

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTAÇÃO, NUTRIÇÃO E SAÚDE

**Marina Rocha Komerowski**

**Efeito da incorporação de proteínas do soro do leite na qualidade de  
produtos de panificação como alternativa para celíacos**

Porto Alegre, 2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTAÇÃO, NUTRIÇÃO E SAÚDE

Marina Rocha Komerowski

Efeito da incorporação de proteínas do soro do leite na qualidade de produtos de panificação como alternativa para celíacos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde (PPGANS) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Porto Alegre, 2019

### CIP - Catalogação na Publicação

Komeroski, Marina Rocha  
Efeito da incorporação de proteínas do soro do  
leite na qualidade de produtos de panificação como  
alternativa para celíacos / Marina Rocha Komeroski.  
-- 2019.  
115 f.  
Orientadora: Viviani Ruffo de Oliveira.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de  
Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, Porto  
Alegre, BR-RS, 2019.

1. doença celíaca. 2. produtos de panificação. 3.  
proteínas lácteas. 4. qualidade tecnológica. 5.  
análise físico-química e sensorial. I. de Oliveira,  
Viviani Ruffo, orient. II. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTAÇÃO, NUTRIÇÃO E SAÚDE

Marina Rocha Komerowski

Efeito da incorporação de proteínas do soro do leite na qualidade de produtos de panificação como alternativa para celíacos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde (PPGANS) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup>. Roberta Cruz Silveira Thys – PPGCTA/UFRGS

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Simone Hickmann Flores – PPGCTA/UFRGS

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Martine Elisabeth Kienzle Hagen – PPGANS/UFRGS

---

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Viviani Ruffo de Oliveira

Porto Alegre, 2019

*"Uma das lições com as quais eu cresci foi a de sempre permanecer verdadeiro consigo mesmo e nunca deixar que as palavras de alguém distraiam você dos seus objetivos"*

*Michelle Obama*

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Valéria Rocha e Leandro Komerowski, pelo apoio, incentivo, compreensão e carinho em todos os momentos até aqui. Amo muito vocês! Obrigada por tudo!

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha orientadora, mãe e amiga Viviani Ruffo pela linda jornada até aqui. Vivi, faz sete anos do nosso encontro e, desde aquele semestre de 2012, eu agradeço a Deus por nossos caminhos terem se cruzado. Não poderia ter tido sorte maior do que trabalhar contigo por todo esse tempo. E isso tudo só foi possível pela tua generosidade em ensinar, em apontar a direção, em corrigir, em dar colo e em estar sempre disponível. Espero ser no futuro, a professora que tu tanto me inspiras. Minha admiração, minha gratidão e meu amor serão eternos.

Há um provérbio africano que diz “Se quiser ir rápido, vá sozinho. Se quiser ir longe, vá acompanhado”. Agradeço a todos aqueles que me ajudaram para que esse trabalho se concretizasse: Prof<sup>o</sup> Alessandro de Oliveira Rios, Prof<sup>o</sup> Tarso Ledur Kist, Raísa Vieira Homem, Stael Tomiello Tonial, Deise Farias, Fernanda Camboim Rockett, Helena de Oliveira Schmidt, Larissa Lira, Aline Joaquim, Divair Doneda e Sabrina Melo Evangelista.

Agradeço também:

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro concedido.

Ao Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde (PPGANS) pelo suporte acadêmico.

À todos os professores direta ou indiretamente envolvidos.

**Resumo:** A doença celíaca é uma doença autoimune que decorre do consumo de alguns cereais contendo glúten por pessoas geneticamente predispostas. Celíacos relatam que a oferta de alimentos sensorialmente adequados é restrita, principalmente os produtos de panificação, que são globalmente consumidos e, por isso, há uma necessidade crescente de se estudá-los adicionados de outros ingredientes, como as proteínas do soro do leite. Essas proteínas lácteas possuem importantes propriedades nutricionais e tecnológicas que podem ser exploradas. O objetivo desse trabalho foi investigar a influência da utilização das proteínas do soro do leite, assim como os seus tipos e suas respectivas quantidades em produtos de panificação e desenvolver formulações de pães sem glúten adicionadas de 10, 20 e 30% de proteína do soro do leite. Foi realizado um levantamento da literatura recente bem como testes de formulações. A adição de proteínas do soro do leite modificou as características físicas e melhorou a composição química dos pães, tornando-os não só mais proteicos e com maior quantidade de carboidratos e de lipídeos, mas também ricos em fibras e aminoácidos quando comparados com o pão de farinha de trigo. Além disso, todos os tratamentos avaliados obtiveram desempenho satisfatório na análise sensorial, realizada tanto por indivíduos não celíacos, como por celíacos. Autores que desenvolveram biscoitos e bolos trabalharam com maiores quantidades de proteína do soro do leite, diferente dos pesquisadores que elaboraram pães e macarrões, possivelmente devido à fragilidade dessas preparações. Ainda, a proteína do soro do leite do tipo concentrada foi a mais utilizada, provavelmente pela sua composição nutricional, custo e fácil acesso.

**Palavras-chave:** doença celíaca; pães; proteínas lácteas; qualidade tecnológica; análise físico-química; análise sensorial



**Abstract:** Celiac disease is an autoimmune disease that results from the consumption of some gluten-containing cereals by genetically predisposed people. Celiacs report that the supply of sensory-appropriate foods is restricted, especially bakery products, which are globally consumed, so there is a growing need to study them added with other ingredients, such as whey proteins. These dairy proteins have important nutritional and technological properties that can be exploited. The objective of this work was to investigate the influence of the use of whey proteins, as well as their types and their quantities in bakery products and to develop formulations of gluten-free breads added with 10, 20 and 30% whey protein. A survey of recent literature as well as formulation tests were performed. The addition of whey proteins modified the physical characteristics and improved the chemical composition of the breads, making them not only more protein and higher in carbohydrates and lipids, but also rich in fiber and amino acids when compared to bread with wheat flour. In addition, all evaluated treatments performed satisfactorily in sensory analysis performed by both non-celiac and celiac individuals. Most authors who developed cakes worked with higher amounts of whey protein, unlike researchers who made bread and pasta, possibly due to the fragility of these preparations. Still, concentrated whey protein was the most used, probably due to its nutritional composition, cost and easy access.

**Keywords:** celiac disease; breads; milk proteins; technological quality; Chemical physical analysis; sensory analysis

## LISTA DE FIGURAS

### **Artigo 1 - Efeito da incorporação de proteínas do soro do leite nas características de qualidade de produtos de panificação**

Figura 1 - Fluxograma da seleção dos artigos analisados na presente revisão..... 23

### **Artigo 2 - Desenvolvimento e avaliação da qualidade nutricional, tecnológica e sensorial de pães sem glúten adicionados de proteína do soro do leite**

Figura 1 - Fluxograma da elaboração dos pães, adaptado de César et al. (2006)..... 48

Figura 2 - Imagens dos poros do miolo dos pães elaborados em escala de cinza (a) e binárias (b)..... 58

Figura 3 - Índice de aceitabilidade das formulações de pães avaliadas por não celíacos (a) e celíacos (b)..... 65

## LISTA DE TABELAS

### **Artigo 1 - Efeito da incorporação de proteínas do soro do leite nas características de qualidade de produtos de panificação**

Tabela 1 – Características dos estudos incluídos.....	26
---	----

### **Artigo 2 - Desenvolvimento e avaliação da qualidade nutricional, tecnológica e sensorial de pães sem glúten adicionados de proteína do soro do leite**

Tabela 1 – Formulação de pães com diferentes quantidades de proteína do soro do leite.....	48
--	----

Tabela 2 – Parâmetros físicos pré e pós forneamento dos pães elaborados.....	56
--	----

Tabela 3 – Valores de luminosidade, a* e b* para os pães elaborados.....	57
--	----

Tabela 4 – Parâmetros de textura dos tratamentos avaliados.....	59
---	----

Tabela 5 – Composição centesimal e valor calórico dos pães elaborados.....	60
--	----

Tabela 6 – Aminograma dos pães elaborados.....	61
--	----

Tabela 7 – Teores de fibras totais, insolúveis e totais e medida de pH dos pães elaborados.....	62
---	----

Tabela 8 – Aceitabilidade e de intenção de compra dos pães elaborados realizada por não celíacos.....	64
---	----

Tabela 9 – Aceitabilidade e de intenção de compra dos pães elaborados realizada por celíacos.....	65
---	----

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

WF - <i>Wheat flour</i>	ANVISA - Agência nacional de Vigilância Sanitária
CCPF - <i>Cassava, Chickpea flour</i>	ABIP - Associação Brasileira de Panificação e Confeitaria
WP10 - <i>10% whey protein</i>	DIC - Delineamento Inteiramente Casualizado
WP20 - <i>20% whey protein</i>	DBC - Delineamento de Blocos ao Acaso
WP30 - <i>30% whey protein</i>	AAs - Aminoácidos
DC - Doença celíaca	HCl - Ácido clorídrico
RDC - Regime Diferenciado de Contratações	NDA - 2,3-naftaleno dicarboxaldeído
WGO - <i>World Gastroenterology Organisation</i>	LIF - Fluorescência Induzida por Laser
CMC - Carboximetilcelulose	HPLC - <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
EUA - Estados Unidos da América	TFA - Ácido trifluoroacético
WPC - <i>Whey Protein Concentrate</i>	IA - Índice de Aceitabilidade
WPI - <i>Whey Protein Isolated</i>	CAAE - Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
WPH - <i>Whey Protein Hidrolisated</i>	PPGANS - Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde
PROSPERO - Registro Internacional Prospectivo de Revisões Sistemáticas	CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
PRISMA - <i>Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses</i>	UFRGS - Universidade Federal do Rio Grande do Sul
FSTA - <i>Food Science and Technology Abstracts</i>	FAMED - Faculdade de Medicina
GMP - Glicomacropéptido	
ACELBRA - Associação de Celíacos do Brasil	

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	15
2.1 OBJETIVO GERAL.....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	16
<b>Artigo 1 - Efeito da incorporação de proteínas do soro do leite nas características de qualidade de produtos de panificação</b> .....	21
<b>Artigo 2 - Desenvolvimento e avaliação da qualidade nutricional, tecnológica e sensorial de pães sem glúten adicionados de proteína do soro do leite</b> .....	46
<b>Artigo 2 - Development and evaluation of the nutritional, technological, and sensorial quality of gluten-free breads added with whey protein</b> (English version submitted to LWT - Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie).....	71
<b>4 CONCLUSÃO</b> .....	103
<b>5 PERSPECTIVAS FUTURAS</b> .....	103
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	105

## 1 INTRODUÇÃO

A Doença Celíaca (DC) é uma doença autoimune que resulta da interação entre consumo de glúten e fatores genéticos, imunológicos e ambientais. As moléculas de glúten são constituídas majoritariamente por proteínas insolúveis em água e derivam de cereais. Atualmente, é bem estabelecido que a DC pode se apresentar em qualquer idade, com manifestações clínicas altamente variáveis, podendo ser sintomáticas ou não (BAPTISTA, 2017). De acordo com Rocha et al. (2016) a DC pode se apresentar nas formas clínicas clássicas, não clássica e assintomática.

A forma clássica surge principalmente nos primeiros anos de vida e apresenta sintomas como diarreia crônica, constipação, anemia, anorexia, vômitos, emagrecimento, comprometimento do estado nutricional, irritabilidade, inapetência, déficit de crescimento, dor, distensão abdominal e anemia ferropriva (GREEN et al., 2015). A forma não clássica se caracteriza por um quadro mono ou oligossintomático, na qual os sintomas digestivos estão ausentes ou, quando presentes, ocupam um segundo plano. Essa forma se apresenta mais tardiamente na infância e os indivíduos apresentam manifestações isoladas, como baixa estatura, artrite, constipação intestinal, perda de peso sem causa aparente, hipoplasia do esmalte dentário, osteoporose, irregularidade do ciclo menstrual e esterilidade (SILVA & FURLANETTO, 2010).

A DC assintomática é caracterizada por alterações sorológicas e histológicas da mucosa do intestino delgado compatíveis com a doença, mas sem sinais clínicos. O tratamento para todas as formas tem como base a dieta isenta de glúten que, se seguida corretamente, recupera a função e o aspecto da mucosa intestinal (PEREIRA et al., 2017). Caso não tratada, podem surgir complicações como câncer do trato intestinal, anemia, osteoporose e esterilidade (BRASIL, 2015).

A introdução de uma dieta sem glúten pode conduzir a uma melhoria significativa nos sintomas, nos parâmetros bioquímicos anormais e na qualidade de vida (WGO, 2016). Deve-se, portanto, excluir da dieta os cereais como: trigo, centeio, cevada, aveia, assim como os derivados que contém glúten (LINDFORS et al., 2011).

No entanto, a dificuldade dos portadores da DC em aderir completamente à dietoterapia é percebida, principalmente, pelo fato de que o glúten está presente em alimentos usualmente consumidos, como massas, bolos, biscoitos, pizzas e pães (BASCUNÁN et al., 2016). Todavia, no caso dos pacientes celíacos, esses alimentos precisam ser cuidadosamente

elaborados com outros ingredientes, mas ainda assim apresentar as características que o glúten proporciona, como a capacidade de formar uma massa capaz de aprisionar ar durante o processo de fermentação (FENNEMA, 2010), gerar consistência, viscosidade e extensibilidade da massa (ARAÚJO et al., 2016).

A substituição das frações proteicas do glúten representa um desafio tecnológico já que elas são responsáveis pela maioria das características consideradas de maior importância em produtos de panificação (BASCUÑÁN et al., 2016). Para atender tais características, podem ser utilizados amidos, hidrocolóides e produtos lácteos, que melhoram a estrutura da massa, aumentando a aceitabilidade e a vida de útil (ARENDETT & BELLO, 2008).

Neste sentido, associações entre hortaliças, leguminosas, cereais e proteínas lácteas, como as do soro do leite, precisam ser avaliadas em produtos de panificação, tanto para benefícios nutricionais, como o aumento do teor de fibras e relação de eficiência proteica, bem como benefícios funcionais, incluindo sabor e textura (GANI et al., 2015).

Visto que os produtos de panificação têm sido muito utilizados como fonte nutricional, especialmente por ser uma das principais fontes calóricas em muitos países e ser amplamente consumido por indivíduos de diversas classes sociais (ROSELL, 2011), este trabalho se propõe a revisar estudos na literatura sobre o uso de proteína do soro do leite em produtos de panificação, bem como desenvolver e avaliar química, física e sensorialmente formulações de pães isentas de glúten adicionadas dessas proteínas como alternativa para celíacos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Analisar o efeito da incorporação de proteínas do soro do leite na qualidade de produtos de panificação.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar através de uma revisão a influência da utilização das proteínas do soro do leite, assim como os seus tipos e suas respectivas quantidades em produtos de panificação;
- Produzir pães sem glúten com adição de diferentes concentrações de proteína do soro do leite isolada e hidrolisada;
- Avaliar os parâmetros físicos dos pães elaborados, tais como: peso, altura, perda de peso, rendimento, volume aparente e específico, cor e textura do miolo e da crosta;
- Analisar as características químicas, entre elas, composição centesimal, valor calórico, pH, fibras totais, solúveis e insolúveis e os aminoácidos dos pães;
- Verificar a aceitabilidade, intenção de compra e índice de aceitabilidade das amostras desenvolvidas com avaliadores não celíacos e celíacos.



### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 DOENÇA CELÍACA

A doença celíaca (DC) é uma enteropatia imunomediada induzida pelo glúten. Isso ocorre em indivíduos predispostos geneticamente devido ao consumo de cereais, como o trigo, a cevada e o centeio (LEONARD et al., 2017). A apresentação clínica da doença é muito variável e, tanto a doença como seus sintomas, pode aparecer em qualquer fase da vida (WGO, 2016). Embora haja muitos casos não diagnosticados, atualmente, considera-se que a doença celíaca é a intolerância alimentar mais frequente no mundo (ARAÚJO et al., 2010).

A prevalência de doença celíaca é 1% em nível mundial, mas foram demonstradas grandes variações entre os países (WGO, 2016; LEONARD et al., 2017). Trabalhos recentes revelaram que o número de casos novos de DC está aumentando nos Estados Unidos e em países da Europa (ELLI et al., 2015). Uma das razões para explicar esse aumento é o reconhecimento da ampla variabilidade clínica do transtorno, que vai desde pacientes com apresentações clínicas clássicas até pacientes com manifestações clínicas consideradas atípicas ou não clássicas, com um, vários ou nenhum sintoma predominante (BAPTISTA, 2017).

No Brasil, a DC é subdiagnosticada pela falta de informação sobre a doença e dificuldade de acesso aos meios de diagnósticos, o que reduz a possibilidade de tratamento e a melhora clínica. Estima-se que existam 300 mil portadores da doença, com maior incidência nas regiões Sul e Sudeste (BRASIL, 2015).

A DC não tratada aumenta o risco para alguns tipos de neoplasia, como linfomas não-Hodgkin e adenocarcinomas do intestino delgado (ELFSTRÖM et al., 2012; TIO et al., 2012). Muitas vezes, o diagnóstico da DC depende de alto grau de suspeita clínica e baseia-se na dosagem de anticorpos séricos e biópsia duodenal, que devem ser realizados durante dieta com glúten (LUDVIGSSON et al., 2014).

De acordo com Baptista (2017), pacientes com sintomas compatíveis ou pacientes assintomáticos podem ser investigados, desde de que pertençam a grupos de maior risco para o desenvolvimento da doença. O tratamento em longo prazo reduz o risco de complicações malignas e não malignas. Ainda, a dietoterapia para DC parece ser bem eficiente e consiste na introdução de uma dieta isenta de glúten de forma permanente, conduzindo a uma melhoria

significativa nos sintomas, nos parâmetros bioquímicos anormais e na qualidade de vida deteriorada (WGO, 2016).

### 3.2 PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO

Produtos de panificação são principalmente consumidos na forma de lanches ou acompanhando refeições. Justamente pelo fácil acesso, praticidade de consumo e sabor, esses alimentos são muito apreciados pela maioria das pessoas de todas as faixas etárias e classes sociais. Mas com o passar dos anos, notam-se algumas mudanças nas preferências do consumidor, que têm sido atribuídas ao desejo por uma alimentação mais saudável, aumentando a demanda por alimentos com baixo teor de carboidratos, grãos integrais e produtos sem glúten (ZHOU et al., 2014).

Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Panificação e Confeitaria (ABIP), a origem dos produtos de panificação está intimamente relacionada à história da civilização. Quando o homem passou a se dedicar à agricultura, descobriu vários tipos de grãos que foram se modificando ao longo do tempo. Ao utilizar os chamados “grãos selvagens” para a alimentação, começou-se o desenvolvimento de produtos de panificação. Com a descoberta, sem querer, da fermentação do trigo originou-se o pão (ABIP, 2015).

#### 3.2.1 Pães

Os padrões de consumo de pães diferem globalmente, mas a maioria dos países tem uma média de consumo de 50 kg de pão por pessoa por ano. O pão fatiado é bastante comum nos EUA, mas os consumidores da Europa preferem pães crocantes como a baguete francesa. Já em países asiáticos, o pão cozido no vapor é o mais popular. Na Índia, o pão sírio chamado *chapattia* é consumido nas refeições principais, enquanto que o pão sírio no México é feito de milho e é chamado de *tortilla*. Na Finlândia e Alemanha, o pão mais comum é o de centeio. Na Venezuela, as *arepas* são consideradas uma parte importante da dieta, assim como o pão de queijo é no Brasil (ROSELL & GARZON, 2015).

De acordo com a Resolução – RDC n° 90 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), pão é o produto obtido pela cocção, em condições técnicas adequadas, de massa

tradicionalmente preparada com farinha de trigo, fermento biológico, água e sal, podendo conter outras substâncias alimentícias aprovadas (BRASIL, 2000).

### 3.2.2 Biscoitos

Biscoitos do tipo *cookies* e do tipo *crackers* são habitualmente consumidos por pessoas de todas as idades e por diferentes segmentos da população. A longa vida útil desses produtos permite a produção em larga escala e sua disseminação global (DIAS et al., 2015). Esses biscoitos são geralmente de fácil preparação e com grande potencial para a adição de ingredientes funcionais (ORLOSKI et al., 2016).

*Cookies* são definidos como produtos assados à base de cereais, que possuem altos níveis de açúcar e de gordura, ingredientes que conferem elevado valor energético e baixo valor nutritivo e proteico (BRAVO-NUÑEZ et al., 2018). Já os *crackers* são biscoitos à base de farinha de trigo, fritos ou assados, compostos basicamente por carboidratos e lipídeos, além de um alto teor de sódio (ANSORENA et al., 2013).

### 3.2.3 Macarrões

Os macarrões são muito populares e consumidos em todo o mundo devido à longa vida útil e à facilidade de preparo (SOBOTA et al., 2015). Do ponto de vista da formulação, esse produto de panificação é o mais simples: Consiste em uma mistura de farinha ou sêmola de trigo e água, podendo ou não conter ovos. No entanto, para a obtenção de uma massa com um desempenho de cozimento adequado, é necessária uma forte rede de glúten, a fim de conter os grânulos de amido (GÓMEZ & SCIARINI, 2015).

O fator primário na avaliação da qualidade dos macarrões é a textura, que também influencia diretamente a aceitabilidade do consumidor. Sendo assim, para os celíacos, a melhoria da qualidade dos macarrões está relacionada com a escolha dos ingredientes e com diferentes métodos de processamento (GAO et al., 2017).

### 3.2.4 Bolos

Os bolos estão entre os produtos de panificação mais consumidos, atrás apenas dos pães. Tradicionalmente, para a elaboração de um bolo utiliza-se farinha, gordura, ovos, açúcar, fermento e um líquido em proporções variadas (GOHARA et al., 2014).

Observa-se a crescente preocupação dos consumidores com o corpo e a saúde, aumentando a busca não só produtos sensorialmente agradáveis, mas também nutricionalmente saudáveis. Assim, surge a necessidade e o interesse da indústria em inserir e/ou substituir determinados ingredientes, objetivando agregar valor nutricional em produtos alimentícios processados (VOORPOSTEL et al., 2014).

### 3.3 GLÚTEN

No caso dos pacientes celíacos, os produtos de panificação precisam ser elaborados com outros ingredientes, mas ainda assim apresentar as características que o glúten proporciona, como a capacidade de formar uma massa capaz de aprisionar ar durante o processo de fermentação, por conta da presença de proteínas (FENNEMA, 2010).

A gliadina e a glutenina são as frações proteicas do trigo que, quando hidratadas e sob energia mecânica, formam uma rede tridimensional, viscoelástica, insolúvel em água, aderente, extremamente importante por influenciar a qualidade dos produtos de panificação. Enquanto as gliadinas são proteínas de cadeia simples, extremamente pegajosas, gomosas, responsáveis pela consistência e viscosidade da massa; as gluteninas têm cadeias ramificadas, elásticas, mas não coesivas, e respondem pela extensibilidade da massa (ARAÚJO et al., 2016).

A substituição dessas proteínas representa um desafio tecnológico já que elas são responsáveis pela maioria das características consideradas de maior importância em produtos de panificação (KITTSUBAN et al., 2014). Para atender tais características, podem ser utilizados amidos, produtos lácteos, hidrocolóides e outras proteínas que melhoram a estrutura da massa, aumentando a aceitabilidade e a vida útil (ARENDRT & BELLO, 2008).

### 3.4 HIDROCOLOIDES

Os hidrocoloides são macromoléculas que podem exercer uma grande variedade de funções para melhorar a qualidade final de um produto, apresentando um potencial a ser explorado (AMARAL & SOUTHGATE, 2018).

A fim de aprimorar as propriedades sensoriais, a goma xantana e a carboximetilcelulose (CMC), por exemplo, têm sido utilizadas para mimetizar as funções do glúten, através da viscosidade mais alta proporcionada (VAN RIEMSDIJK et al., 2011). Esses hidrocoloides também criam uma rede de células suficientemente forte para reter o dióxido de carbono formado durante a fermentação, melhoram a coesão da massa, aprimorando a estrutura do miolo, diminuindo sua firmeza e aumentando o volume do pão (ONYANGO et al., 2009).

Além desses agentes de ligação, há um crescente interesse em produtos sem glúten envolvendo principalmente a incorporação de amidos e diferentes fontes de proteínas animais e vegetais, com o objetivo de se obter uma melhor estrutura da massa, aceitabilidade e prazo de validade (MIÑARRO et al., 2012).

### 3.5 PRODUTOS SEM GLÚTEN

Alternativas livres de glúten para produtos de panificação são desafiadoras, principalmente pela dificuldade de se obter texturas semelhantes (YAZAR et al., 2017). A indicação de cereais que são naturalmente sem glúten, como: o arroz e o milho, para substituir farinha de trigo apresentam frequentemente, menor qualidade sensorial e nutricional (O'SHEA et al., 2014), com baixos teores de proteínas, minerais e fibras.

Apesar de o número de produtos de panificação sem glúten disponíveis em lojas especializadas e supermercados estar em ascensão (NASCIMENTO et al., 2014), a melhora da qualidade desses alimentos pode ter um efeito positivo não só na aceitação, mas também na nutrição do consumidor. Para isso, no entanto, é necessária uma pesquisa sobre ingredientes e formulações diferentes (STANTIAL & SERVENTI, 2017).

### 3.5.1 Farinha de grão de bico

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é uma leguminosa rica em proteínas, a qual fornece um perfil de aminoácidos essenciais bem equilibrado quando consumido com cereais e que pode ser utilizada na formulação de produtos de panificação, laticínios e alimentos infantis (ARRUDA et al., 2016). Os benefícios da utilização da farinha de grão de bico levaram alguns autores a sugerir seu uso como uma alternativa às farinhas comuns para a preparação de produtos sem glúten.

Ainda, apresenta um perfil sensorial muito satisfatório, além de boas características de cozimento e maciez (MIÑARRO et al., 2012). Sreerama et al. (2012) sugerem que o uso dessa farinha aumenta a capacidade de absorção e retenção de óleo, melhora a ligação da estrutura da massa e reduz perdas de umidade em formulações.

### 3.5.2 Fécula de mandioca

Originária da América do Sul, a mandioca (*Manihot esculenta* Crantz) se caracteriza como uma das principais fontes energéticas do mundo. Por ser de fácil adaptação, é um alimento cultivado em quase todas as regiões brasileiras e é bastante empregado em preparações culinárias devido ao seu teor de carboidratos, principalmente amido (SOARES JÚNIOR et al., 2006).

A fécula é obtida das raízes após diferentes etapas que incluem descascamento, trituração, desintegração, peneiramento e secagem (VIEIRA et al., 2010). De acordo com Nunes et al. (2009), mesmo após esses processos, as características nutricionais da mandioca são conservadas, pois se trata de um produto em pó, portanto com baixa atividade de água. Além disso, contribui para a crocância e coloração clara, com grandes perspectivas de ser usada na panificação (VIEIRA et al., 2010).

## 3.6 PROTEÍNAS DO SORO DO LEITE

O soro do leite é composto por água, lactose, proteínas e minerais. Sua composição depende de vários fatores, como o tipo de leite utilizado na produção do queijo ou caseína, os processos tecnológicos empregados e também a espécie animal (OLIVEIRA, 2009). As proteínas do soro fazem parte da porção aquosa que se forma durante a coagulação da caseína

e possuem um dos mais altos índices de valor biológico em comparação a outras fontes proteicas (RAMOS et al., 2016). Durante seu processamento, a gordura e a lactose são filtradas e separadas, a fim de se obter um maior grau de pureza de proteínas, que varia de 35 a 95% sendo classificadas em concentrada, isolada e hidrolisada (BACHI, 2013).

A proteína do soro do leite é comercializada como suplemento alimentar e, por isso, alguns parâmetros de sua composição são específicos segundo a legislação vigente, como por exemplo, 50% do valor energético total do produto deve ser oriundo das proteínas, necessita apresentar um índice de aminoácidos corrigido de digestibilidade acima de 0,9 e precisar conter pelo menos 10g de proteína (BRASIL, 2010). Biologicamente, os benefícios das proteínas do soro de leite incluem um aumento de ações fisiológicas, como melhora na capacidade imunomoduladora, atividade antimicrobiana, aumento da massa muscular, dentre outros (VASCONCELOS et al., 2018).

