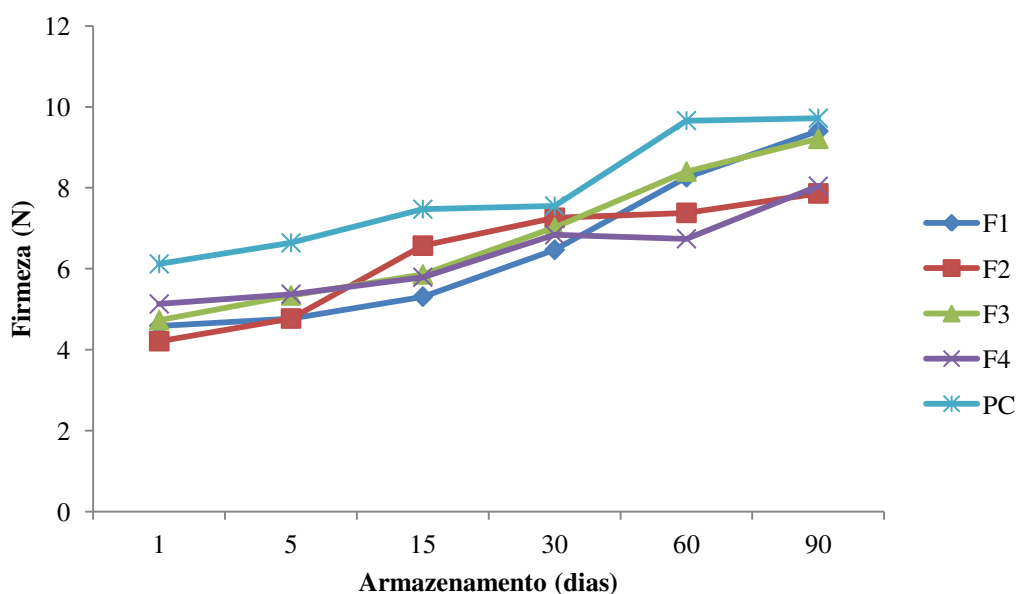
Tabela 32: Comportamento da variável firmeza durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

Período de Armazenamento (dias)	F1	F2	F3	F4	PC
1	4,58 eC	4,21 dC	4,73 fC	5,13 eB	6,12 bA
5	4,77 fD	4,77 eE	5,34 dB	5,79 dC	6,64 cA
15	5,31 dD	6,71cA	5,87 eD	5,37 cC	7,47 dB
30	6,46 cE	7,26 bB	7,02 cC	6,84 bD	7,55 bA
60	8,26 aA	7,38 bD	8,40 aB	6,74 bE	9,66 aC
90	9,40 bC	7,86 aE	9,21 bB	8,04 aD	9,72 aA

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

F1-0,5% MTgase e 60 min TF; F2- 1,5% MTgase e 60 min TF; F3- 0,5% MTgase e 100 min TF; F4 1,5% MTgase e 100 min TF; PC: F5, F6 e F7= 1,0% MTgase e 80 min TF

MTgase: Enzima transglutaminase microbiana; TF: Tempo de fermentação



F1: $y=1,019x+2,8985$; F2: $y=0,7649x+3,6647$; F3: $y=0,9354x+3,486$; F4: $y=0,5629x+4,3487$; PC: $y=0,7754x+5,146$

Figura 46: Comportamento da variável firmeza durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

Percebe-se, analisando a Tabela 32, alterações significativas na firmeza dos pães sem glúten a um nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey e que os valores médios de firmeza foram estatisticamente diferentes na maior parte do período de armazenamento, com comportamento crescente durante 90 dias de armazenamento. Deve-se levar em consideração a diferença inicial de firmeza entre as formulações de pão sem glúten que pode ser atribuída à diferença de quantitativo de teor de enzima transglutaminase microbiana nas formulações.

Para as formulações F1, F3 e PC que continham os menores teores de enzima MTgase 0,5 e 1,0%, respectivamente, observa-se o maior aumento de firmeza entre o período inicial de armazenamento (tempo 01) e 60 dias de armazenamento. A partir deste período a firmeza vai sendo reduzida de forma significativa até o período de 90 dias de armazenamento; no presente estudo a firmeza dos pães está inversamente correlacionada ao volume específico.

Bárceñas e Rosell (2006) relatam a alteração da firmeza durante o período de estocagem congelada como consequência da degradação da estrutura do miolo promovida pelo crescimento dos cristais de gelo durante a estocagem congelada. Os cristais danificam a rede proteica formada pelas proteínas desnaturadas as quais são responsáveis pela estrutura do miolo. O dano aumenta com o descongelamento e assamento. A redução no conteúdo de umidade favorece a formação de ligações de hidrogênio entre os polímeros de amido e entre o amido e as proteínas, o que proporciona maior firmeza.

Mezaize et al. (2010) encontraram aumento de 40% da firmeza em pães sem glúten sob armazenamento congelado comparado com a temperatura ambiente. Outros autores também obtiveram resultados semelhantes para pães de trigo (Sharadanant; Khan, 2013; Bhattacharya; Langstaff; Berzonsky, 2013; Giannou; Tzia, 2007). Um aumento na firmeza em torno de 15% foi encontrada por Bhattacharya, Langstaff e Berzonsky (2013) para pães armazenados durante um mês, a -28 °C.

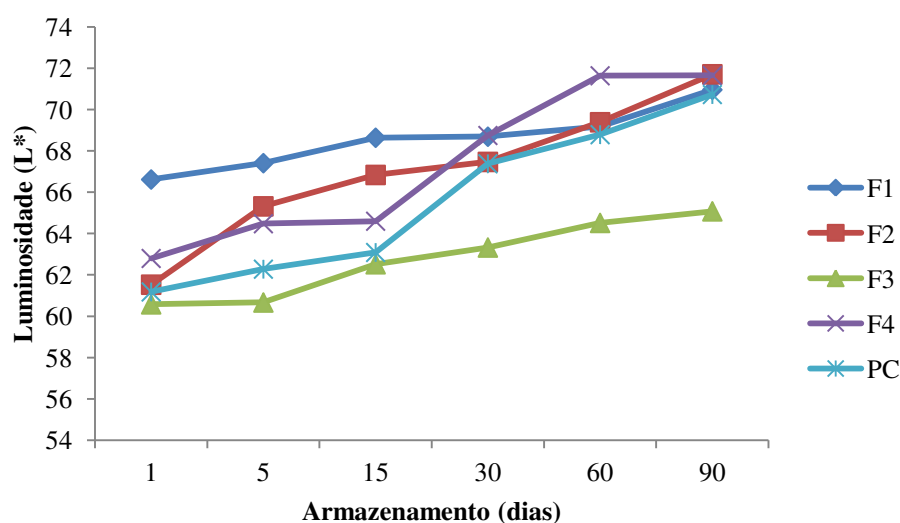
Tabela 33: Comportamento da variável Luminosidade (L*) durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

Período de armazenamento (dias)	F1	F2	F3	F4	PC
1	66,62 cA	61,53 dB	60,58 cB	62,80 cB	61,18 cB
5	67,41 bcA	65,32 cAB	60,67 cD	64,48 cBC	62,28 cCD
15	68,64 abcA	66,84 cAB	62,52 bcC	64,60 cBC	63,09 cC
30	68,69 abcA	67,47 bcA	63,33 abB	68,75 bA	67,38 bA
60	69,18 abB	69,39 abAB	61,19bcC	71,64 aA	68,79 abB
90	70,96 aA	71,71 aA	65,08 aB	71,65 aA	70,73 aA

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

F1-0,5% MTgase e 60 min TF; F2- 1,5% MTgase e 60 min TF; F3- 0,5% MTgase e 100 min TF; F4 1,5% MTgase e 100 min TF; PC: F5, F6 e F7= 1,0% MTgase e 80 min TF

MTgase: Enzima transglutaminase microbiana; TF: Tempo de fermentação



F1: $y=0,773x+65,877$; F2: $y=1,8211x+60,669$; F3: $y=0,996x+59,297$; F4: $y=1,996x+60,332$; PC: $y=2,045x+58,418$

Figura 47: Comportamento da variável luminosidade (L*) durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

Analisando os resultados da Tabela 33 e a Figura 47, percebe-se que a variável luminosidade (L*) apresentou diferença estatística significativa ($p<0,05$), quando comparada

às cinco formulações de pão sem glúten e comparando-as entre si, durante 90 dias de armazenamento.

A variação da luminosidade (L^*) foi de 66,62 para 70,96, 61,53 para 71,71, 60,58 para 65,08, 62,80 para 71,65 e 61,18 para 70,73 para as formulações F1, F2, F3, F4 e PC, respectivamente. Verifica-se, em relação às cinco formulações, que as médias de luminosidade após 90 dias das formulações elaboradas com 1,5% de enzima MTgase (F2 e F4) foram maiores que as dos demais experimentos.

Com o aumento do período de armazenamento o parâmetro de luminosidade (L^*) foi aumentando, ou seja, os pães foram adquirindo coloração menos intensa. Devido à substituição da farinha de trigo pela farinha de arroz vermelho e polvilho doce, existe uma redução entre as ligações dos componentes presentes na mistura, resultado da exclusão do glúten, ocorrendo um desprendimento de algumas partículas de coloração mais clara do interior para superfície dos pães, o que justifica o aumento do parâmetro de luminosidade (L^*) (coloração mais clara).

A disponibilidade de água é um parâmetro importante na reação de Maillard, determinando a cor da crosta. O congelamento pode induzir a redistribuição da água no pão devido ao aumento do amido danificado favorecido pela cristalização da água. Este fenômeno pode ocorrer também na massa sem glúten com diferentes fontes de amido. Esta redistribuição da água para a região sem glúten pode, assim, modificar o desenvolvimento da cor e só então explicar tais diferenças

No estudo desenvolvido por Mezaize et al. (2010) para pão sem glúten, não houve efeito de congelamento em L^* . Já Sharadanant e Khan (2013) mostraram um impacto significativo do armazenamento congelado em pães de trigo sobre as características de cor (L^*). Esses autores identificaram que o parâmetro L^* do pão foi reduzido de 56,44 para 53,77 pelo armazenamento congelado de um dia e de 56,44 para 51,07 por um armazenamento congelado de quatro semanas.

