



INSTITUTO POLITÉCNICO
DE VIANA DO CASTELO

Alexandra Carvalho Pinheiro da Silva

O efeito da congelação e da embalagem em atmosfera modificada no tempo de vida do pão sem glúten com diferentes hidrocolóides.

Nome do Curso de Mestrado
Empreendedorismo e inovação na indústria alimentar.

Trabalho efectuado sob a orientação do
Professora Doutora Rita Pinheiro.

Maio 2012

"Só engrandeceremos nosso direito à vida cumprindo
o nosso dever de cidadãos do mundo."
(Ghandi)

Agradecimentos

A Deus por ter permitido meu crescimento a cada obstáculo superado e por me proporcionar a convivência com as pessoas a quem sou muito grata.

Agradeço a todos os que, directa ou indirectamente, tornaram possível a execução deste trabalho:

- À Professora Doutora Rita Pinheiro pela orientação;
- Ao Professor Doutor Rui Alves pelo apoio estratégico;
- As técnicas de Laboratório Engenheira Susana Rocha e D. Isabel Alves pelo empenho e disponibilidade durante toda a realização experimental do trabalho;
- A Ti Pai e Mãe que tanto me apoiaram, neste ano complicado da minha vida, estando sempre presente em todos os momentos;
- Aos amigos que ajudaram e apoiaram.

Sumário

A doença celíaca é uma doença auto-imune desencadeada pela ingestão de cereais que contêm glúten, como a farinha de trigo, e que se manifesta principalmente em crianças. O tratamento é fundamentalmente dietético e consiste na total exclusão do glúten da dieta alimentar, ficando o portador da síndrome impedido de consumir diversos produtos alimentares, como por exemplo o pão. O pão é um alimento altamente consumido e com excelentes propriedades funcionais. A substituição do glúten, presente na farinha de trigo e por conseguinte no pão, por outros componentes, como hidrocolóides, tem sido um grande desafio para a indústria alimentar, uma vez que o glúten é a fração proteica responsável pelas propriedades viscoelásticas do pão. Actualmente, o pão sem glúten disponível no mercado é de baixa qualidade organolética (textura e sensorial) e tem um tempo de vida reduzido.

Com este trabalho pretendeu-se estudar o efeito de dois processos de conservação de pão sem glúten ao longo do seu tempo de vida: congelação e a embalagem em atmosfera modificada (ATM). Simultaneamente avaliou-se o efeito da adição de diferentes hidrocolóides; goma xantana, guar, alfarroba e mistura goma xantana com carboximetilcelulose (CMC). Para tal, realizaram-se vários ensaios, nos quais se adicionou, à mesma mistura de base, constituída por farinha de arroz, amido de milho, água, albumina, cloreto de sódio, sacarose, levedura, os diferentes hidrocolóides. De forma a avaliar o efeito de método de conservação e do tipo de hidrocolóide adicionado, realizaram-se análises ao pH, humidade, perda de peso, cor, textura e contagem de mesófilos totais ao longo de 1 mês e 3 meses para a atmosfera modificada e congelação respectivamente.

Com os resultados obtidos conclui-se que o hidrocolóide que conferiu melhores propriedades de textura foi a goma de alfarroba, independentemente do processo de conservação. A congelação mostrou ser o método de conservação mais adequado para o pão sem glúten formulado. Relativamente à composição de ATM, conclui-se que a mistura em cerca de 60% CO₂/ 40 % N₂, é a mais adequada e também tem a vantagem de ser a mais económica.

Abstract

Celiac disease is a autoimmune disease triggered by the ingestion of cereals that contain gluten, such as wheat, and that manifest itself mainly in children.

The treatment is mainly diet and consists e the total exclusion of gluten from the food diet, being the disease carrier forbidden to consume food products such as bread. Bread is a highly consumed food, and excellent functional properties. The replacement of gluten, present in wheat flour and therefore the bread for others components, such as hydrocolloids, has been a major challenge for the food industry, since the gluten protein fraction is responsible for the viscoelastic properties of the bread. Currently gluten free bread available is commercially organoleptic low quality (texture and sensory), having a low shelf life.

This work aims to study the effect of two processes of conservation of gluten-free bread throughout its lifetime: freezing and modified atmosphere packaging (ATM). Simultaneously evaluated the effect of adding various hydrocolloids: xanthan gum, guar gum, carob and a mixture of xanthan with carboxymethylcellulose (CMC). To do so, several tests were carried out, in addition to which, the same basic mixture consisting of rice flour, maize starch, water, albumin, sodium chloride, sucrose, yeast, different hydrocolloids.

In order to evaluate the effect of storage method and type of hydrocolloid added analyses were carried out to pH, moisture content, weight loss, colour, texture and mesophilic count over one month and three months for the modified atmosphere and freezing respectively.

With these results it is concluded that the hydrocolloid which gave the best properties of texture was locust bean gum, regardless of process conditions. Freezing proved to be the most appropriate method of conservation for the gluten-free bread made. With regard to the composition of ATM, it is concluded that the mixture in 60% CO₂/40% N₂, is the most suitable and also has the advantage of being more economical.

Sommaire

La maladie cœliaque est une maladie auto-immune déclenchée par l'ingestion de gluten à base de céréales comme la farine de blé, et qui se manifeste principalement chez les enfants. Le traitement est constitué principalement d'une alimentation diététique avec totale exclusion du gluten, le porteur de ce syndrome est empêché de consommer divers produits alimentaires, tels que le pain. Le pain est un aliment très consommé et d'excellentes propriétés fonctionnelles. Le remplacement du gluten, présent dans la farine de blé et donc le pain par d'autres ingrédients tels que les hydrocolloïdes, a été un grand défi pour l'industrie alimentaire, vu que la fraction protéique de gluten est responsable des propriétés viscoélastiques du pain. Actuellement, le pain sans gluten disponible dans le commerce est de faible qualité organoleptique (texture et sensorielles) et a une durée de vie très éphémère.

Ce travail vise l'étude de l'effet de deux processus de conservation de pain sans gluten durant le stockage: la surgélation-congélation et le conditionnement sous atmosphère modifiée (ATM). Conjointement, l'étude a apprécié l'effet de l'addition de divers hydrocolloïdes: la gomme de xanthane, gomme de guar, gomme de caroube et le mélange de gomme de xanthane avec de la carboxyméthylcellulose (CMC). Pour cela, plusieurs tests ont été réalisés ou on a ajouté de divers hydrocolloïdes à une formulation de base constituée de farine de riz, amidon de maïs, de l'eau, l'albumine, de chlorure de sodium, le saccharose et de la levure. Afin d'estimer l'effet de la méthode de stockage et le type d'hydrocolloïde ajoutée, on a réalisées des analyses au pH, à la teneur en humidité, au déficit de poids, à la couleur, à la texture et au dénombrement des micro-organismes comptage des mésophile pendant un mois et trois mois pour la sous atmosphère modifiée et la congélation respectivement.

Avec ces résultats, on a conclu que l'hydrocolloïde, qui a donné les meilleures propriétés de texture, a été la gomme de caroube, indépendamment du processus de stockage. La congélation a été la méthode la plus appropriée pour la conservation du pain sans gluten produit. En ce qui concerne la composition de l'ATM, on a conclu que le mélange dans 60% de CO₂ / 40% de N₂, est le plus approprié et a aussi l'avantage d'être plus économique.

A elaboração da dissertação conduziu à realização dos seguintes trabalhos:

Comunicação em painel:

- Pinheiro, R., Silva, A. (2012) Assessing the shelf-life of frozen gluten-free bread made with different hydrocolloids. European Federation of Food Science & Technology (EFFOST), 20-23 Novembro, 2012, Montpellier, França.

Índices

Sumário	5
Abstract	6
Sommaire	7
Índices	9
1. Introdução	17
1.1. Enquadramento	19
1.2. Objectivos.....	21
2. Revisão Bibliográfica.....	23
2.1. A doença celíaca	25
2.2. Glúten.....	26
2.2.1. Farinhas sem glúten	26
2.3. Amido	27
2.3.1. Gelatinização do amido.....	28
2.3.2. Retrogradação do amido	28
2.4. Os hidrocolóides	28
2.3. Os métodos de conservação.....	34
2.3.1. A congelação	35
2.3.2. A embalagem em atmosfera modificada	36
2.3.3. O efeito da conservação nos produtos à base de pão.....	39
3. Materiais e Método	41
3.1. Matéria-prima.....	43
3.2. Processo produtivo do pão sem glúten.....	44
3.3. Processo de conservação	47
3.4. Preparação das amostras para análise.....	49
3.4.3. Embalamento a vácuo	50
3.5. Métodos analíticos	51
3.5.1. Determinação do pH.....	51
3.5.2. Determinação do Teor de Humidade.....	51
3.5.3. Determinação da Cor.....	52
3.5.3.1. Procedimento experimental.....	53

3.5.4. Determinação da percentagem de perda de peso ao longo do tempo de armazenamento	54
3.5.5. Textura	55
3.5.5.1. Procedimento experimental.....	55
3.5.5.2. Determinação da dureza	57
3.5.5.3. Determinação da elasticidade.....	57
3.5.5.4. Determinação da adesividade.....	57
3.5.5.5. Determinação da coesividade.....	57
3.5.5.6. Determinação da masticabilidade	57
3.5.6. <i>Contagem de microrganismos totais</i>	58
3.5.6.1. Procedimento Experimental	58
3.6. Análise estatística.....	59
4. Discussão dos Resultados.....	61
4.1. Conservação em congelação	63
4.1.1. pH.....	63
4.1.2. Cor do miolo de pão	64
4.1.4. Percentagem de perda do peso do pão.....	67
4.1.5. Dureza do miolo de pão	68
4.1.6. Elasticidade do miolo de pão	69
4.1.7. Adesividade do miolo de pão.....	70
4.1.8. Coesividade do miolo de pão	71
4.1.9. Masticabilidade do miolo de pão.....	72
4.2. Embalamento em atmosfera modificada	72
4.2.1. pH do miolo de pão	73
4.2.2. Cor do miolo de pão	73
4.2.3. Teor de humidade do miolo de pão	76
4.2.4. Variação do peso do pão	77
4.2.5. Variação do O ₂ e CO ₂ no interior da embalagem.....	78
4.2.6. Dureza do miolo de pão	79
4.2.7. Elasticidade do miolo de pão	80
4.2.8. Adesividade do miolo de pão	81
4.2.9. Coesividade do miolo de pão	82
4.2.10. Masticabilidade do miolo de pão	83
4.2.11. Carga microbiana do pão.....	83

4.3. Estrutura do miolo do pão	84
5. Conclusão e sugestões de trabalhos futuros	89
6. Bibliografia	93
Apêndices.....	105
Apêndice I – Observações experimentais de produção.....	107
Apêndice II – Observações experimental de amostragem.	108
Anexos.....	129

Índice das Tabelas

Tabela 1 - Sintomas mais comuns.	25
Tabela 2 - Hidrocolóides - Origem e codificação europeia.....	30
Tabela 3.- Estudos sobre o efeito dos hidrocolóides em massas de panificação.	32
Tabela 4 - O efeito dos processos de conservação nas massas de panificação.	39
Tabela 5 – Matérias-primas, marcas e respectivas percentagens, utilizadas no processo produtivo do pão sem glúten.	44
Tabela 6 – Descrição dos ensaios realizados para as 3 experiências efectuadas.	45
Tabela 7 – Composição da mistura de gases das duas experiências de embalagem em atmosfera modificada.	50
Tabela 8a - Registo do comportamento da atmosfera modificada mistura I.	105
Tabela 8b - Registo do comportamento da atmosfera modificada mistura II.	105
Tabela 9a – Observações experimentais da determinação do pH na congelação.	106
Tabela 9b – Observações experimentais da determinação do pH na ATM I.	107
Tabela 9c – Observações experimentais da determinação do pH na ATM II.	107
Tabela 10a – Observações experimentais da determinação do teor de humidade na congelação.	108
Tabela 10b – Observações experimentais da determinação do teor de humidade na ATM I.	108
Tabela 10c – Observações experimentais da determinação do teor de humidade na ATM II.	109
Tabela 11a – Observações experimentais da determinação da luminosidade na congelação.	109
Tabela 11b – Observações experimentais da determinação da luminosidade na ATM I.	110
Tabela 11c – Observações experimentais da determinação da luminosidade na ATM II.	110
Tabela 12a – Observações experimentais da determinação do parâmetro a* na congelação.	111
Tabela 12b – Observações experimentais da determinação do parâmetro a* na ATM I.	111
Tabela 12c – Observações experimentais da determinação do parâmetro a* na ATM II.	112
Tabela 13a – Observações experimentais da determinação do parâmetro b* na congelação.	112
Tabela 13b – Observações experimentais da determinação do parâmetro b* na ATM I.	113
Tabela 13c – Observações experimentais da determinação do parâmetro b* na ATM II.....	113
Tabela 14a – Observações experimentais da determinação da razão L*/b* na congelação	114

Tabela 14b – Observações experimentais da determinação da razão L^*/b^* na ATM I.	114
Tabela 14c – Observações experimentais da determinação da razão L^*/b^* na ATM II.	115
Tabela 15a – Observações experimentais da variação da cor na congelação.	115
Tabela 15b – Observações experimentais da variação da cor na ATM I.	115
Tabela 15c – Observações experimentais da variação da cor na ATM II.	116
Tabela 16a – Observações experimentais da determinação da dureza na congelação.	116
Tabela 16b – Observações experimentais da determinação da dureza na ATM I.	117
Tabela 16c – Observações experimentais da determinação da dureza na ATM II.	117
Tabela 17a – Observações experimentais da determinação da elasticidade na congelação	118
Tabela 17b – Observações experimentais da determinação da elasticidade na ATM I.	118
Tabela 17c – Observações experimentais da determinação da elasticidade na ATM II.	119
Tabela 18a – Observações experimentais da determinação da adesividade na congelação.	119
Tabela 18b – Observações experimentais da determinação da adesividade na ATM I.	120
Tabela 18c – Observações experimentais da determinação da adesividade na ATM II.	120
Tabela 19a – Observações experimentais da determinação da coesividade na congelação.	121
Tabela 19b – Observações experimentais da determinação da coesividade na ATM II.	121
Tabela 19c – Observações experimentais da determinação da coesividade na ATM II.	122
Tabela 20a – Observações experimentais da determinação da masticabilidade na congelação.	122
Tabela 20b – Observações experimentais da determinação da masticabilidade	123
Tabela 20c – Observações experimentais da determinação da masticabilidade na ATM II.	123
Tabela 21a – Observações experimentais da determinação da variação de peso na congelação	124
Tabela 21b – Observações experimentais da determinação da variação de peso na ATM I.	124
Tabela 21c – Observações experimentais da determinação da variação de peso na ATM II.	125
Tabela 22a – Observações experimentais da determinação da carga microbiana no ATM I.	125
Tabela 22b – Observações experimentais da determinação da carga microbiana no ATM I.	126

Índice das Figuras

Figura 1 – Mucosa intestinal.	19
Figura 2 - Dados do tempo e temperatura durante a congelação.	36
Figura 3 - Curva de crescimento padrão de microrganismos em sistema fechados.	38
Figura 4 - Fluxograma do processo produtivo do pão sem glúten.	46
Figura 5 - Hidratação da levedura e da goma CMC.	47
Figura 6 (a) – Pão após fermentação; (b)- Pão após cozedura.	47
Figura 7 – Exemplo de evolução da temperatura de cozimento.	48
Figura 8 – Variação da temperatura do pão sem glúten durante o processo de congelação.....	49
Figura 9 – (a) Embaladora de MAP, (b) Resultado final.	49
Figura 10 - Analisador de gás(a) e demonstração de uma análise de uma amostra de pão (b).....	51
Figura 11 – Fatia de pão antes (Tempo zero) e depois da aplicação do vácuo (Tempo 1 dia).....	51
Figura 12 – Ilustração exemplificativa do pão deformado após aplicação do vácuo.	51
Figura 13 - Coordenadas CIELAB 1976.	53
Figura 14- Colorímetro Minolta CRF-300.	54
Figura 15 – Balança.	55
Figura16- Texturómetro (a) Sonda (b) e exemplo de amostragem (c).	57
Figura 17 - Gráfico característico de um ensaio TPA, textugrama, o qual corresponde ao ensaio MPA1 amostra de alfarroba no tempo T1 dia.	57
Figura 18 – Variação do pH do pão com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de três amostras repetidas.	63
Figura 19 - Variação da cor (ΔE) do pão com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação.	64
Figura 20 - Variação da luminosidade do pão com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de cinco amostras repetidas.	65
Figura 21 – Razão L^*/b^* do pão com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de cinco amostras repetidas.	66
Figura 22 - Variação do teor de Humidade das amostras com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de três amostras repetidas.....	67
Figura 23 - Perda do peso das amostras com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação.	68
Figura 24 – Variação da dureza das amostras com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de três amostras repetidas.	69

Figura 25- Variação da elasticidade das amostras com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de dez amostras repetidas.	70
Figura 26 – Variação da adesividade das amostras com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de dez amostras repetidas.	71
Figura 27 – Variação da coesividade das amostras com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de dez amostras repetidas.	71
Figura 28 – Variação da masticabilidade das amostras com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de dez amostras repetidas.....	72
Figura 29 – Variação do pH das amostras com diferente hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO ₂ / 20% N ₂ (A) e com 60% de CO ₂ / 40% N ₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de três amostras repetida.....	73
Figura 30 - Diferença da cor (ΔE) das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO ₂ / 20% N ₂ (A) e com 60% de CO ₂ / 40% N ₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias.	74
Figura 31 – Variação da luminosidade das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO ₂ / 20% N ₂ (A) e com 60% de CO ₂ / 40% N ₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de cinco amostras repetidas.....	75
Figura 32 – Variação do parâmetro L*/b* das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO ₂ / 20% N ₂ (A) e com 60% de CO ₂ / 40% N ₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de cinco amostras repetidas.....	76
Figura 33 - Teor de humidade das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO ₂ / 20% N ₂ (A) e com 60% de CO ₂ / 40% N ₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de três amostras repetidas.	77
Figura 34 - Variação do peso das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada e com 80% de CO ₂ / 20% N ₂ (A) e com 60% de CO ₂ / 40% N ₂ (B), armazenadas a ≈22°C durante 30 dias	78
Figura 35 - Variação da composição de oxigénio e dióxido de carbono no interior da embalagem, para cada experiência, (A) 80% de CO ₂ +; (B) 60% de CO ₂ +, ao longo de 30 dias de armazenamento. O controlo refere-se à análise da composição dos gases no interior de uma embalagem vazia com o mesmo tempo de armazenamento das amostras.	79
Figura 36 – Variação da dureza das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO ₂ / 20% N ₂ (A) e com 60% de CO ₂ / 40% N ₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de dez amostras repetidas.	80
Figura 37 – Variação da elasticidade das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO ₂ / 20% N ₂ (A) e com 60% de CO ₂ / 40% N ₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de dez amostras repetidas.	81
Figura 38 – Variação da adesividade das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO ₂ / 20% N ₂ (A) e com 60% de CO ₂ / 40% N ₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de dez amostras repetidas.	82

Figura 39 – Variação da coesividade das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de dez amostras repetidas. 82

Figura 40 – Variação da masticabilidade das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de dez amostras repetidas. 83

Figura 41 – Microrganismos mesófilos totais a 30°C das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. 84

Figura 42 – Estrutura do miolo de pão com diferentes hidrocolóides ao tempo zeros dias, após 90 dias de armazenado congelado e após 30 dias armazenado em embalagens em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. 86-87

1. Introdução

1.1. Enquadramento

A doença celíaca (DC) é uma patologia auto-imune que afecta o intestino delgado de adultos e crianças geneticamente predispostos, causada pela ingestão de alimentos que contêm glúten. É um problema mundial de saúde pública devido à sua prevalência, à frequente associação com mortalidade variável e não específica e à probabilidade de aparecimento de complicações graves decorrentes da má absorção de nutrientes, principalmente osteoporose e doenças malignas do trato gastrointestinal.

A doença causa atrofia das vilosidades (Figura 1) da mucosa do intestino delgado, causando problemas na absorção de nutrientes, vitaminas, sais minerais e água.

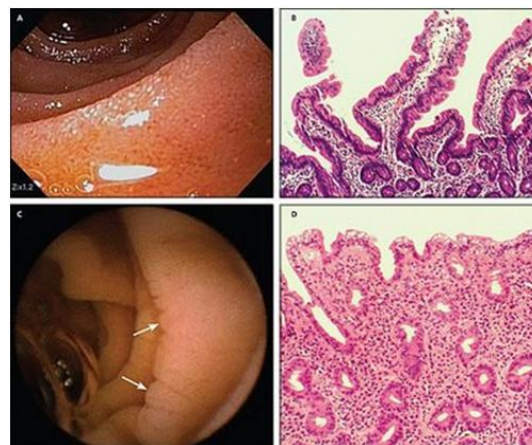


Figura 1 – Mucosa intestinal (fonte Rubio-Tapia, *et al.*, 2009).

Há poucas décadas acreditava-se que a doença celíaca (DC) era típica de populações europeias. Hoje, porém, sabe-se que a doença é comum em todas as regiões em que o trigo é um importante factor da dieta alimentar.

Como ocorre em todas as partes do mundo, a doença celíaca (DC) ainda pode permanecer sem diagnóstico por um período de tempo prolongado, porque pode apresentar-se sob várias formas clínicas, dificultando o diagnóstico precoce. Na actualidade, o tratamento da doença celíaca (DC) é fundamentalmente dietético e deve ser seguido durante toda a vida e consiste na exclusão do glúten. O glúten é o termo utilizado para descrever algumas das fracções proteicas encontradas em cereais como o trigo, o centeio, a cevada, a aveia e em outros derivados.

Os doentes celíacos relatam que a oferta de alimentos sensorialmente apropriados é restrita, o que torna monótona a sua dieta. Apontam que os produtos disponíveis no

mercado são normalmente de alto custo. Além disso, situações como viajar, comer fora de casa e não acreditar na segurança dos alimentos são frequentemente referidas. Adirir à dieta isenta de glúten não afecta apenas o consumo de vida, mas também o estilo de vida dos doentes celíacos. De facto, actualmente já existem diversos produtos sem glúten disponíveis no mercado mas o seu valor de compra é bastante elevado e o tempo de vida é relativamente curto

O glúten (resultante da combinação entre a gliadina e a glutenina, após hidratação) é responsável pelas propriedades viscoelásticas do pão conferindo uma consistência elástica esponjosa típica do pão e de outros produtos de panificação e pastelaria.

A obtenção de produtos isentos de glúten torna-se tecnologicamente difícil, sendo muitas vezes necessária a combinação de diversos componentes, assim como, a alteração dos processos de produção tradicionais. A massa sem glúten não tem a capacidade de retenção de gás durante a fermentação e cozedura, originando um pão com baixo volume específico e miolo firme e compacto.

Para a substituição da farinha de trigo tem sido utilizada principalmente a farinha de arroz, que também pode ser combinada com outras farinhas e amidos à base de outros cereais e tubérculos. Devido à diferente proporção das fracções de proteínas, a farinha de arroz é incapaz de desenvolver a rede proteica similar ao glúten. Por isso têm sido utilizados aditivos como hidrocolóides, emulsionantes, produtos lácticos, proteínas, amido gelatinizado e enzimas de forma a melhorar as qualidades reológica da massa, o volume final, as características estruturais e de textura, bem como o tempo de vida deste tipo de pão.

Os hidrocolóides, como a carboximetilcelulose, goma guar, xantana e alfarroba aumentam a viscosidade da massa, melhorando a capacidade de retenção do gás e gerando produtos com maior volume e pão com melhores características estruturais e de textura. Vários hidrocolóides Segundo diversos autores, os hidrocolóides são adicionados em níveis que variaram de 1 a 4 % (p/p).

Existem vários métodos de conservação que são utilizados para prolongar o tempo de vida dos produtos alimentares, como por exemplo a congelação, a refrigeração, a pasteurização e esterilização, a embalagem em atmosfera modificada, entre outros.

É possível encontrar no mercado produtos sem glúten conservados em atmosfera modificada, no entanto, estes perdem facilmente as suas características organolépticas e de textura após abertura das respectivas embalagens. Para além do valor nutricional destes produtos não ser o mais adequado, nomeadamente no que se refere à composição lipídica, a qual é demasiado elevada.

1.2. Objectivos

Neste trabalho pretende-se estudar o efeito de dois processos de conservação de pão sem glúten ao longo do tempo de vida: congelação e atmosfera modificada. Simultaneamente pretende-se também avaliar o efeito da adição de diferentes hidrocolóides: goma xantana, guar, alfarroba e mistura goma xantana com carboximetilcelulose (CMC). As gomas foram adicionadas a uma formulação base sem glúten. Esta formulação é constituída por farinha de arroz, amido de milho, levedura fresca, sacarose, cloreto de sódio, albumina e água.

Retiraram-se amostras ao longo do tempo e analisaram-se vários parâmetros físico-químicos, microbiológicos e de textura. Os parâmetros avaliados foram a textura, por TPA, a cor, por colorimetria, o teor de humidade, o pH, variação de peso e a contagem de mesófilos totais.

2. Revisão Bibliográfica

2.1. A doença celíaca

A Doença Celíaca é uma doença auto-imune que ocorre em indivíduos com predisposição genética causada pela permanente sensibilidade ao glúten. A ingestão de glúten, mesmo em pequenas quantidades, leva o organismo a desenvolver uma reacção imunológica contra o próprio intestino delgado, provocando lesões na sua mucosa que se traduzem pela diminuição da capacidade de absorção dos nutrientes. A eliminação do glúten da alimentação permite que o intestino regenere por completo da lesão e o organismo recupere. Contudo, se houver reintrodução do glúten, as inflamações regressam e os sintomas reaparecem (Tabela 1) (Catassi e Schär, 2007; Rubio-Tapia *et al.*, 2009).

Tabela 1 - Sintomas mais comuns (Catassi e Schär, 2007; Rubio-Tapia *et al.*, 2009).

Crianças / Forma típica	Adultos / Forma atípica
Diarreia crónica / prisão de ventre	Anemia e aftas recorrentes
Distensão abdominal	Dores ósseas e caibras
Vómitos	Alterações dermatológicas
Atraso no crescimento	Cansaço crónico
Perda de peso/aumento de peso insuficiente	Fertilidade diminuída e abortos espontâneos
Alterações de humor / irritabilidade	Alterações do comportamento (depressão, irritabilidade)

O que pode prevenir as complicações causadas pela doença é uma dieta rígida 100% livre de glúten por toda a vida (Benahmed *et al.*, 2003; Coultate, 2004). A fim de possibilitar a isenção de glúten dos produtos alimentares, a indústria deve ter um controlo rigoroso do processamento para evitar a contaminação cruzada com produtos que contenham farinha de trigo, tanto na escolha da matéria-prima quanto na higienização dos equipamentos. As autoridades públicas devem estabelecer leis para

assegurar a saúde de pacientes celíacos, e a comunidade científica para promover a padronização e validação de metodologias para a detecção de glúten (Possik *et al.*, 2005).