Industrialmente, observam-se importantes propriedades tecnológicas nas proteínas do soro do leite devido às suas funcionalidades, que influenciam a solubilidade, viscosidade, absorção e retenção de água (MARQUES et al., 2016), podendo ser utilizadas para usar para elaborar novos produtos com características diferenciadas e aumentar valor nutricional (URISTA et al., 2011).

Dessa forma, a adição de proteínas do soro do leite em produtos alimentícios parece ser uma alternativa para tornar o consumo destas proteínas mais prático e sensorialmente mais agradável, considerando seu efeito positivo nas características químicas, físicas e sensoriais de produtos de panificação no geral (BALDISSERA et al., 2011; CHAVAN et al., 2015).

## Artigo 1 –

### **Efeito da incorporação de proteínas do soro do leite nas características de qualidade de produtos de panificação: Uma revisão**

Marina Rocha Komerovski<sup>1</sup>, Viviani Ruffo de Oliveira<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. E-mail: marina\_rochak@hotmail.com

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde, Departamento de Nutrição, Faculdade de Medicina Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Rua Ramiro Barcelos 2400, CEP: 90035-003, Porto Alegre – RS, Brasil. E-mail: vivianiruffo@hotmail.com

**Resumo:** Além de serem uma importante fonte de nutrientes, produtos de panificação são globalmente consumidos e, por isso, há uma necessidade crescente de estudá-los adicionados de outros ingredientes, como as proteínas do soro do leite. Essas proteínas lácteas têm a finalidade de melhorar a qualidade desses alimentos, já que possuem importantes propriedades nutricionais e tecnológicas que podem ser exploradas. O objetivo desse trabalho foi fazer uma revisão na literatura recente sobre a influência da utilização das proteínas do soro do leite, assim como os seus tipos e suas respectivas quantidades em produtos de panificação. Percebe-se que mais da metade dos autores (n=17) utilizaram a proteína do soro do leite do tipo concentrada, provavelmente pela sua composição nutricional, custo e fácil acesso. As formulações de bolos foram aquelas com maiores quantidades de proteína do soro do leite (até 100%), diferente dos pesquisadores que elaboraram pães e macarrões, possivelmente devido à fragilidade dessas preparações. A adição de proteínas do soro do leite modificou as características físicas e melhorou a composição química dos pães. Porém, em concentrações mais elevadas ( $\geq 30\%$ ), acarretaram em prejuízos nas características de textura, principalmente em relação à dureza e à diminuição da luminosidade.

**Palavras-chave:** Proteína do soro do leite; Produtos de panificação; Análise tecnológica; Qualidade de panificação.

**Abstract:** In addition to being an important source of nutrients, bakery products are consumed globally and so there is a growing need to study them in addition to other ingredients such as whey proteins. These dairy proteins can be used to improve the quality of these foods, as they have important nutritional and technological properties that can be exploited. The aim of this work was to review the recent literature on the influence of whey protein utilization, as well as their types and quantities in bakery products. More than half of the authors (n=17) used concentrated whey protein, probably due to its nutritional composition, cost and easy access. The cake formulations were those with the highest amounts of whey protein (up to 100%), unlike the researchers who made bread and pasta, possibly due to the fragility of these preparations. The addition of whey proteins modified the physical characteristics and improved the chemical composition of the breads. However, at



higher concentrations ( $\geq 30\%$ ), they caused damage to the texture characteristics, especially in relation to the hardness and the brightness decrease.

**Keyword:** Whey protein; Bakery products; Technology analysis; Quality of bakery.

## INTRODUÇÃO

Os produtos de panificação são principalmente produtos à base de cereais fermentados submetidos a altas temperaturas (ROSELL & GARZON, 2015). Esses produtos são uma importante fonte de nutrientes e amplamente consumidos (GANI et al., 2015).

De acordo com dados da Associação Brasileira da Indústria de Panificação e Confeitaria (ABIP), o consumidor tem se tornado mais exigente em relação à qualidade dos produtos, optando por escolhas mais saudáveis, com ingredientes naturais aliados à alta tecnologia. Nesse sentido, o desenvolvimento de alimentos enriquecidos com proteínas tem um grande potencial para ajudar a satisfazer as necessidades nutricionais da população, visto o déficit proteico que se encontra em alguns lugares do mundo. No entanto, tornar atraente esses produtos alimentícios é uma tarefa desafiadora (SONG et al., 2018).

Segundo Kittisuban et al. (2014), os produtos lácteos são alguns dos ingredientes mais importantes em qualquer formulação sem glúten, sendo amplamente utilizados para funcionalidade, valor nutricional e facilidade de produção em pães. O soro do leite é o líquido remanescente da precipitação e remoção da coalhada durante a fabricação do queijo (RAMOS et al., 2016), e suas proteínas podem ser interessantes na fabricação de produtos de panificação, produtos lácteos e fórmulas infantis porque possuem propriedades tecnológicas favoráveis, como fácil solubilidade, emulsificação e ação antialérgica (MARQUES et al., 2016).

As proteínas do soro do leite correspondem a 20% de todas as proteínas do leite e possuem propriedades nutricionais e biológicas importantes (MADUREIRA et al., 2010; MARQUES et al., 2016; SRIKANLAYA et al., 2018). Sua utilização em produtos de panificação favorece aspectos físicos, como a emulsão e a capacidade de estabilização, além de melhorar características sensoriais (SOARES et al., 2017).

Anos atrás, o soro do leite era considerado um efluente poluidor da indústria de laticínios, sendo seu alto volume de produção e conteúdo orgânico comumente descartado sem tratamento no meio ambiente. Devido à legislação, à evolução tecnológica e ao potencial das proteínas do soro do leite, esse paradigma foi alterado (RAMOS et al., 2016).

O soro de leite pode ser obtido na indústria por diferentes processos, resultando nos seguintes produtos, de acordo com Sinha et al. (2007):

O concentrado de proteínas de soro do leite ou *Whey Protein Concentrate* (WPC), que é o produto obtido através da remoção dos constituintes não proteicos de soro de modo que o produto final contenha teor de proteína de até 80%; O isolado de proteínas do soro do leite, ou *Whey Protein Isolate* (WPI), que passa por um processo de filtração, onde a lactose e as gorduras do leite são removidas, o que gera um maior grau de pureza, com conteúdo final de proteínas entre 80 a 95%; e a proteína de soro hidrolisada, *Whey Protein Hydrolysed* (WPH), que é resultado da hidrólise das moléculas de proteínas do soro, fabricado a partir do WPC ou WPI, formando segmentos proteicos menores, tais como aminoácidos e peptídeos de baixo peso molecular, o que o torna um produto de mais fácil digestão e absorção.

Dessa forma, a adição de proteínas do soro do leite em produtos alimentícios parece ser uma alternativa para tornar o consumo destas proteínas mais prático e sensorialmente mais agradável, considerando seu efeito positivo nas características químicas, físicas e sensoriais de produtos de panificação no geral (CHAVAN et al., 2015). Posto isso, este trabalho se propõe a fazer uma revisão da literatura sobre a influência da qualidade das proteínas do soro do leite, assim como os seus tipos e suas respectivas quantidades em produtos de panificação.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Essa revisão foi relatada seguindo a recomendação PRISMA, descrita por Aguiar et al. (2018). No campo clínico dos estudos em saúde existe o Registro Prospectivo de Revisões Sistemáticas (PROSPERO), mas esse não se aplica a revisões sistemáticas em ciência de alimentos. Portanto, não há protocolo de revisão registrado.

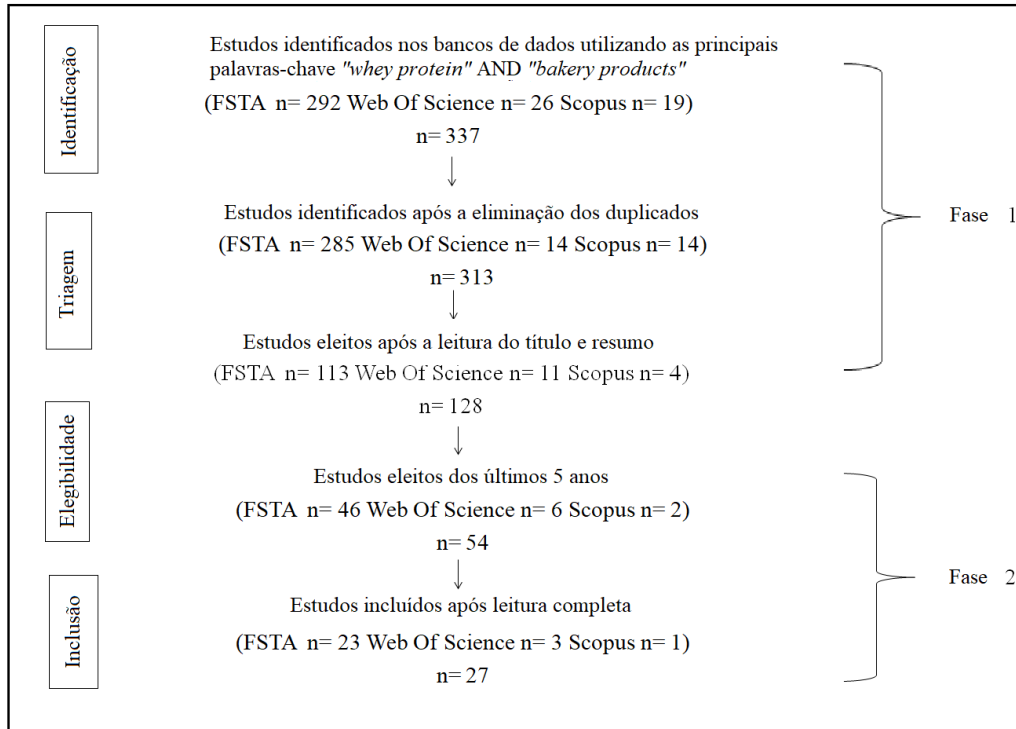
Este estudo incluiu artigos oriundos de revistas científicas que avaliaram o uso de proteína do soro do leite na elaboração de produtos de panificação dos últimos cinco anos, nos idiomas inglês, português e espanhol. Foram incluídos estudos experimentais que avaliaram química, física e/ou sensorialmente formulações adicionadas de proteína do soro e qualquer tipo de análise descritiva sobre o tema.

As seguintes medidas foram aplicadas como critério de exclusão: 1) patentes, citações, cartas, resumos de conferências, relatos de casos; 2) estudos que utilizaram a proteína do soro do leite para fins clínicos ou esportivos; 3) estudos que utilizaram a proteína do soro do leite

para a produção de filmes biodegradáveis ou preparações de outros alimentos que não produtos de panificação; 4) estudos que utilizaram a proteína do soro do leite como ingrediente, mas esse não foi avaliado sob nenhum aspecto; 5) estudos que avaliaram a proteína do soro do leite juntamente com outros ingredientes com característica funcional/tecnológica, mas sem a possibilidade de analisar seu desempenho particular nas preparações elaboradas.

Foram desenvolvidas estratégias detalhadas de busca individual para cada uma das seguintes bases de dados bibliográficas: *Food Science and Technology Abstracts* (FSTA), *Scopus* e *Web of Science*. Combinações apropriadas de palavras foram selecionadas e adaptadas para pesquisa em cada banco de dados. Todas as referências foram gerenciadas pelo software Mendeley desktop versão 1.17.11 onde os artigos duplicados foram removidos.

A seleção dos estudos foi concluída em 2 fases (Figura 1). Na fase 1, dois pesquisadores revisaram independentemente os títulos e resumos de todos os artigos identificados nos bancos de dados. Artigos que não atenderam aos critérios de inclusão foram descartados. Na fase 2, os mesmos revisores aplicaram os critérios de inclusão ao texto completo dos artigos. A lista de referência dos estudos selecionados foi avaliada criticamente pelos examinadores. Qualquer discordância na primeira ou segunda fase foi resolvida por discussão até que um acordo entre os revisores fosse alcançado.



**Figura 1 – Fluxograma da seleção dos artigos analisados na presente revisão**

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme os resultados da tabela 1, do total de artigos eleitos (n=27), avaliou-se que mais da metade dos artigos (n=17) utilizaram exclusivamente a proteína do soro do leite do tipo concentrada em seus estudos, independente da preparação. Dois autores testaram dois tipos de proteína do soro do leite em uma mesma preparação e, ainda, outros dois pesquisadores optaram por trabalhar com proteína do soro do leite isolada associada à hidrolisada.

Dentre os alimentos elaborados, pães (n=8) e bolos (n=8) foram as preparações predominantes, seguidas de biscoitos (n=7) e macarrões (n=4). Nesta última categoria, todas as preparações foram produzidas sem glúten. Em relação aos pães, metade dos autores (n=4) também optou por trabalhar com outros ingredientes livres de glúten. Em relação aos biscoitos e bolos, 3 dos pesquisadores de cada preparação fizeram o mesmo.

As maiores quantidades de proteína do soro do leite utilizadas foram para preparações de bolos (até 100%) e biscoitos (até 54%). Já para pães e macarrões, as concentrações utilizadas foram mais baixas (até 30%), possivelmente pela maior dificuldade tecnológica ao se preparar esses alimentos, visto que esses produtos são mais dependentes das propriedades

que o glúten proporciona.

De modo geral, as preparações elaboradas foram mais avaliadas física e sensorialmente. Dos autores que avaliaram bolos, pães e macarrões (n=20), apenas dois de cada (n=6) analisaram também quimicamente. Quanto aos biscoitos, percebeu-se uma tendência maior em avaliá-los também na parte química (n=4), o que foi positivamente interpretado.

**Tabela 1 - Características dos estudos incluídos**

<b>Autor/Ano</b>	<b>País</b>	<b>Objetivo do estudo</b>	<b>% de proteína do soro adicionada</b>	<b>Tipo de proteína do soro do leite</b>	<b>Presença de glúten</b>
<b>Pães</b>					
Madenci & Bilgili (2014)	Turquia	Analisar efeitos da proteína do soro concentrada e do soro do leite coalhado em pães com e sem fermento.	4; 8	Concentrada	Sim
Gani et al. (2015)	Índia	Investigar os efeitos das proteínas do soro do leite hidrolisadas pela papaína e sobre as propriedades reológicas, texturais e sensoriais dos pães.	5; 10; 15	Concentrada	Sim
Gonçalves et al. (2017)	Brasil	Determinar se o processo de panificação em pães com e sem fermento modificam a bioatividade da proteína do soro isolada e como ela pode alterar os parâmetros texturais dessas formulações.	5; 10	Isolada	Sim
Erben & Osella (2017)	Argentina	Avaliar o efeito da substituição de farinha de trigo por farinha de soja desengordurada, farinha de ervilha e concentrado proteico do soro do leite nas características reológicas da massa e na qualidade nutricional do pão.	5; 10; 15; 20	Concentrada	Sim
Sahagún & Gómez (2018a)	Espanha	Analisar a incorporação de uma alta porcentagem (30%) de várias proteínas (arroz, ervilha, clara de ovo e proteína do soro isolada) em pães sem glúten.	30	Isolada	Não

Song et al. (2018)	Dinamarca	Avaliar propriedades sensoriais e aceitabilidade em pães de centeio enriquecidos com proteína do soro do leite isolada, proteína do soro do leite hidrolisada e proteína de soja isolada.	4;7	Isolada Hidrolisada	Sim
Srikanlaya et al. (2018)	Singapura	Investigar o efeito da hidroxipropilmetilcelulose, da proteína do soro concentrada e da proteína de soja isolada em pães com farinha de arroz.	2; 4; 6	Concentrada	Não
Pico et al. (2019)	Espanha	Melhorar a qualidade da crosta de pães sem glúten pela adição de proteínas de arroz, ervilha, clara de ovo e soro de leite.	5; 10	Isolada	Não

---

#### Biscoitos

---

Sarabhai et al. (2014)	Índia	Estudar o efeito da proteína do soro concentrada e da proteína de soja isolada e a adição de emulsificantes sobre as características reológicas, sensoriais e texturais de biscoitos de farinha de arroz.	5; 7.5; 10	Concentrada	Não
Nammakuna et al. (2015)	Tailândia	Compreender a adequação dos complexos proteína-hidrocolóide (proteína do soro do leite isolada e carboximetilcelulose, goma xantana e hidroxilpropilmetilcelulose) como substituto da proteína de trigo em biscoitos de arroz.	2.5; 5; 10	Isolada	Não
Wani et al. (2015)	Turquia	Analisar características físico-químicas de <i>cookies</i> com diferentes níveis de incorporação de proteína do soro concentrada.	2; 4; 6	Concentrada	Sim
Fernández et al. (2016)	Venezuela	Avaliar biscoitos suplementados com três subprodutos proteicos obtidos a partir do soro de leite: soro doce, proteína do soro concentrada e proteína GMP isolada.	2.5; 5; 7.5	Concentrada Isolada	Sim
Marques et al. (2016)	Brasil	Desenvolver e caracterizar a adição de diferentes proporções de proteína do	25.9; 30; 40; 54.1	Concentrada	Sim

soro concentrada (para substituir farinha de trigo) e de margarina em biscoitos sem açúcar.

Tang & Liu (2017)	China	Comparar os efeitos da substituição parcial da farinha de trigo por proteína do soro de leite e proteína de soja (0-30%) nas propriedades reológicas da massa e qualidade de produção de <i>cookies</i> .	5; 10; 15; 20; 25; 30	Concentrada	Sim
Sahagún & Gómez (2018b)	Espanha	Analisar o efeito da substituição de farinha de trigo por diferentes tipos de proteínas (ervilha, batata, clara de ovo e soro de leite concentrado) em biscoitos sem glúten.	15; 30; 45	Concentrada	Não
<b>Macarrões</b>					
Dixit & Bhattacharya (2014)	Índia	Avaliar as características reológicas e sensoriais de diferentes níveis de aditivos (proteína do soro concentrada, goma xantana e sacarose) em macarrão de farinha de arroz.	2.5; 5; 7.5; 10	Concentrada	Não
Yadad et al. (2014)	Índia	Elaborar e avaliar macarrão preparado com farinha de painço e suplementado com farinha de centeio, proteína do soro concentrada e carboximetilcelulose.	12	Concentrada	Sim
Menon et al. (2016)	Índia	Desenvolver macarrão sem glúten de amido de batata doce e estudar o efeito da fortificação da proteína do soro concentrada e de diferentes amidos (banana, mandioca e feijão Mungo).	10; 20; 30	Concentrada	Não
Phongthai et al. (2017)	Tailândia	Desenvolver e analisar macarrão livre de glúten enriquecido com proteínas de múltiplas fontes (proteína do soro do leite concentrada, albumina de ovo, concentrado proteico de farelo de arroz e proteína de soja).	6; 9	Concentrada	Não

---

**Bolos**


---

Paraskevopoulou et al. (2015)	Grécia	Investigar o efeito da substituição parcial ou total de ovo pela proteína do soro do leite isolada combinada com emulsificantes (hidroxipropilmetilcelulose e estearoil-2-lactilato de sódio) sobre a qualidade de bolos.	14; 17; 20	Isolada	Sim
Wendin et al. (2016)	Dinamarca	Investigar como as características sensoriais e físicas de <i>muffins</i> mudam ao aumentar o teor de proteína (proteína do soro concentrada, farinha de amêndoas ou farinha de soja).	4.8; 11.4	Concentrada	Sim
Díaz-Ramírez et al. (2016)	México	Avaliar a substituição parcial e total da proteína de clara de ovo pela proteína do soro do leite isolada em pães de ló.	12.5; 25; 50; 100	Isolada	Sim
Herranz et al. (2016)	Espanha	Elaborar <i>muffins</i> com farinha de grão de bico adicionados de proteína do soro do leite concentrada, goma xantana e inulina a fim de avaliar substituições para a farinha de trigo.	5; 10; 15	Concentrada	Não
Jyotsna et al. (2016)	Índia	Desenvolver <i>muffins</i> sem glúten a partir da farinha de painço e proteína do soro do leite concentrada.	5; 10; 15	Concentrada	Não
Soares et al. (2017)	Brasil	Elaborar bolos sem adição de açúcar, utilizando a proteína do soro do leite como substituto do trigo, bem como avaliar suas características físicas, químicas, sensoriais e microbiológicas.	15; 20; 30; 40; 44	Concentrada	Sim
Camargo et al. (2018)	Brasil	Elaborar formulações de bolo contendo diferentes porcentagens de proteína do soro do leite isolada e hidrolisada e realizar avaliação físico-química e sensorial.	10; 20; 30	Isolada e hidrolisada	Sim
Sahagún et al. (2018)	Espanha	Examinar o efeito de quatro proteínas comerciais (ervilha, arroz, clara de ovo	15; 30; 45	Isolada e hidrolisada	Não

---



e proteína do soro do leite isolada e hidrolisada) sobre as características de pães de ló de farinha de arroz.

---

## PÃES

No estudo de Song et al. (2018) foram elaborados pães de centeio adicionados de 4% e 7% de proteína hidrolisada e de isolada. Esses pães foram avaliados tecnológica e sensorialmente e, para as formulações com 7%, independentemente da proteína utilizada, foi verificada uma textura mais quebradiça. Os farelos desses pães pareciam mais compactos, firmes e menos porosos, o mesmo foi observado por Erben e Osella (2017), quando adicionaram 20% de proteína do soro do leite concentrada. No entanto, Song et al. (2018) verificaram um aumento na maciez quando a concentração de proteína diminuiu para 4%, reduzindo a textura quebradiça.

No trabalho de Gani et al. (2015), a microscopia eletrônica de varredura mostrou uma ruptura no complexo proteína-amido bem definido e a forma dos grânulos de amido muda à medida que a concentração de proteína de soro aumentou no pão produzido com farinha de trigo. Esses autores constataram aumento da capacidade de formação de espuma à medida que aumentaram a concentração de proteína do soro.

Segundo Song et al. (2018), a propriedade espumante da proteína do soro do leite poderia gerar maior fragilidade e, de acordo com Gani et al. (2015), a alta capacidade de ligação à água pode ser a razão que aumenta a aridez percebida durante a mastigação, o que também foi observado por Pico et al. (2019) com o uso de 10% dessa proteína, com diferença estatística significativa para o tratamento sem adição de proteína do soro do leite. Esses autores não conseguiram avaliar quanto ao uso de 5% de proteína do soro, pois os pães não puderam ser desenformados.

Srikanlaya et al. (2018) avaliando elasticidade, coesividade e mastigabilidade em pães de arroz sem glúten associado à proteína do soro do leite concentrada e pães de trigo, observaram que esses parâmetros de textura não foram influenciados pela quantidade acrescentada de proteína concentrada. A coesividade também foi menor no trabalho de Erben e Osella (2017) com a mesma proteína, mas, em contraste, a elasticidade não mostrou efeitos significativos e a mastigabilidade foi maior quando comparada com o controle (100% farinha de trigo). Além disso, a adição de proteína do soro concentrada

melhorou a porosidade do pão, a absorção de água, o tempo de desenvolvimento (SRIKANLAYA et al., 2018) e a estabilidade da massa (GANI et al., 2015; ERBEN & OSELLA, 2017).

O volume do pão é extremamente importante para os consumidores porque eles desejam pães que parecem ser leves e não tão densos (GANI et al., 2015). No estudo de Srikanlaya et al. (2018), utilizando as mesmas quantidade de proteína do soro de leite concentrada (2, 4 e 6 %) e de proteína de soja isolada, os autores observaram que o volume específico foi maior nos pães elaborados com proteína do soro de leite. Diferentemente do achado de Erben e Osella (2017) e Pico et al. (2019) que verificaram pães com menor volume específico com o uso de 10% de proteína do soro concentrada, sem diferença estatística significativa do mesmo alimento com proteína de ervilha.

Gani et al. (2015) observaram que a absorção de água diminuiu significativamente ( $p \leq 0,05$ ) com o acréscimo de proteína do soro do leite concentrada, bem como diminuiu a extensibilidade da massa e o pico de viscosidade.

Sahagún e Gómez (2018a) utilizaram 30% de proteínas animais e vegetais na elaboração de pães sem glúten associados ao amido de milho. Como resultado, os pães com proteína do soro de leite isolada apresentaram menor volume específico, o que foi explicado pela baixa capacidade de retenção de água, influenciando a reologia da massa, menor perda de peso, já que possuíam menor superfície de troca e maior dureza, devido ao fortalecimento da estrutura elástica da massa.

Em relação às alterações de textura causadas pelo enriquecimento proteico, o aumento da dureza e elasticidade poderia ser explicado pela agregação induzida pelo calor (SONG et al., 2018). A maior firmeza em termos de força de pico foi encontrada com a adição de 15% de proteína do soro do leite concentrada no estudo de Gani et al. (2015). Pico et al. (2019) encontraram modificações na espessura da crosta e aumento no teor de umidade do pão sem glúten de farinha de arroz e amido de milho com o uso de 10% de proteína do soro do leite isolada. Alterações na espessura da crosta também foram observadas por Erben e Osella (2017), que avaliaram o efeito da substituição de farinha de trigo pela proteína do soro concentrada. Esses resultados podem ser explicados pelas mudanças da composição da matriz (proteína do soro do leite concentrada x isolada), que geram estruturas diferentes à massa (GURSEL et al., 2016).

Entre as proteínas de origem animal, a proteína do soro do leite foi a que deixou os pães mais escuros devido às reações de Maillard que ocorrem entre aminoácidos e açúcares

redutores (GANI et al., 2015; PICO et al., 2019).

Essa divergência na origem das proteínas ocorre pela diferença no grau de solubilidade das mesmas, além dos níveis mais baixos de aminoácidos essenciais nas proteínas de origem vegetal (PICO et al., 2019). Kristensen et al. (2016) ressaltam que as diferentes fontes vegetais importam quando se compara a questão proteica, já que a composição de aminoácidos não é idêntica. A soja, por exemplo, ao contrário de outras fontes de proteína vegetal, contém todos os aminoácidos essenciais, embora em pequenas quantidades quando comparado com proteínas animais. Esses autores destacam ainda que é difícil obter uma grande quantidade proteica apenas a partir de fontes vegetais, sem comprometer a palatabilidade.

No estudo de Madenci e Bilgili (2014), observaram que a resistência à extensão da massa foi positivamente afetada por 8% de proteína do soro do leite concentrada, mas negativamente para elasticidade. Em relação à cor, esse pão se tornou menos amarelado e com menor luminosidade.

Gonçalves et al. (2017) analisaram a influência da proteína do soro do leite isolada em pães com e sem fermento. Os autores observaram que os pães apresentaram parâmetros texturais mais elevados, como dureza, mastigabilidade e gomosidade, ademais o potencial antioxidante desse tipo de proteína do soro do leite foi suprimido pelo processo de fermentação. Em pães sem fermento, demonstraram que a proteína do soro do leite isolada manteve sua biofuncionalidade com o uso de até 10%. Erben e Osella (2017) observaram o mesmo no que se diz respeito aos parâmetros de textura, com o uso de até 20% de proteína do soro do leite concentrada.

Um declínio na qualidade do pão de trigo adicionado de 15% proteína do soro do leite concentrada, farinha de ervilha e farinha desengordurada de soja foi observado por Erben e Osella (2017). Os autores creditam esse fato a dois aspectos: Cada um dos ingredientes utilizados confere perda das propriedades de retenção de gás e ao sabor característico de pão. Segundo Fennema (2010) e Araújo et al. (2016), a presença do glúten, através das proteínas denominadas gliadinas e gluteninas, é que proporciona uma rede viscoelástica, aderente e insolúvel em água, capaz de aprisionar o ar durante a fermentação.

Para Madenci e Bilgili (2014), o pão sírio acrescentado de proteína do soro concentrada obteve maior teor de cinzas e de proteínas do que o controle, com farinha de trigo. Achado que corrobora o estudo de Erben e Osella (2017), que observaram também um maior teor de fibras. Uma vez que a lisina é um aminoácido limitante em produtos à base de

cereais, esses autores consideraram suficiente a utilização da proteína do soro do leite junto com outras fontes alimentares para atingir as necessidades recomendadas.