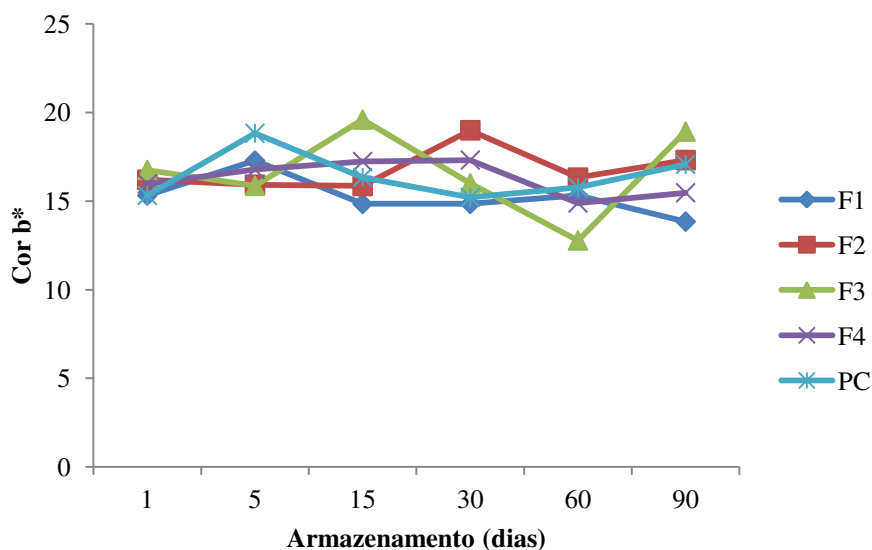
Tabela 34: Comportamento da variável b^* (intensidade do amarelo) durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$

Período de armazenamento (dias)	F1	F2	F3	F4	PC
1	15,31 bD	16,20 dB	16,75 cA	15,97 dC	15,32 eD
5	17,28 aB	15,92 eD	15,86 eE	16,78 cC	18,82 aA
15	14,84 cE	15,85 fD	19,60 aA	17,23 bB	16,33 cC
30	14,84 cE	18,99 aA	16,00 dC	17,31 aB	15,20 fD
60	15,31 bC	16,32 cA	12,78 fE	14,89 fD	15,76 dB
90	13,84 dE	17,31 bB	18,92 bA	15,47 eD	17,07 bC

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

F1-0,5% MTgase e 60 min TF; F2- 1,5% MTgase e 60 min TF; F3- 0,5% MTgase e 100 min TF; F4 1,5% MTgase e 100 min TF; PC: F5, F6 e F7= 1,0% MTgase e 80 min TF

MTgase: Enzima transglutaminase microbiana; TF: Tempo de fermentação



F1: $y=-0,3789x+16,563$; F2: $y=0,2826x+15,776$; F3: $y=-0,0569x+16,851$; F4: $y=-0,2311x+17,084$; PC: $y=-0,0446x+16,573$

Figura 48: Comportamento da variável b^* (intensidade do amarelo) durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$

Analisando a Tabela 34 e a Figura 48, constata-se que para essa variável intensidade de amarelo ($+b^*$), que não apresentou tendência definida em relação ao período de

armazenamento durante 90 dias, para todas as formulações. Observa-se que houve diferença estatística quando comparadas individualmente às cinco formulações e comparando-as entre si, durante todo o período avaliado.

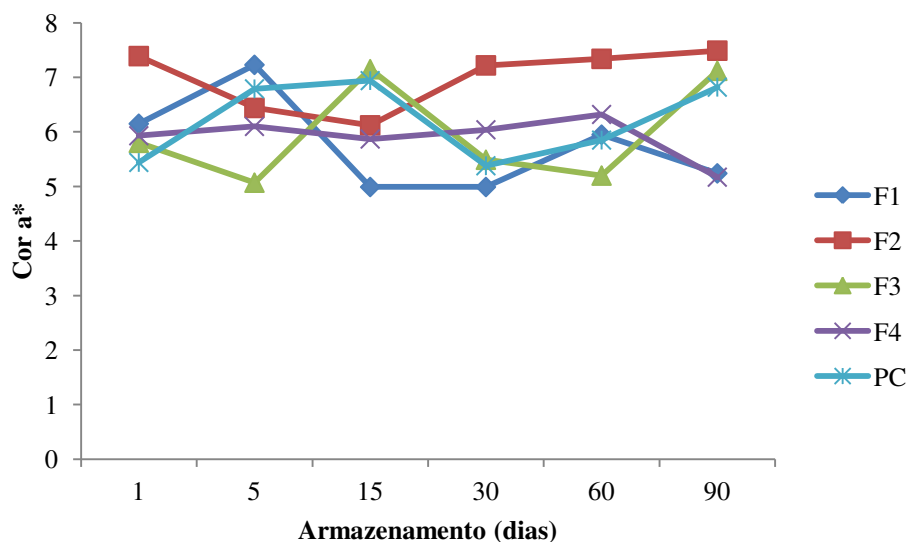
Tabela 35: Comportamento da variável a* (intensidade do vermelho) durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

Período de Armazenamento (dias)	F1	F2	F3	F4	PC
1	6,15 bB	7,39 bA	5,80 cD	5,93 dC	5,44 eE
5	7,23 aA	6,44 eC	5,07 fE	6,10 bD	6,79 cB
15	4,99 eE	6,12 fC	7,15 aA	5,87 eD	6,94 aB
30	4,99 eE	7,22 dA	5,49 dC	6,04 cB	5,38 fD
60	5,95 cC	7,34 cA	5,20 eE	6,32 aB	5,85 dD
90	5,24 dD	7,49 aA	7,12 bB	5,17 fE	6,82 bC

Médias seguidas da mesma letra minúscula nas colunas e maiúscula nas linhas não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

F1-0,5% MTgase e 60 min TF; F2- 1,5% MTgase e 60 min TF; F3- 0,5% MTgase e 100 min TF; F4 1,5% MTgase e 100 min TF; PC: F5, F6 e F7= 1,0% MTgase e 80 min TF

MTgase: Enzima transglutaminase microbiana; TF: Tempo de fermentação



F1: $y = -0,2397x + 6,597$; F2: $y = 0,1229x + 6,57$; F3: $y = 0,1523x + 5,4387$; F4: $y = -0,0849x + 6,202$; PC: $y = 0,072x + 5,9513$

Figura 49: Comportamento da variável a* (intensidade do vermelho) durante 90 dias de armazenamento sob congelamento a -18 °C

Analisando a Tabela 35 e a Figura 49, percebe-se que a variável intensidade de vermelho (+a*) apresentou diferença estatística significativa ($p < 0,05$), quando comparada às cinco formulações de pão sem glúten e comparando-as entre si, durante 90 dias de armazenamento.

Constata-se uma redução das médias da intensidade de vermelho (+a*) para as formulações F1 e F4, apesar da oscilação entre as médias em relação ao período de armazenamento por 90 dias. De modo geral, a intensidade de vermelho (+a*) segue o mesmo comportamento da variável intensidade de amarelo (+b*) dos pães sem glúten.

5 CONCLUSÕES

- A farinha de arroz vermelho pode ser utilizada como matéria-prima na indústria de panificação devido à sua qualidade nutricional, granulometria e características reológicas;
- Para os atributos teor de água e cor (L^* , a^* e b^*), não foi possível estabelecer modelos significativos;
- A adição de MTGase e a elevação do seu nível aumentaram o teor de água, o volume específico, a firmeza e a mastigabilidade dos pães;
- Para abranger o maior número de atributos otimizados, foi possível manter os níveis de teor de enzima transglutaminase microbiana entre 0,5 e 1,0% com o tempo de fermentação entre 60-80 (min);
- Todas as formulações foram aceitas sensorialmente, com médias acima de 6,0, exceto para o atributo maciez. Este aspecto necessita ser melhorado em pães sem glúten, pois produtos mais macios são os preferidos pelos consumidores;
- A formulação PC (1,0% MTgase e 80 min TF) foi a que apresentou os melhores atributos, maior aceitação e preferência 75,17% e 33,00% respectivamente, entre os julgadores; também foi a amostra que apresentou os maiores escores: 5 (certamente compraria) e escore 4 (possivelmente compraria) para a análise de intenção de compra;
- Com relação à análise de componentes principais, a formulação PC (1,0% MTgase e 80 min TF) foi melhor representada pelos atributos sensoriais: sabor, maciez e impressão global, confirmado pelas maiores notas obtidas em todos esses atributos. A formulação F1 (0,5% MTgase e 60 min TF) foi representada pelos atributos aparência, aroma e cor do miolo. As formulações F2 (1,5% MTgase e 60 min TF), F3 (0,5% MTgase e 100 min TF) e F4 (1,5% MTgase e 100 min TF) não foram expostas por nenhum dos atributos sensoriais;
- Decorrido o período de 90 dias de armazenamento ocorreu diminuição no teor de água, volume específico e pH dos pães sem glúten; já a firmeza, a acidez e o parâmetro de cor L^* , aumentaram durante o período de estocagem congelada;

- Os pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina) apresentaram características de qualidade aceitáveis durante o armazenamento sob congelamento a -18 °C, por 60 dias.
- A mescla das farinhas de arroz vermelho e polvilho doce permite a utilização em produtos de panificação isentos de glúten para o público celíaco, podendo ser também usada em outros estudos para aplicação em diversos produtos, ampliando o mercado de consumo;
- Portanto, a fabricação de pães com propriedades prebióticas contendo farinha de arroz vermelho e enzima transglutaminase microbiana é promissora, uma vez que os atributos físicos, químicos e sensoriais avaliados foram considerados satisfatórios.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Utilizar a análise sensorial descritiva quantitativa (ADQ) para criar um perfil descritivo dos pães sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico (inulina).
- Avaliar as mudanças estruturais dos pães elaborados com microscopia eletrônica de varredura e análises térmicas.
- Calcular o valor energético do pão sem glúten na melhor formulação (1,0% de MTgase e 80 min TF).
- Estudar a cinética de congelamento dos pães armazenados sob congelamento a -18 °C utilizando diferentes modelos matemáticos.
- Realizar teste de análise sensorial durante o período de armazenamento.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC. American Association of Cereal Chemists. **Approved methods of the AACC**. 10th ed. St. Paul, 2000. 417p.

AALMI, M.; LEELAVATHI, K. Effect of Microbial Transglutaminase on Spaghetti Quality. **Journal of Food Science**. v.73, n.5, p.306-312, 2008.

ABIMA. Associação Brasileira da Indústria de Massas Alimentícias. **Mercado nacional de pães e bolos**. Disponível em: <http://www.abima.com.br/est_mp_nacional.asp#consumo>. Acesso em: 20 mai. 2015.

ABIP. Associação Brasileira da Indústria de Panificação. **Performance do setor de panificação brasileiro em 2015**. Disponível em: <<http://www.abip.org.br/pdf/performancepanificacao.pdf>> Acesso em: 20 mai. 2016.

