



UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS  
PPGCTA- PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE  
ALIMENTOS

ANNANDA CARVALHO DOS SANTOS

**EFEITO DA ADIÇÃO DE LIPASES COMERCIAIS NAS  
PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DO PÃO DE FORMA**

Palmas- TO

2022

ANNANDA CARVALHO DOS SANTOS

**EFEITO DA ADIÇÃO DE LIPASES COMERCIAIS NAS  
PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DO PÃO DE FORMA**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins, para obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**Linha de Pesquisa:** Desenvolvimento de Novos Produtos

**Orientadora:** Dr.<sup>a</sup> Clarissa Damiani

**Co-Orientadora:** Dr.<sup>a</sup> Adriana Régia Marques de Souza; Dr.<sup>a</sup> Elisângela Elena Nunes Carvalho

Palmas- TO

2022

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

- S237e Santos, Annanda Carvalho dos .  
Efeito da Adição de Lipases Comerciais nas Propriedades Tecnológicas do Pão de Forma. / Annanda Carvalho dos Santos. – Palmas, TO, 2022.  
96 f.
- Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2022.  
Orientadora : Clarissa Damiani  
Coorientadora : Adriana Régia Marques de Souza
1. Aditivo. 2. Enzima. 3. Textura. 4. Volume específico. I. Título

**CDD 664**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

ANNANDA CARVALHO DOS SANTOS

**EFEITO DA ADIÇÃO DE LIPASES COMERCIAIS NAS  
PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DO PÃO DE FORMA**

Dissertação DEFENDIDA e APROVADA em 04 de fevereiro de 2022,  
pela Banca Examinadora constituída pelos membros:



---

Prof. Dr Rafael Audino Zambelli  
Universidade Federal do Ceará (UFC)



---

Prof. Dra. Glêndara Aparecida de Souza Martins  
Universidade Federal do Tocantins (UFT)



---

Prof.ª Dr.ª Clarissa Damiani (Orientadora)  
Universidade Federal de Goiás

Dedico este trabalho a minha mãe, meu alento e amor incondicional ao longo dessa jornada, ao meu irmão pelo apoio e confiança, a minha irmã, pelo amor e carinho e ao meu padrasto “*In memoriam*”, pelo incentivo e cuidado que sempre teve comigo.

## AGRADECIMENTO

A Deus, pela sua infinita bondade e por ter me fortalecido ao longo das adversidades dessa caminhada.

A minha família, em especial, minha mãe, Antônia, que foi uma fortaleza nos momentos que mais precisei. Aos meus irmãos, Vinicius e Heloisa, pelo amor carinho e cuidado. E ao meu padrasto, que sempre apoiou a minha jornada acadêmica. Agradeço também às minhas irmãs, Jucy e Janaina pelo incentivo e confiança a mim depositados.

A minha orientadora, Clarissa, meus sinceros agradecimentos pelo suporte ao longo da pesquisa, pela confiança depositada e por sempre incentivar o meu crescimento e aperfeiçoamento.

A minha Co-orientadora, Adriana, pelo suporte durante toda a execução do projeto, em especial, durante minha estada na UFG, e também por sua generosidade e carinho sempre demonstrados. Agradeço também a minha Co-orientadora Elisângela Helena pela disponibilidade e pelo suporte na execução de algumas análises.

À Universidade Federal do Tocantins, na pessoa do Professor Dr Alex e Professora Dr<sup>a</sup> glêndara pela oportunidade conferida a mim, além de todo o suporte financeiro para deslocamentos e pela infraestrutura laboratorial.

A universidade Federal do Goiás, por ter aberto as portas da Instituição para execução de grande parte do trabalho, em especial ao corpo técnico. Além dos alunos de PIBIC (Fabiane) e do PET-Engali (Eduardo e Ana Paula) que contribuíram efetivamente na execução do projeto. Agradeço também a ajuda da Edinilda que me ajudou imensamente no preparo das formulações sem medir esforços, independente do horário, meu muito obrigada.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa durante a realização deste mestrado.

Aos amigos, que o mestrado me proporcionou, em especial a Iara e Allana, que sempre estiveram comigo nos momentos desafiadores da pesquisa. Pedro e Hermann, que sempre se dispuseram a ajudar.

Aos amigos, que acompanharam de perto essa jornada, Pâmella Fronza, Robson, Taís, Cíntia, Larissa e Pâmela. Obrigada pelo incentivo, por me fazerem acreditar no projeto e também por não me deixarem desistir perante as adversidades e o desânimo.

Ao meu namorado, por seu amor, incentivo, paciência, e por me transmitir segurança nos momentos mais difíceis. Sua presença foi fundamental ao longo desse processo.

Agradeço a Keyla, excelente profissional da área de alimentos, que me ajudou na execução de etapas importantes do trabalho. Deixo aqui meu agradecimento e admiração.

A todos que contribuíram de algum modo para essa conquista, deixo a minha profunda gratidão.

*O ser humano não é completamente condicionado e definido. Ele define a si próprio seja cedendo às circunstâncias, seja se insurgindo diante delas. Em outras palavras, o ser humano é, essencialmente, dotado de livre-arbítrio. Ele não existe simplesmente, mas sempre decide como será sua existência, o que ele se tornará no momento seguinte.*

*Viktor Frankl*



## RESUMO

O pão é um dos produtos mais consumidos no mundo. Tradicionalmente é produzido partir da farinha de trigo, água, fermento biológico e sal, no entanto, utiliza-se aditivos para melhorar sua qualidade. Por essa razão, destaca-se o uso da lipase, por simular o efeito dos emulsificantes. Portanto, este trabalho teve por objetivo aplicar lipases comerciais e avaliar seus efeitos nas características tecnológicas do pão tipo “forma”. O estudo foi dividido em duas etapas. Na primeira, utilizou-se esquema fatorial de 3x5x3, considerando três enzimas (Lipopan F, Lipopan XTRA® e Lipopan Prime®), cinco concentrações (0,75, 1,5, 2,25, 3,0 e 3,75 KLU/g) e três tempos de fermentação (1h, 1h30 e 2h30). Na segunda, adotou-se delineamento 2x3 ao longo de 28 dias, sendo dois tipos de formulações (controle e com enzima) e três temperaturas de armazenamento (15°C, 25°C e 35°C±2). Na análise multivariada de Componentes Principais (PCA) identificou-se que as variáveis de maior peso na PC1 foram: dureza, gomosidade, volume específico, mastigabilidade e volume, variáveis essas relacionadas à textura e expansão. Já na segunda etapa (vida de prateleira) a análise de (PCA), percebeu-se que as amostras de pães com uso de enzima na formulação se dispersaram das amostras controle. Com base no círculo de correlações, as amostras com enzima se discriminam por apresentarem menor mastigabilidade, gomosidade e dureza. Pelos resultados obtidos, verificou-se que os pães que continham em sua formulação as enzimas lipase apresentaram maiores volumes específicos nas três temperaturas avaliadas quando comparados ao controle. A análise microscópica mostrou que nos primeiros quatorze dias de armazenamento as moléculas de amido se mostravam mais uniformes, entretanto, ao longo dos dias de armazenamento notou-se que as moléculas começaram a perder sua estrutura conformacional. Desde modo a adição de lipase fez com que os pães apresentassem melhoria de parâmetros tecnológicos no que se refere principalmente aos atributos de volume, textura e microscopia.

Palavras-chave: aditivo, enzima, textura, volume específico, microestrutura do miolo

## ABSTRACT

Bread is one of the most consumed products in the world. Traditionally it is produced from wheat flour, water, biological yeast and salt, however, additives are used to improve its quality. For this reason, the use of lipase stands out, as it simulates the effect of emulsifiers. Therefore, this research aimed to apply commercial lipases and evaluate their effects on the technological characteristics of “shape” bread. The study was divided into two stages. In the first, a 3x5x3 factorial scheme was used, considering three enzymes (Lipopan F®, Lipopan XTRA® and Lipopan Prime®), five concentrations (0.75, 1.5, 2.25, 3.0 and 3.75 KLU/g) and three fermentation times (1h, 1h30 and 2h30). In the second stage, a 2x3 design was adopted over 28 days, with two types of formulations (control and enzyme) and three storage temperatures (15oC, 25oC and 35°C±2). In the multivariate analysis of Principal Components (PCA), it was identified that the variables with the greatest weight in PC1 were hardness, gumminess, specific volume, chewiness and volume. variables related to texture and expansion. In the second stage (shelf life) the analysis of (PCA), it was noticed that the samples of breads with enzyme use in the formulation dispersed from the control samples. Based on the circle of correlations, breads with enzyme are distinguished by having lower chewiness, gumminess and hardness. The average table showed that the breads that contained lipase enzymes in their formulation had higher specific volumes at the three temperatures evaluated when compared to the control. In this way, the addition of lipase made the breads show improvement in technological parameters, mainly in terms of volume, texture and microscopy attributes.

Keywords: additive, enzyme, texture, specific volume, crumb microstructure

## SUMÁRIO

1	Introdução	13
2	Objetivos	14
2.1	Geral	14
2.2	Específicos	14
3	Revisão Bibliográfica	15
3.1	Pão	15
3.2	Ingredientes	17
3.2.1	Farinha de Trigo	17
3.2.2	Água	21
3.2.3	Sal	21
3.2.4	Fermento Biológico	22
3.2.5	Açúcares	22
3.2.6	Aditivos	23
3.2.6.1	Emulsificantes	23
3.2.6.2	Enzimas	24
3.2.6.2.1	Lipases Comerciais: Lipopan F®, Xtra® E Prime®	27
4	Material e Métodos	28
4.1	Material	28
4.2	Métodos	28
4.2.1	Preparação dos Pães	28
4.2.2	Delineamento Experimental	30
4.2.3	Análise dos Pães	31
4.2.3.1	Volume das Massas produzido durante a fermentação	31
4.2.3.2	Índice de Expansão	31
4.2.3.3	Volume Específico dos Pães	32

4.2.3.4	Análise do Perfil De Textura dos Pães	32
4.2.3.5	Colorimetria dos Pães	32
4.2.3.6	Estrutura dos Miolos	33
4.2.4	Vida De Prateleira dos Pães	33
4.2.4.1	Umidade	33
4.2.4.2	Atividade de Água	33
4.2.4.3	pH	34
4.2.4.4	Acidez Titulável	34
4.2.4.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	34
4.2.4.6	Calorimetria de Varrimento Diferencial dos Pães (DSC)	34
5	Resultados e Discussão	35
5.1	Análise de Componentes Principais	35
5.2	Vida de Prateleira	40
5.2.1	Componentes Principais	40
5.2.2	Perfil de Textura (TPA)	43
5.2.3	Volume Específico	53
5.2.4	Colorimetria	54
5.2.5	Atividade de Água (Aw)	58
5.2.6	Umidade	59
5.2.7	pH	60
5.2.8	Acidez	62
5.2.9	Análise de Regressão	65
5.7	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	67
5.8	Caracterização Térmica Por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	73
6	Conclusão	76
	Referências Bibliográficas	77

## 1 INTRODUÇÃO

Em todo o mundo, o pão é considerado essencial para a nutrição humana, tendo uma importante fonte de macronutrientes e micronutrientes, como fibras alimentares, vitaminas e antioxidantes (KWEON et al., 2014). Tradicionalmente é produzido partir da farinha do trigo, água, fermento biológico e sal (PARENTI et al., 2020).

Entretanto, devido à necessidade de produzir vários tipos de pães e o aumento da mecanização na indústria de panificação (DAHIYA et al., 2020), outros componentes podem ser adicionados para melhorar as características da massa durante o processamento e conseqüentemente a qualidade do produto final. Estes podem ser gorduras vegetais, açúcares, emulsificantes, agentes oxidantes e enzimas (MATUDA, 2004).

A indústria de panificação tem considerado a incorporação de enzimas para melhorar as propriedades físico-químicas, térmicas e reológicas de massas e pães. Tendo em vista que muitos dos aditivos existentes podem ser prejudiciais à saúde humana, portanto, o uso de compostos de rótulo limpo em produtos de panificação é um tema que preocupa não apenas a população, mas também os produtores e pesquisadores. Nesse sentido, existe uma extensa variedade de enzimas, em especial as amilases, celulasas, proteases, xilanases e Lipases (TEBBEN et al., 2018; BARBOSA-RÍOS et al., 2018; HEMALATHA et al., 2010).

A compreensão da funcionalidade das lipases está sendo continuamente estudada, mas é baseada principalmente, no conhecimento dos efeitos dos lipídios na panificação (COLAKOGLU; ÖZKAYA, 2012). As lipases influenciam, positivamente, nas características do pão, em especial, o volume (WANG et al., 2018; LI et al, 2011), atuando na fração lipídica, aumentando a quantidade de moléculas com propriedades emulsificantes (GIANNONE et al., 2016). Como resultado do aumento no volume do pão, obtêm-se estrutura de miolo mais uniforme e, portanto, mais macio. Ademais, modificam as propriedades de manuseio, aumentando assim, a estabilidade e a resistência da massa (DAHIYA et al., 2020).

Deste modo, as lipases possibilitam a substituição parcial ou integral de emulsificantes tradicionais em produtos de panificação partir dos lipídeos endógenos do trigo, promovendo melhoria do desempenho tecnológico dos pães de forma.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 GERAL

- ✓ O trabalho teve por objetivo geral aplicar lipases comerciais e avaliar seus efeitos nas características tecnológicas do pão tipo “forma”.

### 2.2 ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar o efeito de diferentes lipases sob a qualidade do produto final;
- ✓ Verificar a influência de diferentes concentrações de lipase sobre a qualidade dos pães;
- ✓ Comparar a estrutura dos miolos dos pães controle e com adição de lipase;
- ✓ Analisar o comportamento dos pães ao longo de 28 dias de armazenamento;
- ✓ Avaliar a estabilidade térmica dos pães ao longo dos 28 dias de armazenamento.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 PÃO

A produção de pão é um dos processos tecnológicos mais antigos que se tem conhecimento. Registros apontam que ele faz parte da dieta humana desde os períodos antes de Cristo (10.000 A.C). Atualmente continua sendo um dos alimentos mais consumidos (ROSELL; GARZON, 2015). Os consumidores, por sua vez, procuram um produto com sabor agradável, cor e textura satisfatórias e longa vida útil (DE WIJK et al., 2018).

Pesquisadores indicam que os pães industrializados têm sido consumidos cada vez mais no Brasil, com 537 mil toneladas vendidas em 2019. Este fato revela um aumento de 136 mil toneladas em relação ao ano anterior. A mesma pesquisa aponta que o aumento da vida útil do produto, a praticidade e o aumento do preço do pão francês, foram elementos que contribuíram para esse movimento (ABIMAPI, 2020).

De acordo com Brasil (2005), pães são os produtos obtidos da farinha de trigo e ou outras farinhas, adicionados de líquido, resultantes do processo de fermentação ou não e cocção, podendo conter outros ingredientes, desde que não descaracterizem os produtos. Estes podem apresentar cobertura, recheio, formato e textura diversos.

Os pães possuem alto valor nutricional, sendo compostos por fibras e vitaminas, como tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina e ácido fólico. Ele também contém minerais, por exemplo, fósforo, magnésio, cálcio e potássio e em quantidades menores também estão disponíveis sódio, ferro e iodo (SHANMUGAVEL et al., 2020). Ressalta-se ainda que a sua composição é resultado de vários fatores, incluindo genótipos de trigo, tratamentos agrônômicos, condições ambientais, composição da farinha, condições de processamento e armazenamento do produto (PARENTI et al., 2020).

A produção de pão tem aumentado a cada ano com uma grande variedade de formatos e formulações (COSTA, 2018) como por exemplo, o pão árabe, que é bem fino e forma achatada; o pão francês, cuja característica mais importante é sua casca crocante e o “pão tipo forma” (figura 1), que se destaca pelo seu alto volume específico (ALTUNA, 2016).

**Figura 1.** Pão do tipo “forma” elaborado com farinha de trigo branca



Fonte: globo.com

Os métodos de processamento do pão são diversos, mas, eles podem ser agrupados em dois tipos principais: método direto e indireto. No método indireto os ingredientes são misturados em dois estágios, sendo que no primeiro é elaborada uma massa (esponja) com o propósito de permitir a propagação do fermento antes de adicioná-lo aos demais ingredientes que compõem a massa. Neste método é possível fabricar quantidades maiores de massa a partir de uma menor quantidade de levedura. Já no método direto os ingredientes são misturados em um único estágio, sem nenhum procedimento preliminar, sendo mais rápido, ressalta-se que os ingredientes devem ser misturados até perfeita homogeneização (QUAGLIA, 1991; ZANETTI, et al., 2009).

De modo geral, o processo de panificação consiste em três etapas principais: mistura, fermentação e forneamento (DAHIYA et al., 2020).

O amassamento é uma das etapas mais importantes no processo de fabricação de pães. A energia mecânica transmitida durante o amassamento induz a formação de uma matriz de massa viscoelástica. Além do desenvolvimento adequado da rede de glúten, a inclusão inicial de gás durante a mistura influencia bastante a qualidade do pão. Os efeitos combinados da produção e retenção de gás determinam em grande parte o volume, a estrutura do miolo e a textura do pão (GAO et al., 2017). A intensidade da mistura e a energia são parâmetros decisivos e que possuem grande impacto nas propriedades do produto final. Ambos devem estar acima de um nível crítico mínimo para desenvolver a massa adequadamente, variando de acordo com o tipo de farinha e misturador (ANGIOLONI; DALLA ROSA, 2005). Quando a mistura da



massa é continuada além do tempo ideal, ocorre sua decomposição, durante a qual a proporção e o peso molecular médio das proteínas, formadoras do glúten, diminui significativamente. Ou seja, a mistura excessiva leva ao colapso das ligações dissulfeto (KUKTAITE et al., 2004; DANNO; HOSENEY, 1982).

A fermentação, por sua vez, baseia-se na ação das células de levedura sobre os açúcares fermentáveis para produzir CO<sub>2</sub>, etanol e metabólitos secundários. O CO<sub>2</sub> produzido no processo dissolve-se e difunde-se através da matriz da massa para os núcleos gasosos pré-existentes, aumentando o volume da massa (REZAEI et al., 2014). A fermentação, também, é responsável pela formação de aromas, prolongamento da vida útil do pão e, por fim, reforço da estrutura da rede de glúten (SUAS, 2012).

O forneamento é a última etapa, momento que a massa é convertida no produto final assado, por meio da estabilização da rede de glúten (CAUVAIN, 2015). Nesta fase, ocorrem várias modificações físicas, químicas e bioquímicas, dentre elas, aumento de volume em função da expansão de gases, formação de crostas e miolo, gelatinização de amido, desnaturação de proteínas, reações de Maillard, evaporação de água e etanol e interações amido-açúcar e amido-lipídios (YONG et al., 2002).

## 3.2 INGREDIENTES

### 3.2.1 Farinha de Trigo

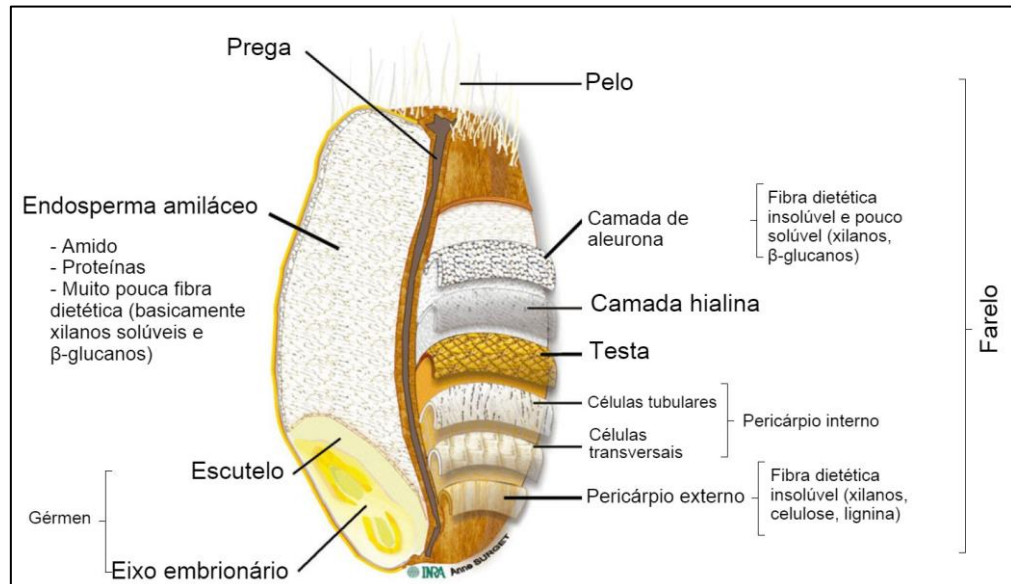
Uma vez que o pão é considerado um dos principais constituintes da dieta humana, o trigo é, deste modo, o cereal mais importante na panificação (GENG et al., 2016). A maioria dos produtos de cereais é tradicionalmente preparada a partir dessa matriz (ALTINEL; ÜNAL, 2017).

O trigo é considerado uma gramínea, pertencente ao gênero *Triticum*. Existe grande variedade, no entanto, as mais cultivadas são: *Triticum aestivum* que é utilizado para a panificação; *Triticum compactum*, utilizado para fabricação de bolos e biscoitos, por apresentar nos produtos finais menor crocância e maior maciez e *Triticum durum*, usado para a produção de macarrão (ABITRIGO, 2014).

Do ponto de vista tecnológico, o grão de trigo é dividido em três partes: o endosperma, o germe e farelo (DELCOUR; HOSENEY, 2010). O endosperma inclui o endosperma amiláceo e a camada de aleurona. O farelo trata-se do resíduo do grão de trigo, e as principais camadas são pericarpo, aleurona e tecido da testa. Já o gérmen, é o nome dado ao embrião da semente de trigo, que representa aproximadamente 2-3 g/100 g do peso do grão inteiro e contém entre 8

e 14 g/100 g de óleo. (JAVED et al., 2012; CHALAMACHARLA et al., 2018; (CAPITANI et al.; 2011) como mostra a figura 2.

**Figura 2.** Anatomia do grão de trigo

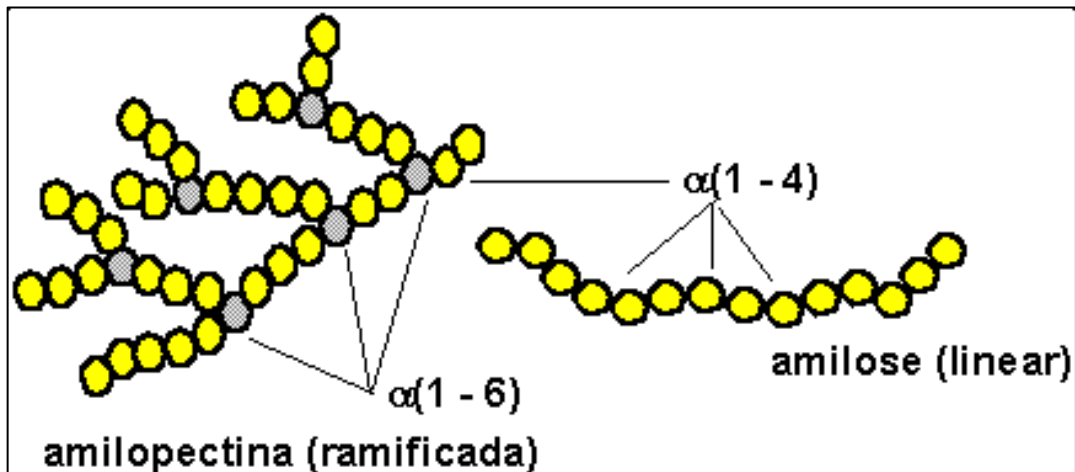


Fonte: Embrapa, 2014

O principal componente do endosperma do trigo é o amido, o qual representa de 65-70% do peso seco, que desempenha papel importante na definição das propriedades físico-químicas e de cozimento. Os componentes estruturais do amido são classificados em amilose (20 a 30%) e amilopectina (70 a 80%), nas quais as ligações  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  4) e  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  6) estão presentes para ligar as unidades de monômero, d- glicose (WROLSTAD, 2012).

A amilopectina possui grau de polimerização mais alto, com uma proporção maior de ligações  $\alpha$  (1  $\rightarrow$  6), portanto, é mais altamente ramificada que a amilose (Figura 3). A proporção de cada componente (amilose e amilopectina) influencia as propriedades reológicas e térmicas (KAUR et al., 2016; WROLSTAD, 2012). O amido gelatinizado atua como espessante e melhora a viscoelasticidade da massa, no entanto, altos níveis de gelatinização não permitem a expansão das células gasosas na massa, o que prejudica a qualidade do pão (ONYANGO et al., 2010).

**Figura 3.** Estrutura da amilose ( $\alpha$ -1-4). B) e amilopectina ( $\alpha$ -1-4) e ( $\alpha$ -1-6).

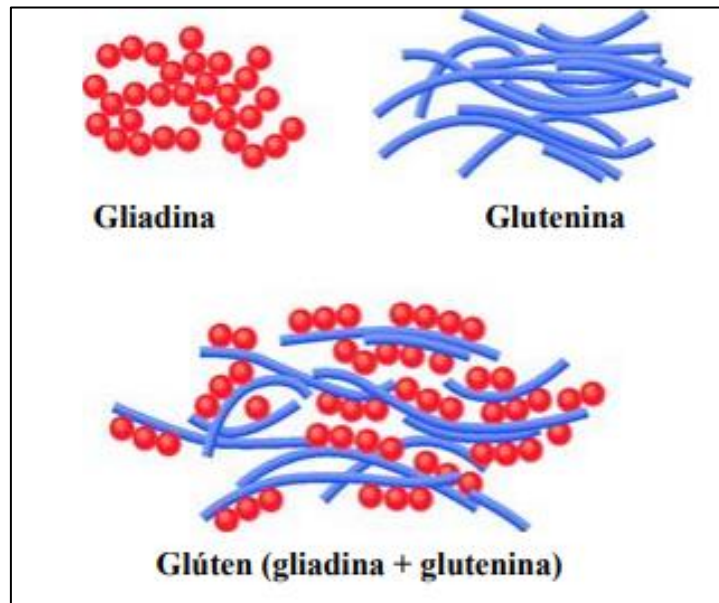


Fonte: Lajolo e Menezes (2006)

A gelatinização do amido é o processo pelo qual os grânulos de amido incham e se rompem, devido à interrupção das duplas hélices de amilopectina. Esse evento é responsável pelo aumento da viscosidade do sistema. Após o resfriamento, a pasta de amido gelatinizado pode formar gel com grânulos de amido gelatinizado, embebidos na rede interconectada de agregados poliméricos recristalizados, denominado de retrogradação (TESTER et al., 1990; WANG et al., 2018). Este processo pode ser influenciado pela estrutura molecular da amilopectina (comprimento da cadeia unitária, extensão da ramificação), composição do amido (proporção de amilose para amilopectina, quantidade de complexo lipídico, cadeias de amilose, conteúdo de fósforo) e arquitetura granular (razão cristalina para amorfa) (GUNARATNE et al., 2002).

Com relação ao constituinte proteico, considera-se glutenina e gliadina, como as principais proteínas de armazenamento do trigo e são responsáveis pelas propriedades viscoelásticas da massa de farinha de trigo (MASURE et al., 2016). Diferenças nas suas estruturas fornecem diferentes funcionalidades durante a formação da massa. Estas proteínas formam uma rede viscoelástica que atua na retenção de gases, durante a fermentação e o cozimento denominada de glúten (Figura 4). A gliadina é pegajosa, quando hidratada, e mostra pouca resistência à extensão, enquanto a glutenina é elástica e quebra facilmente com a extensão (DELCOUR; HOSENEY, 2010).

**Figura 4:** Representação da Gliadina e Glutenina presentes no glúten



Fonte: Fasano, 2011.

Os lipídios do trigo, apesar de representarem uma fração menor na farinha, desempenham papel importantes na panificação (CHUNG et al., 2009, PAREYT et al., 2011). A farinha contém cerca de 2,0 a 3,0% de lipídios, os quais são subdivididos em lipídios de amido (40%) e não-amido (60%) com base em sua localização. Os primeiros encontram-se dentro dos grânulos de amido na forma de um complexo amilose-lipídio e são extraídos apenas após inchaço substancial ou ruptura dos grânulos de amido. A extração de lipídeos sem amido da farinha é realizada à temperatura ambiente. Os lipídios da farinha de trigo sem amido consistem em 43% de lipídios não polares, por exemplo triacilgliceróis e ácidos graxos livres e 57% de lipídios polares divididas em galactolípídeos e fosfolipídeos (FINNIE et al., 2010, JANSSEN et al., 2018, PAREYT et al., 2011).

