

**Desenvolvimento e Caracterização Físico-Química,
Microbiológica e Sensorial do Pão Transmontano com
azeitonas verdes descaroadas do tipo “alcaparras”**

Chalissa Pawlak

*Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de
Bragança para obtenção do grau de Mestre em Qualidade
e Segurança Alimentar*

Orientado por

**Prof. Doutora Elsa Cristina Dantas Ramalhosa
Prof. Doutora Cleonice Mendes Pereira Sarmento**

**Bragança
2015**

À minha família

A Deus, pela coragem, força e sabedoria.

O presente trabalho foi realizado em colaboração com o projeto: TRADEIT, o qual recebeu financiamento da União Europeia, através do 7º Programa Quadro, associado à investigação, desenvolvimento tecnológico e demonstração (Nº Ref. 613776)

TRADEIT

Agradecimentos

É com muita satisfação que expresso aqui todo o meu agradecimento aqueles que contribuíram para a realização deste trabalho.

Em primeiro lugar às minhas orientadoras de tese, Professora Doutora Elsa Ramalhosa e Professora Doutora Cleonice Mendes Sarmiento, pela confiança, dedicação, ajuda e orientação em todas as etapas do desenvolvimento deste trabalho.

À professora Doutora Ermelinda Pereira, por ter paciência ao me ajudar nas análises microbiológicas.

Aos laboratórios de Solos e de Agrobiotecnologia, pela disponibilidade e ajuda constantes na parte experimental deste trabalho.

Aos meus colegas de laboratório, pelo companheirismo e ajuda, os quais me motivaram dia-a-dia, só tenho a dizer: Um muito obrigada.

A todos os meus amigos e minha família UTFPR pelo apoio e incentivo incondicional, pelos momentos que passamos juntos, pois estes com certeza nos fizeram crescer. Por que ninguém cruza o nosso caminho por acaso.

Ao Rômulo Gomes, um agradecimento muito especial pelo apoio, paciência, pelas palavras de incentivo, pela transmissão de confiança e de força, porque mesmo com a distância, esteve comigo em todos os momentos difíceis, e não me deixou desistir em momento algum.

À minha família, um enorme obrigada, por acreditarem sempre em mim. E em especial à minha mãe, Nelvi Scheffler, que me deu força e que sem seus ensinamentos nunca conseguiria chegar até aqui.

“Lute com determinação, abrace a vida com paixão, perca com classe e vença com ousadia, porque o mundo pertence a quem se atreve...” (Augusto Branco)

ÍNDICE

Resumo	i
Abstract.....	iii
Índice de Figuras	v
Índice de Tabelas	vii
Capítulo I.....	1
Capítulo II.....	2
2.1 PÃO.....	5
2.1.1 Principais Ingredientes	6
2.1.1.1 Farinha de trigo.....	7
2.1.1.2 Farinha de centeio.....	8
2.1.1.3 Sal.....	9
2.1.1.4 Levedura/Fermento.....	10
2.1.2 Processo de fabrico	10
2.1.3 Composição nutricional de diferentes tipos de pão	11
2.2 OUTROS INGREDIENTES ADICIONADOS AO PÃO	12
2.2.1 Azeitonas e “Alcaparras”	12
2.2.2 Azeite	15
Capítulo III	17
3.1 MATÉRIAS-PRIMAS UTILIZADAS NO FABRICO DO PÃO.....	18
3.2 PARTE EXPERIMENTAL REALIZADA	18
3.2.1 Formulações Padrão seguidas no fabrico do pão com “alcaparras”	18
3.2.2 Análises Físicas	20
3.2.2.1 Determinação da cor.....	20
3.2.2.2 Dimensões	20
3.2.2.3 Determinação da perda de peso após cozimento (Baking loss).....	20