ABIP. Associação Brasileira da Indústria de Panificação. **Visão do setor de panificação e confeitaria para o futuro**. Disponível em: <<http://www.abip.org.br/site/visao-do-setor-de-panificacao-e-confeitaria-para-o-futuro/>> Acesso em: 08 fev. 2016.

ABNT. NBR ISO 12806 – Análise sensorial dos alimentos e bebidas, São Paulo: **Associação Brasileira de Normas Técnicas**, ano, 1993.

ACELBRA – Associação dos Celíacos do Brasil. Disponível em: <<http://www.ancelbra.org.br/2004/estatisticas.php>>. Acesso em: 17 jan. 2016.

AJINOMOTO **Food Ingredients** (2015). Disponível em: <<http://www.ajinomotofi.com.br/activa>> Acesso em: 17 jan. 2016.

ALENCAR, N. M. M.; STEEL, C. J.; ALVIM, I. D.; DE MORAIS, E. C.; BOLINI, H. M. A. Addition of quinoa and amaranth flour in gluten-free breads: Temporal profile and instrumental analysis. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 1011-1018, 2015.

ALMEIDA, C. A. N.; FERNANDES, G. C. Cereais integrais na alimentação infantil. **International Journal of Nutrology**, v. 4, n. 3, p. 46-52, 2011.

ALMEIDA, P. L.; GANDOLFI, L.; MODELLI, C.I.; MARTINS, C.R.; ALMEIDA, C.R.; RICCARDO, P. Prevalence of celiac disease among first degree relatives of brazilian celiac patients. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 45, n. 1, p. 69-72, 2008.

ALTAMIRANO-FORTOUL, R.; ROSELL, C. M. Physico-chemical changes in breads from bake off technologies during storage. **Food Science and Technology**, v. 44, p. 631-636, 2011.

ALVAREZ-JUBETE, L.; ARENDT, E. K.; GALLAGHER, E. Nutritive value of pseudocereals and their increasing use functional gluten-free ingredients. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, p.106-113, 2010.

ALVAREZ-JUBETE, L.; AUTY, M.; ARENDT, E. K.; GALLAGHER, E. Baking and function. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 49, p. 2.627-2.632, 2010.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4ed. Washington, DC, 2001.

ANDERSSON, H.; OHGREN, C.; JOHANSSON, D.; KNIOLA, M.; STADING, M. Extensional flow, viscoelasticity and baking performance of gluten-free zein-starch doughs supplemented with hydrocolloids. **Food Hydrocolloids**, v. 25, p. 1587-1595, 2011.

ANGIOLONI, A.; COLLAR, C. Gel, dough and fibre enriched fresh breads: Relationships between quality features and staling kinetics. **Journal of Food Engineering**, v.91, n. 4, p.526-532, 2009.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 263, de 22/09/2005**. Aprova o Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em: 25 abr. 2016.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 348, de 02/12/2003**. Aprova de forma complementar ao Anexo da Resolução CNNPA nº 24 de 1976, a utilização de enzimas na indústria de alimentos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>> Acesso em: 25 abr. 2016.

AOAC. **Crude Fiber Analysis in Feeds by Filter Bag Technique Ba 6a-05**. 2009

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16 ed. Gaitheersburg: AOAC, 1997.

APOLINARIO, A. C.; DAMASCENO, B. P. G. D.; BELTRAO, N. E. D.; PESSOA, A.; CONVERTI, A.; DA SILVA, J. A. Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. **Carbohydrate Polymers**, v. 101, p. 368-378, 2014.

ARAÚJO, H. M. C.; ARAÚJO, W.M.C.; BOTELHO, R.B.A; ZANDONADI, R.P. Doença celíaca, hábitos e práticas alimentares e qualidade de vida. **Revista de Nutrição**, v. 23, n. 3, p. 467-474, 2010.

ARAÚJO, M. A. **Química de Alimentos – Teoria e Prática**. Ed. Da Universidade Federal de Viçosa – UFV, Viçosa, Minas Gerais. 478, 2008.

ARENDT, E. K.; RENZATTI, S. Novel approaches in the design of gluten –free cereal products. In: ARENDT, E. K.; DAL BELLO, F. **The Science of Gluten-Free Cereal Foods and Beverages**. USA: AACC International, p.89-97, 2009.

ASCHERI, D. P. R.; BOENO, J. A.; BASSINELLO, P. Z.; ASCHERI, J. L. R. Correlation between grain nutritional content and pasting properties of pregelatinized red rice flour. **Revista Ceres**, Viçosa, v.59, n.1, p.16-24, 2012.

ASCHIERI, D. P. R.; DE ANDRADE, C. T.; DE CARVALHO, C. W. P.; ASCHERI, J. L. R. Obtenção de farinhas mistas pré gelatinizadas a partir de arroz e bagaço de jabuticaba: efeito das variáveis de extrusão nas propriedades de pasta. **Boletim Ceppa**, v.24, n 1, p.1-60, 2006.

BAIOCCHI, M. L. M. **Utilization of by-product of rice milling: development of modified flour as an alternative to the bakery industry**. 2011. 103 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias - Agronomia) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2011.

BARAK, S.; MUDGIL, D.; KHATKAR, B. S. Relationship of gliadin and glutenin proteins with dough rheology, flour pasting and bread making performance of wheat varieties. **LWT-Food Science and Technology**, v. 51, p. 211-217, 2013.

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

BARROS NETO, B.; SCARMÍNIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e Otimização de Experimentos**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2003.

BARTZ, J.; MADRUGA, K. M.; KLEIN, B.; PINTO, V. Z.; DIAS, A. R. G. Propriedades de pasta de amidos de arroz nativo e acetilados. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v. 15, p. 78-83, 2012.

BASSINELLO, P. Z.; SANTOS, D. C. dos; SILVA JÚNIOR, L. L.; NEVES, P. de C. F.; PEREIRA, J. A.; MORAIS, O. P. de; FONSECA, J. R.; CARVALHO, J. L. V. de; NUTTI, M. R.; MARTÍNEZ, C. Evaluación de los niveles de hierro y zinc en arroz blanco y rojo. In: **Reunión Anual del Programa Cooperativo Centroamericano para el Mejoramiento de**

Cultivos y Animales. San José, Costa Rica: Instituto Nacional de Innovación y Transferencia em Tecnología Agropecuária, 2008.

BHATTACHARYA, M.; LANGSTAFF, T. M.; BERZONSKY, W. A. Effect of frozen storage and freeze–thaw cycles on the rheological and baking properties of frozen doughs. **Food Research International**, v. 36, p. 365–372, 2013.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry Physiology**, n.37, p.911-917, 1959.

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

BOÊNO, J. A. **Caracterização da qualidade de grão de diferentes genótipos de arroz-vermelho (*Oryza sativa* L.)**. 2008. 106 f. Dissertação (Mestrado de) - Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2008.

BOÊNO, J. A. **Composição nutricional de grão de arroz-vermelho**. In: ENCONTRO CENTRO-OESTE DE DEBATES SOBRE ENSINO DE QUÍMICA, 16., 2009, Itumbiara. *Anais eletrônicos...* Itumbiara: ILES/ULBRA, 2009. Disponível em: <<http://web.ulbraitumbiara.com.br/ecodeq>> Acesso em: 21 mai. 2016.

BOENO, J. A.; ASCHERI, D. P. R.; BASSINELLO, P. Z. Qualidade tecnológica de grãos de quatro genótipos de arroz-vermelho. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.15, n.7, p. 718- 723, 2011.

BORGES, J. T. S.; ASCHERI, J. L. R.; ASCHERI, D. R.; DO NASCIMENTO, R. E.; FREITAS, A. S. Propriedades de cozimento e caracterização físico-química de macarrão pré-cozido à base de farinha integral de quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) e de farinha de arroz (*Oryza sativa*), polido por extrusão termoplástica. **Boletim Ceppa**, v. 21, n. 2, p. 303-322, 2003.

BRASIL - Lei nº 8543 de 23 de dezembro de 1992. **Determina a impressão e advertência de alimentos que contenham glúten**. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 20 jan. 2016.

BRASIL - Ministério da Saúde. Agência de Vigilância Sanitária. Resolução N° 263 de 22 de setembro de 2005. **Regulamento Técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 de setembro de 2005.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 12, de 02 de Janeiro de 2001. **Aprova o Regulamento Técnico, padrões microbiológicos para alimentos.** Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm> Acesso em: 14 abr. 2015.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lei nº 10.674, de 16 de maio de 2003. Obriga que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca. **Diário Oficial da União**, Brasília, 2003.

BRASIL. EMATER. **Seca prejudica o cultivo do arroz-vermelho na Paraíba.** Paraíba – PB. Emater, 2013. Disponível em: <http://g1.globo.com/economia/agronegocios/noticia/2013/08/seca-prejudica_o cultivo-do-arroz-vermelho-na-paraiba.html> Acesso em: 04 abr. 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 90, de 18 de outubro de 2000. **Aprova o regulamento técnico para a fixação de identidade e qualidade de pão.** Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil, Brasília, out. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria SAS/MS, nº307, de 17 de setembro de 2009. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas: Doença celíaca.** 2010. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/pcdt_doenca_celiaca_livro_2010.pdf> Acesso em: 15 abr. 2016.

CABALLERO, P. A.; BONET, A.; ROSELL, C. M.; GÓMEZ, M. Effect of microbial transglutaminase on the rheological and thermal properties of insect damaged wheat flour. **Journal of Cereal Science.** v.42, p.93-100, 2005.

CAPRILES, V. D.; ARÊAS, J. A. G. Avanços na produção de pães sem glúten: aspectos tecnológicos e nutricionais. **Boletim do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos**, v. 29, p. 129- 136, 2011.

CAPRILES, V. D.; ARÊAS, J. A. G. Effects of prebiotic inulin-type fructans on structure, quality, sensory acceptance and glycemic response of gluten-free breads. **Food & Function**, London, v. 4, n. 1, p. 104-110, 2012.

CAPRILES, V. D.; AREAS, J. A. Novel approaches in gluten-free breadmaking: ^ Interface between food science, nutrition, and health. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, p. 871- 890, 2014.

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

CATALADO, F.; MONTALTO, G. Celiac disease in the developing countries: A new and challenging public health problem. **World Journal of Gastroenterology**, v. 13, v. 15, p. 2153-2159, 2007.

CAUVAIN, S. P.; YOUNG, L. S. **Tecnologia da panificação**. 1.ed. Ed. Manolé. 2009.

CELESTINO, S.M.C. **Princípios de secagem de alimentos**. João Pessoa: Editora Embrapa Cerrados, 2010. 51p.

CEREDA, M. P - “**Propriedades gerais do amido**”, Fundação Cargill, São Paulo (2001).