Outra dificuldade significativa para os celíacos é a questão do equilíbrio nutricional da dieta alimentar. A preocupação em não ingerir glúten é tão grande que o desenvolvimento de produtos para este grupo específico foca especialmente os substitutos da farinha de trigo, sais minerais (principalmente cálcio e ferro) e vitaminas, o que tem como resultado indivíduos acima do peso e desnutridos (Hopman *et al.*, 2006).

2.2. Glúten

O glúten é a principal proteína da farinha de trigo, responsável pelas propriedades viscoelásticas necessárias para produzir pão de boa qualidade. O termo glúten é utilizado para designar a fracção proteica constituída pelas duas classes proteicas, glutelina e prolamina, após hidratação. O glúten pode ser encontrado em diversos cereais como o trigo, a aveia, o centeio, a cevada e o malte, amplamente utilizados na composição de alimentos, medicamentos, bebidas industrializadas e cosméticos (Quaglia, 1991). Para assegurar a aceitabilidade do pão sem glúten, este deve ter características de qualidade semelhantes ao pão processado com farinha de trigo. O glúten não é eliminado quando os alimentos são processados termicamente, por isso deve ser substituído por outras farinhas alternativas ao trigo, como é o caso da farinha de arroz, amido de milho, farinha de milho, fubá, farinha de mandioca, polvilho doce, polvilho azedo e fécula de batata (Paulus, 1986).

2.2.1. Farinhas sem glúten

A substituição do glúten é, hoje em dia, uma das questões mais desafiantes para a ciência e tecnologia alimentar uma vez que a dieta isenta de glúten, ao longo da vida, é essencial para pacientes com doença celíaca. Portanto, é importante desenvolver alimentos alternativos com qualidade e características semelhantes aos produtos que

contém glúten. Um dos componentes mais frequentemente utilizado como um substituto dos cereais de trigo em produtos alimentares sem glúten, é o arroz, que tem um nível muito baixo de glúten, baixos níveis de sódio, proteína, fibra, gordura e uma quantidade elevada e hidratos de carbono de fácil digestão (Turabi *et al.*, 2006). Podem ainda utilizar-se outras farinhas como é o caso do amido de milho, da farinha de castanha, de feijão, de grão-de-bico, de lentilhas entre outras. Alguns aditivos alimentares, como gomas (hidrocolóides) ou produtos lácteos podem ser adicionados aos produtos sem glúten para tentar obter a qualidade desejada (Turabi Elif *et al.*, 2006).

2.3. Amido

O amido é a principal substância de reserva dos cereais e tubérculos e fornece 70% a 80% das calorias consumidas pelo homem, é altamente abundante na natureza e pode ser facilmente extraído com alta pureza e baixo custo. O amido de tubérculos possui maior facilidade de extracção, enquanto que os amidos de cereais necessitam de mais recursos para extracção. O amido é um polissacarídeo que consiste apenas de resíduos de -D-glicose e como tal, pode ser considerado uma homoglicana (ou homopolissacarídeo), apresenta-se na forma de grãos com forma e tamanho dependente da sua fonte botânica e é constituído por dois polímeros de glicose com estruturas diferentes: amilose e amilopectina. A organização física destas duas macromoléculas na estrutura granular determinam as propriedades do amido. A proporção entre amilose e amilopectina varia de acordo com a fonte botânica, o que confere características específicas à pasta de amido. A amilose é essencialmente linear constituída por polímeros de D-glicose ligados por ligações -1,4 e a amilopectina é altamente ramificada e, além das ligações -1,4, apresenta de 5 a 6% de ligações -1,6 nos pontos de ramificação. A grande maioria dos amidos contém 20-30% de amilose e 70-80% de amilopectina. A amilose forma um complexo com o iodo, originando uma coloração azul e é instável em soluções aquosas diluídas. A amilopectina está presente em todos os amidos conhecidos. Na presença do iodo a amilopectina origina uma coloração vermelha e é estável em soluções aquosas diluídas (Cereda, 2002).

2.3.1. Gelatinização do amido

Quando o amido é aquecido, e na presença de água, grandes modificações ocorrem na sua estrutura:

- A energia térmica introduzida no sistema enfraquece as ligações hidrogénio entre as moléculas de amilose e de amilopectina, a estrutura granular “relaxa” e alguma água começa a penetrar no interior dos grânulos.
- Mantendo-se o aquecimento, verifica-se o aumento das dimensões dos grânulos- eles incham – devido à cada vez maior quantidade que vai entrando e se vai ligando Às suas moléculas constituintes (estas moléculas contêm inúmeros grupos –OH, que facilmente estabelecem ligações hidrogénio com a água). Diz-se que o amido gelatiniza.
- Há um aumento de viscosidade, dado que parte da água fria retida nos grânulos e estes, cada vez maiores, dificultam o movimento da água. A temperatura a que isto ocorre depende da origem do amido e chama-se temperatura de gelatinização (Atwell *et al.*, 1998).

2.3.2. Retrogradação do amido

A retrogradação, segundo Atwell *et al.*, (1988), é um processo que ocorre quando as moléculas de amido gelatinizado começam a reassociar-se numa estrutura ordenada. Quando o gel do amido é deixado arrefecer, ocorre um alinhamento dos polímeros de glucose e, especialmente, da glicose, observando-se o aumento de rigidez do preparado. A este fenómeno chama-se retrogradação do amido. A retrogradação é tanto maior, quanto maior for a percentagem de amilose no amido. E isto porque, como as amiloses são moléculas lineares, mais facilmente se ligam umas às outras, dando origem a uma espécie de recristalinização e a um aumento de rigidez.

Ciacco e Cruz (1982) complementaram que a expulsão da água da rede do gel é denominada sinérese.

2.4. Os hidrocolóides

Os hidrocolóides, ou gomas alimentares, são macromoléculas hidrosolúveis (polissacarídeos), capazes em pequena concentração, de ligar a uma elevada quantidade

de água e, pela sua capacidade hidrofílica de modificar as propriedades reológicas dos produtos alimentares. Esta modificação reológica depende da concentração e da estrutura das macromoléculas mas também da sua rigidez e da possibilidade de ocorrência ligações químicas (Rosell *et al.*, 2000; Aguirre-Cruz, *et al.*, 2005; Kohajdová e Karovičová, 2008; Barcenas, *et al.*, 2009).

Se as ligações entre as macromoléculas não forem fortes, os hidrocóloides impedem a mobilidade (viscosidade) que depende do espaço ocupado pela macromolécula em movimento (volume hidrodinâmico):

- Quanto maior a massa molecular, maior é a viscosidade;
- Quanto maior a rigidez da molécula, maior é a viscosidade da solução e a fluidez sob acção mecânica (reofluidificação)

Desta forma as soluções espessantes, como as gomas guar e alfarroba e a carboximetilceluloses, têm uma viscosidade independente da velocidade de agitação se o seu peso molecular for baixo (comportamento Newtoniano). No entanto quando apresentam um peso molecular elevado, evidenciam mais características reofluidizantes (Rizzoti e Brigand, 1998).

A constituição particular de macromoléculas de goma xantana confere-lhe uma rigidez importante; as soluções são semi-gelificantes em repouso, mas são líquidas em determinadas condições. Se as macromoléculas se agregarem e criarem entre elas, zonas de junção, então forma-se um sistema tridimensional na fase aquosa. Estas zonas de junção são obtidas através ligações de zonas regulares das macromoléculas:

- Se se formarem espirais, os géis são termoreversíveis e, por vezes, mecanicamente reversíveis (exemplo agares e carreganatos);
- Se se formarem “novelos” reticulares pelos iões de cálcio e se as zonas de junção não forem muito importantes, podem ser mecanicamente e termicamente reversíveis.

Da mesma forma podem-se obter géis por associação de diferentes macromoléculas não gelificantes, permitindo a aproximação entre elas, como é o caso de misturas de goma xantana e alfarroba.

Para evitar a separação das diversas fases de um produto alimentar, recorre-se à adição de hidrocolóides espessantes, os quais impedem a mobilidade por aumento da viscosidade do produto (Rizzoti e Brigand, 1998).

Sendo assim, pode-se modificar a textura de um alimento através da adição de um polissacarídeo espessante, gelificante e/ou estabilizante (hidrocolóide). Na Tabela 2 é possível consultar alguns exemplos de hidrocolóides usados na indústria alimentar como espessantes.

A goma Xantana, guar ou alfarroba não gelificam, por si só, mas promovem o aumento da viscosidade do produto alimentar pois possuem fortes capacidades espessantes. (Rizzoti *et al.*, 2002; Turabi, *et al.*, 2006).

Tabela 2 - Hidrocolóides - Origem e codificação europeia.

	Goma Xantana	Goma guar	Carboxilmetilcelulose	Goma de alfarroba
Código	E415	E412	E466	E410
Função	espessante	espessante	espessante	espessante
Origem	Fermentação da <i>Xanthomonas campestris</i>	Sementes/ grãos de <i>Cyamopsis tetragonolobus</i>	Celulose quimicamente modificada	Sementes/ grãos da alfarroba

As proteínas e polissacarídeos são dois dos constituintes essenciais e responsáveis pela estrutura e textura dos alimentos.

Por exemplo, no caso do amido, uma particularidade da ligação amido-hidrocolóide é a modificação cinética de retrogradação dos géis de amido. A presença de hidrocolóides, não perturba a funcionalidade do amido mas este localiza-se na fase contínua da suspensão. Segundo a natureza espessante e gelificante de hidrocolóides, a natureza do amido e respectivas concentrações, são possíveis diversificações as características reológica dos sistemas amido-hidrocolóide tanto na textura final como na estabilidade do sistema.

2.2.1. Goma Xantana

A Goma Xantana ($C_{35}H_{49}O_{29}$) é proveniente da fermentação aeróbia de *Xanthomonas campestris*, após a qual é submetida a um processo de precipitação alcoólica, secagem e trituração após término da fermentação e esterilização.

Esta goma possui excelentes propriedades reológicas com características plásticas, elásticas e promove a formação de um gel muito coeso. Tem um peso molecular elevado e é constituída por unidades básicas de D-glucopiranoose, D-manopiranoose e ácido-D-glucurônico na proporção 2,8:3,0:2,0. É solúvel em água fria formando soluções viscosas mesmo em baixas concentrações, resistente ao aquecimento e à variações de pH (Rizzoti e Brigand, 2002; Kohajdová e Karovičová, 2008).

Esta goma tem um comportamento espessante, boa estabilidade em meio ácido e na presença de sais.

Estudos comprovam que a goma xantana auxilia na retenção de gás e no aumento do volume específico dos produtos de panificação (Preichard *et al.*, 2009).

2.2.2. Goma Guar

A goma guar é uma macromolécula linear neutra com ligações (1-4) que é particularmente solúvel em água fria. Esta solubilidade é resultado da presença de cadeias laterais repartidas ao longo da cadeia da macromolécula (Rizzoti *et al.*, 2002).

A goma guar provém de uma planta leguminosa *Cyamopsis tetragonolobus* é uma goma espessante, estabilizadora e emulsionante. É quimicamente constituída por uma cadeia de unidade de 1,4- β -D manopiranoose (Ribotta *et al.*, 2003), de peso molecular elevado, e estável ao calor devido á presença de galactose. Quando adicionada à massa, a goma guar, aumenta a tolerância à mistura, melhora a textura e a resistência do pão, e aumenta a capacidade de retenção de água.

2.2.3. Goma de alfarroba

À semelhança da goma guar, a goma de alfarroba é uma macromolécula linear neutra ramificada. Quanto menores as ramificações e menores a distribuição na cadeia principal, menor é a solubilidade final. Só é totalmente solúvel em água quente (Multon, *et al.*, 2002).

Da proveniência da planta leguminosa *Ceratonia siliqua*, a goma de alfarroba tem como principais características ser gelificante, estabilizadora e emulsionante (Rosell *et al.*, 2000).

2.2.4. Carboximetilcelulose

A carboximetilcelulose é um caso particular, pois é um polímero neutro com um grupo metil hidrofóbico. É totalmente solúvel em água fria, tem tendência a gelificar a quente através das ligações entre os componentes hidrofóbicos das diferentes cadeias (Morgado, *et al.*, 2001; Multon *et al.*, 2002; Rizzoti e Brigand, 2002).

2.2.5. O efeito dos hidrocolóides nos produtos à bases de pão

Têm sido realizados diversos estudos sobre a utilização de hidrocolóides em produtos de panificação como o pão e bolos (Tabela 3).

Tabela 3.- Estudos sobre o efeito dos hidrocolóides em massas de panificação

Produto	Gomas estudadas	Conclusões	Autores
Empadas	- Gomas Xantana e guar - HPMC* - Goma Xantana com HPMC*	As empadas produzidas com as misturas de gomas evidenciam melhores características em qualidade como após conservação	Lorenzo <i>et al.</i> , 2009
Massas alimentícias frescas	Goma guar (pasta de arroz)	A formulação com a goma guar produziu uma gelatinização adequada nas massas frescas.	Sozer, 2008
Bolos	Goma xantana	A goma xantana melhorou as características sensoriais do envelhecimento do bolo.	Preichardt <i>et al.</i> , 2009
	Goma xantana, guar	Só a formulação com goma	Turabi <i>et al.</i> ,

	e alfarroba	xantana teve o volume pretendido. Nas outras formulações, o volume e a porosidade foi moderada.	2006
Massa de pão	Goma guar	A adição da goma guar melhorou a textura elástica e resistência da massa. Aumentou a capacidade de retenção da água.	<i>Ribotta et al., 2003</i>
	HPMC*	Redução da retrogradação da amilopectina; melhorou a dureza das migalhas; melhorou o comportamento no pão após conservação do pré cozido	<i>Bárcenas and Rosell, 2005</i>
	Goma guar Inulin (arroz com batata)	Distribuição do gás é mais homogênea A cor da crosta mais uniforme após cozedura	<i>Mezaize et al., 2010</i>
	Goma xantana Pectina CMC*	Com a goma xantana, apresentou melhores propriedades viscoelásticas e uma curva típica na avaliação no farinógrafo na formulação sem glúten. Com a CMC*, altos níveis de porosidade com concentrações de 1% e baixa porosidade com concentrações de 2% No registo de resistência, xantana > CMC* > pectina	<i>Lazaridou et al., 2006</i>
Massa de milho	Goma guar CMC*	Melhorou a gelatinização, a retenção da água e diminui a capacidade viscoelásticas.	<i>Aguirre-Cruz et al., 2005</i>
Produtos de panificação	Goma xantana Goma guar entre outras	A goma guar melhorou o sabor das massas e ajudou a controlar o índice de glicemias	<i>Kohajdova e Karirivova, 2008</i>
Pão	Goma xantana Goma guar	Melhorou a firmeza, crocância, a baixa concentração de água provocou plasticidade; A goma xantana melhorou em geral todas as características.	<i>Mandala e Sotirakaglou, 2005</i>
	HPMC*	Estabilização do gás de fermentação; Estrutura geral melhorada	<i>Shober et al., 2008</i>
	Goma guar Pectina (milho, tapioca e batata)	A crocância diminui Rico em fibras insolúveis	<i>Korus et al., 2008</i>
Pão e massa	Goma xantana HPMC*	A goma xantana tem maior efeito nas propriedades da massa	<i>Rosell et al., 2000</i>
	Goma de alfarroba Goma xantana	A massa apresenta-se mais estável	<i>Mandala et al., 2006</i>

Legenda: HPMC – Hidroxipropilmetilcelulose; CMC - carboximetilcelulose

Quando adicionada à massa de pão, a goma guar melhorou a textura e a resistência da massa, e aumentou a capacidade de retenção de água (Ribota *et al.*, 2003). A incorporação da goma guar em certos tipos de alimentos melhora o seu sabor e melhora o índice glicêmico (Kohajdová e Karovicová, 2008).

Lazaridou *et al* (2006) testou diferentes hidrocolóides com concentrações de 1 a 2% no comportamento reológico de massas sem glúten, sendo eles pectina, carboximetilcelulose (CMC), agarose, xantana e β -glucano. A massa adicionada de goma xantana foi a que apresentou comportamento mais próximo de massas amiláceas elaboradas a partir da farinha de trigo, sendo que a sua curva farinográfica¹ se assemelhou muito à da farinha de trigo. Contudo, foi a única que não apresentou aumento de volume, e uma das que causou endurecimento do miolo.

A adição de goma xantana na formulação de massa de bolos aumentou a viscosidade aparente e impede o colapso dos bolos no processo de cozedura. A mistura de emulsionantes contribuiu para a obtenção de massas mais macias. Segundo este autor a utilização de goma xantana e outros emulsionantes usados na massa de bolos de arroz traduz-se em produtos com o volume, textura e porosidade mais aceitáveis (Tubari *et al.*, 2006).

No trabalho de Preichardt *et al.*, 2009, verificou-se que a adição de xantana melhorou as características sensoriais dos bolos sem glúten formulados com farinha de arroz e milho. O atraso do envelhecimento, a menor formação de migalhas e a maior sensação de humidade na boca destacaram-se nos bolos com esta goma adicionada. Portanto, a goma xantana teve efeito benéfico sobre as características sensoriais dos bolos sem glúten podendo ser utilizada de maneira satisfatória na elaboração desses produtos, melhorando expressivamente a sua qualidade sensorial.

2.3. Os métodos de conservação

A conservação dos produtos alimentares surge da necessidade de prolongar o tempo de vida dos alimentos. Existem vários métodos, equipamentos e técnicas de conservação

¹ Farinografia: realizada para medir a consistência da massa mediante a força necessária para misturá-la a uma velocidade constante e a absorção de água necessária para alcançar esta consistência.

que têm vindo a ser melhoradas e optimizadas com vista a aumentar o tempo de vida dos produtos alimentares garantindo a qualidade e segurança alimentar dos mesmos.

2.3.1. A congelação

O processo de congelação é um dos métodos eficientes na conservação de alimentos. No decorrer da congelação a água líquida transforma-se em gelo, reduzindo a actividade microbiana e enzimática, enfraquecendo a oxidação e a respiração (Haiying, 2007).

A congelação rápida é a melhor forma de manter a composição nutricional, a forma e o sabor dos alimentos.

A congelação rápida deve compreender temperaturas entre os -20°C e os -40°C, porém a temperatura óptima é de -30°C e a velocidade de circulação do ar entre 2m/s e 4m/s (Araújo *et al.*, 2009), dependendo do tipo de equipamento.

O efeito da congelação sobre a qualidade dos alimentos está directamente relacionado com o aparecimento e desenvolvimento de cristais de gelo que podem perfurar as paredes celulares (Anzaldúa-Morales *et al.*, 1999). O tamanho e a estrutura dos cristais de gelo dependem do método de congelação e da concentração de solutos (Chevalier *et al.*, 2000; Ueno *et al.*, 2004)

O conhecimento do ponto de congelação deve ser analisado para determinar a congelação e descongelação dos alimentos. Existe uma atenção especial para outras propriedades estruturais, tais como a transição vítrea, ponto final de congelação e fracção de água descongelada em alimentos devido à importância no processo e armazenagem dos alimentos.

Se a temperatura do centro térmico do alimento for controlado é possível elaborar uma curva característica de congelação (Figura 2). Para a construção dessa curva é necessário ter em conta seis parâmetros:

AS – o alimento é arrefecido abaixo do seu ponto de congelação, θ_f , com excepção da água pura. No ponto S (Figura 2) a água permanece líquida, no entanto, encontra-se abaixo do ponto de congelação (abaixo de 0°C). Este fenómeno é conhecido como super arrefecimento, pode ser atingir -10°C.

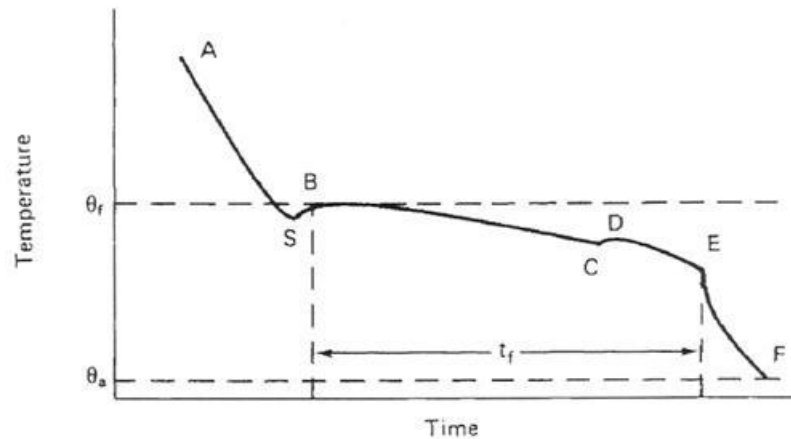


Figura 2 - Dados do tempo e temperatura durante a congelção (fonte: Fellows, 2000).

SB – a temperatura aumenta rapidamente até ao ponto de congelação quando os cristais de gelo se começam a formar, e o calor latente de cristalização é libertado.

BC – o calor continua a ser retirado do alimento ao mesmo ritmo, contudo é o calor latente que é removido, logo a temperatura permanece quase constante. O ponto de congelação é gradualmente reduzido pelo aumento da concentração dos solutos. É nesta fase que a maior parte do gelo é formada.

CD – um dos solutos torna-se super saturado e cristaliza. O calor latente da cristalização é libertado e a temperatura aumenta.

DE – a cristalização da água e dos solutos continua. O tempo total t_f é determinado pela taxa no qual o calor é removido.

EF – a temperatura da mistura, água – gelo, diminui para a temperatura do equipamento de congelação. Uma parte da água permanece descongelada, a quantidade depende do tipo e da composição dos alimentos e da temperatura de armazenamento (Fellows, 2000).

2.3.2. A embalagem em atmosfera modificada

O embalamento em atmosfera modificada (MAP, do inglês, *Modified Atmosphere Packaging*), é uma tecnologia de conservação muito utilizada pela indústria dos

produtos alimentares. Esta técnica implica a alteração dos gases que envolvem o produto no interior da embalagem obtendo uma composição diferente do ar (Al-Ati *et al.*, 2002; Rico *et al.*, 2007).

O ar seco da atmosfera padrão tem 78,1% de azoto (N_2), 20,9% de oxigénio (O_2), 0,03% de dióxido de carbono (CO_2) e cerca de 1% de árgon e outros gases; adicionalmente, a atmosfera contém vapor de água e poluentes. Naturalmente, a composição da atmosfera num determinado local e momento varia. Os gases cujas concentrações são, mais frequentes, objectos de alteração são o oxigénio (O_2) e o dióxido de carbono (CO_2), sendo o remanescente constituído por azoto (N_2) (Almeida, 2005).

Na atmosfera modificada os produtos alimentares são fechados em filmes plásticos, recipientes ou contentores que apresentam uma determinada permeabilidade aos gases. A alteração da composição pode ser alcançada: (1) da forma passiva, sendo a embalagem fechada com atmosfera normal de ar e a alteração da sua composição determinada pela taxa de respiração e pela permeabilidade das barreiras (filmes); (2) ou da forma activa, quando todo o ar é removido do interior da embalagem, sendo depois injectada a mistura de gases pretendida. Em qualquer dos casos, depois de selada a embalagem, deixa de poder ser exercido qualquer controlo da composição da atmosfera, e esta vai-se alterar inevitavelmente devido à respiração dos produtos e à permeabilidade dos filmes (Al-Ati *et al.*, 2002).

A atmosfera modificada pode reduzir o consumo de oxigénio e a produção de dióxido de carbono.

Por outro lado, atmosferas extremas, ou simplesmente desadequadas aos produtos, podem provocar potenciais efeitos negativos tais como: (1) a iniciação ou agravamento de certos acidentes fisiológicos; (2) aparecimento de aromas e odores desagradáveis resultantes da respiração anaeróbia ou reacções enzimáticas; (3) aparecimento de danos causados por oxigénio muito baixo ou dióxido de carbono muito elevado que podem resultar num aumento da susceptibilidade a doenças (Porte *et al.*; 2001; Almeida, 2005;).

A atmosfera existente dentro da embalagem é fundamental na selecção da flora microbiana presente. O efeito bacteriostático de elevadas concentrações de dióxido de carbono e reduzidas concentrações de oxigénio é conhecido há já algum tempo, mas a

forma como estes actuam sobre os microrganismos depende da concentração do gás, da temperatura e da tolerância do alimento aos microrganismos, entre outros factores (Roux, 1994). Estes efeitos sentem-se para concentrações ente 5% e 25 % de dióxido de carbono, quando sujeito a temperaturas diferentes. As temperaturas baixas aumentam a solubilidade do dióxido de carbono, acentuando os efeitos bacteriostáticos cuja acção máxima ocorre a 1°C.

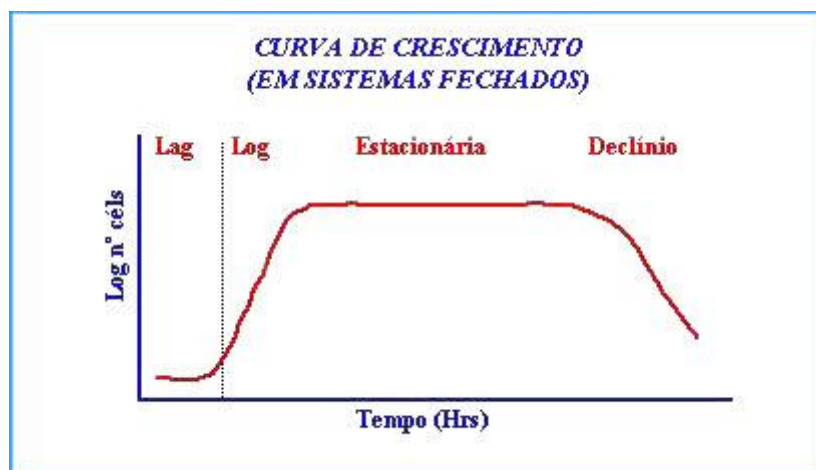


Figura 3 - Curva de crescimento padrão de microrganismos em sistema fechados (Fonte: Anón, 2010).

O crescimento de microrganismos (Figura 3) num sistema fechado caracteriza-se por uma fase Lag que é de período variável, em que ainda não existe um aumento significativo da população de microrganismos, permanecendo o seu número praticamente inalterado; seguida de uma fase Log, na qual ocorre um crescimento exponencial. Após esta, segue-se a fase Estacionaria, onde, devido à escassez de nutrientes, o número de microrganismos formado é igual ao número de microrganismos que morre, havendo um equilíbrio; e a fase de declínio, na qual a maioria dos microrganismos já se encontra a morrer não só pela falta de nutrientes mas também pela presença de produtos tóxicos resultantes do seu crescimento (Figura 3). O dióxido de carbono pode também aumentar a fase Lag e o tempo de geração no ciclo de crescimento dos microrganismos (fase Log). No aumento ou extensão da fase Lag, o dióxido de carbono actua como agente que desloca o oxigénio, e quando substituído por azoto, não provoca o mesmo efeito bacteriostático. Desta forma, parece que a redução do oxigénio disponível não constitui uma limitação ao crescimento dos microrganismos, sendo esta provocada pela presença de dióxido de carbono. No segundo caso, de aumento do tempo de geração no ciclo de crescimento, o mesmo ocorre pela

acidificação do meio provocada pela dissolução do dióxido de carbono em solução (Aquino *et al.*,2010).