A modificação seletiva da composição lipídica afeta diretamente o volume do pão de forma (GERITS et al., 2014a). Atuam como lubrificantes da massa, permitindo o deslizamento das camadas de glúten, evitando o ressecamento e a quebra do produto (DANELLI et al., 2010). Os lipídios endógenos do trigo, nas formas livre e ligada, desempenham papel profundo na reologia da massa e na qualidade do pão (PAREYT et al., 2011).

### 3.2.2 Água

A água tem função de promover a união dos ingredientes e, por consequência, a homogeneidade da massa. É indispensável para a atuação do fermento e para a consistência da massa (RAMOS, 2013). O volume de água adicionado na massa é um fator crítico. Devido à polaridade de sua molécula, a água atua tanto como solvente quanto como meio para reações em fase líquida de outros componentes. Como o glúten é principalmente, mas não completamente, hidrofóbico, o papel da fração solúvel em água é muito importante para a distribuição de água e para obter uma massa com a elasticidade necessária (FANARI et al., 2020; DELCOUR et al., 2010).

As propriedades tecnológicas da massa irão variar de acordo com a quantidade de água adicionada e demais líquidos presentes na formulação. Essa quantidade pode variar de 20 a 60% (ZANETTI et al., 2009). Quando a quantidade de água é insuficiente, a massa irá adquirir consistência firme e difícil para trabalhar, produzindo pães com pouco volume e aparência externa pouco atrativa; já quando se trata do excesso de água, a massa apresenta-se mole, dificultando o molde, pois estará muito fluída produzindo pães com baixa qualidade. Considera-se um nível ótimo de água o máximo de quantidade que pode se colocar na massa para adequado desenvolvimento da rede de glúten (CAUVAIN, 2003).

### 3.2.3 Sal

O uso tradicional de sal em alimentos está ligado ao aspecto sensorial e também como método de conservação. No caso da massa para panificação, o sal desempenha a função de fortalecer a rede de glúten, aumentando a estabilidade, a extensibilidade e a resistência da massa, melhorando a textura (BECK et al., 2009). Além disso, ajuda a melhorar as qualidades sensoriais do pão, bem como seu sabor e aparência (HILL, 2009).

Os ânions provenientes do sal, em um sistema farinha-água, se ligam às cargas positivas das proteínas, eliminando a repulsão entre as cadeias, que podem interagir mais facilmente entre si. Esse mecanismo ocasiona modificação na microestrutura da rede do glúten, promovendo a presença de filamentos proteicos alongados, o que resulta em uma hidratação mais lenta das proteínas e, conseqüentemente, em um aumento do tempo ótimo de mistura da massa, e também em uma rede de glúten com mais força (MCCANN et al., 2013; FANARI et al., 2020).

Segundo Gutkoski et al. (2010), o sal tem a capacidade de proporcionar maior estabilidade para o glúten, criando maior resistência e eficiência na retenção dos gases, regulando a atividade fermentativa e melhorando a hidratação da massa, além de realçar o sabor do produto.

### 3.2.4 Fermento Biológico

O uso do fermento na panificação começou no Egito há seis mil anos. Os Egípcios utilizavam uma mistura de fermento natural. Os padeiros guardavam uma parte da massa para adicionar em massas subsequentes. Esse processo foi empregado até o século XIX. Na idade média, as pessoas usavam a espuma resultante da fabricação de cerveja como fermento. Foi somente no ano de 1850, que Louis Pasteur prova que o fermento é um organismo vivo que degrada o açúcar em álcool e gás carbônico (BRANDÃO; LIRA, 2010).

Deste modo, definiu-se que fermento biológico é o produto obtido de culturas puras de leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) por procedimento tecnológico adequado e empregado para dar sabor próprio e aumentar o volume e a porosidade dos produtos forneados (BRASIL, 1977).

O fermento atua no metabolismo de açúcares, produzindo gás carbônico (CO<sub>2</sub>), responsável pela formação dos alvéolos internos e no desenvolvimento da elasticidade e extensibilidade do glúten, promovendo o crescimento da massa. Também é responsável pela produção de compostos aromáticos, como ácidos orgânicos e álcoois, que contribuem com o sabor e aroma do pão (MATUDA, 2004; ROBERT et al., 2006).

### 3.2.5 Açúcares

O açúcar é um dos principais ingredientes dos produtos de confeitaria e panificados, entre eles pães e biscoitos, graças às suas funções estruturais e organolépticas. Devido a muitas propriedades críticas para obter uma estrutura e características sensoriais desejáveis, a sacarose é o açúcar mais comumente utilizado (GODEFROIDT et al., 2019).

O açúcar está relacionado a maior produção de CO<sub>2</sub> e etanol, o que deixa o processo fermentativo mais rápido e eficiente (GELINAS, 2006). A quantidade de CO<sub>2</sub> produzida depende dos substratos fermentáveis presentes na massa (PYLER; GORTON, 2008). O teor de açúcares fermentáveis livres na farinha de trigo é muito baixo para suportar o poder de gaseificação ideal pelas células de levedura (HEBEDA; ZOBEL, 1996). Portanto, a maioria dos açúcares utilizados durante a fermentação são gerados por hidrólise enzimática de amido (CAUVAIN; YOUNG, 2007, HEBEDA; ZOBEL, 1996).

O açúcar, também, aumenta a temperatura de gelatinização, o que tem efeito no volume e na aparência do produto final (BEAN, 1978) Esse aumento é causado pela interação das cadeias de amido e açúcar (KIM, 1992). Além disso, em relação aos critérios de qualidade do produto, o açúcar contribui para a formação de cor nos produtos de panificação pela reação de *Maillard*, que também influencia a formação de sabor (DAVIS, 1995).

A reação de *Maillard* ocorre entre grupos amina dos aminoácidos e proteínas, e compostos carbonílicos, dos açúcares redutores, como frutose, glicose, maltose ou lactose (BASTOS, 2012; HWANG, 2011). Ela ocorre durante o processamento de alimentos em altas temperaturas, como por exemplo, torra, assamento, extrusão, ou durante o armazenamento, e contribui para a formação de cor, sabor e compostos voláteis (BASTOS et al., 2012; LINDENMEIER; HOFMANN, 2004). A reação de *Maillard* não só pode melhorar as propriedades funcionais dos alimentos, mas também pode induzir a formação de compostos com atividade antioxidante. (ECHAVARRÍA et al., 2012).

### 3.2.6 Aditivos

#### 3.2.6.1 Emulsificantes

Atualmente com a produção em larga escala e consumidores cada vez mais exigentes no que se refere à qualidade, homogeneidade e vida útil dos produtos de panificação, auxiliares de processamento vem sendo empregados para ajustar as propriedades da massa (MOAYEDALLAIE et al., 2010). Nesse sentido, os emulsificantes são compostos usados na panificação por sua capacidade de estabilizar a massa, um sistema termodinamicamente instável, por meio de suas interações com as proteínas do glúten (VAN et al., 2013).

Os emulsificantes são compostos de resíduos hidrofóbicos e hidrofílicos, que permitem a interação e a formação de complexos com amido, proteína, gordura e água. O efeito de melhoria está relacionado ao seu efeito na redução das cargas repulsivas entre as proteínas do glúten, fazendo com que elas se agreguem na farinha à medida que o glúten é diluído. Essas interações geram uma forte rede proteica e o desenvolvimento de um complexo glúten-amido-lipídio que, como resultado, produzirá pão com melhor textura e maior volume (METTLER E SEIBEL, 1993; AAMOD E FÆRGESTAD. Essa interação de um emulsificante com a proteína pode melhorar a resistência da massa e permitir uma melhor retenção de dióxido de carbono (DEMIRKESEN et al. 2010).

Sendo assim, os emulsificantes ajudam a estabilizar as interfaces ar/água e óleo/água, levando a uma melhor aeração da massa e a uma melhor dispersão dos glóbulos de gordura, enquanto durante o cozimento, amido e proteínas estão envolvidos em transformações hidrotérmicas e dão estrutura ao miolo (MARINHO et al., 2017).

Alguns emulsificantes comumente usados em formulações de pão são ésteres diacetiltartáricos de monoglicerídeos (DATEM), estearoil lactilato de sódio (SSL),

polissorbatos, mono- e diglicerídeos, vários derivados de monoglicerídeos, lecitina e ésteres de sacarose (TEBBEN et al., 2018).

Um aumento no volume do pão é uma propriedade associada à resistência da massa. No estudo de Mettler e Siebel (1993), os diglicerídeos e monoglicerídeos foram responsáveis pelo aumento do volume específico do pão assado. Este aumento pode ser atribuído ao aumento da elasticidade da massa, propriedade que permite maior deformação da massa sem ruptura e geralmente correlacionada com o aumento da altura da massa. Mettler e Seibel, (1993); Galliard e Collins (1988), relataram um efeito sinérgico substancial quando os diglicerídeos e monoglicerídeos foram utilizados em combinação com os oxidantes ácido ascórbico, ácido desidroascórbico ou bromato de potássio. Estes associados melhoram a capacidade de retenção de gás da massa durante a fermentação e o cozimento.

Grausgruber et al. (2008) relataram uma diminuição na dureza do pão de trigo integral einkorn após a adição de 0,4% de DATEM ou 0,6% de monoglicerídeos. Essa redução da firmeza principalmente ao aumento do volume do pão (Mettler e Siebel (1993)). A capacidade do emulsificante (estearoil lactilato de sódio – SSL) em diminuir a taxa de firmeza do pão ao longo do armazenamento foi demonstrada por Indrani e Rao (1992) em um nível de adição de 0,5%.

### 3.2.6.2 Enzimas

As enzimas são melhores alternativas em comparação com outros aditivos químicos devido à sua segurança. Uma vez que não são ativas no produto final. A maioria das enzimas usadas em processos de panificação são geralmente obtidas por fermentação microbiana usando bactérias ou fungos. Várias enzimas de origem microbiana, incluindo xilanase, fitase, celulase, amilase, protease e glicose oxidase e lipase, têm sido efetivamente empregadas na fabricação de pão para obter um produto de qualidade superior (DAHIYA et al., 2020).

As enzimas são definidas como proteínas capazes de catalisar reações bioquímicas, aumentando sua velocidade, sem interferir no processo e resultando em alterações desejáveis nas características de um alimento durante o seu processamento. Estas se enquadram na categoria de coadjuvante de tecnologia que, por sua vez, é definido como sendo toda substância, excluindo os equipamentos e os utensílios, utilizados na elaboração e/ou conservação de um produto, que não se consome por si só como ingrediente alimentar e que se emprega intencionalmente na elaboração de matérias-primas, alimentos ou seus ingredientes, para obter finalidade tecnológica, durante o tratamento ou fabricação e que deverá ser eliminada do



alimento ou inativada, podendo admitir-se no produto final a presença de traços de substância ou seus derivados (BRASIL, 2014).

Dentre as enzimas, as lipases destacam-se, representando o 3º maior grupo de enzimas comercializadas, base em seu valor de mercado LAILAJA; CHANDRASEKARAN, 2013). além de prevê-se que o mercado cresça mais de US \$ 3,5 bilhões até 2022 (CARPEN et al. (2019).

Estas, por sua vez, são subclasse de esterases e possuem triacilgliceróis de cadeia longa; são pouco solúveis em água e a reação é catalisada na interface água-lípido (KUMAR; KANWAR, 2012). Além do mais, são altamente eficientes nas reações catalisadoras em meios aquosos e não aquosos, devido à sua alta estabilidade térmica, pH e solventes orgânicos (TAN et al., 2018). A versatilidade das lipases permite suas aplicações em diferentes setores, como detergente, farmacêutico, couro, têxtil, cosmético, produção de biodiesel indústrias de papel e indústria alimentícia (BHARATHI; RAJALAKSHMI, 2019).

As lipases ganharam interesse na indústria de panificação como alternativas para os emulsificantes, como ésteres de ácido diacetiltartárico de mono- e diacilgliceróis (DATEM) Estas, por sua vez, hidrolisam os lipídios endógenos do trigo na massa para formar lipídios ativos de superfície (MOAYEDALLAIE et al., 2010; GERITS et al., 2015b). A farinha de trigo contém cerca de 2 a 3% de lipídios, dos quais 30 a 40% são lipídios de amido, localizados no amido granular e 60 a 70% são lipídios não amiláceos (PAREYT et al., 2011).

Em particular, as lipases podem ser aplicadas na hidrólise parcial de triglicerídeos para gerar mono e diglicerídeos, os quais representam ingredientes úteis em produtos de panificação (CARPEN et al., 2019). Isso pode resultar em produtos que podem ser personalizados para atender necessidades específicas, levando em consideração o papel desempenhado por várias classes e subclasses de lipídios nas propriedades dos produtos finais (GERITS et al., 2014a; GERITS et al., 2015b).

Ademais, as lipases apresentam várias atuações: melhoram o processamento da massa e a qualidade geral do pão, aumentando a estabilidade da massa, resistência máxima à extensão ,diminuindo a viscosidade da massa, aumentando o volume específico, melhorando a maciez, estrutura do miolo e retardando o efeito de retrogradação durante o armazenamento (FRAUENLOB et al., 2018, GERITS et al., 2014a, GERITS et al., 2015b; MOAYEDALLAIE et al., 2010). Estudos relatam aumento no volume de pão de 56 a 58%, dependendo do tipo e concentração da lipase adicionada (SCHAFFARCZYK et al., 2014)

Diversos estudos, em nível de laboratório, foram realizados nas lipases. Essas enzimas influenciam positivamente as características de qualidade do pão (Castello et al., 1998 , Castello et al., 2000 , Schaffarczyk et al., 2014 ). conforme apresentado na tabela 1.

**Tabela 1.** Efeitos das lipases nas propriedades do pão

<b>Lipases</b>	<b>Efeito no pão</b>	<b>Referência</b>
<b>Lipopan Xtra</b>	Volume de pão significativamente maior e menor dureza	Serventi et al. (2016)
<b>Lipopan Xtra</b>	Melhora a maciez e a elasticidade do miolo do pão, ajudando a retardar o envelhecimento do pão	Wang et al. (2018)
<b>Lipopan Xtra</b>	Aumenta a extensibilidade da massa diminuindo sua tenacidade, por isso foi benéfica para a capacidade de retenção de gás da massa.	Stojceska e Ainsworth (2008)
<b>Lipopan F</b>	Aumento do volume específico dos pães quando comparados ao controle, além do que A porosidade do miolo aumentou de 65% para o controle para 80% para os pães preparados com Lipopan	Primo-Martín et al. (2008)
<b>EMA Stalingase B</b>	Aumentar o volume do pão e a estabilidade da massa, formar emulsificantes, reduzir ou retardar o envelhecimento, desenvolver sabores	Leon et al., (2002)
<b>Lipopan F</b>	Estabilização das células de gás	Gerits et al., (2015)
<b><math>\alpha</math>-amylase-lipase (Prozyme's 3010 fresh)</b>	A adição de amilase e lipase às misturas de pão melhora a textura do miolo e no volume do pão, e inibição significativa do processo de endurecimento	Geanonne et al., (2016)
<b>Lipopan F e Lipopan XTRA</b>	Impacto da lipase na reologia da massa, o mecanismo para o fortalecimento da massa foi atribuído à melhora da atividade de superfície na interface gás-líquido e à estabilização do surfactante lipídico das lamelas líquidas ao redor das células de gás	Schaffarczyk et al., 2016

<b>Lipase isolada de pâncreas de porco</b>	Reduzir a taxa e extensão da retrogradação da amilopectina em pão de trigo	Mu et al., (2022)
--	--	-------------------

Fonte: o autor

O mecanismo de ação das lipases está relacionado à hidrólise de uma ou mais porções de ácidos graxos, a partir de lipídios não polares e polares para gerar mais lipídios polares, levando a atividade superficial melhorada e, assim, a efeitos funcionais mais fortes desses lipídios endógenos (SCHAFFARCZYK et al., 2014). Esse mecanismo resulta em aumento significativo do pão na etapa de forneamento (GERITS, 2015) e volume específico (GERITS et al., 2014a). No entanto, concentrações elevadas de lipase podem causar diminuição do volume do pão. Em determinado estudo, lipídeos de trigo tratados com lipase revelou que a hidrólise de galactolipídeos e fosfolipídios é mais importante para melhorar o volume final do pão (GERITS et al., 2014b; SCHAFFARCZYK et al., 2014).

#### 3.2.6.2.1 Lipases Comerciais: Lipopan F®, Xtra® e Prime®

As lipases, em geral, têm sido bastante utilizadas nas últimas duas décadas, para melhorar algumas características de produtos de panificação. Dentro desta perspectiva, as “Lipopan” possuem papel de destaque dentre as enzimas lipolíticas existentes no mercado (MOAYEDALLAIE et al.; 2010).

Lipopan F BG® e Lipopan Xtra BG® são enzimas lipolíticas purificadas (segunda e terceira lipase geração respectivamente) obtidas a partir de *Fusarium oxysporum* expressas em *Aspergillus oryzae*, que melhoraram as características de fabricação da massa e sua estabilidade, bem como a qualidade dos produtos de panificação (MELIS et al., 2019).

A Lipopan F, é fornecida pela Novozymes, e possui atividade lipolítica tanto em triacilgliceróis (CERMINATI et al., 2019), quanto em fosfolipídios (GERITS et al, (2014) . Ela promove a clivagem dos ácidos graxos de cada molécula de substrato (triacilgliceróis e fosfolipídios) (CHEN et al., 2018 ; PARK et al., 2018 ). Trabalhos apontam que esta enzima Lipopan F produziu maior volume do pão (até 17,4% e 30,8% do volume específico para 100 e 10 g panificação, respectivamente) (GERITS et al., 2015).

No caso da Lipopan Xtra (Novozymes, Bagsvaerd, Dinamarca) trata-se de uma lipase de terceira geração, mais concentrada que, alega-se, ter melhor tolerância a variações no tipo de farinha e dosagem. Stojceska e Ainsworth (2008), avaliaram o efeito do Lipopan Xtra-BG no volume, endurecimento e estrutura do miolo de pão branco com alto teor de fibras. Eles

relataram ainda que essa enzima aumenta a expansão da rede de glúten, aumenta a espessura da parede e diminui a densidade celular.

Com relação a Lipopan Prime<sup>®</sup>, acredita-se em comportamentos semelhantes às já consolidadas (Lipopan F e Lipopan Xtra). Enxerga-se a oportunidade de apresentar à comunidade científica as propriedades e efeitos de uma enzima promissora e pouco explorada.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 MATERIAL

Para elaboração das formulações foi utilizada farinha de trigo Dona Benta<sup>®</sup> Tipo 1 (Laudo fornecido pelo fabricante apresentado no Anexo 1), fermento biológico Fleischmann<sup>®</sup>, açúcar cristal, sal refinado Cisne<sup>®</sup>, e água gelada. Todos os ingredientes, com exceção da água, foram adquiridos no comércio local, na cidade de Goiânia – Goiás.

As preparações enzimáticas (Lipopan F, Lipopan XTRA e Lipopan Prime), utilizadas como fonte de lipase, foram doadas pela empresa *Novozymes Latin America Ltda* e, de acordo com informações do fabricante, possuem atividades enzimáticas de 25 KLU/g (25 kg lipase units / cada 1g de enzima) , 7,2 KLU/g (7,2 kg lipase units / cada 1g de enzima) e 10 KLU/g (10 kg lipase units/ cada 1g de enzima) respectivamente. As enzimas utilizadas nas preparações foram expressas em *Aspergillus oryzae*. Além da enzima, as preparações enzimáticas são constituídas por farinha de trigo e cloreto de sódio. e fornecidas na forma de granulado branco, de aproximadamente 50-212 micrômetros, com densidade aproximada de 0,60 g/mL e o componente ativo é facilmente solúvel em água.

### 4.2 MÉTODOS

#### 4.2.1 Preparação dos pães

Na Tabela 2 estão apresentados o percentual de cada ingrediente utilizado na elaboração das formulações dos pães “tipo” forma controle (sem enzima) e com adição de enzima lipase (Lipopan F, Lipopan XTRA e Lipopan Prime).

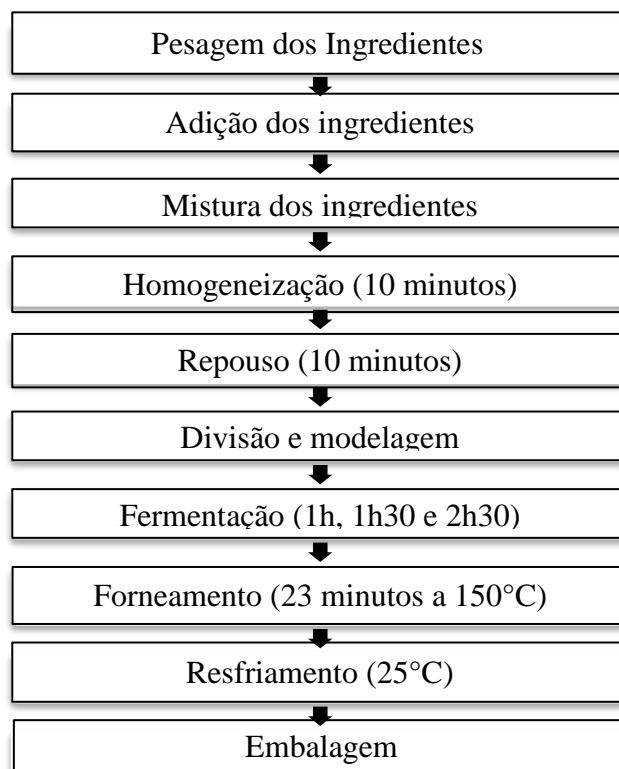
**Tabela 2-** Percentual de ingredientes utilizados na elaboração de pães “tipo” forma com e sem adição de lipases comercial

<b>Ingredientes</b>	<b>Formulação (%)</b>
Farinha de trigo	100%
Água	60%
Açúcar	6,0%
Fermento	2,5%
Sal	1,5%
Propionato de cálcio	0,25%

Cálculo dos ingredientes com base no peso da farinha de trigo (500g)

A produção dos pães de forma foi realizada na Universidade Federal de Goiás (UFG) no Laboratório de Panificação (Engenharia de Alimentos-EA). Utilizou-se o método direto de mistura, conforme etapas apresentadas no fluxograma da Figura 5.

**Figura 5 -** Fluxograma de Processo de elaboração dos pães controle e com adição de lipases comerciais (Lipopan F, Lipopan XTRA e Lipopan Prime) em diferentes concentrações e tempos de fermentação



Fonte: O autor

A preparação dos pães iniciou-se com a pesagem de todos os ingredientes, em *balança analítica Marte®*, modelo Ay220. A mistura enzimática (lipase, trigo e cloreto de sódio), que se encontrava na forma de grânulos secos, foi misturada aos demais ingredientes, primeiramente os secos seguidos dos gêneros úmidos. A massa foi homogeneizada em *Panificadora Automática Multipane Britânia® 550W Branca 220V 064302015*, por 10 minutos em velocidade 100 rpm e, deixada em repouso por mais 10 minutos. Em seguida, a massa foi dividida em três partes de aproximadamente 220 g e modelada na forma de elipse e adicionadas em formas previamente untadas com gordura vegetal hidrogenada e farinha de trigo e, colocadas em Estufa *Fanem®*, modelo 515A a 30°C com umidade relativa de 70% para a etapa de fermentação (1h, 1h30min e 2h30min). Após esse período, as massas foram levadas para o forneamento, em forno *Layr®* pré-aquecido a temperatura de 150°C por 23 minutos. Após a cocção, foram imediatamente desenformados e mantidos na bancada até o resfriamento a 25°C. Em seguida, os pães foram embalados em sacos plásticos de polietileno de baixa densidade e armazenados em temperatura de 25°C até a realização das análises físicas e químicas.

#### **4.2.2 Delineamento experimental**

Na primeira etapa da pesquisa, os ensaios foram realizados conforme o esquema de fatorial de 3x5x3, considerando os três tipos de enzimas (Lipopan F, Lipopan XTRA e Lipopan Prime), cinco concentrações (0,75, 1,5, 2,25, 3,0 e 3,75 KLU/g) e três tempos de fermentação (1h, 1h30 e 2h30). sendo que os tratamentos foram comparados com a testemunhas (pão processado sem enzima em sua formulação). Os valores utilizados foram obtidos por meio da consulta de artigos, em que utilizavam condições de trabalho semelhantes. Optou-se por padronizar as unidades enzimáticas para que todos os tratamentos tivessem a mesma quantidade de lipase. O experimento fatorial foi conduzido sob delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições para os dados de Dureza, Elasticidade, Coesividade, Gomosidade, Mastigabilidade e Resiliência, que fazem parte do teste Perfil de Textura (TPA). Para as variáveis de índice de expansão, fermentação da massa, volume específico, colorimétrica, número de alvéolos, área, perímetro e circularidade utilizou-se três repetições.

O ensaio que apresentou melhor desempenho nos atributos tecnológicos, considerando os parâmetros já definidos na literatura sobre pão de forma, foi submetido a vida de prateleira. O delineamento nesta etapa foi 2x3x5 ao longo de 28 dias com avaliação a cada 7 dias, sendo dois tipos de formulações (controle e com enzima), três temperaturas de armazenamento (15°C, 25°C e 35°C) e 5 tempos (0, 7, 14, 21 e 28 dias) Foram realizadas cinco repetições para as variáveis dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e resiliência; e três

repetições para variáveis volume, umidade croma, °Hue, atividade de água, número de alvéolos, perímetro, área, circularidade, pH e acidez. Foi realizada as análises do pão antes de seguir com o armazenamento (Tempo 0).

Os dados de vida de prateleira foram submetidos a análise de variância e em seguida o teste de médias comparando os tempos de armazenamento para cada tratamento. Fez-se também a comparação entre médias gerais dos tratamentos. Realizou-se análise multivariada de Componentes Principais (PCA), com a intuito de identificar padrões de dispersão e similaridade entre os tratamentos em função das variáveis dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e resiliência, volume, umidade croma, Hue, atividade de água, número de alvéolos, perímetro, área, circularidade, pH e acidez.

### 4.2.3 Análise dos pães

#### 4.2.3.1 Volume das massas produzido durante a fermentação

Porções de massa de aproximadamente 15 gramas, foram colocadas em provetas de 100 mL, previamente esterilizadas, para aferição dos volumes das massas durante o processo de fermentação, o qual foi conduzido em câmara de fermentação regulada em 30°C±2°C com 70% de umidade relativa. Para o cálculo do volume produzido ( $\Delta V$ ) utilizou-se a subtração entre o volume final produzido pelas massas durante a fermentação e o volume inicial. As medidas foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em ml, conforme descrito por Zambelli (2015).

#### 4.2.3.2 Índice de expansão

Para determinação do índice de expansão foi utilizada a metodologia descrita por Silva et al. (2003) e Zambelli (2014). As massas foram moldadas na forma esférica para possibilitar as medições do diâmetro e da altura, com auxílio de paquímetro digital da marca mtX® A análise foi realizada em triplicata. O Índice de Expansão (IE) dos pães foi calculado utilizando a Equação 1:

$$\text{Índice de expansão (IE)} = \frac{(dp+hp)}{2 \frac{(dm+hm)}{2}} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde:

Dp e Hp = Diâmetro e altura dos pães após o forneamento (cm);

Dm e Hm = Diâmetro e altura das massas moldadas (cm).

#### 4.2.3.3 Volume específico dos pães

O volume específico foi estabelecido pelo quociente entre o volume (cm<sup>3</sup>) e a massa (g), de cada amostra forneada, com resultados expressos em cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup> (Equação 2). A massa foi obtida em balança analítica *Marte*<sup>®</sup>, *UX4200H* e o volume obtido pelo deslocamento de sementes de painço, aferido em proveta 500 ml, de acordo com a metodologia de (Pizzinatto et al., 1993). A determinação do volume específico, para todos os tratamentos, foi realizada em triplicata.

$$VE = \frac{V}{m} \quad \text{Eq. 2}$$

Em que: VE = volume específico (cm<sup>3</sup> g<sup>-1</sup>); V = volume (cm<sup>3</sup>); m = massa.

#### 4.2.3.4 Análise do perfil de textura dos pães

O perfil de textura dos pães foi determinado pelo método instrumental em texturômetro de bancada (Texture Analyser, TA-XT Plus, Surrey, England). Foram cortadas 10 fatias de pão de forma, para cada tratamento, com 15 mm de espessura, sendo que as fatias externas, de ambas as laterais, foram descartadas. Para a compressão das amostras, utilizou-se probe de alumínio de 35 mm de diâmetro e os seguintes parâmetros: velocidade de teste, 2,0 mm/s; velocidade de pré-teste, 5,0 mm/s; velocidade de pós-teste, 5,0 mm/s; taxa de compressão, 40% de deformação e um intervalo de 5 s entre os ciclos de compressão Conforme metodologia de Carr e Tadini (2003). Cada fatia de pão foi comprimida duas vezes para a obtenção dos parâmetros de textura (dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e resiliência). A análise foi realizada em quintuplicata, a temperatura de 25°C. Dureza, mastigabilidade e gomosidade foram expressos em gramas (g); já os demais parâmetros são unidades adimensionais.