A aceitabilidade foi avaliada em escala hedônica de cinco pontos no estudo de Erben e Osella (2017). O uso de 15 e 20% de proteína do soro do leite concentrada resultou em notas mais baixas para sabor, cor e textura, a qual pode estar associada com a diminuição do volume de pão e aumento da firmeza do miolo. No entanto, para as outras porcentagens de proteína (5 e 10%), mais de 90% dos avaliadores concordaram, de acordo com a escala hedônica, entre "gostei" e "gostei muito", enquanto nenhum avaliador qualificou a amostra como "não gostei". O que também ocorreu para aparência, sabor e odor, no trabalho de Madenci e Bilgicli (2014), com pão sírio adicionado de 4% de proteína do soro do leite concentrada.

Já no estudo de Gani et al. (2015), a análise sensorial foi realizada em escala hedônica de 9 pontos e os pães com 15% de proteína do soro concentrada obtiveram baixa pontuação (média de 4,7) para cor e textura. Já as amostras com 5% dessa mesma proteína foram consideradas satisfatórias pelos avaliadores no painel sensorial.

## BISCOITOS

Sarabhai et al. (2014) trabalharam com 5 e 7,5% de proteína do soro do leite concentrada e relataram uma melhoria nas características texturais dos biscoitos com farinha de arroz, leite em pó desnatado, açúcar e bicarbonato. Esses autores observaram que à medida que a quantidade de proteína concentrada aumentava (até 10%), a resistência à ruptura dos *cookies* também foi aumentada, possivelmente devido à interação de proteínas e amido por ligação de hidrogênio. O mesmo foi observado por Tang e Liu et al. (2017) os quais também trabalharam com *cookies* e valores de 10 a 30% de proteína do soro do leite concentrada em substituição à farinha de trigo.

Biscoitos tipo *cracker* foram elaborados por Nammakuna et al. (2015) com farinha de arroz, hidrocoloides e diferentes porcentagens de proteína do soro isolada. O uso de 10% dessa proteína melhorou a elasticidade da massa. Segundo os autores, isso ocorreu provavelmente devido à estrutura polimérica da proteína que facilitou a capacidade de retenção de água e a distribuição de água na massa, quando comparada ao controle. Ainda, o

biscoito contendo 10% de proteína do soro isolada obteve a melhor textura e as propriedades reológicas mais próximas do *cracker* de trigo.

Os *cookies* sem glúten adicionados de 10% de proteína do soro concentrado se mostraram com poros grandes e profundos, característica que não é ideal para esse produto de panificação (SARABHAI et al., 2014). Quando analisada a influência da proteína do soro do leite concentrada na microestrutura da massa, Tang e Liu et al. (2017) observaram que a massa tinha uma superfície relativamente lisa, com grânulos de amido incorporados na matriz de glúten, que foi interrompida por ocos ou valas. Em comparação com a proteína de soja, a matriz de glúten parecia mais compacta, devido à capacidade de agregação dessa proteína bem como de sua maior capacidade de ligação à água, levando a uma maior estabilidade e elasticidade da massa. No trabalho de Marques et al. (2016), uma matriz proteica foi formada pela interação e consequente desnaturação das proteínas, com o uso de 40% de proteína do soro concentrada.

O objetivo do estudo de Sahagun e Gómez (2018b) foi analisar o efeito da substituição de farinha por diferentes tipos de proteínas (ervilha, batata, clara de ovo e soro do leite) em *cookies* sem glúten. Houve um aumento da espessura dos biscoitos com 30% de proteína do soro concentrada, diferentemente do encontrado por Wani et al. (2015), que relataram diminuição nos parâmetros de diâmetro, espessura e peso das amostras com o aumento na porcentagem de proteína do soro.

A substituição de farinha de trigo por proteína do soro do leite concentrada (0 – 30%) diminuiu a absorção de água em 11%. À medida que o nível de substituição de proteína do soro aumentou de 0 para 20%, o tempo de desenvolvimento da massa também aumentou e o tempo de estabilidade diminuiu, devido à interferência da proteína do soro com a rede de glúten (TANG & LIU et al., 2017). No estudo de Marques et al. (2016), a atividade de água dos *cookies* com proteína do soro do leite foi superior ao controle, sem proteína.

Com o aumento do teor de proteína do soro concentrada, a viscosidade da massa aumentou, enquanto que, com a mesma quantidade de proteína de soja, a viscosidade diminuiu. Isso ocorreu possivelmente porque a hidratação das proteínas do soro resultou em maior adesão superficial, que desempenhou um papel predominante no aumento da viscosidade da massa. No entanto, no caso da hidratação da proteína de soja, houve uma maior diluição do glúten, acarretando em uma diminuição da viscosidade da massa (TANG & LIU et al., 2017).

A textura também foi afetada no trabalho de Tang e Liu et al. (2017), onde a dureza dos *cookies* aumentou à medida que as concentrações de proteína do soro concentrada aumentaram, em comparação com a proteína de soja. Isso se deu, provavelmente, por causa da superioridade da propriedade gelificante da proteína do soro que, ao ser aquecida, leva a uma maior rigidez da massa. Já, as características texturais dos biscoitos com 2 e 4% de proteína do soro concentrada não apresentaram diferença significativa em relação ao controle, com farinha de trigo (WANI et al., 2015).

Em relação à colorimetria, os valores de  $a^*$ , que variam em um espectro de cores do verde ao vermelho, sugeriram *cookies* mais avermelhados com a incorporação das proteínas do soro do leite concentrado e uma diminuição significativa da luminosidade, que foi principalmente atribuído às reações de Maillard (MARQUES et al., 2016; TANG & LIU et al., 2017; SAHAGÚN & GÓMEZ, 2018b). Nessa reação química, há a condensação de açúcares redutores com aminoácidos ao serem submetidos a um tratamento térmico, formando compostos que resultam na coloração escura e em um aroma característico (LEIVA et al., 2017).

Não houve diferença estatística significativa para peso, rendimento, diâmetro, espessura, volume específico e fator de expansão com a adição de até 54,1% de proteína do soro concentrada e de até 33,4% de margarina em *cookies* no estudo de Marques et al., (2016). Em relação à composição centesimal, o tratamento com 40% de proteína obteve a maior quantidade de proteína, lipídeo, umidade e cinzas e menor teor de carboidratos e energia.

No estudo de Wani et al. (2015), *cookies* adicionados de 6% de proteína concentrada do soro do leite mostraram-se com maior teor de proteína, umidade, gordura e cinzas em comparação com o controle, sem adição. No trabalho de Fernández et al. (2016), em relação à composição centesimal, o teor de proteínas foi maior para o biscoito com 7,5% de proteína isolada. O fato de que os *cookies* com 7,5% de proteína concentrada obtiveram resultado maior para o macronutriente lipídeo pode ser atribuído ao método utilizado para a obtenção dessa proteína (nano/ultrafiltração).

Na análise sensorial de *cookies* com 30% de proteína concentrada foram classificados como muito bons para aparência, mas não foram bem classificados para gosto (SAHAGÚN & GÓMEZ, 2018b). Já no estudo de Tang e Liu et al. (2017), a adição dessa mesma resultou na diminuição do escore de todos os atributos sensoriais, principalmente cor e textura. O mesmo foi observado por Marques et al. (2016) em relação a este último atributo, exceto para o

acrécimo de 40%, que não obteve diferença para o controle, sem proteína. Vale ressaltar que esse tratamento também tinha a maior quantidade de margarina, o que pode ter contribuído para o resultado dado pelos avaliadores, já que estes esperam produtos crocantes e, ao mesmo tempo, macios. Todos os tratamentos analisados (25,9, 40, 54,1%) obtiveram níveis de aceitação acima de 70%. No de Tang e Liu et al. (2017), a quantidade aceita pelos avaliadores foi 10% de adição de proteína, com 6,2 de nota contra 6,9 do controle, sem proteína.

Considerando-se que os biscoitos tipo *cookies* são altamente consumidos e com boa aceitabilidade, Fernández et al. (2016) avaliaram preparações enriquecidas com três concentrações (2,5, 5 e 7,5%) de diferentes tipos de proteína do soro do leite: concentrada e isolada. Na avaliação sensorial, em escala hedônica de 10 pontos, sendo de 0-5 pontos “não gosto muito” e de 6-10 pontos “gosto muito”, houve diferença estatística significativa apenas para o atributo sabor, onde os *cookies* com 7,5% de proteína concentrada do soro do leite obtiveram a maior média (9,04).

No estudo de Wani et al. (2015), os biscoitos acrescidos de 4% de proteína do soro do leite concentrada apresentaram maior aceitabilidade, assim como os *cookies* adicionados de 30% dessa mesma proteína no trabalho de Sahagun e Gómez (2018b).

Marques et al. (2016) concluíram que a proteína do soro concentrada é um ótimo ingrediente para a preparação de produtos de panificação, melhorando aroma, sabor, textura e prazo de validade, além do valor nutricional desses produtos.

## MACARRÕES

Yadad et al. (2014) elaboraram uma massa sem glúten a partir da farinha de painço acrescida de farinha de centeio e de 12% de proteína do soro do leite concentrada. Esses resultados mostraram que a inclusão desse ingrediente teve um efeito positivo significativo tornando a massa mais leve, e melhorando a aceitabilidade global do produto. Para Phongthai et al. (2017), a adição tanto de 6% quanto de 9% de proteína do soro do leite concentrada diminuiu o tempo de cozimento da massa de farinha de arroz. Ainda, o acréscimo da menor porcentagem implicou em uma textura mais firme da massa crua, o que era pretendido pelos pesquisadores.

Menon et al. (2016) testaram a adição de 10, 20 e 30% de proteína do soro concentrada em macarrão com fécula de batata doce. A taxa de digestão de amido diminuiu

com o aumento no nível de proteína do soro. Além disso, a utilização de proteínas ajudou a criar uma rede similar ao papel do glúten no macarrão cozido, reduziu o índice glicêmico do macarrão e aumentou o teor proteico, independente da quantidade adicionada.

Dixit e Bhattacharya (2014) observaram o papel da proteína do soro concentrada na microestrutura de uma massa de arroz. As características desejadas pelos autores para esse tipo de alimento eram uma dureza e elasticidade moderada e baixa aderência, o que foi obtido com o uso de 2,5 e 5% de proteína do soro concentrada. Além disso, esses pesquisadores perceberam que a utilização de 7,5% aumentou a coesividade e extensibilidade da massa e ainda diminuiu a capacidade de absorção de água, possivelmente pela sinergia entre os ingredientes (proteína do soro e farinha de arroz) pela água. No estudo de Menon et al. (2016), a maior firmeza da massa foi observada em amostras secas com 10% de proteína do soro concentrada, já após a cocção, esse parâmetro foi observado no tratamento com 20% de fortificação.

Na análise sensorial realizada com escala de cinco pontos, para o atributo aparência, os macarrões com as três porcentagens de proteína pontuaram bem (média de 4,27). O mesmo ocorreu para aceitabilidade geral, onde o macarrão com 20 e 10% de proteína de soro do leite concentrada obtiveram médias iguais (4,00), com diferença estatística significativa para o de 30% (3,12). O mesmo padrão foi observado para sabor, com médias respectivas de 3,40, 3,05 e 2,20 (MENON et al., 2016).

## BOLOS

Wendin et al. (2016) desenvolveram formulações de *muffins* com diversas proteínas, dentre elas, a proteína concentrada do soro do leite. Todas as amostras (incluindo a controle, com farinha de trigo) obtiveram rachaduras na crosta, exceto os *muffins* adicionados de proteína do soro. Esses tratamentos apresentaram maior tamanho e número de bolhas de ar, devido às propriedades espumantes e emulsificantes da proteína do soro do leite, tornando a estrutura do bolo aerada e com maior elasticidade, fato que os autores atribuem à agregação de proteínas. Sahagún et al. (2018), ao aumentarem a quantidade de proteína do soro do leite isolada e hidrolisada, também observaram um aumento na quantidade das bolhas de ar e menor da massa.

No estudo de Paraskevopoulou et al. (2015), a substituição parcial dos ovos líquidos



por proteína do soro do leite isolada aumentou os parâmetros de elasticidade, coesividade e mastigabilidade em comparação com o controle. O aumento desses parâmetros também foi observado por Jyotsna et al. (2016).

Para Díaz-Ramírez et al. (2016), a mastigabilidade reduziu significativamente em todas as substituições de proteína do soro do leite isolada, exceto para o tratamento com 100%. Ainda, os bolos crescidos de 12,5 e 25% dessa proteína tiveram a área dos poros aumentada significativamente ( $p < 0,05$ ) e a densidade diminuída. De acordo com os autores, esses resultados estão associados com menor coesão e firmeza. No entanto, com 50 e 100% de substituição de proteína do soro isolada esses valores mudaram, tornando as áreas menores e com maiores densidades de poros do que o controle (0%).

No bolo controle, sem proteína do soro do leite, a água disponível é usada para solubilizar a sacarose adicionada, para formar a estrutura de espuma e gelatinização subsequente do amido, mas em amostras substituídas, a proteína do soro isolada compete com a sacarose pela água disponível; assim, à medida que se aumentou a adição de proteína do soro isolada, a solubilidade da sacarose diminuiu, fazendo com que a massa cristalizasse quando exposta ao calor. A cristalização pode diminuir a qualidade do bolo, modificando a textura do mesmo e seus farelos (DÍAZ-RAMÍREZ et al., 2016). Uma estrutura cristalina promove bolos mais frágeis e menos resilientes e, no trabalho desses autores, os pães de ló com 12,5, 25 e 50% não apresentaram diferença estatística significativa.

O uso de 15% de proteína do soro concentrada aumentou a densidade da massa crua, possivelmente por causa da interação entre amido, lipídios, polissacarídeos não amiláceos, proteína do soro e outros ingredientes utilizados na elaboração dos *muffins* (JYOTSNA et al., 2016). Herranz et al. (2016) constataram que a utilização da proteína do soro concentrada gerou um aumento na estabilidade conformacional, produzindo massas mais compactas e mais densas com distribuição homogênea de um número maior de bolhas menores, que poderiam produzir *muffins* de melhor qualidade. A incorporação de proteína do soro isolada influenciou as características do miolo do bolo, de forma que os farelos eram menos numerosos e cobriam uma área menor em comparação com o controle (PARASKEVOPOULOU et al., 2015).

No estudo de Herranz et al. (2016), o uso de 15% de proteína do soro concentrada resultou em uma maior atividade de água, o que, segundo os autores, pode estar associado à maior absorção de água, devido ao maior teor de proteína neste tratamento. Devido a maior atividade de água e maior volume, o *muffin* adicionado de proteína do soro foi considerado

muito seco pelos avaliadores da análise sensorial (WENDIN et al., 2016). O mesmo foi encontrado por Jyotsna et al. (2016), com o uso de 15% de proteína do soro concentrada e por Paraskevopoulou et al. (2015), com a substituição de ovos líquidos por uma solução de 20% de proteína do soro isolada, indicando um maior valor de gravidade específica, provavelmente por causa da competição entre o açúcar e a proteína do soro do leite isolada, modificando a textura dos bolos.

Maior volume foi observado por Paraskevopoulou et al. (2015) com 20% de proteína do soro do leite isolada e por Sahagún et al. (2018) com 45% do mesmo tipo de proteína, possivelmente pelo processo de agregação proteica, durante o cozimento. Jyotsna et al. (2016) encontraram melhoria máxima de volume com nível de 10% proteína do soro do leite concentrada, pois o uso de 15% tornou a massa pesada.

Herranz et al. (2016) verificaram maior perda de peso com o uso da proteína do soro do leite concentrada em *muffins* com farinha de grão de bico. Enquanto que, no trabalho de Díaz-Ramírez et al. (2016), houve diferença na perda de peso apenas com a utilização de 100% de proteína do soro isolada. No que se diz respeito à altura e volume pós-cozimento, Camargo et al. (2018) encontraram diferenças significativas entre as formulações, uma vez que as quantidades de proteína do soro isolada e hidrolisada foram aumentando. A densidade de pós-cozimento também apresentou diferença significativa entre os bolos: quanto maior a quantidades de proteína do soro, menor a densidade, sugerindo uma maior incorporação de ar.

Não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) na dureza do bolo com o uso de até 30% de proteína do soro isolada e hidrolisada. Os bolos também não diferiram significativamente em relação à cor e luminosidade (CAMARGO et al., 2018).

Segundo Díaz-Ramírez et al. (2016), o pão de ló é um dos tipos de bolos mais utilizados em panificação, devido à sua estrutura porosa. No estudo desses autores, a adição de 25% de proteína isolada reduziu significativamente a densidade da massa, aumentou o volume específico e não afetou significativamente a viscosidade, mostrando que a proteína de ovo poderia ser substituída por proteína isolada, sem diminuir o aprisionamento do ar e a estabilidade da massa antes do forneamento. Jyotsna et al. (2016) sugerem que o menor pico de viscosidade é devido ao efeito de diluição do amido causado pela presença de maior quantidade de proteínas do soro.

Jyotsna et al. (2016) observaram que a proteína do soro concentrada aumentou o teor de cinzas, principalmente cálcio e fósforo, e proteínas e diminuiu o pico de viscosidade de *muffins*, independente da porcentagem adicionada.

No estudo de Soares et al. (2017), não foram evidenciadas diferenças significativas entre os teores de umidade, cinzas, lipídios e valor energético em relação à adição de 30% de proteína do soro e o tratamento controle, sem proteína. Entretanto, observou-se um maior teor de proteínas e um menor de carboidratos na amostra enriquecida. Já no trabalho de Camargo et al. (2018), lipídios, cinzas e umidade não apresentaram diferença significativa entre 0 e 10% de proteína do soro isolada e hidrolisada, mas demonstraram para com 20 e 30%. Ainda, houve diferença significativa nos carboidratos entre todos os tratamentos e, quanto maior a porcentagem de proteínas do soro, menor foi o teor de carboidratos e maior foram os aminoácidos totais e individuais.

Em relação à análise sensorial, os autores não encontraram diferença estatística para odor, sabor e aparência ao comparar 12,5 e 25% de acréscimo de proteína isolada, mas encontraram para cor do bolo quando compararam o controle, sem a adição de proteína e 12,5%. Ainda, Díaz-Ramírez et al. (2016) também não observaram diferença estatística significativa para o controle (sem proteína do soro do leite), 12,5 e 25% no que diz respeito à aceitabilidade geral.

Já no trabalho de Sahagún et al. (2018), os pães de ló sem glúten acrescidos de proteína de soro do leite isolada e hidrolisada foram aqueles com maior aceitabilidade na análise sensorial. O que também ocorreu com o uso de 10% de proteína do soro do leite concentrada no estudo de Jyotsna et al. (2016).

No estudo de Soares et al. (2017), para sabor e textura, destaca-se que o tratamento contendo 30% de proteína do soro do leite e aproximadamente 7% de margarina apresentou maior índice de aceitação. De acordo com os autores, a adição da proteína do soro combinada com a redução do teor de margarina favoreceu estes atributos sensoriais. Além disso, apresentaram médias semelhantes para aparência, cor e aroma, com índices de aceitação próximos ou acima de 80%.

No trabalho de Camargo et al. (2018), não foram encontradas diferenças significativas para os atributos aparência, cor, sabor e aceitação global entre o controle (0%) e os tratamentos com 10, 20 e 30% de proteína do soro isolada e hidrolisada. O atributo textura foi o único que apresentou diferença significativa para a maior adição de proteína do soro. Não houve diferença significativa para intenção de compra entre os tratamentos, sendo que "provavelmente compraria" aparece mais no 0, 10 e 20%. Os autores destacam que todas as amostras pontuaram acima de 6,0, que pela escala hedônica representa o equivalente a "gostei ligeiramente". Além disso, todas as formulações pontuaram acima de 7,0 em sabor e aceitação

global, o que representa o equivalente a "gostei moderadamente". Isso significa que houve uma boa aceitação em geral.

## CONCLUSÃO

Os bolos foram os produtos de panificação adicionados de maiores quantidades de proteína do soro do leite, ao contrário dos pães e macarrões, possivelmente devido à peculiaridade dessas preparações.

A proteína do soro do leite do tipo concentrada foi a mais utilizada, provavelmente pela sua composição nutricional, custo e fácil acesso.

As proteínas do soro do leite foram majoritariamente adicionadas como incremento proteico e/ou substituição ao ovo e não como estratégia de substituição ao glúten ou como alternativa para celíacos.

A adição de proteínas do soro do leite demonstrou ser uma opção viável não só para aumentar o aporte proteico em produtos de panificação, mas também por, na maioria das vezes, melhorar volume e porosidade desses alimentos. Entretanto, concentrações mais elevadas de proteínas do soro do leite, independentemente do tipo utilizado e da preparação elaborada, contribuem para uma diminuição da luminosidade, ou seja, maior escurecimento, e para um aumento de parâmetros texturais, como dureza e mastigabilidade.

Os produtos de panificação foram avaliados com foco nas análises físicas, principalmente em relação à estrutura da massa, poucos estudos se detiveram a avaliar química e sensorialmente também, o que tornaria seus resultados mais completos.

## REFERÊNCIAS

AGUIAR, L.; MELO, L.; OLIVEIRA, L (2018). Validation of rapid descriptive sensory methods against conventional descriptive analyses: A systematic review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 1-18.

ARAÚJO, W.; MONTEBELLO, N.; BOTELHO, R.; BORGIO, L. **Alquimia dos alimentos**. 3 Ed. - Editora Senac, 2016.

- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PANIFICAÇÃO E CONFEITARIA. Brasília: ABIP. Disponível em: [www.abip.org.br](http://www.abip.org.br). Acessado em julho de 2019.
- CAMARGO, L. R., SILVA, L. M., KOMEROSKI, M. R., KIST, T. B. L., RODRIGUES, C. E., RIOS, A. D. O., OLIVEIRA, V. R. (2018). Effect of whey protein addition on the nutritional, technological and sensory quality of banana cake. **International Journal of Food Science and Technology**, 53(11), 2617–2623.
- CHAVAN, RR.; SHRADDHA, R.; KUMAR, A.; NALAWADE, T. (2015). Whey Based Beverage: Its Functionality, Formulations, Health Benefits and Applications. **Journal Food Process Technology**, 6(10), 495.
- DIAZ-RAMIREZ, M.; CALDERON-DOMINGUEZ, G.; GARCIA-GARIBAY, M.; JIMENEZ-GUZMAN, J.; VILLANUEVA-CARVAJAL, A.; SALGADO-CRUZ, M. DE LA P.; MORAL-RAMIREZ, E. DEL. (2016). Effect of whey protein isolate addition on physical, structural and sensory properties of sponge cake. **Food Hydrocolloids**, 61, 633–639.
- DIXIT & BHATTACHARYA, Y. & BHATTACHARYA, S. (2014). Rheological and sensory behaviour of rice flour dough: effect of selected additives in relation to dough flattening. **Journal of Food Science and Technology**, 52(8), 4852–4862.
- ERBEN, M.; OSELLA, C. A. (2017). Optimization of mold wheat bread fortified with soy flour, pea flour and whey protein concentrate. **Food Science and Technology International**, 23(5), 457–468.
- FENNEMA, O.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. **Química de Alimentos de Fennema**. 4<sup>a</sup> Ed. – Editora Artmed, 2010.
- FERNANDEZ, A.; ROJAS, E.; GARCIA, A.; MEJIA, J.; BRAVO, A. (2016). Evaluation, shelf life and sensory of cookies enriched with protein whey products from queseria. **Revista Científica**, 26(2), 71–79.
- GANI, A.; BROADWAY, A.; AHMAD MASOODI, F.; ABAS WANI, A.; MAQSOOD, S.; AHMAD ASHWAR, B. (2015). Enzymatic hydrolysis of whey and casein protein - effect on functional, rheological, textural and sensory properties of breads. **Journal of Food Science and Technology**, 52(12), 7697–7709.
- GONCALVES, C. M.; SOUZA, C. H. B. DE, SUGUIMOTO.; H. H., ISHII., P. L.; SANTOS, L. F. DOS. (2017). Addition of whey protein in bread-making: textural parameters and antioxidant potential of leavened and unleavened bread. **International Journal of Food Engineering**, 13(4), 2016-0218.
- GURSEL, A.; GURSOY, A.; ANLI, E. A. K. ; BUDAK, S. O. ; AYDEMIR, S.; DURLUOZKAYA, F. (2016). Role of milk protein-based products in some quality attributes of goat milk yogurt. **Journal of Dairy Science**, 99, 2694–2703.
- HERRANZ, B.; CANET, W.; JIMÉNEZ, M. J.; FUENTES, R.; ALVAREZ, M. D. (2016). Characterisation of chickpea flour-based gluten-free batters and muffins with added biopolymers: rheological, physical and sensory properties. **International Journal of Food Science & Technology**, 51(5), 1087–1098.

- JYOTSNA, R.; SOUMYA, C.; SWATI, S.; PRABHASANKAR, P. (2016). Rheology, texture, quality characteristics and immunochemical validation of millet based gluten free muffins. **Journal of Food Measurement and Characterization**, 10(4), 762–772.
- KRISTENSEN, M. D.; BENDSEN, N. T.; CHRISTENSEN, S. M.; ASTRUP, A.; RABEN, A. (2016). Meals based on vegetable protein sources (beans and peas) are more satiating than meals based on animal protein sources (veal and pork) – a randomized cross-over meal test study. **Food & Nutrition Research**, 60(1), 32634.
- KITTISUBAN, P.; RITTHIRUANGDEJ, P.; SUPHANTHARIKA, M. (2014). Optimization of hydroxypropylmethylcellulose, yeast  $\beta$ -glucan, and whey protein levels based on physical properties of gluten-free rice bread using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, 57(2), 738–748.
- LEIVA, G. E.; NARANJO, G. B.; MALEC, L. S. (2017). A study of different indicators of Maillard reaction with whey proteins and different carbohydrates under adverse storage conditions. **Food Chemistry**, 215, 410–416.
- MADENCI, A. B.; BILGICLI, N. (2014). Effect of whey protein concentrate and buttermilk powders on rheological properties of dough and bread quality. **Journal of Food Quality**, 37(2), 117–124.
- MADUREIRA, A. R.; TAVARES, T.; GOMES, A. M. P.; PINTADO, M. E.; MALCATA, F. X. (2010). Invited review: Physiological properties of bioactive peptides obtained from whey proteins. **Journal of Dairy Science**, 93(2), 437–455.
- MARQUES, G. D. A.; SÃO JOSÉ, J. F. B. D.; SILVA, D. A.; SILVA, E. M. M. D. (2016). Whey protein as a substitute for wheat in the development of no added sugar cookies. **LWT - Food Science and Technology**, 67, 118–126.
- MENON, R.; PADMAJA, G.; JYOTHI, A. N.; ASHA, V.; SAJEEV, M. S. (2016). Gluten-free starch noodles from sweet potato with reduced starch digestibility and enhanced protein content. **Journal of Food Science and Technology**, 53(9), 3532–3542.
- NAMMAKUNA, N.; BARRINGER, S. A.; RATANATRIWONG, P. (2016). The effects of protein isolates and hydrocolloids complexes on dough rheology, physicochemical properties and qualities of gluten-free crackers. **Food Science & Nutrition**, 4(2), 143–155.
- PARASKEVOPOULOU, A.; DONSOUZI, S.; NIKIFORIDIS, C. V.; KIOSSEOGLOU, V. (2015). Quality characteristics of egg-reduced pound cakes following WPI and emulsifier incorporation. **Food Research International**, 69, 72–79.
- PHONGTHAI, S.; D'AMICO, S.; SCHOENLECHNER, R.; HOMTHAWORNCHOO, W.; RAWDKUEN, S. (2017). Effects of protein enrichment on the properties of rice flour based gluten-free pasta. **LWT - Food Science and Technology**, 80, 378–385.
- PICO, J.; REGUILON, M. P.; BERNAL, J.; GOMEZ, M. (2019). Effect of rice, pea, egg white and whey proteins on crust quality of rice flour-corn starch based gluten-free breads. **Journal of Cereal Science**, 86, 92–101.
- RAMOS, O. L.; PEREIRA, R. N.; RODRIGUES, R. M.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A.; MALCATA, F. X. (2016). Whey and Whey Powders: Production and Uses.