CHAN, S.S.L.; FERGUSON, E.L.; BAILEY, K.; FAHMIDA, U.; HARPER, T.B.; GIBSON, R.S. The concentrations of iron, calcium, zinc and phytate in cereals and legumes habitually consumed by infants living in East Lombok, Indonesia. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 609–617, 2007.

CHANG, Y. K. Aplicação das fibras em panificação e seus benefícios à saúde. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIAS DE ALIMENTOS (SLACA), 7. 2007, Campinas. **Palestra Técnica**. Campinas: FEA, 2007, p. 39.

CHUNG, H. J.; LIU Q.; HOOVER, R. Impact of annealing and heat-moisture treatment on rapidly digestible, slowly digestible and resistant starch levels in native and gelatinized corn, pea and lentil starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, n. 3, p. 436-447, 2009.

CLERICI, M. T. P. S.; EL-DASH, A. A. Características tecnológicas de farinhas de arroz pré-gelatinizadas obtidas por extrusão termoplástica. **Ciências e Agrotecnologia, Lavras**, v. 32, n. 5, p. 1543-1550, 2008b.

CLERICI, M. T. P. S.; EL-DASH, A. Farinha extrusada de arroz como substituto de glúten na produção de pão de arroz. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**. v. 56, p. 1523-1536, 2008a.

CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. **Codex Stain 118-1979**: Codex standard for foods for special dietary use for persons intolerant to gluten. 2008, 3p. Disponível em: < <http://www.codexalimentarius.org/>>. Acesso em: 16 abr. 2016.

COLLAR, C.; BOLLAÍN, C.; ANGIOLONI, A. Significance of microbial transglutaminase on the sensory, mechanical and crumb grain pattern of enzyme supplemented fresh pan breads. **Journal of Food Engineering**. v.70, p.479-488, 2005.

CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE – CNS. Resolução 466 nº12 de Dezembro de 2012. **Aprova diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos.** Disponível em: <http://conselho.saude.gov.br/resolucoes/2012/Reso466.pdf>. Acesso em: 25 fev. 2016.

CORNEJO, F.; ROSELL, C. M. Physicochemical properties of long rice grain varieties in relation to gluten free bread quality. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, p. 1203-1210, 2015.

CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E. S.; CARVALHO, A. J. F.; CURVELO, A. A. S.; MATTOSO, L. H. C. Mechanical and morphological characterization of starch/zein blends plasticized with glycerol. **Polímeros**, v. 15, p.4133-4139, 2005.

COZZOLINO, D.; ALLDER, K.; ROUMELIOTIS, S.; EGLINTON, J. Feasibility study on the use of multivariate data methods and derivatives to enhance information from the Rapid Visco Analyser. **Journal of Cereal Science**, v. 56, p. 610-614, 2012.

CUI, L.; DU, G.; ZHANG, D. Purification and characterization of transglutaminase from a newly isolated *Streptomyces hygroscopicus*. **Food Chemistry**, v.105, p. 612-618, 2007.

DANIELS, I.; GLORIEUX, J.; MINNEN, T. P.; TIENOVEN, V.; WEENAS, D. Convenience on the menu? A typological conceptualization of family food expenditures and food-related time patterns. **Social Science Research**, v. 51, 2015.

DE LA HERA, E.; TALEGÓN, M.; CABALLERO, P.; GÓMEZ, M. Influence of maize flour particle size on gluten-free breadmaking. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, p. 924-932, 2013.

DEMIRKESEN, I.; MERT, B.; SUMNU, G.; SAHIN, S. Rheological properties of gluten-free bread formulations. **Journal of Food Engineering**, v.96, n.2, p.295–303, 2010.

DEORA, N.S.; DESWAL, A.; MISHRA, H. N. Alternative approaches towards gluten-free dough development: recent trends. **Food Engineering Reviews**, v. 6, p. 89-104, 2014.

DIAS, A.R.G.; ZAVAREZE, E.R.; ELIAS, M.C.; HELBIG, E.; da SILVA, D. O.; CIACCO, F. C. Pasting, expansion and textural properties of fermented cassava starch oxidised with sodium hypochlorite, **Carbohydrate Polymers**, 2011, 84, 268-275.

DO NASCIMENTO, A. B.; FIATES G. M. R.; TEIXEIRA, E. We want to be normal! Perceptions of a group of Brazilian consumers with coeliac disease on gluten-free bread buns. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 7, p. 27-37, 2017.

DODIC, J.; PEJIN, D.; DODIC, S.; POPOV, S.; MASTILOVIC, J.; POPOV-RALJIC, J.; ZINANOVIC, S. Effects of hydrophilic hydrocolloids on dough and bread performance of samples made from frozen doughs. **Journal of Food Science**, v. 72(4), p. 235–241, 2007.

DUTCOSKY, S. D. **Análise sensorial de alimentos**. 2. ed. Curitiba: Champagnat, 2013.

EL-DASH, A.A. Standardized mixing and fermentation procedures for experiments baking test. , v.55, n.336, p.436-446, 1978.

ESTELLER, M. S. **Fabricação de pães com reduzido teor calórico e modificações reológicas ocorridas durante o armazenamento**. 2004. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

ESTELLER, M. S.; LANNES, S. C. S. Complementary parameters of requirements to fixing identity and quality of bakery products. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 25, n. 4, p. 802-806, 2005.

ESTELLER, M. S.; LIMA, A. C. O.; LANNES, S. C. S. Color measurement in hamburger buns with fat and sugar replacers. **European Food Research and Technology**, v. 39, n. 2, p. 184-187, 2006.

ESTÉVEZ, V.; AYALA, J.; VESPA, C.; ARAYA, M. The gluten-free basic food basket: a problem of availability, cost and nutritional composition. **European Journal of Clinical Nutrition**, p. 1215-1217, 2016.

EVANGELHO, J. M.; PINTO, V. Z.; ZAVOREZE, E. R.; BARBOSA, L. M. P. Propriedades tecnológicas e nutricionais de pães preparados com diferentes proporções de farinha de arroz e farinha de arroz extrusada. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v. 18, n. 4, p. 264-282, 2012.

FARIA, J. C. **A primeira safra paulista de arroz vermelho**. O Estado de São Paulo, 2010. Disponível em: <<http://www.estadao.com.br/noticias/suplementos,a-primeira-safra-paulista-de-arroz-vermelho>>. Acesso em: 22 fev. 2016.

FAVALLI, S.; SKOV, T.; BYRNE, D. V. Sensory perception and understanding of food uniqueness: From the traditional to the novel. **Food Research International**, v. 50, p. 176-188, 2013.

FERREIRA, S. M. **Modificação enzimática da farinha de grãos quebrados de arroz para produção de alimento sem glúten**. 2012. 168 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Bacteriological Analytical Manual- BAM. 2007. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/UCM244774.pdf>> Acesso em: 20 jan. 2016.

FRANÇA, M. G. C.; ARAÚJO, P. A.; ROSSIELLO, R.; RAMOS, F. T. Relações entre crescimento vegetativo e acúmulo de nitrogênio em duas cultivares de arroz com arquiteturas contrastantes. **Acta Botanica Brasilica**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 43-49, 2008.

FRANCO, A. V. **Desenvolvimento de pão sem glúten com farinha de arroz e de batata-doce**. 2015.129p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos)- Escola de Agronomia, Universidade Federal de Goiás.

FRANK, T.; REICHARDT, B.; SHU, Q.; ENGEL, K. Metabolite profiling of colored rice (*Oryza sativa* L.) grains. **Journal of Cereal Science**, v.55, p.112-119, 2012.

FREI, M.; SIDDHURAJU, P.; BECKER, K. Studies on in vitro starch digestibility and the glycemic index of six different indigenous rice cultivars from the Philippines. **Food Chemistry**, v.83, p.395-402, 2003.

GALLAGHER, E.; GORMELEY, T. R.; ARENDT, E. K. Crust and crumb of gluten free bread. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 153-161, 2004a.

GALLAGHER, E.; GORMELEY, T. R.; ARENDT, E. K. Recent advances in the formulation of gluten-free cereal based products. **Trends in Food Science & Technology**, v. 15, p. 143-152, 2004b.

GANDOLFI, L.; PRATESI, R.; CORDOBA, J.C.M.; TAUIL, P.L.; GASPARIN, M. Prevalence of Celiac Disease Among Blood Donors in Brazil. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 95, n. 3, 2000.

GARIMELLA-PURNA, S.K.; SHI, Y.-C.; GUAN, L.; WILSON, J.D.; GRAYBOSCH, R.A. Factors governing pasting properties of waxy wheat flours. **Cereal Chemistry**, v. 92, p.529-535, 2015.

GAWLIK-DZIKI, U.; DZIKI, D.; SWIECA, M.; SECZYK, L.; ROZYLO, R.; SZYMANOWSKA, U. Bread enriched with Chenopodium quinoa leaves powder - The procedures for assessing the fortification efficiency. **LWT Food Science and Technology**, v. 62(2), p. 1226-1234, 2015.

GELLYNCK, X.; KUHNE, B.; BOCKSTAELE, V.F.; WALLE, V.D.; DEWETTINCK, K. Consumer perception of bread quality. **Appetite**, v. 53, p. 16-23, 2009.

GEWERH, M. F. **Desenvolvimento de pão de forma com adição de quinoa**. 2010. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

GIANNOU, V.; TZIA, C. Frozen dough bread: Quality and textural behavior during prolonged storage — Prediction of final product characteristics. **Journal of Food Engineering**, v. 79, p. 929–934, 2007.

GOMEZ, M; RONDA, F.; BLANCO, C.A.; CABALLERO, P.A.; APESTEGUIA, A. Effects of dietary fibre on dough rheology and Bread quality. **European Food Research and Technology**, v.216, n.1, p.51-56, 2003.

GRAGNANI, M. A. L. **Produção e avaliação de pão de forma com triticale e enzima transglutaminase microbiana**. 2010. 180 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

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

GUILHERME, F. F. P.; JOKL, L. Emprego de fubá de melhor qualidade protéica em farinhas mistas para produção de biscoitos. **Ciência e Tecnologia de Alimento**, v.25, n.1, p. 63-71, 2005.

GUJRAL, H. S.; ROSELL, C. M. Functionality of rice flour modified with a microbial transglutaminase. **Journal of Cereal Science**, v. 39, n. 2, p. 225-230, 2004.

GUJRAL, H. S.; ROSELL, C. M. Improvement of the breadmaking quality of rice flour by glucose oxidase. **Food Research International**, v. 37, p. 75-81, 2004.

GULSUM, M. T.; CAKMAK, H.; KUMCUOGLU, S.; TAVMAN, S. Effect of quinoa flour on gluten-free bread batter rheology and bread quality. **Journal of Cereal Science**, v. 69, p. 174-181, 2016.