O risco microbiológico potencial está sempre presente em qualquer que seja a atmosfera a envolver o produto. Até porque atmosferas diferentes da atmosfera normal (ar) podem inibir o crescimento de microrganismos deterioradores, permitindo o crescimento de outros que, se não apresentarem no produto sinais de deterioração, poderão ser ingeridos com o alimento. Assim o recurso ao embalamento em atmosfera modificada como método para aumentar o tempo de vida de um produto deve ser rigorosamente estudado.

Os requisitos para embalagens são factores sujeitos a ponderar sobretudo a utilização de filmes com determinado grau de permeabilidade. A espessura do filme é um factor de controlo da permeabilidade. A perda de humidade nos produtos alimentares, além de comprometer a qualidade tecnológica, afecta também o valor económico. Assim, a embalagem deve ser adequada para evitar a perda da massa do produto embalado. De facto, a embalagem tem um papel importante para minimizar a perda de água de um alimento.

2.3.3. O efeito da conservação nos produtos à base de pão

De acordo com a Tabela 4, a qual resume alguns estudos realizados sobre a congelação de produtos de panificação em diferentes hidrocolóides, verifica-se que, de uma forma geral, o processo de congelação aumenta a dureza do pão ao longo do seu tempo de vida.

Tabela 4 - O efeito dos processos de conservação nas massas de panificação.

Produto	Tecnologias de conservação	Conclusões	Autores
Pão pré cozido de trigo	Congelação até 42 dias a -25°C	Aumento da dureza do miolo com o tempo de armazenamento; Alteração de estrutura do pão	<i>Bárceras and Rosell, 2006</i>
Massa de pão sem glúten não fermentada	Congelação da massa crua	Não há alterações das propriedades viscoelásticas da massa crua e após cozedura; Aumentou a dureza do miolo Alteração da cor com congelação	<i>Mezaize et al., 2010</i>
Massa de pão pré-cozida e cozida com	Arrefecimento	Miolo do pão cozido é relativamente viscoso, independente do tipo de hidrocoloide;	<i>Mandala et al., 2007</i>

diferentes hidrocolóides		Os hidrocolóides são estabilizantes mais eficientes na massa do pão e no pão pré cozido;	
Massa de pão	Temperatura ambiente	A goma xantana e de alfarroba mantiveram as características iniciais da massa	<i>Mandala et al., 2007</i>
Massa de pão	Congelação	A temperatura de -30°C afectou mais a massa do que a -18°C O tempo de conservação afectou a massa sem glúten	<i>Leray et al., 2010</i>
Massa com hidrocolóides	Congelação	O aumento do tempo de conservação provoca uma diminuição da qualidade da massa do pão congelado	<i>Selomulgo and Zhou, 2006</i>

3. Materiais e Método

Neste trabalho, estudaram-se duas técnicas diferentes para a conservação do pão sem glúten: congelação e ATM. Foram realizadas três experiências: 1) congelação; 2) embalagem em atmosfera modificada, com 80% de CO₂ e 20% de N₂; 3) embalagem em atmosfera modificada, com 60% de CO₂ e 40% de N₂. Para cada experiência avaliou-se o efeito do tempo de armazenamento ao longo de três meses, para a congelação, e um mês para cada ensaio em embalagem em atmosfera modificada.

Para cada experiência, estudou-se ainda o efeito da adição de gomas à formulação de base. Desta forma procedeu-se à elaboração de quatro ensaios, para cada experiência, nos quais se variou o tipo de hidrocolóide: goma xantana, goma guar, goma de alfarroba e mistura de goma xantana com carboximetilcelulose.

Neste capítulo encontram-se descritas as matérias-primas utilizadas, os métodos de produção e conservação assim como os procedimentos das técnicas analíticas para a avaliação físico-química, de textura e microbiológica das amostras recolhidas ao longo do tempo de conservação.

3.1. Matéria-prima

3.1.1. Selecção e função

Os componentes utilizados na formulação do pão foram a farinha de arroz, amido de milho, água, hidrocolóides (goma xantana, guar, alfarroba e a carboximetilcelulose (CMC)), albumina de ovo, sacarose, levedura fresca sem glúten, e cloreto de sódio (Tabela 5). A quantidade de cada um dos componentes manteve-se igual em todas as experiências realizadas.

Tabela 5 – Matérias-primas e respectivas percentagens, utilizadas no processo produtivo do pão sem glúten.

Matéria -Prima	Marca/referência	%
Farinha de arroz	Farinha de arroz cru integral Seara	36,0
Amido de milho	Maizena Duryea	13,0
Sacarose	Açúcar branco granulado Continente	7,0
Cloreto de sódio	Sal do mar purificado Vatel	1,0

Albumina (Clara de ovo)	Ovos com casca frescos classe M Continente	8,5
Levedura <i>S. cerevisiae</i>	Levedura Fresca sem glúten Levital	2,9
Água	--	30,0
hidrocolóides • G. Xantana • G. Guar • CMC • G. Alfarroba	Aditivos alimentares Formulab	1,5

Os hidrocolóides foram adicionados na mesma proporção em todos ensaios (Tabela 6).

Tabela 6 – Descrição dos ensaios realizados para as 3 experiências efectuadas.

	Hidrocolóides	Restantes Ingredientes
Ensaio 1	Goma Xantana	Farinha de arroz, amido de milho, cloreto de sódio, sacarose, levedura, albumina e água
Ensaio 2	Goma Guar	
Ensaio 3	Carboximetilcelulose + Goma Xantana	
Ensaio 4	Goma Alfarroba	

A farinha de arroz escolhida foi uma farinha de arroz integral cru comercial da linha de produtos dietéticos. O amido de milho, açúcar e o sal são de proveniência comercial corrente. A levedura fresca utilizada tem a características de ser preparada sem glúten. Os hidrocolóides ou gomas são específicos para a área alimentar

3.2. Processo produtivo do pão sem glúten

Na figura 4 encontra-se esquematizado o fluxograma do processo produtivo do pão sem glúten.

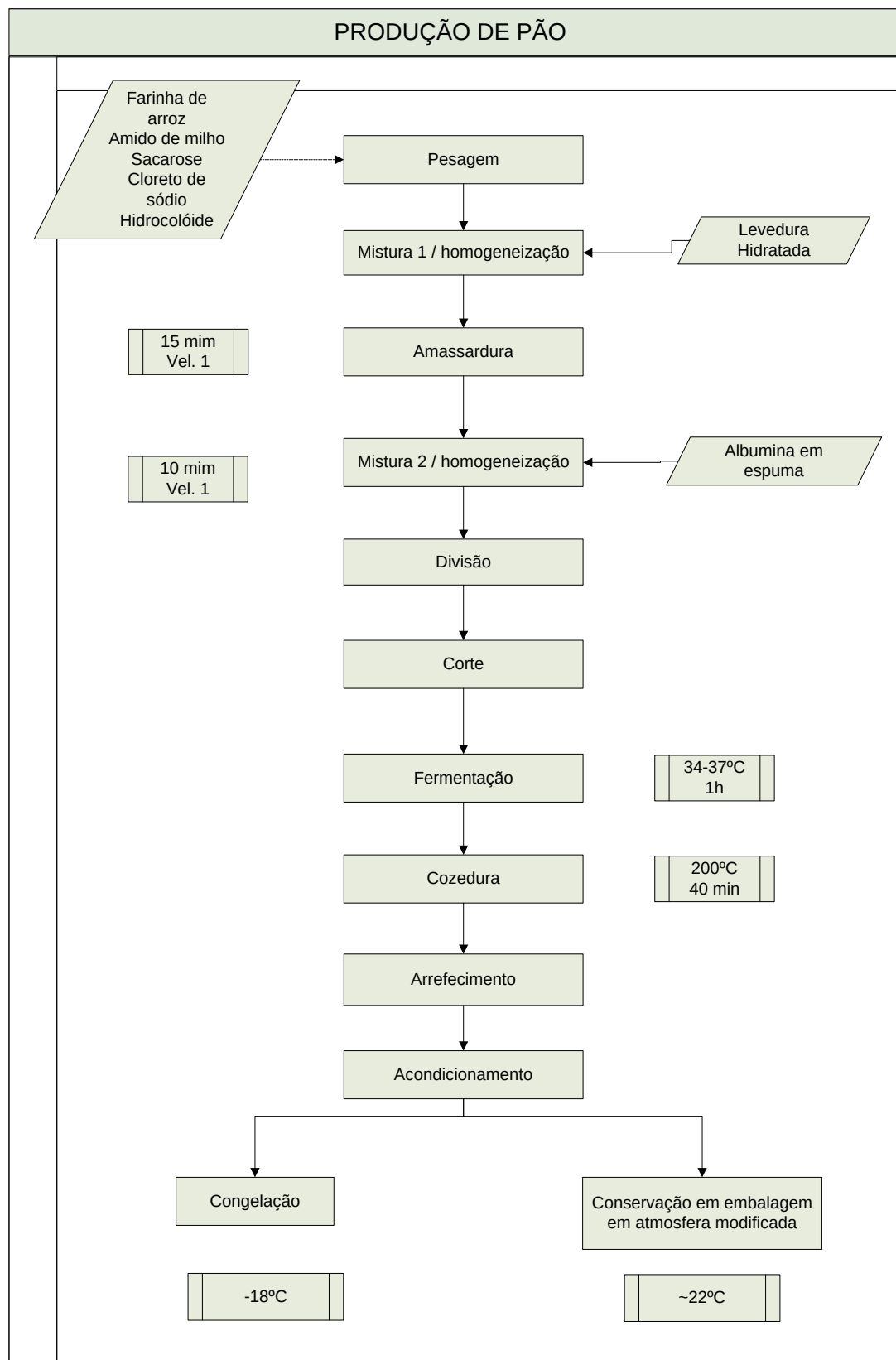


Figura 4 - Fluxograma do processo produtivo do pão sem glúten.

Numa primeira fase, pesam-se os componentes secos e posteriormente misturam-se e homogeneízam-se (Mistura 1). Paralelamente é activada a levedura em água a 34°C (Figura 5a).

No ensaio em que se adicionou a carboximetilcelulose, também foi necessário fazer uma mistura prévia em água fria, com repouso posterior (Figura 5b).

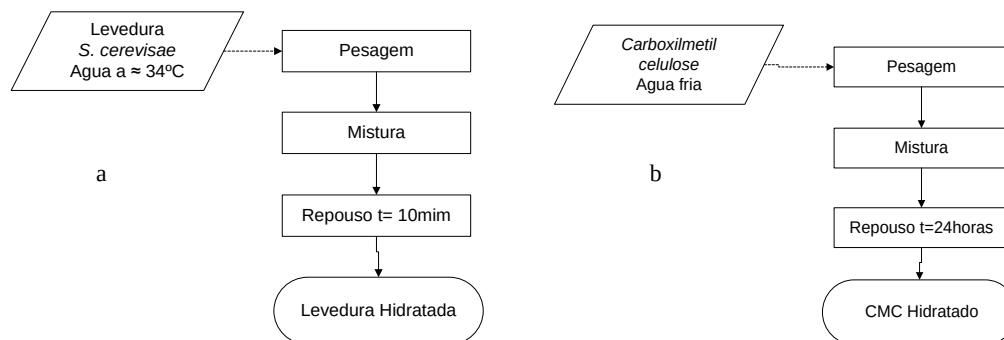


Figura 5 - Hidratação da levedura (a) e da goma CMC (b).

Após homogeneização dos componentes secos é adicionada a levedura, os hidrocolóides, para cada ensaio, e a água. A mistura resultante é amassada numa batedeira (Kenwood electronics) a uma velocidade constante de 1 Rpm durante 15 minutos. Posteriormente adiciona-se a albumina em espuma (Mistura 2). Continua-se a amassar durante 10 minutos, tempo após o qual a massa adquire a consistência pretendida. Numa fase seguinte, a massa é moldada, colocada numa forma de alumínio (embalagem) (Figura 6a) e colocada a fermentar numa incubadora (Sanyo – incubator ou EHRET, BK260) durante 1h a 35-37°C. Após a fermentação, o pão é cozido em forno convector (Sicomex) a 200°C durante 40 minutos (Figura 6b).

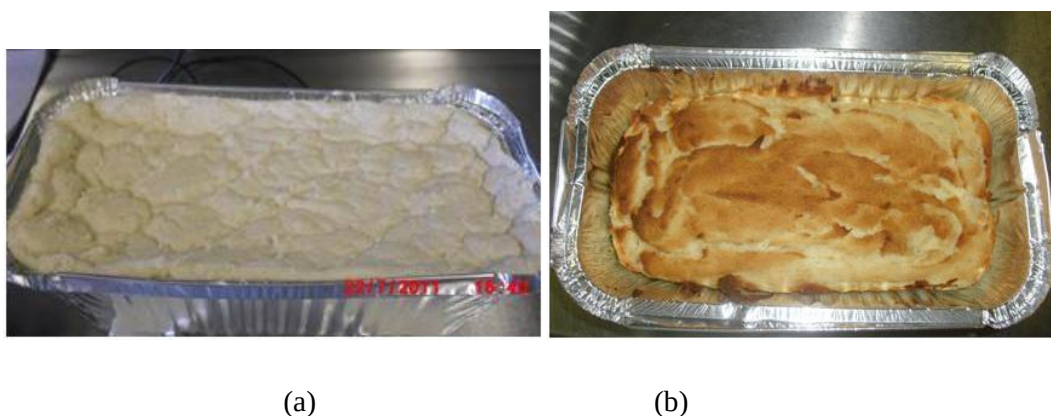


Figura 6 (a) – Pão após fermentação; (b)- Pão após cozedura.

Na Figura 7 encontra-se um exemplo de evolução da temperatura de cozedura (medida no interior do pão) ao longo do tempo.

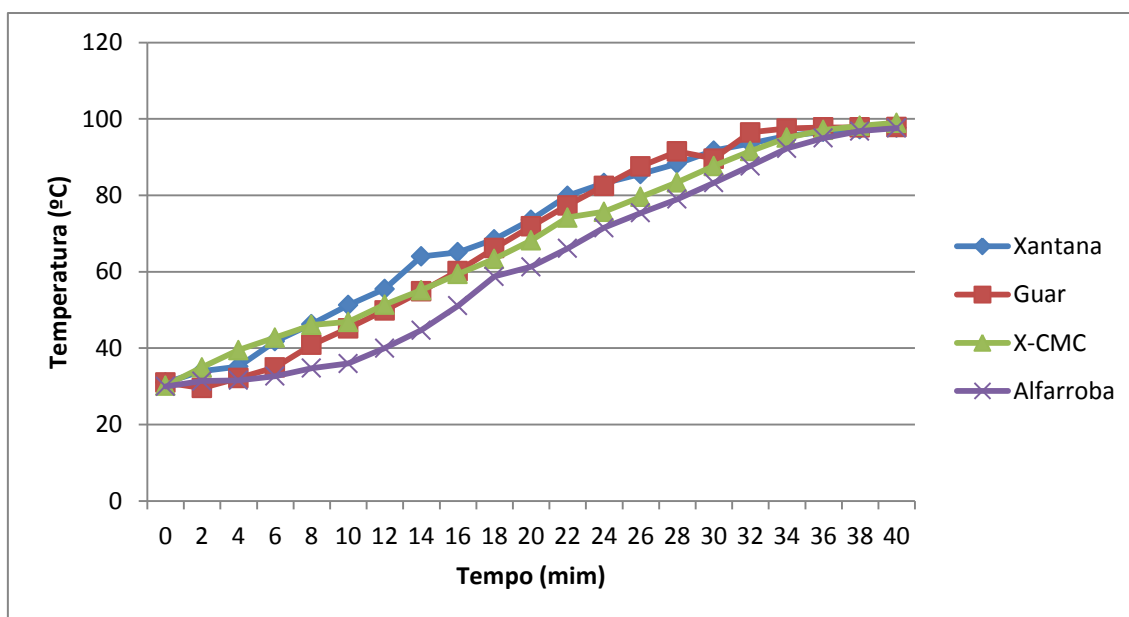


Figura 7 – Exemplo de evolução da temperatura de cozimento.

Após arrefecimento, o pão é pesado, embalado e conservado por uma das técnicas utilizadas (subcapítulo 3.3).

3.3. Processo de conservação

3.3.1. Congelação

A congelação do pão, para os vários ensaios realizados com hidrocolóides diferentes, foi efectuada num equipamento de ultra congelação rápida (Magnus “Blast chiller Freezer”).

Este equipamento permite a congelação dos alimentos através de circulação de ar frio forçado dentro da câmara. Este sistema também utiliza a compressão do líquido frigorígeno para a congelação rápida dos alimentos. Dentro da câmara existem 5 suportes laterais para encaixe de tabuleiro em aço inoxidável, nos quais os alimentos são colocados.

As embalagens com o pão são introduzidas dentro destes tabuleiros os quais são encaixados no respectivo equipamento. A partir deste momento, regista-se a temperatura no interior do pão ao longo do tempo de congelação (Figura 8). Este registo faz-se através de uma sonda de temperatura ligada a um registador (Thermocouple

Thermometer HD 9016). Considerou-se o pão congelado quando a temperatura no centro atingiu os -18°C .

Após congelação, os ensaios foram embalados em sacos de polietileno (Flexopack PE01) e, de seguida, armazenados numa câmara de armazenamento a -20°C sem ventilação. A amostragem foi realizada nos tempos 0 dias, 8 dias, 30 dias e 90 dias.

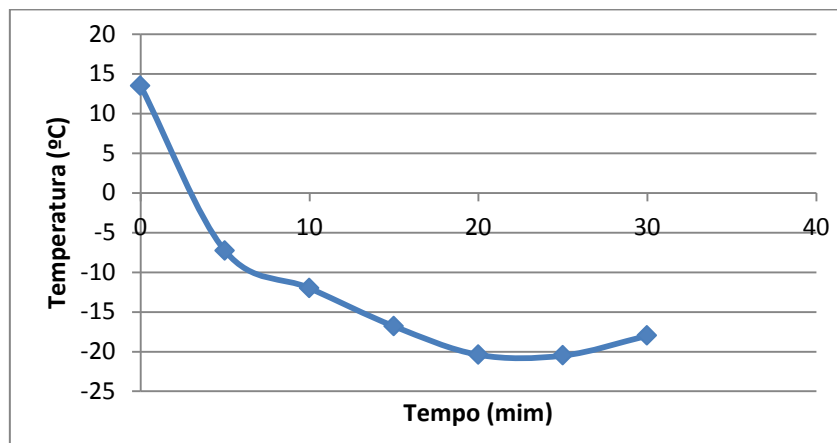


Figura 8 – Variação da temperatura do pão sem glúten durante o processo de congelação.

3.3.2. Atmosfera modificada

Os ensaios em atmosfera modificada foram realizados num equipamento de embalagem, Termoseladora Oceania Jolly 20, Yang SRL (Figura 9a), o qual permite a admissão de gases através de sistema activo. Este equipamento contém um molde que permite a colocação de duas cuvets em simultâneo (Figura 9b).



(a)



(b)

Figura 9 – (a) Embaladora de MAP, (b) Resultado final.

Após arrefecimento, o pão é desenhado e colocado em cuvetes (Coopbox Hispania S.L.U. – Cuvete B22-80 Poliestireno expandido (EPS) branco, lamina central em HIPS). As cuvetes são colocadas nos respectivos moldes do equipamento e inicia-se o processo de embalagem. Neste, o ar que está na cuvette é removido através do vácuo, e inserida a mistura de gás previamente seleccionada (Tabela 7). No final deste processo, a cuvette é selada a quente com o filme retráctil (OPEX 55 AB PA/EVOH (Borríer)/P). Posteriormente as embalagens são armazenadas à temperatura ambiente e ao abrigo da luz. A amostragem foi realizada nos tempos 0 dias, 1 dias, 8 dias e 30 dias.

De referir que a selecção das misturas de gases referidas na tabela 7, teve como base outros produtos semelhantes que existem no mercado.

Tabela 7 – Composição da mistura de gases das duas experiencias de embalagem em atmosfera modificada.

Experiência	Gases		
	O ₂ (%)	CO ₂ (%)	N ₂ (%)
A	2	80	18
B	1	60	39

3.4. Preparação das amostras para análise

3.4.1 Congelação

Para se proceder à realização das técnicas analíticas, o pão correspondente a cada ensaio foi retirado da câmara de congelação com uma antecedência de 24 horas. Após a sua descongelação, o pão foi desenhado, pesado e cortado em fatias de 1,5 cm de espessura.

3.4.2. Embalagem em atmosfera modificada

Para analisar o gás no interior das cuvetes utilizou-se um analisador de gás PBI Dansensor – Check Mate II (Figura 10a). Para tal, inseriu-se a sonda no filme e registou-se a composição em oxigénio e dióxido de carbono da embalagem (Figura 10b). Após este procedimento o pão é removido da cuvette, pesado e cortado em fatias de 1,5 cm de espessura.

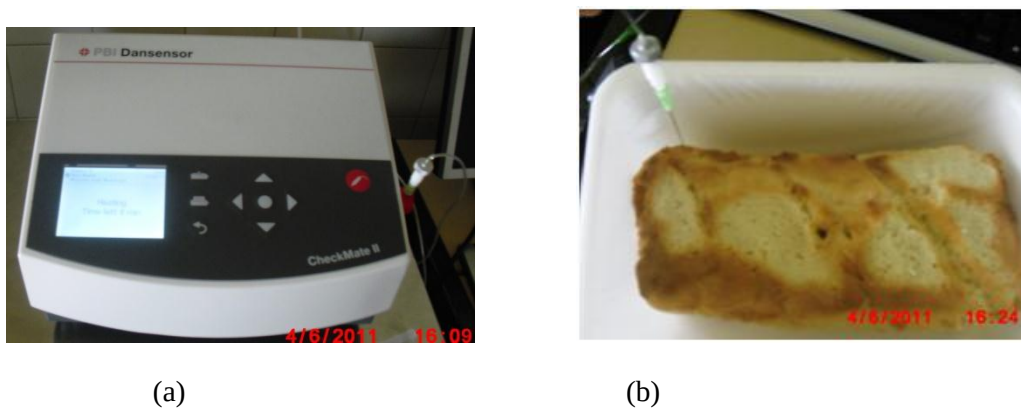


Figura 10 - Analisador de gás(a) e demonstração de uma análise de uma amostra de pão (b).

3.4.3. Embalamento a vácuo

De forma a estudar a possibilidade de recorrer à embalagem a vácuo, realizou-se um ensaio a vácuo. No entanto, conclui-se que o processo de conservação a vácuo não é passivo de ser utilizado para a conservação do pão sem glúten. A técnica de vácuo altera profundamente a estrutura alveolar do pão (Figura 11); tornando o pão compacto e diminuindo o seu volume. (Figura 12). Desta forma retirou-se esta experiencia do estudo.

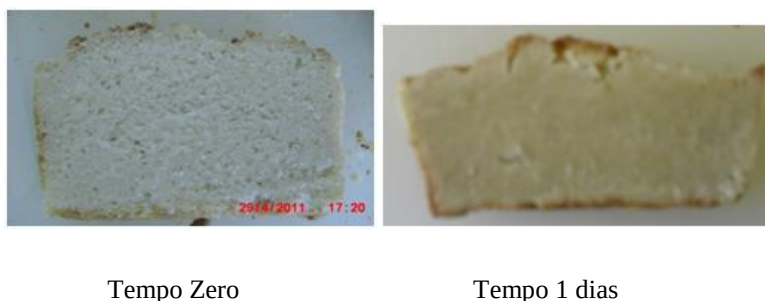


Figura 11 – Fatia de pão antes (Tempo zero) e depois da aplicação do vácuo (Tempo 1dia).



Figura 12 – Ilustração exemplificativa do pão deformado após aplicação do vácuo.

3.5. Métodos analíticos

Neste subcapítulo descrevem-se todos os métodos analíticos realizados às amostras dos ensaios efectuados. Deve-se referir que o tempo zero (T0) corresponde ao controlo para a avaliação do tempo de vida de cada uma das experiências, isto é, não foi sujeito a qualquer processo de conservação.

3.5.1. Determinação do pH

A determinação do pH é realizada com ajuda de um potenciómetro (Hanna Medidor de pH – HI 99163) em que a sonda é previamente calibrada com as soluções padrões pH 4 e pH 7. A sonda é inserida no pão em dois pontos diferentes e os valores são registados através leitura directa.

3.5.2. Determinação do Teor de Humidade

Para a determinação do teor de humidade do pão (após cozimento) utilizou-se o método da gravimétrico.

Numa primeira fase, todos os cadinhos cerâmicos são condicionados e mantidos no exsiccador antes de serem utilizados. É retirada uma amostra de cada ensaio para triturar através de uma picadora (Flama 700W) de forma a obter uma amostra homogénea.

Cada cadinho é codificado e pesado na balança analítica (Sartorius BP 221S), e é colocado 4 gramas de amostra. O conjunto (cadinho + amostra) é colocado na estufa (EHRET, BK260) a 63°C durante 72h. Após este tempo, os cadinhos são colocados novamente no exsiccador, durante 24 horas, para arrefecimento e depois pesados. Todas as pesagens são registadas. Para cada ensaio foram realizados três análises (triplicado).

O teor de humidade é calculado pela seguinte equação:

$$\% \text{ Humidade (\%H)} = (m_0 - m_1) * (100/m_0)$$

Em que:

M_0 – Massa inicial de amostra;

M_1 – massa da amostra seca.

3.5.3. Determinação da Cor

A colorimetria refere-se à ciência e à tecnologia usada para quantificar e descrever (pela ajuda de modelos matemáticos) a percepção humana da cor. A percepção das cores pelo olho humano não é um processo meramente visual, mas sim psico-visual. A cor é algo que se vê com os olhos e se interpreta com o cérebro, é o resultado da interação da luz com os materiais.

O sistema CIE (Comissão Internacional de Iluminação) é utilizado para descrever a cor, e não é diferente de nenhum outro, excepto na sua padronização de iluminantes e de observadores.

Há muitas fontes de luz disponíveis no mercado que apresentam distribuições espectrais de potência bastante diferentes entre si, mesmo sendo comercializadas com a mesma designação.

Como a iluminação influencia directamente a cor dos objectos, estes apresentam mudanças significativas na aparência da cor quando submetidos a diferentes fontes luminosas.