**Encyclopedia of Food and Health**, 498–505.

- ROSELL, C. M.; GARZON, R. (2015). **Chemical Composition of Bakery Products. Handbook of Food Chemistry**, 1–28.
- SAHAGUN, M.; BRAVO-NUNEZ, A.; BASCONES, G.; GOMEZ, M. (2018). Influence of protein source on the characteristics of gluten-free layer cakes. **LWT - Food Science and Technology**, 94, 50–56.
- SAHAGUN, M.; GOMEZ, M. (2018a). Assessing influence of protein source on characteristics of gluten-free breads optimizing their hydration level. **Food and Bioprocess Technology**, 11(9), 1686–1694.
- SAHAGÚN, M.; GÓMEZ, M. (2018b). Influence of protein source on characteristics and quality of gluten-free cookies. **Journal of Food Science and Technology**, 55(10), 4131–4138.
- SARABHAI, S.; INDRANI, D.; VIJAYKRISHNARAJ, M.; MILIND, A.; ARUN KUMAR, V.; PRABHASANKAR, P. (2015). Effect of protein concentrates, emulsifiers on textural and sensory characteristics of gluten free cookies and its immunochemical validation. **Journal of Food Science and Technology**, 52(6), 3763–3772.
- SINHA, R.; CHERUPPANPULLIL, R.; PRAKASH, J.; KAULTIKU, P. (2007). Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. **Food Chemistry**, 101 (4), 1484–1491.
- SOARES, J. P.; DE ALMEIDA MARQUES, G.; DE MAGALHÃES, C. S.; SANTOS, A. B.; DE SÃO JOSÉ, J. F. B.; SILVA, D. A.; DA SILVA, E. M. M. (2018). The effect of the addition of whey protein as a substitute for wheat in the development of cakes with no added sugar. **Brazilian Journal of Food Technology**, 21.
- SONG, X.; PEREZ-CUETO, F. J. A.; BREDIE, W. L. P. (2018). Sensory-driven development of protein-enriched rye bread and cream cheese for the nutritional demands of older adults. **Nutrients**, 10(8), 1006.
- SRIKANLAYA, C.; THERDTHAI, N.; RITTHIRUANGDEJ, P.; ZHOU, W. (2018). Effect of hydroxypropyl methylcellulose, whey protein concentrate and soy protein isolate enrichment on characteristics of gluten-free rice dough and bread. **International Journal of Food Science and Technology**, 53(7), 1760–1770.
- TANG & LIU, X.; LIU, J. (2017). A comparative study of partial replacement of wheat flour with whey and soy protein on rheological properties of dough and cookie quality. **Journal of Food Quality**.
- WANI, S. H.; GULL, A.; ALLAIE, F.; SAFAPURI, T. A.; YILDIZ, F. (2015). Effects of incorporation of whey protein concentrate on physicochemical, texture, and microbial evaluation of developed cookies. **Cogent Food & Agriculture**, 1(1), 1–N.PAG.
- WENDIN, K.; HÖGLUND, E.; ANDERSSON, M.; ROTHENBERG, E. (2017). Protein enriched foods and healthy ageing Effects of protein fortification on muffin characteristics. **Agro Food Industry Hi-Tech**.
- YADAV, D. N.; BALASUBRAMANIAN, S.; KAUR, J.; ANAND, T.; SINGH, A. K. (2014).

Non-wheat pasta based on pearl millet flour containing barley and whey protein concentrate. **Journal of Food Science and Technology**, 51(10), 2592–2599.

ZHANG, H.; YAN, X.; WANG, S.; MA, Q. (2018). Development of special cookies for hemodialysis patients. **Food Science and Technology**, 43(2), 202–206.

ZHOU, W.; THERDTHAI, N.; HUI, Y. H. (2014). Introduction to Baking and Bakery Products. **Bakery Products Science and Technology**, 1-16.



## Artigo 2 –

### **Avaliação da qualidade nutricional, tecnológica e sensorial de pães sem glúten elaborados com proteína do soro do leite isolada e hidrolisada**

Marina R. Komerowski<sup>1</sup>, Raísa V. Homem<sup>1</sup>, Helena de O. Schmidt<sup>3</sup>, Fernanda C. Rockett<sup>3</sup>, Larissa de Lira<sup>2</sup>, Deise Vitória da Farias<sup>2</sup>, Tarso L. Kist<sup>4</sup>, Divair Doneda<sup>2</sup>, Alessandro de O. Rios<sup>3</sup>, Viviani R. de Oliveira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Ramiro Barcelos, 2400, Santa Cecília, CEP: 90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>2</sup> Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Ramiro Barcelos, 2400, Santa Cecília, CEP: 90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>3</sup> Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43.212, Campus do Vale, Porto Alegre, RS CEP 91501-970, Brasil.

<sup>4</sup> Departamento de Biofísica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43.212, Campus do Vale, Porto Alegre, RS CEP 91501-970, Brasil.

**Resumo:** A doença celíaca é uma doença autoimune que decorre do consumo de alguns cereais contendo glúten por pessoas geneticamente predispostas, causando uma inflamação no intestino delgado. Celíacos relatam que a oferta de alimentos sensorialmente adequados é restrita, principalmente os pães, que estão presentes na dieta básica da maioria da população. Sendo assim, este trabalho se propôs a desenvolver pães sem glúten adicionadas de 10, 20 e 30% de proteína do soro do leite isolada e hidrolisada. As preparações foram submetidas às análises físico-químicas e sensoriais, após testes de formulações. Como resultado, os pães se tornaram não só mais proteicos, mas também com maior quantidade de carboidratos e de lipídeos, e ricos em fibras e aminoácidos quando comparados com o pão de farinha de trigo. Além disso, todos os tratamentos avaliados obtiveram desempenho satisfatório na análise sensorial, realizada tanto por indivíduos não celíacos, como por celíacos.

**Palavras-chave:** Doença celíaca; proteína do soro do leite; pães; análise físico-química; análise sensorial

**Abstract** Celiac disease is an autoimmune disease that results from the consumption of some gluten-containing cereals by genetically predisposed people, causing inflammation in the small intestine. Celiac patients report that the supply of sensorially adequate foods is

restricted, especially breads, which are present in the basic diet of the majority of the population. Thus, this work aimed to develop gluten-free breads added with 10, 20 and 30% of isolated and hydrolyzed whey protein. The preparations were subjected to physicochemical and sensory analysis after formulation testing. As a result, breads became not only more protein-rich, but also higher in carbohydrates and lipids, and rich in fiber and amino acids when compared to wheat flour bread. In addition, all evaluated treatments performed satisfactorily in sensory analysis performed by both non-celiac and celiac individuals.

**Keywords:** Celiac disease; whey protein; breads; chemical physical analysis; sensory analysis

## 1. INTRODUÇÃO

A doença celíaca (DC) é uma doença autoimune que causa uma inflamação crônica na mucosa e submucosa do intestino delgado (PEREIRA et al., 2017). Isso ocorre porque o consumo de alguns cereais contendo glúten por pessoas geneticamente predispostas acaba atrofiando e achatando as vilosidades do intestino e conduzindo, dessa forma, à limitação da área disponível para absorção de nutrientes (SILVA & FURLANETTO, 2010).

A apresentação clínica da doença é muito variável e, tanto a doença como seus sintomas, podem aparecer em qualquer fase da vida (WGO, 2016). O tratamento para todas as formas tem como base a dieta isenta de glúten que, se seguida corretamente, recupera a função e o aspecto da mucosa intestinal (PEREIRA et al., 2017). Caso não tratada, podem surgir complicações como câncer do trato intestinal, anemia, osteoporose e esterilidade (BRASIL, 2015).

Segundo alguns celíacos pertencentes à Associação de Celíacos do Brasil (ACELBRA), a oferta de alimentos sensorialmente adequados é restrita, o que torna a dieta monótona e que os produtos disponíveis no mercado são normalmente de alto custo (ARAÚJO et al., 2010). Ainda, os pães, que estão presentes na dieta básica da maioria da população, são primordialmente elaborados a partir da farinha de trigo (GURGEL et al., 2010).

Desta forma, a busca por alternativas que contenham alta qualidade sensorial faz com que haja pesquisas de novos ingredientes para a elaboração de produtos de panificação

(ZAVAREZE et al., 2010). Neste sentido, associações entre hortaliças, leguminosas, cereais e proteínas lácteas têm sido estudadas (GANI et al., 2015).

Em relação às proteínas lácteas, essas são componentes valorizados devido às suas excelentes propriedades nutritivas, tecnológicas e funcionais, que decorrem da composição de aminoácidos, assim como a capacidade de proporcionar solubilidade, absorção e retenção de água e gordura, capacidade emulsificante e espumante, estabilidade, geleificação e melhoria nas propriedades sensoriais e na aceitação de produtos (ARAÚJO et al., 2016).

Contudo, até o momento, são escassos os estudos na literatura com proteína do soro sendo utilizada para mimetizar a qualidade tecnológica do glúten em pães. Sendo assim, este trabalho se propõe a desenvolver formulações isentas de glúten adicionadas de proteína do soro do leite e avaliar as características nutricionais, tecnológicas e sensoriais de pães.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

Trata-se de um estudo experimental no qual foram investigadas amostras de pães elaboradas e avaliadas nos Laboratórios de: Técnica Dietética (LTD), de Compostos Bioativos e de Métodos Biofísicos de Análise da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Para os tratamentos sem glúten foi utilizada uma área de produção corretamente higienizada e utensílios sem contato nenhum com farinha de trigo.

Para as análises físicas e químicas das amostras foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado (DIC), enquanto que para as análises sensoriais foi utilizado o delineamento de blocos ao acaso (DBC).

### **2.1 ELABORAÇÃO DOS PÃES**

Os gêneros alimentícios foram adquiridos em estabelecimento comercial na cidade de Porto Alegre/Rio Grande do Sul. Vários testes preliminares foram realizados até a obtenção das formulações finais, permanecendo as que tiveram potencial promissor para serem avaliadas neste estudo. Ingredientes como, sal refinado, açúcar cristal, óleo de soja, ovo branco e fermento biológico seco, de acordo com a tabela 1, foram utilizados na formulação com o propósito de facilitar a homogeneização das formulações, além de garantir atributos

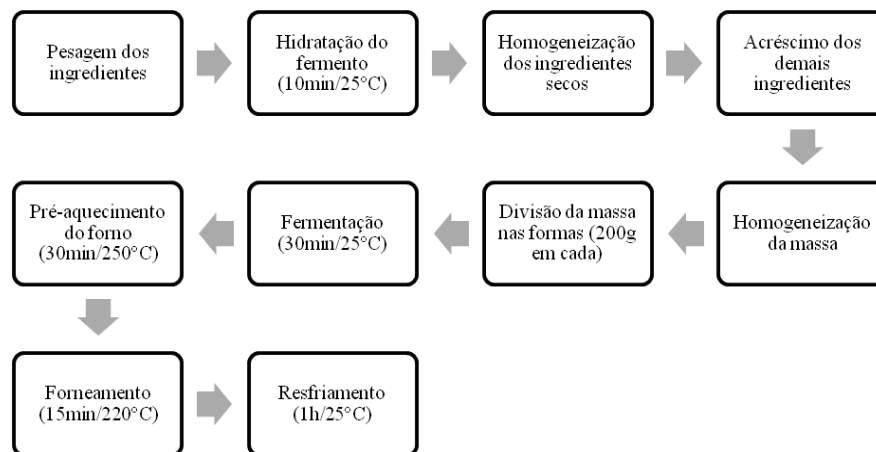
sensoriais favoráveis, como textura, sabor e aparência global característicos dos pães, conforme César et al. (2006).

**Tabela 1- Formulação de pães com diferentes quantidades de proteína do soro do leite**

Ingredientes	Tratamentos				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
Farinha de grão de bico (g)	0	50	45	40	35
Fécula de mandioca (g)	0	50	45	40	35
Açúcar (g)	5	5	5	5	5
Sal (g)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Óleo de soja (mL)	6	6	6	6	6
Ovo (g)	48	48	48	48	48
Fermento biológico (g)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Água morna (mL)	60	60	60	60	60
Farinha de trigo (g)	100	0	0	0	0
Goma xantana (g)	0	2	2	2	2
Proteína do soro do leite isolada e hidrolisada (g)	0	0	10	20	30

WF- *wheat flour*; CCPF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- 10% *whey protein*; WP20- 20% *whey protein*; WP30- 30% *whey protein*.

Todos os ingredientes foram pesados em balança analítica digital milesimal (0,01G) UNIBLOC - marca Shimadzu® (modelo UX-6200H). A elaboração da massa foi realizada a partir do método de massa direta (figura 1). Para o preparo das massas, o forno convencional - marca Dako® foi pré-aquecido por 20 minutos sob 220°C. Os pães foram assados por 15 minutos sob 220°C de temperatura.



**Figura 1 – Fluxograma da elaboração dos pães, adaptado de César et al. (2006)**

## 2.2 ANÁLISES FÍSICAS

### 2.2.1 Peso, altura, perda de peso, rendimento e volume aparente e específico

As análises físicas foram realizadas nos pães em temperatura ambiente, antes e 1 hora após o forneamento para determinação de peso, altura, perda de peso, rendimento e volume aparente e específico.

Para a mensuração do peso, primeiro foi pesada isoladamente a forma utilizada; em seguida, a massa crua já acondicionada na forma também foi pesada em uma balança digital centesimal (0,01g) UNIBLOC - marca Shimadzu® - Quioto/Japão (modelo UX-6200H), sendo descontado posteriormente o valor do peso da forma (GUIMARÃES et al., 2010). A aferição da altura da massa do pão foi realizada pela medição com uma régua no centro e em cada lado do pão.

A perda de peso foi determinada pela diferença entre os pesos pós e pré-forneamento. Enquanto que o rendimento foi determinado a partir do valor do peso da preparação pronta dividido pelo peso da preparação crua (GUIMARÃES et al., 2010).

O volume aparente das amostras foi definido a partir do método de deslocamento de sementes de painço, conforme a metodologia de Pizzinatto et al. (1993). A amostra foi depositada em um *becker* e as sementes de painço despejadas com auxílio de um funil até que ocorresse o transbordamento e a completa deposição do painço, depois foi nivelada com uma régua. O painço excedente foi aferido em uma proveta.

O volume específico foi determinado pelo cálculo do volume aparente sobre o peso da amostra. Todas as avaliações descritas foram realizadas em triplicata.

### 2.2.2 Cor

Em relação à cor dos pães, foram avaliadas a parte interna, determinada a partir do miolo, e a parte externa, por meio da crosta.

A cor do miolo e da crosta dos pães foi mensurada durante o dia, no interior de uma sala iluminada com lâmpadas fluorescentes, por colorímetro da marca Konica Minolta® - Osaka/Japão (modelo Chrona Meter CR400). O sensor do equipamento foi colocado de forma que o feixe de luz incidisse na sua totalidade sobre as amostras.

O colorímetro possibilita a identificação do espectro de cores, em um sistema tridimensional, sendo que o eixo vertical, “L”, se refere à cor da amostra do preto ao branco; o eixo “a”, da cor verde ao vermelho; e o eixo “b” da cor azul ao amarelo. O eixo L varia de 0 a 100, sendo os valores acima de 50, as amostras mais claras, abaixo de 50 amostras mais escuras. O parâmetro +a\* indica amostras na região do vermelho e -a\* coloração verde. O parâmetro +b\* indica amarelo enquanto -b\* amostra com coloração azul. Todas as leituras foram realizadas em triplicata.

### 2.2.3 Textura

Foram verificados parâmetros relacionados à textura das formulações elaboradas utilizando um texturômetro da marca Stable Micro Systems® - Londres/Reino Unido (modelo TA.XT *plus*) e *probe* cilíndrico com raio de 36 milímetros (código P/36R). Os parâmetros foram medidos pela penetração nas amostras de pães, sendo a força máxima determinada no primeiro ciclo de compressão e definida a partir das seguintes condições: texturômetro cilíndrico, velocidade máxima de teste de 4,0mm/s; velocidade mínima de teste de 0,01mm/s distância de ruptura de 0.001mm. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

A partir dos resultados do texturômetro foi possível calcular alguns parâmetros reológicos, como elasticidade, medida através da razão entre duas deformações; coesividade, aferida por meio da razão entre as áreas de trabalho; viscosidade, medida pela distância da altura detectada durante a segunda compressão e dividida pela distância da primeira; e

mastigabilidade, ou seja, a energia requerida para mastigar o alimento, aferida pela dureza multiplicada pela coesividade multiplicada pela elasticidade (CALABUIG, 2012).

#### **2.2.4 Imagens dos poros**

Após os pães esfriarem em temperatura ambiente (25°C), uma fatia de mesma espessura de cada tratamento foi fotografada. Utilizando o software Image J versão 1.34s, as imagens foram convertidas em 8 bits e, após, o método de segmentação Otsu foi selecionado para produzir imagens binárias, a fim de verificar os poros do miolo dos pães (Sánchez-Pardo et al., 2008).

### **2.3 ANÁLISES QUÍMICAS**

#### **2.3.1 Composição centesimal**

Para a determinação da composição centesimal foram avaliadas amostras das preparações após o forneamento. As análises químicas foram realizadas em triplicata, no Laboratório de Compostos Bioativos do Curso de Engenharia de Alimentos do Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos da UFRGS.

A determinação de proteínas foi realizada pelo método Kjeldahl, utilizando 0,5g de amostra, 5g de mistura catalítica e 20mL de ácido sulfúrico para a realização da digestão à 400°C em tubos de Kjeldahl. A partir de uma reação de oxirredução, as moléculas de proteína foram destruídas, liberando compostos voláteis, alterando a cor da amostra para uma tonalidade azulada. Na destilação, aproximadamente 60mL de ácido bórico 4%, água destilada e indicador de Tashiro foram adicionados ao *erlenmeyer*. Em seguida, foi realizada a titulação com ácido sulfúrico 0,1N. O volume gasto foi anotado para medir o nitrogênio total e o valor foi convertido em proteína bruta pelo fator de referência 5,70 (indicado para grãos e cereais) (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Os lipídeos foram determinados por meio do método Bligh-Dyer. Por meio da mistura de três solventes (água, clorofórmio e metanol) em diferentes proporções foram formadas duas fases distintas: uma de clorofórmio, onde ficam os lipídeos, e outra de metanol e água contendo compostos não lipídicos. A fase de clorofórmio é então separada num balão para os lipídeos serem quantificados, conforme metodologia de Cecchi (2003).

As cinzas foram apuradas a partir do método gravimétrico de obtenção da perda de peso do material quando submetido à temperatura de 550°C. Os cadinhos utilizados na análise foram calcinados previamente por 12 horas na mufla, resfriados em dessecador, pesados e tarados. 1g de amostra foi pesada, seca em chapa de aquecimento e transferida para a mufla até a completa destruição da matéria orgânica, com a obtenção de peso constante. Em seguida, a amostra foi esfriada em dessecador e pesada em balança analítica (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008).

Para determinar a umidade, as amostras foram maceradas em gral. A cápsula foi previamente seca em estufa DeLeo<sup>®</sup> por 2 horas, levada ao dessecador para esfriar, pesada em balança digital analítica (0,0001g) UNIBLOC - marca Shimadzu<sup>®</sup> (modelo AY-220) e, após, teve seu peso tarado. A umidade foi avaliada a partir da perda de peso por dessecação de uma amostra de 3g submetida ao aquecimento em estufa à 105°C até a obtenção de peso constante (CARVALHO et al., 2002).

Os carboidratos foram avaliados pela diferença entre 100 gramas do alimento e a soma total dos valores a serem encontrados para proteínas, lipídeos, fibras e cinzas (INSTITUTO ADOLFO LUTZ, 2008). Para a determinação do valor calórico de uma porção de 100 gramas de preparação foram utilizados os valores estipulados pela RDC n°360 (BRASIL, 2003), sendo quatro kcal para 1g de carboidrato, quatro kcal para 1g de proteína e nove kcal para 1g de lipídeo, os quais foram multiplicados pelos valores encontrados para a quantidade dos respectivos macronutrientes e, por fim, os resultados somados para a obtenção o valor calórico total na porção.

### **2.3.2 Avaliação de aminoácidos**

A avaliação do teor de aminoácidos (AAs) foi realizada no Laboratório de Métodos Biofísicos de Análise da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Para a obtenção dos AAs a partir das amostras das preparações realizou-se um pré-tratamento, onde uma fração da amostra foi colocada em estufa DeLeo<sup>®</sup> a 105°C durante 24h para secagem (evaporação de água) e, posteriormente, foi pesada.

Após esse procedimento, foi realizada hidrólise das proteínas com ácido clorídrico (HCl) concentrado sobre refluxo por 24h e colocação das amostras na mesma estufa. Em seguida, os tratamentos foram filtrados e titulados. Depois, foi feita derivatização com NDA (2,3-naftaleno dicarboxaldeído) para análise por Fluorescência Induzida por Laser (LIF -



*Laser Induced Fluorescence*) ISB<sup>®</sup> - Brasil (modelo PNA-LIF).

Por fim, para a quantificação dos AAs, foi empregada a análise cromatográfica HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) BioTek<sup>®</sup> - Alemanha (modelo System 525) com um sistema de bomba ternária e uma coluna Hi-Chrom C18<sup>®</sup> - Reino Unido termostalizada (modelo HI-5C18-250<sup>a</sup>), no qual foi injetado 10 microlitros da amostra derivada. Então, foi separado por gradiente de eluição com água destilada acidificada com TFA (ácido trifluoroacético) a pH 2 (eluente A) e acetonitrila (eluente B). Após foi realizada a análise por LIF integrada com o software CHROMULAN, versão 0.90 (Jindrich PIKRON Ltda, 2002) e Microsoft Office Excel (Microsoft Corporation, 2007).

Foram determinadas as áreas e tempos de retenção de cada aminoácido por comparação com os AAs padrão em concentrações conhecidas (SIRI et al., 2006). Todos os procedimentos descritos foram realizados em triplicata.

### **2.3.3 Avaliação de fibras**

A quantidade de fibras foi determinada em duplicata, com o método enzimático gravimétrico descrito pelo AOAC - *Official Methods of Analysis of AOAC International* (2016), na qual as amostras foram submetidas à digestão com três enzimas: alfa-amilase termo resistente, protease e amiloglicosidase, obtidas com o uso do Kit Sigma-Aldrich (modelo TDF100A-1KT).

Para determinação de fibras totais, após a digestão das amostras, foi adicionado álcool etílico 95% e deixou-se essa mistura em repouso por uma hora. A amostra então foi filtrada com bomba de vácuo em cadinhos de vidro e posteriormente esses foram levados à estufa à 105°C. Após a secagem, uma replicata foi levada à mufla e determinou-se o teor de cinza, enquanto que na outra replicata, determinou-se o teor de proteína.

Para determinação de fibras insolúveis seguiu-se o mesmo método, no entanto as amostras não foram submetidas ao álcool 95%. As fibras solúveis foram calculadas pela diferença entre as fibras totais e as fibras insolúveis.

### **2.3.4 Análise de pH**

Após a etapa da homogeneização dos ingredientes utilizados, descritos na etapa de elaboração dos pães, a massa fresca de cada amostra foi acondicionada nas formas e, antes da fermentação, teve seu pH mensurado sob temperatura de 25°C através de um pHmetro Mettler

Toledo® (modelo MP220) até obtenção de valor constante, conforme metodologia descrita por Hervé et al. (2006).

## 2.4 ANÁLISE SENSORIAL E INTENÇÃO DE COMPRA COM CELÍACOS E NÃO CELÍACOS

As amostras dos pães foram submetidas à análise sensorial e de intenção de compra no Laboratório de Técnica Dietética do curso de nutrição da Faculdade de Medicina da UFRGS em dois grupos e dias distintos, sendo que ambos avaliaram os atributos: aparência, textura, sabor, odor, cor, aceitação global e intenção de compra.

Em um primeiro momento foi realizado um teste afetivo 54 avaliadores não celíacos de ambos os sexos com idade adulta recrutados de forma aleatória e voluntária das dependências da UFRGS. Esses avaliadores foram convidados para participar da análise por cartazes fixados na Faculdade de Medicina (APÊNDICE A) e/ou folders virtuais em mídias sociais e e-mails (APÊNDICE B). Em outro momento foi realizado um teste afetivo na Universidade com 11 celíacos da Acelbra não-treinados (APÊNDICE C).

Para ambos os grupos os pães foram oferecidos em mesas individuais sob luzes fluorescentes e cada avaliador recebeu para a análise sensorial uma fatia de aproximadamente 10g de cada formulação com códigos de três dígitos aleatórios, um copo de água para limpeza das papilas gustativas e uma ficha para análise sensorial e de intenção de compra (APÊNDICE D), a qual continha uma escala hedônica de nove pontos (1= Desgostei muitíssimo, 9= Gostei muitíssimo) e de cinco pontos (1= Certamente não compraria, 5= Certamente compraria) respectivamente, de acordo com a metodologia preconizada por Morales (1994).

### 2.4.1 Índice de aceitabilidade

Para o cálculo do índice de aceitabilidade (IA) de cada tratamento, foi utilizada a seguinte expressão, conforme descrito por VIANA (2009):

$$IA (\%) = A \times 100/B \quad (1)$$

Onde:

A= nota média obtida para cada tratamento

B= nota máxima dada a cada tratamento

## 2.5 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram analisados através de análise de variância e para a comparação das médias das amostras foi aplicado o teste de Tukey, utilizando-se um nível de 5% de significância. Para análise dos dados foi utilizado o software estatístico ESTAT versão 7.7 Beta 1994.

## 2.6 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo foi submetido aos Comitês de Pesquisa e de Ética em pesquisa de seres humanos da Faculdade de Medicina (FAMED) da UFRGS, protocolo CAAE: 79733717.1.0000.5347, seguindo a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. Os avaliadores para poderem participar da análise sensorial e intenção de compra assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE E) após receberem informações detalhadas das preparações e dos procedimentos, de acordo com as Diretrizes e Normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No que diz respeito aos parâmetros de peso pré e pós forneamento (Tabela 2), houve diferença estatística significativa apenas para o tratamento sem glúten e sem de proteína do soro do leite (CCPF), enquanto a altura pré e pós forneamento não diferiram estatisticamente entre os tratamentos com proteína, independentemente da quantidade adicionada ( $p > 0,05$ ).

Em relação ao rendimento e à perda de peso, os resultados foram convergentes para os tratamentos CCPF e WP30. Sahagún e Gomez (2018) perceberam que o pão com 70g de amido de milho e 30% de proteína do soro sobre o peso da farinha perdeu menos água do que as outras amostras, dado que corrobora com esse estudo. Esses autores esclarecem que, como há um baixo nível de hidratação, a quantidade de água disponível é mais baixa e que a proteína adicionada possui maior capacidade de ligação à água quando comparada com um tratamento sem acréscimo desse ingrediente.

Em geral, estudos anteriores sobre a adição de proteína em pães sem glúten relataram resultados contraditórios quanto ao volume específico e volume aparente (SAHAGÚN E GOMEZ, 2018). Neste trabalho, não houve diferença estatística significativa entre os

tratamentos para volume aparente, mas houve para o volume específico entre CCPF, WP10 e WP30.

Krupa-Kozak et al. (2013) testaram a adição de 12g e 24g de proteína do soro do leite isolada e de proteína hidrolisada em pães sem glúten com amido de batata e amido de milho e encontraram uma melhoria significativa de volume específico com a menor quantidade de proteína, principalmente a hidrolisada.

Já Srikanlaya et al. (2018) identificaram o oposto, o volume específico foi menor em pães elaborados com farinha de arroz com 6g de proteína concentrada em relação ao tratamento padrão. Outro teste, desta vez com 4g de proteína e 4g de hidrocolóides também diminuiu o volume específico com diferença estatística significativa, possivelmente porque a formulação não conseguiu desenvolver porosidade semelhante ao pão de trigo.