GUSMÃO, T. A. S.; GUSMAO, R. P.; SOUSA, S.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; DUARTE, M. E. M.; FIGUEREIDO, R. M. F.; MOREIRA, R. T. Mineral content in French type bread with sodium replacement using fluorescence spectrometry X-rays by energy dispersive. **African Journal of Biotechnology**, v. 14, p. 3333-3339, 2015.

GUSMAO, R. P.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; DUARTE, M. E. M.; GUSMÃO, T. A. S. Particle size, morphological, rheological, physicochemical characterization and designation of minerals in mesquite flour (*Prosopis juliflora*). **Journal of Cereal Science**, v. 69, p. 119-124, 2016.

HAGER, A. S.; ARENDT, E. K. Influence of hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), xanthan gum and their combination on loaf specific volume, crumb hardness and crumb grain characteristics of gluten-free bread based on rice, maize, teff and buckwheat. **Food Hydrocolloids**, v. 32, p. 195-203, 2013.

HAMDAMI, N.; MONTEAU, J. Y.; LE BAIL, A.; HAYAKAWA, E.; UKAI, N.; NISHIDA, J.; KAZAMI, Y.; KOHYAMA, K. Simulation of coupled heat and mass lexicon for the sensory quality description of French bread in Japan. **Journal Sensory Studies**, v. 25, n. 1, p. 76-93, 2010.

HAMDAMI, N.; MONTEAU, J-Y.; LE BAIL, A. Moisture diffusivity an water activity of partbaked bread at above and sub-freezing temperatures. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41, p. 33–44, 2006.

HEINEMANN, R. J. B.; XU, Z.; GODBER, S.; LANFER-MARQUEZ, U. M. Tocopherols, tocotrienols and gama-oryzanol contents in japonica and indica subspecies of rice (*Oryza sativa L.*), cultivated in Brazil. **Cereal Chemistry**, v.85, n.2, p.243-247, 2008.

HEYMAN, M. Intestinal permeability in coeliac disease: insight into mechanisms and relevance to pathogenesis. **Gut**, v. 61, p. 1355-1364, 2012.

HOSENEY, R.C. **Principles of cereal science and technology**. St. Paul, Minnessota: American Association of Cereal Chemists, Inc., 3nd Edition, 2010, 288p.

HUANG, W. N.; YUAN, Y. L.; KIM, Y. S.; CHUNG, O. K. Effects of transglutaminase on rheology, microstructure, and baking properties of frozen dough. **Cereal Chemistry**, v. 85, n.3, p. 301-306, 2008.

HUDSON, E. No longer niche. **Baking & Snack International**, v. 5, n. 4, p. 20-21, 2012.

HÜTTNER, E. K.; DALBELLO, F.; ARENDT, E. K. Fundamental study on the effect of hydrostatic pressure treatment on the breadmaking performance of oat flour. **European Food Research and Technology**, v.230, n.6, p.827-835, 2010.

HYUN, J. W.; CHUNG, H. S. Cyanidin and malvidin from *Oryza sativa* cv. Heugjinjubyeo mediate cytotoxicity against human monocytic leukemia cells by arrest of G2/M phase and induction of apoptosis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, n.8, p.2213-2217, 2004.

ITANI, T.; TAMAKI, M.; ARAI, E.; HORINO, T. Distribution of amylose, nitrogen, and minerals in rice kernels with various characters. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 19, p. 5326-5332, 2002.

JEONG S. H.; KANG, W. S.; SHIN, M. Improvement of the Quality of Gluten-free Rice Pound Cake Using Extruded Rice Flour. **Food Science Biotechnology**, v. 22, p. 173-180, 2013.

JIANG, S. M.; ZHU, S. S.; LIU, S. J.; JIANG, L.; XU, L. L.; WAN, J. M. Screening and genetic analysis of rice glutelin mutant. **Yi Chuan Xue Bao**, v.30, p.641-645 (translated from the Chinese), 2003.

JOHNSON, R. A.; WICHERN, D. W. **Applied multivariate statistical analysis**. 3rd ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1992.

JONG, G.A.H. de; KOPPELMAN, S. J. Transglutaminase catalyzed reactions: Impact of Food Applications. **Journal of Food Science**. v. 67, n. 8, 2002.

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

KAWASSAKI, F. **Efeito da região de plantio, cultivares, safras e parboilização sobre compostos fenólicos em arroz integral produzido no Brasil**. 2011. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

KELLY, C. P.; BAI, J. C.; LIU, E.; LEFFLER, D. A. Advances in diagnosis and management of celiac disease. **Gastroenterology**, v.148, p. 1175-1186, 2015.

KENNEDY, G.; BURLINGAME, B. Analysis of food composition data on rice from a plant genetic resources perspective. **Food Chemistry**, v. 80, n. 4, p. 589-596, 2003.

KIM, J.M.; SHIN, M. Effects of particle size distributions of rice flour on the quality of gluten-free rice cupcakes. **LWT- Food Science and Technology**, v.59, n.1, p. 526–532, 2014.

KIM, Y. S.; HUANG, W.; DU, G.; PAN, Z.; CHUNG, O. Effects of trehalose, transglutaminase, and gum on rheological, fermentation, and baking properties of frozen dough. **Food Research International**. v.41, n.9, p.903-908, 2008.

KITTISUBAN, P.; RITTHIRUANGDEJ, P.; SUPHANTHARIKA, M. Optimization of hydroxypropylmethylcellulose, yeast b-glucan, and whey protein levels based on physical properties of gluten-free rice bread using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 57, p. 738-748, 2014.

KOMLENIC, D. K.; UGARCIC-HARDI, Z.; JUKIC, M.; PLANIC, M.; BUCIC-KOJI, A.; STRELEC, I . Wheat dough rheology and bread quality effected by *Lactobacillus brevis* preferment, dry sourdough and lactic acid addition. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, p. 1417-1425, 2010.

KONG, S.; KIM, D.; OH, S.; CHOI, I.; JEONG, H.; LEE, J. Black rice bran as an ingredient in noodles: chemical and functional evaluation. **Journal of Food Science**, v.77, p. 303-307, 2011.

KORUS, J.; GRZELAK, K.; ACHREMOWICZ, K.; SABAT, R. Influence of prebiotic additions on the quality of gluten-free bread and on content of inulin and fructooligosaccharides. **Food Science and Technology International**, v.12, n.6, p.489- 495, 2006.

KRUSKAL, J. B.; WISH, M. **Multidimensional scaling**. Newbury Park: Sage, 1978.

LANE, J. H.; EYNON, L. Determination of reducing sugars by Fehling's solution with methylene blue indicator, **Norman Rodge, London**, 8p., 1934.

LASSOUED, N.; DELARUE, J.; LAUNAY, B.; MICHAN, C. Baked product texture: Correlations between instrumental and sensory characterization using Flash Profile. **Journal of Cereal Science**, v.48, n.1, p.133-143, 2008.

LAUREREATI, M.; GIUSSANI, B.; PAGLIARINI, E. Sensory and hedonic perception of gluten-free bread: Comparison between celiac and non-celiac subjects. **Food Research International**, v. 46, p. 326-33, 2012.

LEBWOHL, B.; MURRAY, J. A.; VERDU, E. F.; CROWE, S. E.; DENNIS, M.; FASANO, A. Gluten Introduction, Breastfeeding, and Celiac Disease: Back to the Drawing Board. **American Journal of Gastroenterology**, v.4, p.11-112, 2016.

LEÓN, A.; ROSSEL, C. M.; BARBER, C. B. A differential scanning calorimetry study of wheat proteins. **Original Paper**, v. 217, p. 13 – 16, 2003.

LEON, E.; PISTON, F.; SHEWRY, P. R.; ROSELL, C. M.; MARTIN, A.; BARRO, F. Pasting properties of transgenic lines of a commercial bread wheat expressing combinations of HMW glutenin subunit genes. **Journal of Cereal Science**, London, v. 51, p. 344-349, 2010.

LERAY, G.; OLLETE, B.; MEZAIZE, S.; CHEVALLIER, S.; DE LAMBALLERIE, M. Effects of freezing and frozen storage conditions on the rheological properties of different formulations of non-yeasted wheat and gluten-free bread dough. **Journal of Food Engineering**, v. 100, p. 70-76, 2010.

LI, H.; PRAKASH, S.; NICHOLSON, T. M.; FITZGERALD, M. A.; GILBERT, R. G. The importance of amylose and amylopectin fine structure for textural properties of cooked rice grains. **Food Chemistry**, v. 196, p. 702–711, 2016.

LIMA, B. N. B.; CABRAL, T. B.; NETO, R. P. C.; TAVARES, M. I. B. Estudo do Amido de Farinhas Comerciais Comestíveis. **Polímeros**, v. 22, n. 5, p. 486-490, 2012.

LIMA, F. F.; ANDRADE, C. T. Effect of melt-processing and ultrasonic treatment on physical properties of high-amylose maize starch. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17(4), p. 637-641, 2010.

LÓPEZ, A. C. B.; PEREIRA, A. J. G.; JUNQUEIRA, R.G. Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 47, n. 1, p. 63-70, 2004.

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

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

MACEDO, J. A.; SETTE, L. D.; SATO, H. H. Optimization of medium composition for transglutaminase production by a Brazilian soil *Streptomyces* sp. **Electronic Journal of Biotechnology**, v.10, n 4, p.618-626, 2007.

MANCEBO, C. M.; SAN MIGUEL, M. A.; MARTÍNEZ, M. M.; GÓMEZ, M. Optimisation of rheological properties of gluten-free doughs with HPMC, psyllium and different levels of water. **Journal of Cereal Science**, v. 61, p. 8-15, 2015.

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

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

MANSBERGER, A.; D'AMICO, S.; NOVALIN, S.; SCHMIDT, J.; TÖMÖSKÖZI, S.; BERGHOFER, E.; SCHOENLECHNER, R. Pentosan extraction from rye bran on pilot scale for application in gluten-free products. **Food Hydrocolloids**, v. 35, p. 606-612, 2014.

MARCO, C.; ROSELL, C. M. Breadmaking performance of protein enriched, gluten-free breads. **European Food Research and Technology**, v.227, n.4, p.1438-1447, 2008a.

MARCO, C.; ROSELL, C. M. Functional and rheological properties of protein enriched gluten free composite flours. **Journal of Food Engineering**, Meppel, v. 88, n. 1, p. 94-103, 2008b.

MARIOTTI, M.; ALMPRESE, C. About the use of different sweeteners in baked goods. Influence on the mechanical and rheological properties of the doughs. **LWT – Food Science and Technology**, v. 48, p. 9-15, 2012.