#### 4.2.3.5 Colorimetria dos pães

A colorimetria do miolo do pão foi determinada utilizando Colorímetro Colorquest<sup>®</sup>, padrão da Comissão Internacional de Iluminação (CIE), com calibração com placa branca padrão, seguindo as instruções do fabricante. As medidas de cor foram expressas em termos numéricos, por meio das coordenadas L\*, a\*, b\*, em que L\* (claridade), a\* (coordenada de vermelho a verde) e b\* (coordenada de amarelo a azul). Foram calculados também o valor de cromaticidade ou C\* e ângulo de tonalidade ou H°, referidos como sistema de cor CIELAB, de



acordo com Minolta (2011). As determinações de todas as coordenadas colorimétricas foram realizadas em triplicatas.

#### 4.2.3.6 Estrutura dos miolos

As estruturas dos miolos dos pães foram avaliadas por meio de imagens digitais de acordo com a metodologia descrita por Rosales-Juárez et al. (2008); Gonzales-Barrón e Butler (2006) com algumas modificações. As imagens foram obtidas por digitalização em resolução de 550 DPI em scanner HP ScanJet 2400, na área central do miolo com resolução de 900x900 pixels. As imagens foram analisadas com o software ImageJ® 1.47v (*National Institute of Health, USA*). Estas por sua vez, foram salvas como arquivos em formato de JPEG e foram cortadas para um campo de vista de 900x900 mm. As imagens coloridas foram convertidas para 8-bit em tons de cinza, nas quais foi realizada a limiarização por meio do algoritmo de Otsu. A partir disto, foi possível obter os valores do número de alvéolos, perímetro e circularidade dos poros.

#### 4.2.4 Vida de prateleira dos pães

O preparo das formulações seguiu a mesma metodologia descrita no item 4.2.2. Os tratamentos que apresentaram melhor desempenho nos atributos de textura e volume, colorimetria e microestrutura de miolo foram submetidos a análise de vida de prateleira no período de 0, 7, 14, 21 e 28 dias nas temperaturas ambiente ( $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ ),  $25^{\circ}\text{C}$  e  $15^{\circ}\text{C}$ . Para isto foram realizadas as análises apresentadas nos itens 4.2.3.3, 4.2.3.4, 4.2.3.5, 4.2.3.6, além daquelas descritas a seguir:

##### 4.2.4.1 Umidade

O teor de umidade foi determinado pelo método de secagem em estufa a  $105^{\circ}\text{C}$ , até peso constante, de acordo com AOAC (2012, método 920.39). Foi utilizada estufa da marca *Fanem*®, modelo 515<sup>a</sup>, controlador modelo 515 A em triplicata e os resultados expresso em porcentagem.

##### 4.2.4.2 Atividade de água

A atividade de água foi determinada em temperatura média de  $25^{\circ}\text{C}$ , em equipamento *Aqualab*®, modelo *Decagon Devices, Inc. Pullman Washington 9916* em triplicata.

#### 4.2.4.3 pH

A determinação do potencial hidrogeniônico (pH) foi por meio do potenciômetro *Hanna*®, calibrado com soluções de pH 4,0 e 7,0, e efetuado leitura direta, pela imersão do eletrodo, no béquer contendo a amostra macerada em solução aquosa (Diluição 1:10), conforme método 945.42 descrito pela AOAC (2012) em triplicata.

#### 4.2.4.4 Acidez Titulável

Foi realizada por meio de titulação, com solução de hidróxido de sódio (NaOH) 0,1N, utilizando-se fenolftaleína como indicador, conforme método 942.15 descrito pela AOAC (2012). O resultado foi expresso em mL de NaOH por 100 g de amostra, em triplicata.

#### 4.2.4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras foram preparadas, inicialmente, fazendo-se a retirada da porção do miolo, seguida de secagem a 75° C por seis horas. Após esse período, foram colocadas em Becker e acrescentou-se éter etílico até cobrir completamente as amostras e vedou-se com filme plástico película flexível Parafilm® e submeteu-se a agitação em rotação quatro por 50 minutos. As amostras foram, então, filtradas e levadas a estufa, sob a mesma temperatura, até a completa evaporação do solvente.

Após o preparo, as amostras foram submetidas à microscopia eletrônica de varredura ambiental (MEV). As imagens foram obtidas em um microscópio eletrônico de varredura (MEV) Jeol IT300-LV operando em modo de baixo vácuo, com tensão de aceleração de elétrons de 10kV no modo de detecção de elétrons retroespalhados (BED).

#### 4.2.4.6 Calorimetria de varrimento diferencial dos pães (DSC)

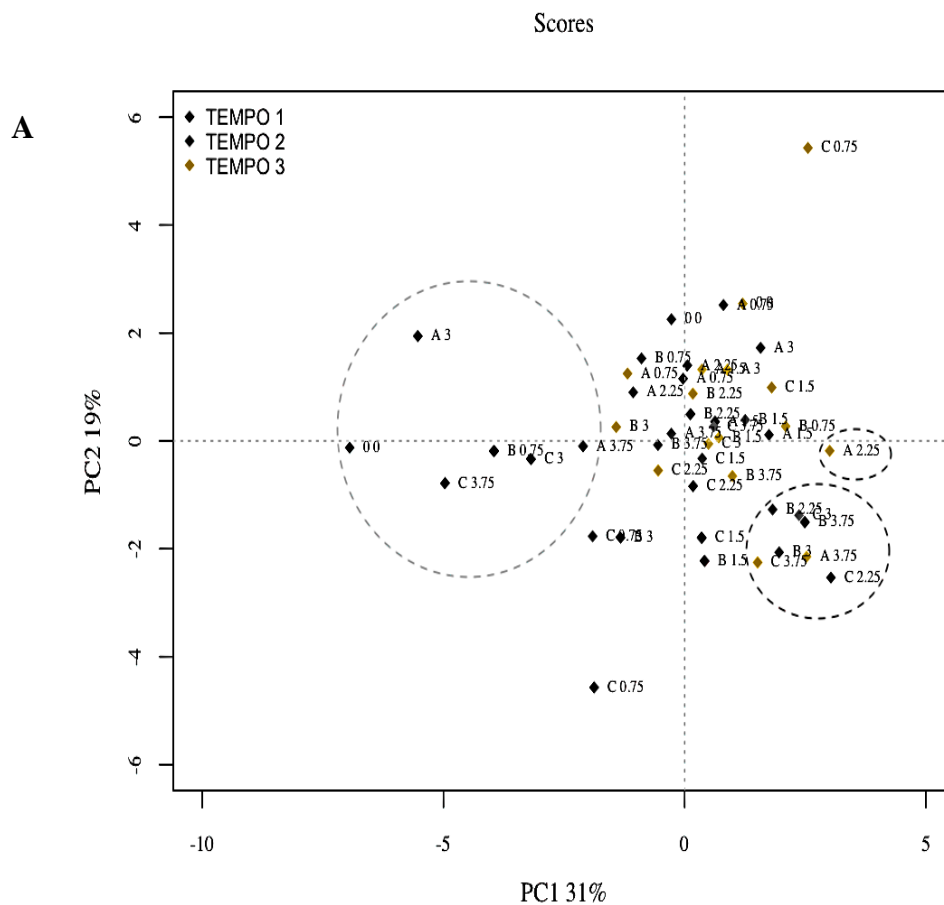
A entalpia de retrogradação ( $\Delta H$ ) dos pães armazenados pelo período de 0, 7,14,21e dias sob temperatura ambiente (35°C  $\pm$  2), 25°C e 15°C. foi analisada usando um calorímetro de varredura diferencial em Equipamento: Netzsch DSC 204 F1 Nevio com Intervalo de temperatura: 20 - 300 °C Taxa de aquecimento: 10 K/min e Fluxo de gás Nitrogênio de 50 mL/min.

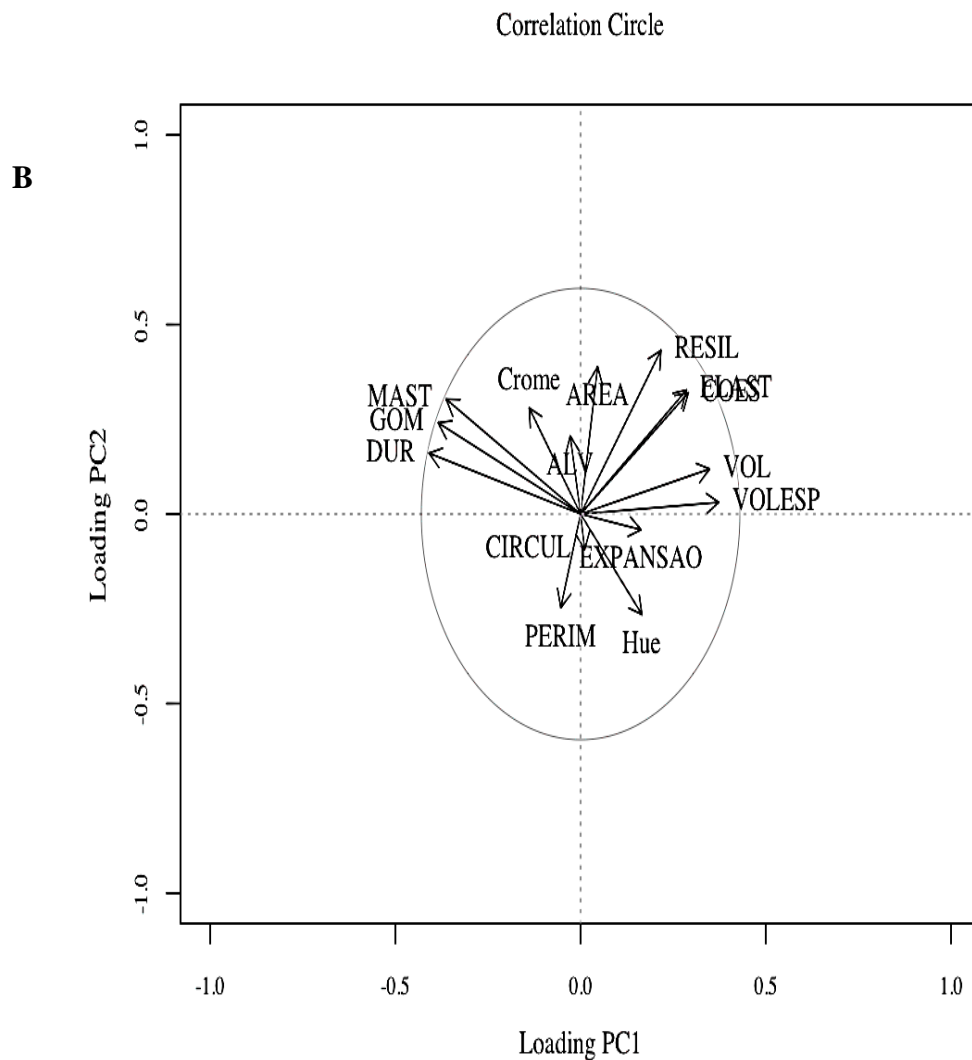
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS

Inicialmente foi realizada a Análise de Componentes para melhor compressão dos dados e redução da dimensionalidade do conjunto de dados multivariados, e assim procurar tratamentos que se discriminam entre si (Figura 6 A e B).

**Figura 6.** Análise de componentes principais (PCA) e gráfico de dispersão (PC1 vs PC2) das variáveis estudadas como amostra controle (sem adição de enzima) e amostra enzimática nos tempos estudados com projeção no plano fatorial.





<sup>1</sup> Variáveis resposta: (Dureza, Mastigabilidade, Elasticidade, Coesividade, Gomosidade, Mastigabilidade e Resiliência, índice de expansão, volume da massa, volume específico, ângulo °Hue, número de alvéolos, área, perímetro e circularidade);

Gráfico A = **A**: Representando a enzima Lipopan F; **B** representando a enzima Lipopan Xtra; **C** representando a enzima lipopan prime.

O primeiro componente (PC1) correspondeu a 31% da variação total dos dados e o segundo componente (PC2) 19%, totalizando em 50% da variância amostral. As variáveis de maior peso na PC1 foram: dureza, gomosidade, volume específico, mastigabilidade e volume, variáveis essas relacionadas à textura e expansão. Dentre as variáveis respostas, os dados de microestrutura e colorimétrica (número de alvéolos, perímetro, circularidade e ângulo hue°) foram aqueles que menos explicaram a variação dos dados na PC1 (Figura 6A). Os achados do presente trabalho evidenciam que a lipase promove mudanças benéficas na textura do miolo e também na estabilidade das células gasosas. De acordo com Altinel e Ünal, (2017), as lipases influenciam a reologia da massa, diminuindo a resistência à extensão e a relação

resistência/extensibilidade, atingindo assim, aumento do volume específico do pão, possivelmente porque as enzimas permitiram maior expansão da massa. Ainda sobre esse aspecto, ressalta-se que os melhoradores, de maneira geral, promovem a agregação das proteínas do glúten: forma ligações de hidrogênio com a glutamina a qual se complexa com os grânulos de amido HÄHNEL et al. (1995). Essas interações geram uma forte rede proteica e o desenvolvimento de um complexo glúten-amido-lipídio que, como resultado, produzirá pão com melhor textura e maior volume (PETROFSKY et al., 1995). Isso Ratifica as maiores pontuações na PCA para esses atributos.

As variáveis de maior peso na PC1 foram responsáveis por distribuir os escores no sentido horizontal. Isso significa que, os escores do Tempo 1 que estão posicionados do lado esquerdo do gráfico (círculo pontilhado) apresentam maiores índices de dureza, gomosidade e mastigabilidade e menores índices de volume (Figura 6B). As características desejáveis para o pão de forma são aquelas com maior volume, menores índices de mastigabilidade, gomosidade e dureza, conforme apontado por. O círculo de correlação mostrou correlações negativas entre variáveis ligadas ao volume do pão com variáveis: mastigabilidade, gomosidade e dureza, possibilitando identificar os tratamentos com características desejáveis.

Essa correlação é interessante, do ponto de vista tecnológico, uma vez que a indústria de panificação busca pães de forma com maiores volumes, e valores menores para os parâmetros de mastigabilidade, gomosidade e dureza. O volume específico é um dos indicadores mais importantes da qualidade tecnológica do pão, influenciando fortemente a escolha do consumidor (MONTEIRO et al., 2021). Além disso, Fu et al. (2021) consideram a dureza, índice chave dos atributos texturais, em que determina o limite aceitável para produtos panificáveis.

O resultado indica que essas variáveis estão mais associadas, pois conforme afirma Philippeau, (1986) a análise multivariada de PCA permite identificar as variáveis que estão mais associadas entre si ou não e permite também identificação daquelas que mais contribuíram para a diferenciação dos acessos.

Foi possível observar que os tratamentos A 2,25, A 3,75 no tempo 3 (2h30 de fermentação); B 2,25, B3,0, no tempo 2 (1h30 de fermentação) e B 3,75 no tempo 1 (1h de fermentação) e C 2,25, C 3,0 no tempo 2 (1h30 fermentação) e C 3,75 tempo 3 (2h30 de fermentação) se destacaram concomitantemente para maiores índices de volume específico, volume, resiliência, elasticidade, coesividade e expansão. Tais atributos representam aspectos da qualidade do pão, evidenciando melhoria das propriedades e funcionalidades dos produtos assados quando enzimas são adicionadas a estes. Os resultados do presente estudo apoiam o

trabalho de Ma et al. (2022), ao avaliar o efeito de enzimas em pão de batata, observou redução da dureza e mastigabilidade, aumento da elasticidade e resiliência nos ensaios que tiveram adição de alfa-amilase e lipase em comparação com o controle.

A PCA apresenta uma visão geral dos parâmetros, indicando possíveis correlações, mas para obter informações mais detalhadas, as variáveis devem ser analisadas e comparadas separadamente (PURHAGEN et al., 2011). Deste modo esses foram os tratamentos escolhidos como superiores para prosseguir com análise univariada e buscar diferenças significativas entre suas médias.

Os dados apresentados na Tabela 2 mostram diferenças bem sutis entre os tratamentos escolhidos, que tomou como base na análise multivariada (PCA). No entanto, no primeiro momento já foi eliminado o tratamento C 3,75 por apresentar valor maior que  $p < 0,05$  de dureza. Pois de acordo com Serventi et al. (2016), as análises instrumentais correlacionaram-se muito bem na descrição do volume do pão, dureza do miolo e tamanho dos poros, deste modo optou-se por descartá-la, uma vez que maior dureza acarretaria no comprometimento dos parâmetros tecnológicos. Já o tratamento B 3,75 apresentou maiores valores de coesividade, o que é positivo para pães de forma, uma vez que valores muito baixos indicam que os pães se desintegrariam com maior facilidade. Com relação aos demais parâmetros, verificou-se médias estatisticamente iguais ( $p < 0,05$ ) em vários ensaios. Deste modo, o tratamento B 3,75 indica um melhor comportamento, levando em consideração os objetivos do trabalho.

**Tabela 3-** Tratamentos que apresentaram melhor comportamento na análise de componentes principais (PCA).

Tratamento	Dur.	Elast.	Co.es.	Gom.	Mast.	Resil.
<b>A2,25(T3)</b>	384,9 ±36,86 <sup>b</sup>	0,95±0,01 <sup>a</sup>	0,76±0,00 <sup>ab</sup>	275,42±19,35 <sup>bc</sup>	259,28±23,51 <sup>bc</sup>	0,38±0,00 <sup>a</sup>
<b>A3,75(T3)</b>	390,3 ±16,06 <sup>b</sup>	0,95±0,00 <sup>a</sup>	0,75±0,00 <sup>bc</sup>	287,88± 12,15 <sup>bc</sup>	269,78±11,41 <sup>bc</sup>	0,33±0,00 <sup>bc</sup>
<b>B2,25(T2)</b>	394,7± 16,10 <sup>b</sup>	0,95±0,01 <sup>a</sup>	0,76±0,01 <sup>ab</sup>	295,44±15,27 <sup>bc</sup>	281,16±17,07 <sup>bc</sup>	0,33±0,01 <sup>bc</sup>
<b>B3,00(T2)</b>	346,6±21,28 <sup>b</sup>	0,95±0,02 <sup>a</sup>	0,73±0,01 <sup>d</sup>	251,72±11,32 <sup>c</sup>	241,349,74± <sup>c</sup>	0,30±0,02 <sup>c</sup>
<b>B3,75(T1)</b>	344,6± 29,06 <sup>b</sup>	0,96±0,00 <sup>a</sup>	0,77±0,00 <sup>a</sup>	309,42±37,47 <sup>ab</sup>	300,64±26,20 <sup>ab</sup>	0,35±0,00 <sup>ab</sup>
<b>C2,25(T2)</b>	333,5 ±24,45 <sup>b</sup>	0,94±0,00 <sup>a</sup>	0,76±0,00 <sup>ab</sup>	252,24±24,90 <sup>c</sup>	246,85±25,31 <sup>c</sup>	0,33±0,02 <sup>bc</sup>
<b>C3,00(T2)</b>	374,9 ±21,56 <sup>b</sup>	0,97±0,01 <sup>a</sup>	0,75±0,00 <sup>c</sup>	278,33±12,66 <sup>bc</sup>	275,1±8,92 <sup>bc</sup>	0,33±0,01 <sup>bc</sup>
<b>C3,75(T3)</b>	560,2 ±21,56 <sup>a</sup>	0,95±0,01 <sup>a</sup>	0,75±0,00 <sup>bc</sup>	354,14±35,37 <sup>a</sup>	332,99±31,93 <sup>a</sup>	0,34±0,01 <sup>b</sup>

Continua

Tratamento	V. M.	V. E.	Exp.	Hue	Nº Alvé.	Perím.	Circ.
<b>A2,25(T3)</b>	32,2±2,25 <sup>a</sup>	4,02±0,18 <sup>ab</sup>	1,49±0,07 <sup>b</sup>	95,5±0,13 <sup>bc</sup>	751,00±87,15 <sup>a</sup>	6,88±0,58 <sup>b</sup>	0,79±0,01 <sup>a</sup>
<b>A3,75(T3)</b>	29,93±0,11 <sup>ab</sup>	3,88±0,07 <sup>b</sup>	1,87±0,11 <sup>a</sup>	96,47±0,38 <sup>b</sup>	672,67±9,29 <sup>a</sup>	6,11±0,23 <sup>b</sup>	0,80±0,01 <sup>a</sup>
<b>B2,25(T2)</b>	30,00±0,50 <sup>ab</sup>	3,88±0,13 <sup>b</sup>	1,36±0,03 <sup>b</sup>	94,82±0,46 <sup>c</sup>	707,67±28,00 <sup>a</sup>	6,49±0,32 <sup>b</sup>	0,79±0,02 <sup>a</sup>
<b>B3,00(T2)</b>	31,10±1,10 <sup>a</sup>	3,77±0,08 <sup>b</sup>	1,48±0,04 <sup>b</sup>	95,44±0,60 <sup>bc</sup>	774,00±85,49 <sup>a</sup>	6,45±0,40 <sup>b</sup>	0,79±0,01 <sup>a</sup>
<b>B3,75(T1)</b>	27,73±0,75 <sup>b</sup>	3,93±0,06 <sup>ab</sup>	1,44±0,03 <sup>b</sup>	96,27±0,34 <sup>b</sup>	742,67±51,73 <sup>a</sup>	6,16±0,04 <sup>b</sup>	0,79±0,00 <sup>a</sup>
<b>C2,25(T2)</b>	30,00±1,0 <sup>ab</sup>	4,24±0,13 <sup>a</sup>	1,48±0,03 <sup>b</sup>	96,2±0,25 <sup>b</sup>	623,33±29,70 <sup>a</sup>	8,19±0,38 <sup>a</sup>	0,77±0,01 <sup>a</sup>
<b>C3,00(T2)</b>	30,50± 0,5 <sup>ab</sup>	3,90±0,14 <sup>b</sup>	1,46±0,04 <sup>b</sup>	95,85±0,42 <sup>bc</sup>	726,00±63,22 <sup>a</sup>	6,47±0,47 <sup>b</sup>	0,77±0,00 <sup>a</sup>
<b>C3,75(T3)</b>	30,73±0,25 <sup>a</sup>	3,79±0,05 <sup>b</sup>	1,46±0,03 <sup>b</sup>	98,55±0,74	759,00±77,09 <sup>a</sup>	5,94±0,15 <sup>b</sup>	0,79±0,00 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) <sup>2</sup> **T1**: 1 hora de fermentação; **T2**: 1h30 fermentação **T3**: 2h30 fermentação <sup>3</sup> **A**: Lipopan F®; **B**: Lipopan Xtra®; **C**: Lipopan Prime® <sup>4</sup> Concentrações das enzimas expressas em KLU/g: **2,25- 3,0- 3,75** <sup>5</sup> Dur = Dureza; Elast = Elasticidade; Coes = Coesividade; Mast = Mastigabilidade; Resil = Resiliência; V. M. = Volume da massa; V.E. = Volume Específico; Nº Alvé. = Número de Alvéolos; Perím = Perímetros; Circ = Circularidade

## 5.2 VIDA DE PRATELEIRA

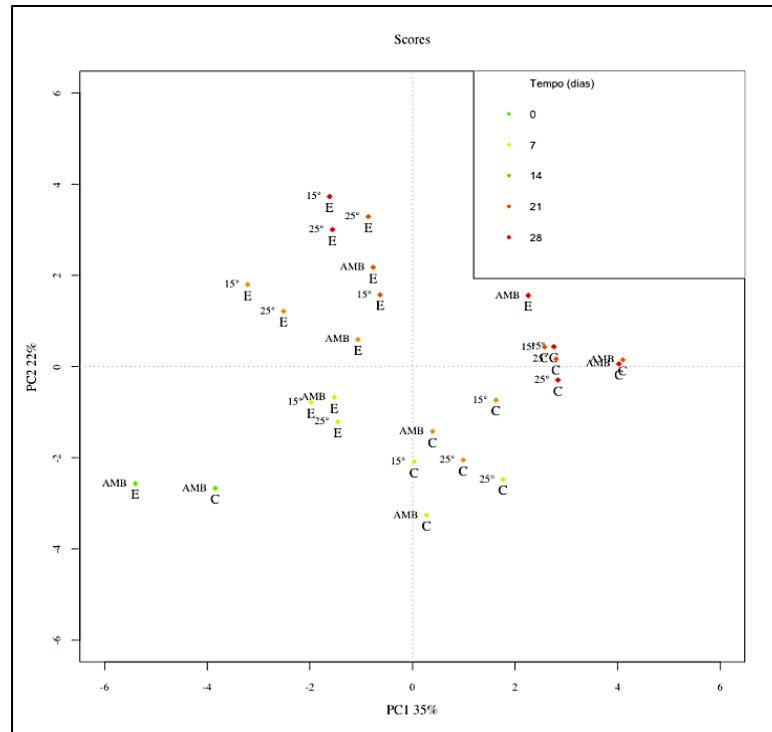
### 5.2.1 Componentes Principais

No gráfico de Componentes Principais percebe-se que as amostras de pães com uso de enzima na formulação (símbolo E, Figura 7) se dispersam das amostras controle (símbolo C). Segundo o círculo de correlações, as amostras com enzima se discriminam por apresentarem menor mastigabilidade, gomosidade e dureza, o que é indicativo de um pão mais macio. Os resultados apoiam o estudo de Giannone et al. (2016), no qual, ao aplicar lipase e amilase em pão de forma, observou que durante todo o período de armazenamento, os ensaios contendo a enzima foram marcadamente mais macios do que o controle, demonstrando a eficácia em retardar a retrogradação em todas as formulações enzimáticas testadas. Isso pode ser notado devido ao alto peso na PC1 dessas variáveis, colocando quase que todas amostras com enzima no eixo esquerdo do gráfico (Figura 7A). As médias gerais de dureza, gomosidade e mastigabilidade apresentaram ser inferiores ( $p < 0,05$ ) com o uso de enzima na formulação em todas as temperaturas de armazenamento (Tabela 3, 6 e 7). Os resultados evidenciam que as enzimas testadas promoveram efeitos positivos no pão de trigo. As preparações mostraram interações sinérgicas na prevenção do envelhecimento, exibindo efeito mais marcante em retardar o endurecimento e a mastigabilidade durante o armazenamento. Do mesmo modo ocorreu com Giannone et al., (2016).

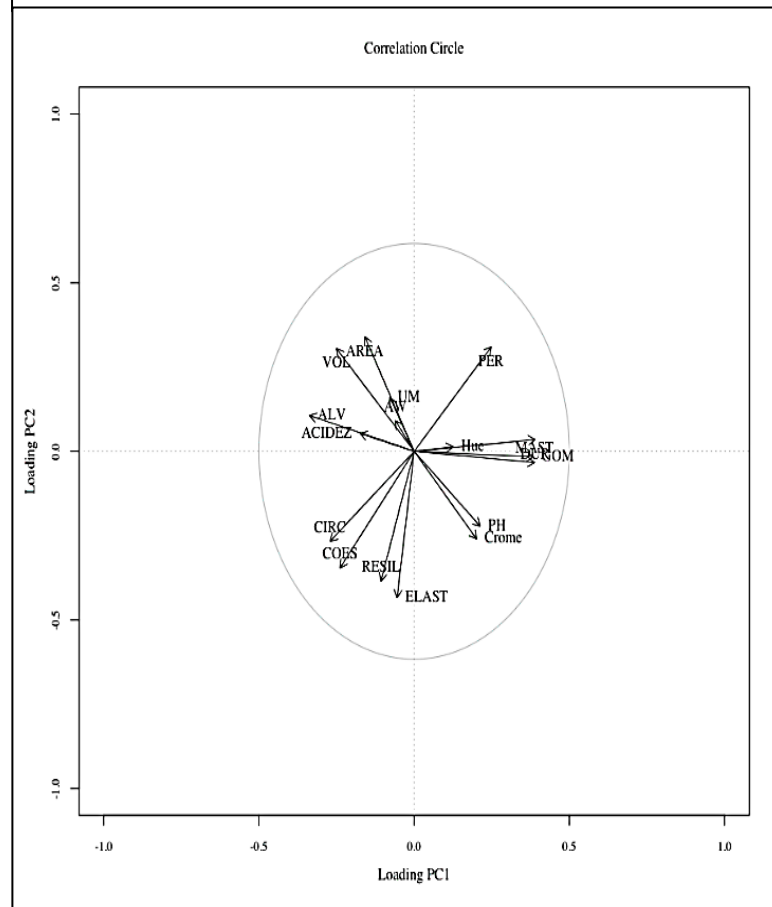


**Figura 7.** Análise gráfica de componentes principais para dezesseis (16) variáveis dos experimentos de pães de forma com e sem adição de enzima

**A**



**B**



Nesse sentido, pela representação gráfica dos vetores das variáveis, em relação aos dois primeiros componentes principais (Figura 7B), no chamado de círculo de correlações (com variância máxima de 1,0), observou-se que não houve variável altamente correlacionada com qualquer um dos dois componentes principais. Em relação à dispersão dos acessos (Figura 7A), nota-se que, em relação aos dois primeiros componentes principais, houve uma clara estruturação dos grupos principalmente entre os pães controles e os pães com enzimas comerciais. Entretanto, cabe ressaltar que esses dois componentes representam 57 % da variância total, implicando, portanto, 43 % de distorção neste nível de representação. Isso denota que os ensaios apresentam muitas semelhanças entre si ao longo do tempo de armazenamento, fazendo com que o índice de discriminação explique uma pequena parte dos resultados. Observa-se, portanto, que o lado esquerdo do gráfico, há uma maior concentração de acessos próximos ao primeiro PC.