Para reduzir essa complexidade, o CIE padronizou alguns iluminantes e fontes.

Espaço CIELAB.

No espaço psicométrico CIELab, as cores são descritas ou por luminosidade (L^*), coordenada a^* (conteúdo de vermelho a verde) e coordenada b^* (conteúdo de amarelo a azul) ou pelo uso de coordenadas cilíndricas de luminosidade (L^*), tonalidade (h°) e croma (C^*), relacionadas directamente com as coordenadas CIELab 1976 (Figura 13).

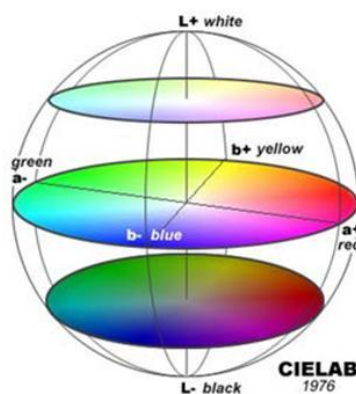


Figura 13 - Coordenadas CIELAB 1976 (Fonte: <http://sellerink.com.br/blog/series/controle-da-cor/page/4/>).

No espaço CIELAB é possível quantificar as diferenças em termos psicométricos de ΔL^* , Δa^* , Δb^* e ΔE ou ΔL^* , ΔC^* , ΔH^* e ΔE . A diferença de cor é denominada pela expressão ΔE .

3.5.3.1. Procedimento experimental

Para a determinação da cor utilizou-se um colorímetro Minolta CR-300 (Colorímetro Minolta Chromameter - Figura 14) e o sistema foi o CIEL*a*b*.



Figura 14- Colorímetro Minolta CRF-300.

Relativamente à determinação de cor das amostras procedeu-se à calibração do colorímetro. Assim, o medidor foi posicionado no centro da placa de calibração, procedendo-se à calibração. Para a verificação da correcta calibração do equipamento confirmam-se os valores obtidos no mostrador: L^* 97.06; a^* +5.28; b^* -3.49, de acordo como pretendido.

Posteriormente procedeu-se à determinação da cor das amostras, posicionando-se o medidor no centro das mesmas e registando os valores ($L^*a^*b^*$) obtidos. Para cada tipo de ensaio fizeram-se cinco determinações

A determinação da variação da cor é calculada pela seguinte equação:

$$\Delta E = \sqrt{(L_0 - L_1)^2 + (a_0 - a_1)^2 + (b_0 - b_1)^2}$$

Em que:

ΔE – Variação de cor;

L_0 – média da luminosidade no tempo 0;

L_1 – média da luminosidade no tempo em análise;

a_0 – média da coordenada a no tempo 0;

a_1 – média da coordenada a no tempo em análise;

b_0 – média da coordenada b no tempo 0;

b_1 – média da coordenada b no tempo em análise.

Foi ainda calculada a razão L^*/b^* . Este parâmetro é calculado pela seguinte equação:

$$L^*/b^* = \frac{L_1^*}{b_1^*}$$

Em que:

L_1 – média da luminosidade no tempo em análise;

b_1 – média da coordenada b no tempo em análise.

3.5.4. Determinação da percentagem de perda de peso ao longo do tempo de armazenamento

Em cada experiência, e para cada ensaio, acompanhou-se a perda de peso de cada pão ao longo do tempo de armazenamento. Após os processos de cozedura e arrefecimento, o pão foi devidamente pesado na balança (Kern – EW 1500 2Kg – Figura 15), previamente tarada pelo próprio sistema interno do equipamento, e registado o peso inicial.



Figura 15 – Balança.

Em cada momento da amostragem, para cada experiência e ensaio, e após a descongelação e abertura das embalagens, cada pão é pesado na mesma balança e registado o respectivo valor.

O cálculo da percentagem de perda de peso segue a seguinte equação:

$$\%Perda\ de\ peso = \frac{(Peso\ inicial - Peso\ final) \times 100}{Peso\ inicial}$$

3.5.5. Textura

A textura é uma característica fundamental dos produtos alimentares. Em alimentos simples (legumes, fruta, carnes), ela contribui a sua especificação da mesma forma para o aroma e o sabor; em alimentos complexos, ela pode ser modificada ou criada por inovação que encontra uma vasta gama de polissacarídeos (Multon *et al.*, 2002).

A textura é uma qualidade importante dos produtos, e é necessária estudá-la. A única aproximação rigorosa da textura é a análise sensorial, pois a textura é definida como uma percepção humana. Devido à sua complexidade e peso na amostragem dos alimentos, foi necessário desenvolver ferramentas e equipamentos mecânicos que permitissem avaliar:

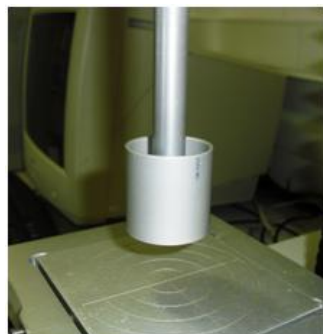
- A influência dos ingredientes;
- Parâmetros de processo/procedimentos;
- Controlo das linhas de produção;
- Formulação de novos produtos;
- Permitir a percepção da textura;
- Estabelecer a relação entre a estrutura das matérias-primas e textura.

3.5.5.1. Procedimento experimental.

Para a realização dos testes TPA (“Texture profile analysis - teste das duas dentadas (*two bite*)”) foi utilizado um Texturómetro (Texturómetro TA.XT Express Enhanced - (Stable Micro Systems Texturómetro (Texturolab) (Figura 16a), e uma sonda cilíndrica P/35M (Figura 16 b). As condições de força e velocidade foram 0,04093N e de 1,0 mm/s, respectivamente. Cada fatia de pão de 1,5 cm de espessura foi submetida a análise (Figura 16c).



(a)



(b)



(c)

Figura16- Texturómetro (a) Sonda (b) e exemplo de amostragem (c).

Os resultados são obtidos pelo software do equipamento (Figura 17) e submetido a tratamento estatístico de forma a obter os dados relativos aos parâmetros de dureza, elasticidade, adesividade, coesividade e masticabilidade do pão. Foram realizados 10 determinações para cada ensaio.

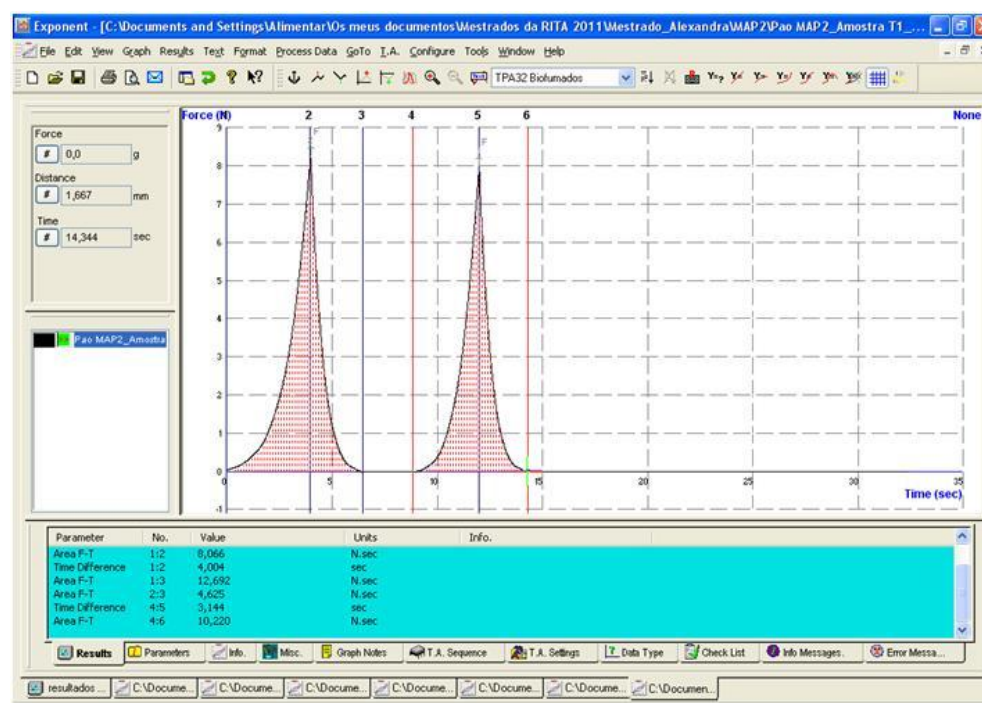


Figura 17 - Gráfico característico de um ensaio TPA, textugrama, o qual corresponde ao ensaio MPA1 amostra de alfarroba no tempo dia (T1).

Através da informação do textograma, representado na Figura 17 é possível retirar os parâmetros seguidamente descritos.

3.5.5.2. Determinação da dureza

O parâmetro dureza é obtido a partir do cálculo da primeira força máxima correspondente ao primeiro ciclo (N.º 2 na Figura 17); esta força é expressa em Newtons. A força máxima é equivalente à dureza do alimento em amostragem.

3.5.5.3. Determinação da elasticidade

O parâmetro elasticidade do pão corresponde à razão entre a distância 4:5 e 1:2 que se pode observar no gráfico da figura 17. A elasticidade é uma grandeza adimensional.

3.5.5.4. Determinação da adesividade

O parâmetro adesividade do pão corresponde à área 3:4 representativa do relaxamento da amostra após a primeira penetração da sonda no pão. O resultado é expresso em Newtons/segundo.

3.5.5.5. Determinação da coesividade

O parâmetro coesividade do pão é a razão entre a área 1:3 e a área 4:6 representativas das duas áreas de penetração. Esta força é adimensional.

3.5.5.6. Determinação da masticabilidade

O parâmetro masticabilidade do pão corresponde ao produto da gomosidade e elasticidade. A masticabilidade é expressa em Newtons.

3.5.6. Contagem de microrganismos totais

Do cultivo das matérias-primas a produção das farinhas e derivados, podem aparecer vários tipos de microfloras que podem surgir nos produtos finais. A fase de trituração/moagem e outros processos de obtenção da farinha também é um ponto de possível contaminação das mesmas. As condições de armazenagem podem permitir o crescimento ou inibição de toda a flora microbiana. Esta flora não inibida pode entrar, assim, na produção de alimentos e contaminar os mesmos (Bourgeois *et al.*, 1996), tendo como consequência a presença de vários microrganismos na amostragem a 30°C do pão. A intervenção dos outros ingredientes do pão, apenas pode ser considerada como factores de crescimento (água, açúcar, gomas) ou inibidor (sal). A fermentação permite a degradação dos açúcares com auxílio da levedura *S. cerevisae* produzindo álcool e o aumento da estrutura do pão.

3.5.6.1. Procedimento Experimental

Para a determinação da carga microbiana utilizou-se o método de contagem de colónias no meio de cultura sólido PCA – Plate Count Agar o qual permite fazer a contagem de microrganismos totais a 30°C.

Retiram-se 10gr de miolo de uma fatia central de cada ensaio para ser diluído no diluente (ver anexo a composição) e homogeneizado com um stomacker (Mayo Stomacker) durante 2 minutos a velocidade 4 do equipamento de forma a obter-se uma suspensão. Esta é transferida para um tubo falcão estéril obtendo-se assim a suspensão-mãe. Da suspensão-mãe é retirado 1 ml para um tubo de ensaio, com 9ml de diluente esterilizado para fazer a 2ª diluição e, da 2ª diluição, é retirado 1 ml para um outro tubo de ensaio com diluente esterilizado e fazer a 3ª diluição.

Da suspensão-mãe e respectivas diluições são inoculados 1ml de amostras em cerca de 15ml de meio selectivo de PCA líquido pela técnica “por plate” e incubadas durante 72 h a 30°C (Norma ISO4833/2003). Após o período de incubação é feita a contagem directa nas placas.

Para cada diluição foram inoculadas 2 placas com amostra e também foram realizadas 2 placas de controlo sem qualquer diluição.

De referir que esta amostragem foi realizada para cada ensaio em cada tempo para os ensaios em ATM.

A carga microbiana será calculada pela seguinte equação:

$$N = \frac{\varepsilon_c}{(n_1 + 0,1n_2)d}$$

Em que:

N – carga microbiana expressa em grama por produto;

Ec – soma das colónias contadas nas placas;

n₁ – Numero de placas consideradas na 1ª diluição;

n₂ – Numero de placas consideradas na 2ª diluição;

d – factor de diluição da 1ª diluição considerada.

No caso de obter contagens inferiores 15 colónias por placa, a equação a utilizar é:

$$N = \frac{c}{d}$$

Em que:

N – carga microbiana expressa em grama por produto;

c – numero de colónias;

d – factor de diluição da 1ª diluição considerada.

3.6. Análise estatística

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística de variância (ANOVA).

4. Discussão dos Resultados

A realização deste trabalho teve como objectivo avaliar qual o método mais adequado para a conservação do pão sem glúten, congelação ou embalagem em atmosfera modificada e, simultaneamente estudar o efeito da adição de diferentes hidrocolóides à massa do pão.

Neste capítulo são analisados os resultados obtidos nos vários ensaios realizados.

4.1. Conservação em congelação

4.1.1. pH

Na Figura 18 encontram-se os resultados dos valores de pH obtidos na experiência com congelação e para os ensaios realizados com diferentes hidrocolóides.

Verifica-se que o pão submetido ao processo de conservação por congelação sofre uma pequena desacidificação nos primeiros dias de conservação, retomando no final do tempo, um valor de pH muito semelhante ao inicial; com excepção do pão com goma de alfarroba, o qual apresenta valor de pH crescente até ao final da amostragem.

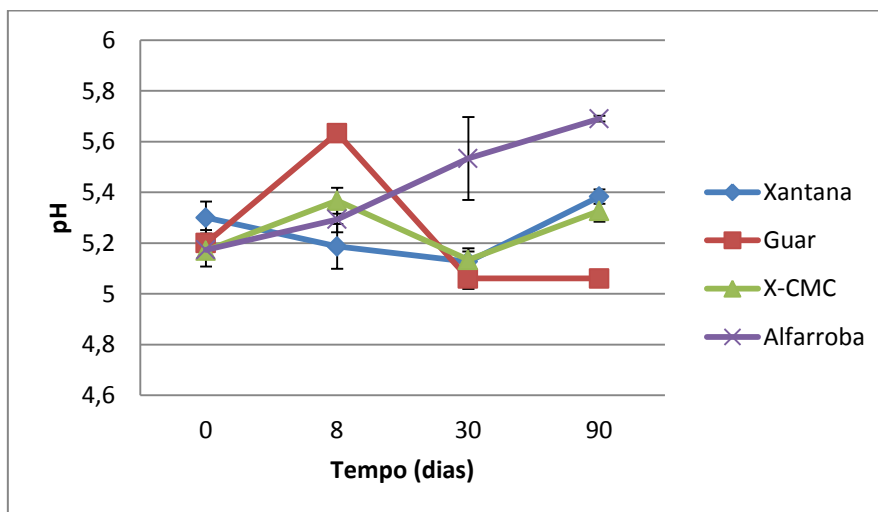


Figura 18 – Variação do pH do pão com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de três amostras repetidas.

4.1.2. Cor do miolo de pão

A cor do miolo do pão constitui um factor muito importante para a sua comercialização, sendo directamente influenciável pelo tipo de matérias-primas que compõem a sua formulação, assim como, pelas condições do próprio processo produtivo (Silva, 2009). Segundo Sabanis *et al.* (2009), a cor do pão depende das características físico-químicas da massa (conteúdo de água, pH, açúcares redutores e aminoácidos) assim como das condições de operação da etapa de cozedura (temperatura, humidade relativa e transferência de calor).

A partir dos resultados da cor, parâmetros luminosidade (L^*), a^* e b^* , calculou-se a diferença de cor ΔE (Figura 19). No que diz respeito à variação da cor verifica-se os ensaios realizados com goma xantana e com mistura xantana e CMC apresentam um aumento do tempo 8 dias para o tempo 30 dias, o qual se mantém até ao fim da experiência. Pelo contrário, os ensaios realizados com goma alfarroba e goma guar apresentam o mesmo comportamento, isto é, observa-se uma diminuição ligeira da cor no tempo 8 dias, retomando o valor inicial de cor ao fim de 90 dias. Estes resultados permitem concluir que o tempo de armazenamento não tem influência na cor do miolo do pão.

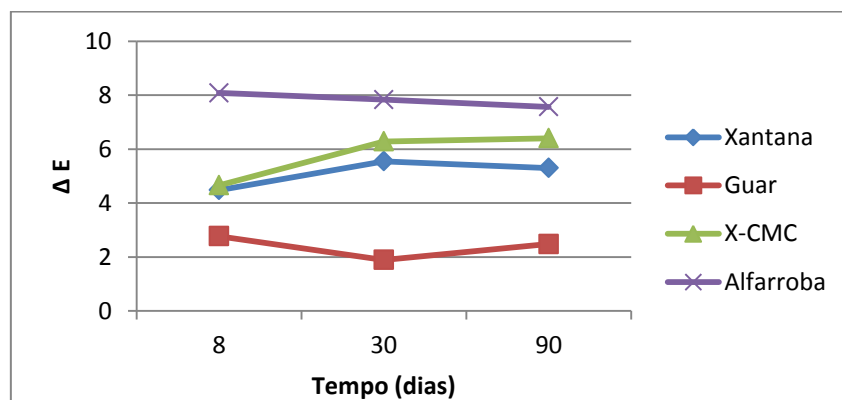


Figura 19 - Variação da cor (ΔE) do pão com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação.

A cor do pão pode ser avaliada pela sua luminosidade. A determinação da cor através da luminosidade é baseada na medida de luz reflectida pela massa indicando uma tendência ao branqueamento ou ao escurecimento, dependendo da quantidade de luz reflectida ou absorvida.

Na Figura 20 é possível analisar os resultados do parâmetro da luminosidade do miolo do pão ao longo do tempo de armazenamento. Verifica-se que os valores variam de $68 \pm 0,05$ até $79 \pm 0,05$. Os valores encontrados para o tempo zero dias estão de acordo com os obtidos por Alvarez-Jubete *et al* (2010) e Anton *et al* (2009).

De uma forma geral, para todos os ensaios realizados, verifica-se que a luminosidade do pão aumenta ao longo do tempo de armazenamento indicando que o miolo do pão fica mais claro. O ensaio realizado com goma de alfarroba apresenta, no tempo zero, o menor valor de L^* , $67,84 \pm 0,88$, o qual aumenta para $75,88 \pm 2,23$ ao fim de 90 dias. Ao contrário, nos restantes ensaios, apesar do valor de L^* também aumentar este aumento não é tão acentuado, de $72,87 \pm 1,59$ para $78,47 \pm 0,74$ e de $74,82 \pm 0,66$ para $76,92 \pm 0,73$ ($p < 0,05$), para os ensaios com goma xantana e goma guar, respectivamente. Da mesma forma Lazaridou *et al.* (2007) verificou que a adição de goma xantana em formulações sem glúten resultou num pão com valores superiores de L^* (cerca de 76) quando comparado com a adição de outras gomas como guar, pectina e CMC.

Estes resultados estão de acordo com os de Sabanis *et al.* (2009) num estudo realizado com pão sem glúten armazenado durante três dias, à temperatura ambiente, em que L^* aumenta ao longo do tempo.

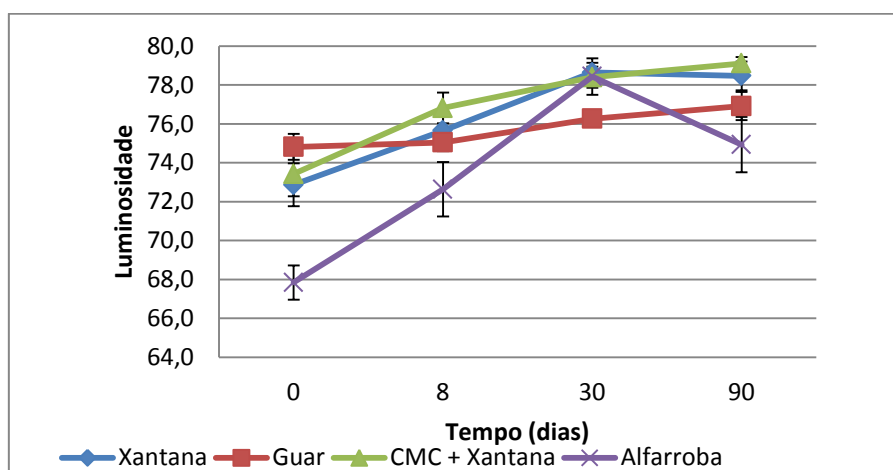


Figura 20 - Variação da luminosidade do pão com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de cinco amostras repetidas.

Segundo diversos autores (Gallagher *et al.*, 2003; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010) a razão L^*/b^* (luminosidade/amarelo) é considerado o parâmetro que avalia a cor do miolo

(Figura 21). Através da Figura 21, é visível que este parâmetro aumenta ao longo do tempo de armazenamento em todos os ensaios realizados, indicando que a cor do miolo sofre um clareamento relativamente à cor amarela (b^*). Os resultados mostram que o tipo de hidrocolóide tem influência neste parâmetro. De facto, o ensaio realizado com goma de alfarroba destaca-se dos restantes ensaios, uma vez que apresenta a razão L^*/b^* superior aos restantes ($p < 0,05$). Pelo contrário, a goma guar confere ao miolo uma razão L^*/b^* mais estável ao longo do tempo de armazenamento. As diferenças encontradas podem estar relacionadas com a estrutura alveolar ou mais compacta do miolo, goma de alfarroba e goma guar, respectivamente.

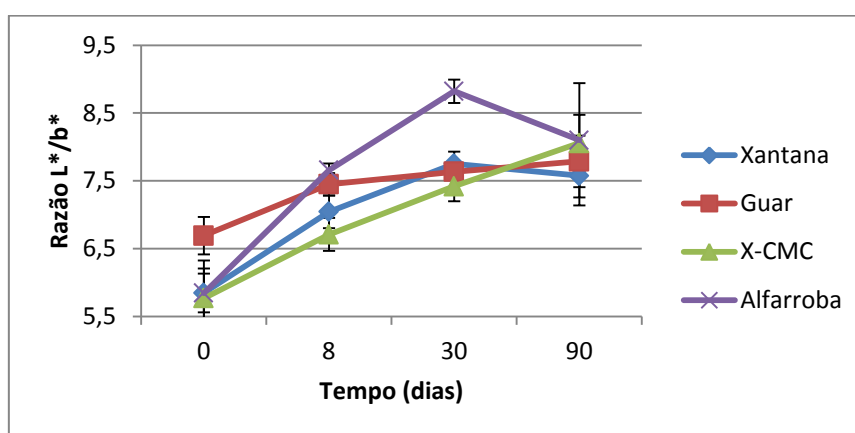


Figura 21 – Razão L^*/b^* do pão com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de cinco amostras repetidas.

4.1.3. Teor de humidade do pão

A partir dos dados de percentagem de humidade, calculados para cada ensaio para o processo de congelação, construiu-se a Figura 22. Nesta Figura verifica-se que a percentagem de humidade aumenta, cerca de 2%, desde o tempo 0 dias até ao fim do tempo de armazenamento (90 dias), nos ensaios que envolvem a goma xantana e a goma guar ($p < 0,05$). Da mesma forma, Bárcenas *et al.* (2004), concluíram que a utilização de hidrocolóides na composição do pão, HPMC e carragenano, promovia um ligeiro aumento da percentagem de humidade. De facto, e segundo Mandala e Sotirakoglou (2005), a adição de certos tipos de hidrocolóides aumenta a absorção da água, permitindo manter o teor de humidade dos produtos impedindo a sua desidratação

durante o armazenamento em congelação. Segundo Lee *et al.* (2002) a capacidade de retenção da goma xantana promove a inibição da interacção glúten-amido o que influencia a plasticidade do miolo. Ribotta *et al.* (2004) adianta ainda que ocorre a migração da humidade do miolo para crosta, devido a interacção proteína-goma (goma guar).

Pelo contrário, o ensaio com goma de alfarroba apresenta um comportamento diferente dos restantes. A percentagem de humidades diminui atingindo no final do tempo de armazenamento um teor de humidade ligeiramente inferior ao inicial. Este comportamento poderá estar relacionado com o facto de se tratar de um pão mais alveolar, isto é, com maior quantidade de ar no seu interior.

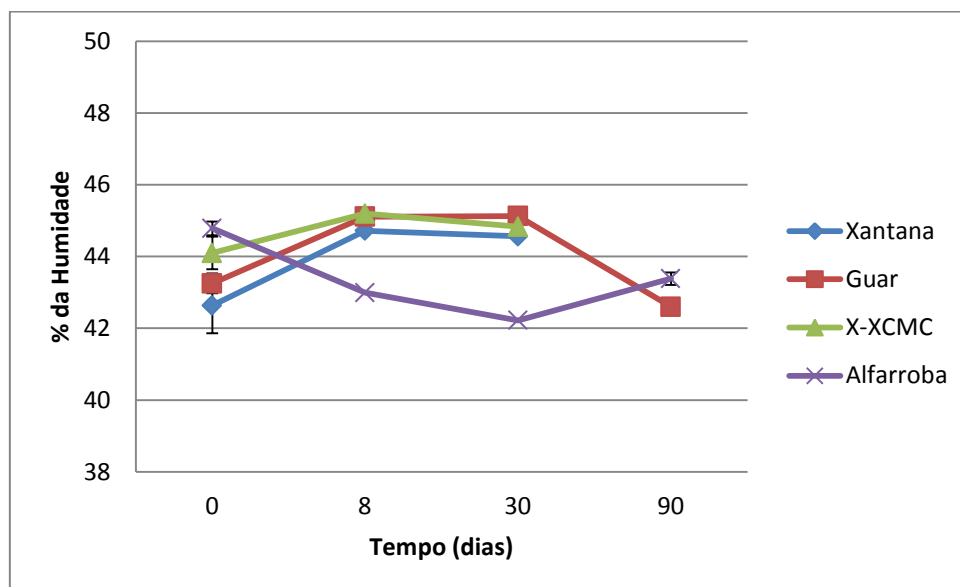


Figura 22 - Variação do teor de Humidade das amostras com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de três amostras repetidas.

4.1.4. Percentagem de perda do peso do pão

Durante o tempo de armazenamento do pão congelado, foi registado o peso dos vários ensaios realizados (após descongelação completa) (Figura 23).

De uma forma geral, verifica-se que a perda de peso do pão congelado, apresenta um ligeiro decréscimo ao longo do tempo. Pelo contrário, no ensaio realizado com goma de alfarroba constata-se uma perda de peso de cerca de 21g ao fim de três meses. Estes

resultados confirmam a análise feita ao teor de humidade para o caso do ensaio realizado com a goma guar e com a goma xantana (Figura 22), isto é, a perda de peso está relacionada com a diminuição da percentagem de humidade.