MASSARETTO, I.L.; ALVES, M.F.M.; MIRA, N.V.M.; CARMONA, A.K.; MARQUEZ, U.M.L. Phenolic compounds in raw and cooked rice (*Oryza sativa* L.) and their inhibitory effect on the activity of angiotensin I-converting enzyme. **Journal of Cereal Science**, v.54, p.236-240, 2011.

MATOS, F.C. **Estudos da decomposição térmica de ácidos graxos através da Calorimetria Exploratória Diferencial**. Campinas, 107 p. Tese (Mestrado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2012.

MATOS, M. E.; ROSELL, C. M. Quality indicators of rice-based gluten-free bread-like products: relationships between dough rheology and quality characteristics. **Food Bioprocess Technology**, v. 6, p. 2331-2341, 2013.

MATOS, M. E.; ROSELL, C. M. Relationship between instrumental parameters and sensory characteristics in gluten-free breads. **European Food Research and Technology**, v. 235(1), p. 107-117, 2012.

MATOS, M.; ROSELL, C. M. Understanding gluten-free dough for reaching breads with physical quality and nutritional balance. **Journal Science Food Agriculture**, Chichester, v. 95, n. 4, p. 653-661, 2014.

MENG, F.; WEI, Y.; YANG, X. Iron content and bioavailability in rice. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.18, p.333–338, 2005.

MENSINK, M. A.; FRIJLINK, H. W.; MAARSCHALK, K. V.; HINRICHS, W. L. J. Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. **Carbohydrate Polymers**, v. 130, p. 405-419, 2015.

MEZAIZE, S.; CHEVALLIER, S.; LE-BAIL, A.; DE LAMBALLERIE, M. Optimization of glutenfree formulations for French-style breads. **Journal of Food Science**, v. 74(3), p. 140–146, 2010.

MIÑARO, B.; NORMAHOMED, I.; GUAMIS, B.; CAPELLAS, M. Influence of unicellular protein on gluten-free bread characteristics. **European Food Research and Technology**, v.231, p.171-179, 2010.

MINIM, V. P. R. **Análise sensorial estudos com consumidores**. 3^a ed. Editora: UFV, 2013. 332p.

MIRANDA, M. Z.; EL-DASH, A. Farinha integral de trigo germinado. 3. Características nutricionais e estabilidade ao armazenamento. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 3, p. 216-223, 2002.

MOHAMMADI, M.; AZIZI, MH.; NEYESTANI, R. T.; HOSSEINI, H.; MORTAZAVIAN, M. A. Development of gluten-free bread using guar gum and transglutaminase. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 21, p. 1398-1402, 2015.

MOORE, M. M.; HEINBOCKEL, M.; DOCKERY, P.; ULMER, H.M.; ARENDT, E.K. Network formation in gluten-free bread with application of transglutaminase. **Cereal Chemistry**, v.83, n.1, p.28-36, 2006.

MOORE, M.M.; SCHOBBER, T.J.; DOCKERY, P.; ARENDT, E.K. Textural comparisons of gluten-free and wheat-based doughs, batters, and breads. **Cereal Chemistry**, v.81, n.5, p.567-575, 2004.

MORAIS, E. C.; CRUZ, A. G.; FARIA, J. A. F.; BOLINI, H. M. A. Prebiotic gluten-free bread: Sensory profiling and drivers of liking. **LWT Food Science And Technology**, v. 55(1), p. 248-254, 2014.

MOTHÉ, C. G.; AZEVEDO, A. D. **Análise Térmica de Materiais**. EditoraI editora; São Paulo, 2002.

NAGY, V. E.; SZAKAXS, G. Production of transglutaminase by *Streptomyces* isolates in solid-state fermentation. **Letters in Applied Microbiology**, v.47, n.2, p.122-127, 2008.

NAM, S. H.; CHOI, P. S.; KANG, M. Y.; KOZUKUE, N.; FRIEDMAN, M. Antioxidative, antimutagenic, and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.816-822, 2005.

NASCIMENTO, K. O.; TAKEITI, C. Y.; BARBOSA, M. I. M. J. Doença Celíaca: Sintomas, Diagnóstico, e Tratamento Nutricional. **Saúde em Revista**, v. 12, n. 30, p.53-63, 2012.

NIU, Y.; GAO, B.; SLAVIN, M.; ZHANG, X.; YANG, F.; BAO, J.; SHI, H.; XIE, Z.; YU, L. Phytochemical compositions, and antioxidant and anti-inflammatory properties of twenty-two red rice samples grown in Zhejiang. **LWT – Food Science and Technology**, n. 54, p. 521-527, 2013.

NORONHA, R. L. F. **Expectativa do consumidor e sua influência na aceitação e percepção sensorial de café solúvel**. 2003, 130f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2003.

OLVEIRA, G.; GONZÁLEZ-MOLERO, I. An update on probiotics, prebiotics and symbiotics in clinical nutrition. **Endocrinología y Nutrición**, v. 63 (9), p. 482-494, 2016.

ONYANGO, C.; MUTUNGI, C.; UNBEHEND, G.; LINDHAUER, M. G. Modification of glúten free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice starch. **Journal of Food Science and Tecnology**. v. 44, p. 681-686, 2011.

ONYANGO, C.; MUTUNGI, C.; UNBEHEND, G.; LINDHAUER, M. G. Rheological and baking characteristics of batter and bread prepared from pregelatinised cassava starch and sorghum and modified using microbial transglutaminase. **Journal of Food Engineering**, v. 97, p. 465-470, 2010.

ONYANGO, C.; MUTUNGI, C.; UNBEHEND, G.; LINDHAUER, M. G. Creep-recovery parameters of gluten-free batter and crumb properties of bread prepared from pregelatinised

cassava starch, sorghum and selected proteins. **International Journal of Food Science and Technology**, v.44, n.12, p.2493-2499, 2009.

ONYANGO, C.; UNBEHEND, G.; LINDHAUER, M. G. Effect of cellulose-derivatives and emulsifiers on creep-recovery and crumb properties of gluten-free bread prepared from sorghum and gelatinised cassava starch. **Food Research International**, v.42, n.8, p.949–955, 2009.

PACIULLI, M.; RINALDI, M.; CIRLINI, M.; SCAZZINA, F.; CHIAVARO, E. Chestnut flour addition in commercial gluten-free bread: A shelf-life study. **LWT - Food Science and Technology**, v. 70, p. 88-95, 2016.

PAGLIARINI, E.; LAUREATI, M.; LAVELLI, V. Sensory evaluation of gluten-free breads assessed by a trained panel of celiac assessors. **European Food Research and Technology**, p. 231, p. 37-46, 2010.

PANTINDOL, J.; FLOWERS, A.; KUO, M.; WANG, I.; GEALY, D. Comparison of physicochemical properties and starch structure of red rice and cultivated rice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v.54, p.2712- 2718, 2006.

PARK, J.; CHOI, I.; KIM, Y. Cookies formulated from fresh okara using starch, soy flour and hydroxypropyl methylcellulose have high quality and nutritional value. **LWT- Food Science and Technology**, v. 63, p. 660-666, 2015.

PASCUAL, C. S. C. I. **Efeitos da parboilização do arroz (*Oryza sativa L.*) integral sobre os compostos bioativos e a disponibilidade do amido**. 2010. 102 f. Tese (Doutorado em Bromatologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

PEREIRA, J. A. **O arroz-vermelho cultivado no Brasil**. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2004.

PEREIRA, J. A.; BASSINELLO, P. Z.; CUTRIM, V. A.; RIBEIRO, V. Q. Comparação entre características agrônômicas, culinárias e nutricionais em variedades de arroz branco e vermelho. **Revista Caatinga**, Mossoró-RN, v. 22, n. 1, p. 243-248, 2009.

PEREIRA, J. A.; BASSINELLO, P. Z.; FONSECA, J. R.; RIBEIRO, V. Q. Potencial genético de rendimento e propriedades culinárias do arroz vermelho cultivado. **Revista Caatinga**, v.20, p.43-48, 2007.

PEREIRA, J.; CIACCO, C.F.; VILELA, E.R.; PEREIRA, R.G.F.A. Função dos ingredientes na consistência da massa e nas características do pão de queijo. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.24, n.4, p.494-500, out/dez. 2004.

PEREIRA, S.B.; PEREIRA, B.S.; CARDOSO, E.S.; MENDONÇA, J.O.B.; SOUZA, L.B.; SANTOS, M.P.; ZAGO, L.; FREITAS, S.M.L. Análise físico-química e sensorial do pão de batata isento de glúten enriquecido com farinha de chia. **Demetra**, v. 8, p. 125-136, 2013.

PIETZAK, M. Nutritional Considerations in the Management of Celiac Disease. **Nutrition in the prevention and treatment of disease**. 3 ed. p. 773-786, 2013.

PONGJARUVAT, W.; METHACANON, P.; SEETAPAN, N.; FUONGFUCHAT, A.; GAMONPILAS, C. Influence of pregelatinised tapioca starch and transglutaminase on dough rheology and quality of gluten-free jasmine rice breads. **Food Hydrocolloids**, v. 36, p. 143-150, 2014.

PORTO, B. H. C.; SEGATTO, E.; REZENDE, N. C.; MAGALHÃES, R; S.; MATEUS, J. S.; LACERDA, H. N.; MOREIRA, L. B. Potencial agrônômico do arroz vermelho em sistema de produção agroecológico. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p. 1042-1045, 2007.

PRUSKA-KĘDZIOR, A; KĘDZIOR, Z; GORĄCY, M.; PITROWSKA, K; PRZYBYLSKA, A; SPYCHALSKA, K. Comparison of rheological, fermentative and baking properties of gluten-free doguh formulations. **European Food Research Technology**, v. 227, n. 3, p. 288-298, 2006.

PURLIS, E. Baking process design based on modeling and simulation: Towards optimization of bread baking. **Food Control**, v. 27, p. 45-52, 2012.

QUAGLIA, G. **Ciência e tecnologia de la panificación**. Zaragoza: Acríbia, p.485, 1991.

RE, V. D.; CAGGIARI, L.; TUBUSO, M.; CANNIZZARO, R. The versatile role of gliadin peptides in celiac disease. **Clinical Biochemistry**, v. 46, p. 550-560, 2013.

REHMAN, S.; AWAN, J. A. **Flavor of bread bakery products**. 2011. Disponível em: <<http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/b11187-16>>. Acesso em: 15 abr. 2016.

REIG, A.L.C.; ANESTO, J.B. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. **Revista Cubana de Alimentación y Nutrición**, v.16, n.1, p.63-68, 2002.