Deste modo, considerando o círculo de correlação das variáveis (Figura 7B), conforme recomendado por Jolliffe (2004), pode-se sugerir que as variáveis acidez, área, volume e os número de alvéolos estão diretamente correlacionados com os pães que apresentam em sua composição enzimas comerciais, ou seja, pães que apresentem em sua composição enzimas tendem a apresentarem valores mais altos variáveis acidez, volume e os número de alvéolos quando comparados aos controles. Indicando que a adição de Lipopan às formulações, trouxe efeitos positivos. Relacionados principalmente aos lipídios gerados, que podem estabilizar indiretamente as células de gás na massa. Característica importante, pois a capacidade de retenção de gás da massa é uma das características, senão a mais importante, na panificação, pois está associada a uma estrutura de miolo e um alto volume específico (GERITS et al., 2014). De modo análogo, do lado direito do gráfico, os acessos pertencentes ao quadrante inferior representam as amostras controles (Figura 7A e B), nesse sentido verifica-se que pães, nos quais não apresentam em sua composição as enzimas comerciais alvo deste estudo tendem a apresentarem resultados superiores para as variáveis pH e cromaticidade e gomosidade.

Ainda com base no gráfico de Componentes Principais é possível notar a concentração de amostras de pães com enzimas com 14 dias a 28 dias de armazenamento no quadrante superior esquerdo, exceto amostras com enzima a 28 dias sob temperatura ambiente ( $35^{\circ}\text{C}\pm 2$ ). Essas amostras apresentaram tendência de maiores volumes específicos e maior acidez. A esse respeito, Clarke et al. (2002), afirmam que o aumento volume e da vida do útil dos pães de massa fermentada tem sido sugerido como dependente da intensidade da acidificação.

Essa dissimilaridade apontada pelo método exploratório de PCA entre os tratamentos com e sem enzima substanciam a hipótese de que a enzima tem efeito sobre atributos

importantes do pão, tanto do ponto de vista tecnológico quanto sensorialmente. Pois em estudo realizado por Serventi et al., (2020), ao avaliar sensorial e texturalmente pão composto trigo-mandioca em função da dose de lipase e tempo de armazenamento, observou na avaliação textural do miolo, pães com textura mais macia, com maior elasticidade e menor gomosidade em todas as formulações contendo Lipopan XTRA<sup>®</sup> em comparação com o controle.

### 5.2.2 Perfil de Textura (TPA)

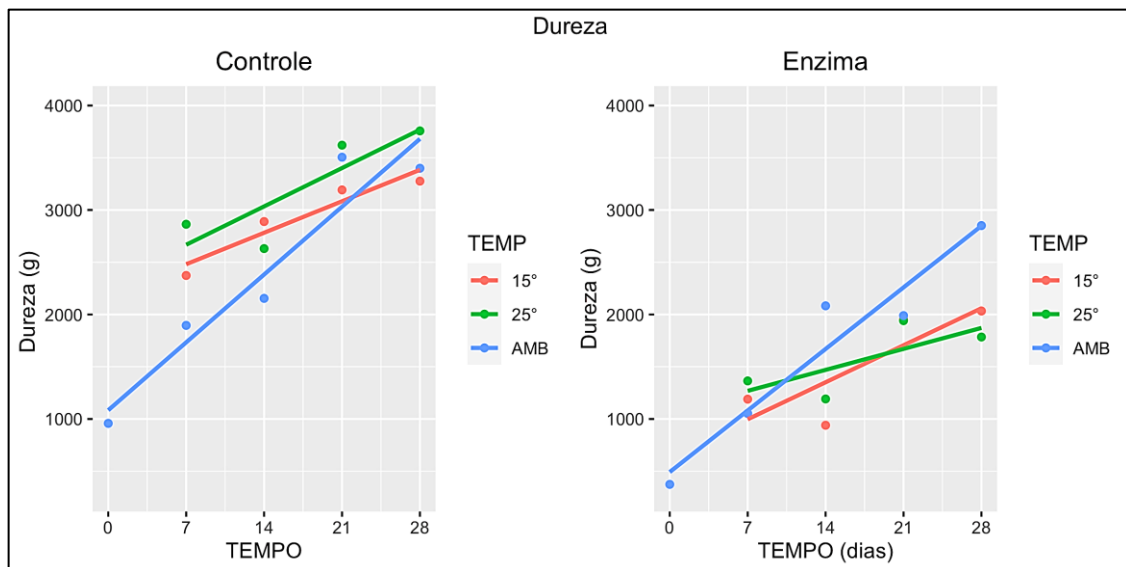
Os resultados do TPA, obtidos por meio de compressões de duplo ciclo a 40% de profundidade, evidenciaram as alterações estruturais que afetaram as amostras dos pães adicionados de lipopan XTRA e dos ensaios controle durante o armazenamento. A Tabela 4 e a Figura 8 apresentam os valores referentes a dureza dos pães de forma controle e incorporados de lipopan XTRA (3,75 KLU) ao longo de 28 dias de armazenamento.

Logo, é possível observar que armazenamento aumentou a variável dureza nos pães controle e com enzima, em todas as temperaturas analisadas. Observou-se que após 21 dias de armazenamento foi verificado aumento significativo da variável dureza nas formulações com enzima submetidas a refrigeração de 15°C e 25 °C (Figura 8). Observa-se que a média geral da dureza com o uso da enzima foi significativamente menor ( $p < 0,05$ ) que o controle (Tabela 4). Esse resultado corrobora com o observado na análise exploratória multivariada. Essas alterações observadas na média geral podem ser atribuídas à maior retenção de gás pela massa tratada com lipase, pois de acordo com Dahiya et al., (2020) a adição de lipases leva a um aumento no volume do pão, resultando em um miolo melhorado e altamente uniforme e, portanto, miolos com menor firmeza. Tais resultados apoiam os estudos de Serventi et al., (2016), que ao avaliar a adição de diferentes enzimas para melhorar a qualidade sensorial de pães, verificou que as formulações com incorporação de lipase (lipopan XTRA) obtiveram aumento na variável dureza ao longo do armazenamento. Logo, esses resultados podem ser justificados, visto que o aumento da dureza está diretamente relacionado com o processo de recristalização e retrogradação da fração amilácea na massa (Davis, 1995).

**Tabela 4.** Média da dureza em pães de forma armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias.

Tempo	*Ambiente		25 °C		15 °C	
	Controle	Enzima	Controle	Enzima	Controle	Enzima
0	957,8±42, 4 <sup>c</sup>	374,1±36,6 <sup>d</sup>	-	-	-	-
7	1895,7±10 0,8 <sup>b</sup>	1052,8±90, 8 <sup>c</sup>	2863,4±4 45,9 <sup>b</sup>	1364,3±17, 9 <sup>b</sup>	2373,2±402,2 b	1189,4±77 ,0 <sup>b</sup>
14	2154,3±81 ,29 <sup>b</sup>	2082,8±205 ,8 <sup>b</sup>	2630,7±1 76,5 <sup>b</sup>	1191,6±88, 1 <sup>b</sup>	2889,3±229,7 ab	939,8±92, 6 <sup>c</sup>
21	3505,2±24 3,2 <sup>a</sup>	1989,4±198 ,5 <sup>b</sup>	3620,5±4 35,0 <sup>a</sup>	1940,7±226 ,5 <sup>a</sup>	3192,3±392,8 a	1950,8±19 6,1 <sup>a</sup>
28	3399,6±39 6,7 <sup>a</sup>	2850,9±247 ,6 <sup>a</sup>	3757±18 3,68 <sup>a</sup>	1784,2±102 ,3 <sup>a</sup>	3276,2±374,7 a	2033,2±15 0,4 <sup>a</sup>
<b>Média</b>	2382,5B	1670,0C	3217,9A	1570,2C	2932,7AB	1528,3C

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \*A temperatura ambiente utilizada foi  $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ .

**Figura 8.** Evolução da dureza em pães de forma armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias

Os dados apresentados na Tabela 5 e Figura 9 indicam que houve diminuição nos valores de elasticidade ao longo dos períodos de armazenamento, tanto para os pães controle quanto para aqueles com adição de enzima (Lipopan XTRA). No entanto, a Tabela 4 mostra que nos ensaios com enzima, apenas aqueles armazenados sob temperatura ambiente ( $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ )

e a 25°C diferiram estatisticamente ( $p < 0,05$ ). Verifica-se ainda que a média geral (Tabela 5) da elasticidade não apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os pães controle e incorporados de lipase, levando em consideração as mesmas condições de armazenamento.

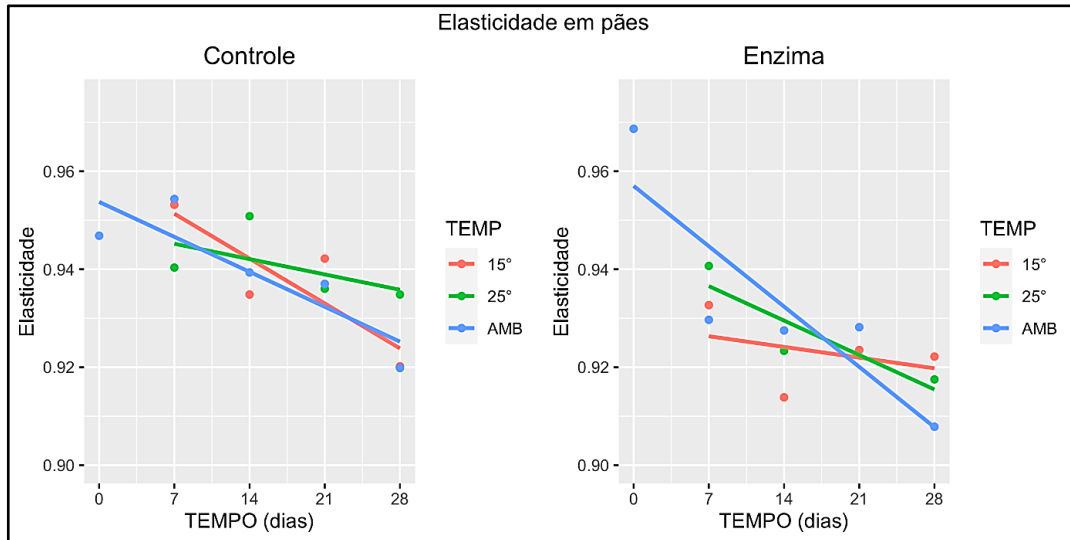
Diante disso, não foi possível prever o efeito da lipase sobre esse atributo de textura. Esses resultados estão em conformidade com os encontrados por Becker et al., (2009), ao qual os autores verificaram que a adição de diferentes enzimas intensifica as propriedades de distensão da massa (extensibilidade), e minimiza a elasticidade do pão. Essa diminuição no valor da elasticidade está inversamente proporcional ao valor de dureza encontrado nos pães analisados durante o armazenamento, ou seja, pães que apresentem maiores valores de dureza, tendem a apresentar comportamento decrescente para a variável elasticidade no decorrer do armazenamento. Dentre as razões este comportamento durante o envelhecimento, é a recristalização do amido. Durante a etapa de forneamento, o amido muda de um estado cristalino ( $\beta$ -amido) para um estado não cristalino ( $\alpha$ -amido), e o pão assado fica macio. Por sua vez, durante o armazenamento, as ligações de hidrogênio entre as moléculas de amido adjacentes são reformadas e o  $\alpha$ -amido gelatinizado é reordenado ao estado cristalino, fazendo com que a dureza do pão aumente e a qualidade diminua (PATEL et al., 2017). Este mesmo comportamento pode ser observado nos estudos de Esteller (2014) e Gandra et al., (2008).

**Tabela 5.** Média da elasticidade em pães de forma armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias.

Tempo	*Ambiente		25 °C		15 °C	
	Controle	Enzima	Controle	Enzima	Controle	Enzima
0	0,947±0,0 1 <sup>a</sup>	0,969±0,00 a	-	-	-	-
7	0,954±0,0 2 <sup>a</sup>	0,93±0,01 <sup>b</sup>	0,94±0,01 a	0,941±0,0 2 <sup>a</sup>	0,953±0,02 a	0,933±0,01 <sup>a</sup>
14	0,939±0,0 2 <sup>ab</sup>	0,928± <sup>b</sup>	0,951±0,0 5 <sup>a</sup>	0,923±0,0 2 <sup>b</sup>	0,935±0,02 b	0,914±0,0 <sup>a</sup>
21	0,937±0,0 2 <sup>ab</sup>	0,928± <sup>b</sup>	0,936±0,0 2 <sup>a</sup>	0,9±0,0,0 1 <sup>c</sup>	0,942±0,02 ab	0,924±0,01 <sup>a</sup>
28	0,92±0,02 b	0,908± <sup>b</sup>	0,935±0,0 2 <sup>a</sup>	0,918±0,0 1 <sup>b</sup>	0,92±0,02 <sup>c</sup>	0,922±0,01 <sup>a</sup>
<b>Média</b>	0,939A	0,932ABC	0,941C	0,920C	0,938 AB	0,923BC

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \*A temperatura ambiente utilizada foi  $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ .

**Figura 9** – Evolução da elasticidade em pães de forma armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias.



Conforme apresentado na Tabela 5 e Figura 10 os dados de coesividade demonstram uma tendência em diminuir ao longo da vida de prateleira. Aos 28 dias, os pães com adição de enzima, independente da temperatura de armazenamento, apresentam coesividade estatisticamente menor ( $p < 0,05$ ) que os dias que o antecedem (Tabela 6). Observa-se também que a média geral não apresentou diferença significativa ( $p < 0,05$ ), considerando o tratamento controle e com adição de enzima sob mesma temperatura. Este parâmetro refere-se à força de deformação antes de seu rompimento. Subentende-se que valores maiores desse atributo, são indicativos de um pão com maior frescor. Deste modo, infere-se que a adição de enzima não prolongou o comportamento desejável para coesividade (valores maiores) ao longo do armazenamento. A manutenção da coesividade em derivados de trigo está relacionada principalmente às interações moleculares dos componentes, principalmente pontes de hidrogênio, as quais são comprometidas durante a estocagem (ESTELLER; LANNES, 2005).

Esse comportamento pode ser explicado devido que durante o processo de batimento da massa (sova) ocorre a incorporação da água à farinha e o desenvolvimento do glúten. As pontes dissulfeto e as ligações iônicas (adição de sal) mantém a coesividade e garantem a retenção de voláteis durante a cocção. Entretanto, durante o período de armazenamento ocorrem mudanças nessas ligações (migração de água, cristalização do amido, hidrólise da gordura) levando a um

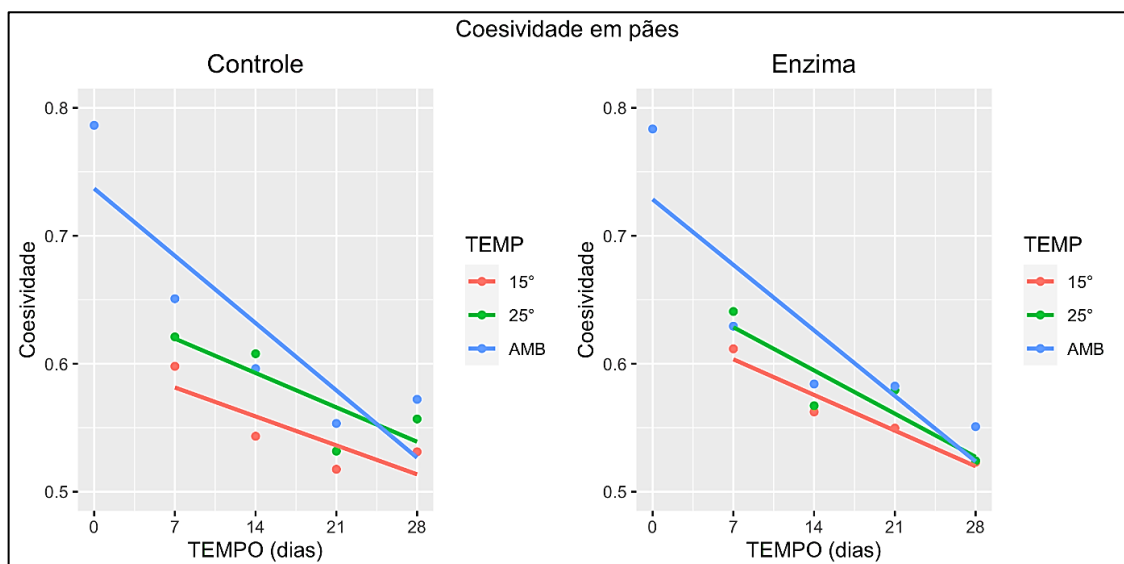
desarranjo gradual da estrutura, o que, conseqüentemente tendem a diminuir os valores de coesividade, o faz com que os pães apresentem maior probabilidade de quebras e esfarelamento. Resultados semelhantes foram reportados por Esteller (2014), ao estudar a fabricação de pães com reduzido teor calórico e modificações reológicas ocorridas durante o armazenamento.

**Tabela 6.** Média de coesividade dos pães armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias.

Tempo	*Ambiente		25 °C		15 °C	
	Controle	Enzima	Controle	Enzima	Controle	Enzima
0	0,786±0,01 <sup>a</sup>	0,784±0,0 <sup>a</sup>	-	-	-	-
7	0,651±0,02 <sup>b</sup>	0,629±0,01 <sup>b</sup>	0,621±0,01 <sup>a</sup>	0,641±0,02 <sup>a</sup>	0,598±0,02 <sup>a</sup>	0,612±0,01 <sup>a</sup>
14	0,596±0,02 <sup>c</sup>	0,584±0,01 <sup>c</sup>	0,608±0,02 <sup>a</sup>	0,567±0,02 <sup>b</sup>	0,543±0,02 <sup>b</sup>	0,562±0,00 <sup>b</sup>
21	0,553±0,02 <sup>d</sup>	0,583±0,02 <sup>c</sup>	0,532±0,02 <sup>b</sup>	0,579±0,02 <sup>1<sup>b</sup></sup>	0,518±0,02 <sup>2<sup>b</sup></sup>	0,550±0,01 <sup>b</sup>
28	0,572±0,02 <sup>cd</sup>	0,551±0,02 <sup>d</sup>	0,557±0,02 <sup>b</sup>	0,524±0,02 <sup>1<sup>c</sup></sup>	0,531±0,02 <sup>1<sup>b</sup></sup>	0,523±0,01 <sup>c</sup>
<b>Média</b>	0,632 <sup>a</sup>	0,626 <sup>AB</sup>	0,562 <sup>C</sup>	0,548 <sup>C</sup>	0,562 <sup>C</sup>	0,548 <sup>C</sup>

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Figura 10.** Evolução da coesividade em pães de forma armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias.



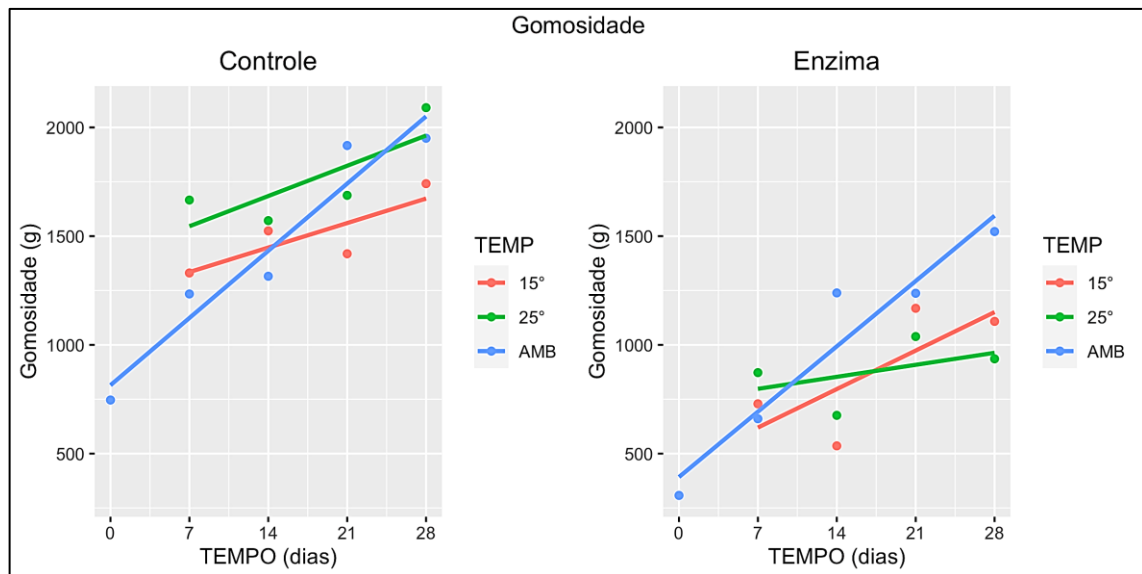




<b>28</b>	1950,33±1	1521,35±1	2090,97±16	935,83±30	1741,47±13	1108,0
	12,0 <sup>a</sup>	50,0 <sup>a</sup>	8,4 <sup>a</sup>	,66 <sup>ab</sup>	8,1 <sup>a</sup>	8±46,8 <sup>a</sup>
<b>Média</b>	1432,71B	993,179C	1754,136 <sup>a</sup>	880,707C	1503,93AB	885,25 6C

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \*A temperatura ambiente utilizada foi  $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ .

**Figura 11.** Evolução da gomosidade dos pães de forma ao longo de 28 dias de armazenamento.



Na Tabela 8 e Figura 12 verifica-se que os dados de mastigabilidade apresentam tendência a apresentar valores crescentes e mais altos durante o período de armazenamento. Após 21 dias, assim como ocorreu para a dureza, há o aumento significativo da mastigabilidade ( $p < 0,05$ ) nas formulações com a adição da enzima submetidas a refrigeração de  $15^{\circ}\text{C}$  e  $25^{\circ}\text{C}$  conforme exposto na tabela (Figura 12). Observa-se ainda, que os ensaios com incorporação de Lipopan Xtra<sup>®</sup> (3,75 KLU) apresentaram menores médias geral ( $p < 0,05$ ) para mastigabilidade, sob as três condições de armazenamento analisadas. Esse resultado ratifica o observado na análise de componentes principais. Logo, a aplicação da lipase comercial foi promissora na redução da mastigabilidade do miolo dos pães de forma estudados.

Os resultados do presente estudo corroboram com o trabalho de Giannone et al. (2016), que estudou a aplicação da  $\alpha$ -amilase-lipase como agente *anti-staling* no pão, e demonstrou aumentar a firmeza do miolo e manter maior a mastigabilidade ao longo do tempo de armazenamento, em comparação com amilase individualmente. Tais resultados podem ser explicados devido maior taxa de desidratação das amostras, tornando os pães mais secos e

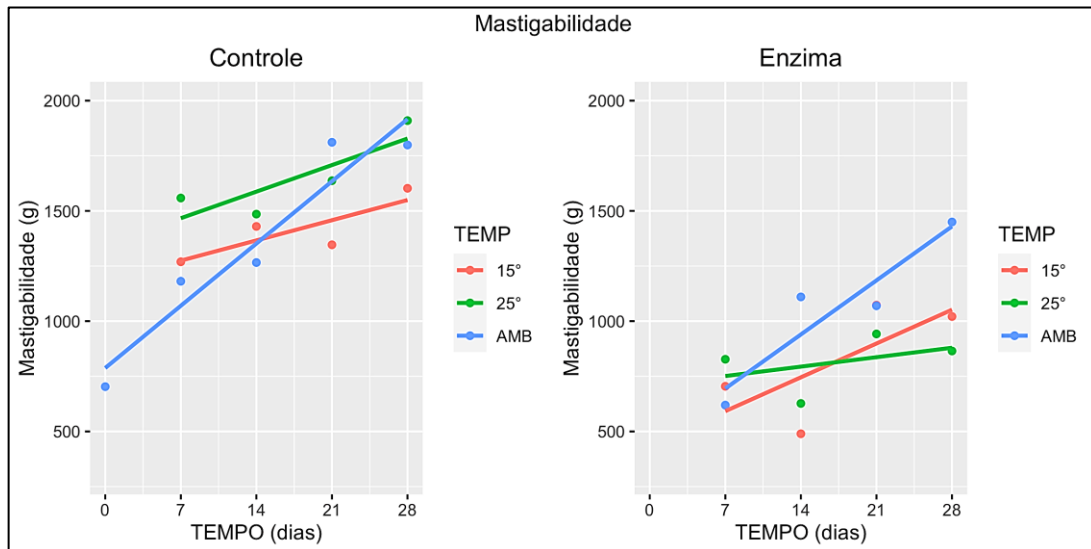
menos coesos, causando o desprendimento e o aumento de migalhas, exigindo maior energia para a desintegração das amostras na boca, necessitando assim uma maior salivação e número maior de mastigações antes da deglutição. O mesmo comportamento foi verificado no estudo de Barret et al. (2002), ao produzirem pães com gomas oxidantes, armazenados em temperaturas de 4, 21 e 38 °C e estocados durante 0, 2, 6 e 12 semanas. Os autores encontram aumento nos valores de dureza e mastigabilidade e redução da elasticidade e coesividade durante o armazenamento, comparado com um controle sem aditivos.

**Tabela 8.** Média da mastigabilidade em pães armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias

Tempo	*Ambiente		25 °C		15 °C	
	Controle	Enzima	Controle	Enzima	Controle	Enzima
0	703,12±27, ,7 <sup>c</sup>	295,13±15, 03 <sup>d</sup>	-	-	-	-
7	1180,96±6, 9,1 <sup>b</sup>	619,32±57, 0 <sup>c</sup>	1558,40±15, 7,0 <sup>b</sup>	827,31± 77,3 <sup>b</sup>	1269,36±99, 5 <sup>b</sup>	704,77±51, ,6 <sup>b</sup>
14	1265,96±7, 9,6 <sup>b</sup>	1110,00±11, 5,6 <sup>b</sup>	1485,41±16, 9,9 <sup>b</sup>	626,92± 539 <sup>c</sup>	1429,64±133, ,7 <sup>ab</sup>	489,44±54, ,8 <sup>c</sup>
21	1811,05±1, 33,9 <sup>a</sup>	1069,83±12, 7,9 <sup>b</sup>	1636,94±22, 7,7 <sup>ab</sup>	942,10± 78,6 <sup>a</sup>	1346,39±117, ,6 <sup>b</sup>	1072,57±8, 8,6 <sup>a</sup>
28	1798,93±1, 05,5 <sup>a</sup>	1449,72±11, 3,4 <sup>a</sup>	1909,37±12, 1,6 <sup>a</sup>	864,74± 32,5 <sup>ab</sup>	1602,52±132, ,04 <sup>a</sup>	1021,25±2, 6,1 <sup>a</sup>
<b>Média</b>	1352,00B	908,79C	1647,528± <sup>a</sup>	815,26C	1411,977AB	822,00C

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

**Figura 12.** Evolução da mastigabilidade em pães de forma ao longo de 28 dias de armazenamento.



Os dados da Tabela 9 e Figura 13 indicam que a resiliência do pão de forma decresceu com o tempo de armazenamento independente do tratamento. Esses resultados podem ser atribuídos a temperatura de armazenamento, a migração da umidade, a redistribuição da umidade da crosta e do miolo e a redistribuição da umidade entre os componentes são outros fatores que afetam a taxa de envelhecimento (Meline e Meline 2018). Segundo Debonne et al., (2020), pães armazenados sofrem influência da umidade relativa (UR), do ambiente de embalagem e a temperatura de armazenamento. Caso a UR do ambiente seja menor que a Atividade de água ( $a_w$ ) do pão, o ambiente absorverá água do pão úmido. Isso pode resultar em propriedades mais duras do miolo do pão. Tais resultados corroboram com aqueles relatados por De La Hera et al. (2014), constatando que as medidas de resiliência são afetadas pelo teor de água no pão.

Já com relação a média geral (Tabela 8), os tratamentos com adição de lipase Lipopan Xtra® (3,75 KLU) apresentaram menores valores de resiliência ( $p < 0,05$ ) dentro da mesma temperatura, exceto sob 15°C, no qual as médias do controle e com adição de enzima foram estatisticamente iguais.