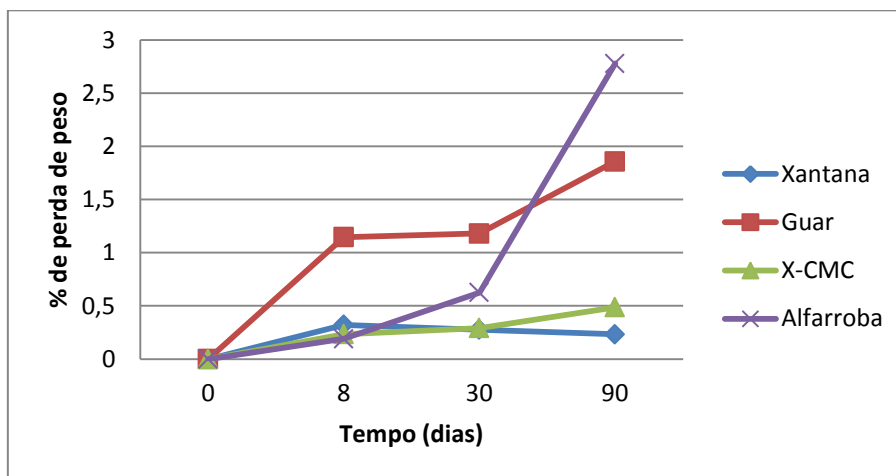


Figura 23 - Perda do peso das amostras com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação.

4.1.5. Dureza do miolo de pão

O efeito da adição de hidrocolóides na dureza do miolo de pão sem glúten pode ser observado na Figura 24. Os resultados mostram que a dureza do miolo aumenta exponencial ao fim de 8 dias de armazenamento a -18°C. A partir deste tempo verifica-se que a dureza se mantém constante até ao fim do tempo de armazenamento, para todos os ensaios realizados com diferentes hidrocolóides. Estes resultados estão de acordo com o observado por vários autores em estudos semelhantes (Bárceras e Rosell, 2006; Selemulgo e Zhou, 2006; Leray *et al.*, 2010). No entanto, o ensaio realizado com goma de alfarroba apresenta uma taxa de dureza (aumento da dureza/tempo) inferior aos restantes ensaios ($p < 0,05$). Este resultado está relacionado com a estrutura mais alveolar que este ensaio apresenta (subcapítulo 4.3) o que torna o miolo de pão mais macio.

Ronda e Roos (2011) relacionam a alteração da dureza do pão ao longo do tempo de armazenamento com a recristalização da amilopectina. A retrogradação do amido, presente nas farinhas, envolve a re-associação das suas moléculas numa estrutura ordenada parcialmente cristalina, levando à recristalização da amilopectina. Os

hidrocolóides têm a capacidade de modificar as propriedades do glúten e do amido, afectando as propriedades de hidratação do glúten e interferindo no processo de retrogradação e gelatinização do amido (Bárcenas *et al.*, 2009).

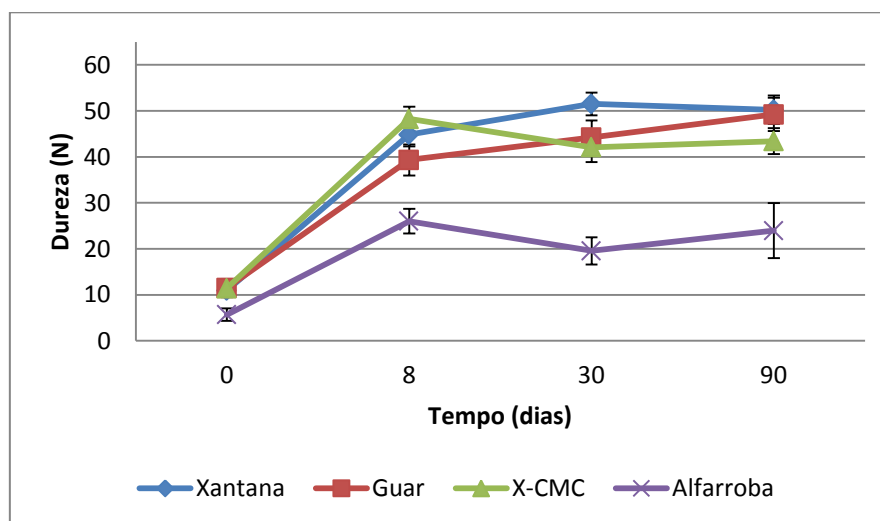


Figura 24 – Variação da dureza das amostras com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de três amostras repetidas.

Segundo Mandala e Sotirakoglou (2005) o aumento da dureza do pão pode ser o resultado do rearranjo molecular entre a goma xantana e as moléculas de proteínas reforçado pelas interações iónicas entre o grupo carboxilato e o polissacarídeo.

4.1.6. Elasticidade do miolo de pão

Com a aplicação do teste TPA ao miolo de pão foi possível determinar a sua elasticidade. Este parâmetro está relacionado com a capacidade de recuperação do material após a aplicação do segundo ciclo, isto é, trata-se de uma forma de medir os danos sofridos pela estrutura do material durante a primeira compressão (Smewing, 2010).

Na Figura 25 é possível verificar que a elasticidade do miolo do pão diminui ao longo do tempo de armazenamento ($p < 0,05$) para todos os hidrocolóides. No ensaio com a mistura de goma xantana com CMC o valor de elasticidade é menor do que os restantes ($p < 0,05$). O que indica que a estrutura do pão com goma xantana é mais resistente a

compressão do que nos restantes hidrocolóides, Ao contrário, o ensaio com goma alfarroba apresenta, no final do tempo, maior valor de elasticidade ($p < 0,05$).

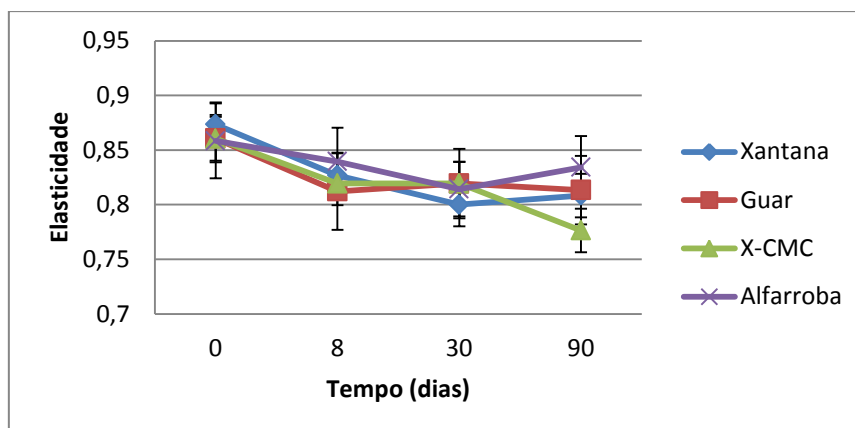


Figura 25- Variação da elasticidade das amostras com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de dez amostras repetidas.

4.1.7. Adesividade do miolo de pão

De acordo com o teste TPA aplicado ao miolo de pão e, após o primeiro ciclo de compressão, é possível retirar o valor da área relativa ao pico negativo, adesividade (Smewing, 2010). Este parâmetro mede o trabalho necessário para vencer as forças de tracção entre a superfície do alimento e a superfície de contacto.

Na Figura 26 é possível verificar que a adesividade do miolo do pão diminui ao fim de 30 dias de armazenamento a -18°C ($p < 0,05$). A partir deste tempo verifica-se que a adesividade apresenta um ligeiro aumento no fim do tempo de armazenamento, para todos os ensaios realizados com diferentes hidrocolóides. No entanto, o ensaio realizado com mistura de goma xantana e CMC apresenta um decréscimo mais acentuado do que os restantes ensaios ($p < 0,05$). Estes resultados estão relacionados com a perda de peso e teor de humidade do pão.

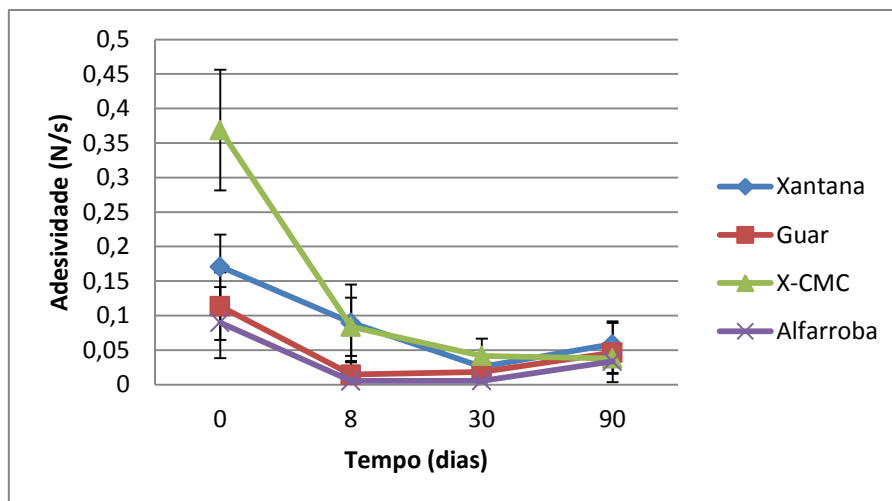


Figura 26 – Variação da adesividade das amostras com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de dez amostras repetidas.

4.1.8. Coesividade do miolo de pão

Outro parâmetro obtido a partir da análise TPA é a coesividade, a qual mede a força das ligações internas que define a estrutura do alimento. Quando se analisam os resultados da coesividade do miolo do pão (Figura 27), verifica-se que este parâmetro aumenta ao longo do tempo de armazenamento. Estes resultados traduzem-se num aumento da rigidez e numa maior dificuldade de quebrar na boca (Smewing, 2010).

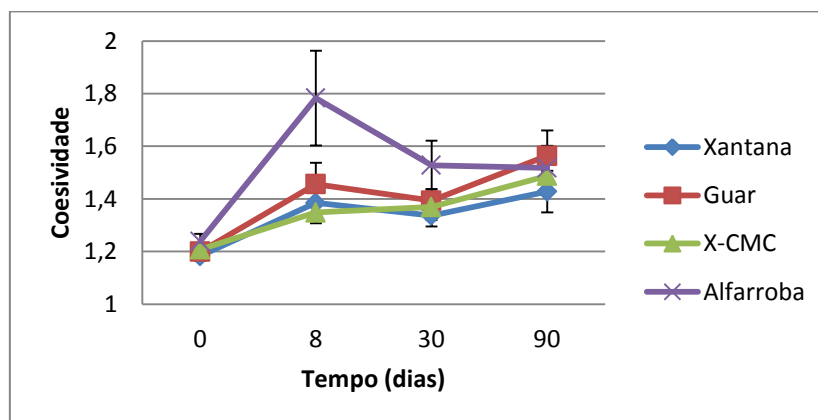


Figura 27 – Variação da coesividade das amostras com diferentes hidrocolóides armazenados a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de dez amostras repetidas.

4.1.9. Masticabilidade do miolo de pão

De acordo com o teste TPA aplicado ao miolo de pão foi possível determinar o valor da masticabilidade. Este parâmetro mede a energia necessária para mastigar o alimento. Segundo a Figura 28 verifica-se, em todos os ensaios realizados, um aumento acentuado da masticabilidade, após 8 dias de conservação ($p < 0,05$). Este comportamento evidencia o efeito do aumento da rigidez da estrutura do miolo de pão com adição dos hidrocolóides (Lazaridou *et al.*, 2007). Mais uma vez se confirma que a goma de alfarroba confere menor rigidez ao pão, pois apresenta valor de masticabilidade inferiores aos restantes ensaios, inclusivamente ao fim de três meses verifica-se que este parâmetro é cerca de metade dos restantes ensaios, com goma guar e xantana ($p < 0,05$).

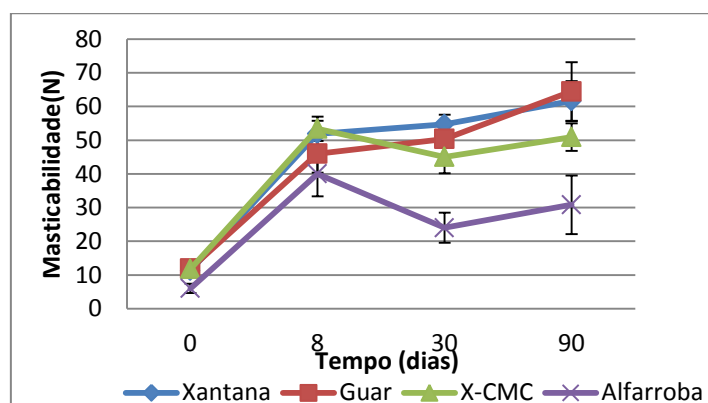


Figura 28 – Variação da masticabilidade das amostras com diferentes hidrocolóides armazenadas a -18°C durante 90 dias, submetido à congelação como processo de conservação. Estes valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de dez amostras repetidas.

4.2. Embalamento em atmosfera modificada

Após o processamento e arrefecimento do pão procedeu-se ao seu embalamento em atmosfera modificada. Foram estudadas duas composições de atmosfera diferentes: Atmosfera I com, aproximadamente, 80% de CO_2 / 20% N_2 (A) e, Atmosfera II, aproximadamente, com 60% de CO_2 / 40% N_2 (B). De referir que a selecção das composições referidas teve como base trabalhos científicos em produtos de panificação (Atmosfera II) e produtos semelhantes existentes no mercado (Atmosfera I).

Nos subcapítulos seguintes encontram-se os resultados obtidos para os parâmetros analisados ao longo do tempo de armazenamento, à temperatura ambiente, para as duas atmosferas estudadas.

4.2.1. pH do miolo de pão

Através da análise dos gráficos da Figura 29 verifica-se que, no caso da atmosfera I, o pH do pão apresenta um ligeiro decréscimo logo após uma semana de armazenamento para retomar o seu valor inicial após um mês de conservação à temperatura ambiente. Pelo contrário, no caso da atmosfera II, o pH aumenta, após oito dias de armazenamento, e volta a diminuir, retomando novamente um valor próximo do inicial. Este comportamento pode estar relacionado com crescimento microbiano durante de armazenamento ou libertação do gás retido nos alvéolos do miolo de pão.

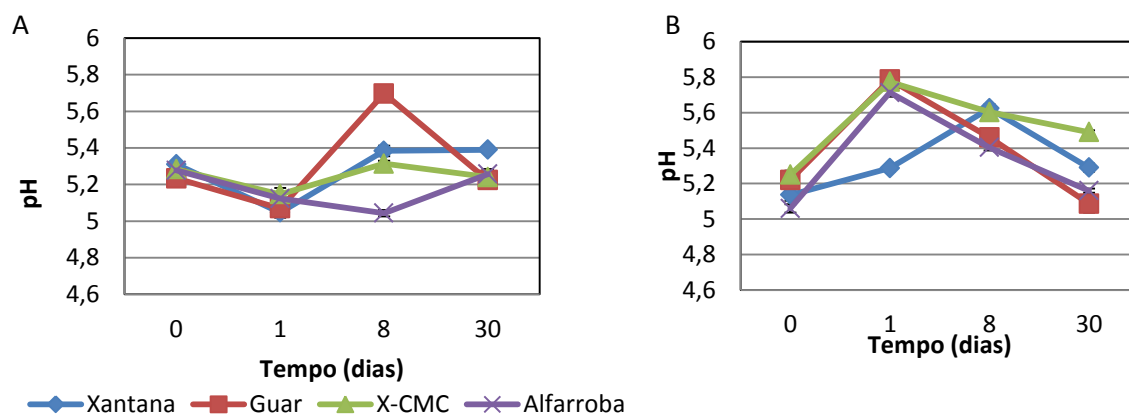


Figura 29 – Variação do pH das amostras com diferente hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a $\approx 22^{\circ}\text{C}$ durante 30 dias. Estes valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de três amostras repetidas.

No entanto, observa-se que os valores finais de pH (após 30 dias) são bastante próximos para ambas as atmosferas estudadas.

4.2.2. Cor do miolo de pão

A partir dos resultados da cor, parâmetros luminosidade (L^*), a^* e b^* , calculou-se a diferença de cor ΔE (Figura 30). No que diz respeito à variação da cor, e de uma

maneira geral, verifica-se um aumento deste parâmetro em todos os ensaios realizados. No caso da atmosfera I, verifica-se maior variação de cor quando comparada com os resultados da atmosfera II. Por exemplo, enquanto que nos ensaios realizados com goma xantana e com mistura xantana e CMC os valores duplicaram ao fim de 30 dias de armazenamento, com a atmosfera I. Já com a atmosfera II, os valores apresentaram-se ligeiramente diferentes. Pelo contrário, os ensaios realizados com goma alfarroba apresentam o mesmo comportamento, isto é, observa-se um ligeiro aumento ao longo dos 30 dias, no caso das experiências com atmosfera I e II. Estes resultados permitem concluir que a composição da atmosfera tem influência na variação de cor do miolo de pão ao longo do tempo de armazenamento. E, a composição com menor percentagem de dióxido de carbono tem menos influência.

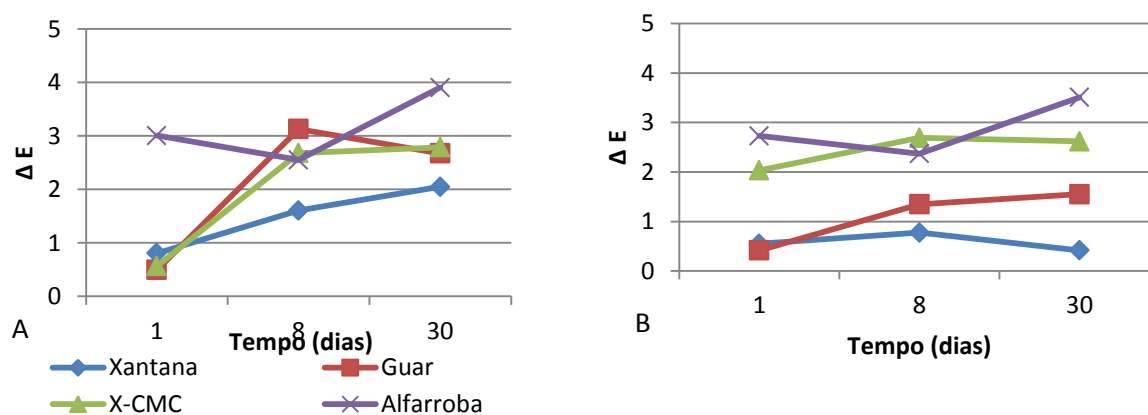


Figura 30 - Diferença da cor (ΔE) das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a $\approx 22^\circ\text{C}$ durante 30 dias.

A cor do pão pode ser avaliada pela sua luminosidade, L^* . Na Figura 31 é possível analisar os resultados do parâmetro da luminosidade do miolo do pão ao longo do tempo de armazenamento, para as duas atmosferas. No caso da atmosfera I e para todos os ensaios, verifica-se que a luminosidade aumenta gradualmente até ao fim do tempo de armazenamento. De facto, o ensaio com goma de alfarroba apresenta um aumento de cerca de 4% do valor inicial.

Os valores obtidos nestes ensaios são coerentes com outros trabalhos em produtos semelhantes (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010; Anton *et al.*, 2009).

No caso da atmosfera II, e de uma forma geral, em todos os ensaios realizados, verifica-se que a luminosidade do pão apresenta um ligeiro aumento ao longo do tempo de armazenamento, indicando que o miolo do pão fica mais claro ($p < 0,05$). Tal como na atmosfera I, mais uma vez o ensaio realizado com goma de alfarroba exibe o aumento mais significativo, cerca de 4%. Estes resultados estão de acordo com os de Sabanis *et al.* (2009) num estudo realizado com pão sem glúten armazenado durante três dias (à temperatura ambiente), em que L^* aumenta ao longo do tempo.

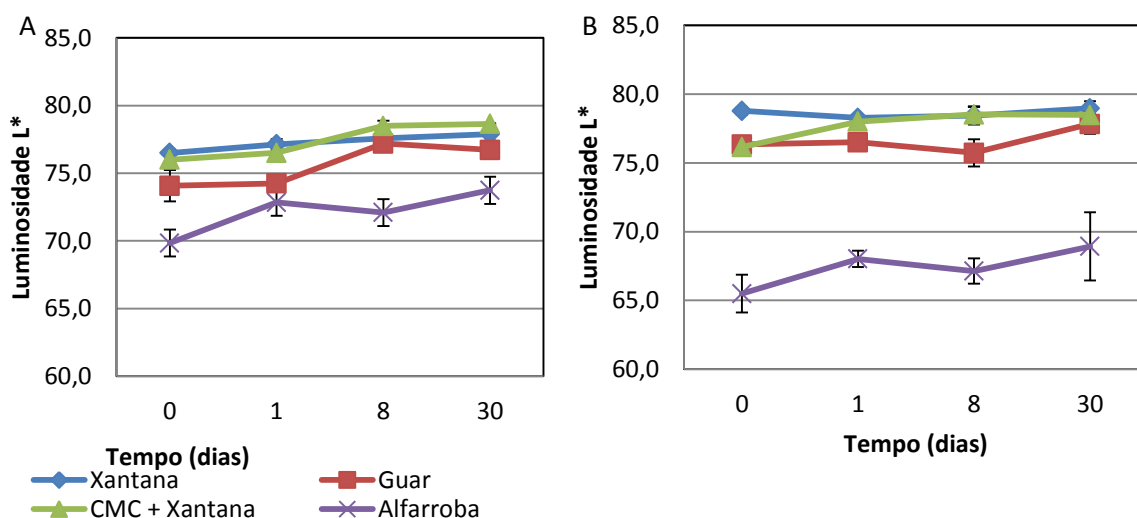


Figura 31 – Variação da luminosidade das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a $\approx 22^\circ\text{C}$ durante 30 dias. Estes valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de cinco amostras repetidas.

Determinou-se ainda a razão L^*/b^* , (luminosidade/amarelo) (Figura 32). Através desta Figura é visível que este parâmetro aumenta ao longo do tempo de armazenamento em todos os ensaios realizados excepto com a goma alfarroba, indicando que a cor do miolo sofre um clareamento relativamente à cor amarela (b^*). Os resultados mostram que o tipo de hidrocolóide tem influência neste parâmetro. De facto, o ensaio realizado com goma de alfarroba destaca-se dos restantes ensaios, uma vez que apresenta a razão L^*/b^* inferior aos restantes ($p < 0,05$), e no caso da atmosfera I aumenta ao fim de 8 dias e diminui logo de seguida, e no caso da atmosfera II, o comportamento é inverso.

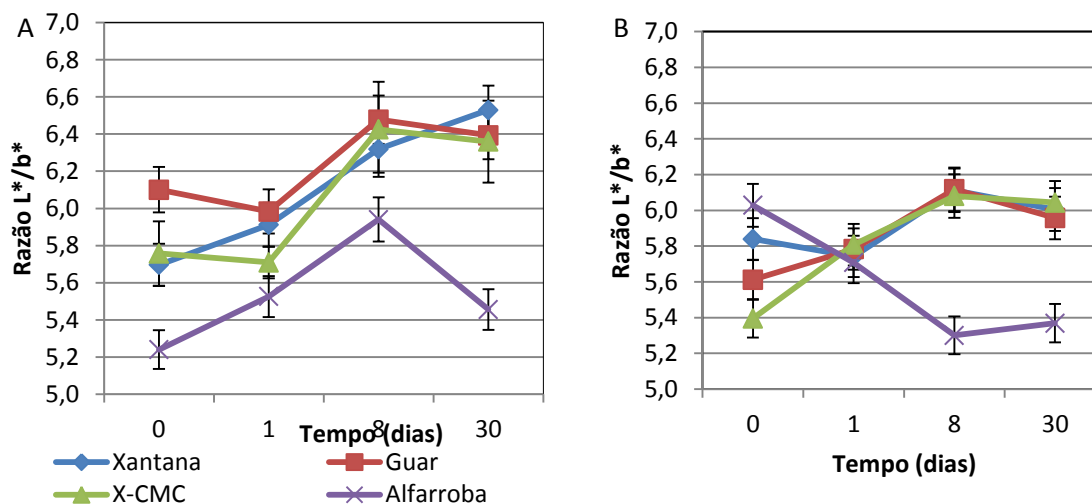


Figura 32 – Variação do parâmetro L^*/b^* das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a $\approx 22^\circ\text{C}$ durante 30 dias. Estes valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de cinco amostras repetidas.

4.2.3. Teor de humidade do miolo de pão

A partir dos dados de percentagem de humidade, calculados para cada ensaio para o processo de ATM, construiu-se a Figura 33. Nesta Figura verifica-se que, ao contrário do que acontecia no processo de congelação, em todos os ensaios e nas duas experiências, a percentagem de humidade diminuiu, cerca de 8%, desde o tempo 0 dias até ao fim do tempo de armazenamento. Estes resultados indicam que o pão passa por um processo de desidratação. Certos autores referem que as gomas têm a capacidade de retenção de água, ajudando na preservação dos produtos alimentares (Mandala e Sotirakoglou, 2005; Ribotta *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2002). Este comportamento poderá estar relacionado com a migração da água para o exterior, isto é, do miolo para a crosta.

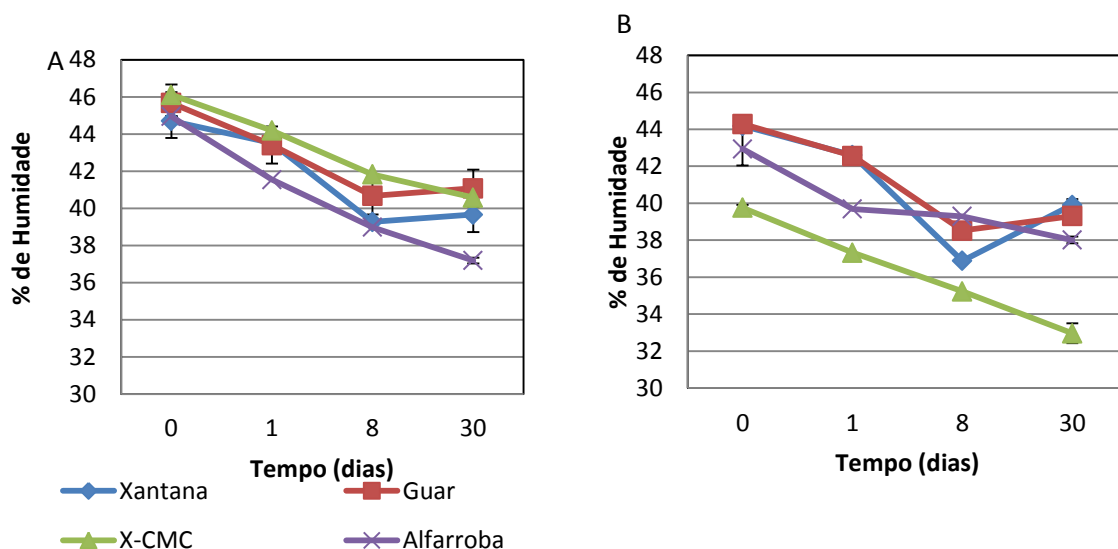


Figura 33 - Teor de humidade das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de três amostras repetidas.