3.2.3 Análises Químicas	20
3.2.3.1 Determinação do pH do pão	21
3.2.3.2 Teor em Cinzas do Pão - método direto por incineração	21
3.2.3.3 Determinação do teor de proteínas total no pão	21
3.2.3.4 Determinação do teor de gordura no pão - método de hidrólise ácida...	22
3.2.3.5 Fibra dietética total no pão - método gravimétrico enzimático	22
3.2.3.6 Determinação do teor em sal no pão	24
3.2.4 Avaliação da Atividade Antioxidante	24
3.2.4.1 Preparação dos extratos em metanol	24
3.2.4.2 Determinação da Capacidade Redutora Total	25
3.2.4.3 Efeito Bloqueador dos Radicais Livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)	25
3.2.4.4 Poder Redutor	26
3.2.5 Análise Microbiológica	26
3.2.5.1 Preparação da suspensão-mãe e diluições decimais	26
3.2.5.1.1 Contagem de microrganismos a 30 °C	26
3.2.5.1.2 Contagem total de fungos	27
3.2.5.2 Análise da qualidade do ar	27
3.2.6 Avaliação Sensorial	27
3.2.7 Avaliação do azeite	29
3.2.7.1 Acidez	30
3.2.7.2 Índice de Peróxido	30
3.2.7.3 Espectrofotometria no Ultravioleta	30
3.2.7.4 Estabilidade Oxidativa	31
3.2.8 Análise Estatística	31
Capítulo IV	18
4.1 1º Ensaio	33

4.1.1 Análises Físicas	33
4.1.1.1 Dimensões	33
4.1.1.2 Determinação da Cor	34
4.1.1.3 Determinação da perda de peso após cozimento (Baking loss).....	36
4.1.2 Análises Químicas	37
4.1.3 Atividade Antioxidante	39
4.1.3.1 Capacidade redutora total	39
4.1.3.2 Efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH.....	40
4.1.3.3 Poder Redutor	40
4.1.4 Análise Microbiológica	42
4.2. 2º ENSAIO	45
4.2.1 Análises Físicas	45
4.2.1.1 Dimensões	45
4.2.1.2 Determinação da Cor	46
4.2.2 Análises Químicas	48
4.2.3 Atividade Antioxidante	50
4.2.3.1 Capacidade redutora total	50
4.2.3.2 Efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH.....	51
4.2.3.3. Poder Redutor	52
4.2.4 Análises Microbiológicas	54
4.2.5 Análise Sensorial	57
4.2.6 Análise do Azeite	60
Capítulo V	63
Capítulo VI.....	66

Resumo

Os produtos de panificação são fundamentais para a dieta no mundo inteiro, sendo os principais ingredientes a farinha, água potável e fermento ou levedura. O trigo é o cereal mais utilizado a nível mundial. Contudo, o centeio está cada vez mais sendo consumido, devido a ser uma fonte rica em fibras, o que traz vários benefícios para a saúde. Além disso, a produção de novos tipos de pão com outros ingredientes tem-se verificado, devido à procura crescente de novos produtos por parte do consumidor atual, mais atento e preocupado com a sua saúde.

Tendo em conta este facto, o principal objetivo do presente trabalho foi desenvolver e caracterizar em termos físico-químicos, microbiológicos, propriedades antioxidantes e sensoriais, um Pão Transmontano elaborado com azeitonas verdes descaroçadas do tipo “alcaparras”. Pretendeu-se seguir a receita tradicional do pão transmontano, associando-se desta forma três produtos muito apreciados nesta região, designadamente o pão, as “alcaparras” e o azeite.

De forma a atingir os objetivos acima mencionados foram realizados dois ensaios. Inicialmente só foi utilizada farinha de trigo e posteriormente adicionou-se farinha de centeio e azeite, tendo sido utilizadas diferentes percentagens de “alcaparras”. Em ambos os ensaios, os pães elaborados foram analisados em termos de cor, dimensões, pH, cinzas, gordura, proteína, fibras e teor de sal, bem como em termos microbiológicos (mesófilos, bolores e leveduras) e em relação às suas propriedades antioxidantes. Também foi realizada análise sensorial. Contudo, esta foi realizada apenas no segundo ensaio.