Para este parâmetro, valores maiores, são indicativos da qualidade dos pães, verifica-se, portanto, que a Lipopan Xtra®, nas condições utilizadas no estudo, não foi efetiva. Uma forma de melhorar os atributos de textura é adicionando um composto enzimático, conforme apontado por Giannone et al. (2016), que ao estudar a aplicação de amilase e lipase para retardar a retrogradação, levantou a hipótese de que os complexos amido-lipídio formados com os diacilgliceróis e monoacilgliceróis liberados pela lipase, que possui efeito inibidor na

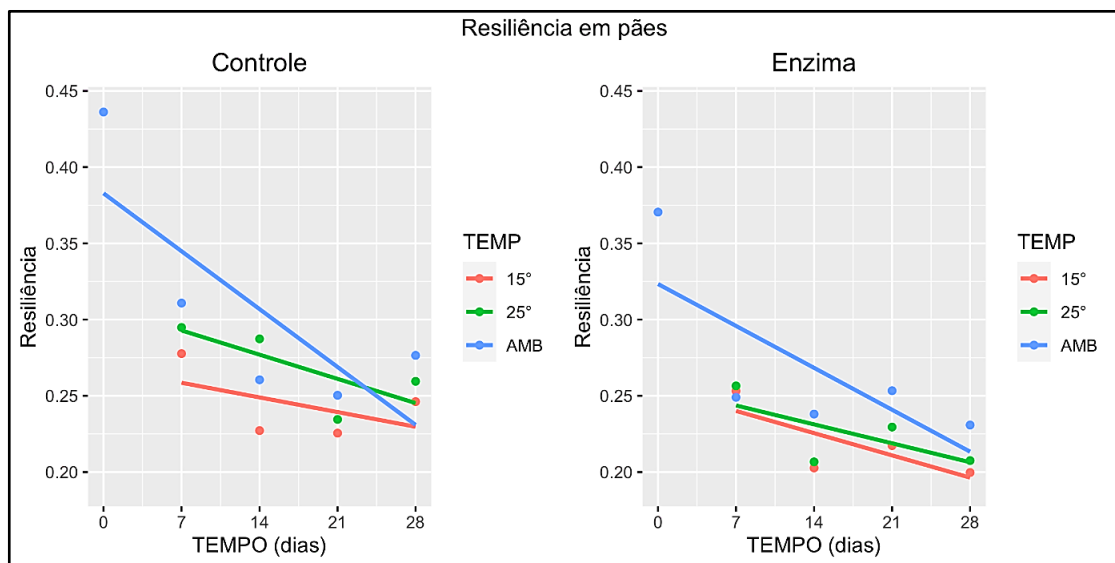
retrogradação, poderiam ser aumentados em quantidade e estabilidade pelas moléculas de hidrólise de amido de tamanho médio liberadas pela  $\alpha$ -amilase ao mesmo tempo.

**Tabela 9.** Média da resiliência em pães armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias

Tempo	*Ambiente		25 °C		15 °C	
	Controle	Enzima	Controle	Enzima	Controle	Enzima
0	0,44±0,47 a	0,37±2,24 a	-	-	-	-
7	0,31±1,0 <sup>b</sup>	0,25±0,07 b	0,29±0,5 <sup>a</sup>	0,26±0,1 7 <sup>a</sup>	0,28±1,1 2 <sup>a</sup>	0,25±0,56 <sup>a</sup>
14	0,26±0,02 c	0,24±0,77 b	0,29±0,04 <sup>a</sup> b	0,21±0,6 7 <sup>b</sup>	0,23±0,8 5 <sup>b</sup>	0,20±0,42 <sup>b</sup>
21	0,25±0,60 c	0,25±0,57 b	0,23±0,63 <sup>c</sup>	0,23±1,2 7 <sup>b</sup>	0,23±0,5 9 <sup>b</sup>	0,22±0,29 <sup>b</sup>
28	0,28±0,30 c	0,23±0,27 b	0,26±0,61 bc	0,21±0,7 4 <sup>b</sup>	0,25±0,5 4 <sup>b</sup>	0,20±0,78 <sup>b</sup>
<b>Média</b>	<b>0,30A</b>	<b>0,26B</b>	<b>0,26B</b>	<b>0,225C</b>	<b>0,244C</b>	<b>0,21C</b>

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \*A temperatura ambiente utilizada foi  $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ .

**Figura 13.** Evolução da resiliência em pães de forma ao longo de 28 dias de armazenamento.



### 5.2.3 Volume Específico

Conforme apresentado na Tabela 10 e Figura 14, os pães que continham em sua formulação as enzimas lipase, apresentaram maiores volumes específicos nas três temperaturas avaliadas quando comparados ao controle. Na média geral foi verificada diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre todas as temperaturas analisadas, sendo que o maior volume específico encontrado foi para a temperatura de 15 °C ( $3,76 \text{ cm}^3/\text{g}^{-1}$ ), entretanto, ao avaliar o tempo de armazenamento notou-se que não houve diferenças significativas entre os dias 0, 7, 14, 21 e 28 dias ( $p < 0,05$ ). Deste modo, o uso da lipase (Lipopan Xtra<sup>®</sup>) contribuiu para aumento de volume específico, independente da temperatura e que o tempo de armazenamento não teve efeito sobre esse parâmetro.

Esses resultados podem ser atribuídos ao fato de que as lipases atuam na fração lipídica do trigo, e por meio de sua hidrólise, aumenta a quantidade de moléculas com propriedades emulsificantes, como é o caso dos monoacilgliceróis e diacilgliceróis, que, por sua vez, influenciam positivamente o volume específico do pão (Schaffarczyk et al., 2014). Outra justificativa ao resultado encontrado são obtidos por López (2014), Paraskevopoulou et al., (2010) e Lopez & Goldner (2015) ao estudarem a influência de isolados proteicos de tremçoço nas características tecnológicas de pães. É importante ressaltar que o volume específico é uma importante variável a ser analisada, pois mostra a relação entre o teor de sólidos e a fração de ar existente na massa assada, visto que, pães que apresentem menor volume específico, tendem a apresentar aspecto desagradável ao consumidor e estão associados ao alto teor de água, falhas no batimento e cocção, pouca aeração, difícil mastigação e baixa conservação (Lu et al., 2018).

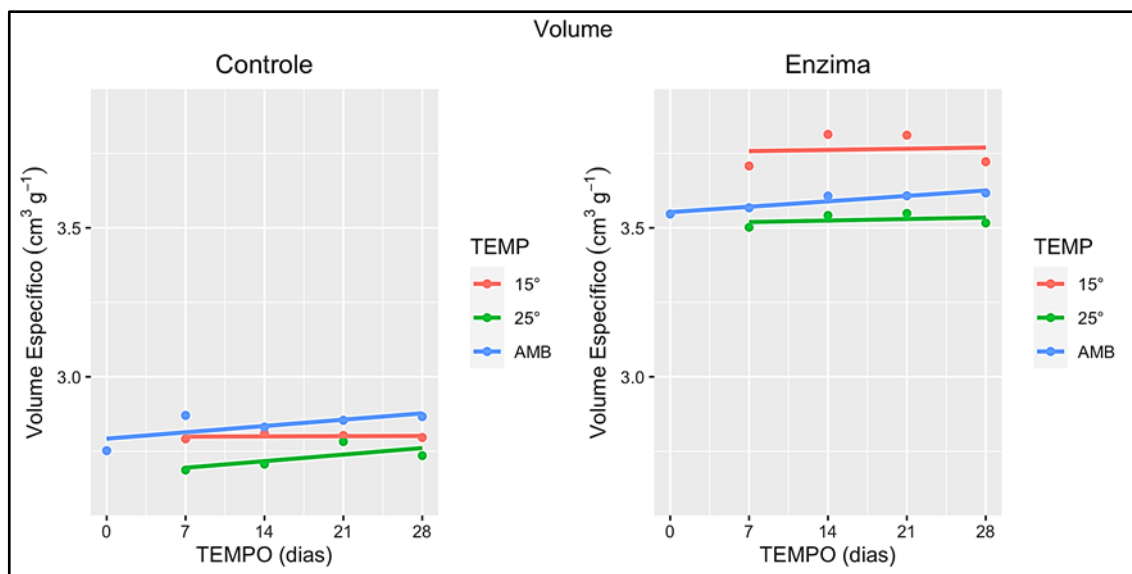
**Tabela 10.** Média de volume específico em pães armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias

Tempo	*Ambiente		25 °C		15 °C	
	Controle	Enzima	Controle	Enzima	Controle	Enzima
0	2,75±0,04		-	-	-	-
	a	3,55±0,16 <sup>a</sup>				
7	2,87±0,12		2,69±0,3	3,50±0,	2,79±0,3	
	a	3,57±0,55 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	212 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3,71±0,15 <sup>a</sup>
14	2,83±0,18		2,71±0,0	3,54±0,	2,81±0,6	
	a	3,61±0,46 <sup>a</sup>	3 <sup>a</sup>	36 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3,81±0,23 <sup>a</sup>
21	2,85±0,23		2,78±0,1	3,55±0,	2,80±0,3	
	a	3,61±0,29 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	19 <sup>a</sup>	6 <sup>a</sup>	3,81±0,11 <sup>a</sup>

28	2,87±0,42 a	3,62±0,25 <sup>a</sup>	2,74±0,1 1 <sup>a</sup>	3,52±0, 28 <sup>a</sup>	2,80±0,2 6 <sup>a</sup>	3,72±0,24 <sup>a</sup>
<b>Média</b>	2,83C	3,58B	2,72D	3,52B	2,80CD	3,76A

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p<0,05$ ). \*A temperatura ambiente utilizada foi  $35^{\circ}\text{C}\pm 2$ .

**Figura 14.** Evolução do volume específico (V.E) em pães de forma ao longo de 28 dias de armazenamento.



## 5.2.4 Colorimetria

A avaliação da cor pode indicar falhas durante o processamento, o que pode ser percebida pela cor da crosta, muito clara ou muito escura. Os dados dispostos na Tabela 11 e Figura 15 apresentam os valores de cromaticidade para as formulações controle e com adição de enzima (Lipopan Xtra<sup>®</sup>), onde os resultados demonstraram uma tendência ao decréscimo dos valores em proporções diferentes, dependendo das condições de armazenamento, ou seja, tornou a cor do miolo mais clara, com uma cor mais opaca, tendendo mais para o creme.

Entretanto, ao analisar os pães controle (sem adição de enzima), foi possível verificar que estes apresentaram comportamento contrário, ou seja, sua cromaticidade tende a apresentar comportamento crescente com o passar dos dias de armazenamento. Já na média geral, verificou-se que apenas o ensaio com enzima (Lipopan Xtra<sup>®</sup>) a  $25^{\circ}\text{C}$  obteve menor valor ( $p<0,05$ ) em comparação com o controle dentro das mesmas condições de armazenamento.

Comportamento semelhante foi encontrado por Almeida et al., (2013) ao estudar fontes de fibras alimentares em pães pré-assados congelados e sua influência na qualidade tecnológica.

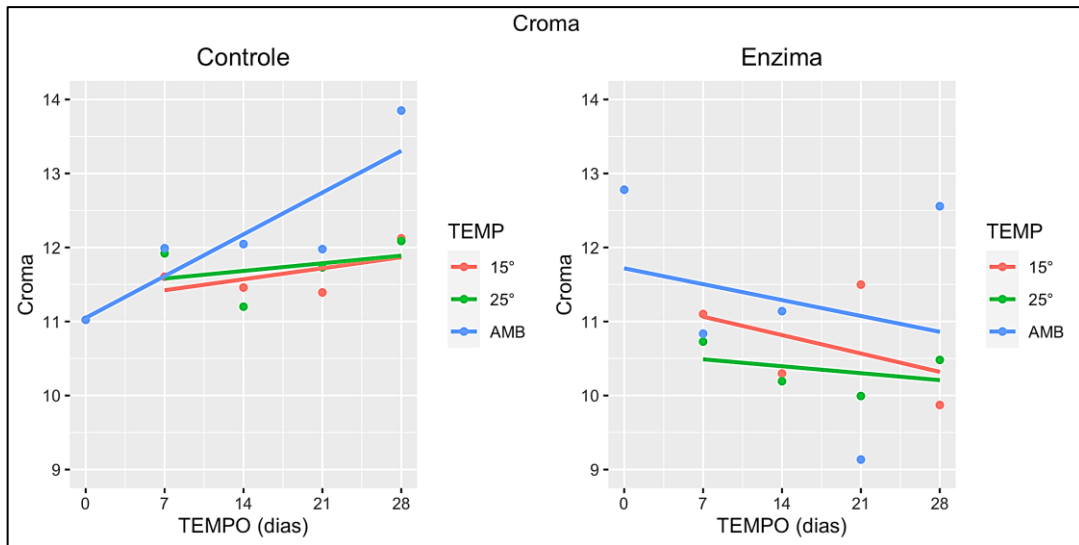
Logo, pode-se inferir que os pães controle (sem adição de enzima) tendem a ficar com a coloração tendendo ao vermelho/marrom ao final do armazenamento, pois apresentaram comportamento crescente (11,02 dia 0 para 13,85 dia 28, sob temperatura ambiente). Por outro lado, os pães adicionados da enzima (Lipopan Xtra<sup>®</sup>) ao final do armazenamento tendem a ficar mais amarelos e claros, visto que seu comportamento apresenta resultados decrescentes com o passar dos dias de estocagem (12,78 dia 0 para 9,14 dia 21, sob temperatura ambiente). Nesse sentido, Stojceska e Ainsworth (2008), afirmam que a cor do miolo está relacionada ao tipo de farinha e à estrutura da célula de ar do miolo, que afeta a maneira como a luz reflete em um pedaço de pão. Emulsificantes, por exemplo, as lipases, alteram a estrutura do miolo de pão e tornam as células de ar menores e mais uniformemente distribuídas reduzindo a escuridão do miolo de pão. Esse mesmo comportamento pode ser observado em nosso estudo, onde a adição da enzima lipase (Lipopan Xtra<sup>®</sup>) tornou os pães menos escuros.

**Tabela 11.** Médias da variável croma em pães armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias

Tempo	*Ambiente		25 °C		15 °C	
	Controle	Enzima	Controle	Enzima	Controle	Enzima
<b>0</b>	11,02±0, 47 <sup>b</sup>	12,78±2,24 a	-	-	-	-
<b>7</b>	11,99±1, 07 <sup>b</sup>	10,14±0,07 ab	11,9±20,5 5 <sup>a</sup>	10,73±0, 17 <sup>a</sup>	11,61±1,1 2 <sup>a</sup>	11,50±0,56 a
<b>14</b>	12,05±0, 02 <sup>b</sup>	10,48±0,77 ab	11,20±0,4 0 <sup>a</sup>	10,19±0, 67 <sup>a</sup>	11,46±0,8 5 <sup>a</sup>	11,10±0,42 ab
<b>21</b>	11,98±0, 62 <sup>b</sup>	9,14±0,57 <sup>b</sup>	11,73±0,6 3 <sup>a</sup>	9,99±1,2 7 <sup>a</sup>	11,39±0,5 9 <sup>a</sup>	10,30±1,27 ab
<b>28</b>	13,85±0, 27 <sup>a</sup>	12,56±0,27 <sup>a</sup>	12,09±0,6 1 <sup>a</sup>	10,48±0, 74 <sup>a</sup>	12,12±0,5 4 <sup>a</sup>	9,87±0,78 <sup>b</sup>
<b>Média</b>	12,17 <sup>a</sup>	11,29ABC	11,73AB	10,349C	11,645AB	10,69BC

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \*A temperatura ambiente utilizada foi 35°C±2.

**Figura 15.** Evolução da cromaticidade (croma) dos pães de forma ao longo de 28 dias de armazenamento.



Ao avaliar o parâmetro colorimétrico  $^{\circ}$ Hue (Tabela 12 e Figura 16), verifica-se que os pães armazenados sob temperatura ambiente apresentam o mesmo comportamento de decréscimo com o passar dos dias de armazenamento. Entretanto, os pães submetidos as temperaturas de 15 °C e 25 °C apresentaram comportamento contrário. Entretanto, na presente pesquisa, todas as amostras se encontram-se próximo ao eixo de 90°, confirmando a tendência de coloração mais amarelada, tonalidade típica da cor do miolo de pães.

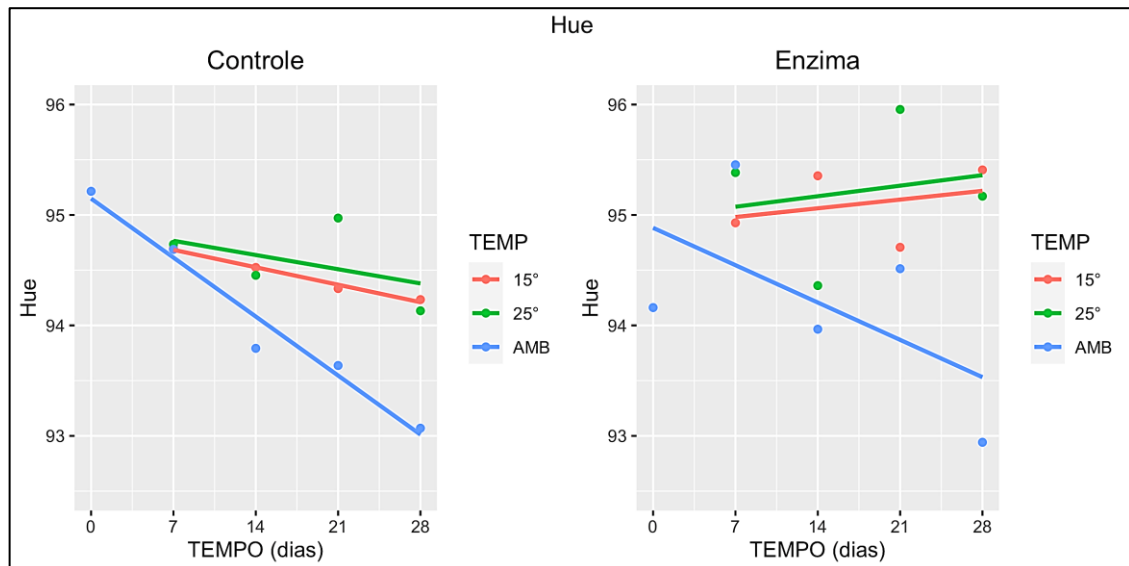
Resultados semelhantes foram reportados por Siqqid et al., (2009) ao estudar o efeito da adição de farinha de gérmen de milho desengordurada na qualidade física e sensorial de pão de trigo, e por Almeida et al., (2013) ao verificar novas Fontes de fibras alimentares em pães pré-assados congelados e sua influência na qualidade funcional e tecnológica, obtendo resultados bastantes semelhantes aos relatados no presente estudo no que se refere a tonalidade do miolo.



**Tabela 12.** Média da Hue em pães armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias

Tempo	*Ambiente		15 °C		25 °C	
	Controle	Enzima	Controle	Enzima	Controle	Enzima
<b>0</b>	95,21±0,3 7 <sup>a</sup>	94,16±1,1 8 <sup>a</sup>	-	-	-	-
<b>7</b>	94,68±1,0 7 <sup>a</sup>	95,45±0,3 2 <sup>ab</sup>	94,73±0,7 9 <sup>a</sup>	95,38± <sup>ab</sup>	94,93±0, 55 <sup>a</sup>	94,69±0,63 <sup>a</sup>
<b>14</b>	93,79±0,0 2 <sup>a</sup>	93,96±0,1 9 <sup>ab</sup>	94,45±0,4 1 <sup>a</sup>	94,36± <sup>b</sup>	95,35±0, 07 <sup>a</sup>	94,52±0,21 <sup>a</sup>
<b>21</b>	93,64±0,6 2 <sup>a</sup>	94,51±0,3 5 <sup>a</sup>	94,97±0,3 2 <sup>a</sup>	95,95± <sup>a</sup>	94,71±0, 63 <sup>a</sup>	94,33±0,16 <sup>a</sup>
<b>28</b>	93,07±0,2 7 <sup>a</sup>	92,94±0,0 5 <sup>a</sup>	94,13±0,0 6 <sup>a</sup>	95,17± <sup>ab</sup>	95,41±0, 61 <sup>a</sup>	94,23±0,46 <sup>a</sup>
<b>Média</b>	94,08B	94,21B	94,57AB	95,22 <sup>a</sup>	94,45AB	95,10A

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \*A temperatura ambiente utilizada foi 35°C±2.

**Figura 16.** Evolução ângulo Hue em pães de forma ao longo de 28 dias de armazenamento.

### 5.2.5 Atividade de água (Aw)

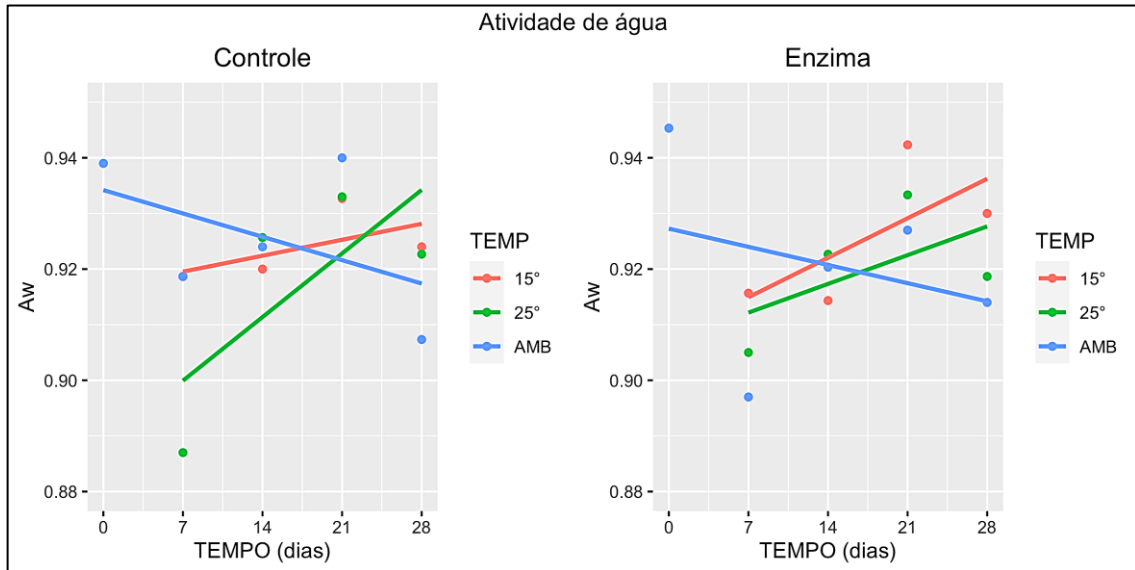
Conforme apresentado na Tabela 13 e Figura 17, os valores de atividade de água (Aw) apresentaram pouca variação ao longo do armazenamento. Os resultados variaram de 0,89 a 0,94 para os tratamentos controle e 0,91 a 0,95 para os ensaios com incorporação de lipase (3,75 KLU). Observou-se, um aumento ( $p < 0,05$ ) a partir do vigésimo primeiro (21) dia de armazenamento para os tratamentos com adição de enzima sob temperatura de 15°C, cuja média foi de 0,94. Na média geral não houve diferenças significativas entre o controle e as formulações com adição de enzima (Lipopan Xtra®) em nenhuma das temperaturas avaliadas ( $p < 0,05$ ). A presença de fibra na formulação e da enzima lipase (Lipopan Xtra®), pode ter ajudado o pão a reter quantidade significativas 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 algumas mudanças elástico plásticas relacionadas à modificação da estrutura do amido.

**Tabela 13.** Média da Aw em pães armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias

Tempo	*Ambiente		25 °C		15 °C	
	Controle	Enzima	Controle	Enzima	Controle	Enzima
<b>0</b>	0,94±0,00 <sup>a</sup>	0,95±0,0 <sup>a</sup>	-	-	-	-
<b>7</b>	0,92±0,0 <sup>ab</sup>	0,90± <sup>c</sup>	0,89±0,0 <sup>b</sup>	0,91± <sup>a</sup>	0,92±0,0 <sup>a</sup>	0,92±0,0 <sup>b</sup>
<b>14</b>	0,92±0,0 <sup>ab</sup>	0,92±0,0 <sup>b</sup>	0,93±0,0 <sup>ab</sup>	0,92±0,0 <sup>a</sup>	0,92±0,0 <sup>a</sup>	0,91±0,0 <sup>b</sup>
<b>21</b>	0,94±0,0 <sup>a</sup>	0,93±0,00 <sup>b</sup>	0,93±0,01 <sup>a</sup>	0,93± <sup>a</sup>	0,93±0,0 <sup>a</sup>	0,94±0,0 <sup>a</sup>
<b>28</b>	0,91±0,0 <sup>b</sup>	0,91± <sup>bc</sup>	0,92±0,01 <sup>ab</sup>	0,92± <sup>a</sup>	0,92± <sup>a</sup>	0,93±0,0 <sup>a</sup>
<b>Média</b>	0,926A	0,921A	0,917A	0,920A	0,924A	0,926A

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \*A temperatura ambiente utilizada foi 35°C±2.

**Figura 17.** Evolução da atividade de água em pães de forma ao longo de 28 dias de armazenamento.



## 5.2.6 Umidade

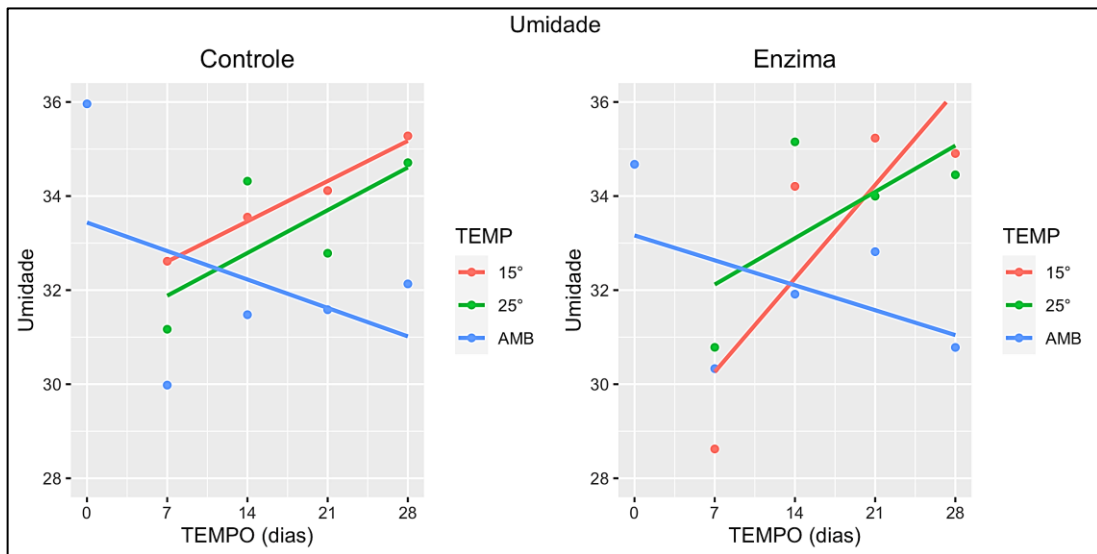
Conforme apresentado na Tabela 14 e Figura 18, verifica-se que o teor de umidade tende a aumentar em todos os tratamentos mantidos sob refrigeração (25 e 15°C), ao longo do armazenamento. Após 07 dias, foi observado menor teor de umidade ( $p < 0,05$ ) que aos 28 dias. Esse comportamento da umidade durante o armazenamento de pães possui relação direta com o endurecimento do pão, que é causado por mudanças no amido e na migração da água. Devido a isso, a perda do frescor do pão ocorre como resultado do aumento da umidade na crosta, aumento da cristalinidade do amido e firmeza do miolo (Dahiya et al., 2020; Yurdugul et al., 2012). Entretanto, comportamento distinto foi observado nos ensaios sob temperatura ambiente, no qual as médias foram maiores ( $p < 0,05$ ) nos primeiros dias de estocagem e decresceram ao final da vida de prateleira. Esse fenômeno pode ser atribuído ao equilíbrio com o ar atmosférico, que favoreceu a evaporação das moléculas de água.

Já na média geral não se verificou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos estudados, deste modo não pode ser afirmado que existe relação direta entre a adição de lipase (lipopan Xtra®) sobre o parâmetro de umidade. Pela legislação vigente no país (Brasil, 2000), a umidade do pão de forma deve ter um máximo de 38%, logo, todos os tratamentos estão de acordo com os parâmetros de umidade exigidos pela legislação vigente.