RENHE, I.R.T.; VOLP, A.C.P.; BARBOSA, K.B.F.; STRINGHETA, P.C. Prebióticos e os benefícios de seu consumo na saúde. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, v.23, n.2, p.119-126, 2008.

RENZETTI, S.; BELLO, F. D.; ARENDT, E. K. Microstruture, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial, transglutaminase. **Journal of Cereal Science**, v.48, n.1, p.33-45, 2008.

RIBOTTA, P. D.; AUSAR, S. F.; MORCILLO, M. H.; PÉREZ, G. T.; BELTRAMO, D. M.; LEON, A. E. Production of gluten-free bread using soybean flour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.84, n.14, p.1969-1974, 2004.

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

ROBERT, H.; GABRIEL, V.; LEFEBVRE, D.; RABIER, P.; VAYSSIER, Y.; FONTAGNÉ - FAUCHER, C. Study of the *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. **Lebensmittel – Wissenschaft und – Technologie**, v. 39, p. 256- 265, 2006.

RODRIGUES, O.; TEIXEIRA, M. C. C.; DIDONET, A. D. **Bases Ecofisiológicas para Manutenção da Qualidade do Trigo**. Embrapa; Passo Fundo, 2009.

ROLIM, P. M.; SALGADO, S. M.; PADILHA, V. M.; LIVERA, A. V. S.; GUERRA, N. B.; ANDRADE, S. A. C. Análise de componentes principais de pães de forma formulados com farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob.). **Revista Ceres**, Viçosa, v.57, n.1, p. 12-17, 2010.

RONDA, F.; PÉREZ-QUIRCE, S.; VILLANUEVA, M. Chapter 12 – Rheological properties of gluten-free bread doughs: relationship with bread quality. **Advances in Food Rheology and its Applications**, p. 297-334, 2017.

RONKART, S. N.; PAQUOAT, M.; FOUGNIES, C.; DEROANNE, C.; BLECKER, C. S. Effect of water uptake on amorphous inulin properties. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 3, p. 922-927, 2009.

ROSELL, C. M.; MARCO, C. Rice. In: ARENDT, E. A.; DAL BELLO, F. (Eds). **Gluten-free cereal products and beverages** (pp.81-100). Food science and technology: International series, Oxford, UK: Elsevier. 2008. 445p.

ROSELL, C. M.; MATOS, M. E. Market and nutrition issues of gluten-free foodstuff. **Advances in the understanding of gluten related pathology and the evolution of gluten-free foods**, v.1, 2015.

RUIZ, A. W.; BONATO, S. R.; ARRIECHE, L. S.; ALVES, F. V. Caracterização da farinha pré-gelatinizada de arroz integral produzida a partir de grãos quebrados. **Vetor, Rio Grande do Sul**, v. 13, p. 25-46, 2003.

SABANIS, D.; LEBESI, D.; TZIA, C. Effect of dietary fibre enrichment on select properties of gluten-free bread. **Food Science and Technology**, v. 42, p. 1380-1389, 2009.

SABANIS, D.; LEBESI, D.; TZIA, C. Effect of dietary fibre enrichment on selected
SAHIN, S.; SAMNU, S. G. **Physical properties of foods**. Springer, New York (2006).

SAJILATA, M. G.; SINGHAL, R. S.; KULKARNI, P. R. Resistant starch - A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 5, p. 1-17, 2006.

SAPS, M.; ADAMS, P.; BONILLA, S.; NICHOLS-VINUEZA, D. Abdominal pain and functional gastrointestinal disorders in children with celiac disease. **The Journal of Pediatrics**, v. 162, p. 505-509, 2013.

SCIARINI, L. S.; RIBOTTA, P. D.; LÉON, A. E., PÉREZ, G. T. Effect of hydrocolloids on gluten-free batter properties and bread quality. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 45, n. 11, p. 2306-2312, 2010.

SEVERO, M. G.; MORAES, K. DE.; AUGUSTO-RUIZ, W. Modificação enzimática da farinha de arroz visando à produção de amido resistente. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 345-350, 2010.

SHAO, Y.; XU, F.; SUN, X.; BAO, J.; BETA, T. Identification and quantification of phenolic acids and anthocyanins as antioxidants in bran, embryo and endosperm of white, red and black rice kernels (*Oryza sativa L.*). **Journal of Cereal Science**, n. 59, p. 211-218, 2014.

SHARADANANT, R.; KHAN, K. Effect of hydrophilic gums on the quality of frozen dough: II. Bread characteristics. **Cereal Chemistry**, v. 80(6), p. 773-780, 2013.

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

SILVA, F. A. S., AZEVEDO, C. A. V. The Assistat Software Version 7.7 and its use in the analysis of experimental data. **African Journal Agricola Research**, v. 11 (39), p. 3733-3740, 2016.

SILVA, E. R. L.; DUARTE, M. E. M.; CAVALCANTI MATA, M. E. R. M.; SILVA, F. A. S.; NÓBREGA, A. M. M. C. Avaliação sensorial de “palitos” de mandioca condimentados com bacon, charque e ervas finas. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.13, p.427-434, 2011.

SILVA, K.R.; RODRIGUES, S.A.; XAVIER FILHO, L.; LIMA, A.S. Antimicrobial activity of broth fermented with kefir grains. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.152, p.316-325, 2008.

SILVA, L.H.; PAUCAR-MENACHO, L.M.; VICENTE, C.A.; SALLES, A.S.; STEEL, C.J. Desenvolvimento de pão de forma com a adição de farinha de “okara”. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.12, n.4, p.315-322, 2009.

SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. - “Infrared Spectrometry”. in: Spectrometric Identification of Organic Compound, p.91, John Wiley & Sons, Singapura (1991).

SILVESTER, J; DUERKESEN D. Celiac disease. **Canadian Medical Association Journal**, v. 8, p. 185, 2013.

SINGH, S.; SINGH, N.; MacRITCHIE. Relationship of polymeric proteins with pasting, gel dynamic- and dough empirical-rheology in different Indian wheat varieties. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 25, p. 19-24, 2011.

SINIMBU, F. **Arroz vermelho para o mercado europeu**. Embrapa Meio-Norte, 2010. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/notícia/2010>>. Acesso em: 09 fev. 2016.

SIVARAMAKRISHNAN, H. P.; SENGE, B.; CHATTOPADHYAY, P.K. Rheological properties of rice dough for making rice bread. **Journal of Food Engineering**, Meppel, v. 62, n. 1, p. 37-45, 2004.

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

SOARES JÚNIOR, M. S.; BASSINELLO, P. Z.; CALIARI, M.; GEBIN, P. F. C.; JUNQUEIRA, T. L.; GOMES, V. A.; LACERDA, D. B. C. L. Qualidade de pães com farelo de arroz torrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, n. 3, p. 636-641, 2009.

SOMPONG, R.; SIEBENHANDL-EHN, S.; LINSBERGER-MARTIN, G.; BERGHOFER, E. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. **Food Chemistry**, v.124, p.132-140, 2011.

STATSOFT. **Statistica for windows**, Tulsa, USA, 2004.

STONE, H.; SIDEL, J.L. **Sensory Evaluation Practices**. 3.ed. (Food science and technology. International series). Elsevier Academic Press, 2004. 377p.

STORCK, C. R.; PEREIRA, J. M.; PEREIRA, G. W.; RODRIGUES, A. O.; GULARTE, M. R.; DIAS, A. R. G. Características tecnológicas de pães elaborados com farinha de arroz e transglutaminase. **Brazilian journal of food technology**, p. 3-30, 2009.

STORCK, C. R.; ZAVARESE, A. R.; GULARTE, M. A.; ELIAS, M. C.; ROSELL, C. M.; DIAS, A. R. G. Protein enrichment and its effects on gluten-free head characteristics. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 53, n. 1, p. 346-354, 2013.

STORCK, C.R. **Aplicação de transglutaminase e de fontes proteicas na panificação com farinha de arroz**. Tese. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 147 f. 2009.

STORCK, C.R.; SILVA, L.P.; COMARELLA, C.G. Influência do processamento na composição nutricional de grãos de arroz. **Araraquara: Alimentos e Nutrição**, v.16, n.3, p. 259-264, 2005.

STROUTS, B. **Technical Bulletin/CONCEPTS FOR HEALTHY BAKING /American Institute of Baking**. v. 30, n. 3, p. 1-5, 2009.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TACO): 4ª edição revisada e ampliada. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação (NEPA). Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Campinas: 2011.

TANPOWONG, P.; OBUCH, J. C., JIANG, H., MCCARTY, C. E.; KATZ, A. J.; LEFFLER, D. A.; KELLY, C. P.; WEIR, D. C.; LEICHTNER, A. M. Multicenter study on season of birth and celiac disease: evidence for a new theoretical model of pathogenesis. **The Journal of Pediatrics**, v. 162, p. 501-504, 2013.

THAPA, B. R. Familial Prevalence of Celiac Disease. **Journal of Tropical Pediatrics**, v. 57, n. 01, p. 45-50, 2011.

TIAN, S.; NAKAMURA, K.; KAYAHARA, H. Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p.4808-4813, 2004.

ULZIJARGAL, E. et al. Quality of bread supplemented with mushroom mycelia. **Food Chemistry**, n. 138, p. 70-76, 2013.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental/BRASILFOODS. **Tabela Brasileira de**

Composição de Alimentos-USP, 2008. Versão 5.0. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tabela>. Acesso em: 07 fev 2016.

VAN OORT, M. Enzymes in food technology – introduction. In: WHITEHURST, R.H.; VAN OORT, M. **Enzymes in Food Technology**. 2nd edition, Singapore: Wiley-Blackwell, 2010, Cap. 1, p. 1 – 17.

VAN SOEST, J. J. G.; Vliegenthart, J. F. G. Crystallinity in starch plastics: consequences for material properties. **Trends in Biotechnoly**, v. 5 (6), p. 208-213, 1997.

VELOSO NAVES, M. Características químicas e nutricionais do arroz. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, América do Sul, v. 25, n.3, 2007.

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

WALTER, M.; MARCHESAN, E.; MASSONI, P.F.S.; SILVA, L.P.; SARTORI, G.M.S.; FERREIRA, R. Antioxidant properties of rice grains with light brown, red and black pericarp colors and the effect of processing. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.849-868, 2011.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Santa Maria: Ciência Rural**, v.38, n.4, p.1184-1192, jul. 2008.

WANG, P.; XU, L.; NIKOO, M.; OCEN, D.; WU, F.; YANG, N.; JIN, Z.; XU, X. Effect of frozen storage on the conformational, thermal and microscopic properties of gluten: Comparative studies on gluten-, glutenin- and gliadin-rich fractions. **Food Hydrocolloids**, p. 238 – 246, 2014.