No primeiro ensaio prepararam-se pães com farinha de trigo com 0, 3, 5 e 7% (m/m) de “alcaparras”, os quais foram armazenados a 25 °C durante 4 dias, tendo sido analisados de dois em dois dias. Os pães com maiores percentagens de “alcaparras” apresentaram os menores valores de pH e os maiores valores de sal e cinzas. Tal como esperado, os pães com menores percentagens de “alcaparras” tiveram os menores valores de gordura. Pelas análises microbiológicas verificou-se que os maiores valores para mesófilos, bolores e leveduras foram obtidos no final do armazenamento, obtendo-se valores não satisfatórios ao quarto dia. Em relação à atividade antioxidante, verificou-se que os pães com maiores percentagens de “alcaparras” apresentaram maiores capacidade reductora total, efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH e poder reductor.

Posteriormente, no segundo ensaio prepararam-se pães com farinhas de trigo e centeio, e com 0, 7 e 14% (m/m) de “alcaparras” sem adição de azeite, e 0 e 7% (m/m) de “alcaparras” com adição de azeite, os quais foram posteriormente armazenados a 25 °C e analisados nos tempos de 0, 2 e 5 dias. Os pães com "alcaparras" voltaram a apresentar o menor valor de pH e os maiores teores de sal e cinzas. Em relação à gordura, menores conteúdos foram determinados nos pães sem azeite face aos com azeite, tendo a adição do azeite acarretado um aumento significativo de cerca de 4 vezes no teor de gordura. Verificou-se, tal como no primeiro ensaio, que os pães com maiores percentagens de “alcaparras” apresentaram uma maior atividade antioxidante. Como os resultados para os pães com 0 e 7% de “alcaparras” com e sem adição de azeite foram semelhantes, pôde-se constatar que a adição de azeite não afetou a capacidade redutora total e o efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH. No entanto, o azeite exerceu algum efeito inibitório no crescimento dos microrganismos. Mesmo assim, após cinco dias observou-se crescimento de bolores e leveduras. Em termos sensoriais, após confecção todos os pães apresentaram uma boa classificação em termos de apreciação global, tendo o pão com azeite e 7% (m/m) de “alcaparras” obtido a maior pontuação, em termos médios, tendo sido o preferido.

Em conclusão, o pão de trigo com “alcaparras” e o pão de centeio com "alcaparras" e azeite são um produto promissor para ser comercializado. No entanto, mais estudos são necessários para aumentar o seu tempo de prateleira.

Palavras-chave: “alcaparras”; pão; análises físico-químicas; atividade antioxidante; análises microbiológicas; análise sensorial.

Abstract

Bakery products are fundamental to the diet of worldwide, being the main ingredients flour, drinking water and ferment or yeast. Wheat is the cereal most used worldwide. However, rye is increasingly being consumed, due to being a rich source of fiber, which has several health benefits. In addition, the production of new types of bread with other ingredients have been found due to the increasing demand for new products by the current consumer more aware and concerned about his health.

Considering this fact, the main objective of this study was to develop and characterize in terms of physicochemical, microbiological, antioxidant and sensory properties, one Transmontano bread made with pitted green olives called "alcaparras". It was intended to follow the traditional recipe of Transmontano bread, associating three products highly appreciated in this region, namely bread, "alcaparras" and olive oil.

In order to achieve the above mentioned objectives two assays were conducted. Initially it was only used wheat flour and subsequently rye flour and olive oil were added, having been used different percentages of "alcaparras". In both trials, the prepared breads were analyzed in terms of color, size, pH, ash, fat, protein, fiber and salt, as well as in microbiological terms (mesophiles, yeasts and molds) and in relation to their antioxidant properties. Sensory analysis was also performed; however, this was only performed in the second assay.

In the first experiment breads were prepared with wheat flour and 0, 3, 5 and 7% (m/m) of "alcaparras", which were stored at 25 °C for 4 days, that were analyzed every two days. The breads with higher percentages of "alcaparras" had the lowest pH values and the highest values of salt and ashes. As expected, the bread with the lowest percentages of "alcaparras" had the lowest fat values. Taking into account the microbiological analyses it was found that the highest values for mesophiles, molds and yeasts were obtained at the end of storage, resulting in unsatisfactory values on the fourth day. In relation to the antioxidant activity, it was found that the breads with the highest percentages of "alcaparras" showed higher total reducing capacity, blocking effect of DPPH free radicals and reducing power.