**Tabela 2 – Parâmetros físicos pré e pós forneamento dos pães elaborados**

Parâmetros	Tratamentos				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
Altura pré forneamento (cm)	1.1±0.1 <sup>a</sup>	1.4±0.1 <sup>a</sup>	1.2±0.2 <sup>a</sup>	1.3±0.3 <sup>a</sup>	1.4±0.1 <sup>a</sup>
Altura pós forneamento (cm)	3.0±0.4 <sup>b</sup>	3.0±0.5 <sup>b</sup>	3.5±0.5 <sup>ab</sup>	4.0±0.5 <sup>ab</sup>	4.4±0.3 <sup>a</sup>
Peso pré forneamento (g)	212.5±0.2 <sup>c</sup>	219.6±0.2 <sup>a</sup>	216.4±0.3 <sup>b</sup>	212.2±0.3 <sup>c</sup>	216.0±0.0 <sup>b</sup>
Peso pós forneamento (g)	176.5±0.2 <sup>e</sup>	192.8±0.1 <sup>a</sup>	191.5±0.0 <sup>b</sup>	188.4±0.0 <sup>d</sup>	189.5±0.0 <sup>c</sup>
Perda de peso (%)	17.0±0.0 <sup>a</sup>	12.2±0.0 <sup>b</sup>	11.5±0.1 <sup>c</sup>	11.2±0.0 <sup>d</sup>	12.2±0.0 <sup>b</sup>
Rendimento (%)	82.9±0.0 <sup>d</sup>	87.7±0.0 <sup>c</sup>	88.4±0.1 <sup>b</sup>	88.7±0.0 <sup>a</sup>	87.7±0.0 <sup>c</sup>
Volume aparente (cm <sup>3</sup> )	15±5.7 <sup>a</sup>	8.3±2.9 <sup>a</sup>	10±1.0 <sup>a</sup>	15±1.0 <sup>a</sup>	20±5.7 <sup>a</sup>
Volume específico (cm <sup>3</sup> /g <sup>-1</sup> )	2.8±0.4 <sup>ab</sup>	1.4±0.2 <sup>c</sup>	2.3±0.1 <sup>b</sup>	3.0±0.6 <sup>ab</sup>	3.3±0.2 <sup>a</sup>

Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não apresentam diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ). WF- *wheat flour*; CCPF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- 10% *whey protein*; WP20- 20% *whey protein*; WP30- 30% *whey protein*.

Como se pode observar na tabela 3, a luminosidade do miolo não apresentou diferença estatística significativa entre o WF e os pães com proteína do soro. O parâmetro a\* não apresentou diferença estatística significativa entre nenhum tratamento, já para o valor de b\*, o pão sem proteína do soro e sem glúten (CCPF) revelou miolo mais amarelado, com diferença significativa para WF e WP10.

Em relação à cor da crosta, para o parâmetro a\*, nesse trabalho houve diferença estatística significativa apenas para o tratamento com farinha de trigo. Sahagún e Gómez (2018) verificaram valor de a\* maior para tratamentos com 30% proteína do soro do leite em

pães sem glúten, causando uma crosta mais avermelhada. Além disso, conforme os achados desses autores, essa quantidade de proteína reduziu os valores  $b^*$  em relação ao tratamento controle. Diferentemente deste estudo, que não encontrou diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ) para esse mesmo parâmetro entre os tratamentos que possuíam proteína.

Ainda sobre a colorimetria da crosta, percebeu-se a diminuição dos valores de luminosidade com a incorporação de proteínas lácteas. A explicação para essa redução é com base na participação de aminoácidos em reações de Maillard, principalmente lisina (SAHAGÚN E GÓMEZ, 2018), já que a cadeia lateral desse aminoácido reage com os açúcares redutores durante esse processo de escurecimento (MOHAMMAD et al., 2012).

**Tabela 3 – Valores de luminosidade,  $a^*$  e  $b^*$  para os pães elaborados**

Parâmetros	Tratamentos				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
<b>Miolo</b>					
Luminosidade	82.95±1.8 <sup>a</sup>	74.65±2.1 <sup>b</sup>	78.10±2.4 <sup>ab</sup>	77.20±3.3 <sup>ab</sup>	78.40±2.3 <sup>ab</sup>
$a^*$	0.90±0.2 <sup>a</sup>	2.30±1.1 <sup>a</sup>	1.80±0.3 <sup>a</sup>	1.70±0.2 <sup>a</sup>	1.80±0.3 <sup>a</sup>
$b^*$	16.20±0.9 <sup>c</sup>	24.80±2.3 <sup>a</sup>	20.50±2.2 <sup>b</sup>	22.00±0.1 <sup>ab</sup>	23.60±0.3 <sup>ab</sup>
<b>Crosta</b>					
Luminosidade	53.40±1.6 <sup>a</sup>	50.30±3.3 <sup>a</sup>	32.70±2.1 <sup>b</sup>	35.60±2.9 <sup>b</sup>	39.70±3.8 <sup>b</sup>
$a^*$	19.90±1.3 <sup>b</sup>	21.00±1.5 <sup>ab</sup>	22.30±1.0 <sup>ab</sup>	20.75±0.7 <sup>ab</sup>	24.80±0.6 <sup>a</sup>
$b^*$	35.20±1.3 <sup>a</sup>	33.10±3.0 <sup>ab</sup>	17.20±2.5 <sup>b</sup>	15.40±2.6 <sup>b</sup>	36.70±3.5 <sup>ab</sup>

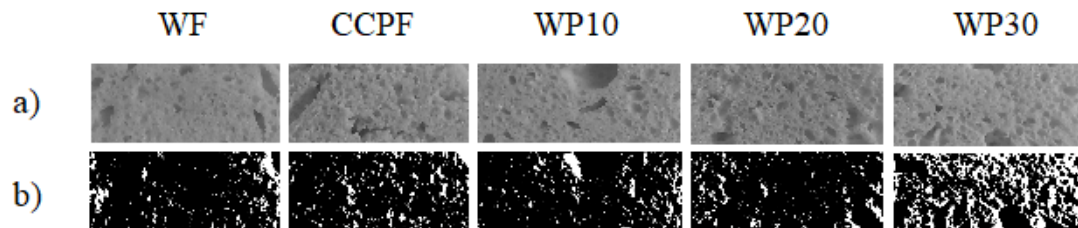
Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não apresentam diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ).

WF- *wheat flour*; CCPF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- 10% *whey protein*; WP20- 20% *whey protein*; WP30- 30% *whey protein*.

A fim de verificar os poros do miolo dos pães, as imagens foram convertidas em escala de cinza (Figura 2a) e produzidas representações binárias (Figura 2b). Percebe-se a presença de poros relativamente maiores em WP10, criando uma aparência mais heterogênea. Nota-se o tratamento CCPF mais quebradiço, com algumas irregularidades no miolo. Ainda, WP30 parece ter um maior número de poros, diferentemente do tratamento WP20, que aparenta similaridade com o controle, WF.

No estudo de Ziobro et al. (2016), a adição de 10% de proteína do soro do leite causou mudanças na estrutura do miolo (maior porosidade) e na cor, que era geralmente mais escura do que a do pão controle, elaborado a base de amido de milho e de batata. De acordo com

esses autores, o papel das proteínas é importante, pois elas podem conter a água e estabilizar o gel de amido formado durante a gelatinização.



**Figura 2 - Imagens dos poros do miolo dos pães elaborados em escala de cinza (a) e binárias (b)**

Neste estudo não houve diferença estatística significativa entre todos os tratamentos para elasticidade (Tabela 4). Já para mastigabilidade e dureza do miolo, o tratamento com maior concentração de proteína (WP30) obteve maior resultado. O mesmo ocorreu no trabalho de Gonçalves et al. (2017), com a utilização de 10% de proteína do soro substituindo a farinha de trigo.

Para viscosidade e dureza da crosta, não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos com 20 e 30% de proteína. Sahagún e Gómez (2018) encontraram também que a adição de 30% proteína do soro do leite fortaleceu a estrutura elástica da massa, gerando um pão com maior dureza, o que corrobora com os achados desse estudo.

Segundo Mohammad et al. (2012), a adição de farinha de grão de bico pode contribuir para um aumento na dureza do miolo, provavelmente como resultado do espessamento das paredes do miolo em torno das células de ar e do fortalecimento de sua estrutura pelas proteínas.

Conforme estudo de Ziobro et al. (2016), a análise reológica permite verificar a influência da composição da massa e do método de preparação em sua estrutura, sendo que a melhor formulação deve combinar viscosidade relativamente baixa com a capacidade de formar uma estrutura forte e rígida, que teria gás suficiente durante o forneamento, a fim de criar uma textura apropriada.

**Tabela 4 – Parâmetros de textura dos tratamentos avaliados**

Parâmetros	Tratamentos				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
<b>Miolo</b>					
Dureza (N)	4.80±0.39 <sup>d</sup>	8.80±1.26 <sup>c</sup>	10.30±1.72 <sup>bc</sup>	12.00±0.80 <sup>b</sup>	28.40±0.00 <sup>a</sup>
Elasticidade (mm)	1.05±0.01 <sup>a</sup>	1.05±0.02 <sup>a</sup>	1.10±0.01 <sup>a</sup>	1.10±0.01 <sup>a</sup>	1.05±0.01 <sup>a</sup>
Coabilidade (g.sec)	0.90±0.04 <sup>bc</sup>	0.90±0.01 <sup>ab</sup>	1.00±0.02 <sup>a</sup>	0.90±0.01 <sup>ab</sup>	0.80±0.05 <sup>c</sup>
Viscosidade (g.sec)	0.30±0.00 <sup>a</sup>	0.30±0.02 <sup>ab</sup>	0.25±0.01 <sup>ab</sup>	0.20±0.00 <sup>bc</sup>	0.20±0.01 <sup>c</sup>
Mastigabilidade (N)	1.18±0.08 <sup>c</sup>	2.24±0.40 <sup>bc</sup>	2.57±0.45 <sup>b</sup>	2.45±0.24 <sup>bc</sup>	4.69±0.86 <sup>a</sup>
<b>Crosta</b>					
Dureza (N)	0.20±0.01 <sup>d</sup>	0.50±0.05 <sup>b</sup>	0.40±0.01 <sup>c</sup>	1.30±0.17 <sup>a</sup>	1.70±0.33 <sup>a</sup>

Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não apresentam diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ).

WF- *wheat flour*; CCPF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- 10% *whey protein*; WP20- 20% *whey protein*; WP30- 30% *whey protein*.

Srikanlaya et al. (2018) formularam pães de farinha de arroz com até 6g de adição de proteína do soro do leite concentrada. Como resultado, depararam-se com menores valores para elasticidade, coabilidade e mastigabilidade e maior valor para dureza em relação ao controle, com 100g de farinha de trigo. Neste trabalho, a adição de 30g de proteína do soro do leite isolada e hidrolisada obteve diferença estatística para os demais tratamentos em relação à dureza do miolo e da crosta e à mastigabilidade.

De acordo com os resultados da Tabela 5, em relação à umidade, não houve diferença estatística significativa para nenhum tratamento. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária RDC nº 14 (BRASIL, 2000) recomenda o valor limite máximo de 38% de umidade para produtos panificados, contudo ainda não estabelece valor específico para formulações com adição de proteína do soro do leite. Melo Filho e Vasconcelos (2011) advertem que quanto maior o teor de umidade, maior é a velocidade de deterioração do alimento, reduzindo sua vida útil.

**Tabela 5 – Composição centesimal e valor calórico dos pães elaborados**

Parâmetros (%)	Tratamentos				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
Umidade	14.65±0.2 <sup>a</sup>	14.90±0.1 <sup>a</sup>	14.70±0.2 <sup>a</sup>	14.80±0.3 <sup>a</sup>	14.90±0.4 <sup>a</sup>
Cinzas	19.60±0.1 <sup>b</sup>	20.45±0.3 <sup>a</sup>	13.50±0.3 <sup>d</sup>	12.60±0.3 <sup>c</sup>	14.20±0.4 <sup>c</sup>
Lipídeos	1.25±0.3 <sup>bc</sup>	0.30±0.1 <sup>d</sup>	0.70±0.0 <sup>cd</sup>	1.50±0.4 <sup>ab</sup>	1.90±0.0 <sup>a</sup>
Proteínas	4.30±0.3 <sup>e</sup>	4.70±0.2 <sup>d</sup>	6.30±0.0 <sup>c</sup>	6.50±0.0 <sup>b</sup>	9.70±0.2 <sup>a</sup>
Carboidratos	69.10±2.8 <sup>b</sup>	69.35±2.1 <sup>b</sup>	64.6±1.0 <sup>a</sup>	67.0±3.2 <sup>ab</sup>	76.2±6.5 <sup>b</sup>
Kcal/100g	304.85±1.2 <sup>c</sup>	298.9±1.1 <sup>d</sup>	290.0±2.8 <sup>e</sup>	307.5±1.6 <sup>b</sup>	360.7±2.6 <sup>a</sup>

Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não apresentam diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ).

WF- *wheat flour*; CCPF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- 10% *whey protein*; WP20- 20% *whey protein*; WP30- 30% *whey protein*.

O maior conteúdo de cinzas foi observado no tratamento CCPF (20,45%) fato que possivelmente ocorreu pela maior quantidade de farinha de grão de bico, que é rica em cálcio, magnésio, potássio e fósforo (NEPA, 2011). Em uma revisão de literatura Naqash et al. (2017) encontraram em seus estudos que a farinha de grão de bico obteve bons resultados em todos os parâmetros estudados, indicando que esse ingrediente é uma alternativa promissora para pães sem glúten.

Com relação ao teor de lipídeo não foi encontrada diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ) entre os tratamentos WP20 e WP30. Enquanto que o tratamento CCPF, opção sem glúten e sem proteína do soro, foi a formulação que apresentou menor quantidade de lipídios (0,34) apresentando diferença estatística em relação a todos os tratamentos, exceto ao WP10.

Conforme o aumento da quantidade de proteína do soro do leite na formulação, maior foi o conteúdo de proteína no pão. Resultado semelhante foi achado por Rustagi et al. (2018), que trabalharam com pães sem glúten com farinha de sorgo, amido de batata e proteína do soro do leite concentrada. Esses pesquisadores concluíram que o uso de 15% de proteína obteve os melhores resultados em termos de composição centesimal.

Com relação à quantidade de carboidratos, houve similaridade entre os tratamentos WP10 e WP20, ambos sem glúten e com concentrações moderadas de proteína do soro do leite. Quanto à energia, os tratamentos foram estatisticamente diferentes entre si. WP30 revelou-se com maior teor calórico, provavelmente pelo maior teor proteico, lipídico e glicídico.

Em relação aos teores de aminoácidos apresentados na Tabela 6, o tratamento com



20% de proteína do soro (WP20) obteve resultados estatisticamente significativos para glutamina (21,87%), leucina + isoleucina (22,20%) e lisina (37,04%). Segundo Wu et al. (2017), o teor de lisina aumenta conforme aumenta a suscetibilidade de farinhas sem glúten à reação de Maillard. A diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) observada nesse tratamento não foi apenas para esses aminoácidos citados, mas para todos os analisados, exceto histidina.

Os aminoácidos serina, glutamina, treonina, glicina, alanina, fenilalanina, leucina + isoleucina e lisina foram convergentes para os tratamentos WF, CCPF e WP10 mostrando similaridades e não demonstrando diferença estatística significativa. A metodologia não foi capaz de detectar a quantidade de metionina das amostras para CCPF, WP20 e WP30, devido aos valores diminutos.

O teor total de aminoácidos não apresentou diferença estatística significativa entre os tratamentos WF, CCPF e WP10. WP20 apresentou maior valor (160,46mg/g), seguido de WP30 (109,15mg/g), com diferença significativa entre si.

**Tabela 6 – Aminograma dos pães elaborados**

Aminoácidos (AAs) (mg/g)	Tratamentos				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
Serina	2.60±0.19 <sup>c</sup>	3.20±0.35 <sup>c</sup>	2.90±0.05 <sup>c</sup>	9.10±0.41 <sup>a</sup>	6.50±0.03 <sup>b</sup>
Asparagina	3.00±0.03 <sup>d</sup>	4.80±0.42 <sup>c</sup>	5.40±0.09 <sup>c</sup>	16.60±0.67 <sup>a</sup>	11.70±0.30 <sup>b</sup>
Glutamina	8.30±0.91 <sup>c</sup>	6.30±0.60 <sup>c</sup>	6.60±0.11 <sup>c</sup>	21.90±0.99 <sup>a</sup>	15.60±0.38 <sup>b</sup>
Treonina	1.80±0.13 <sup>c</sup>	2.30±0.13 <sup>c</sup>	2.60±0.04 <sup>c</sup>	8.30±0.58 <sup>a</sup>	6.60±0.12 <sup>b</sup>
Glicina	1.50±0.30 <sup>c</sup>	1.90±0.18 <sup>c</sup>	1.90±0.03 <sup>c</sup>	4.50±0.03 <sup>a</sup>	3.20±0.24 <sup>b</sup>
Tirosina	1.50±0.01 <sup>cd</sup>	1.50±0.21 <sup>d</sup>	2.00±0.03 <sup>c</sup>	4.90±4.41 <sup>a</sup>	4.00±0.16 <sup>b</sup>
Alanina	1.90±0.11 <sup>c</sup>	2.60±0.22 <sup>c</sup>	3.00±0.05 <sup>c</sup>	8.90±0.85 <sup>a</sup>	6.70±0.09 <sup>b</sup>
Valina	2.30±0.15 <sup>d</sup>	2.70±0.22 <sup>d</sup>	3.40±0.05 <sup>c</sup>	9.00±0.29 <sup>a</sup>	6.60±0.07 <sup>b</sup>
Fenilalanina	2.70±0.16 <sup>c</sup>	3.10±0.20 <sup>c</sup>	3.10±0.05 <sup>c</sup>	7.10±0.25 <sup>a</sup>	5.20±0.11 <sup>b</sup>
Leucina + Isoleucina	5.40±0.43 <sup>c</sup>	6.25±0.51 <sup>c</sup>	7.50±0.13 <sup>c</sup>	22.20±0.94 <sup>a</sup>	16.00±0.56 <sup>b</sup>
Lisina	2.20±0.28 <sup>d</sup>	3.00±0.10 <sup>c</sup>	3.50±0.06 <sup>c</sup>	37.00±0.01 <sup>a</sup>	29.10±0.00 <sup>b</sup>
Histidina	0.90±0.07 <sup>c</sup>	1.10±0.00 <sup>bc</sup>	1.50±0.02 <sup>a</sup>	1.85±0.20 <sup>a</sup>	1.50±0.01 <sup>ab</sup>
Arginina	2.10±0.09 <sup>d</sup>	2.90±0.17 <sup>c</sup>	3.20±0.05 <sup>c</sup>	6.00±0.33 <sup>a</sup>	4.50±0.10 <sup>b</sup>
Metionina	0.10±0.01 <sup>b</sup>	-	1.30±0.02 <sup>a</sup>	-	-
<b>Total de AAs</b>	36.45±1.45 <sup>c</sup>	41.60±3.12 <sup>c</sup>	47.90±0.80 <sup>c</sup>	160.50±1.06 <sup>a</sup>	109.15±12.06 <sup>b</sup>

Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não apresentam diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ).

WF- *wheat flour*; CCPF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- 10% *whey protein*; WP20- 20% *whey protein*; WP30- 30% *whey protein*.

A Tabela 7 demonstra que o tratamento com maior teor de proteína do soro do leite (WP30) apresentou maior conteúdo de fibras totais, com diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) para os demais. Em relação às fibras insolúveis, o tratamento sem glúten e sem adição de proteína do soro (CCPF) foi estatisticamente inferior a todos os outros tratamentos. Para as fibras solúveis, esse mesmo tratamento apresentou diferença estatística significativa para WF, WP10 e WP20, provavelmente, pelo seu maior conteúdo de farinha de grão de bico, que é rica neste tipo de fibra.

**Tabela 7 – Teores de fibras totais, insolúveis e solúveis e análise de pH dos pães elaborados**

Parâmetros (g)	Tratamentos				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
Fibras totais	29.30±2.34 <sup>b</sup>	29.00±1.07 <sup>b</sup>	29.40±0.49 <sup>b</sup>	31.60±2.25 <sup>b</sup>	35.50±5.50 <sup>a</sup>
Fibras insolúveis	28.70±1.59 <sup>a</sup>	22.00±0.22 <sup>b</sup>	28.80±0.29 <sup>a</sup>	28.00±0.24 <sup>a</sup>	27.80±0.02 <sup>a</sup>
Fibras solúveis	0.60±0.38 <sup>a</sup>	7.00±0.85 <sup>c</sup>	0.60±0.41 <sup>ab</sup>	3.55±2.01 <sup>b</sup>	7.70±5.48 <sup>cd</sup>
pH	5.6±0.01 <sup>b</sup>	5.4±0.01 <sup>d</sup>	5.6±0.00 <sup>b</sup>	5.5±0.00 <sup>c</sup>	5.7±0.01 <sup>a</sup>

Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não apresentam diferença estatística significativa ( $p > 0,05$ ).

WF- *wheat flour*; CCPF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- 10% *whey protein*; WP20- 20% *whey protein*; WP30- 30% *whey protein*.

Segundo Brummer et al. (2015), os polissacarídeos encontrados nas paredes celulares dos vegetais não são uniformes e, portanto, têm distribuições de peso molecular amplo. Através de um experimento com luz pulsada, esses pesquisadores indicaram que a fibra solúvel presente no grão de bico era composta de várias subfrações diferentes. Isso pode sugerir uma estrutura polimérica altamente ramificada, servindo de explicação para a variação encontrada. Além disso, de acordo com esses autores, o processamento térmico aumenta essa quantidade de fibra devido à retrogradação de amido.

Para Gonçalves et al. (2017), tanto a temperatura quanto o pH podem influenciar a solubilidade da proteína do soro do leite, já que altas temperaturas e acidificação são inerentes ao processo de forneamento. Neste trabalho, houve diferença estatística significativa para o pH do tratamento com maior quantidade de proteína.

De acordo com os resultados da análise sensorial realizada por avaliadores não celíacos (Tabela 8), em relação ao atributo aparência, os tratamentos WF, WP10 e WP20 apresentaram diferença estatística significativa para o CCPF, que é o tratamento sem glúten e

sem adição de proteína do soro. CCPF e WP30 apesar de serem as médias mais baixas, obtiveram uma média satisfatória, acima de 6,0, a qual de acordo com a escala hedônica representa o “gostei ligeiramente”.

Ao se analisar os atributos textura e odor, percebe-se que não houve diferença significativa entre o padrão (WF) e os tratamentos adicionados de 10% e 20% (WP10 e WP20, respectivamente).

Em relação ao atributo sabor, há similaridade entre WF (7,20) e WP20 (6.50), contudo demonstram diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ) para os demais tratamentos. Esse cenário se repetiu em relação à aceitação global e intenção de compra, sendo a intenção analisada em escala de 5,0 pontos.

Para o atributo cor, o tratamento CCPF difere estatisticamente dos tratamentos WF e WP10. O tratamento com farinha de trigo (WF) obteve as notas mais altas para todos os atributos, obtendo média acima de 7,0, o que representa “gostei moderadamente” de acordo com a escala hedônica, possivelmente por apresentar características sensoriais já esperadas, uma vez que é usualmente consumido por indivíduos não celíacos.

Nesse estudo não houve diferença estatística significativa entre o tratamento controle (WF) e o tratamento com 20g de adição de proteína do soro do leite isolada e hidrolisada (WP20) para nenhum atributo. Díaz-Ramírez et al. (2016) avaliaram o efeito da adição de 12,5g, 25g, 50g e 100g de proteína do soro do leite isolada como substituta da clara de ovo em pães de ló em relação controle (sem proteína do soro) e verificaram que não houve diferença estatística significativa entre o tratamento controle e o de 25g para quase todos os atributos, exceto aparência e odor.

**Tabela 8 – Aceitabilidade e de intenção de compra dos pães elaborados realizada por não celíacos**

Atributos	Tratamentos				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
Aparência	7.40±1.31 <sup>a</sup>	6.40±2.00 <sup>b</sup>	7.20±1.21 <sup>a</sup>	7.20±1.43 <sup>a</sup>	6.80±1.73 <sup>ab</sup>
Textura	7.50±1.33 <sup>a</sup>	6.30±1.92 <sup>bc</sup>	7.00±1.57 <sup>ab</sup>	6.80±1.28 <sup>ab</sup>	5.60±1.72 <sup>c</sup>
Odor	7.20±1.30 <sup>a</sup>	6.10±1.72 <sup>b</sup>	6.80±1.65 <sup>ab</sup>	6.65±1.74 <sup>ab</sup>	6.20±2.03 <sup>b</sup>
Sabor	7.20±1.08 <sup>a</sup>	5.65±1.52 <sup>b</sup>	5.90±1.19 <sup>b</sup>	6.50±1.34 <sup>ab</sup>	5.90±1.41 <sup>b</sup>
Cor	7.60±1.50 <sup>a</sup>	6.80±1.16 <sup>b</sup>	7.40±1.74 <sup>a</sup>	7.30±1.71 <sup>ab</sup>	6.90±2.05 <sup>ab</sup>
Aceitação global	7.50±1.25 <sup>a</sup>	5.80±2.04 <sup>c</sup>	6.50±1.50 <sup>bc</sup>	6.70±1.50 <sup>ab</sup>	6.10±1.91 <sup>bc</sup>
Intenção de compra	3.90±1.06 <sup>a</sup>	2.90±1.36 <sup>b</sup>	3.30±1.03 <sup>b</sup>	3.35±1.12 <sup>ab</sup>	3.00±1.25 <sup>b</sup>

Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não apresentam diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ).

WF- *wheat flour*; CCPF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- 10% *whey protein*; WP20- 20% *whey protein*; WP30- 30% *whey protein*.

Na análise sensorial realizada pelos celíacos (Tabela 9) não houve diferença estatística entre os tratamentos para nenhum atributo. Provavelmente, esse resultado ocorreu devido à dificuldade encontrada pelos avaliadores em encontrar produtos sensorialmente agradáveis destinados a esse público e também possivelmente por já estarem acostumados com o sabor e com os outros atributos desse tipo de alimento.

No estudo de Laureati et al. (2012), que trabalharam com pães sem glúten a partir do amido de milho e da farinha de arroz, o fator doença celíaca quase nunca foi significativo, indicando que avaliadores celíacos e não celíacos não diferiram em seus escores de avaliação.

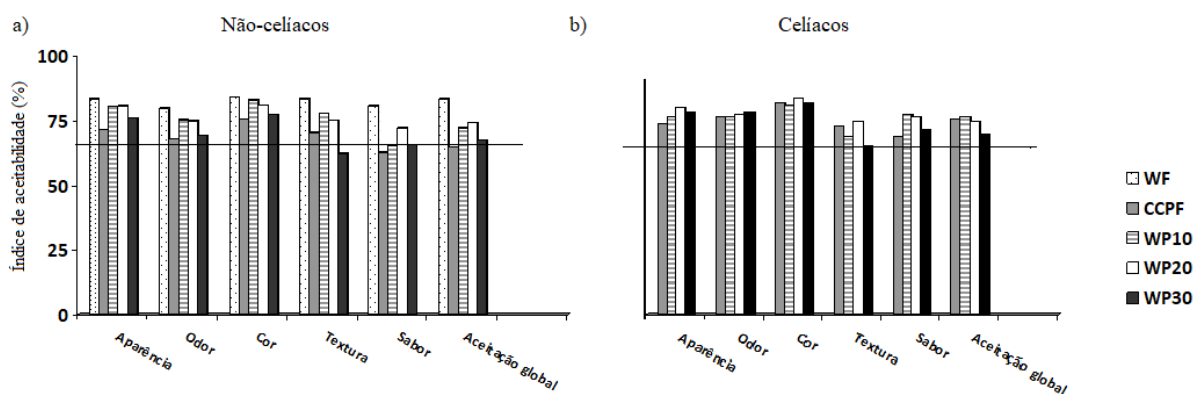
**Tabela 9 – Aceitabilidade e intenção de compra dos pães elaborados realizada por celíacos**

Atributos	Tratamentos			
	CCPF	WP10	WP20	WP30
Aparência	7.30±1.84 <sup>a</sup>	7.60±1.12 <sup>a</sup>	7.90±1.30 <sup>a</sup>	7.70±1.34 <sup>a</sup>
Odor	7.50±1.43 <sup>a</sup>	7.50±1.12 <sup>a</sup>	7.60±1.36 <sup>a</sup>	7.70±1.34 <sup>a</sup>
Sabor	8.10±8.03 <sup>a</sup>	8.00±0.77 <sup>a</sup>	8.30±0.90 <sup>a</sup>	8.10±0.94 <sup>a</sup>
Cor	8.10±8.03 <sup>a</sup>	8.00±0.77 <sup>a</sup>	8.30±0.90 <sup>a</sup>	8.10±0.94 <sup>a</sup>
Textura	7.20±1.88 <sup>a</sup>	6.80±1.60 <sup>a</sup>	7.40±1.80 <sup>a</sup>	6.45±1.91 <sup>a</sup>
Sabor	6.80±2.13 <sup>a</sup>	7.60±1.12 <sup>a</sup>	7.50±1.69 <sup>a</sup>	7.10±2.11 <sup>a</sup>
Aceitação global	7.45±1.57 <sup>a</sup>	7.50±1.03 <sup>a</sup>	7.40±1.74 <sup>a</sup>	6.90±1.81 <sup>a</sup>
Intenção de compra	3.60±1.43 <sup>a</sup>	4.50±1.75 <sup>a</sup>	4.10±0.70 <sup>a</sup>	3.90±1.30 <sup>a</sup>

Médias seguidas pela mesma letra na horizontal não apresentam diferença estatística significativa ( $p>0,05$ ).