**Tabela 14.** Média da umidade dos pães armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias

Tempo	*Ambiente		25 °C		15 °C	
	Controle	Enzima	Controle	Enzima	Controle	Enzima
0	35,96±0,2 <sup>a</sup>	34,67±0,5 <sup>a</sup>	-	-	-	-
7	29,98±1,3 <sup>c</sup>	30,33±0,3 <sup>c</sup>	31,17±0,8 <sup>c</sup>	30,78±1,2 <sup>b</sup>	32,61±0,3 <sup>c</sup>	28,62±0,5 <sup>c</sup>
14		31,±91±0,3				
14	31,48±0,9 <sup>c</sup>	<sup>b</sup>	34,32±0,1 <sup>a</sup>	35,15±0,6 <sup>a</sup>	33,55±0,4 <sup>bc</sup>	34,21±0,0 <sup>b</sup>
21	31,58±0,2 <sup>bc</sup>	32,82±0,2 <sup>b</sup>	32,78±0,1 <sup>b</sup>	34,00±0,4 <sup>a</sup>	34,12±0,1 <sup>b</sup>	35,23±0,2 <sup>a</sup>
28	32,13±0,2 <sup>b</sup>	30,78±0,2 <sup>c</sup>	34,71±0,3 <sup>a</sup>	34,45±1,7 <sup>a</sup>	35,28±0,6 <sup>a</sup>	34,91±0,3 <sup>ab</sup>
<b>Média</b>	32,226A	32,104A	33,244A	33,596A	33,890A	33,242A

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \*A temperatura ambiente utilizada foi 35°C±2.

**Figura 18.** Evolução da umidade em pães de forma ao longo de 28 dias de armazenamento.

### 5.2.7 pH

Conforme apresentado na Tabela 15 e Figura 19, as massas tratadas com lipase XTRA (3,75 KLU) apresentaram menores médias geral de pH ( $p < 0,05$ ) quando comparadas com os ensaios controle sob as mesmas condições de temperatura, mas ainda dentro da faixa normal para pães de forma, de acordo com Guynot et al., (2005) que está entre 4,5 a 4,5. Esse resultado provavelmente está relacionado aos ácidos graxos produzidos pela ação lipolítica nos lipídios endógenos do trigo (HUANG et al., 2020). Assim de acordo com Komlenic et al., (2012), o valor do pH está diretamente correlacionado com os ingredientes presentes na formulação dos

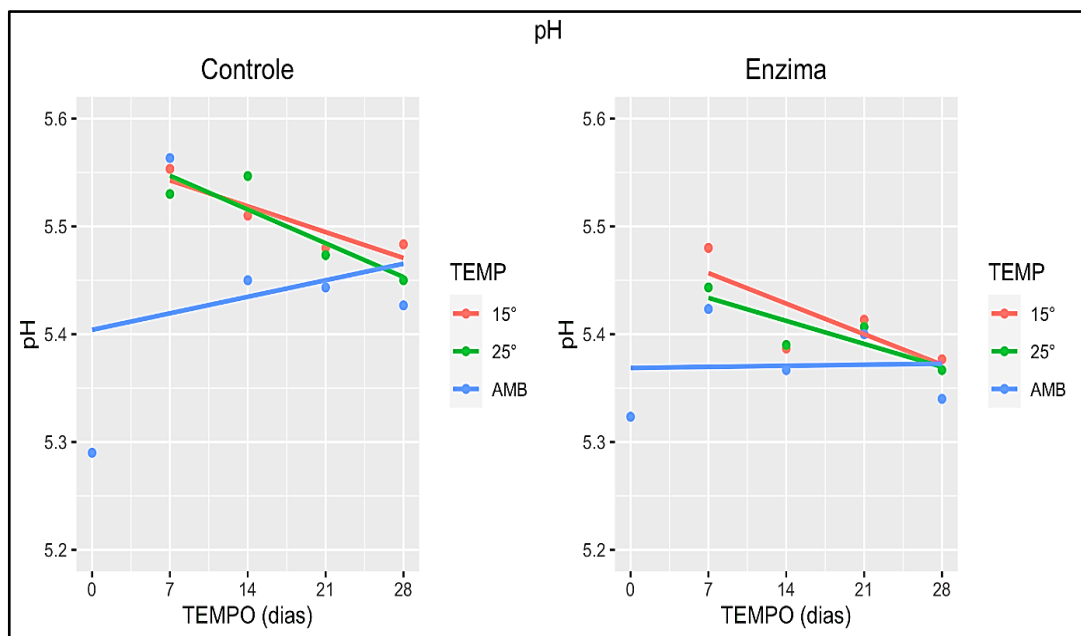
pães, logo a maioria dos trabalhos realizados com pães cita a redução do pH como responsável pelas mudanças tecnológicas e nutricionais e de conservação do pão.

**Tabela 15.** Média da pH dos pães armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias da formulação controle.

Tempo	*Ambiente		25 °C		15 °C	
	Controle	Enzima	Controle	Enzima	Controle	Enzima
<b>0</b>	5,29±0,01 <sup>c</sup>	5,32±0,01 <sup>d</sup>	-	-	-	-
<b>7</b>	5,56±0,05 <sup>a</sup>	5,42±0,01 <sup>a</sup>	5,53±0,03 <sup>a</sup>	5,44±0,02 <sup>a</sup>	5,55±0,01 <sup>a</sup>	5,48±0,02 <sup>a</sup>
<b>14</b>	5,45±0,04 <sup>b</sup>	5,37±0,01 <sup>c</sup>	5,55±0,02 <sup>a</sup>	5,39±0,03 <sup>b</sup>	5,51±0,03 <sup>b</sup>	5,39±0,02 <sup>bc</sup>
<b>21</b>	5,44±0,01 <sup>a</sup>	5,40±0,00 <sup>b</sup>	5,47±0,02 <sup>b</sup>	5,41±0,02 <sup>ab</sup>	5,48±0,01 <sup>b</sup>	5,41±0,01 <sup>b</sup>
<b>28</b>	5,43±0,01 <sup>b</sup>	5,34±0,01 <sup>d</sup>	5,45±0,02 <sup>b</sup>	5,37±0,02 <sup>b</sup>	5,48±0,01 <sup>b</sup>	5,38±0,01 <sup>c</sup>
<b>Média</b>	5,43B	5,371C	5,50A	5,40BC	5,50A	5,41BC

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). \*A temperatura ambiente utilizada foi  $35^{\circ}\text{C} \pm 2$ .

**Figura 19.** Evolução do pH em pães de forma ao longo de 28 dias de armazenamento.



### 5.2.8 Acidez

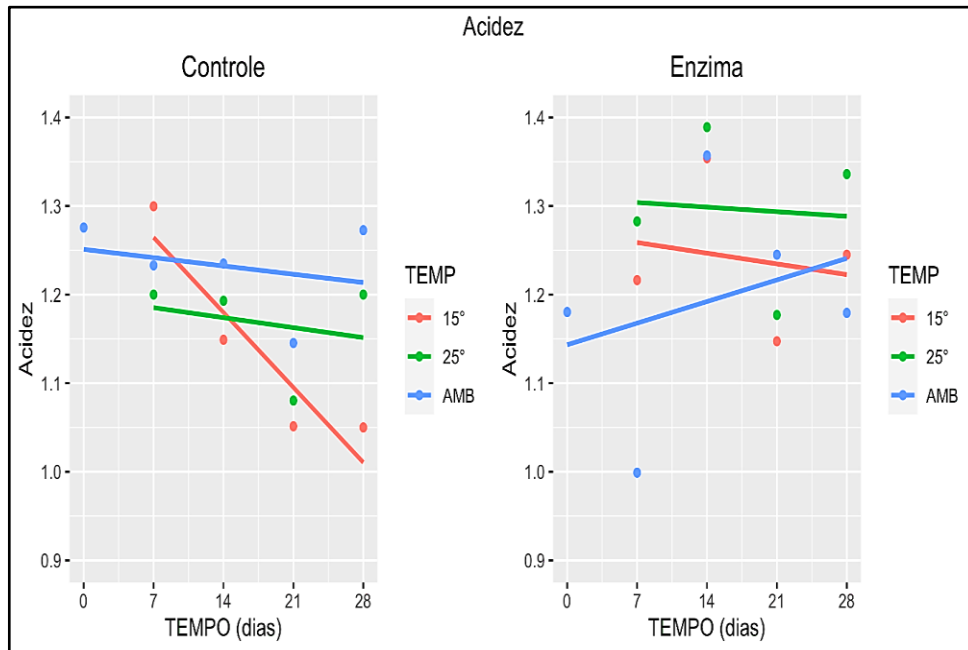
Na avaliação da acidez titulável Tabela 16 e Figura 20, as amostras controle apresentaram variação de 1,30 – 1,05 g. 100 g<sup>-1</sup>, já as amostras com adição da lipase (lipopan Xtra®) apresentaram acidez de 1,39 – 1,00 g. 100 g<sup>-1</sup>. Até ao final do armazenamento houve aumento dos valores de acidez titulável em todas as amostras, refletindo a queda observada nos valores de pH. De maneira geral entre as amostras, àquelas adicionadas com a lipase apresentaram acidez significativamente mais elevada que as amostras controle. Diversos estudos na literatura atestam a queda no pH e o aumento da acidez quando desenvolvem pães com algum complemento, seja um fermento natural, ou mesmo a adição de enzima como o caso da lipase no presente estudo, independente da origem (Yu et al., 2017) ou do tipo de farinha utilizados (Rizzello et al., 2014; Rizzello et al., 2016).

**Tabela 16.** Média da acidez em pães armazenados em três temperaturas ao longo de 28 dias

Tempo	*Ambiente		25 °C		15 °C	
	Controle	Enzima	Controle	Enzima	Controle	Enzima
0	1,28±0,06 a	1,18±0,06 ab	-	-	-	-
7	1,23±0,06 a	1,00±0,00 b	1,20±0,00 <sup>a</sup>	1,28±0,0 3 <sup>ab</sup>	1,30±0,0 0 <sup>a</sup>	1,22±0,08 <sup>b</sup>
14	1,24±0,06 a	1,36±0,01 a	1,19±0,07 <sup>a</sup>	1,39±0,0 5 <sup>a</sup>	1,15±0,0 6 <sup>b</sup>	1,35±0,06 <sup>a</sup>
21	1,15±0,00 a	1,25±0,17 a	1,08±0,05 <sup>a</sup>	1,18±0,1 1 <sup>b</sup>	1,05±0,0 0 <sup>c</sup>	1,15±0,00 <sup>b</sup>
28	1,29±0,06 a	1,20±0,05 ab	1,21±0,05 <sup>a</sup>	1,34±0,0 0 <sup>ab</sup>	1,31±0,0 1 <sup>a</sup>	1,25±0,01 <sup>b</sup>
<b>Média</b>	1,23AB	1,19AB	1,16B	1,29 <sup>a</sup>	1,13B	1,24AB

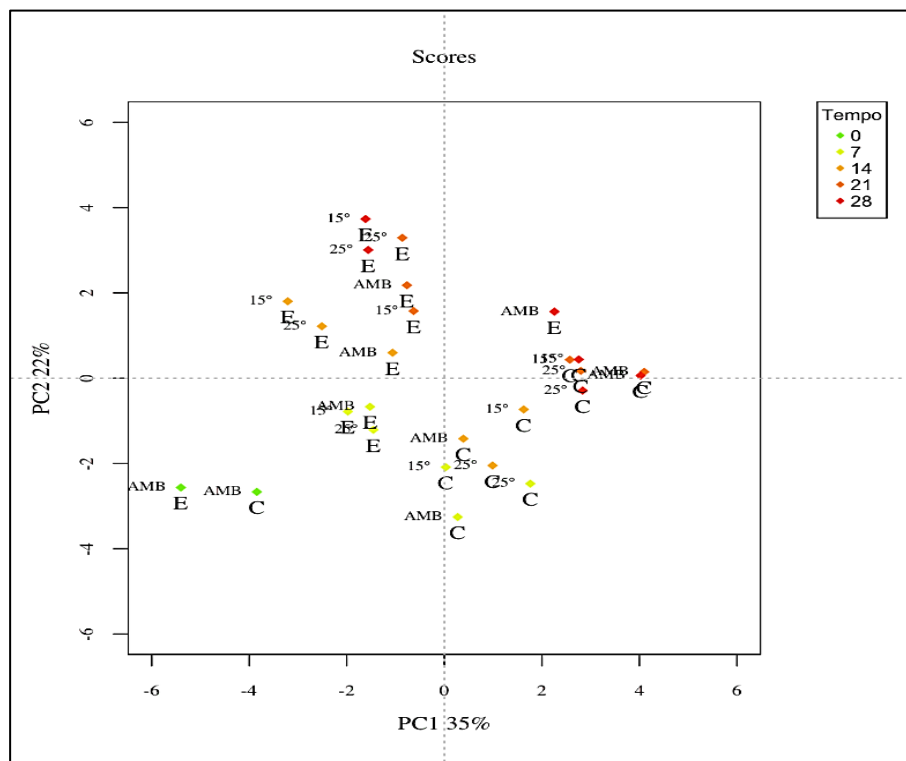
Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05). Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p<0,05). \*A temperatura ambiente utilizada foi 35°C±2.

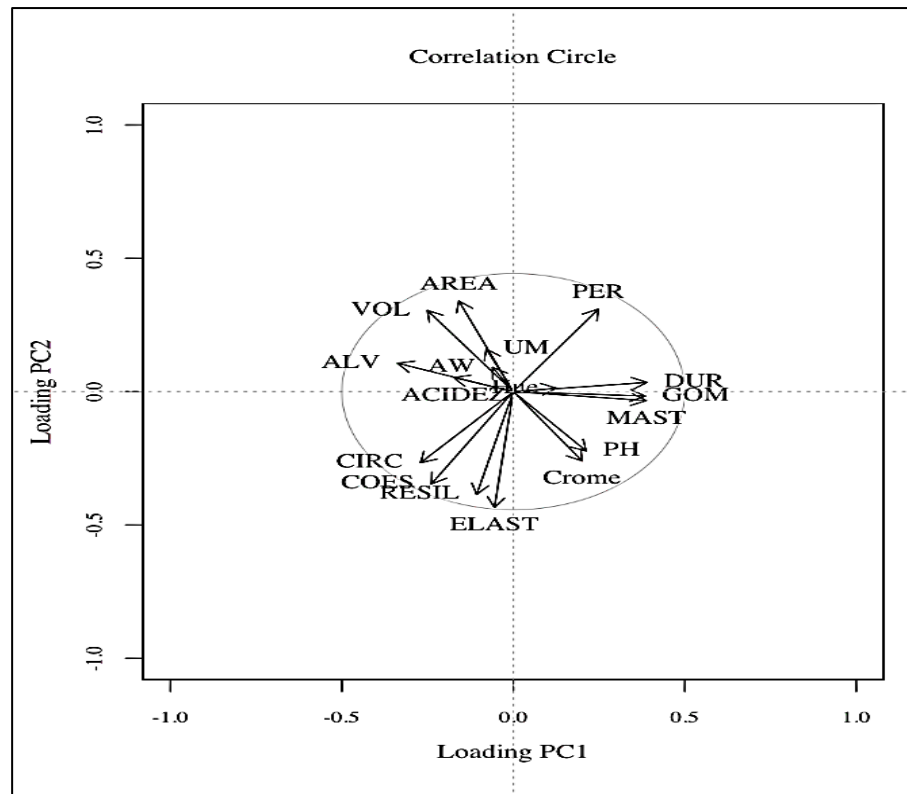
**Figura 20.** Evolução da acidez em pães de forma ao longo de 28 dias de armazenamento.



Os tratamentos que se destacaram nos tributos de textura e volume foram submetidos a uma nova PCA (Figura 21), de modo a sintetizar as condições em que a Lipopan Xtra® impactou positivamente nos atributos dos pães.

**Figura 21.** Dispersão gráfica dos componentes principais (PC1 e PC2) distribuídos em agrupamentos de correlações utilizados na análise de componentes principais dos atributos que impactaram positivamente nas análises dos pães submetidos ao armazenamento.





Os dados apresentados na Tabela 17 indicam que os pães armazenados a 15°C apresentaram melhor comportamento seguido daqueles sob temperatura de 25°C. Verificou-se ainda que ocorreram mudanças ao longo da vida de prateleira, e que até os 14<sup>o</sup>-dias o desempenho foi considerado satisfatório. Os dados apoiam-se no estudo de Moayedallaie et al., (2010) que ao estudar a aplicação de diferentes lipases em tempos de fermentação curto e longos, detectou que a lipopan Xtra em tempos de fermentação menores (55 minutos) apresentou menor firmeza e maiores volumes específicos. Uma vez que no método de fermentação longa a ação dessa lipase sobre a massa é mais prolongada resultando na coalescência das células de gás, Em outra pesquisa Gerits et al. (2015), relatou que a lipase reduziu a taxa e extensão da retrogradação da amilopectina no pão de trigo durante 7 dias de armazenamento, sendo que o efeito de retardar o envelhecimento foi mais óbvio após 2 dias.



**Tabela 17.** Detalhamento das médias e suas diferenças (Tukey  $p < 0,05$ ) dos pães que se destacaram na análise gráfica do PCA para melhor comportamento considerando Dureza, Elasticidade, Volume específico (V.E), Gomosidade, Mastigabilidade.

Temperatura	Tempo	Dur	Elast	Gomo	Mastig	V.E
15°C	14	939,79 <sup>d</sup>	0,91 <sup>ab</sup>	535,64 <sup>d</sup>	489,44 <sup>d</sup>	3,81 <sup>a</sup>
15°C	28	2033,24 <sup>a</sup>	0,92 <sup>a</sup>	1108,08 <sup>a</sup>	1021,25 <sup>a</sup>	3,72 <sup>a</sup>
25°C	14	1191,59 <sup>c</sup>	0,92 <sup>a</sup>	676,04 <sup>c</sup>	626,92 <sup>c</sup>	3,54 <sup>b</sup>
25°C	21	1940,7 <sup>ab</sup>	0,9 <sup>b</sup>	1038,46 <sup>a</sup>	942,1 <sup>ab</sup>	3,55 <sup>b</sup>
25°C	28	1784,21 <sup>b</sup>	0,92 <sup>ab</sup>	935,83 <sup>b</sup>	864,74 <sup>b</sup>	3,52 <sup>b</sup>

Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Dur = Dureza; Elast = Elasticidade = Gomo = Gomosidade; Mastig = Mastigabilidade; V. E. = Volume específico.

## 5.2 9 Análise de Regressão

Os resultados da análise de Regressão estão dispostos no quadro 1. Observa-se que a dureza apresentou um bom ajuste de linearidade, com valores  $R^2$  maiores que 0,70. Mostrando uma ascendência desse parâmetro conforme aumento do tempo de armazenamento. Exceto para as formulações com adição de enzima sob temperatura de 25°C.

Com relação a elasticidade, apenas nos tratamentos controle (ambiente 32°C $\pm$ 2 e 15°C) e com lipase (ambiente 32°C $\pm$ 2) observou-se efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ), em que dados se ajustaram a uma função linear, permitindo assim a interpretação dos dados, os quais se apresentaram de forma ascendente.

Os resultados de regressão revelaram que houve efeito mais acentuado ( $p \leq 0,05$ ) na coesividade dos pães tratados com enzima sob temperatura de 15°C. Assim como para gomosidade e mastigabilidade, os dados que tiveram melhor ajuste, no modelo matemático em questão, foram os tratamentos armazenados em temperatura ambiente 32°C ( $\pm$ 2) independente da adição de enzima. Já com relação a resiliência, não foi possível estabelecer um modelo matemático, por meio de regressão que pudesse estimar o comportamento, de acordo com os resultados apresentados.

**Quadro 1.** Análise de regressão dos parâmetros texturais ao longo de 28 dias de armazenamento sob três condições de temperatura

<b>DUREZA</b>						
<b>Temperatura</b>	<b>Controle</b>			<b>Enzima</b>		
	<b>Ajuste</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	<b>Ajuste</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>
Ambiente	$y = 1083,9 + 92,8x$	0,91	0,89	$y = 491,9 + 84,15x$	0,93	0,91
15°C	$y = 2179,8 + 43,0x$	0,91	0,86	$y = 642,7 + 50,6x$	0,70	0,55
25°C	$y = 2300,3 + 52,4x$	0,73	0,59	$y = 1067,98 + 28,7$	0,55	0,32
<b>ELASTICIDADE</b>						
<b>Temperatura</b>	<b>Controle</b>			<b>Enzima</b>		
	<b>Ajuste</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	<b>Ajuste</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>
Ambiente	$y = -0,953 + (-0,0x)$	0,76	0,68	$Y = 0,957 + (-0,0x)$	0,77	0,70
15°C	$y = 0,9605 + (-0,0x)$	0,73	0,60	$Y = 0,928 + (-0,0x)$	0,13	-0,30
25°C	$y = 0,948 + (-0,0x)$	0,31	-0,04	$y = 0,943 + (-0,0x)$	0,51	0,27
<b>COESIVIDADE</b>						
<b>Temperatura</b>	<b>Controle</b>			<b>Enzima</b>		
	<b>Ajuste</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	<b>Ajuste</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>
Ambiente	$y = 0,736 + (-0,0x)$	0,78	0,71	$y = 0,728 + (-0,0x)$	0,77	0,70
15°C	$y = 0,604 + (-0,0x)$	0,69	0,53	$y = 0,631 + (-0,0x)$	0,94	0,91
25°C	$Y = 0,646 + (-0,0x)$	0,68	0,52	$y = 0,662 + (-0,0x)$	0,82	0,73
<b>GOMOSIDADE</b>						
<b>Temperatura</b>	<b>Controle</b>			<b>Enzima</b>		
	<b>Ajuste</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>	<b>Ajuste</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>R<sup>2</sup> ajustado</b>
Ambiente	$y = 814,64 + 44,14x$	0,93	0,91	$y = 392,3 + 42,9x$	0,92	0,89

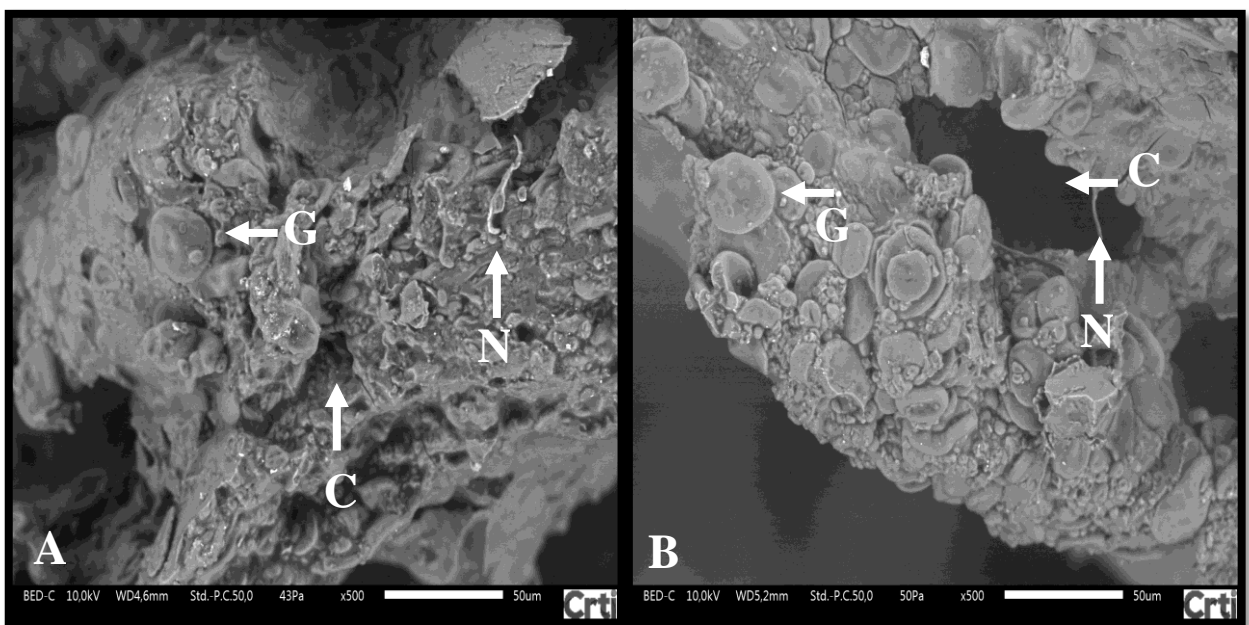
15°C	$y = 1222,2 + 16,09x$	0,67	0,51	$y = 442,74 + 25,29x$	0,57	0,35
25°C	$Y = 1406,52 + 19,86x$	0,61	0,41	$y = 742,60 + 7,89x$	0,22	-0,17
<b>MASTIGABILIDADE</b>						
T°C	Controle			Enzima		
	Ajuste	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Ajuste	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado
<b>Ambiente</b>	$y = 787,66 + 40,31x$	0,92	0,89	$y = 356,86 + 39,42x$	0,92	0,91
15°C	$y = 1182,91 + 13,09x$	0,68	0,53	$y = 438,86 + 21,89x$	0,52	0,28
25°C	$y = 1346,41 + 17,20x$	0,70	0,56	$y = 708,40 + 6,10x$	0,17	-0,25
<b>RESILIÊNCIA</b>						
Temperatura	Controle			Enzima		
	Ajuste	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado	Ajuste	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> ajustado
Ambiente	$y = 0,382 + (-0,00x)$	0,63	0,50	$y = 0,323 + (-0,00x)$	0,57	0,42
15°C	$y = 0,268 + (-0,0x)$	0,26	-0,11	$y = 0,254 + (-0,0x)$	0,59	0,38
25°C	$y = 0,308 + (-0,0x)$	0,55	0,33	$y = 0,256 + (-0,0x)$	0,47	0,20

## 5.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

Podem ser visualizadas, na Figura 22, as micrografias dos pães armazenados sob diferentes temperaturas durante 28 dias, sendo categorizadas como amostra controle e com a adição da enzima lipase (Lipopan Xtra®), obtidas com aumento de 500 vezes. Categorizando melhor a estrutura do pão, a mesma consiste em frações de água e trigo, como amido, proteína, farelo, dentre outros. Logo, a molécula de água deve ser removida da amostra com base na técnica de microscopia eletrônica de varredura, visto que as moléculas de água não podem ser exibidas em imagens de MEV, enquanto apenas a estrutura da proteína e os grânulos de amido podem ser capturados (Gorinstein et al. 2004).

As imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) das amostras de pão controle e com adição de enzima, no primeiro dia de armazenamento são apresentadas na Figura 25. Todas as amostras de pão continham grânulos de amido pequenos e grandes de formas esféricas e lenticulares que foram distribuídos por toda a matriz proteica. Esta observação assemelha-se aos relatos de Aponte et al. (2014) em pão assado durante o primeiro dia de armazenamento.

**Figura 22.** Micrografias dos pães controle (A) e com adição da enzima (B), com aumento de 500 vezes no tempo 0. As setas mostram grânulos de amido (G), cavidades (C), rede proteica (N) e zonas danificadas (ZD).