Subsequently, in the second trial breads with wheat and rye flours, and with 0, 7 and 14% (m/m) of "alcaparras" without adding olive oil, and 0 to 7% (m/m) "alcaparras" with added olive oil, were prepared that were subsequently stored at 25 °C

and analyzed at 0, 2 and 5 days. The breads with "alcaparras" presented again the lowest pH values and the highest levels of salt and ashes. In relation to fat, lower contents were determined in the breads without olive oil in relation to breads with olive oil, having the addition of olive oil increased a significantly (approximately 4 times) the fat content. It was found, as in the first trial, that the breads with higher percentages of "alcaparras" showed higher antioxidant activity. As the results for the breads with 0 and 7% "alcaparras" with and without addition of olive oil were similar, it could be stated that the addition of olive oil did not affect the overall total reducing capacity and the blocking effect of DPPH free radicals, however, the olive oil exerted an inhibitory effect on the growth of microorganisms. Nevertheless, after five days it was observed growth of molds and yeasts. In sensory terms, after cooking, all breads had high rating in terms of overall assessment, having the bread with olive oil and 7% (m/m) of "alcaparras" the highest score, being the preferred.

In conclusion, wheat bread with "alcaparras" and rye bread with "alcaparras" and olive oil are a promising product to be marketed. However, more studies are needed to increase its shelf life.

KEYWORDS: "alcaparras"; bread; physical and chemical analysis; antioxidant activity; microbiological analysis; sensory analysis.

Índice de Figuras

Figura 1: Tipos de pão mais consumidos no Brasil. A) Pão de forma, e B) Pão francês.	5
Figura 2: Grão de trigo	8
Figura 3:Alcaparras.	14
Figura 4: Fluxograma do fabrico do pão com “alcaparras” seguido no presente trabalho.	19
Figura 5:Alguns passos efetuados ao longo do fabrico do pão com “alcaparras”	19
Figura 6: Ficha utilizada na avaliação sensorial dos pães.	29
Figura 7: Aspeto exterior de pães com diferentes percentagens de “alcaparras” (0 dias).	34
Figura 8: Capacidade redutora total dos pães de trigo produzidos no 1º Ensaio.....	39
Figura 9: Efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH (%) para a concentração de 4,17 mg de extrato/mL para os pães de trigo elaborados no 1º Ensaio.	40
Figura 10: Poder redutor do pão de trigo elaborados no 1º Ensaio. A) 0 dias; B) 2 dias.	41
Figura 11: Valores de EC ₅₀ (mg de extracto/mL) determinados no ensaio do poder reductor no pão de trigo com “alcaparras” elaborados no 1º Ensaio.	42
Figura 12: Pães de trigo e centeio com diferentes percentagens de “alcaparras” e com e sem azeite (0 dias).	46
Figura 13: Capacidade redutora total dos pães de centeio+trigo com e sem azeite elaborados no 2º Ensaio.....	51
Figura 14: Efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH para uma solução de extrato com uma concentração de 4,17 mg de extrato/mL para os pães de centeio+trigo elaborados no 2º Ensaio.....	52
Figura 15: Poder redutor dos pães de centeio+trigo elaborados no 2º Ensaio. A) 0 dias; B) 2 dias.....	53
Figura 16: Valores de EC ₅₀ determinados no ensaio do poder reductor nos pães de centeio+trigo com “alcaparras” elaborados no 2º Ensaio.....	54
Figura 17: Aspeto exterior dos pães ao quinto dia após confeção.....	55
Figura 18: Histograma de frequência das idades dos provadores.	57
Figura 19: Resultados da análise sensorial dos pães elaborados no 2º Ensaio.....	58
Figura 20: Aparência do miolo em relação à presença das alcaparras.	60