WF- *wheat flour*; CCPF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- 10% *whey protein*; WP20- 20% *whey protein*; WP30- 30% *whey protein*.

O índice de aceitabilidade (Figura 3) foi calculado com base na pontuação obtida pelos atributos da análise sensorial. De acordo com os avaliadores não celíacos (Figura 3a), o tratamento com farinha de trigo (WF) alcançou maior índice de aceitação, com 83,12% e o sem glúten e sem proteína do soro do leite (CCPF) obteve o menor índice, com 64,81%. Entre os tratamentos com proteína do soro, o WP10 apresentou melhor desempenho.



**Figura 3 – Índice de aceitabilidade das formulações de pães avaliadas por (a) não celíacos e (b) celíacos**

Para os avaliadores celíacos (Figura 3b), o tratamento com 10% de proteína do soro obteve melhor resultado (83,83%), seguido do CCPF (82,82%) e do WP20 (81,81%). Ressalta-se que independente do grupo de avaliadores, todos os índices de aceitabilidade de todos os tratamentos alcançaram valores acima de 60%, o que é considerado satisfatório.

#### **4. CONCLUSÃO**

Na análise física de altura pré forneamento, volume aparente, volume específico e elasticidade, os pães com proteína do soro do leite se mostraram com qualidade tecnológica similar ao pão de trigo. Para os parâmetros de colorimetria e textura, a adição de proteína do soro demonstrou pães com menor luminosidade e maior dureza, tanto no miolo quanto na crosta.

A utilização de proteína do soro do leite tornou os pães não só mais proteicos, mas também com maior quantidade de carboidratos e de lipídeos, e ricos em aminoácidos essenciais quando comparados com o pão de farinha de trigo e o de farinha de grão de bico e fécula de mandioca. Ainda, os pães de proteína do soro revelaram-se também com bom perfil de fibras.

A análise sensorial realizada tanto por não celíacos, quanto por celíacos, sugere que o uso de proteína do soro do leite foi viável na elaboração dos pães, tornando-se um alimento sensorialmente agradável e com intenção de compra favorável, pois suas características sensoriais obtiveram boa aceitação em todos os atributos, podendo servir como alternativa alimentar para pessoas saudáveis e principalmente para celíacos.

O pão com 20% de proteína do soro (WP20) demonstrou ser a formulação mais promissora em qualidade tecnológica, nutricional e sensorial, por demonstrar melhor desempenho na avaliação de aminoácidos e bons resultados nas análises centesimal, de fibras e de textura, sem apresentar coloração muito escura e dureza significativa, como o WP30.

A utilização de proteína do soro do leite evidencia uma alternativa interessante para alimentação, porém outros estudos são necessários para uma análise mais completa de como esses ingredientes interagem com os demais durante o processo de panificação.

## REFERÊNCIAS

- AOAC: ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC international**. 20<sup>th</sup> edition, AOAC International, 2016.
- ARAÚJO, W.; MONTEBELLO, N.; BOTELHO, R.; BORGIO, L. **Alquimia dos alimentos**. 3 Ed. - Editora Senac, 2016.
- ARAÚJO, H; ARAÚJO, W; BOTELHO, R; ZANDONADI, R. Doença celíaca, hábitos e práticas alimentares e qualidade de vida. **Revista de Nutrição**; v. 23, n. 3, p. 467-474, 2010.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CELÍACOS. São Paulo: ACELBRA. Disponível em: <http://www.acebra.org.br/2004/alimentos.php>. Acessado em: Maio de 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **A Diretoria Colegiada da ANVISA aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do pão**. Diário Oficial da União. Brasília. 2000.
- BRASIL. Resolução RDC n.360, de 23 de dezembro de 2003. **A Diretoria Colegiada da ANVISA/MS aprova o regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados**. Diário Oficial da União. 26 dez; (251): 33; Seção 1, 2003.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria SAS/MS nº 1149**. Brasília, p.1-8. 2015.
- BRUMMER, Y., KAVIANI, M., TOSH, S. Structural and functional characteristics of dietary fibre in beans, lentils, peas and chickpeas. **Food Research International**, v. 67, p. 117–125, 2015.
- CALABUIG, G. **Texturometría Instrumental: Puesta a punto y aplicación a la tecnología de alimentos**. Máster Universitario em Biotecnología Alimentaria, Universidad de Oviedo, 2012.
- CARVALHO, H.; JONG, E; BELLÓ, R.; SOUZA, R.; TERRA, M. **Alimentos: métodos físicos e químicos de análise**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.
- CECCHI, M. H. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2.ed. Campinas: Editora UNICAMP, 2003
- CÉSAR, A. S.; GOMES, J. C.; STALIANO, C. D.; FANNI, M. L.; BORGES, M. C.; **Elaboração de pão sem glúten**. **Ceres**; v. 53, n. 306, p.150-155, 2006.
- CHAVAN, R.; SHRADDHA, R.; KUMAR, A.; NALAWADE, T. Whey Based Beverage: Its Functionality, Formulations, Health Benefits and Applications. **Journal Food Process Technology**; v. 6, n.10, p.495, 2015.

- DÍAZ-RAMÍREZ, G.; CALDERÓN-DOMÍNGUEZ, M.; GARCÍA-GARIBAY, J.; JIMÉNEZ-GUZMÁN, A.; VILLANUEVA-CARVAJAL, M.; SALGADO-CRUZ, D.; ARIZMENDI-COTERO, E.; MORAL-RAMÍREZ, D. Effect of whey protein isolate addition on physical, structural and sensory properties of sponge cake. **Food Hydrocolloids**, v. 61, p. 633-639, 2016.
- GANI, A.; BROADWAY, A.; MASOODI, A.; FAROOQ, A.; WANI, A.; MAQSOOD, S.; BILAL, A.; SHAH, A.; RATHER, SAJAD, A. Enzymatic Hydrolysis of Whey and Casein Protein- Effect on Functional, Rheological, Textural and Sensory Properties of Breads. **Journal of Food Science and Technology**; v.52, n.12, p.7697–7709, 2015.
- GONÇALVES, C.; SOUZA, C.; SUGUIMOTO, H.; ISHII, P.; SANTOS, L. Addition of Whey Protein in Bread-Making: Textural Parameters and Antioxidant Potential of Leavened and Unleavened Bread. **International Journal of Food Engineering**, 2017.
- GUIMARÃES, R.; FREITAS, M.; SILVA, V. Bolos simples elaborados com farinha da entrecasca de melancia (*Citrullus vulgaris*, sobral): avaliação química, física e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**; v. 30, n.2, p.354-363, 2010.
- GURGEL, C.; MACIEL, J.; FARIAS, L. Increase calcium content in breads containing added whey and calcium carbonate. **Alimentos e Nutrição**; v. 21, n. 4, p. 563-571, 2010.
- HERVÉ, R.; GABRIEL, V.; LEFEBVRE, D.; RABIER, P.; VAYSSIER, Y.; FONTAGNÉ-FAUCHER, C. (2006). Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. **LWT-Food Science and Technology**; v. 39, n. 3, p. 256-65.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Procedimentos e Determinações Gerais**. In: Métodos físicos químicos para análise de alimentos. 4 ed. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. p. 83-160, 2008.
- KRUPA-KOZAK, U.; BACZEK, N.; ROSELL, C. Application of dairy proteins as technological and nutritional improvers of calcium supplemented gluten-free bread. **Nutrients**, v. 5, n. 11, p. 4503–4520, 2013.
- LAUREATI, M.; GIUSSANI, B.; PAGLIARINI, E. Sensory and hedonic perception of gluten-free bread: Comparison between celiac and non-celiac subjects. **Food Research International**, v. 46, p. 326–333, 2012.
- LINDFORS, K.; KOSKINEN, O.; KAUKINEN, K. An update on the diagnostics of celiac disease. **International Reviews of Immunology**; v.30, p.185–96, 2011.
- MELO FILHO, A.; VASCONCELOS, M. **Química de alimentos**. In: FILHO, A.; VASCONCELOS, M. (Org.). Atividade de água. Recife: UFRPE- CODAI. p. 15-22, 2011.
- MOHAMMAD, I.; AHMED, A.; SENGE, B. Dough rheology and bread quality of wheat–chickpea flour blends. **Ind. Crops Prod.**, v. 36, p. 196–202, 2012.
- MORALES, A. **La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica**. Zaragoza: Acribia SA, 198p. 1994.



- NAQASH, F., GANI, A., GANI, A., MASOODI, F. Gluten-free baking: Combating the challenges - A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 66, p. 98–107, 2017.
- NEPA (Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentação). **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO**, 4.ed. Campinas: Book Editora, 2011.
- PEREIRA, A.; DA SILVA, B.; ERRANTE, P. Aspectos fisiopatológicos da doença celíaca. **UNILUS Ensino e Pesquisa**; v.14, p.34, p.142-155, 2017.
- PIZZINATTO, A.; MAGNO, C. P. R.; CAMPAGNOLLI, D. M. F.; VITTI, I. P.; LEITO, R. F. F. **Avaliação Tecnológica de Produtos Derivados de Farinhas de Trigo (pão, macarrão, biscoito)**. Campinas: ITAL, 1993, 54p.
- RUSTAGI, S.; CHOUDHARY, S.; PANDEY, A.; KHAN, M.; KUMARI, A.; SINGH, A. Hydroxypropyl Methylcellulose and Whey Protein Concentrate as Technological Improver in Formulation of Gluten-Free Protein Rich Bread. **Current Research Nutrition Food Science**; v. 6, n. 1, 2018.
- SAHAGÚN, M.; GÓMEZ, M. Assessing Influence of Protein Source on Characteristics of Gluten-Free Breads Optimising their Hydration Level. **Food and Bioprocess Technology**, v. 11, n. 9, p. 1686–1694, 2018.
- SILVA, TSG.; FURLANETTO, TW. Diagnóstico de doença celíaca em adultos. **Revista da Associação Médica Brasileira**; v. 56, n. 1, p. 122-126, 2010.
- SINHA, R.; CHERUPPANPULLIL, R.; PRAKASH, J.; KAULTIKU, P. Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. **Food Chemistry**; v.101, n.4, p.1484-1491, 2007.
- SIRI, N.; LACROIX, M.; GARRIGUES, J.; POINSOT, V.; PROFESSOR, F. HPLC-fluorescence detection and MEKC-LIF detection for the study of amino acids and catecholamines labelled with NAPHTHALENE-2,3-DICARBOXYALDEHYDE. **Electrophoresis**; v.27, n.22, p.4446–4455, 2006.
- SRIKANLAYA, N.; THERDTHAI, N., RITTHIRUANGDEJ, P.; ZHOU, W. Effect of hydroxypropyl methylcellulose, whey protein concentrate and soy protein isolate enrichment on characteristics of gluten-free rice dough and bread Chonnikarn. **International Journal of Food Science and Technology**, 2018.
- THOMPSON, T.; DENNIS, M.; HIGGINS, L.; LEE, A.; SHAVRETT, M. Gluten-free diet survey: are Americans with celiac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium and grain foods? **Journal of Human Nutrition and Dietetics**; v.18, p.163-9, 2005.
- VIANA, L. T. (2009). Sensory analysis in the food industry. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**; v. 64, n. 366, p. 12–21.
- WU, T., TAYLOR, C., NEBL, T., NG, K., BENNETT, L. Effects of flour composition and baking on in vitro digestibility of proteins in breads made from selected gluten-containing and gluten-free flours. **Food Chemistry**, 2017.

ZAVAREZE, E.; MORAES, K.; SALAS-MELLADO, M. Qualidade tecnológica e sensorial de bolos elaborados com soro de leite. **Ciência Tecnologia de Alimentos**; v.30, n.1, p.100-105, 2010.

ZIOBRO, R.; JUSZCZAK, L.; WITCZAK, M.; KORUS, J. Non-gluten proteins as structure forming agents in gluten free bread. **Journal Food Science Technology**, v. 53, n. 1, p. 571-580, 2016.

## Artigo 2 -

### **Development and evaluation of the nutritional, technological, and sensorial quality of gluten-free breads added with whey protein**

Marina R. Komerowski<sup>1</sup>, Raísa V. Homem<sup>1</sup>, Helena de O. Schmidt<sup>2</sup>, Fernanda C. Rockett<sup>2</sup>, Larissa de Lira<sup>3</sup>, Deise Vitória da Farias<sup>3</sup>, Tarso L. Kist<sup>4</sup>, Divair Doneda<sup>3</sup>, Alessandro de O. Rios<sup>2</sup>, Viviani R. de Oliveira<sup>1,3</sup>

1- Programa de Pós-Graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Ramiro Barcelos, 2400, Santa Cecília, CEP: 90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil.

2- Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43.212, Campus do Vale, Porto Alegre, RS CEP 91501-970, Brasil.

3- Curso de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Rua Ramiro Barcelos, 2400, Santa Cecília, CEP: 90035-003, Porto Alegre, RS, Brasil.

4- Departamento de Biofísica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves, 9500, Prédio 43.212, Campus do Vale, Porto Alegre, RS CEP 91501-970, Brasil.

#### **Abstract**

Celiac disease is an autoimmune disease in genetically predisposed people that results from the ingestion of some cereals containing gluten, causing inflammation in the small intestine. Celiac people report that the supply of sensorially adequate food is restricted, especially the breads, which are present in the basic diet of most of the population. Thus, this paper develops gluten-free breads formulations added with 10%, 20%, and 30% whey protein. As a result, the breads presented not only an increased amount of protein, but also higher amounts of carbohydrates and lipids, as well as fiber and amino acids, when compared to wheat flour bread. In addition, all evaluated formulations obtained satisfactory results in sensory analysis, performed by both celiac and non-celiac individuals.

## 1. Introduction

Celiac disease (CD) is an autoimmune disease that causes chronic inflammation in the mucosa and submucosa of the small intestine (DEWAR et al., 2004; RODRIGO, 2006; ARAÚJO et al., 2010; PEREIRA et al., 2017). That happens because the consumption of cereals containing gluten by genetically predisposed individuals ends up atrophying and flattening the intestine villi and, thus, leading to a limitation of the available area for nutrient absorption (THOMPSON, 2005).

The treatment is based on a gluten-free diet that, if properly followed, recovers the function and appearance of the intestinal mucosa (PEREIRA et al., 2017). If untreated, complications such as intestinal tract cancer, anemia, osteoporosis, and sterility may occur. (BRASIL, 2015).

According to some celiac members of the Celiac Association of Brazil (ACELBRA), the supply of sensorially adequate food is restricted, which makes the diet monotonous. Also, the products available in the market are usually too expensive (ARAÚJO et al., 2010). Still, breads, which are present in the basic diet of most of the population, are primarily made from wheat flour (LÓPEZ et al., 2004; GURGEL et al., 2010).

Thus, the search for alternatives containing high sensory quality leads to research on new ingredients for the elaboration of bakery products (ZAVAREZE et al., 2010). In this sense, associations between vegetables, legumes, cereals, and milk proteins have been studied (GANI et al., 2015).

Milk proteins are valued components because of their excellent nutritional, technological, and functional properties resulting from its amino acid composition. It also provides good solubility, absorption, and retention of water and fat, as well as emulsifying and foaming capacity, stability, and gelling. Milk also improves the sensory properties and product acceptance (ARAÚJO et al., 2016).

However, to this date, there are few studies in the literature with whey protein being used to mimic the technological quality of gluten in breads. Therefore, this paper develops gluten-free formulations added with whey protein and evaluates the nutritional, technological, and sensorial characteristics of such breads.

## **2. Materials and Methods**

This is an experimental study in which samples of breads were prepared and evaluated in the Laboratories of Dietetic Technique (LDT), Bioactive Compounds, and Biophysical Methods of Analysis of Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). For gluten-free formulations, a properly sanitized production area and utensils with no contact with wheat flour were used.

For the physical and chemical analysis of the samples, a completely randomized design (CRD) was used while, for the sensorial analyzes, the randomized block design (RBD) was used.

### **2.1 Breads formulations**

The ingredients were purchased at a commercial establishment in the city of Porto Alegre, in Rio Grande do Sul. Several preliminary tests were carried out until the final formulations were obtained, with the ones that had promising potential being evaluated in this study.

Ingredients such as refined salt (2.5g), sanding sugar (5g), soybean oil (6mL), white egg (48g), dry biological yeast (2.5g), and warm water (60mL) were used in all formulations. Besides, such ingredients guarantee favorable sensory attributes, such as texture, flavor, and

the characteristic appearance of loaves, according to César et al. (2006). The five elaborated formulations were: WF (100g of wheat flour), CCPF (50g of cassava starch and 50g of chickpea flour), WP10 (10g of whey protein, 45g of chickpea flour, 45g cassava starch, and 2g xanthan gum), WP20 (20g whey protein, 40g chickpea flour, 40g cassava starch, and 2g xanthan gum), and WP30 (30g whey protein, 35g of chickpea flour, 35g of cassava starch, and 2g of xanthan gum).

All ingredients were weighed in a thousandths digital analytical balance (0.01g) UNIBLOC - Shimadzu® brand (model UX-6200H). The dough elaboration was performed using the direct mass method (Figure 1), using a conventional oven - Dako® brand.

## 2.2 Physical analysis

### 2.2.1 Weight, height, weight loss, apparent and specific volume and yield

Physical analyzes were performed on loaves at room temperature, before and one-hour post-baking, in order to determine weight, height, weight loss, and apparent and specific volume and yield.

For weight measurement, a digital scale (0.01g) UNIBLOC - Shimadzu® brand - Kyoto/Japan (model UX-6200H) was used. The height measurement of the bread dough was performed by measuring it with a ruler in the center and on each side of the bread (GUIMARÃES et al., 2010).

Weight loss was determined by the difference between post and pre-baking weights. Yield was determined from the weight value of the finished preparation divided by the weight of the raw preparation (GUIMARÃES et al., 2010).

The apparent volume of the samples was determined by the method of millet seeds displacement, according to the methodology of Pizzinatto et al. (1993). The specific volume

was determined by dividing the apparent volume by the weight of the sample. All evaluations described were performed in triplicate.

### 2.2.2 Color

Crumb and crust color were measured by a colorimeter from the brand Konica Minolta® - Osaka/Japan (model Chrona Meter CR400). This equipment identifies the color spectrum in a three-dimensional system, with the vertical axis, "L", referring to the color of the sample from black to white; axis "a", from green to red; and axis "b" from blue to yellow. The L-axis ranges from 0 to 100, with values over 50 being the lighter samples and below 50, the darker ones. All readings were performed in triplicate.

### 2.2.3 Texture

Parameters related to the texture of the formulations were verified using a Stable Micro Systems® - London/UK texturometer (model TA.XT plus) and a cylindrical probe with a 36mm radius (code P/36R). The parameters were measured by the penetration in the loaf samples. The maximum force was determined in the first compression cycle and defined from the following conditions: cylindrical texturometer, maximum test speed of 4.0mm/s; minimum test speed of 0.01mm/s; rupture distance of 0.001mm. All analyzes were performed in triplicate.

From the results of the texturometer it is possible to calculate some rheological parameters such as elasticity, measured by the ratio between two deformations; cohesiveness, measured by the ratio between the areas; viscosity, measured by the height distance detected during the second compression and divided by the distance of the first one; and chewability,

that is, the energy required to chew the food, measured by the hardness multiplied by the cohesiveness multiplied by the elasticity (CALABUIG, 2012).

#### 2.2.4 Image of pores

After the breads cooled to room temperature, a slice of the same thickness from each treatment was photographed. Using Image J software version 1.34s, the images were converted to 8 bits and then the Otsu segmentation method was selected to produce binary images to verify the bread crumb pores (Sánchez-Pardo et al., 2008).

### 2.3 Chemical analyses

#### 2.3.1 Centesimal composition

The centesimal composition was evaluated on samples after baking. The chemical analyses were carried out in triplicate, at the Laboratory of Bioactive Compounds of the Food Engineering School of the Institute of Food Science and Technology, at UFRGS. Protein assessment was performed by the Kjeldahl method and the lipids by the Bligh-Dyer method, according to Cecchi's methodology (2003). Carbohydrates were evaluated by the difference between 100g of the sample and the total sum of the values found for proteins, lipids, fibers, and ashes (CARVALHO et al., 2002).

Ashes were determined using the gravimetric method of obtaining the material weight loss until complete destruction of the organic matter. Moisture content was evaluated from the weight loss by desiccation of the sample until obtaining constant weight (CARVALHO et al., 2002).



Caloric value was determined from a portion of 100 grams of the sample. The values stipulated by RDC No.360 (BRASIL, 2003) were used, which were multiplied by the values found for the quantity of the respective macronutrients and, finally, the results were added together.

### 2.3.2 Amino acids assessment

The evaluation of the amino acids content (AAs) was carried out in the Laboratory of Biophysical Methods of Analysis, at UFRGS. In order to obtain the AAs from the samples, a pre-treatment was carried out, followed by hydrolysis, filtration, and titration. Then, derivatization was performed with LIF (Laser Induced Fluorescence) ISB<sup>®</sup> - Brazil (PNA-LIF model).

For the quantification of AAs, BioTek<sup>®</sup> HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) - Germany (System 525 model) was used. Then, LIF analysis was integrated with CHROMULAN software, version 0.90 (Jindrich PIKRON Ltda, 2002) and Microsoft Office Excel (Microsoft Corporation, 2007).

The areas and retention times of each amino acid were determined by comparison with standard AAs at known concentrations (SHAH et al., 1999; SIRI et al., 2006). All procedures described were performed in triplicate.

### 2.3.3 Fiber assessment

The amount of total and insoluble fibers was determined in duplicate with the enzymatic gravimetric method described by the AOAC (Association of Official Analytical Chemists, 2016), in which the samples were submitted to digestion using the Sigma-Aldrich

Kit (model TDF100A- 1KT). The soluble fibers were calculated by the difference between the total fibers and the insoluble fibers.

#### 2.3.4 pH Analysis

After the homogenization step of the ingredients used, described in the bread preparation step, the fresh dough of each sample was conditioned and, before fermentation, its pH was measured at 25 ° C using a Mettler Toledo® pH meter. (model MP220) until obtaining a constant value, according to the methodology described by Hervé et al. (2006).

#### 2.4 Sensory analysis, purchase intention, and acceptability index with celiac and non-celiac individuals

The loaves samples were submitted to sensory analysis and purchase intention test at the Laboratory of Dietetic Technique of the Medical School of UFRGS in two distinct groups and days, both evaluating the following attributes: appearance, texture, taste, odor, color, acceptance, and purchase intent.

At first, 54 non-celiac adult evaluators of both genders were randomly and voluntarily recruited from the dependencies of UFRGS. These evaluators were invited by posters set in the Medical School and/or virtual folders in social media. In another moment, another affective test was carried out at the University with 11 non-trained celiac individuals from Acelbra.

Each evaluator received a slice of approximately 10g of each formulation, with three-digit random codes, a glass of water to clean the taste buds, and an evaluation sheet for sensory analysis and purchase intent, which contained a hedonic scale of nine points (1 =

Dislike extremely, 9 = Like extremely) and five points (1 = Would certainly not buy it, 5 = Would certainly buy it) respectively. The acceptability index was calculated based on the score obtained by the global acceptance attribute, according to the methodology recommended by Morales (1994).

#### 2.4.1 Acceptability Index

To calculate the acceptability index (AI) of each treatment, the following expression was used, as described by VIANA (2009):

$$AI (\%) = A \times 100 / B \quad (1)$$

At where:

A = average grade obtained for each treatment

B = maximum grade given for each treatment

#### 2.5 Statistical analysis

The results were analyzed through analysis of variance. For the comparison of means of the samples, the Tukey's test was applied, using a level of 5% of significance. Statistical software ESTAT version 7.7 Beta, 1994, was used to analyze the data.

#### 2.6 Ethical aspects

This study was submitted to the Research and Ethics Committees in Human Research of the Medical School (FAMED), UFRGS, protocol CAAE: 79733717.1.0000.5347, following Resolution 466/2012 of the National Health Council. In order to participate in the

sensory analysis and purchase intention, evaluators signed the Term of Informed Consent in accordance with the Directives and Norms regulating research involving human beings.

### **3. Results and Discussion**

Regarding the pre and post-baking weight parameters (Table 1), there was a statistically significant difference only for the treatment without gluten and with no whey protein (CCPF), while the pre and post-baking height did not differ statistically between protein treatments, regardless of the amount added ( $p > 0.05$ ).

Regarding yield and weight loss, the results were convergent for CCPF and WP30 treatments. Sahagún and Gomez (2018) found that bread with 70g corn starch and 30% whey protein over the weight of the flour provided less water loss than the rest of the samples, as corroborated by this study. The authors clarify that, since there is a low level of hydration, the amount of water available is lower and that the added protein has a higher water-binding capacity when compared to a treatment that lacks such ingredients.

In general, previous studies on the addition of protein to gluten-free breads have reported conflicting results regarding specific volume and apparent volume (SAHAGÚN and GOMEZ, 2018). In this paper, there was no statistically significant difference between treatments for apparent volume, but there was for the specific volume between CCPF, WP10 and WP30.

Krupa-Kozak et al. (2013) tested the addition of 12g and 24g of whey protein isolate and hydrolyzed protein in gluten-free breads with potato starch and corn starch and found a significant improvement in specific volume on the sample with the lowest amount of protein, especially the hydrolyzed one. Srikanlaya et al. (2018) identified the opposite as the specific volume was lower in breads made from rice flour with 6g of concentrated protein when

compared to the standard treatment.

As can be seen in Table 2, the crumb luminosity did not present a significant statistical difference between WF and protein breads. The parameter  $a^*$  did not present a statistically significant difference among any of the treatments, but for the  $b^*$  value, the bread with no whey protein and no gluten (CCPF) revealed a more yellowish crumb, with significant difference for WF and WP10.

For crust color, the results of this study agree with those shown by Sahagún and Gómez (2018), who verified a higher value of  $a^*$  for treatments with 30% whey protein in gluten-free breads, resulting in a more reddish crust. In addition, according to the findings of these authors, this amount of protein reduced the  $b^*$  values in relation to the control treatment. Differently from that study, we found no significant difference ( $p > 0.05$ ) for this same parameter among treatments that had protein.

A decrease in luminosity values with the incorporation of milk proteins was noticed. The explanation for such reduction is based on the participation of amino acids in Maillard reactions, especially lysine (SAHAGUN and GÓMEZ, 2018), since the amino acid side chain reacts with the reducing sugars during this darkening process (MOHAMMAD et al. 2012).

In order to check the bread crumb pores, the photographs were converted to gray scale (Figure 2a) and binary images were produced (Figure 2b). Relatively larger pores are present in WP10, creating a more heterogeneous appearance. The most brittle CCPF treatment is noted, with some irregularities in the crumb. Still, WP30 appears to have a larger pore count, unlike the WP20 treatment, which appears similar to the WF control.

In the study by Ziobro et al. (2016), the addition of 10% whey protein over the flour weight caused changes in crumb structure (greater porosity) and color, which was generally darker than the control bread which was based on corn starch and potato starch. According to these authors, the role of proteins is important because they can retain water and stabilize the

starch gel formed during gelatinization.

In this study there was no statistical difference among all the treatments for elasticity (Table 2). For chewability and crumb hardness, the treatment with higher protein concentration (WP30) obtained higher results. The same occurred in the study of Gonçalves et al. (2017) which used 10% whey protein substituting wheat flour.

Srikanlaya et al. (2018) formulated rice flour breads with up to 6g of whey protein. As a result, they found lower values for elasticity, cohesiveness, and chewability and higher value for hardness when compared to the control with 100g of wheat flour. In this paper, the addition of 30g of protein obtained statistical difference for the other treatments.