WANG, S.; LI, C.; COPELAND, L.; NIU, Q.; WANG, S. Starch retrogradation: a comprehensive review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, p. 568-585, 2015.

WITCZAK, M.; KORUS, J.; ZIOBRO, R.; JUSZCZAK, L. The effects of maltodextrins on gluten-free dough and quality of bread. **Journal of Food Engineering**, v.96, n.2, p. 258–265, 2010.

WRONKOWSKA, M.; HAROS, M.; SORAL-SMIETANA, M. Effect of starch substitution buckwheat flour on gluten-free bread quality. **Food Bioprocess Technology**, v. 6, p. 1820-1827, 2013.

YAWADIO, R.; TANIMORI, S.; MORITA, N. Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. **Food Chemistry**, v.101, n.4, p.1616-1625, 2007.

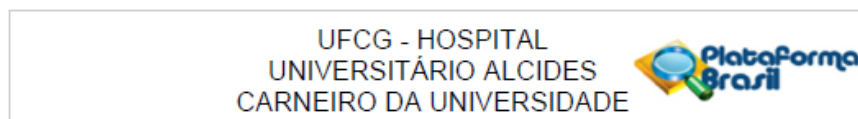
YI, J.; KERR, W. L. Combined effects of freezing rate, storage temperature and time on bread dough and baking properties. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, p. 1474–1483, 2009.

ZHANG, M.; GUO, B.; ZHANG, R.; CHI, J.; WEI, Z.; XU, Z.; ZHANG, Y.; TANG, X. Separation, purification and identification of antioxidant compositions in black rice. **Agricultural Sciences in China**, Amsterdam, v. 5, n. 6, p. 431-440, Jun. 2006.

ZHOU, Z.; ROBARDS, K.; HELLIWELL, S.; BLANCHARD, C. The distribution of phenolic acids in rice. **Food Chemistry**, Barking, v.87, p.401-406, 2004.

ANEXOS

ANEXO A: Comprovante de envio do projeto do Comitê de Ética e Pesquisa



COMPROVANTE DE ENVIO DO PROJETO

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: DESENVOLVIMENTO DE PÃO DE FORMA SEM GLÚTEN COM FARINHA DO ARROZ VERMELHO, ENZIMA TRANSGLUTAMINASE MICROBIANA E PREBIÓTICO: AVALIAÇÃO TECNOLÓGICA, SENSORIAL E ARMAZENABILIDADE

Pesquisador: Thaisa Abrantes

Versão: 2

CAAE: 54102116.6.0000.5182

Instituição Proponente: Centro de Tecnologia e Recursos Naturais - CTRN

DADOS DO COMPROVANTE

Número do Comprovante: 018464/2016

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

Informamos que o projeto DESENVOLVIMENTO DE PÃO DE FORMA SEM GLÚTEN COM FARINHA DO ARROZ VERMELHO, ENZIMA TRANSGLUTAMINASE MICROBIANA E PREBIÓTICO: AVALIAÇÃO TECNOLÓGICA, SENSORIAL E ARMAZENABILIDADE que tem como pesquisador responsável Thaisa Abrantes, foi recebido para análise ética no CEP UFCG - Hospital Universitário Alcides Carneiro da Universidade Federal de Campina Grande / HUAC - UFCG em 14/03/2016 às 09:02.

Endereço: Rua: Dr. Carlos Chagas, s/ n	CEP: 58.107-870
Bairro: São José	
UF: PB	Município: CAMPINA GRANDE
Telefone: (83)2101-5545	Fax: (83)2101-5523
	E-mail: cep@huac.ufcg.edu.br

APÊNDICES

APÊNDICE 1: Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

As pesquisas envolvendo seres humanos são norteadas pela Resolução CNS n.º 466/2012

Prezado (a) Senhor (a)

Esta pesquisa é sobre a avaliação sensorial de Pão de forma sem glúten elaborados com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico, que está sendo desenvolvida por Thaisa Abrantes Souza Gusmão, aluna do Curso de Pós-Graduação em Engenharia de Processos da Universidade Federal de Campina Grande, sob a orientação da professora Dra. Maria Elita Martins Duarte.

A doença celíaca é considerada uma desordem sistêmica imuno-mediada, desencadeada pelo glúten, proteína encontrada no trigo, aveia, centeio, cevada e malte, em pessoas geneticamente susceptíveis. O mercado de alimentos sem glúten está em plena expansão, onde novos produtos estão sendo lançados no mercado com a utilização de novos ingredientes que melhoram os aspectos nutricionais do pão. O desenvolvimento de um pão sem glúten com adição de prebióticos permite a agregação de um maior valor nutritivo ao produto, contribuindo para um bom funcionamento do organismo. O arroz vermelho é um componente importante da dieta em diversos estados do sertão nordestino tendo grande importância econômica e social. A farinha de arroz possui baixa capacidade de retenção de gás e por isso, pães elaborados com base nesse ingrediente possuem alguns problemas de qualidade, tais como baixo volume, textura e estrutura do miolo não adequado. Para minimizar estes defeitos nos pães, tem sido utilizadas gomas, enzimas, hidrocoloides, as quais conferem propriedades viscoelásticas às massas. Uma alternativa para produzir pão de farinha de arroz de boa qualidade é o uso da transglutaminase microbiana, uma enzima de baixo custo e maior aplicação na indústria de alimentos. Nesse contexto, este projeto busca agregar novo valor ao pão de forma, um produto já consagrado na mesa dos consumidores brasileiros, trazendo alterações na formulação pela retirada glúten e adição de uma nova fonte de farinha sem glúten, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico.

Para a avaliação da Análise sensorial relativo aos pães sem glúten será realizada a avaliação sensorial por meio de teste de aceitação utilizando a escala hedônica estruturada de 9 pontos (9 = gostei extremamente e 1 = desgostei extremamente). Os parâmetros avaliados pela escala hedônica serão aparência, cor do miolo, aroma, sabor, maciez e impressão global. A equipe sensorial será formada por julgadores não treinados. Também será realizado teste de intenção de compra e um teste para avaliar qual(is) do(s) parâmetro(s) julgados no teste de aceitação são mais importantes na escolha da compra do produto.

O objetivo do estudo é obter respostas a cerca dos limites sensoriais, buscando um produto que mantenha suas características sensoriais, porém tenha retirado este item de sua formulação. Para endossar a pesquisa serão realizadas análises físicas e sensoriais

disponibilizando assim informações detalhadas a respeito das características nutricionais, de opinião e atitudes dos consumidores.

A produção dos pães será realizada seguindo as normas de boas práticas de fabricação (BPF) e também serão realizados testes microbiológicos nas amostras antes de serem servidas aos julgadores. Os riscos dessa pesquisa são reações alérgicas, engasgamento por parte dos participantes após a ingestão do produto. O pesquisador prestará assistência integral ao participante da pesquisa no que se refere às complicações, reações adversas a saúde e possíveis danos referentes da pesquisa. Este trabalho terá como benefício obter a melhor formulação de pão isento de glúten com intuito de que esse pão possa contribuir para o desenvolvimento de novos produtos para pessoa que tenham intolerância ao glúten com elevada qualidade nutricional, gerando alternativa ao maior aproveitamento do arroz vermelho na alimentação humana.

Solicitamos a sua colaboração para a realização das análises sensoriais, como também sua autorização para apresentar os resultados deste estudo em eventos da área de alimentos e publicar em revista científica. Por ocasião da publicação dos resultados, seu nome será mantido em sigilo.

Esclarecemos que sua participação no estudo é voluntária e, portanto, o (a) senhor(a) não é obrigado(a) a fornecer as informações e/ou colaborar com as atividades solicitadas pelo Pesquisador (a). Caso decida não participar do estudo, ou resolver a qualquer momento desistir do mesmo, não sofrerá nenhum dano. O pesquisador (a) estará a sua disposição para qualquer esclarecimento que considere necessário em qualquer etapa da pesquisa.

Diante do exposto, declaro que fui devidamente esclarecido (a) e dou o meu consentimento para participar da pesquisa e para publicação dos resultados. Estou ciente que receberei uma via desse documento.

Assinatura do Participante da Pesquisa

Assinatura da Testemunha

Contato com o Pesquisador (a) Responsável:

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para a pesquisadora Thaisa Abrantes Souza Gusmão

Endereço (Setor de Trabalho): Universidade Federal de Campina Grande- Campus Campina Grande, Bodocongó, Campina Grande - PB, Brasil - CEP: 58429-900 (Bloco CV – Caracterização de Materiais – Programa de Pós Graduação em Engenharia de Processos).
Telefone: (83) 8787-3196

Ou

Comitê de Ética em Pesquisa do HUAC/UFCG –Rua Dr. Carlos Chagas,s/nº, edifício do Hospital Alcides Carneiro - Bairro São José, CEP: 58401-490 – email: cep@huac.ufcg.edu.br,
Telefone: 2101-5545

Atenciosamente,

Assinatura do Pesquisador Responsável

APÊNDICE 2: Ficha de avaliação sensorial

Universidade Federal de Campina Grande

Centro de Ciências e Tecnologia

Programa de Pós-graduação em Engenharia de Processos

Nome: _____ Data: ____/____/____

Faixa Etária: () 17-30 () 31-40 () 41-50 () 51-60 () Acima de 61 **Gênero:** () Feminino () Masculino

Grau de Escolaridade: () Ensino médio () Ensino Superior () Pós- Graduação

Você consome pão de forma? : () Sim () Não

Com que frequência você pão de forma? () Todos os dias () 2 a 3 vezes por semana () 1 vez por semana () 1 a 2 vezes por mês () 1 a 2 vezes ao ano

1. Você está recebendo 5 (cinco) amostras codificadas. Avalie da esquerda para a direita de acordo com as características citadas, usando a escala abaixo:

- 9 – Gostei muitíssimo
- 8 – Gostei muito
- 7 – Gostei moderadamente
- 6 – Gostei ligeiramente
- 5 – Nem gostei/nem desgostei
- 4 – Desgostei ligeiramente
- 3 – Desgostei moderadamente
- 2 – Desgostei muito
- 1 – Desgostei muitíssimo

Amostra	Aparência	Cor do miolo	Aroma	Sabor	Maciez	Impressão Global

2. Marque sua intenção de compra utilizando a tabela abaixo:

- 5 – Certamente compraria
- 4 – Provavelmente compraria
- 3 – Tenho dúvidas se compraria
- 2 – Provavelmente não compraria
- 1 – Certamente não compraria

Amostras	Intenção de Compra

3. Qual amostra você mais preferiu? _____

Comentários _____

Obrigada!