Índice de Tabelas

Tabela 1: Composição nutricional e valor energético de diversos tipos de farinha.	7
Tabela 2: Composição média dos diferentes tipos de pão (por 100 g de parte edível). .	12
Tabela 3: Composição nutricional média da azeitona.	13
Tabela 4: Características dos azeites.	16
Tabela 5: Valores do diâmetro e altura dos pães elaborados no 1º Ensaio.....	33
Tabela 6: Resultados da análise de cor da côdea das amostras de pão elaborado no 1º Ensaio.	35
Tabela 7: Resultados da análise de cor ao fundo das amostras de pão elaborado no 1º Ensaio.	36
Tabela 8: Resultados da análise de cor ao miolo das amostras de pão elaborado no 1º Ensaio.	36
Tabela 9: Resultados na análise do Baking loss (%).	37
Tabela 10: Resultados da análise química das amostras do pão elaborados no 1º Ensaio.	37
Tabela 11: Evolução das contagens de microrganismos totais a 30 °C (UFC/g) no 1º Ensaio.	44
Tabela 12: Evolução das contagens de Bolores e Leveduras (UFC/g) no 1º Ensaio.	44
Tabela 13: Resultados da análise de diâmetro e altura das amostras do pão elaborados no 2º Ensaio.....	45
Tabela 14: Resultados da análise de cor da côdea das amostras do pão elaboradas no 2º Ensaio.	47
Tabela 15: Resultados da análise da cor do fundo das amostras do pão elaboradas no 2º Ensaio.	47
Tabela 16: Resultados da análise da cor do miolo das amostras do pão elaborados no 2º Ensaio.	48
Tabela 17: Resultados da análise química das amostras do pão elaboradas no 2º Ensaio.	49
Tabela 18: Evolução das contagens de microrganismos totais a 30 °C (UFC/g) no 2º Ensaio.	56
Tabela 19: Evolução das contagens de Bolores e Leveduras (UFC/g) no 2º Ensaio.	56
Tabela 20: Resultados da análise sensorial das amostras de pão elaborados no 2º Ensaio.	59

Tabela 21: Valores médios dos parâmetros de qualidade [acidez (% ácido oleico); índice de peróxido (m Eq.O ₂ /Kg); K232; K270 e ΔK].	61
---	----

Capítulo I

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS DO TRABALHO

O pão tem um papel importante na dieta humana. A maioria dos pães é elaborada com farinha de trigo, sendo o pão considerado uma boa fonte de energia e nutrientes. Porém, nos dias de hoje, o consumo de pães integrais está a aumentar, devido ao facto dos consumidores procurarem alimentos mais saudáveis. A farinha de centeio tem várias propriedades benéficas à saúde, como ser uma fonte de compostos bioativos e fibras (CYRAN & CEGLINSKA, 2011). Vários estudos estão sendo realizados para a incorporação de diferentes tipos de farinhas no fabrico dos pães, tendo surgido no mercado uma grande quantidade de novos produtos com a finalidade de melhorar as propriedades nutricionais dos alimentos.

Em termos gerais, os principais ingredientes do pão são a farinha, a água, o sal e o fermento, dos quais a farinha é o ingrediente fundamental para obtenção do pão. As etapas fundamentais na sua produção são a mistura dos ingredientes, amassadura, divisão, descanso, fermentação e por fim o cozimento. Cada uma dessas etapas deve ser elaborada e controlada, para obter as características desejáveis. Existem diversos tipos de pães, tais como pão artesanal, pão biológico, pão tradicional, pão ralado, entre outros (Portaria n° 52/2015).

Em relação às “alcaparras”, estas são um tipo de azeitona de mesa produzidas de forma tradicional, na região de Trás-os-Montes. Essas azeitonas são colhidas verdes e partidas ao meio para permitir a separação do caroço da polpa da azeitona. A polpa da azeitona é colocada em água, a qual é trocada diariamente até que as azeitonas percam o seu amargor. Após esse processamento são adicionados sal e temperos a gosto. As “alcaparras” tem uma série de benefícios, e uma forma de intensificar seu consumo é adicioná-la a outros produtos, como o pão transmontano, dois produtos típicos da região de Trás-os-Montes.

Em vista do exposto, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de desenvolver e caracterizar físico-química, microbiológica e sensorialmente o Pão Transmontano com azeitonas verdes descaroçadas do tipo “alcaparras”.