4.2.4. Variação do peso do pão

Durante o tempo de armazenamento do pão embalado em atmosfera modificada, foi registado o peso dos vários ensaios realizados (Figura 34).

De uma forma geral, verifica-se que a perda de peso do pão em ATM, apresenta um ligeiro decréscimo ao longo do tempo, sendo mais pronunciado no caso na atmosfera II ($p < 0,05$). Estes resultados confirmam a análise feita ao teor de humidade, isto é, a perda de peso está relacionada com a diminuição da percentagem de humidade.

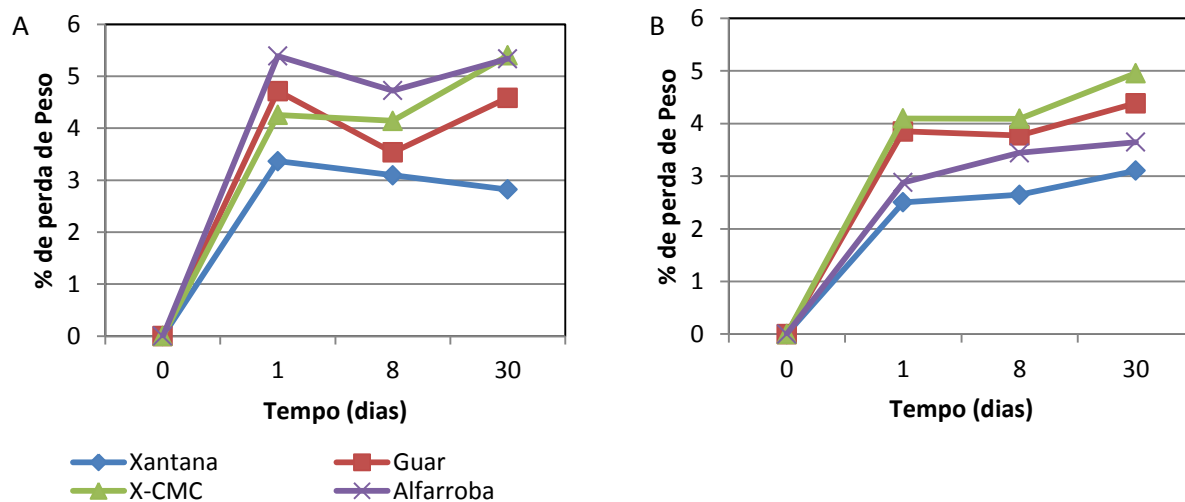


Figura 34 - Variação do peso das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada e com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), armazenadas a $\approx 22^{\circ}\text{C}$ durante 30 dias.

4.2.5. Variação do O₂ e CO₂ no interior da embalagem

Através de um sistema de análise de gases foi possível registar os valores de oxigénio e de dióxido de carbono no interior da cada embalagem (amostra) ao longo do tempo de armazenamento (Figura 35). Relativamente à variação de oxigénio (Figura 35), e para as duas experiências realizadas, verifica-se que, apesar de se tratar de uma percentagem inicialmente residual (1%), o oxigénio apresenta um ligeiro aumento ao longo do tempo de armazenamento. Pelo contrário, a percentagem em dióxido de carbono diminuiu ao longo do tempo. O filme utilizado para selar as embalagens, apesar de ser classificado como alta barreira, apresenta uma permeabilidade ($2\text{cm}^3/\text{m}^2 \cdot 24\text{hbar}$ ao O₂; $5,40\text{cm}^3/\text{m}^2 \cdot 24\text{hbar}$ ao CO₂ e $2,00\text{g}/\text{m}^2 \cdot 24\text{hatm}$ ao vapor de água), o que permite que haja transferência de gases entre o interior e o exterior da embalagem. Este facto poderá ser explicar o aumento do O₂ e a diminuição do CO₂. Através da observação da composição dos gases no interior da embalagem controlo verifica-se o mesmo tipo de comportamento, indicando que poderá ser explicado pela permeabilidade da embalagem.

Na experiência com 80% de CO₂ (A) e no ensaio com goma alfarroba verifica-se um decréscimo abrupto na percentagem de CO₂ e aumento na percentagem de O₂, no tempo 8 dias. Este resultado poderá ser explicado por uma ineficiente selagem da embalagem.

Na experiência com 60% de CO₂ (B), à exceção do ensaio com goma xantana e CMC, verifica-se que nos restantes ensaios e a partir de 8 dias de armazenamento, a percentagem de CO₂ aumenta e a percentagem de O₂ diminui. O comportamento verificado na variação do pH (subcapítulo 4.2.1) e na carga microbiana (subcapítulo 4.3) poderá também explicar os resultados obtidos. Isto é, a acidificação do miolo de pão e o aumento da carga microbiana conduzem à diminuição do O₂, necessário à respiração dos microrganismos e aumento do CO₂.

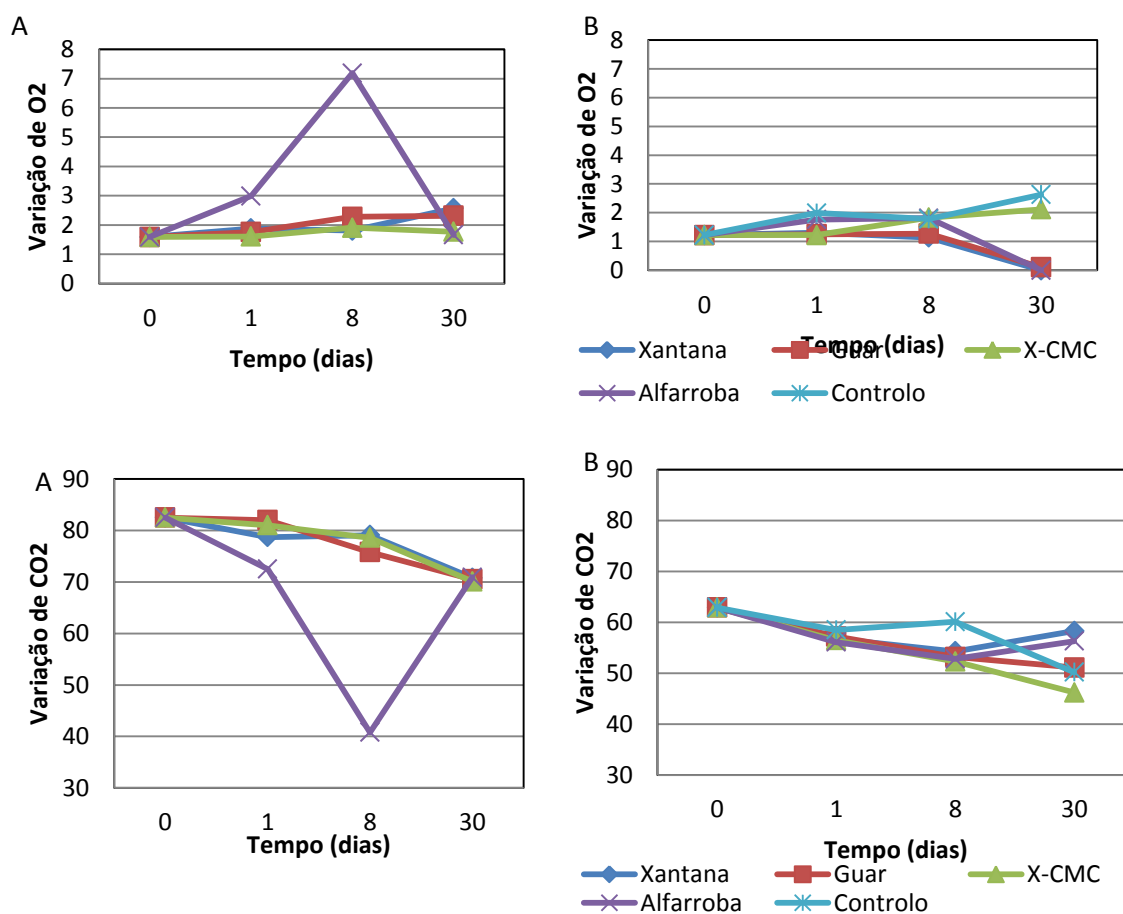


Figura 35 - Variação da composição de oxigénio e dióxido de carbono no interior da embalagem, para cada experiência, (A) 80% de CO₂ +; (B) 60% de CO₂ +, ao longo de 30 dias de armazenamento. O controlo refere-se à análise da composição dos gases no interior de uma embalagem vazia com o mesmo tempo de armazenamento das amostras.

4.2.6. Dureza do miolo de pão

Como se pode verificar nos gráficos da Figura 36, todos os ensaios apresentam taxas de endurecimento ao longo do tempo de armazenamento bastante semelhantes

(dureza/tempo). O valor de dureza final obtido em todos os ensaios ($t=30$ dias) e para ambas as experiências, é bastante próximo, cerca de 55N. Apesar do ensaio com goma alfarroba apresentar valores de dureza menores do que os restantes ensaios, o valor final (ao fim de 30 dias) é próximo dos restantes.

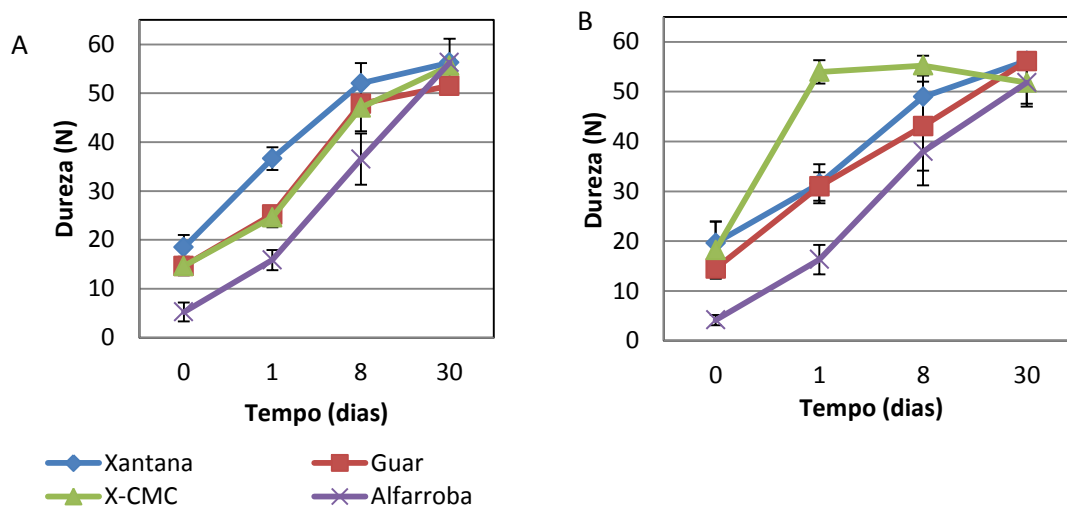


Figura 36 – Variação da dureza das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a $\approx 22^{\circ}\text{C}$ durante 30 dias. Estes valores correspondem à média $\pm$ desvio padrão de dez amostras repetidas.

Conclui-se que no que se refere à dureza, e de uma forma geral, não há grandes diferenças entre as duas atmosferas estudadas. Por comparação com os resultados obtidos na dureza do pão com o processo de congelação (Figura 24) verifica-se que ao fim de 8 dias de armazenamento, no caso do ensaio com goma de alfarroba, obteve-se uma dureza de $26,02\text{N} \pm 4,37$, enquanto no atmosfera I (Figura 36 A) a dureza é de $36,52 \pm 12,79$. Nos restantes ensaios, os valores obtidos são bastantes semelhantes. No entanto, no caso de ATM (Figura 36 A) a dureza continua a aumentar até ao final do tempo de armazenamento (30 dias). Pelo contrário, no caso da congelação, o pão não se torna mais duro após 8 dias de armazenamento, apresentando os mesmos valores ao fim de 90 dias. Estes são coincidentes com o tempo 8 dias em ATM.

4.2.7. Elasticidade do miolo de pão

Na Figura 37 B, 60% de CO₂, é possível verificar que a elasticidade do miolo do pão, de uma forma geral, varia, ao longo do tempo, de uma forma muito idêntica, apesar de apresentar oscilações. Este comportamento poderá ser explicado pela perda de estrutura do miolo do pão ao longo do tempo de armazenamento. Pois verificou-se que o miolo

fica mais desidratado e esfarela com maior facilidade. No caso da experiência com 80% de CO₂ (Figura 37 A) observa-se um comportamento mais divergente entre os ensaios realizados com a goma xantana, e pelo contrário, nos ensaios com goma alfarroba e guar o valor da elasticidade mantém-se constantes ao longo do tempo, indicando que o miolo mantém a capacidade de recuperar a forma inicial após a 2ª compressão, aquando do ensaio de textura.

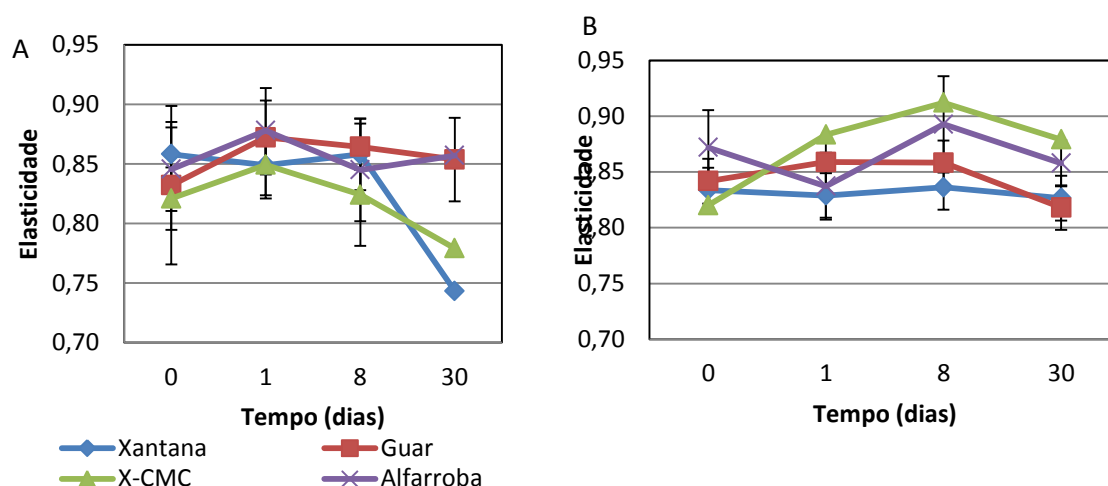


Figura 37 – Variação da elasticidade das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de dez amostras repetidas

4.2.8. Adesividade do miolo de pão

Como se pode verificar nos gráficos da Figura 38, a adesividade apresenta um comportamento bastante semelhante em todos os ensaios realizados. E, Uma vez que $p > 0,05$ não há diferenças entre os valores de adesividade obtidos nos diferentes ensaios. O valor de adesividade final obtido em todos os ensaios ($t=30$ dias) e para ambas as experiências, é bastante próximo, cerca de 0,05.

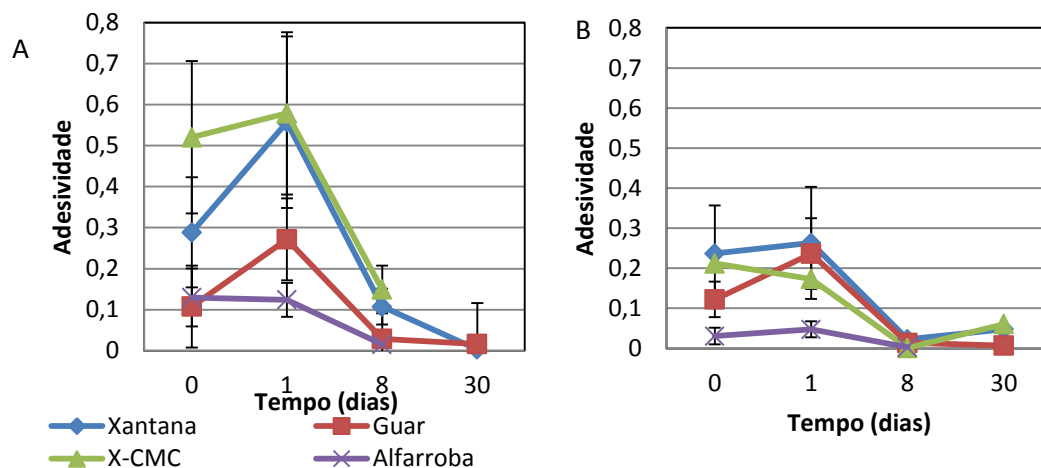


Figura 38 – Variação da adesividade das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de dez amostras repetidas.

4.2.9. Coesividade do miolo de pão

De acordo com a Figura 39 verifica-se que os valores de coesividade do pão mantêm-se estáveis ao longo do tempo de armazenamento em ambos as experiências realizadas.

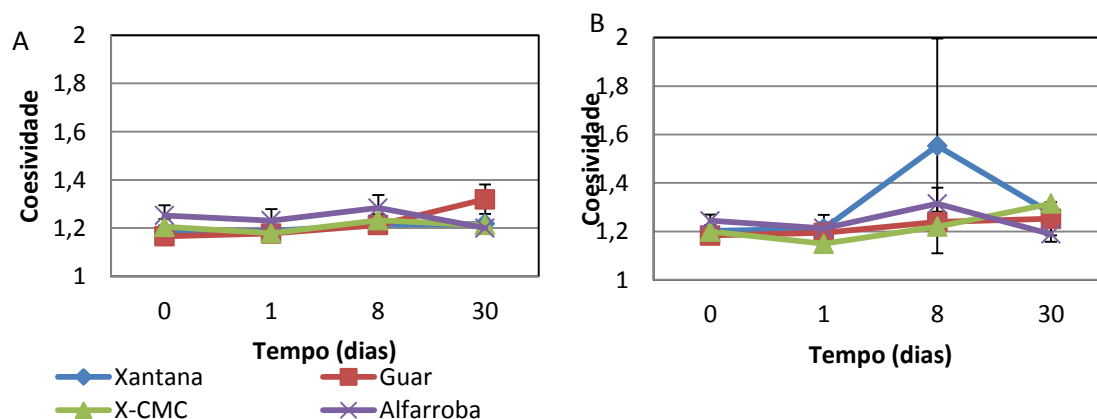


Figura 39 – Variação da coesividade das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de dez amostras repetidas.

4.2.10. Masticabilidade do miolo de pão

Tal como verificado anteriormente com os parâmetros de textura já analisados, mais uma vez, se observa o mesmo comportamento tipo, com a masticabilidade (Figura 40). Uma vez que este parâmetro é calculado com base na elasticidade do comportamento.

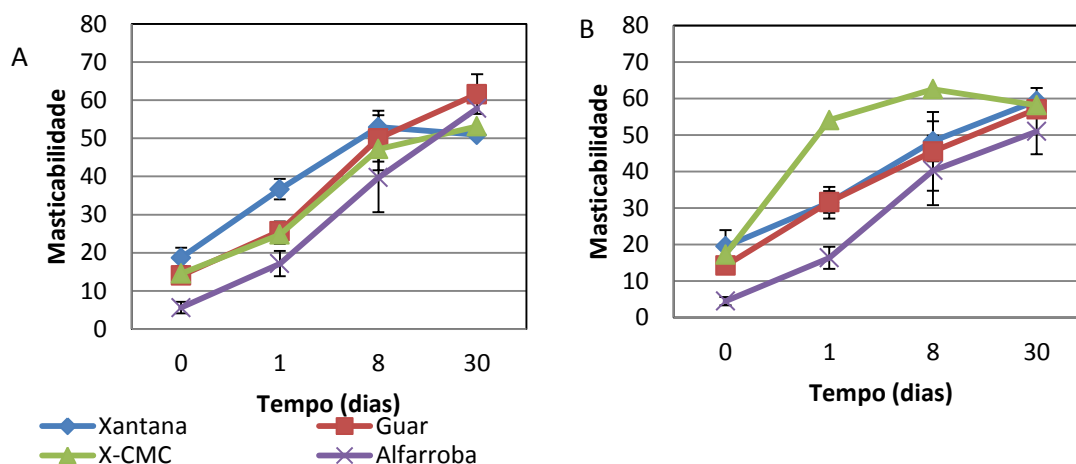


Figura 40 – Variação da masticabilidade das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias. Estes valores correspondem à média ± desvio padrão de dez amostras repetidas.

4.2.11. Carga microbiana do pão

A Figura 41 apresenta os resultados da avaliação da carga microbiana realizada ao longo do tempo de armazenamento para ambas as experiências realizadas. No caso da experiência com 80% de CO₂ (Figura 41 A), verifica-se que, do ponto de vista microbiológico, as amostras se mantêm estáveis até 8 dias de armazenamento. Após este tempo observa-se um aumento acentuando da contagem dos microrganismos. Contudo, observa-se que o pão que contem a mistura de goma xantana com CMC e o pão com goma de alfarroba, ao fim de 30 dias de armazenamento, evidencia uma carga microbiana não satisfatória, isto é, ambos apresentam valores superiores a 10⁴ UFC/gproduto. Este resultado não é coerente com os dados da análise dos gases (Figura 35), nem com os valores de pH (Figura 29), as quais teriam que ser também diferentes dos restantes ensaios para esta experiência.

Relativamente à experiência com 60 % de CO₂, apesar da contagem de mesófilos totais aumentar ao longo do tempo, verifica-se que estes se encontram dentro dos limites

exigidos pela legislação europeia, para pão de trigo (REGULAMENTO (CE) N.º 2073/2005 de 15 de Novembro de 2005).

Conclui-se que o tempo e a temperatura de cozedura ($T = 200^{\circ}\text{C}$ e $t = 40$ min) em conjunto com a composição da atmosfera selecionada promovem a conservação do pão sem glúten controlando o desenvolvimento da carga microbiana.

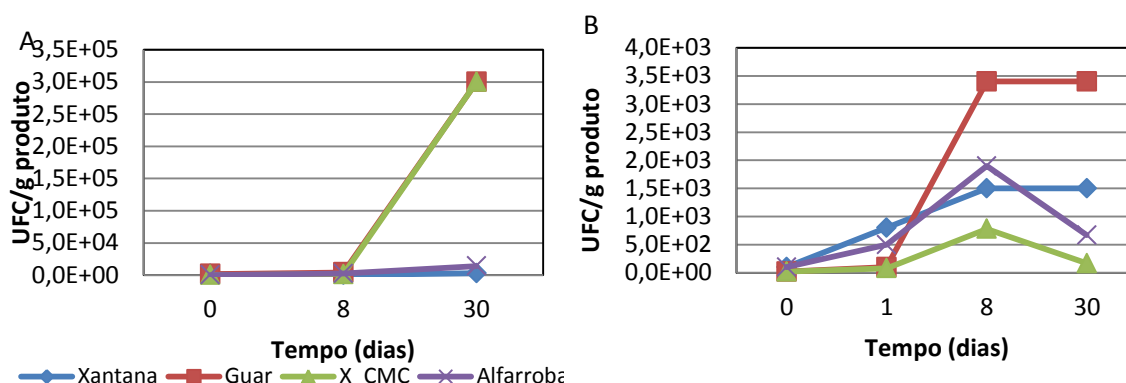


Figura 41 – Microrganismos mesofilos totais a 30°C das amostras com diferentes hidrocolóides embaladas em atmosfera modificada com 80% de CO_2 / 20% N_2 (A) e com 60% de CO_2 / 40% N_2 (B), e armazenadas a $\approx 22^{\circ}\text{C}$ durante 30 dias.

4.3. Estrutura do miolo do pão

Um dos atributos mais importantes que caracterizam a qualidade do pão é a sua estrutura, a qual juntamente com as características de aparência, determina as particularidades da textura (Peressini *et al.*, 2011). O efeito da adição de diferentes hidrocolóides na estrutura do miolo do pão encontra-se apresentado na Figura 42. Verifica-se que, para o tempo zero dias, as gomas xantana, guar e xantana e CMC conferem ao pão uma estrutura mais fechada, mas compacta e menos alveolar, independentemente do método de conservação utilizado. Ao contrário, o pão com goma alfarroba apresenta uma estrutura mais macia e alveolar.

Através da análise das fotografias da Figura 42, verifica-se que após o tempo inicial a estrutura do pão começa a sofrer alterações, como por exemplo, a perda da estrutura alveolar, o aumento da dureza, fica mais seco e esfarela com grande facilidade. As modificações referidas são mais evidentes nos ensaios com as gomas xantana e guar, e nas experiências com atmosfera modificada.

Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos na avaliação da textura do miolo de pão, mais especificamente no que se refere à dureza.

Concluindo-se que, ao nível da estrutura, o pão que se apresenta mais alveolar e com aparência mais macia é o que foi realizado com goma de alfarroba, independentemente do método de conservação.

No que se refere ao método de conservação, e segundo a Figura 42, verifica-se que a atmosfera constituída por 60% de CO₂ proporciona um pão mais alveolar, no que se refere ao ensaio com goma de alfarroba.

Goma	Inicial	Congelação	ATM I (A)	ATM II (B)
	T0 dias	T90 dias	T30 dias	T30 dias
Xantana				
Guar				
Xantana + CMC				

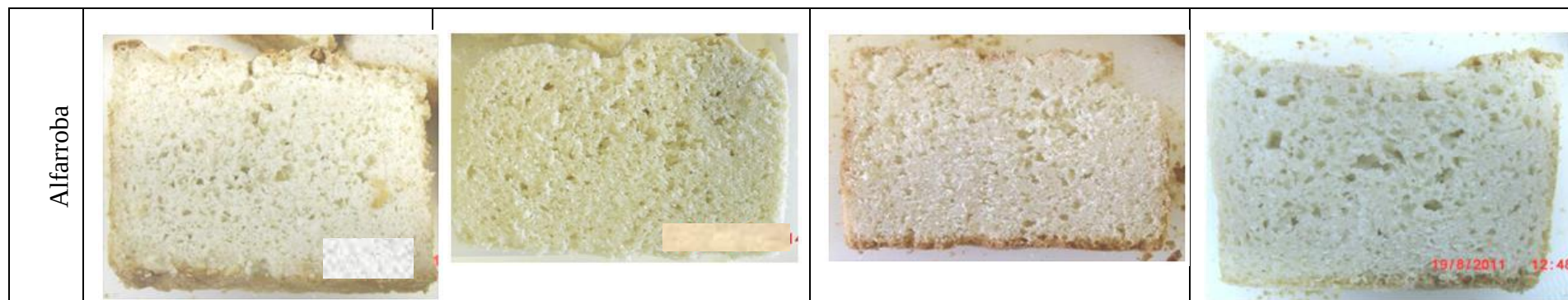


Figura 42 – Estrutura do miolo de pão com diferentes hidrocolóides ao tempo zeros dias, apos 90 dias de armazenado congelado e apos 30 dias armazenado em embalagens em atmosfera modificada com 80% de CO₂/ 20% N₂ (A) e com 60% de CO₂/ 40% N₂ (B), e armazenadas a ≈22°C durante 30 dias.