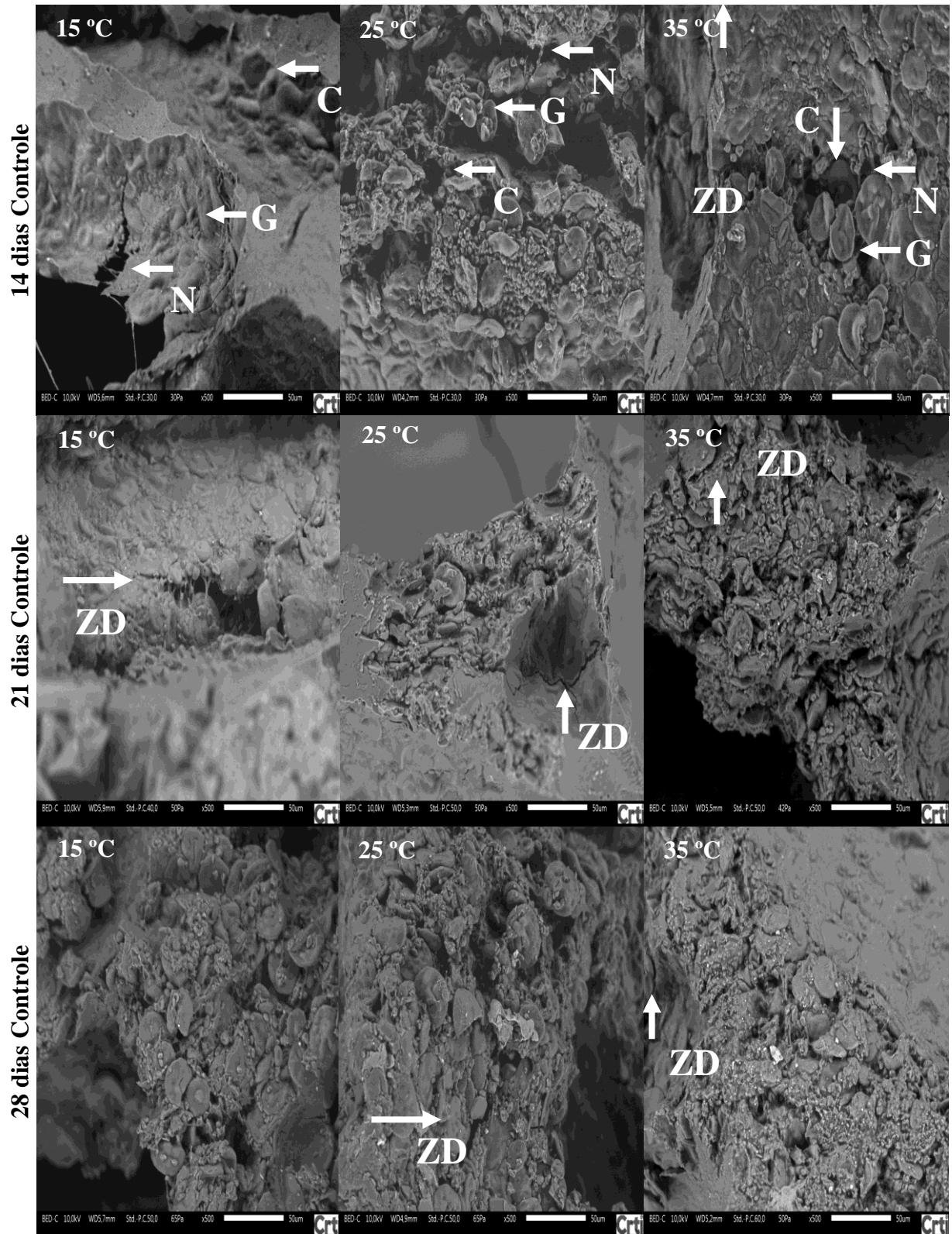


Ainda sobre as micrografias no tempo zero, é possível observar que o amido apresenta formato oval, esférico ou poligonal, como já reportado na literatura anteriormente (Liu et al., 2015; Dar et al., 2018), sem qualquer cavidade ou fissura, com superfície lisa (Liu et al., 2015a). De forma sistêmica, analisando as duas micrografias (A e B) não foram observadas diferenças substanciais entre os pães controle e com a adição de enzima, estando nítida a divisão das moléculas de amido, bem como as redes de proteínas e as suas cavidades. Por se tratar do tempo zero, não foram encontradas zonas danificadas visto que as variáveis físico químicas umidade, atividade de água, pH, acidez e as variáveis tecnológicas dureza e coesividade não haviam sofrido alterações que justificasse o aparecimento de zonas danificadas que comprometesse a integridade da amostra. As zonas danificadas indicam deformação da rede de glúten e consequente liberação de pequenos grânulos de amido. No entanto, tal aspecto pode estar relacionado ao preparo da amostra. Uma vez que, dependendo do método de preparo, pode

haver alteração de sua morfologia e implicar em mudanças nas expectativas de imagem. Assim, faz-se necessário que a amostra não sofra preparação excessiva, o que pode causar distorção da estrutura e alteração entre os componentes (Sharma et al., 2019).

Avaliando de forma separada, a fim de obter resultados mais precisos e coesos, as micrografias foram separadas em pães controle (sem adição de enzima) e pães com a adição de enzima (lipase, Lipopan Xtra<sup>®</sup>), Figuras 23 e 24, respectivamente, durante o período 28 dias de armazenamento. Logo, infere-se que os resultados obtidos para as micrografias das amostras controle ratificam os resultados das análises físico químicas e tecnológicas, visto que para a temperatura ambiente de 35 °C±2 no décimo quarto dia começaram a aparecer zonas danificadas (ZD), fato esse advindo principalmente da diminuição da atividade de água, o que conseqüentemente aumenta a variável dureza, tornando o pão mais quebradiço e com zonas danificadas de fácil identificação. Comportamento contrário, foi verificado para as temperaturas 15 e 25 °C, onde a umidade e atividade de água apresentam pequeno aumento, garantindo assim um pão mais homogêneo e menos quebradiço (< dureza).

**Figura 23.** Micrografias dos pães controle, com aumento de 500 vezes no tempo 14, 21 e 28 dias de armazenamento, nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C  $\pm$ 2. As setas indicam grânulos de amido (G), cavidades (C), rede proteica (N) e zonas danificadas (ZD).



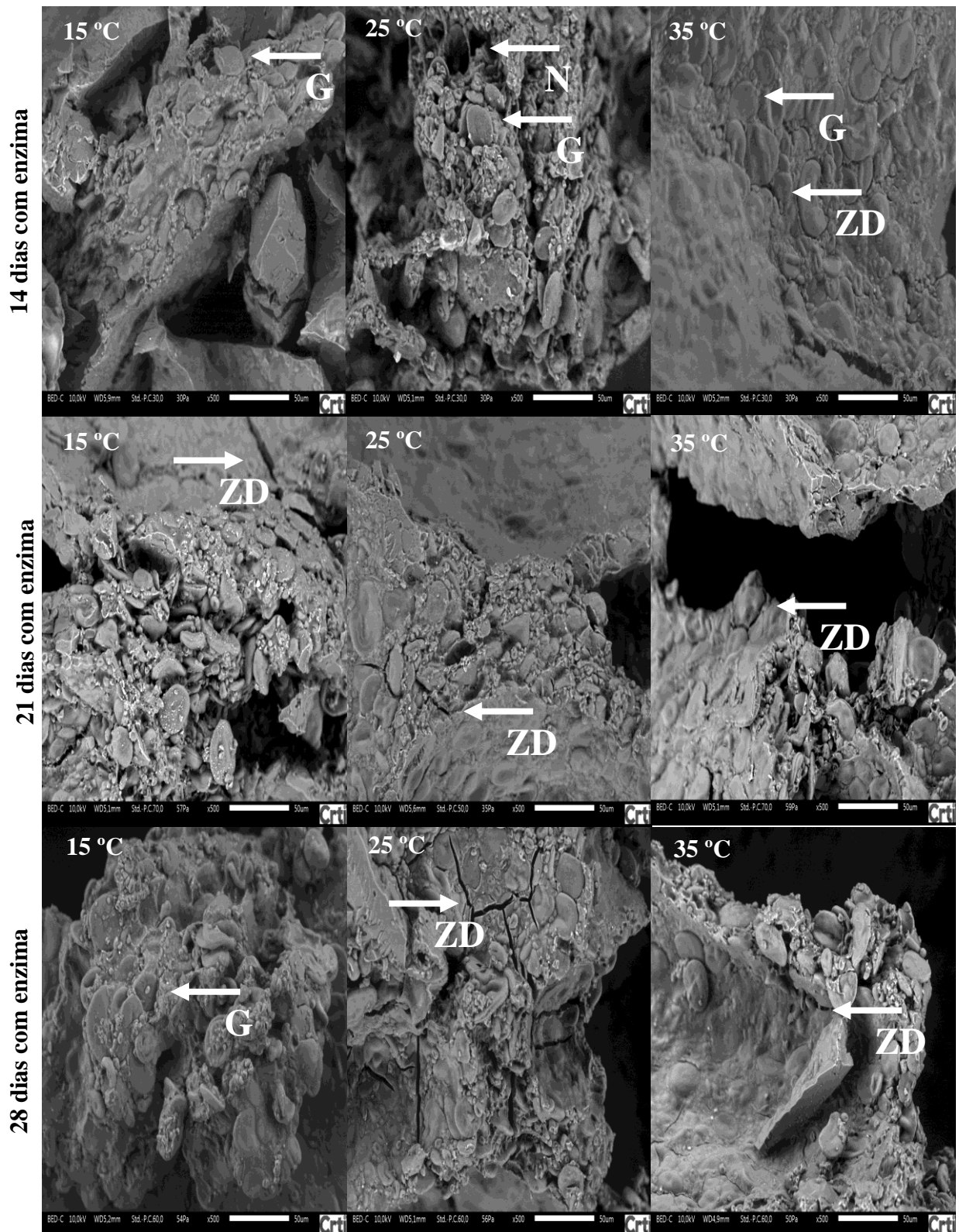
Avaliando as micrografias obtida dos pães com adição da enzima lipase (Lipopan Xtra<sup>®</sup>) (Figura 24), é possível notar uma mudança na conformação das moléculas de amido, nas quais eram visualmente diferentes com o passar dos dias de armazenamento, este mesmo comportamento pode ser observado também nas amostras de pães controle. Segundo Deckardt et al., (2014) ao avaliarem os efeitos da aplicação de ácidos orgânicos em grânulos de amido, os autores evidenciaram que sua adição levou à modificação dos grânulos de amido. Além disso, eles descobriram que alterações nos grânulos de amido sofrem leves deformações na superfície com o aumento da acidez. Esse mesmo comportamento pode ser observado nas micrografias do presente estudo, onde verifica-se que nos primeiros quatorze dias de armazenamento as moléculas de amido se mostravam uniforme, lisas, circulares e definidas, entretanto, com o passar dos dias de armazenamento notamos que tais moléculas começam a perder sua forma estrutural se tornando menos circulares e mais ovais ou mesmo perdendo totalmente sua estrutura conformacional.

No entanto, os dados de microscopia eletrônica de varredura do presente estudo mostraram modificações significativas na superfície dos grânulos de amido entre o décimo quarto dia e o vigésimo oitavo. Alterações severas e deformação na aparência da superfície, especialmente no vigésimo oitavo dia nas temperaturas 25 e 15 °C, também são visíveis na Figura 24, estando em conformidade com os maiores valores de acidez para estes pães, o que colaboraria para o desarranjo conformacional da estrutura. Notou-se ainda que ao fim do armazenamento, os grânulos de amido apareceram aprisionados dentro da matriz proteica compacta, especialmente aqueles submetidos as temperaturas de 25 e 35 °C (Figura 24). Essa interação visualmente detectada entre grânulos de amido e matriz pode diminuir a hidrólise enzimática do amido e aumentar a quantidade de amido resistente no produto final (DECKARDT et al. 2014; HAYTA; HENDEK, 2017).

Logo, pode-se observar que a estrutura do miolo do pão produzido com e sem a adição de enzima se apresenta mais rígida, visto que os componentes são mais difíceis de identificar, o que está diretamente relacionado a variável tecnológica dureza do miolo (Lopez et al., 2013). Assim, ao final do período de armazenamento (28 dias) (Figura 24), verifica-se que nas temperaturas de 25 e 35 °C a parede da célula de gás apresenta uma estrutura complexa em que os componentes estão estritamente correlacionados, sendo possível a visualização dos grânulos envoltos de uma matriz proteica. Esta agregação proteica e aprisionamento dos grânulos de amido podem ter afetado as características de microtextura dos pães. De acordo com Hayta et al., (2017) revelaram que ácidos orgânicos como o lático e o acético ou ácidos gerados a partir

da fermentação dos pães têm a capacidade de retardar a atividade enzimática, levando a uma diminuição na digestibilidade em estudos com humanos e in vitro (Deckardt et al. 2014).

**Figura 24.** Micrografias dos pães com adição da enzima, com aumento de 500 vezes no tempo 14, 21 e 28 dias de armazenamento, nas temperaturas de 15, 25 e 35 °C  $\pm$ 2. As setas indicam grânulos de amido (G), cavidades (C), rede proteica (N) e zonas danificadas (ZD).





De acordo com Hayta et al. (2017), o processo de envelhecimento dos produtos de panificação, principalmente os pães, ocorre devido à combinação de mudanças físicas e químicas durante o armazenamento após o cozimento. Caracteriza-se pela textura compacta e quebradiça, devido à interação entre o amido e as proteínas, a retrogradação do amido e a migração da água do miolo para a crosta. Essas alterações tornaram-se mais evidentes a partir do décimo quarto dia em comparação ao dia inicial. Com o avanço do armazenamento, as microestruturas dos pães foram caracterizadas por uma rede compacta, verificou-se também, que nas microestruturas dos pães, a partir do décimo quarto dia, a forma própria foi perdida e se transformou em forma agregada, os grânulos de amido não puderam ser vistos claramente na matriz proteica.

Ao final do armazenamento a matriz amido-proteína que forma a microestrutura do pão armazenado era mais descontínua e parecia ser mais fraca do que no pão fresco. Esse comportamento assim como mencionado, se dá justamente devido ao aumento da variável firmeza do miolo (dureza e gomosidade) e da diminuição da elasticidade (elasticidade e coesividade) para todos os pães durante o armazenamento. Esse mesmo comportamento foi verificado por Błaszczak et al. (2004) e Hayta et al. (2017), ao estudar pães armazenados durante dez dias. Essa alteração na microestrutura do pão armazenado também indicou que a interação amido-amido resultou da retrogradação e não da interação amido-glúten.

## 5.8 CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA POR CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

Os resultados obtidos por meio da análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) são, variação da entalpia ( $\Delta H$ ), capacidade calorífica de materiais e temperatura dos eventos térmicos (Tabela 18, 19 e 20). A partir dos termogramas obtidos na presente análise, foi possível determinar o  $T_0$  (temperatura inicial do processo de retrogradação do amido), a  $T_p$  (temperatura do pico) e o  $\Delta H_1$  (entalpia de retrogradação).

**Tabela 18.** Valores obtidos na análise do DSC para pães controles e com a adição de lipase, lipopan XTRA) sob temperatura ambiente ( $35 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) durante 28 dias de armazenamento.

Ambiente								
Tempo	Controle				Enzima			
	$T_0$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_p$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_p - T_0$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$\Delta H_1$ ( $\text{J. g}^{-1}$ )	$T_0$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_p$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_p - T_0$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$\Delta H_1$ ( $\text{J. g}^{-1}$ )
<b>0</b>	138,60	147,90	9,30	812	139,60	147,90	8,3	251
<b>7</b>	121,50	122,20	0,70	625	126,00	126,70	0,70	593
<b>14</b>	148,50	157,30	8,80	628	160,90	164,60	3,70	627
<b>21</b>	149,40	150,50	1,10	389	138,10	147,70	9,60	653
<b>28</b>	130,70	144,40	13,70	384	138,70	139,30	0,60	691

**Tabela 19.** Valores obtidos na análise do DSC para pães controles e com a adição da enzima (lipase, lipopan XTRA) sob a temperatura de  $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 28 dias de armazenamento.

$15 \text{ }^{\circ}\text{C}$								
Tempo	Controle				Enzima			
	$T_0$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_p$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_p - T_0$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$\Delta H_1$ ( $\text{J. g}^{-1}$ )	$T_0$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_p$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_p - T_0$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$\Delta H_1$ ( $\text{J. g}^{-1}$ )
<b>0</b>	138,60	147,90	9,30	812	139,60	147,90	8,3	251
<b>7</b>	137,80	146,00	8,20	231	148,50	149,50	1,00	706
<b>14</b>	155,10	157,50	2,40	605	138,60	139,20	0,60	730
<b>21</b>	124,00	143,40	19,40	743	141,70	142,80	1,10	626
<b>28</b>	144,30	145,10	0,80	481	134,70	151,70	17,00	636

**Tabela 20.** Valores obtidos na análise do DSC para pães controles e com a adição da enzima (lipase, lipopan XTRA) sob a temperatura de  $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 28 dias de armazenamento.

$25 \text{ }^{\circ}\text{C}$								
Tempo	Controle				Enzima			
	$T_0$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_p$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_p - T_0$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$\Delta H_1$ ( $\text{J. g}^{-1}$ )	$T_0$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_p$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$T_p - T_0$ ( $^{\circ}\text{C}$ )	$\Delta H_1$ ( $\text{J. g}^{-1}$ )
<b>0</b>	138,60	147,90	9,30	812	139,60	147,90	8,3	251
<b>7</b>	144,30	144,90	0,60	697	123,30	144,20	20,90	700
<b>14</b>	173,00	175,70	2,70	3465	148,50	149,30	0,80	701

<b>21</b>	155,10	157,00	1,90	664	144,00	145,00	1,00	637
<b>28</b>	144,70	145,40	0,70	547	119,60	120,20	0,60	498

Pode-se verificar que a retrogradação do amido iniciou a uma temperatura de 138,60 °C (T<sub>0</sub>) e os demais tempos ficaram com valores abaixo de 173,00 °C. Como o amido é composto principalmente por amilopectina que, segundo Zobel (1988), é um dos componentes responsáveis pela parte cristalina do grânulo, sendo este composto um dos principais fatores pelo processo de recristalização do amido ou retrogradação. Observou-se que o processo de retrogradação alcançou seu ponto máximo quando a temperatura do pico foi aferida (T<sub>p</sub>) mostrando que, apesar de estarem submetidos a diferentes temperaturas e durante 28 dias de armazenamento, não foram verificadas oscilações substanciais em suas temperaturas.

Notou-se ainda que os valores de entalpia de retrogradação ( $\Delta H$ ), assim como observado na dureza, aumentou com o tempo de armazenamento. O aumento de  $\Delta H$  indica a presença de regiões menos amorfas e mais cristalinas do amido (OU et al., 2022). Essa mudança não decorre de um único efeito, mas incluem, reorganização de polímeros dentro da região amorfa, perda de teor de umidade, distribuição do teor de água entre a zona amorfa e cristalina e a estrutura macroscópica do miolo (OZKOC et al., 2009).

Comportamento semelhante foi verificado por Zhang et al. (2017), ao avaliar os Efeitos de açúcares na retrogradação de géis de amido durante o armazenamento, o qual observou que a entalpia de fusão ( $\Delta H$ ) de todas as amostras aumentou significativamente com o aumento do tempo de armazenamento.

## 6 CONCLUSÃO

Dentre as formulações propostas pelo delineamento experimental todas demonstraram pouca diferença entre os tratamentos escolhidos, que tomou como base na análise multivariada (PCA). As variáveis de maior peso na PC1 foram: dureza, gomosidade, volume específico e mastigabilidade, variáveis essas relacionadas à textura e expansão, uma vez que são parâmetros tecnológicos. As médias gerais de dureza, gomosidade e mastigabilidade apresentaram ser inferiores ( $p < 0,05$ ) com o uso de enzima na formulação em todas as temperaturas de armazenamento. As variáveis dureza, elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e resiliência apresentaram diferenças significativas entre as amostras no decorrer dos dias de armazenamento ( $p < 0,05$ ). Apesar do comprometimento de algumas variáveis durante o armazenamento, a incorporação da enzima lipase (Lipopan Xtra<sup>®</sup>) foi promissora para posteriores estudos e consequente comercialização. Nesse sentido, novas pesquisas deverão ser realizadas para verificar o perfil de aceitação sensorial, bem como aplicação em produtos ricos em fibras, a exemplo dos produtos enriquecidos com extratos vegetais, garantido que tais pães se tornem viáveis tecnologicamente e economicamente.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAMODT, A.; MAGNUS, E. M.; FAERGESTAD, E. M. Effect of flour quality, ascorbic acid, and DATEM on dough rheological parameters and hearth loaves characteristics. **Journal of food science**, v. 68, n. 7, p. 2201-2210, 2003.

ABITRIGO. Associação Brasileira de Trigo, São Paulo, jul. 2014. Disponível em: <http://www.abitrigo.com.br/index.php?mpg=12.00.00&acao=ver&id=660&pg>. Acesso em: 30 dez. 2019.

AGOSTINI-COSTA, T. S. Bioactive compounds and health benefits of some palm species traditionally used in Africa and the Americas – a review. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 224, p. 202–229, 2018.

ALMEIDA, E. L.; CHANG, Y. K.; STEEL, C. J. Dietary fibre sources in frozen part-baked bread: Influence on technological quality. **LWT-Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 262-270, 2013.

ALTINEL, B.; ÜNAL, S. S. The effects of amyloglucosidase, glucose oxidase and hemicellulase utilization on the rheological behaviour of dough and quality characteristics of bread. **International journal of food engineering**, v. 13, n. 2, 2017.

ALTUNA, L.; RIBOTTA, P. D.; TADINI, C. C. Effect of a combination of enzymes on the fundamental rheological behavior of bread dough enriched with resistant starch. **LWT Food Science and Technology**, v. 73, p. 267-273, 2016.

ALUBOMÍR M.; AMÁRIA K., ALADISLAV D., AALŽBETA M.; ALUCIA M.; BERNEST Š. Effects of enzymes and hydrocolloids on physical, sensory, and shelf-life properties of wheat bread. **Applied Natural Sciences**, Častá-Papiernička, v. p. 5–7 October, 2011.

ANGIOLONI, A.; DALLA ROSA, M. Dough thermo-mechanical properties: influence of sodium chloride, mixing time and equipment. **Journal of Cereal Science**, v. 41, n. 3, p. 327-331, 2005.

AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. **Official methods of analysis**. 19th ed. Gaithersburg, 2012. 3000p.

APONTE, M. BOSCAINO, F.; SORRENTINO, A.; COPPOLA, R.; MASI, P.; ROMANO, A. Effects of fermentation and rye flour on microstructure and volatile compounds of chestnut flour based sourdoughs. **LWT-Food Science and Technology**, v. 58, n. 2, p. 387-395, 2014.

ARP, C. G.; CORREA, M. J.; FERRERO, C. Kinetic study of staling in breads with high-amylose resistant starch. **Food Hydrocolloids**, v. 106, p. 105879, 2020.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE BISCOITOS, MASSAS ALIMENTÍCIAS E PÃES & BOLOS INDUSTRIALIZADOS - ABIMAP. Anuário ABIMAP 2020. p. 128. Disponível em: [https://www.abimapi.com.br/anuario/anuario.html#your\\_book\\_name/10-11](https://www.abimapi.com.br/anuario/anuario.html#your_book_name/10-11). Acesso em: 10 fev. 2021.

BARBOSA-RÍOS, J. A.; CASTILLÓN-JARDÓN, J.; GUADARRAMA-LEZAMA, A. Y.; ALVAREZ-RAMIREZ, J.; MERAZ, M.; CARRILLO-NAVAS, H. Effect of new generation enzymes addition on the physical, viscoelastic and textural properties of traditional Mexican sweet bread. **Journal of Cereal Science**, v. 79, p. 160-167, 2018.

BARRET, A.; CARDELLO, A.; MAGUIRE, P.; RICHARDSON, M.; KALENTUNC, G.; LESHNER, L. Effects of sucrose ester, dough conditioner, and storage temperature on long-term textural stability of shelf-stable bread. **Cereal Chem.**, St. Paul, v.79, n.6, p.806-811, 2002.

BASTOS, D. M.; ARNOULT, E.; SCIOR, T. DO, Q. T.; BERNARD, P. Maillard reaction products in processed food: pros and cons. In: Food industrial processes-methods and equipment. **IntechOpen**, 2012.

BAURIN, N.; ARNOULT, E.; SCIOR, T. DO, Q. T.; BERNARD, P. Preliminary screening of some tropical plants for anti-tyrosinase activity. **J Ethnopharmacol**. v. 82, n. 2-3, p. 155-158, 2002.

BEAN, M. M.; YAMAZAKI, W. T.; DONELSON, D. H. Wheat starch gelatinization in sugar solutions. II. Fructose, glucose, and sucrose: cake performance. **Cereal Chemistry**, v. 55, p. 945-952, 1978.

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

BHARATHI, Devaraj; RAJALAKSHMI, G.; KOMATHI, S. Otimização e produção de enzima lipase a partir de cepas bacterianas isoladas de solo derramado de petróleo. **Journal of King Saud University-Science**, v. 31, n. 4, pág. 898-901, 2019.

BŁASZCZAK, W. et al. Structural changes in the wheat dough and bread with the addition of alpha-amylases. **European Food Research and Technology**, v. 219, n. 4, p. 348-354, 2004.

BRANDÃO, S.S.; LIRA, H. R. **Tecnologia de panificação e confeitaria**, Recife: EDUFRPE, 2010.

BRASIL. Agência Brasileira de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC Nº 90, de 18 de outubro de 2000. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 11 de outubro de 2000.

BRASIL. Agência Brasileira de Vigilância Sanitária. Resolução da diretoria colegiada - RDC Nº 54, de 7 de outubro de 2014. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 8 de outubro de 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução- RDC Nº 263, de 22 de setembro de 2005. Aprova o Regulamento Técnico para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 23 de 2005.

BUENO, M. M.; THYS, Roberta C. S.; RODRIGUES, R. C. Microbial enzymes as substitutes of chemical additives in baking wheat flour—part I: individual effects of nine enzymes on flour dough rheology. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 12, p. 2012-2023, 2016.

CABALLERO, P. A.; GÓMEZ, M.; ROSELL, C. M. Improvement of dough rheology, bread quality and bread shelf-life by enzymes combination. **Journal of food engineering**, v. 81, n. 1, p. 42-53, 2007.

CAPITANI, M.; MATEO, C. M.; NOLASCO, S. M. Effect of temperature and storage time of wheat germ on the oil tocopherol concentration. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 28, p. 243-250, 2011.

CARPEN, A.; BONOMI, F.; IAMETTI, S.; MARENGO, M. Effects of starch addition on the activity and specificity of food-grade lipases. **Biotechnology and applied biochemistry**, v. 66, n. 4, p. 607-616, 2019.

CARR, L. G; TADINI, C. C Influence of yeast and vegetable shortening on physical and textural parameters of frozen part baked French bread. **LWT-Food Science and Technology**, v. 36, n. 6, p. 609-614, 2003.

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

CAUVAIN, S. P. **Bakery technology**. London: Springer Intl. Publicação. 2015.

CAUVAIN, S. P.; YOUNG, L. S. Technology of **breadmaking**, 2007.

CERMINATI, S.; PAOLETTI, L.; AGUIRRE, A.; PEIRÚ, S.; MENZELLA, H. G.; CASTELLI, M. EIndustrial uses of phospholipases: current state and future applications. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 103, n. 6, p. 2571-2582, 2019.

CHAKRABORTY, I.; PALLEEN, S.; SHETTY, Y.; ROY, N.; MAZUMDER, N. Advanced microscopy techniques for revealing molecular structure of starch granules. **Biophysical reviews**, v. 12, n. 1, p. 105-122, 2020.

CHALAMACHARLA, R. B.; HARSHA, K.; SHEIK, K. B.; VISWANATHA, C. K. Wheat bran-composition and nutritional quality: a review. **Adv Biotech Microbiol**, v. 9 n. 1 p. 555754. 2018.



CHEN, F.; DENG, Z.; ZHANG, Z.; ZHANG, R., XU, Q.; FAN, G.; McClements, D. J. Controlling lipid digestion profiles using mixtures of different types of microgel: Alginate beads and carrageenan beads. **Journal of Food Engineering**, v. 238, p. 156-163, 2018.

CHUNG, O. K.; OHM, J. B.; RAM, M. S., PARK, S. H.; HOWITT, C. A. Wheat Lipids. In K. Khan & P. R. Shewry (Eds.). **Wheat Chemistry and Technology**, v. 4 p. 363–399). St. Paul, MN, USA: AACC International, 2009.

CLARKE, C. I.; SCHOBER, T. J.; ANGST, E.; ARENDT, E. K. Use of response surface methodology to investigate the effects of processing conditions on sourdough wheat bread quality. **European Food Research and Technology**, v. 217, n. 1, p. 23-33, 2003.

COLAKOGLU, A. S.; ÖZKAYA, H. Potential use of exogenous lipases for DATEM replacement to modify the rheological and thermal properties of wheat flour dough. **Journal of Cereal Science**, v. 55 n. 3, p. 397-404, 2012.

COSTA, A. C. A. **Aplicação do controle estatístico na produção de pão francês em uma panificadora no município de Mossoró-RN**. 2018.

DAHIYA, S.; BAJAJ, B. K.; KUMAR, A.; TIWARI, S. K.; SINGH, B. A review on biotechnological potential of multifarious enzymes in bread making. **Process Biochemistry**, 2020.

DANELLI, D., G. P.; COSTA, L. M.; MELO, C. H.; PAGNO, M. F.; GEVEHR, S. H.; FLORES E. V. J. Biological and functional evaluation of bread loaves added of quinoa (*Chenopodium quinoa*). **Braz. J. Food Technol.**, v. 2, p. 10-15, 2010.

DANNO, G.; HOSENEY, R. C. Effects of dough mixing and rheologically active compounds on relative viscosity of wheat proteins. **Cereal chemistry**, v. 59, n. 3, p. 196-198, 1982.

DAR, M.; DEEPIKA, K.; JAN, K.; SWER, T. L.; KUMAR, P.; VERMA, R.; VERMA, K.; PRAKASH, K. S.; JAN, S.; BASHIR, K. Modification of structure and physicochemical properties of buckwheat and oat starch by  $\gamma$ -irradiation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 108, p. 1348-1356, 2018.

DAVIS, E.A. Functionality of sugars: physicochemical interactions in foods. **Am. J. Clin. Nutr.**, Bethesda, v.62, p.170S-177S, 1995.

DE LA HERA, E.; ROSELL, C. M.; GOMEZ, M. Effect of water content and flour particle size on gluten-free bread quality and digestibility. **Food chemistry**, v. 151, p. 526-531, 2014.