Assim, o presente trabalho teve como objetivos específicos:

- Elaborar pão transmontano (com farinha de trigo) e pão de centeio com diferentes percentagens de azeitonas verdes descaroçadas do tipo “alcaparras”;
- Elaborar pão de centeio com azeite e diferentes percentagens de azeitonas verdes descaroçadas do tipo “alcaparras”;

- Caracterizar os pães produzidos em termos físico-químicos, em relação ao tamanho e forma, cor exterior e interior, pH, teor de humidade, teor de matéria seca, teor de cinzas, teor de proteínas, teor de gordura total, teor de fibras e teor em sal;
- Avaliar a atividade antioxidante dos pães elaborados, em termos de Capacidade Redutora Total, Efeito Bloqueador de Radicais Livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) e Poder Redutor;
- Caracterizar os pães produzidos em termos microbiológicos e sensoriais;
- Avaliar o tempo de prateleira (data de durabilidade mínima).

Capítulo II

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 PÃO

O pão é fundamental para a dieta no mundo inteiro. O consumo recomendado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) é de 60 kg de pão por ano por pessoa. O consumo no Brasil é de 34 kg/ano, aumentando esse valor para 75 kg/ano em Portugal. Segundo a Associação Brasileira das Indústrias de Biscoitos, Massas Alimentícias e Pães & Bolos Industrializadas (ABIMAPI), no passado, o pão de forma (Figura 1A) era o mais consumido no Brasil, devido a ser mais prático o seu uso e consumo, e ao seu maior tempo de prateleira em relação ao pão convencional. Porém, atualmente, o pão francês (Figura 1B), é o preferido, devido aos hábitos do consumo da população.

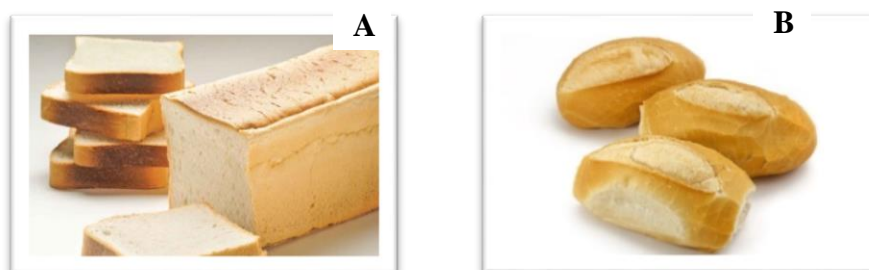


Figura 1: Tipos de pão mais consumidos no Brasil. A) Pão de forma, e B) Pão francês.

(Fonte: http://www.germoagem.pt/pt/produtos.22/unipan.29/pao_de_forma.a41.html; B) <http://www.oaltoacre.com/preco-do-pao-frances-pode-ficar-mais-carro-ate-o-final-do-mes-no-ac/>)

Segundo a Portaria Portuguesa n° 52/2015 de 26 de fevereiro, a qual descreve as características a que devem obedecer os diferentes tipos de pão e de produtos afins do pão ou de padaria fina, e regula aspetos da sua comercialização, “pão” é o “*produto obtido da amassadura, fermentação e cozedura, em condições adequadas, das farinhas de trigo, centeio, triticale ou milho, estremes ou em mistura, de acordo com os tipos legalmente estabelecidos, água potável e fermento ou levedura sendo possível a utilização de sal e de outros ingredientes, incluindo aditivos, bem como auxiliares tecnológicos*”.

Os seguintes tipos de pão podem ser produzidos (Portaria n° 52/2015):

- Pão fresco: o pão que, pela sua natureza, é consumido num prazo inferior a vinte e quatro horas a seguir de sua conclusão do processo de fabrico, não sendo exigida a indicação da data de durabilidade mínima, o qual é fabricado em processo contínuo, desde a utilização das suas matérias-primas até à cozedura final, sem qualquer interrupção para a sua conservação e produzido

através da cozedura de uma massa que não foi submetida a congelação, congelação rápida ou a qualquer processo que tenha em vista a sua conservação por um período longo e que interrompa o processo de fabrico do pão;