5. Conclusão e sugestões de trabalhos futuros

Com este trabalho foi possível concluir que:

- O hidrocolóide que conferiu melhores propriedades de textura do pão sem glúten foi a goma de alfarroba, independentemente do processo de conservação;
- Não se observaram diferenças entre o comportamento das gomas xantana, guar e mistura xantana e CMC, no que se refere à textura do pão, independentemente do processo de conservação;
- A congelação mostrou-se ser o método de conservação mais adequado para o pão sem glúten formulado; ao fim de 90 dias de conservação a -18°C , o pão mantém as suas propriedades de textura, cor, humidade e pH;
- Relativamente à composição de ATM, a mistura com 60% de CO_2 e 40% de N_2 revela ser a mais adequada e também com a vantagem de ser a mais económica;

Para dar continuidade a este trabalho sugere-se o seguinte:

- Estudar outros hidrocolóides, como a pectina e carragenatos;
- Enriquecer a formulação de base com fibras, proteínas, vitaminas de forma a melhorar a dieta alimentar dos doentes celíacos;
- Acompanhar estas novas formulações com o estudo do processo de conservação em congelação e ATM;
- Estudar o efeito da adição de gordura no pão nas propriedades de textura, ao longo do tempo de vida, em congelação e ATM e comparar com uma formulação sem gordura.

6. Bibliografia

A

Aguirre-Cruz, A.; Méndez-Montealvo; G.; Solorza-Feria, J., Bello-Pérez, L. A.; (2005); "Effect of carboxymethylcellulose and xanthan gum on the thermal, functional and rheological properties of dried nixtamalised maize masa"; Carbohydrate Polymers 62 (222-231);

Ahlborn, GJ; Pike, OA; Hendrix, SB; Hess, WM; Huber, CS; (2005) "Sensory mechanical and microscopic evaluations of staling in low protein and gluten-free bread"; Cereal Chemistry; vol.82, nº.3, pag.328-335;

Al-Ati, T. e Hotchkiss, J.H.; (2002) "Application of packaging modified atmosphere to fresh cut fruit and vegetables", In: O. Lamikanra (Ed.), Fresh-cut and Vegetables; Sciences technology and Market, Boca Raton; FL: CRC press;

Almeida, D. (2005); "Manuseamento de Produtos Hortofrutícolas"; In: Valorização das explorações agrícolas, SPI – Sociedade Portuguesa de Inovação, 1ª edição, Porto;

Alvarez-Jubete; L; Auty; Mark; Arendt, Elke K.; Gallagher, Eimear (2009); "Baking properties and microstructure of pseudocereal flours in gluten-free bread formulations"; Eur Food Res Technol 230:437-445;

Anon; Crescimento Microbiana, disponível em: <http://vsites.unb.br/ib/cel/microbiologia/crescimento/crescimento.html>, a 10 de Março de 2012;

Aquino, A.C.; Domingues, M.A.; Carvalho, M.G.; "Controlo da Qualidade em frutas e hortaliças minimamente processadas"; Mestrado em Tecnologia dos Alimentos da Universidade Federal do Ceará, Fortaleza/CE; disponível em: <http://br.monografias.com/trabalhos2/alimentos-processados/alimentos-processados2.shtml>; (15 de Março de 2012);

Atwell, W.A.; Hood, L.F.; Lineback, D.R.; Varriano-Marston, E.; Zobel, H.F. (1988); "The terminology and methodology associated with basic starch phenomena"; Cereal Foods World, vol. 33, pag. 306-311;

B

Bárcenas, M. E.; Benedito, C.; Rosell, C. M ; (2003); "Use of hydrocolloids as bread improvers in interrupted baking process with frozen storage"; Food Hydrocolloids 18 (769-774) ;

Bárcenas, M. E.; Rosell, C. M (2004);“Different approaches for improving the quality and extending the shelf life of the partially baked bread: low temperatures and HPMC addition”; Journal of Foods Engineering 72 (92-99);

Bárcenas, M. E.; Rosell, C. M (2005);“Effect of HPMC addition on the microstructure, quality and aging of wheat bread”;Food Hydrocolloids 19 (1037-1043);

Bárcenas, M. E.; Rosell, C. M. (2005); “Different approaches for increasing the shelf life of partially baked bread: Low temperatures and hydrocolloid addition”; Food Chemistry 100 (1594-1601);

Bárcenas, M. E.; Rosell, C. M.; (2005); “Different approaches for increasing the shelf life of partially baked bread: Low temperatures and hydrocolloid addition”; Food Chemistry 100 (1594-1601);

Bárcenas, M. E.; Rosell, C. M. (2005); “Effect of frozen storage time on the bread crumb and aging of par-baked bread”, Food Research International 36 (863-869);

Bárcenas, M. E.; Haros, M.; Benedito, C.; Rosell C- M. (2003); “Effect of freezing and frozen storage on the staling of part-baked bread”;Food Research International 36 (863-869);

Benahmed, M.; Mention, J.; Matysiakbudnik, T.; Cerf-Bensussan, N.:(2003); “ Celiac disease: a future without gluten-free diet?” Gastroenterology, nº4, vol. 125, pag.1264-1267;

Bona, S.; (2002); “Estudos da viabilidade da produção de pão francês a partir de massa congelada” Pós Graduação em Engenharia de Alimentos;

Borges, C. Dellinghausen; Vendruscolo; Claire Tondo (2008)“ Goma Xantana: características e condições operacionais de produção - Xanthan Gum: characteristics and operational conditions of production”; Semina: Ciências Biológicas e da Saúde, Londrina, v. 29, n. 2, p. 171-188, jul./dez. 2008;

Bosi, Mirela Guedes; Alliprandini, Dário Henrique; Toledo, José Carlos; (2003), ”Estudo de casos sobre a gestão do processo de desenvolvimento de produtos na indústria de alimentos”;;

Bourgeois, C.M.; Mescle, J.-F.; Zucca, J., coordennateurs; “ Microbiologie Alimentaire, Tome 1 - Aspect microbiologique de la securité et de la qualité des aliments”; 2^a edition; Lavoisier; 1996;

Bourgeois, C.M.; Larpente, J.-P., coordennateurs; “ Microbiologie Alimentaire, Tome 2 - Aliments fermentés et fermentation alimentaires”; 2^a edition; Lavoisier; 1996;

Braga, L. R.; Peres L. (2010), “Novas tendências em embalagens para alimentos: Revisão”, vol. 28, n. 1, pag. 69-84, jan./jun. 2010;

C

César, Aldara da Silva; Gomes, José Carlos; Staliano, Cristina Dinni; Fanni Marcela Loureiro; Borges, Moacir Chaves (2006); “ELABORAÇÃO DE PÃO SEM GLÚTEN”; revista Ceres Março/Abril 2006;

Chevalier, D.; Le Bail, A.; Ghoul, M. (2000); “Freezing and ice crystals formed in a cylindrical food model: Part I; Freezing at atmospheric pressure”; Journal of food Engineering;

Ciacco, C.F.; Cruz, R.(1982); “ Fabricação de amido e sua utilização”, Série Tecnologia Agroindustrial; Ciência e Tecnologia, nº7, pag. 152; Secretaria da indústria e Comercio, São Paulo;

Coultate, T.P. (2004); “ Alimentos: a química e seus componentes” / Trad. Jeverson Frazzon *et al*; 3ª ed.pag.368; Porto Alegre: Artmed;

E

Esteller, M. S.; LANNES; S. C. da Silva; (2005); “Parâmetros Complementares para Fixação de Identidade e Qualidade de Produtos Panificados”; Ciência. Tecnologia. Alimentar., Campinas, 25(4): 802-806, out.-dez. 2005;

Esteller, M. S.; Yoshimoto, R. M. de Oliveira, Amaral; R. L.; Lannes, S. C. da Silva; (2004); “Uso de açúcares em produtos de panificados”; Ciência. Tecnologia. Alimentar, Campinas, 24(4): 602-607, out.-dez. 2004;

F

Fellows, P.:(2000); Food Processing Technology – Principles and Praticce; second edition, CRC Press, USA;

G

Gallagher E.;;Gormley, T.R.; Arendt, E.K.(2001); “Crust and crumb characteristics of gluten free breads”, Journal of Foods Engineering, 53 (153-161);

Gallagher, E.; Gormleya, T.R.; Arendt E.K.; (2004); “Recent advances in the formulation of gluten-free cereal based products”;Trends in Food Science & Technology 15 (143–152);

Glaberson; Helen (2011);” Active packaging tops MAP for Gluten-free bread’s shelf life, study”;

Godon, B.; Loisel, W.; coordennateurs; “ Guide Pratique d’ analyses dans les industries des céréales”; 2ª edition; Lavoisier; 1997;

Gomez, M.; Oliete, Bonastre; Rosell, C. M.; Pando, V.; Fernandez, E.;(2007); “Studies on cake quality made of wheatechickpea flour blends”, LWT 41(1701-1709);

Gutkoski, L. C.; Neto, R. J.; (2002); “Procedure to laboratorial test of bread making – Form bread type” ; Ciência Rural Santa Maria, v.32.n.5.p.873-879;

Gutkoski, L C.; Santos, E. ;(2005) “Study of the formulation on production of frozen no fermented french type bread”;R.bras. Agrociência, v.10, n.3. p.347-352;

H

Haiying, W.; Shaozhi, Z.; Guangming, C.;(2007) “Experimental study on the freezing characteristic of four kinds of vegetables”; Science Direct LWT 40; 1112-1116;

Hamdami, N.; Pham, Q. Tuan; Le-Bail, Alain; Monteau, Jean-Yves (2007)“Two-stage freezing of part baked breads: Application and optimization”; Journal of Food Engineering 82 (418-426);

Hopman, E.G.D.; Cassie, S.; Blomberg, B.M.E.; Mearin, M.L.;(2006);“ Nutrition management of the gluten-free diet in young people with celiac disease in the Netherlands”; Journal of pediatric gastroenterology and nutrition, nº43, pag.102-108;

I

Ismaila, Baraem;; Haffarb, Imad; Baalbakic, Riad; Henryd, Jeya;(2007) “Physico-chemical characteristics and sensory quality of two date varieties under commercial and industrial storage conditions”; LWT 41 (896-904);

K

Kohajdová, Zlatica; Karovičová, Jolana;(2008) “Application of hydrocolloids as baking improvers”;

Korus, Jarosaw; Witczak, Mariusz; Ziobro, Rafa; Juszczak, Lesaw (2008);“The impact of resistant starch on characteristics of gluten-free dough and bread”;Foods Hydrocolloids 23 (988-995);

L

Lainez, E.; Vergara, Fidel; Bárcenas, M. E.;(2008); “Quality and microbial stability of partially baked bread during refrigerated storage”; Journal of food Engineering 89 (414-418);

Lazaridou A.; Duta, D.; Papageorgiou, M.; Belc, N.; Biliaderis, C.G.;(2006); “Effects of hydrocolloids on dough rheology and breadquality parameters in gluten-free formulations”, Food hydrocolloids, 17, 693-712;

Lazaridou, A.; Duta, D.; Papageorgiou, M.; Belc, N., Biliaderis, C.G. (2006); “Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations”; *Journal of Food Engineering* 79 1033-1047;

Lee, M.H.; Baek, M.H.; Cha, D.S.; Park, H.J; Lim, S.T.,(2002) “Freeze-thaw stabilization of sweet potato starch gel by polysaccharide gums”; *Food hydrocolloids*, 16, 345-352;

Leray, G.; Oliete, Bonastre; Mezaize, S.; Chevallier S.; Lamballerie, M.”(2010); “Effects of freezing and frozen storage conditions on the rheological properties of different formulations of non-yeasted wheat and gluten-free bread dough”; *Journal of food Engineering* 100,(70-76);

Lorenzo, G.; Zaritzky, N; Califano, A. (2007), “Optimization of non-fermented gluten-free dough composition based on rheological behavior for industrial production of “empanadas” and pie-crusts”; *Journal of Cereal Science* 48 (224-231);

M

Mandala, I.G., Palogou, E.D.; Kostaropoulos, A.E.; (2001); “Influence of preparation and storage conditions on texture of xanthan–starch mixtures”, *Journal of Food Engineering* 53 (27-38);

Mandala, I., Karabela, D., Kostaropoulos, A.; (2007); “Physical properties of breads containing hydrocolloids stored at low temperature. I. Effect of chilling”; *Food Hydrocolloids* 21 (1397-1406);

Mandala, I., Karabela, D., Kostaropoulos, A.; (2007); “Physical properties of breads containing hydrocolloids stored at low temperature. II—Effect of freezing”; *Food Hydrocolloids* 22(1443-1451);

Mandala, I.; Polaki, A.; Yanniotis S.;(2008) “Influence of frozen storage on bread enriched with different ingredients”, *Journal of Food Engineering* 95 (137-145);

Mandala, I.G.; Sotirakoglou, K.;(2005); “Effect of frozen storage and microwave reheating on some physical attributes of fresh bread containing hydrocolloids”; *Food Hydrocolloids*, 19, (709-719);

Mandala, I.G., Bayas, E. (2003); “Xanthan effect on swelling, solubility and viscosity of wheat starch dispersions”; *Food Hydrocolloids*, 18 (191-201);

Mezaize, S.; Chevallier S.; Le-Bail A.; Lamballerie M. de (2010); “Gluten-free frozen dough: Influence of freezing on dough rheological properties and bread quality”; *Food Research International* 44 (2186-2192);

Minolta. Precise color communication: Color control from feeling to instrumentation. Minolta Co.Ltd.; 1994;

Morgado, D. L.; Martins, Virginia da C.A. ; Plepis, Ana M. de G.; Frollini, Elisabete (2001); “Agregação de cadeias de acetatos de celulose e, LiCl/DMAc: Avaliação via Viscosímetria”; vol.21 nº2, p.143-145;

Multon, Jean-Louis, coordennateur; “Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires”, 3^a édition; Collection Sciences & techniques agroalimentaires, Lavoisier, 2002;

N

Noemi, Gabriel Lorenzo; Zaritzky, E.; Califano, Alicia N.; (2009); “Rheological characterization of refrigerated and frozen non-fermented gluten-free dough: Effect of hydrocolloids and lipid phase”;

Novotni, D.; Curic, D.; Galic K.; Skevin, D.; Nederal, S.; Kraljic, K.; Gabric, D.; Jezek, D. (2008);“Influence of frozen storage and packaging on oxidative stability and texture of bread produced by different processes”;LWT Food Science and Technology 44 (643-649);

Norma BS EN ISSO 6887-1: 1999 – “Microbiology of food and animal feeding stuffs – Preparation of the test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination – Part.1: General rules for the preparation of initial suspension and decimal dilutions”;

Norma ISO4855:2003 – “Microbiology of food and animal feeding stuffs – horizontal method for the enumeration of microorganisms – Colony-count technique at 30°C”;

Norma Portuguesa NP-516:1983 – “Cereais e Produtos cerealíferos – Determinação do teor de água – Processo Prático”;

Norma Portuguesa NP 2966:1993 – Derivado de cereais. Pão. Determinação dos teores de água e matéria-seca. IQA 2^a edição;

P

Pariasca, J. A.T.; Miyazaki, Takeshi; Hisaka, Hiroyuki; Nakagawa, Hiroki; Sato, Takahide;(2000) “Effect of modified atmosphere packaging (MAP) and controlled atmosphere (CA) storage on the quality of snow pea pods (*Pisum sativum* L. var. *saccharatum*)”;Postharvest Biology and Technology 21 (213-223);

Paulus. K. (1986): “Quality of dietetic food – significance for human nutrition”; Lebensm-wiss und Technoc. 19: 147-151;

Pedro, N.; Lopes, S.; Szantho, A., Avila Costa; Moura, J.J.; (2008) “Doença Celíaca – revisão de conceitos e novos desenvolvimentos, *Coeliac disease – a review of concepts and new developments*”; Medicina Interna- REVISTA DA SOCIEDADE PORTUGUESA DE MEDICINA INTERNA; 06.02.08;

Peressini, D.; Sensidoni, A. (2010); “Effect of soluble dietary fibre addition on rheological and breadmaking properties of wheat doughs”; Journal of Cereal Science 49(2):190-201;

Peressini, D.; Pin, M.; Sensidoni, A. (2011); “ Rheology and breadmaking performance of Rice-buckwheat batter supplemented with hydrocolloids”; Food Hydrocolloids 25:340-349;

Phimolsiripol, Yuthana; Siripatrawan, Ubonrat; Tulyathan, Vanna, Cleland, Donald J.(2007); “Effects of freezing and temperature fluctuations during frozen storage on frozen dough and bread quality”;Journal of Foods Engineering 84 (48-56);

Polaki, A.; Xasapis, P.; Fasseas, C., Yanniotis, S.; Mandala, I. (2009);“Fiber and hydrocolloid content affect the microstructural and sensory characteristics of fresh and frozen stored bread”; Journal of Food Engineering 97 (1-7);

Porte, A., Maia, L. H. (2001); “Alterações fisiológicas, bioquímicas e microbiológicas de alimentos minimamente processados”; B. CEPPA, Curitiba, v.19, n.1.;

Possik, P.A.; Finardi Filho, F.; Francisco, A.; Luiz, M.T.B.(2005); “ Gluten free foods for control of celiac disease”; Journal of Brazilian Society of Food and Nutrition, vol. 29, pag.61-74; São Paulo; Jun.2005;

Preichardt, Leidi D.; Vendruscolo, Claire T.; Gularte, Márcia A.; Moreira, Angelita da S. (2009); “Effect of the xanthan gum in the sensory characteristic of glúten free cakes” Campus Ponta Grossa - Paraná - Brasil ; ISSN: 1981-3686 / v. 03, n. 01: p. 70-76;

Prof. Carlo Catassi, Dr. Schär, Conzepta” VIVER COM A DOENÇA CELÍACA” 2007;

Q

Quaglia, G. (1991); “ Ciencia y tecnologia de la panificación”; pag. 485; Zaragoza – Espanha;

R

Rahman, M. S.; GuizaniI, N.; AL-Khaseibi, M.; AL-HinaiI, S. A.; AL-Maskri, S. S.; AL-Hamhami, K.;(2002) “Analysis of cooling to determine the end point of freezing”; Food Hydrocolloids 16, (653-659);

REGULAMENTO (CE) N.º 2073/2005 de 15 de Novembro de 2005 relativo a critérios microbiológicos aplicáveis aos géneros alimentícios.

Ribotta, P.D.; Pérez, G.T., León, A.E., Añón, M.C. (2003); “Effect of emulsifier and guar gum on micro structural, rheological and baking performance of frozen bread dough”, *Foods Hydrocolloids* 18(305-313);

Rico, D., Martín-Diana, A. B., Barat, J.M.; Barry-Ryan,C.;(2007) “Extending and measuring the quality of fresh-cut fruit and vegetables: a review”, *trends in Food Science & Technology*, 18, 373-386;

Riemsdijk, Lieke E. van;, Pelgrom, Pascale J.M.; Goot, Atze J. van der , Boom, Remko M., Hamer Rob J.(2010); “A novel method to prepare gluten-free dough using a meso-structure whey protein particle system”;

Rizzello, Carlo Giuseppe; Coda, Rossan; De Angelis, Maria; Di Cagno, Raffaella; Carnevali, Paola; Gobetti, Marco (2009); “Long-term fungal inhibitory activity of water-soluble extract from *Amaranthus* spp. seeds during storage of gluten-free and wheat flour breads”; *International Journal of Food Microbiology* 131 (189-196);

Rizzoti, R.; Brigand, G; “ Les épaississants, les gélifiants et les stabilisants” – “ Principaux emplois d’additif”; Dossier Scientifiques N° 10 – Les Additifs; Dossier Scientifiques de L’Institut Français pour la Nutrition,; Septembre 1998;

Rosell, C.M., Rojas, J.A.; Barber, Benedito de (2001); “Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality”, *Food Hydrocolloids* 15 (75-81);

Rubio-Tapia, Alberto; Kyle, Robert A.; Kaplan, Edward L.,(2009), *Gastroenterology*, v. 137, n. 1, p. 88-93 ;July 2009;

Roux, Jean-L; “Conserver les aliments – Comparaison des méthodes et des technologies”; Lavoisier; 1994;

S

Sabanis, D; Lebesi, D; Tzia, C.; (2009);“ Effect of dietary fibre enrichment on selected properties of gluten.free bread”; *Food Science and Technology*, 42;

Santos, M. Isabel; Correia, Cristina; Cunha, M. Isabel Campos; Saraiva, M. Margarida; Novais, M. Rosário (2007); “Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração”; Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge – INSA; Centro de Segurança Alimentar e Nutrição – CSAN; 2007;

Sanz, P. D.; De Elvira, C.; Martino, M.; Zaritzky, N.; Otero, L.; Carrasco, J. A.(1999); “Freezing rate simulation as na aid to reduccing crystallization damage in foods”; *Meat Science*, 52(3), 275-278;

Schober, Tilman J.; Bean, Scott R.; Boyle; Daniel L.,; Park, Seok-Ho (2008); “Improved viscoelastic zein–starch doughs for leavened gluten-free breads: Their rheology and microstructure”; *Journal of Cereal Science* 48 (755-767);

Selomulyo, Vania Octaviani; Zhou, Weibiao; (2006); “Frozen bread dough: Effects of freezing storage and dough improvers”; Journal of Cereal Science 45 (1-17);

SILVA, Maria Elisabeth Machado Pinto e; YONAMINE, Glauce Hiromi ; MITSUIKI; Lia (2003); “Desenvolvimento e Avaliação de Pão Francês Caseiro sem Sal - Development and Evaluation of Homemade French Bread Containing no Salt”;;

Smewing, J.(2010), “Handbook of texture analysis – Food and non food applications”;

Sozer; Nesli (2008) “Rheological properties of rice pasta dough supplemented with proteins and gums”; Food Hydrocolloids 23(849-855);

T

Tedrus, Guilherme de A. S.; Ormenese, Rita de Cássia S. Celeste, Speranza, Sandra Maria; Chang, Yoon K., Bustos, Fernando M. (2001) “Estudo da adição de vital glúten à farinha de arroz, farinha de aveia e amido de trigo na qualidade de pães”; Ciência. Tecnologia. Alimentar;

Tejero, Francisco (2004); “CONSERVAÇÃO DO PÃO E A CONFEITARIA”Tradução do artigo “*Conservación del pan e la confiteria*”- Revista FEVIPAN – nº 15 – junho de 2004 – p. 24-26 Tradução por: Paulo Sciamarelli Equipe Técnica do I.D.P.C.; 2004;

Torbica, Aleksandra; HadnaCev, Miroslav; Dapcevic, Tamara (2010); “Rheological, textural and sensory properties of gluten-free bread formulations based on rice and buckwheat flour”,Food Hydrocolloids 24 (626-632);

Turabi, Elif; Sumnu, Gulum; Sahin, Serpil (2006) “Rheological properties and quality of rice cakes formulated with different gums and an emulsifier blend”; Food Hydrocolloids 22(305-312);

V

Vulicevica, I.R.; Abdel-Aalb, E-S.M.; Mittalc, G.S; Lub, X.(2003); “Quality and storage life of par-baked frozen breads”; LWT 37 (205-213);

W

Witczak, Mariusz; Korus, Jarosław , Ziobro, Rafał , Juszcza, Lesław (2009); “The effects of maltodextrins on gluten-free dough and quality of bread”, Journal of Food Engineering 96 (258-265);

Wood, Jennifer Ann; (2008); “Texture, processing and organoleptic properties of chickpea-fortified spaghetti with insights to the underlying mechanisms of traditional durum pasta quality”; Journal of Cereal Science 49 (128-133);

World Gastroenterology Organisation Practice Guidelines; “Doença Celíaca”; Tradução: S.G. Jorge; 2005;

Y

Yi, Jinhee, Kerr, William L.(2009);“Combined effects of freezing rate, storage temperature and time on bread dough and baking properties”; LWT Food Science and Technology 42 (1474-1483);

Z

Zandonadi, Renata Puppim (2006), “*PSYLLIUM* COMO SUBSTITUTO DE GLÚTEN”
PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO HUMANA;

Apêndices.

Apêndice I – Observações experimentais de produção

a) Comportamento dos gases na atmosfera modificada

Para a primeira mistura de gases obteve-se os seguintes comportamentos internos do ambiente.

Tabela 8a - Registo do comportamento da atmosfera modificada mistura I.

Tempo	Goma	O ₂	CO ₂	N ₂
T0		1,59	82,5	16
T1	Xantana	1,88	78,7	19,4
	Guar	1,76	82	16,3
	Xantana + CMC	1,61	81	17,4
	Alfarroba	2,99	72,5	24,5
T8	Xantana	1,81	79,1	19,1
	Guar	2,28	75,8	21,9
	Xantana + CMC	1,91	78,6	19,5
	Alfarroba	7,19	40,8	52
T30	Xantana	2,57	70,8	26,6
	Guar	2,32	70,5	27,2
	Xantana + CMC	1,77	70,1	28,2
	Alfarroba	1,66	70,9	27,5
	Vazia	20,5	0	79,1

Tabela 8b - Registo do comportamento da atmosfera modificada mistura II.

Tempo	Goma	O ₂	CO ₂	N ₂
T0		1,22	62,9	35,9
T1	Vazia	1,99	58,5	39,5
	Xantana	1,3	56,8	41,9
	Guar	1,25	57,2	41,3
	Xantana + CMC	1,22	56,5	42,2
	Alfarroba	1,76	56,1	42,1
T8	Vazia	1,78	60,1	38,1
	Xantana	1,14	54,3	44,6
	Guar	1,27	53,2	45,8

T30	Xantana + CMC	1,83	52,3	45,9
	Alfarroba	1,81	52,8	45,3
	Vazia	2,63	50,2	47,2
	Xantana	0	58,3	41,7
	Guar	0,101	51,1	48,8
	Xantana + CMC	2,12	46,2	51,7
	Alfarroba	0	56,3	43,7

Apêndice II – Observações experimental de amostragem

Apendice II A Observação experimental da determinação do pH

As observações experimentais obtidas na determinação do pH encontram-se nas tabelas abaixo representadas.