DE WIJK, R. A.; SMEETS, P. A.; POLET, I. A.; HOLTHUYSEN, N. T.; ZOON, J.; VINGERHOEDS, M. H. Aroma effects on food choice task behavior and brain responses to bakery food product cues. *Food Quality and Preference*, v. 68, p. 304-314, 2018.

DEBONNE, E.; DE LEYN, I.; VROMAN, A.; SPAEPEN, G.; VAN HECKE, M.; RUYSSSEN, T.; EECKHOUT, M. Technological and microbiological evaluation of different storage conditions of par-baked bread. **LWT-Food Science and Technology**, v. 131, p. 109757, 2020.

DECKARDT, K. KHIAOSA-ARD, R.; GRAUSGRUBER, H.; ZEBELI, Q. Evaluation of various chemical and thermal feed processing methods for their potential to enhance resistant starch content in barley grain. **Starch-Stärke**, v. 66, n. 5-6, p. 558-565, 2014.

DELCOUR, J. A.; HOSENEY, R. C; **Principles of cereal science and technology** (3<sup>a</sup> ed), AACC International, St. Paul, MN, EUA, 2010.

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.

DEWAEST, M., VILLEMEJANE, C., BERLAND, S., NERON, S., CLEMENT, J., VEREL, A., & MICHON, C. Effect of crumb cellular structure characterized by image analysis on cake softness. **Journal of texture studies**, v.49 n. 3, p. 328-338, 2018.

DING, S.; PENG, B.; LI, Y.; YANG, J. Evaluation of specific volume, texture, thermal features, water mobility, and inhibitory effect of staling in wheat bread affected by maltitol. **Food chemistry**, v. 283, p. 123-130, 2019.

DOS SANTOS, O. V.; CARVALHO, J. R. R. N.; DA COSTA, C. E. F.; DA SILVA LANNES, S. C. Chemical, chromatographic-functional, thermogravimetric-differential and spectroscopic parameters of the sapucaia oil obtained by different extraction methods. **Industrial crops and products**, v. 132, p. 487-496, 2019.

DUNNEWIND, B.; VAN VLIET, T.; ORSEL, R. Effect of oxidative enzymes on bulk rheological properties of wheat flour doughs. **Journal of Cereal Science**, v. 36, n. 3, p. 357-366, 2002.

ECHAVARRÍA, A. P.; PAGÁN, J.; IBARZ, A. Melanoidins formed by Maillard reaction in food and their biological activity. **Food Engineering Reviews**, v. 4, n. 4, p. 203-223, 2012.

EDWARDS, N. M. J.; DEXTER, E.; SCANLON, M. G. "Starch participation in durum dough linear viscoelastic properties," **Cereal Chemistry**, vol. 79, no. 6, pp. 850–856, 2002.

ESTELLER, M. S. **Fabricação de pães com reduzido teor calórico e modificações reológicas ocorridas durante o armazenamento**. São Paulo, 2014.

FANARI, F.; CARBONI, G.; GROSSO, M.; DESOGUS, F. Effect of the relative amount of ingredients on the thermal properties of semolina doughs. **Chem. Eng.**, v. 76, p. 1207-1212, 2020.

FINNIE, S. M.; JEANNOTTE, R., MORRIS, C. F.; FAUBION, J. M Variation in polar lipid composition among near-isogenic wheat lines possessing different puroindoline haplotypes. **Journal of Cereal Science**, v. 51, n. 1, p. 66-72, 2010.

FLEET, G. H. Yeasts in foods and beverages: impact on product quality and safety. **Current opinion in biotechnology**, v. 18 n. 2, p. 170-175, 2007.

FRAUENLOB, J.; SCHARL, M.; D'AMICO, S.; SCHOENLECHNER R. Effect of different lipases on bread staling in comparison with diacetyl tartaric ester of monoglycerides (DATEM). **Cereal Chemistry**, v. 95 n. 3, p. 367-372, 2018.

FU, Y.; LIU, X.; XIE.; Q., CHEN, L.; CHANG, C.; WU, W.; WANG, X. Effects of Laminaria japonica polysaccharides on the texture, retrogradation, and structure performances in frozen dough bread. **LWT - Food Science and Technology** v. 151, p.112239, 2021.

GANDRA, K. M. et al. Aplicação de lipase e monoglicerídeo em pão de forma enriquecido com fibras. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 182-192, 2008.

GAO, J.; TAY, S. L.; KOH, A. H. S.; ZHOU, W. Dough and bread made from high-and low-protein flours by vacuum mixing: Part 2. Yeast activity, dough proofing and bread quality. **Journal of Cereal Science**, v. 77, p. 275-283, 2017.

GELINAS, P. Y; HUI Y. H (ED) Bak. Prod. **Sci. Technol. Blackwell**, ames, p.173–192, 2006.

GENG, P.; HARNLY, J. M.; CHEN, P. Differentiation of bread made with whole grain and refined wheat (*T. aestivum*) flour using LC/MS-based chromatographic fingerprinting and chemometric approaches. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 47, p. 92-100, 2016.

GERITS, L. R.; PAREYT, B.; MASURE, H. G.; DELCOUR, J. A. lipases and their functionality in the production of wheat-based food systegelinasm Compr. **Rev. Food Sci. Food Saf.**, v.13, p. 978 – 989, 2014.

GERITS, LR, PAREYT, B. e DELCOUR, JA Wheat starch swelling, gelatinization and pasting: Effects of enzymatic modification of wheat endogenous lipids **LWT Food Sci. Technol**, v. 63, p. 361 – 366, 2015.

GIANNONE, V., LAURO, M. R., SPINA, A., PASQUALONE, A., AUDITORE, L., PUGLISI, I., & PUGLISI, G. A novel  $\alpha$ -amylase-lipase formulation as anti-staling agent in durum wheat bread. **LWT – Food Science and Technology**, v. 65, p. 381– 389, 2016.

GODEFROIDT, T.; OOMS, N.; PAREYT, B.; BRIJS, K.; DELCOUR, J. A. Ingredient Functionality During Foam-Type Cake Making: A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [S. l.], v. 18, n. 5, p. 1550–1562, 2019.

GORINSTEIN, S.; PAWELZIK, E.; DELGADO-LICON, E.; YAMAMOTO, K.; KOBAYASHI, S.; TANIGUCHI, H.; TRAKHTENBERG, S. Use of scanning electron microscopy to indicate the similarities and differences in pseudocereal and cereal proteins. **International journal of food science & technology**, v. 39, n. 2, p. 183-189, 2004.

GRAUSGRUBER, H.; MIESENBERGER, S.; SCHOENLECHNER, R.; VOLLMANN, J. Influência de melhoradores de massa na qualidade de pão integral de trigo einkorn. **Acta Alimentaria**, v. 37, n. 3, pág. 379-390, 2008.

GUNARATNE, A.; HOOVER, R. Effect of heat–moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. **Carbohydrate polymers**, v. 49, n. 4, p. 425-437, 2002.

GUTKOSKI, L.C.; DURIGON, A.; MAZZUTTI, S.; CEZARE, K. Efeito do extrato de malte de aveia nas características físicas de pão de fôrma. **Brazilian Journal of food technology**, 2010.

GUYNOT, M. E.; RAMOS, A. J.; SANCHIS, V.; MARÍN, S. Study of benzoate, propionate, and sorbate salts as mould spoilage inhibitors on intermediate moisture bakery products of low pH (4.5–5.5). **International Journal of Food Microbiology**, v. 101, n. 2, p. 161-168, 2005.

HÄHNEL, W.; JUSSOFIE, I.; MÜLLER, F. “Investigations into the properties of emulsifiers in yeast-leavened dough by means of infrared spectroscopy—II. Experiments on the interaction of emulsifiers with starch and flour and in dough,” **Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung**, v.200, n.4, p. 244–246, 1995.

HAYTA, M.; HENDEK, E. M. Optimization of sourdough bread incorporation into wheat bread by response surface methodology: Bioactive and nutritional properties. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 52, n. 8, p. 1828-1835, 2017.

HEBEDA R. E.; ZOBEL, H.F. Baked Goods Freshness: Technology, Evaluation and Inhibition of Staling **Marcel Dekker, Inc, New York, US, 1996.**

HEMALATHA, M. S.; RAO, UP, LEELAVATHI, K., & SALIMATH, PV Influência de amilases e xilanases nas propriedades químicas, sensoriais, amilográficas e na microestrutura de chapati. **LWT-Food Science and Technology**, v. 43, n.9, p. 1394-1402, 2010.

HUANG, Z.; BRENNAN, C. S.; ZHENG, H.; MOHAN, M. S.; STIPKOVITS, L.; LIU, W. LIU, J. The effects of fungal lipase-treated milk lipids on bread making. **LWT-Food Science and Technology**, v. 128, p. 109455, 2020.

HWANG, I. G.; KIM, H. Y.; WOO, K. S.; LEE, J.; JEONG, H. S. Biological activities of Maillard reaction products (MRPs) in a sugar–amino acid model system. **Food Chemistry**, v. 126, n. 1, p. 221-227, 2011.

INDRANI, D.; VENKATESWARA RAO, G. Effect of improvers on the quality of whole wheat flour bread. **Journal of Food Science and Technology**, v. 29, n. 6, p. 357-359, 1992.

JANSSEN, F.; WOUTERS, A. G.; PAREYT, B.; GERITS, L. R.; DELCOUR, J. A.; WAELKENS, E.; DERUA, R. Wheat (*Triticum aestivum* L.) lipid species distribution in the different stages of straight dough bread making. **Food Research International**, v. 112, p. 299-311, 2018.

JAVED, M. M.; JAVED, M. M.; ZAHOOR, S.; SHAFAT, S.; MEHMOODA, I.; GUL, A.; RASHEED, H.; AFTAB, M. N. Wheat bran as a brown gold: Nutritious value and its biotechnological applications. **African Journal of Microbiology Research**, v. 6, n. 4, p. 724-733, 2012.

JAVED, S. JAVED, M. M.; ZAHOOR, S.; SHAFAT, S.; MEHMOODA, I.; GUL, A.; RASHEED, H.; AFTAB, M. N. Bacterial lipases: a review on purification and characterization. **Progress in biophysics and molecular biology**, v. 132, p. 23-34, 2018.

JOLLIFFE, I. T. **Principal Component Analysis**, Springer: New York, 2004.

KAUR, A.; SHEVKANI, K.; KATYAL, M.; SINGH, N.; AHLAWAT, A. K.; SINGH, A. M. Physicochemical and rheological properties of starch and flour from different durum wheat

varieties and their relationships with noodle quality. **Journal of food science and technology**, v. 53 n. 4 p. 2127-2138, 2016.

PETROFSKY, K. E.; HOSENEY, R. C. "Rheological properties of dough made with starch and gluten from several cereal sources," **Cereal Chemistry**, v. 72, n. 1, p. 53–58, 1995.

KOMLENIĆ, D. K.; SLAČANAC, V.; JUKIĆ, M. Influence of acidification on dough rheological properties. **Rheology, Dr. Juan De Vicente (Ed.)**, p. 265-292, 2012.

KONICA MINOLTA. **Accurate color communication: quality control from perception to instrumentation**. Seoul: Konica Minolta, 2011. 53p.

KUKTAITE, R.; LARSSON, H. JOHANSSON, E. Variation in protein composition of wheat flour and its relationship to dough mixing behaviour. **Journal of Cereal Science**, v. 40, n. 1, p. 31-39, 2004.

KUMAR, A.; KANWAR, S.S. Lipase production in solid-state fermentation (SSF): recent developments and biotechnological applications Dyn. Biochem. **Process Biotechnol. Mol. Biol.**, v. 6, n.1, p. 13-27, 2012.

KWEON, M.; SLADE, L.; LEVINE, H. GANNON, D Cookie- vs. cracker-baking – what's the difference? – flour functionality requirements explored by SRC and alveography **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 54, n.1, p. 115-138, 2014.

LAILAJA, V. P.; CHANDRASEKARAN, M. Detergent compatible alkaline lipase produced by marine *Bacillus smithii* BTMS 11. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 29, n. 8, p. 1349-1360, 2013.

LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W. **Carbohidratos en alimentos regionales Iberoamericanos**. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2006. 648p.

LEÓN, A. E.; DURÁN, E.; BENEDITO DE BARBER, C. Utilization of enzyme mixtures to retard bread crumb firming. **Journal of agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 6, p. 1416-1419, 2002.

LI, Z.; TANG, X.; HUANG, W.; LIU, J. G.; TILLEY, M.; YAO, Y. Rheology, microstructure, and baking characteristics of frozen dough containing *Rhizopus chinensis* lipase and transglutaminase. **Cereal chemistry**, v. 88, n. 6, p. 596-601, 2011.

LINDENMEIER, M.; HOFMANN, T. Influence of baking conditions and precursor supplementation on the amounts of the antioxidant pronyl-L-lysine in bakery products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 2, p. 350-354, 2004.

LIU, H.; GUO, X.; LI, W.; WANG, X.; PENG, Q.; WANG, M. Changes in physicochemical properties and in vitro digestibility of common buckwheat starch by heat-moisture treatment and annealing. **Carbohydrate Polymers**, v. 132, p. 237- 244, 2015a.

LIU, H.; LV, M.; PENG, Q.; SHAN, F.; WANG, M. Physicochemical and textural properties of tartary buckwheat starch after heat–moisture treatment at different moisture levels. **Starch - Stärke**, v. 67, n. 3-4, p. 276-284, 2015.

LODI, A.; ABDULJALIL, A. M.; VODOVOTZ, Y. Characterization of water distribution in bread during storage using magnetic resonance imaging. **Magnetic Resonance Imaging**, v. 25, n. 10, p. 1449-1458, 2007.

LÓPEZ, E. P. Influence of the addition of lupine protein isolate on the protein and technological characteristics of dough and fresh bread with added Brea Gum. **Food Science and Technology**, v. 34, n. 1, p. 195-203, 2014.

LÓPEZ, E. P.; GOLDNER, M. C. Influence of storage time for the acceptability of bread formulated with lupine protein isolate and added brea gum. **LWT-Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 1171-1178, 2015.

LÓPEZ, E. P.; PÉREZ, G. T, ERRAMOUSPE, P. L. J. D.; CUEVAS, C. M. Effect of Brea Gum on the characteristics of wheat bread at different storage times. **Food Science and Technology**, v. 33, p. 745-752, 2013.



LU, X.; BRENNAN, M. A.; SERVENTI, L.; BRENNAN, C. S. Incorporation of mushroom powder into bread dough—effects on dough rheology and bread properties. **Cereal Chemistry**, v. 95, n. 3, p. 418-427, 2018.

MA, M.; MU, T.; SUN, H.; ZHOU, L. Evaluation of texture, retrogradation enthalpy, water mobility, and anti-staling effects of enzymes and hydrocolloids in potato steamed bread. **Food Chemistry**, v. 368, p. 130686, 2022.

MAIA, G. C. H. M., DA SILVA, C. M.; BARROS-MONTEIRO, J.; EDUARDO LUCAS C. J.; SOARES FALEIROS, M.; SOUZA, A. S. R.; PICCOLOTTO, C. R. Effects of *Astrocaryum aculeatum* Meyer (Tucumãa) on diet-induced dyslipidemic rats. **Journal of Nutrition and Metabolism. Article**, v. 2014, 2014.

MASURE, H. G.; FIERENS, E.; DELCOUR, J. A. Current and forward looking experimental approaches in gluten-free bread making research. **Journal of Cereal Science**, v. 67, p. 92-111, 2016.

MATOS, K. A. N.; LIMA, D. P.; BARBOSA, A. P. P.; MERCADANTE, A. Z.; CHISTÉ, R. C. Peels of tucumã (*Astrocaryum vulgare*) and peach palm (*Bactris gasipaes*) are by-products classified as very high carotenoid sources. **Food chemistry**, v. 272, p. 216-221, 2019.

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.

MATUDA, T. G. **Análise térmica da massa de pão francês durante os processos de congelamento e descongelamento: otimização do uso de aditivos**. 2004, 142p. Dissertação (Mestre em Engenharia) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, 2004.

MCCANN, T. H.; DAY, L. I. Effect of sodium chloride on gluten network formation, dough microstructure and rheology in relation to breadmaking, **Journal of Cereal Science**, v. 57, n. 3, p. 444-452, 2013.

MELINI, Valentina; MELINI, Francesca. Strategies to extend bread and GF bread shelf-life: From Sourdough to antimicrobial active packaging and nanotechnology. **Fermentation**, v. 4, n. 1, p. 9, 2018.

METTLER, E.; SEIBEL, W. “Effect of emulsifiers and hydrocolloids on whole wheat bread quality: a response surface methodology study, **Cereal Chemistry**, v. 70, p. 373–377, 1993.

METTLER, E.; SEIBEL, W. A Response Surface Methodology Study. **Cereal Chem**, v. 70, n. 4, p. 373-377, 1972.

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

MONTEIRO, J. S.; MONTEIRO, J. S.; FARAGE, P.; ZANDONADI, R. P.; BOTELHO, R.; DE OLIVEIRA, L. D. L.; RAPOSO, A.; ARAÚJO, W A Systematic Review on Gluten-Free Bread Formulations Using Specific Volume as a Quality Indicator. **Foods**, v. 10, n. 3, p. 614, 2021.

ONYANGO, C.; MUTUNGI, C.; UNBEHEND, G.; LINDHAUER, M.G. Batter rheology and bread texture of sorghum-based gluten-free formulations modified with native or pregelatinised cassava starch and alpha-amylase **International Journal of Food Science & Technology**, v.45, p. 1228-1235, 2010.

OZKOC, S. O.; SUMNU, G.; SAHIN, S.; TURABI, E. Investigation of physicochemical properties of breads baked in microwave and infrared-microwave combination ovens during storage. **European Food Research and Technology**, v. 228, n. 6, p. 883-893, 2009.

PARASKEVOPOULOU, A. PROVATIDOU, E.; TSOTSIOU, D.; KIOSSEOGLU, V. Dough rheology and baking performance of wheat flour–lupin protein isolate blends. **Food Research International**, v. 43, n. 4, p. 1009-1016, 2010.

PARDAUIL, J. J. R.; DE MOLFETTA, F. A.; BRAGA, M.; DE SOUZA, L. K.; GERALDO FILHO, N. R.; ZAMIAN, J. R.; DA COSTA, C. E. F. Characterization, thermal properties and

phase transitions of amazonian vegetable oils. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 127, n. 2, p. 1221-1229, 2017.

PARENTI, O.; GUERRINI, L.; ZANONI, B. Techniques and technologies for the breadmaking process with unrefined wheat flours. **Trends in Food Science & Technology**, v. 99, p. 152-166, 2020.

PAREYT, B.; FINNIE, S. M., PUTSEYS, J. A.; DELCOUR, J. A. Lipids in bread making: Sources, interactions, and impact on bread quality. **Journal of Cereal Science**, v. 54, n. 3, p. 266-279, 2011.

PARK, S.; MUN, S.; KIM, YONG-RO. Effect of xanthan gum on lipid digestion and bioaccessibility of  $\beta$ -carotene-loaded rice starch-based filled hydrogels. **Food research international**, v. 105, p. 440-445, 2018.

PATEL, H. ; PATEL, H.; ROYALL, P. G.; GAISFORD, S.; WILLIAMS, G. R.; EDWARDS, C. H.; WARREN, F. J.; BUTTERWORTH, P. J. (Structural and enzyme kinetic studies of retrograded starch: Inhibition of  $\alpha$ -amylase and consequences for intestinal digestion of starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 164, p. 154-161, 2017.

PHILIPPEAU, G. **Comment interpréter les résultats d'une analyse en composantes principales**. Paris: Institut Technique des Céréales et Fourrages - ITCF, 1986, 63 p.

PIZZINATTO, A.; MAGNO, C. P. R.; CAMPAGNOLLI, D. M. F. **Avaliação tecnológica de produtos derivados da farinha de trigo (pão, macarrão, biscoitos)** Campinas: Centro de Tecnologia de Farinhas e Panificação, Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1993, p.54.

PRIMO-MARTÍN, C.; DE BEUKELAER, H.; HAMER, R. J.; VAN VLIET, T. Fracture behaviour of bread crust: Effect of ingredient modification. **Journal of Cereal Science**, v. 48, n. 3, p. 604-612, 2008.

PURHAGEN, J. K.; SJÖÖ, M. E.; ELIASSON, A. C. Amido que afeta os agentes anti-envelhecimento e sua função em pão independente e assado na frigideira. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 7, pág. 1656-1666, 2011.

PYLER, E.J.; GORTON, L. A. *Baking Science and Technology* (fourth ed.), Sosland Publishing Co, Kansas City, US, 2008.

QUAGLIA, G. **Ciência y tecnología de La panificación**. Zaragoza: Acribia, p. 485, 1991.

RAMOS, P. S. R. Influência de emulsificantes e da enzima transglutaminase no desenvolvimento de pães modeláveis sem glúten. **Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos)** – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Rio de Janeiro, 2013.

REZAEI, M. N.; DORNEZ, E.; JACOBS, P.; PARSI, A.; VERSTREPEN, K. J.; COURTIN C. M. Harvesting yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) at different physiological phases significantly affects its functionality in bread dough fermentation. **Food Microbiol** v. 39, p. 108–115, 2014.

RIZZELLO, C. G.; CALASSO, M.; CAMPANELLA D.; ANGELIS, M.; GOBBETTI, M.; Use of sourdough fermentation and mixture of wheat, chickpea, lentil and bean flours for enhancing the nutritional, texture and sensory characteristics of white bread. **International Journal of Food Microbiology**, April 2014.

RIZZELLO, C. G.; LORUSSO, A.; MONTEMURRO, M.; GOBBETTI, M.; Use of sourdough made with quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour and autochthonous selected lactic acid bacteria for enhancing the nutritional, textural and sensory features of white bread. **Food Microbiology**, November, 2016.

ROBERT, H.; GABRIEL, V.; LEFEBVRE, D.; RABIER, P.; VAYSSIER, Y.; FONTAGNÉFAUCHER, C. Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. **LWT - Food Science and Technology**, v. 39, p. 256-265, 2006.

ROSELL, C. M.; GÓMEZ, M. Freezing in breadmaking performance: frozen dough and partbaked bread. **Food Rev. Int.**, v. 23, n. 2, p. 303-139, 2007.

ROSELL, C. M.; GARZON, R. Chemical composition of bakery products. **Handbook of Food Chemistry**, p. 191-224, 2015.

SCHAFFARCZYK, M.; ØSTDAL, H.; KOEHLER, P. Lipases in wheat breadmaking: analysis and functional effects of lipid reaction products **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62 p. 8229-8237, 2014.

SCHAFFARCZYK, M.; ØSTDAL, H.; MATHEIS, O.; KOEHLER, P. Relationships between lipase-treated wheat lipid classes and their functional effects in wheat breadmaking. **Journal of Cereal Science**, v. 68, p. 100-107, 2016.

SERVENTI, L.; JENSEN, S.; SKIBSTED, L. H.; KIDMOSE, U. Addition of enzymes to improve sensory quality of composite wheat–cassava bread. **European Food Research and Technology**, v. 242, n. 8, p. 1245-1252, 2016.

SERVENTI, L.; SKIBSTED, L. H.; KIDMOSE, U. Sensory and textural characterization of composite wheat–cassava bread as a function of lipase dose and storage time. **European Food Research and Technology**, v. 246, n. 1, p. 23-32, 2020.

SHANMUGAVEL, V.; SANTHI, K. K.; KURUP, A. H.; KALAKANDAN, S.; ANANDHARAJ, A.; RAWSON, A. Potassium bromate: Effects on bread components, health, environment and method of analysis: A review. **Food chemistry**, v. 311, p. 125964, 2020.

SIDDIQ, M.; M., NASIR, M.; RAVI, R.; BUTT, M. S.; DOLAN, K. D.; HARTE, J. B. Effect of defatted maize germ flour addition on the physical and sensory quality of wheat bread. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, n. 2, p. 464-470, 2009.

SILVA, M. R.; GARCIA, G. K. S.; FERREIRA, H. F. Caracterização química, física e avaliação da aceitação de pão de queijo com baixo teor energético. **Alimentos e Nutrição**, v. 14, n. 1, p. 69-75, 2003.

SOARES, J. P.; MARQUES, G. D. A.; MAGALHÃES, C. S. D.; SANTOS, A. B.; JOSÉ, J. F. B. D. S.; SILVA, D. A.; SILVA, E. M. M. D. Efeito da adição de proteína do soro do leite como

substituto do trigo na formulação de bolos sem adição de açúcar. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 21, 2017.

SROAN, Baninder S.; MACRITCHIE, Finlay. Mechanism of gas cell stabilization in breadmaking. II. The secondary liquid lamellae. **Journal of Cereal Science**, v. 49, n. 1, p. 41-46, 2009.

STOJCESKA, V.; AINSWORTH, P. The effect of different enzymes on the quality of high-fibre enriched brewer's spent grain breads. **Food chemistry**, v. 110, n. 4, p. 865-872, 2008.

SUAS, M. **Advanced bread and pastry: a professional approach**. Clifton Park, N.Y.: Delmar Cengage Learning. 2012.

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

TEBBEN, L.; SHEN, Y.; LI, Y. Improvers and functional ingredients in whole wheat bread: A review of their effects on dough properties and bread quality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 81, p. 10-24, 2018.

TESTER, R. F.; MORRISON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches. II. Waxy rice starches. **Cereal Chemistry**, v. 67 n. 6 p. 558-563, 1990.

TRINTH, L. **Gas cells in bread dough**. 220 f. Tese (Doutorado em Filosofia), Escola de Engenharia Química e Ciência Analítica, Universidade de Manchester, Manchester, 2013.

VAN, S. B.; PAREYT, B.; BRIJS, K.; DELCOUR, J. A. Impact of mixing time and sodium stearoyl lactylate on gluten polymerization during baking of wheat flour dough. **Food chemistry**, v. 141 n. 4, p. 4179-4185, 2013.

WANG, S.; MELNYK, J. P.; TSAO, R.; MARCONE, M. F. How natural dietary antioxidants in fruits, vegetables and legumes promote vascular health. **Food Research International**, v. 44, p.14-22, 2011.

WANG, X.; PEI, D.; TENG, Y.; LIANG, J. Effects of enzymes to improve sensory quality of frozen dough bread and analysis on its mechanism. **Journal of food science and technology**, v. 55, n. 1, p. 389-398, 2018.

WEI, C.; FU, J.; LIU, D.; ZHANG, Z.; LIU, G. Functional properties of chicken fat-based shortenings: Effects of based oils and emulsifiers. **International journal of food properties**, v. 20, n. sup3, p. S3277-S3288, 2017.

WROLSTAD, R. E. **Food carbohydrate chemistry Wiley-Blackwell**, United Kingdom 2012.  
YONG Y. P.; EMERY A. N.; FRYER P. J. Heat transfer to a model dough product during mixed regime thermal processing. **Food Bioprod Process**, v. 80, n. 3, p.183–92, 2002.

YU, Y.; WANG, L.; QIAN, H.; ZHANG, H.; QI, Q; **Contribution of spontaneously fermented sourdoughs with pear and navel orange for the bread-making**. November, 2017.

YURDUGUL, S.; PANCEVSKA, N. A.; YILDIZ, G. G.; BOZOGLU, F. The influence of a cellulase bearing enzyme complex from anaerobic fungi on bread staling. **Rom Agric Res**, v. 29, p. 2067-5720, 2012.

YUYAMA, L. K. O.; MAEDA, R. N.; PANTOJA, L.; AGUIAR, J. P. L.; MARINHO, H. A. Processamento e Avaliação da Vida de Prateleira do Tucumã (*Astrocaryum aculeatum* Meyer) desidratado e pulverizado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28, n. 2, p. 408-412, 2008.

ZAMBELLI, R. A. **Desenvolvimento de massas congeladas de pães tipo forma contendo ingredientes funcionais**. 2014.

ZAMBELLI, R. A. **Desenvolvimento de uma Metodologia de Glazeamento para Massa Congelada Tipo Forma**. 2015.

ZANETTI, B.; SCHMITZ, F.; APLEVICZ, K.; SCHEUER, P. M. **Apostila de Panificação I**. Ministério da Educação – Secretaria de Educação Profissional e Tecnológica. Instituto Federal

de Educação, Ciência e Tecnologia de Santa Catarina – Campus Florianópolis – Continente SC, 2009.

ZHANG, X. LI, R.; KANG, H.; LUO, D.; FAN, J.; ZHU, W.; TONG, Q. Effects of low molecular sugars on the retrogradation of tapioca starch gels during storage. **Plos one**, v. 12, n. 12, p. e0190180, 2017.

ZOBEL, H. F. Molecules to granules: a comprehensive starch review. **Starch/ Starke**, v. 40, n. 2, p. 44-50, 1988.