According to the moisture results, shown on Table 3, there was no significant statistical difference for any treatment. The Collegiate Board Resolution No.14 (RDC No.14) from the Brazilian Health Regulatory Agency (BRAZIL, 2000) recommends the maximum limit of 38% moisture for bread products, but does not yet establish specific value for formulations with added whey protein. Melo Filho and Vasconcelos (2011) warn that the higher the moisture content, the faster the food deteriorates, reducing its shelf life.

The highest ash content was observed in the CCPF treatment (20.45%), which was probably due to the higher amount of chickpea flour, which is rich in calcium, magnesium, potassium, and phosphorus (NEPA, 2011). In a literature review, Naqash et al. (2017) found that chickpea flour had good results in all parameters, indicating that this ingredient is a promising alternative for gluten-free breads.

Regarding the lipid content, no statistical difference ( $p>0.05$ ) was found between the WP20 and WP30 treatments. The CCPF treatment, a gluten and whey-free option, was the formulation that presented the lowest amount of lipids (0.34), with statistical difference in relation to all treatments, except WP10.

As the amount of whey protein increased in the formulation, the higher was the protein

content in the bread. A similar result was found by Rustagi et al. (2018), who worked with gluten-free breads with sorghum flour, potato starch, and whey protein concentrate. These researchers concluded that the use of 15% of protein obtained the best results in terms of centesimal composition.

Regarding the amount of energy, there was similarity between treatments WP10 and WP20, both gluten free and with moderate concentrations of whey protein. As for energy, the treatments were statistically different from each other. WP30 was higher in calories, probably due to the higher protein, lipid and glycidic content.

The treatment with higher whey protein content (WP30) presented the highest total fiber amount with significant difference ( $p < 0.05$ ) when compared to the others. In relation to insoluble fibers, the treatment without gluten and without addition of whey protein (CCPF) presented the lowest value of all. For soluble fibers, WF treatments and the ones with 10% and 20% of whey protein had no significant statistical difference.

According to Brummer et al. (2015), the polysaccharides found on plant cell walls are not uniform and therefore have a broad molecular weight distribution. Furthermore, according to these authors, thermal processing increases that amount of fiber due to starch retrogradation.

For Gonçalves et al. (2017), both temperature and pH may influence the solubility of whey protein, since high temperatures and acidification are inherent to the baking process. In this paper, there was a significant difference for the pH of the treatment with higher amount of protein.

The amino acid levels are presented in Table 4, with the treatment with 20% whey protein (WP20) obtaining statistically significant results for glutamine (21.87%), leucine + isoleucine (22.20%), and lysine (37.04%). According to Wu et al. (2017), the lysine content increases as the susceptibility of gluten-free flours to the Maillard reaction increases. The

significant statistical difference ( $p < 0.05$ ) observed in this treatment was not only for these amino acids, but for all the ones analyzed, except histidine. The amino acids serine, glutamine, threonine, glycine, alanine, phenylalanine, leucine + isoleucine, and lysine were convergent for WF, CCPF, and WP10 treatments showing no significant statistical difference. The methodology was not able to detect the amount of methionine on the samples for CCPF, WP20, and WP30 due to their low values.

The total amino acid content did not present a statistically significant difference between the WF, CCPF, and WP10 treatments. WP20 presented higher value (160.46mg/g), followed by WP30 (109.15mg/g), with significant statistical difference. According to the results of the sensory analysis performed by non-celiac evaluators (Table 5), WF, WP10, and WP20 treatments showed significant difference when compared to CCPF in the appearance attribute. Despite being the lowest means, CCPF and WP30 obtained a satisfactory average, above 6.0, which, according to the hedonic scale, represents the “like slightly”.

When analyzing texture and odor attributes, there was no significant difference between the standard and the treatments added of 10% and 20% of protein. Regarding the flavor attribute, there is similarity between WF and WP20. However, they show a significant statistical difference ( $p < 0.05$ ) when compared to the other formulations. This also happened in relation to global acceptance and purchase intent.

For the color attribute, the CCPF treatment differs statistically from the WF and WP10 treatments. The treatment with wheat flour obtained the highest scores for all the attributes, obtaining a mean above 7.0, which represents “like moderately”, according to the hedonic scale, probably because it presents sensorial characteristics already expected, since it is commonly consumed.

Díaz-Ramírez et al. (2016) evaluated the effect of adding 12.5g, 25g, 50g, and 100g of whey protein isolate as a substitute for egg whites in loaves of bread and compared it to a



control. There was no statistically significant difference between the control and 25g treatments for almost all attributes, except for appearance and odor, which did not have a significant difference among all the other analyzed treatments.

In the sensory analysis performed by celiac individuals there was no statistical difference between treatments for any attribute. This result possibly occurred due to the difficulty found by the evaluators in finding sensorially pleasing products intended for such public.

According to the non-celiac evaluators (Figure 3a), the WF treatment reached the highest acceptability index (Figure 3), with 83.12% and the CCPF obtained the lowest index, with 64.81%. Among the treatments with whey protein, WP10 presented the best performance. For the celiac evaluators (Figure 3b), the treatment with 10% of whey protein obtained the best result (83.83%), followed by CCPF (82.82%) and WP20 (81.81%). It is noteworthy that, regardless of the group of evaluators, all acceptability indexes of all treatments reached values above 60%, which is considered satisfactory.

#### **4. Conclusion**

The loaves added with whey protein showed a technological quality similar to wheat bread, but with lower luminosity and greater hardness, both in the crust and in the crumb.

The use of whey protein not only increased the loaves protein values, but also carbohydrates and lipids, making them richer in amino acids when compared to the two controls (WF and CCPF). Furthermore, whey protein loaves were also found to have a good fiber profile.

Sensory analysis performed by both non-celiac and celiac individuals suggests that the use of whey protein was viable in the loaves elaboration, becoming a sensorially pleasant food

with a favorable purchase intention, since its sensorial characteristics obtained good acceptance in all attributes, and can serve as an alternative food for healthy and, especially, celiac people.

The use of whey protein provides an interesting food alternative, but more studies are necessary for a further complete analysis of how such ingredients interact with the others during the baking process.

## References

AOAC: ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of AOAC international**. 20<sup>th</sup> edition, AOAC International, 2016.

ARAÚJO, W.; MONTEBELLO, N.; BOTELHO, R.; BORGIO, L. **Alquimia dos alimentos**. 3 Ed. - Editora Senac, 2016.

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

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE CELÍACOS. São Paulo: ACELBRA. Disponível em: <http://www.ancelbra.org.br/2004/alimentos.php>. Acessado em: Maio de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **A Diretoria Colegiada da ANVISA aprova o regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade do pão**. Diário Oficial da União. Brasília. 2000.

BRASIL. Resolução RDC n.360, de 23 de dezembro de 2003. **A Diretoria Colegiada da ANVISA/MS aprova o regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados**. Diário Oficial da União. 26 dez; (251): 33; Seção 1, 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria SAS/MS nº 1149**. Brasília, p.1-8. 2015.

BRUMMER, Y., KAVIANI, M., TOSH, S. Structural and functional characteristics of dietary fibre in beans, lentils, peas and chickpeas. **Food Research International**; v. 67, p. 117–125, 2015.

CALABUIG, G. **Texturometría Instrumental**: Puesta a punto y aplicación a la tecnología de alimentos. Máster Universitario em Biotecnología Alimentaria, Universidad de Oviedo, 2012.

CARVALHO, H.; JONG, E; BELLÓ, R.; SOUZA, R.; TERRA, M. **Alimentos**: métodos físicos e químicos de análise. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.

CECCHI, M. H. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2.ed. Campinas: Editora UNICAMP, 2003.

CÉSAR, A. S.; GOMES, J. C.; STALIANO, C. D.; FANNI, M. L.; BORGES, M. C.; Elaboração de pão sem glúten. **Ceres**; v. 53, n. 306, p.150-155, 2006.

DEWAR, D.; PEREIRA, S.; CICLITIRA, P. The pathogenesis of coeliac disease. **International Journal Biochemistry Cell Biology**; v.36, p.17-24, 2004.

DÍAZ-RAMÍREZ, G.; CALDERÓN-DOMÍNGUEZ, M.; GARCÍA-GARIBAY, J.; JIMÉNEZ-GUZMÁN, A.; VILLANUEVA-CARVAJAL, M.; SALGADO-CRUZ, D.; ARIZMENDI-COTERO, E.; MORAL-RAMÍREZ, D. Effect of whey protein isolate addition on physical, structural and sensory properties of sponge cake. **Food Hydrocolloids**; v. 61, p. 633-639, 2016.

GANI, A.; BROADWAY, A.; MASOODI, A.; FAROOQ, A.; WANI, A.; MAQSOOD, S.; BILAL, A.; SHAH, A.; RATHER, SAJAD, A. Enzymatic Hydrolysis of Whey and Casein Protein- Effect on Functional, Rheological, Textural and Sensory Properties of Breads. **Journal of Food Science and Technology**; v.52, n.12, p.7697–7709, 2015.

GONÇALVES, C.; SOUZA, C.; SUGUIMOTO, H.; ISHII, P.; SANTOS, L. Addition of Whey Protein in Bread-Making: Textural Parameters and Antioxidant Potential of Leavened and Unleavened Bread. **International Journal of Food Engineering**; 2017.

GUIMARÃES, R.; FREITAS, M.; SILVA, V. Bolos simples elaborados com farinha da entrecasca de melancia (*Citrullus vulgaris*, sobral): avaliação química, física e sensorial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**; v. 30, n.2, p.354-363, 2010.

GURGEL, C.; MACIEL, J.; FARIAS, L. Increase calcium content in breads containing added whey and calcium carbonate. **Alimentos e Nutrição**; v. 21, n. 4, p. 563-571, 2010.

KRUPA-KOZAK, U.; BACZEK, N.; ROSELL, C. Application of dairy proteins as technological and nutritional improvers of calcium-supplemented gluten-free bread. **Nutrients**; v. 5, n. 11, p. 4503–4520, 2013.

LÓPEZ, A.; PEREIRA, A.; JUNQUEIRA, R. Flour mixture of rice flour, corn and cassava starch in the production of gluten-free white bread. **Brazilian Archives of Biology and Technology**; v.47, n.1, p.63-70, 2004.

MELO FILHO, A.; VASCONCELOS, M. **Química de alimentos**. In: FILHO, A.; VASCONCELOS, M. (Org.). Atividade de água. Recife: UFRPE- CODAI. p. 15-22, 2011.

MOHAMMAD, I.; AHMED, A.; SENGE, B. Dough rheology and bread quality of wheat–chickpea flour blends. **Industrial Crops and Products**, v. 36, p. 196–202, 2012.

MORALES, A. **La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica.** Zaragoza: Acribia SA, 198p. 1994.

NAQASH, F., GANI, A., GANI, A., MASOODI, F. Gluten-free baking: Combating the challenges - A review. **Trends in Food Science & Technology**; v. 66, p. 98–107, 2017.

NEPA (Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentação). **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO**, 4.ed. Campinas: Book Editora, 2011.

PEREIRA, A.; DA SILVA, B.; ERRANTE, P. Aspectos fisiopatológicos da doença celíaca. **UNILUS Ensino e Pesquisa**; v.14, p.34, p.142-155, 2017.

PIZZINATTO, A.; MAGNO, C. P. R.; CAMPAGNOLLI, D. M. F.; VITTI, I. P.; LEITO, R. F. F. **Avaliação Tecnológica de Produtos Derivados de Farinhas de Trigo (pão, macarrão, biscoito).** Campinas: ITAL, 1993, 54p.

RODRIGO, L. Celiac disease. **World Journal Gastroenterology**; v.12, v. 6, p. 585-93, 2006.

RUSTAGI, S.; CHOUDHARY, S.; PANDEY, A.; KHAN, M.; KUMARI, A.; SINGH, A. Hydroxypropyl Methylcellulose and Whey Protein Concentrate as Technological Improver in Formulation of Gluten-Free Protein Rich Bread. **Current Research Nutrition Food Science**, v. 6, n. 1, 2018.

SAHAGÚN, M.; GÓMEZ, M. Assessing Influence of Protein Source on Characteristics of Gluten-Free Breads Optimising their Hydration Level. **Food and Bioprocess Technology**; v. 11, n. 9, p. 1686–1694, 2018.

SÁNCHEZ-PARDO, M. E., ORTIZ-MORENO, A., MORA-ESCOBEDO, R., CHANONA-PÉREZ, J. J., & NECOECHEA-MONDRAGÓN, H. Comparison of crumb microstructure

from pound cakes baked in a microwave or conventional oven. **LWT - Food Science and Technology**; v. 41, n. 4, p. 620–627, 2008.

SIRI, N.; LACROIX, M.; GARRIGUES, J.; POINSOT, V.; PROFESSOR, F. HPLC-fluorescence detection and MEKC-LIF detection for the study of amino acids and catecholamines labelled with NAPHTHALENE-2,3-DICARBOXYALDEHYDE. **Electrophoresis**; v.27, n.22, p.4446–4455, 2006.

SHAH, A.; DE BIASI, V.; TAYLOR, S.; ROBERTS, C.; HEMMATI, P.; MUNTON, R. Development of a protocol for the automated analysis of amino acids in brain tissue samples and microdialysates. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**; v.735, p.133–40, 1999.

SRIKANLAYA, N.; THERDTHAI, N., RITTHIRUANGDEJ, P.; ZHOU, W. Effect of hydroxypropyl methylcellulose, whey protein concentrate and soy protein isolate enrichment on characteristics of gluten-free rice dough and bread Chonnikarn. **International Journal of Food Science and Technology**; 2018.

THOMPSON, T.; DENNIS, M.; HIGGINS, L.; LEE, A.; SHAVRETT, M. Gluten-free diet survey: are Americans with celiac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium and grain foods? **Journal of Human Nutrition and Dietetics**; v.18, p.163-9, 2005.

WU, T., TAYLOR, C., NEBL, T., NG, K., BENNETT, L. Effects of flour composition and baking on in vitro digestibility of proteins in breads made from selected gluten-containing and gluten-free flours. **Food Chemistry**; 2017.

ZAVAREZE, E.; MORAES, K.; SALAS-MELLADO, M. Qualidade tecnológica e sensorial de bolos elaborados com soro de leite. **Ciência Tecnologia de Alimentos**; v.30, n.1, p.100-105, 2010.

ZIOBRO, R.; JUSZCZAK, L.; WITCZAK, M.; KORUS, J. Non-gluten proteins as structure forming agents in gluten free bread. **Journal Food Science & Technology**, v. 53, n. 1, p. 571-580, 2016.

**Table 1.** Physical parameters before and after baking breads.

Parameters	Treatments				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
Before-baking height (cm)	1.1±0.1 <sup>a</sup>	1.4±0.1 <sup>a</sup>	1.2±0.2 <sup>a</sup>	1.3±0.3 <sup>a</sup>	1.4±0.1 <sup>a</sup>
After-baking height (cm)	3±0.4 <sup>b</sup>	3±0.5 <sup>b</sup>	3.5±0.5 <sup>ab</sup>	4±0.5 <sup>ab</sup>	4.4±0.3 <sup>a</sup>
Before-baking weight (g)	212.5±0.2 <sup>c</sup>	219.6±0.2 <sup>a</sup>	216.4±0.3 <sup>b</sup>	212.2±0.3 <sup>c</sup>	216.0±0.0 <sup>b</sup>
After-baking weight(g)	176.5±0.2 <sup>e</sup>	192.8±0.1 <sup>a</sup>	191.5±0.0 <sup>b</sup>	188.4±0.0 <sup>d</sup>	189.5±0.0 <sup>c</sup>
Weight loss (%)	17.0±0.0 <sup>a</sup>	12.2±0.0 <sup>b</sup>	11.5±0.1 <sup>c</sup>	11.2±0.0 <sup>d</sup>	12.2±0.0 <sup>b</sup>
Yield (%)	82.9±0.0 <sup>d</sup>	87.7±0.0 <sup>c</sup>	88.4±0.1 <sup>b</sup>	88.7±0.0 <sup>a</sup>	87.7±0.0 <sup>c</sup>
Apparent volume (cm <sup>3</sup> )	15±5.7 <sup>a</sup>	8.3±2.88 <sup>a</sup>	10±1.0 <sup>a</sup>	15±1.0 <sup>a</sup>	20±5.7 <sup>a</sup>
Specific volume (cm <sup>3</sup> / g-1)	2.8±0.4 <sup>ab</sup>	1.4±0.2 <sup>c</sup>	2.3±0.1 <sup>b</sup>	3.0±0.6 <sup>ab</sup>	3.3±0.2 <sup>a</sup>

Means followed by the same horizontal letter do not present statistically difference ( $p>0,05$ ).

WF- *wheat flour*; CCPF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- 10% *whey protein*; WP20- 20% *whey protein*; WP30- 30% *whey protein*.



**Table 2.** Crust and crumb lightness, a \*, b \* and texture of the breads.

Parameters	Treatments				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
<b>Crumb</b>					
Lightness	82.94±1.86 <sup>a</sup>	74.65±2.1 <sup>b</sup>	78.10±2.4 <sup>ab</sup>	77.16±3.3 <sup>ab</sup>	78.43±2.3 <sup>ab</sup>
a*	0.92±0.2 <sup>a</sup>	2.28±1.1 <sup>a</sup>	1.83±0.3 <sup>a</sup>	1.73±0.2 <sup>a</sup>	1.79±0.3 <sup>a</sup>
b*	16.20±0.9 <sup>c</sup>	24.77±2.3 <sup>a</sup>	20.54±2.2 <sup>b</sup>	21.97±0.1 <sup>ab</sup>	23.64±0.3 <sup>ab</sup>
Hardness (N)	4.80±0.39 <sup>d</sup>	8.79±1.26 <sup>c</sup>	10.27±1.72 <sup>bc</sup>	11.97±0.80 <sup>b</sup>	28.42±0.00 <sup>a</sup>
Elasticity (mm)	1.05±0.01 <sup>a</sup>	1.06±0.02 <sup>a</sup>	1.08±0.01 <sup>a</sup>	1.07±0.01 <sup>a</sup>	1.06±0.01 <sup>a</sup>
Cohesiveness (g.sec)	0.88±0.04 <sup>bc</sup>	0.90±0.01 <sup>ab</sup>	0.97±0.02 <sup>a</sup>	0.90±0.01 <sup>ab</sup>	0.81±0.05 <sup>c</sup>
Viscosity (g.sec)	0,28±0.00 <sup>a</sup>	0,26±0.02 <sup>ab</sup>	0,25±0.01 <sup>ab</sup>	0,22±0.00 <sup>bc</sup>	0.200.01± <sup>c</sup>
Chewability (N)	1.18±0.08 <sup>c</sup>	2.24±0.40 <sup>bc</sup>	2.57±0.45 <sup>b</sup>	2.45±0.24 <sup>bc</sup>	4.69±0.86 <sup>a</sup>
<b>Crust</b>					
Lightness	53.37±1.6 <sup>a</sup>	50.26±3.3 <sup>a</sup>	32.73±2.1 <sup>b</sup>	35.57±2.9 <sup>b</sup>	39.71±3.8 <sup>b</sup>
a*	19.87±1.3 <sup>b</sup>	20.99±1.5 <sup>ab</sup>	22.27±1.0 <sup>ab</sup>	20.75±0.7 <sup>ab</sup>	24.77±0.6 <sup>a</sup>
b*	35.16±1.3 <sup>a</sup>	33.09±3.0 <sup>ab</sup>	17.21±2.5 <sup>b</sup>	15.43±2.6 <sup>b</sup>	36.73±3.5 <sup>ab</sup>
Hardness (N)	0.19±0.01 <sup>d</sup>	0.53±0.05 <sup>b</sup>	0.43±0.01 <sup>c</sup>	1.30±0.17 <sup>a</sup>	1.71±0.33 <sup>a</sup>

Means followed by the same horizontal letter do not present statistically difference (p>0,05).

WF- *wheat flour*; CCPF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- 10% *wehey protein*; WP20- 20% *wehey protein*; WP30- 30% *wehey protein*.

Table 3. Proximate composition, fibers content, pH and caloric content of breads.

Parameters	Treatments				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
Moisture (%)	14.65±0.23 <sup>a</sup>	14.90±0.11 <sup>a</sup>	14.70±0.24 <sup>a</sup>	14.80±0.35 <sup>a</sup>	14.90±0.48 <sup>a</sup>
Ashes (%)	19.60±0.13 <sup>b</sup>	20.45±0.29 <sup>a</sup>	13.50±0.31 <sup>d</sup>	12.60±0.26 <sup>e</sup>	14.20±0.38 <sup>c</sup>
Lipids (%)	1.25±0.30 <sup>bc</sup>	0.34±0.10 <sup>d</sup>	0.66±0.06 <sup>cd</sup>	1.50±0.48 <sup>ab</sup>	1.89±0.08 <sup>a</sup>
Proteins (%)	4.30±0.28 <sup>e</sup>	4.70±0.17 <sup>d</sup>	6.30±0.05 <sup>c</sup>	6.50±0.05 <sup>b</sup>	9.70±0.17 <sup>a</sup>
Energy (%)	69.10±2.8 <sup>b</sup>	69.35±2.1 <sup>b</sup>	64.6±1.0 <sup>a</sup>	67.0±3.2 <sup>ab</sup>	76.2±6.5 <sup>b</sup>
Total fibers (g)	29.27±2.34 <sup>b</sup>	29.02±1.07 <sup>b</sup>	29.42±0.49 <sup>b</sup>	31.57±2.25 <sup>b</sup>	35.49±5.50 <sup>a</sup>
Insoluble fibers (g)	28.70±1.59 <sup>a</sup>	22.04±0.22 <sup>b</sup>	28.80±0.29 <sup>a</sup>	28.02±0.24 <sup>a</sup>	27.82±0.02 <sup>a</sup>
Soluble fibers (g)	0.60±0.38 <sup>a</sup>	7.00±0.85 <sup>c</sup>	0.60±0.41 <sup>ab</sup>	3.55±2.01 <sup>b</sup>	7.70±5.48 <sup>cd</sup>
pH	5.6±0.01 <sup>b</sup>	5.4±0.01 <sup>d</sup>	5.6±0.00 <sup>b</sup>	5.5±0.00 <sup>c</sup>	5.7±0.01 <sup>a</sup>
Calories (Kcal/ 100g)	304.85±1.2 <sup>c</sup>	298.9±1.1 <sup>d</sup>	290.0±2.8 <sup>e</sup>	307.5±1.6 <sup>b</sup>	360.7±2.6 <sup>a</sup>

Means followed by the same horizontal letter do not present statistically difference ( $p>0,05$ ).

WF- *wheat flour*; CCPF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- 10% *wey protein*; WP20- 20% *wey protein*; WP30- 30% *wey protein*.

**Table 4 .** Aminoacids and total aminoacids of the breads elaborated.

Aminoacids (AAs) (mg/g)	Treatments				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
Serina	2.60±0.19 <sup>c</sup>	3.21±0.35 <sup>c</sup>	2.92±0.05 <sup>c</sup>	9.09±0.41 <sup>a</sup>	6.49±0.03 <sup>b</sup>
Asparagine	3.04±0.03 <sup>d</sup>	4.81±0.42 <sup>c</sup>	5.44±0.09 <sup>c</sup>	16.58±0.67 <sup>a</sup>	11.70±0.30 <sup>b</sup>
Glutamine	8.33±0.91 <sup>c</sup>	6.34±0.60 <sup>c</sup>	6.63±0.11 <sup>c</sup>	21.87±0.99 <sup>a</sup>	15.61±0.38 <sup>b</sup>
Threonine	1.84±0.13 <sup>c</sup>	2.30±0.13 <sup>c</sup>	2.59±0.04 <sup>c</sup>	8.26±0.58 <sup>a</sup>	6.62±0.12 <sup>b</sup>
Glycine	1.46±0.30 <sup>c</sup>	1.91±0.18 <sup>c</sup>	1.87±0.03 <sup>c</sup>	4.54±0.03 <sup>a</sup>	3.18±0.24 <sup>b</sup>
Tyrosine	1.50±0.01 <sup>cd</sup>	1.46±0.21 <sup>d</sup>	1.96±0.03 <sup>c</sup>	4.91±4.41 <sup>a</sup>	3.97±0.16 <sup>b</sup>
Alanine	1.90±0.11 <sup>c</sup>	2.57±0.22 <sup>c</sup>	3.02±0.05 <sup>c</sup>	8.91±0.85 <sup>a</sup>	6.68±0.09 <sup>b</sup>
Valine	2.31±0.15 <sup>d</sup>	2.67±0.22 <sup>d</sup>	3.44±0.05 <sup>c</sup>	9.01±0.29 <sup>a</sup>	6.63±0.07 <sup>b</sup>
Phenylalanine	2.69±0.16 <sup>c</sup>	3.10±0.20 <sup>c</sup>	3.12±0.05 <sup>c</sup>	7.09±0.25 <sup>a</sup>	5.23±0.11 <sup>b</sup>
Leucine + Isoleucine	5.44±0.43 <sup>c</sup>	6.25±0.51 <sup>c</sup>	7.47±0.13 <sup>c</sup>	22.20±0.94 <sup>a</sup>	16.03±0.56 <sup>b</sup>
Lysine	2.20±0.28 <sup>d</sup>	2.97±0.10 <sup>c</sup>	3.46±0.06 <sup>c</sup>	37.03±0.01 <sup>a</sup>	29.12±0.00 <sup>b</sup>
Histidine	0.93±0.07 <sup>c</sup>	1.10±0.00 <sup>bc</sup>	1.48±0.02 <sup>a</sup>	1.85±0.20 <sup>a</sup>	1.47±0.01 <sup>ab</sup>
Arginine	2.07±0.09 <sup>d</sup>	2.88±0.17 <sup>c</sup>	3.19±0.05 <sup>c</sup>	5.99±0.33 <sup>a</sup>	4,47±0.10 <sup>b</sup>
Methionine	0.13±0.01 <sup>b</sup>	-	1.29±0.02 <sup>a</sup>	-	-
<b>Total AAs</b>	36.45±1.45 <sup>c</sup>	41.59±3.12 <sup>c</sup>	47.91±0.80 <sup>c</sup>	160.46±1.06 <sup>a</sup>	109.15±12.06 <sup>b</sup>

Means followed by the same horizontal letter do not present statistically difference (p>0,05).

WF- *wheat flour*; CC PF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- *10% whey protein*; WP20- *20% whey protein*; WP30- *30% whey protein*.

**Table 5.** Acceptability and purchase intention of breads performed by non-celiac and celiac judges

Attributes	Treatments				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
<b>Non-celiacs</b>					
Appearance	7.39±1.31 <sup>a</sup>	6.43±2.00 <sup>b</sup>	7.22±1.21 <sup>a</sup>	7.24±1.43 <sup>a</sup>	6.83±1.73 <sup>ab</sup>
Texture	7.48±1.33 <sup>a</sup>	6.33±1.92 <sup>bc</sup>	6.98±1.57 <sup>ab</sup>	6.76±1.28 <sup>ab</sup>	5.61±1.72 <sup>c</sup>
Flavor	7.24±1.08 <sup>a</sup>	5.65±1.52 <sup>b</sup>	5.87±1.19 <sup>b</sup>	6.50±1.34 <sup>ab</sup>	5.91±1.41 <sup>b</sup>
Odor	7.17±1.30 <sup>a</sup>	6.11±1.72 <sup>b</sup>	6.78±1.65 <sup>ab</sup>	6.65±1.74 <sup>ab</sup>	6.22±2.03 <sup>b</sup>
Color	7.56±1.50 <sup>a</sup>	6.80±1.16 <sup>b</sup>	7.44±1.74 <sup>a</sup>	7.28±1.71 <sup>ab</sup>	6.94±2.05 <sup>ab</sup>
Global acceptance	7.48±1.25 <sup>a</sup>	5.83±2.04 <sup>c</sup>	6.48±1.50 <sup>bc</sup>	6.70±1.50 <sup>ab</sup>	6.07±1.91 <sup>bc</sup>
Purchase intention	3.87±1.06 <sup>a</sup>	2.87±1.36 <sup>b</sup>	3.26±1.03 <sup>b</sup>	3.35±1.12 <sup>ab</sup>	2.98±1.25 <sup>b</sup>
<b>Celiacs</b>					
Appearance	-	7.27±1.84 <sup>a</sup>	7.54±1.12 <sup>a</sup>	7.90±1.30 <sup>a</sup>	7.72±1.34 <sup>a</sup>
Texture	-	7.54±1.43 <sup>a</sup>	7.54±1.12 <sup>a</sup>	7.63±1.36 <sup>a</sup>	7.72±1.34 <sup>a</sup>
Flavor	-	8.09±8.03 <sup>a</sup>	8±0.77 <sup>a</sup>	8.27±0.90 <sup>a</sup>	8.09±0.94 <sup>a</sup>
Odor	-	7.18±1.88 <sup>a</sup>	6.81±1.60 <sup>a</sup>	7.36±1.80 <sup>a</sup>	6.45±1.91 <sup>a</sup>
Color	-	6.81±2.13 <sup>a</sup>	7.63±1.12 <sup>a</sup>	7.54±1.69 <sup>a</sup>	7.09±2.11 <sup>a</sup>
Global acceptance	-	7.45±1.57 <sup>a</sup>	7.54±1.03 <sup>a</sup>	7.36±1.74 <sup>a</sup>	6.90±1.81 <sup>a</sup>
Purchase intention	-	3.63±1.43 <sup>a</sup>	4.54±1.75 <sup>a</sup>	4.09±0.70 <sup>a</sup>	3.90±1.30 <sup>a</sup>

Means followed by the same horizontal letter do not present statistically difference ( $p>0,05$ ).