- Na congelção

Tabela 9a – Observações experimentais da determinação do pH na congelção.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	5,3	5,2	5,17	5,173333
	Desvio Padrão	0,055678	0,045092	0,055678	0,030551
8	Média	5,186667	5,633333	5,366667	5,293333
	Desvio Padrão	0,077675	0,025166	0,045092	0,045092
30	Média	5,126667	5,06	5,133333	5,533333
	Desvio Padrão	0,035119	0,036056	0,040415	0,144684
90	Média	5,383333	5,06	5,326667	5,69
	Desvio Padrão	0,025166	0,01	0,037859	0,01

- Na embalagem ATM I

Tabela 9b – Observações experimentais da determinação do pH na ATM I.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	5,31	5,233333	5,283333	5,276667
	Desvio Padrão	0,01	0,030551	0,030551	0,005774
1	Média	5,046667	5,07	5,146667	5,123333
	Desvio Padrão	0,025166	0,02	0,030551	0,030551
8	Média	5,383333	5,696667	5,313333	5,043333
	Desvio Padrão	0,025166	0,020817	0,015275	0,015275
30	Média	5,39	5,223333	5,24	5,256667
	Desvio Padrão	0,01	0,020817	0,036056	0,025166

- Na embalagem ATM II

Tabela 9c – Observações experimentais da determinação do pH na ATM II.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	5,136667	5,22	5,25	5,06
	Desvio Padrão	0,028868	0,026458	0,02	0,02
1	Média	5,286667	5,786667	5,773333	5,713333
	Desvio Padrão	0,015275	0,020817	0,015275	0,020817
8	Média	5,623333	5,46	5,603333	5,403333
	Desvio Padrão	0,020817	0,01	0,015275	0,015275
30	Média	5,29	5,086667	5,49	5,16
	Desvio Padrão	0,02	0,045092	0,01	0,01

Apêndice IIB - Observação experimental da determinação do teor de humidade

As observações experimentais obtidas encontram-se nas tabelas abaixo representadas:

- Na congelação

Tabela 10a – Observações experimentais da determinação do teor de humidade na congelação.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	42,6347	43,25227	44,09928	44,78239
	Desvio Padrão	0,686973	0,242125	0,403478	0,16706
8	Média	40,55751	45,10928	40,54119	42,99177
	Desvio Padrão	0,854213	0,027813	0,277235	0,152975
30	Média	44,71663	45,12564	45,19454	42,21817
	Desvio Padrão	0,209701	0,15884	0,126366	0,22732
90	Média	44,55932	42,59997	44,82929	43,38257
	Desvio Padrão	0,052184	0,55564	0,115675	0,178151

- Na embalagem ATM I

Tabela 10b – Observações experimentais da determinação do teor de humidade na ATM I.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	44,70148	45,66752	46,11182	44,95022
	Desvio Padrão	0,814747	S/V	0,096163	0,005497
1	Média	43,51123	43,40675	44,18863	41,5402
	Desvio Padrão	0,674614	0,126814	0,085026	0,113802
8	Média	39,26091	40,67268	41,82493	38,9823
	Desvio Padrão	0,873922	0,131755	0,127958	0,142657
30	Média	39,6584	41,07539	40,57173	37,18789
	Desvio Padrão	0,243642	0,176329	0,197946	0,058062

- Na embalagem ATM II

Tabela 10c – Observações experimentais da determinação do teor de humidade na ATM II.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	44,1867	44,28847	39,76101	42,93643
	Desvio Padrão	0,211969	0,200303	0,138174	0,792142
1	Média	42,59846	42,55722	37,3233	39,69007
	Desvio Padrão	0,276822	0,139481	0,469923	0,158545
8	Média	36,88742	38,51837	35,22625	39,29474
	Desvio Padrão	0,096367	0,344149	0,178187	0,260401
30	Média	39,90451	39,31277	32,96166	38,01218
	Desvio Padrão	0,772343	0,093324	S/V	0,092751

Apêndice IIC - Observação experimental da determinação da luminosidade, da variação da cor e razão L^*/b^*

Determinação da Luminosidade

- Na congelação

Tabela 11a – Observações experimentais da determinação da luminosidade na congelação.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	72,87	74,82	73,426	67,844
	Desvio Padrão	1,263988	0,757298	1,302586	1,006742
8	Média	75,66	75,046	76,818	73,91
	Desvio Padrão	0,962635	0,53319	0,900844	3,162278
30	Média	78,64	76,268	78,394	78,44
	Desvio Padrão	0,570964	0,451178	0,6195	1,071201
90	Média	78,47	76,916	79,112	74,9325
	Desvio Padrão	0,84389	0,827303	0,365746	1,619967

- Na embalagem ATM I

Tabela 11b – Observações experimentais da determinação da luminosidade na ATM I.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	76,502	74,074	76,002	69,844
	Desvio Padrão	0,27335	1,316674	0,599725	0,925786
1	Média	77,134	74,254	76,516	72,846
	Desvio Padrão	0,452416	0,40906	0,457253	0,494297
8	Média	77,582	77,192	78,496	72,094
	Desvio Padrão	0,610549	0,369689	0,441396	0,744533
30	Média	77,89	76,72	78,652	73,738
	Desvio Padrão	0,53033	0,367696	0,040101	0,496389

- Na embalagem ATM II

Tabela 11c – Observações experimentais da determinação da luminosidade na ATM II.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	78,78	76,34	76,146	65,4925
	Desvio Padrão	0,30456	0,226274	0,391737	1,568009
1	Média	78,272	76,5	78,004	68,022
	Desvio Padrão	0,065054	0,275772	0,44972	0,684479
8	Média	78,43	73,75	78,526	67,1325
	Desvio Padrão	0,729555	1,124663	0,674596	1,051899
30	Média	78,968	77,826	78,476	68,924
	Desvio Padrão	0,576559	0,810142	0,356132	2,832107

Determinação do parâmetro a^*

As observações experimentais obtidas encontram-se nas tabelas abaixo representadas:

- Na congelação.

Tabela 12a – Observações experimentais da determinação do parâmetro a^* na congelação.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	2,932	2,76	3,066	2,538
	Desvio Padrão	0,168137	0,086023	0,308026	0,246211
8	Média	3,1075	2,848	3,18	3,082
	Desvio Padrão	0,09535	0,155949	0,232594	0,463487
30	Média	3,004	2,924	3,014	3,29
	Desvio Padrão	0,057706	0,136858	0,101143	0,185203
90	Média	3,21	3,006	3,142	2,928
	Desvio Padrão	0,113137	0,14686	0,155189	0,145306

- Na embalagem ATM I

Tabela 12b – Observações experimentais da determinação do parâmetro a^* na ATM I.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	3,48	2,86	3,264	3,192
	Desvio Padrão	0,214476	0,134164	0,071624	0,58062
1	Média	3,18	3,206	3,396	3,092
	Desvio Padrão	0,16109	0,390871	0,223674	0,317443
8	Média	3,296	3,002	3,182	2,934
	Desvio Padrão	0,150765	0,178802	0,153851	0,242343
30	Média	3,616	3,214	3,49	3,334
	Desvio Padrão	0,161648	0,070214	0,172916	0,26378

- Na embalagem ATM II

Tabela 12c – Observações experimentais da determinação do parâmetro a^* na ATM II.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	3,652	3,528	4,1324	2,824
	Desvio Padrão	0,184445	0,375992	0,036862	0,477106
1	Média	3,47	3,302	3,786	3,038
	Desvio Padrão	0,086718	0,21876	0,159072	0,329205
8	Média	3,69	3,304	4,024	2,543
	Desvio Padrão	0,216564	0,095026	0,118025	0,411497
30	Média	3,632	3,444	4,552	2,745
	Desvio Padrão	0,143422	0,121573	0,189789	0,264134

Determinação do parâmetro b^*

As observações experimentais obtidas encontram-se nas tabelas abaixo representadas:

- Na congelação.

Tabela 13a – Observações experimentais da determinação do parâmetro b^* na congelação.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	12,548	11,2	12,794	11,638
	Desvio Padrão	0,955495	0,452604	0,951436	0,692402
8	Média	10,755	10,08	11,464	9,584
	Desvio Padrão	0,48734	0,226716	0,394183	0,268011
30	Média	10,15	9,994	10,578	8,89333
	Desvio Padrão	0,215986	0,142583	0,39188	0,070238
90	Média	10,396	9,9	9,846	9,028
	Desvio Padrão	0,678034	0,486261	0,545646	1,098303

- Na embalagem ATM I

Tabela 13b – Observações experimentais da determinação do parâmetro b^* na ATM II.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	13,34	12,152	13,214	13,32
	Desvio Padrão	0,551498	0,307034	0,516798	0,81
1	Média	13,05	12,452	13,406	13,248
	Desvio Padrão	0,185068	0,839982	0,222104	1,030738
8	Média	12,278	11,924	12,236	12,142
	Desvio Padrão	0,125976	0,317695	0,536871	0,301032
30	Média	11,95	12,026	12,382	13,56
	Desvio Padrão	0,547814	0,659492	0,459424	0,816578

- Na embalagem ATM II

Tabela 13c – Observações experimentais da determinação do parâmetro b^* na ATM II.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	13,54	13,55	14,202	10,906
	Desvio Padrão	0,560625	0,709119	0,529405	0,603059
1	Média	13,64	13,238	13,4464	11,934
	Desvio Padrão	0,421485	0,431068	0,502847	0,550709
8	Média	12,848	12,368	12,952	12,614
	Desvio Padrão	0,487412	0,491294	0,733158	0,503021
30	Média	13,17	13,108	13,008	10,19
	Desvio Padrão	0,581077	0,873195	0,596423	1,081769

Determinação da razão L^*/b^*

As observações experimentais obtidas encontram-se nas tabelas abaixo representadas:

- Na congelação

Tabela 14a – Observações experimentais da determinação da razão L^*/b^* na congelação.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	5,897098	6,690292	5,768413	5,844548
	Desvio Padrão	0,548432	0,315131	0,499329	0,323778
8	Média	7,043156	7,448364	6,708235	7,709814
	Desvio Padrão	0,245757	0,190481	0,277511	0,10976
30	Média	7,751152	7,632858	7,41835	8,82058
	Desvio Padrão	0,202804	0,135749	0,250648	0,15072
90	Média	7,573756	7,786055	8,055851	8,097973
	Desvio Padrão	0,50127	0,433386	0,473276	0,962908

- Na embalagem ATM I

Tabela 14b – Observações experimentais da determinação da razão L^*/b^* na ATM I.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	5,695991	6,100371	5,757718	5,239655
	Desvio Padrão	0,248169	0,246994	0,197663	0,26145
1	Média	5,911858	5,98362	5,708801	5,525263
	Desvio Padrão	0,109486	0,380004	0,097364	0,428108
8	Média	6,318955	6,477707	6,425337	5,939951
	Desvio Padrão	0,031831	0,191238	0,29206	0,131573
30	Média	6,529871	6,393218	6,359558	5,455549
	Desvio Padrão	0,330937	0,313966	0,252143	0,371917

- Na embalagem ATM II

Tabela 14c – Observações experimentais da determinação da razão L^*/b^* na ATM II.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	5,83933	5,612134	5,395838	6,028484
	Desvio Padrão	0,235224	0,21385	0,160831	0,383728
1	Média	5,742452	5,783689	5,808138	5,708091
	Desvio Padrão	0,163722	0,193029	0,236023	0,247087
8	Média	6,112637	6,164697	6,08056	5,300858
	Desvio Padrão	0,271237	0,256918	0,392855	0,392855
30	Média	6,004923	5,957756	6,043776	5,369148
	Desvio Padrão	0,255362	0,387082	0,296709	0,424261

As observações experimentais obtidas encontram-se nas tabelas abaixo representadas:

- Na congelação

Tabela 15a – Observações experimentais da variação da cor na congelação.

Tempo	Hidrocolóides			
	X	G	X-CMC	A
0	0	0	0	0
8	4,874701	2,768871	4,65642481	8,08274
30	5,546612	1,895363	6,28405124	7,830578
90	6,005696	2,478655	6,40523817	7,563797

- Na embalagem com ATM I

Tabela 15b – Observações experimentais da determinação da variação da cor na ATM I.

Tempo	Hidrocolóides			
	X	G	X-CMC	A
0	0	0	0	0
1	0,805868	0,49205284	0,564344	3,004412
8	1,604319	3,12954821	2,680157	2,550489
30	2,04818	2,6725471	2,786719	3,904283

- Na embalagem com ATM II

Tabela 15c – Observações experimentais da determinação da variação da cor na ATM II.

Tempo	Hidrocolóides			
	X	G	X-CMC	A
0	0	0	0	0
1	0,548806	0,417157	2,03545777	2,731342
8	0,776407	1,348851	2,69047404	2,371296
30	0,415505	1,552616	2,6193511	3,510431

Apêndice IID - Observação experimental da determinação da textura

As observações experimentais obtidas encontram-se nas tabelas abaixo representadas:

Determinação da dureza

- Na congelação

Tabela 16a – Observações experimentais da determinação da dureza na congelação.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	10,9208	11,48313	11,42271	5,694824
	Desvio Padrão	1,718716	3,208515	1,366819	2,138956
8	Média	44,84443	39,33929	48,23964	26,01743
	Desvio Padrão	4,132011	5,464663	4,253934	4,360908
30	Média	51,513	44,19207	42,07708	19,56125
	Desvio Padrão	3,982981	5,962311	5,185544	4,7839
90	Média	50,235	49,21993	43,41558	23,962
	Desvio Padrão	4,501701	5,860921	4,54875	9,643541

- Na embalagem ATM I

Tabela16b – Observações experimentais da determinação da dureza na ATM I.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	18,48193	14,64731	14,65907	5,258417
	Desvio Padrão	4,032617	3,092905	3,020813	2,152224
1	Média	36,63108	25,17815	24,60758	15,89909
	Desvio Padrão	3,756012	3,329155	3,280846	4,168735
8	Média	52,0495	47,85229	47,07233	36,51575
	Desvio Padrão	6,605629	8,4448	7,826186	12,78179
30	Média	56,25973	51,51262	55,60354	56,25811
	Desvio Padrão	0,000467	7,921606	2,363901	0,000601

- Na embalagem ATM II

Tabela 16c – Observações experimentais da determinação da dureza na ATM II.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	19,59488	14,47792	18,2115	4,166625
	Desvio Padrão	6,956809	3,158067	9,200154	1,657404
1	Média	31,52367	30,97107	53,94314	16,2995
	Desvio Padrão	6,352776	4,64642	3,789156	4,77337
8	Média	48,94025	43,067	55,2509	37,94353
	Desvio Padrão	7,568563	14,43012	3,210379	10,88317
30	Média	56,15933	56,11708	51,80964	51,80131
	Desvio Padrão	0,379582	0,392401	6,779316	7,746059

Determinação da elasticidade

- Na congelação

Tabela 17a – Observações experimentais da determinação da elasticidade na congelação.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	0,87346	0,860514	0,860406	0,858436
	Desvio Padrão	0,036617	0,035148	0,052455	0,055096
8	Média	0,826879	0,812188	0,819447	0,839513
	Desvio Padrão	0,050732	0,056951	0,042561	0,049805
30	Média	0,800133	0,819368	0,819447	0,814252
	Desvio Padrão	0,036161	0,051274	0,051816	0,040061
90	Média	0,808406	0,813341	0,776411	0,834237
	Desvio Padrão	0,054669	0,050628	0,048869	0,046155

- Na embalagem ATM I

Tabela 17b – Observações experimentais da determinação da elasticidade na ATM I.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	0,858142	0,832168	0,820979	0,845554
	Desvio Padrão	0,043632	0,107378	0,042356	0,056584
1	Média	0,848951	0,872261	0,849284	0,878122
	Desvio Padrão	0,044981	0,050236	0,041093	0,057696
8	Média	0,858051	0,864402	0,824176	0,84503
	Desvio Padrão	0,04867	0,031357	0,049889	0,069465
30	Média	0,743257	0,853746	0,779221	0,857143
	Desvio Padrão	S/V	0,056673	S/V	S/V

Legenda: S/V – sem valor – cálculo impossível

- Na embalagem ATM II

Tabela 17c – Observações experimentais da determinação da elasticidade na ATM II.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	0,833666	0,841692	0,820117	0,871941
	Desvio Padrão	0,052546	0,043568	0,066622	0,054133
1	Média	0,828838	0,858766	0,883317	0,837163
	Desvio Padrão	0,054662	0,038506	0,046468	0,048387
8	Média	0,836164	0,858233	0,912088	0,892679
	Desvio Padrão	0,029662	0,038005	S/V	0,069654
30	Média	0,826507	0,818015	0,879121	0,857842
	Desvio Padrão	0,061941	0,078192	0,073239	0,033397

Legenda: S/V – sem valor – cálculo impossível

Determinação da adesividade

- Na congelação

Tabela 18a – Observações experimentais da determinação da adesividade na congelação.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	0,170933	0,113563	0,3688	0,089882
	Desvio Padrão	0,074861	0,078979	0,141103	0,082878
8	Média	0,089824	0,014714	0,083933	0,005444
	Desvio Padrão	0,089423	0,028575	0,068017	0,00693
30	Média	0,025933	0,018467	0,0418	0,005636
	Desvio Padrão	0,015971	0,01715	0,03983	0,003828
90	Média	0,058786	0,046417	0,038125	0,033769
	Desvio Padrão	0,053469	0,053469	0,033801	0,028911

- Na embalagem ATM I

Tabela 18b – Observações experimentais da determinação da adesividade na ATM I.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	0,288467	0,107643	0,520267	0,129714
	Desvio Padrão	0,217021	0,049333	0,299658	0,299658
1	Média	0,5572	0,271667	0,578933	0,123923
	Desvio Padrão	0,338127	0,15914	0,319596	0,319596
8	Média	0,107333	0,028667	0,14925	0,01525
	Desvio Padrão	0,07059	0,021236	0,094277	0,009421
30	Média	0,003	0,0164	S/R	S/R
	Desvio Padrão	S/V	0,009127	S/V	S/V

Legenda: S/R – sem resultados; S/V – sem valor – cálculo impossível

- Na embalagem ATM II

Tabela 18c – Observações experimentais da determinação da adesividade na ATM II.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	0,236786	0,1222	0,21225	0,0305
	Desvio Padrão	0,193289	0,071791	0,229521	0,033486
1	Média	0,263214	0,236438	0,173333	0,0475
	Desvio Padrão	0,22532	0,142186	0,188109	0,031925
8	Média	0,0228	0,014	0,001	0,002625
	Desvio Padrão	0,017197	0,013439	S/V	0,001598
30	Média	0,048	0,00725	0,060667	S/R
	Desvio Padrão	S/V	0,003096	0,054775	S/V

Legenda: S/R – sem resultados; S/V – sem valor – cálculo impossível

Determinação da coesividade

- Na congelação

Tabela 19a – Observações experimentais da determinação da coesividade na congelação.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	1,182636	1,199536	1,207598	1,238782
	Desvio Padrão	0,029561	0,037377	0,02833	0,045692
8	Média	1,38465	1,456199	1,34834	1,783276
	Desvio Padrão	0,08745	0,129777	0,065924	0,290201
30	Média	1,336956	1,393024	1,369002	1,52754
	Desvio Padrão	0,067325	0,071623	0,080949	0,150178
90	Média	1,428096	1,563384	1,487712	1,517369
	Desvio Padrão	0,127721	0,156802	0,112295	0,136559

- Na embalagem ATM I

Tabela 19b – Observações experimentais da determinação da coesividade na ATM I.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	1,182247	1,166208	1,205501	1,252785
	Desvio Padrão	0,034578	0,030787	0,051344	0,067889
1	Média	1,188959	1,177636	1,179097	1,231242
	Desvio Padrão	0,040223	0,022631	0,032674	0,075668
8	Média	1,214608	1,212626	1,23264	1,283814
	Desvio Padrão	0,060706	0,037881	0,040418	0,085501
30	Média	1,218232	1,319781	1,212498	1,200201
	Desvio Padrão	S/V	0,09828	S/V	S/V

Legenda: S/V – sem valor – cálculo impossível

- Na embalagem ATM II

Tabela 19c – Observações experimentais da determinação da coesividade na ATM II.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	1,20278	1,183479	1,199284	1,244416
	Desvio Padrão	0,038392	0,029793	0,058201	0,041364
1	Média	1,211746	1,194227	1,149193	1,213064
	Desvio Padrão	0,091841	0,056993	0,035468	0,038802
8	Média	1,553408	1,23878	1,219419	1,314192
	Desvio Padrão	0,715237	0,069647	S/V	0,107228
30	Média	1,276175	1,252352	1,314914	1,189534
	Desvio Padrão	0,053053	0,110342	0,047936	0,051555

Legenda: S/V – sem valor – cálculo impossível

Determinação da masticabilidade

- Na congelação

Tabela 20a – Observações experimentais da determinação da masticabilidade na congelação.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	11,26184	11,91957	11,82907	6,014288
	Desvio Padrão	1,731368	3,435947	1,319178	2,232999
8	Média	51,90142	45,97301	53,39567	39,99092
	Desvio Padrão	6,204503	8,990453	5,810145	10,79866
30	Média	54,75052	50,35508	45,0372	24,03414
	Desvio Padrão	4,584143	8,576028	7,910575	7,20553
90	Média	61,61166	64,45809	50,92046	30,84233
	Desvio Padrão	9,571176	14,0612	6,564349	14,02342

- Na embalagem ATM I

Tabela 20b – Observações experimentais da determinação da masticabilidade na ATM I.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	18,67074	14,02946	14,54925	5,597424
	Desvio Padrão	4,223675	3,346448	3,141001	2,402886
1	Média	36,66935	25,68035	24,7634	17,15807
	Desvio Padrão	4,365973	4,127909	3,878308	5,363146
8	Média	52,93471	50,01736	47,20063	39,70988
	Desvio Padrão	6,902693	9,844042	8,936903	14,65219
30	Média	50,94021	61,61243	53,15464	57,87609
	Desvio Padrão	S/V	8,437522	S/V	S/V

Legenda: S/V – sem valor – cálculo impossível

- Na embalagem ATM II

Tabela 20c – Observações experimentais da determinação da masticabilidade na ATM II.

Tempo	Resultados	Hidrocolóides			
		Xantana	Guar	X-CMC	Alfarroba
0	Média	19,53643	14,25606	17,26344	4,506332
	Desvio Padrão	7,138103	3,042141	8,807712	1,787497
1	Média	31,5015	31,66755	54,14424	16,38242
	Desvio Padrão	6,999663	4,80026	3,45224	4,885581
8	Média	48,34771	45,51735	62,58002	40,30973
	Desvio Padrão	8,861511	17,39811	S/V	15,37274
30	Média	59,38332	57,09751	58,19746	51,00916
	Desvio Padrão	5,734289	3,314639	10,95085	10,12701

Legenda: S/V – sem valor – cálculo impossível

Apêndice IID - Observação experimental da determinação da variação de peso

As observações experimentais obtidas na determinação da variação de peso obtidas encontram-se nas tabelas abaixo representadas:

a) Na congelação

Tabela 21a – Observações experimentais da determinação da variação de peso na congelação.

Goma	T0	T8	T30	T90	Perdas
Xantana	765,64	763,18			2,46
	763,01				0
	741,06		739,01		2,05
	723,23			721,55	1,68
Guar	764,59		755,56		9,03
	766,65				0
	758,64	749,95			8,69
	766,81			752,57	14,24
Xantana + CMC	762,5				0
	754,5	752,73			1,77
	753,46		751,27		2,19
	756,25			752,57	3,68
Alfarroba	723,44				0
	726,89		722,34		4,55
	732,65	731,25			1,4
	756,35			735,34	21,01

b) Na embalagem com ATM I

Tabela 21b – Observações experimentais da determinação da variação de peso no ATM I.

Goma	T0	T1	T8	T30	Perdas
Xantana	722,3				0
	709,75	685,86			23,89
	705,3			685,41	19,89
	725,37		702,93		22,44
Guar	749,03				0
	753,57		726,94		26,63
	752,03	716,57			35,46
	759,74			724,89	34,85
Xantana + CMC	753,41				0
	760,65	728,27			32,38
	757,94			717	40,94
	763,06		731,46		31,6

Alfarroba	682,53				0
	677,26	640,75			36,51
	688,83			652,06	36,77
	695,76		662,88		32,88

c) Na embalagem com ATM II

Tabela 21c – Observações experimentais da determinação da variação de peso no ATM II.

Goma	T0	T1	T8	T30	
Xantana	732,42				0
	736,27	717,82			18,45
	722,25		703,13		19,12
	711,49			689,39	22,1
Guar	714,23				0
	708,99	681,69			27,3
	718,28		691,16		27,12
	722,24			690,55	31,69
Xantana + CMC	694,7				0
	695,79	667,27			28,52
	687,42		659,3		28,12
	679,58			645,89	33,69
Alfarroba	701,67				0
	702,53	682,29			20,24
	699,02		674,95		24,07
	696,48			671,07	25,41

Apêndice IIE - Observação experimental da determinação da carga microbiana

As observações experimentais obtidas encontram-se nas tabelas abaixo representadas:

a) Na embalagem com ATM I

Tabela 22a – Observações experimentais da determinação da carga microbiana no ATM I.

Tempo	UFC/gproduto			
	Gomas			
	Xantana	Guar	Xantana-CMC	Alfarroba
T0	1,70E+03	1,60E+03	7,90E+01	9,40E+01
T8	2,20E+02	4,15E+03	1,40E+03	2,40E+03
T30	3,00E+03	3,00E+05	3,00E+05	1,40E+04

b) Na embalagem com ATM II

Tabela 22b – Observações experimentais da determinação da carga microbiana no ATM II.

	UFC/gproduto			
Tempo	Gomas			
	Xantana	Guar	Xantana-CMC	Alfarroba
T0	1,00E+02	2,00E+01	2,00E+01	1,00E+02
T1	8,00E+02	1,00E+02	8,00E+01	5,00E+02
T8	1,50E+03	3,40E+03	7,80E+02	1,90E+03
T30	1,50E+03	3,40E+03	1,70E+02	6,70E+02

Anexos

Procedimento de preparação do diluente e meio de cultura para a contagem de microrganismos a 30°C

Preparação do Diluente – Peptona Sal

A solução salina peptona é preparada da seguinte forma:

Pesa-se 1 g de peptona de caseína (Merck); 8,5g de Cloreto de sódio (Merck).

Colocam-se num frasco de 1000ml e adiciona-se 100ml de água destilada-

Homogeneíza-se agitando bem.

Distribuir por tubos de ensaio com 9ml cada e por frascos com 90ml ou 50ml.

Esterilizar em autoclave a 121°C durante 15min.

Preparação do meio de cultura – Plate Count Agar (PCA)

O meio de cultura é preparado da seguinte forma:

Pesa-se 17,5 g de meio de cultura desidratado (“Tryptone Glucose Yeast Agar” - Oxoid)

Colocam-se num frasco de 1000ml e adiciona-se 100ml de água destilada

Homogeneíza-se agitando bem.

Distribuir por frascos com 500ml

Esterilizar em autoclave a 121°C durante 15min.

O meio é de aplicação directa em estado líquido.