WF- *wheat flour*; CCPF- *Cassava, chickpea flour*; WP10- *10% whey protein*; WP20- *20% whey protein*; WP30- *30% whey protein*.

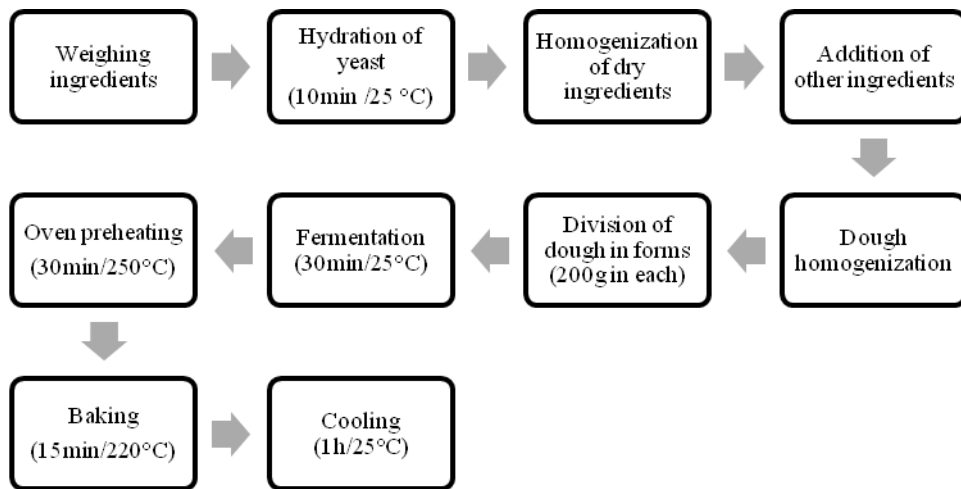


Figure 1. Flow chart of breads making adapted from César et al. (2006).

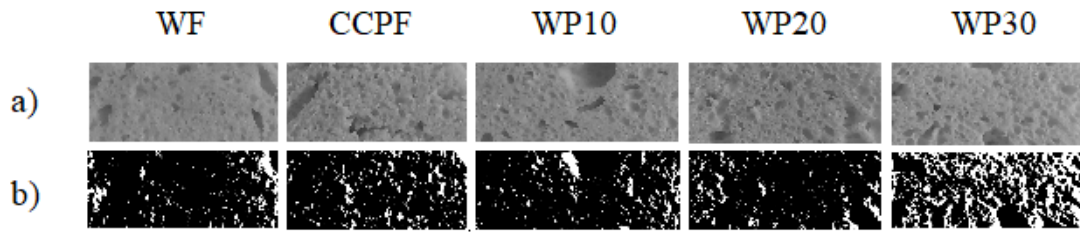


Figure 2. Pore images of breads formulations in grayscale (a) and binary (b)

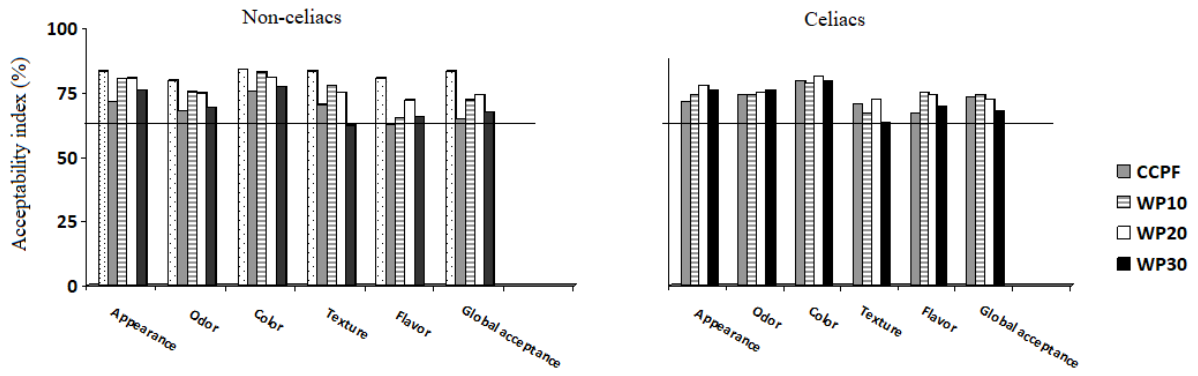


Figure 3. Acceptability index of breads formulations evaluated by non-celiacs (a) and celiacs (b) judges.

## 4 CONCLUSÃO

A proteína do soro do leite tem sido estudada como ingrediente funcional em produtos de panificação, associada principalmente como incremento proteico e/ou substituição ao ovo. No entanto, a utilização de proteínas lácteas evidencia uma alternativa interessante para alimentação principalmente de celíacos, mas também de não celíacos, ao demonstrar qualidade tecnológica, nutricional e sensorial promissoras.

Os bolos foram os produtos de panificação, adicionados de maiores quantidades de proteína do soro do leite, ao contrário dos pães e macarrões, e o tipo mais utilizado foi a concentrada, provavelmente pela sua composição nutricional, custo e fácil acesso.

Os pães elaborados obtiveram bom desempenho na avaliação de aminoácidos e nas análises centesimal, sensorial, de intenção de compra e de fibras. Um nível intermediário, como 20% de adição de proteína do soro do leite, melhorou parâmetros de cor e textura, sem apresentar coloração muito escura e dureza significativa, o que observado em concentrações maiores.

Ajustes nas formulações elaboradas e a utilização de novos ingredientes podem ser realizados a fim de aprimorar as características de qualidade percebidas nos produtos de panificação, porém, para tal, outros estudos são necessários.

## 5 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Avaliação quantitativa dos poros do miolo dos pães, através do software *Image tool*, a fim de observar a uniformidade de crescimento da massa de cada preparação, devido à maior ou menor formação de bolhas de ar;
- Análise de minerais, uma vez que o valor de cinzas não os quantifica separadamente;
- Avaliação da massa dos pães através de um farinógrafo, o que garante maior fidedignidade dos resultados;
- Avaliação de atividade de água, já que essa parece influenciar na textura da massa;
- Realizar algum teste estatístico que compare a análise sensorial de celíacos e não celíacos.



## APÊNDICE A - Modelo do cartaz para convite da análise sensorial

### **Convite para avaliação sensorial**

#### **Projeto: Desenvolvimento e avaliação da qualidade nutricional, tecnológica e sensorial de pães sem glúten a partir da proteína do soro do leite**

Convidamos aos interessados para participar da avaliação sensorial de preparações de pães sem glúten a partir da proteína do soro do leite. Esta análise tem por objetivo avaliar a aceitabilidade das preparações com ausência de glúten, as quais poderão constituir-se numa alternativa para os pacientes com doença celíaca.

Informamos que o tempo médio de avaliação para cada participante é de aproximadamente 10 minutos. Sua participação será voluntária. As respostas serão utilizadas apenas para fim de pesquisa.

**Data:**

**Horário:**

**Local:** Laboratório de Técnica Dietética - FAMED/UFRGS Rua Ramiro Barcelos, 2400 – Térreo.

**Pesquisadoras responsáveis:** Nutricionista Dr<sup>a</sup>. Viviani Ruffo de Oliveira e Nutricionista Mestranda Marina Rocha Komerowski

Para maiores informações entrar em contato com as pesquisadoras pelo telefone: (51) 33085610.

APÊNDICE B - Modelo do folder virtual para convite da análise sensorial via mídia social



**PARTICIPE!**

**ANÁLISE SENSORIAL DE  
PÃES DESENVOLVIDOS A  
PARTIR DA PROTEÍNA  
DO SORO DO LEITE**

**DATA:**

**HORA:**

**LOCAL:**



## APÊNDICE C - Termo de Concordância da Acelbra em participar do estudo



Ofício 007/2017

Porto Alegre , 05 de setembro de 2017

**Ao Comitê de Ética da UFRGS**

A Associação de Celíacos do Brasil - Seção RS vem por meio deste declarar que está ciente do Projeto de Pesquisa de Mestrado da Nutricionista **Marina Rocha Komerowski**, sobre o desenvolvimento e avaliação de pães sem glúten a partir da proteína do soro do leite, e sobre a qual os associados da **ACELBRA RS** irão realizar análise sensorial.

Atenciosamente,

**Fabiana Magnabosco**  
Presidente Acelbra RS

APÊNDICE D – Ficha para avaliação sensorial das preparações

Aceitabilidade: Você está recebendo preparações de pães adicionados de proteína do soro do leite. Por favor, analise cada amostra separadamente e aplique notas na tabela abaixo para cada atributo avaliado de acordo com o critério abaixo:

- (1) **Desgostei muitíssimo**
- (2) **Desgostei muito**
- (3) **Desgostei moderadamente**
- (4) **Desgostei ligeiramente**
- (5) **Nem gostei, nem desgostei**
- (6) **Gostei ligeiramente**
- (7) **Gostei moderadamente**
- (8) **Gostei muito**
- (9) **Gostei muitíssimo**

Atributos	Amostras				
	WF	CCPF	WP10	WP20	WP30
Aparência					
Odor					
Cor					
Textura					
Sabor					
Aceitação global					

Intenção de compra: Com relação aos pães avaliados, analise quanto à sua intenção de compra e aplique notas na tabela abaixo de acordo com o critério abaixo:

- (1) **Certamente não compraria**
- (2) **Possivelmente não compraria**
- (3) **Talvez comprasse/Talvez não comprasse**
- (4) **Possivelmente compraria**
- (5) **Certamente compraria**

Amostras				
WF	CCPF	WP10	WP20	WP30

## APÊNDICE E – Termo de consentimento livre e esclarecido

**Termo de consentimento livre e esclarecido**

**Projeto: Desenvolvimento e avaliação da qualidade nutricional, tecnológica e sensorial de pães sem glúten a partir da proteína do soro do leite**

Pesquisadora: Marina Komerowski e Prof<sup>a</sup> Viviani Ruffo de Oliveira

Participantes envolvidos: Celíacos da Acelbra e Alunos e servidores da UFRGS

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

**I. Justificativa e Objetivos:**

A busca por alternativas que contenham alta qualidade sensorial de pães faz com que haja pesquisas de novos ingredientes para se investigar essas atuais exigências. Neste sentido, associações entre hortaliças, leguminosas, cereais e proteínas lácteas estão sendo avaliadas em produtos de panificação, tanto para benefícios nutricionais, incluindo o aumento do teor de cálcio e relação de eficiência proteica, bem como benefícios funcionais, incluindo sabor e textura. Visto que os pães têm sido muito utilizados para fins de enriquecimento nutricional, especialmente por ser uma das principais fontes calóricas em muitos países e ser amplamente consumido por indivíduos de diversas classes sociais, este trabalho se propõe a desenvolver formulações sem glúten a partir da proteína do soro do leite como alternativa para pacientes portadores da doença celíaca.

**II. Os procedimentos a serem utilizados:**

Esse consentimento está relacionado com a avaliação sensorial de pães com adição de proteína do soro do leite. Os participantes serão convidados por cartazes fixados na Faculdade de Medicina e/ou folders virtuais em mídias sociais e e-mails para participar da avaliação sensorial no Laboratório de Técnica Dietética da Faculdade de Medicina/UFRGS. O deslocamento até a Faculdade é custeado pelos próprios participantes. Os participantes receberão as amostras simultaneamente, codificadas com 3 dígitos aleatórios, um copo de água para limpeza das papilas gustativas e uma ficha sensorial com uma escala hedônica de 9 pontos para se julgar os atributos: aparência, cor, sabor, textura e aceitação global. Também será analisada a intenção de compra do produto, a qual será avaliada através de uma escala de 5 pontos. Para o teste de preferência das amostras será utilizada uma escala hedônica de nove pontos para avaliar os atributos aparência, textura, cor, sabor e aceitação global. Todos os procedimentos duram, aproximadamente, 10 minutos.

**III. Desconfortos e riscos:**

Para os avaliadores não-celíacos: Essas análises serão realizadas somente com a concordância e a disponibilidade do participante em contribuir com o estudo, caso contrário será prontamente respeitado. Acredita-se, assim, que esse estudo seja de risco reduzido para esse grupo, pois não será realizada análise sensorial com pacientes com intolerância a lactose ou com alergia a qualquer outro ingrediente da formulação.

Para os avaliadores celíacos: Essas análises serão realizadas somente com a concordância e a disponibilidade do participante em contribuir com o estudo, caso contrário será prontamente respeitado. Além disso, serão adquiridos utensílios novos e não serão utilizados ingredientes nas formulações que comprometam a dietoterapia da doença celíaca. Apesar de todos os cuidados serem tomados, esse estudo apresenta risco de desconforto gastrointestinal para esse grupo, devido à possibilidade de contaminação cruzada. A pesquisadora fica responsável de prontamente encaminhar qualquer participante ao serviço de saúde se o mesmo apresentar qualquer problema relacionado a essa análise sensorial. Os participantes terão direito de abandonar este estudo, caso se sintam prejudicados ou tenham se arrependido de participar, e em qualquer momento terão liberdade de solicitar novas informações. Este trabalho terá total sigilo quanto aos resultados que venham a envolver o avaliador.

#### **IV. Os benefícios que se pode obter:**

Será avaliada a melhor forma de processamento em relação ao aspecto sensorial pelo grupo em questão, associando adições maiores e menores de proteína do soro do leite com as propriedades sensoriais. Dessa forma, pretende-se desenvolver um novo produto alimentício que seja, não apenas sensorialmente agradável, mas também nutricionalmente adequado, principalmente para portadores da doença celíaca.

#### **V. Garantia de privacidade:**

Os seus dados de identificação serão mantidos em sigilo e as informações colhidas serão analisadas estatisticamente, serão guardadas por um período de cinco anos e podem ser publicadas posteriormente em alguma revista científica. Afirmo que a sua participação poderá ser suspensa a qualquer momento caso você deseje, sem prejuízo para a sua pessoa.

#### **VI. Garantia de resposta a qualquer pergunta e liberdade de abandonar a pesquisa:**

Eu, \_\_\_\_\_ fui informado dos objetivos do estudo realizado pelas pesquisadoras Marina Komerowski e Viviani Ruffo de Oliveira, portanto concordo em participar deste projeto. Sei que em qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão se assim eu desejar. Caso tiver novas perguntas sobre este estudo, posso recorrer às pesquisadoras no telefone (51) 33085610 ou contatar o Comitê de Ética e Pesquisa da UFRGS (51) 33083738.

Declaro que tenho conhecimento do presente Termo de Consentimento.

---

Assinatura do participante

---

Assinatura do pesquisador

## REFERÊNCIAS

- AMARAL, F.; SOUTHGATE, A. (2018). The use of hydrocolloids to prepare panna cotta. **Arquivos Brasileiros de Alimentação**, 3(1), 2-10.
- ANSORENA, D.; ECHARTE, A.; OLLÉ, R., & ASTIASARÁN, I. (2013). No trans fatty acids in Spanish bakery products. **Food Chemistry**, 138, 422–429.
- ARAÚJO, W.; MONTEBELLO, N.; BOTELHO, R.; BORGIO, L. **Alquimia dos alimentos**. 3 Ed. - Editora Senac, 2016.
- ARAÚJO, H; ARAÚJO, W; BOTELHO, R; ZANDONADI, R. (2010). Doença celíaca, hábitos e práticas alimentares e qualidade de vida. **Revista Nutrição**, 23(3), 467-474.
- ARENDT, E.; BELLO, F. **Gluten-free cereals: Products and Beverages**. 3ª ed. Elsevier, 2008.
- ARRUDA, H.; SEVILHA, A.; ALMEIDA, M. (2016). Aceitação sensorial de um pão elaborado com farinhas de cactácea e de grão-de-bico. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, 18(3), 255-264.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE PANIFICAÇÃO E CONFEITARIA. Brasília: ABIP. Disponível em: [www.abip.org.br](http://www.abip.org.br). Acessado em julho de 2019.
- BACHI G. **Dieta com whey protein: os benefícios do soro do leite para a sua saúde**. Editora Matrix; 2013. 120 p.
- BALDISSERA, A.; BETTA, F.; PENNA, A.; LINDNER, J. (2011). Alimentos funcionais: uma nova fronteira para o desenvolvimento de bebidas proteicas a base de soro de leite. **Semina: Ciências Agrárias**, 32(4), 1497-1512.
- BAPTISTA, C. (2017). Diagnóstico diferencial entre doença celíaca e sensibilidade ao glúten não-celíaca: uma revisão. **International Journal of Nutrology**, 10(2), 46-57.
- BASCUÑÁN, K. A., VESPA, M. C., & ARAYA, M. (2016). Celiac disease: understanding the gluten-free diet. **European Journal of Nutrition**, 56(2), 449–459.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **A Diretoria Colegiada da ANVISA aprova o Regulamento Técnico para fixação de identidade e qualidade do pão**. Diário Oficial da União. Brasília. 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **A Diretoria Colegiada da ANVISA aprova o Regulamento Técnico sobre alimentos para atletas**. Diário Oficial da União. Brasília. 2010.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria SAS/MS nº 1149**. Brasília, p.1-8. 2015.

- CHAVAN, R.; SHRADDHA, R.; KUMAR, A.; NALAWADE, T. (2015). Whey Based Beverage: Its Functionality, Formulations, Health Benefits and Applications. **Journal Food Process Technology**, 6(10), 495.
- DIAS, F. DA S. L., PASSOS, M. E. A., TAVARES DO CARMO, M. DAS G., LOPES, M. L. M., & VALENTE MESQUITA, V. L. (2015). Fatty acid profile of biscuits and salty snacks consumed by Brazilian college students. **Food Chemistry**, 171, 351–355
- ELLI, L.; BRANCHI, F.; TOMBA, C.; VILLALTA, D.; NORSA, L.; FERRETTI, F.; RONCORONI, L.; BARDELLA, M. (2015). Diagnosis of gluten related disorders: Celiac disease, wheat allergy and non-celiac gluten sensitivity. **World Journal Gastroenterology**, 21(23), 7110-7119.
- ELFSTRÖM, P.; GRANATH, F.; YE, W.; LUDVIGSSON, J. (2012). Low Risk of Gastrointestinal Cancer Among Patients With Celiac Disease, Inflammation, or Latent Celiac Disease. **Clinical Gastroenterology Hepatology**, 10, 30-36.
- FENNEMA, O.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. **Química de Alimentos de Fennema**. 4<sup>a</sup> Ed. – Editora Artmed, 2010.
- GANI, A., BROADWAY, A. A., AHMAD MASOODI, F., ABAS WANI, A., MAQSOOD, S., AHMAD ASHWAR, B. (2015). Enzymatic hydrolysis of whey and casein protein - effect on functional, rheological, textural and sensory properties of breads. **Journal of Food Science and Technology**, 52(12), 7697–7709.
- GAO, Y., JANES, M. E., CHAIYA, B., BRENNAN, M. A., BRENNAN, C. S., & PRINYAWIWATKUL, W. (2017). Gluten-free bakery and pasta products: prevalence and quality improvement. **International Journal of Food Science & Technology**, 53(1), 19–32.
- GOHARA, A. K.; SOUZA, A. H. P.; ZANQUI, A. B.; SOUZA, N. E.; VISENTAINER, J. V.; MATSUSHITA, M. (2014). Chemometric tools applied to the development and proximal and sensory characterization of chocolate cakes containing chia and azuki. **Acta Scientiarum Technology**, 36(3), 537-543.
- GÓMEZ M, SCIARINI LS. **Gluten-Free Bakery Products and Pasta**. In: Advances in the Understanding of Gluten Related Pathology and the Evolution of Gluten-Free Foods. Barcelona, Spain: OmniaScience, 565-604, 2015.
- GURGEL, C.; MACIEL, J.; FARIAS, L. (2010). Increase calcium content in breads containing added whey and calcium carbonate. **Alimentos e Nutrição**, 21(4), 563-571.
- GREEN, P.; KRISHNAREDDY, S.; LEBWOHL, B. (2015). Clinical manifestations of celiac disease. **Digestive Diseases and Sciences**, 33(2), 137-140.
- KITTISUBAN, P., RITTHIRUANGDEJ, P., & SUPHANTHARIKA, M. (2014). Optimization of hydroxypropylmethylcellulose, yeast  $\beta$ -glucan, and whey protein levels based on physical properties of gluten-free rice bread using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, 57(2), 738–748.



- LEONARD, M. M., SAPONE, A., CATASSI, C., & FASANO, A. (2017). Celiac Disease and Nonceliac Gluten Sensitivity. **JAMA**, 318(7), 647.
- LINDFORS, K.; KOSKINEN, O.; KAUKINEN, K. (2011). An update on the diagnostics of celiac disease. **International Reviews of Immunology**, 30, 185–96.
- LUDVIGSSON, J.; BAI, J.; BIAGI, F.; CARD, T.; CIACCI, C.; CICLITIRA, P. (2014). **Diagnosis and management of adult celiac disease: guidelines from the British Society of Gastroenterology**, 63, 1210-1228.
- MARQUES, G. D. A., SÃO JOSÉ, J. F. B. D., SILVA, D. A., & SILVA, E. M. M. D. (2016). Whey protein as a substitute for wheat in the development of no added sugar cookies. **LWT - Food Science and Technology**, 67, 118–126.
- MIÑARRO, B.; ALBANELL, E.; AGUILAR, N.; GUAMIS, B.; CAPELLAS, M. (2012). Effect of legume flours on baking characteristics of gluten-free bread. **Journal of Cereal Science**, 56(2), 476-481.
- NASCIMENTO AB, FIATES GMR, ANJOS A, TEIXEIRA E. (2014). Availability, cost and nutritional composition of glutenfree products. **Brazilian Journal of Food Technology**, 116, 1842–1852.
- NUNES, L.; SANTOS, W.; CRUZ, R. (2009). Rendimento de extração e caracterização química e funcional de féculas de mandioca da região do semi-árido baiano. **Alimentos e Nutrição**, 20(1), 129-134.
- OLIVEIRA, M. N. **Tecnologia de produtos lácteos funcionais**. 1ed. São Paulo: Atheneu, 2009.
- ONYANGO, C.; MUTUNGI, C.; UNBEHEND, G.; LINDHAUER, M. (2011). Modification of gluten-free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice starch. **Food Science and Technology**, 44(3), 681-686.
- ORLOSKI, A.; BEZERRA, J.; ROMEIRO, M.; CANDIDO, C.; SANTOS, E.; NOVELLO, D. (2016). Elaboração de biscoito cream cracker adicionado de farinha de linhaça e com teor reduzido de sódio: avaliação físico-química e sensorial. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, 75.
- O'SHEA, N., ARENDT, E., & GALLAGHER, E. (2014). State of the art of gluten-free research. **Journal of Food Science**, 79, 1067–1076.
- PEREIRA, A.; DA SILVA, B.; ERRANTE, P. (2017) Aspectos fisiopatológicos da doença celíaca. **UNILUS Ensino e Pesquisa**, 14(34), 142-155.
- RAMOS, O. L., PEREIRA, R. N., RODRIGUES, R. M., TEIXEIRA, J. A., VICENTE, A. A., & MALCATA, F. X. (2016). Whey and Whey Powders: Production and Uses. **Encyclopedia of Food and Health**, 498–505.

- ROCHA, S.; GANDOLFI, L.; SANTOS, J. (2016). Os impactos psicossociais gerados pelo diagnóstico e tratamento da doença celíaca. **Revista Escola de Enfermagem**, 50(1), 65-70.
- ROSELL, C. M. (2011). The Science of Doughs and Bread Quality. **Flour and Breads and Their Fortification in Health and Disease Prevention**, 3–14.
- SÁNCHEZ-PARDO, M. E., ORTIZ-MORENO, A., MORA-ESCOBEDO, R., CHANONA-PÉREZ, J. J., & NECOECHEA-MONDRAGÓN, H. (2008). Comparison of crumb microstructure from pound cakes baked in a microwave or conventional oven. **Food Science and Technology**, 41(4), 620–627.
- SILVA, TSG.; FURLANETTO, TW. (2010). Diagnóstico de doença celíaca em adultos. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 56(1), 122-126.
- SREERAMA, Y.; SASHIKALA, V.; PRATAPE, V.; SINGH, V. (2012). Nutrients and antinutrients in cowpea and horse gram flours in comparison to chickpea flour: Evaluation of their flour functionality. **Food Chemistry**, 131, 462-468.
- SOARES JÚNIOR, M.S.; OLIVEIRA, W. M.de; CALIARI, M.; VERA, R. (2006). Otimização da formulação de pães de forma preparados com diferentes proporções de farinha de trigo, fécula de mandioca e okara. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, 24(1), 221-248.
- SOBOTA, A., RZEDZICKI, Z., ZARZYCKI, P. & KUZAWINSKA, E. (2015). Application of common wheat bran for the industrial production of high-fibre pasta. **International Journal of Food Science & Technology**, 50, 111–119.
- STANTIAL, S. E., & SERVENTI, L. (2017). Nutritional and sensory challenges of gluten-free bakery products: a review. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 69(4), 427–436.
- TIO, M.; COX, M.; ESLICK, G. (2012). Meta-analysis: coeliac disease and the risk of all-cause mortality, any malignancy and lymphoid malignancy. **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, 35, 540-551.
- URISTA, M.C.; ÁLVAREZ, F.R.; RIERA, R.F.; CUENCA, A. A.; TÉLLEZ, J. A. (2011). Review: Production and functionality of active peptides from milk. **Food Science Technology International**, 4(1), 293-317.
- VAN RIEMSDIJK, L. (2011). Preparation of gluten-free bread using a meso-structured whey protein particle system. **Journal of Cereal Science**, 53(3), 355-361.
- VASCONCELOS, Q.; BACHUR, T.; ARAGÃO, G. (2018). Whey protein: Composition, use and benefits – a narrative review. **European Journal of Physical Education and Sport Science**, 4(1).
- VIEIRA, J. C.; MONTENEGRO, F. M.; LOPES, A. S.; PENA, R. S. (2010). Qualidade física e sensorial de biscoitos doces com fécula de mandioca. **Ciência Rural**, 40(12), 2574-2579.

VOORPOSTEL, C. R.; DUTRA, M. B. L.; BOLINI, H. M. A. (2014). Sensory profile and drivers of liking for grape nectar among smoker and nonsmoker consumers. **Food Science and Technology**, 34(1), 164-173.

WORLD GASTROENTEROLOGY ORGANISATION (WGO) GLOBAL GUIDELINES. Disponível em: <http://www.worldgastroenterology.org/guidelines/global-guidelines/ceeliac-disease>. Acessado em: Maio de 2019.

YAZAR, G., DUVARCI, O., TAVMAN, S., & KOKINI, J. L. (2017). Non-linear rheological behavior of gluten-free flour doughs and correlations of LAOS parameters with gluten-free bread properties. **Journal of Cereal Science**, 74, 28–36.

ZHOU, W., THERDTHAI, N., & HUI, Y. H. (2014). Introduction to Baking and Bakery Products. **Bakery Products Science and Technology**, 1-16.