- Pão de longa duração: todo o tipo de pão que não se enquadra na definição referida anteriormente;
- Pão tradicional: o pão cujos ingredientes, processos de fabrico e receita se mantêm comprovadamente inalterados há, pelo menos, 30 anos;
- Pão artesanal: o pão obtido segundo a atividade artesanal regulamentada pelo Decreto Lei n.º 41/2001 de 9 de fevereiro, o qual diz que a atividade artesanal é uma atividade económica, de reconhecido valor cultural e social, que assenta na produção, restauro ou reparação de bens de valor artístico ou utilitário, de raiz tradicional ou contemporânea, e na prestação de serviços de igual natureza, bem como na produção e confeção tradicionais de bens alimentares.
- Pão biológico: qualquer tipo de pão cujos ingredientes tenham sido obtidos segundo o modo de produção biológica de acordo com as regras estabelecidas no Regulamento (CE) n.º 834/2007 do Conselho, de 28 de junho de 2007, relativo à produção biológica e à rotulagem dos produtos biológicos, em todas as fases da produção, preparação e distribuição;
- Pão ralado: o produto resultante da trituração industrial do pão, sendo expressamente proibido o seu fabrico com sobras de pão provenientes de estabelecimentos de consumo;
- Produtos afins do pão ou de padaria fina: os produtos obtidos a partir de massas levedadas e ou sovadas, do tipo panar, que não se confundem com o pão, nos quais ainda é possível a utilização de ingredientes, incluindo aditivos, bem como auxiliares tecnológicos nas condições legalmente fixadas.

2.1.1 Principais Ingredientes

Tal como indicado anteriormente, os principais ingredientes do pão são: farinhas de trigo, centeio e milho, puras ou em mistura, de acordo com os tipos legalmente estabelecidos, água potável, fermento ou levedura. Conforme mostrado na Tabela 1, os diversos tipos de farinha possuem características nutricionais diferentes. Dentro do mesmo cereal, a referência a diferentes tipos de farinha se refere a moagens

distintas, correspondendo os menores valores (exemplo, Tipo 55 para a farinha de trigo) a farinhas mais finas e, portanto, mais refinadas.

Tabela 1: Composição nutricional e valor energético de diversos tipos de farinha.

Componentes	Farinha de trigo tipo 150	Farinha de trigo tipo 55	Farinha de centeio tipo 70	Farinha de centeio tipo 85	Farinha de milho tipo 70
Energia, kcal	353	347	360	361	364
Água, g	10,7	13,4	12,5	11,7	13,0
Proteína, g	9,1	7,8	6,6	9,0	8,3
Gordura total, g	1,8	1,1	1,1	1,3	2,2
Amido, g	70,4	72,8	78,5	76,0	75,3
Fibra alimentar, g	3,7	2,9	7,0	11,7	2,6
Cinza, g	1,60	0,50	0,70	1,10	0,5
Sódio (Na), mg	3,0	3,0	1,0	1,0	1,0
Potássio (K), mg	156	132	244	410	119
Cálcio (Ca), mg	29	26	23	36	8,0
Fósforo (P), mg	104	137	108	191	100
Magnésio (Mg), mg	21	36	49	92	46
Ferro (Fe), mg	1,1	1,2	1,6	1,9	0,8
Zinco (Zn), mg	0,6	0,9	1,6	3,0	1,0

Fonte: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (2010).

A farinha de centeio destaca-se das restantes pelo seu elevado teor em fibras (aproximadamente o dobro) face às restantes e maiores concentrações de potássio e magnésio. Também a farinha de centeio apresenta um menor valor de sódio face à farinha de trigo.

2.1.1.1 Farinha de trigo

O trigo é o cereal mais importante na área da panificação. Contudo, outros cereais também são utilizados por esta indústria, mas em menor quantidade (GOESAERT et al., 2005). O Trigo (*Triticum aestivum*) é um dos principais produtos agrícolas mundiais, tendo apresentado uma produção mundial total de aproximadamente 716 milhões de toneladas em 2013 (FAO, 2015). O trigo é de longe

a cultura mais importante para a produção de pão por causa do seu melhor desempenho na cozedura quando comparado com outros cereais (DZIKI et al., 2014) .

O grão de trigo é composto por três partes, o endosperma, germe e o farelo, tal como mostrado na Figura 2. O endosperma é composto principalmente por amido e proteínas, o germe por lípidos e proteínas, e o farelo por fibra dietética. Estes três componentes são separados durante o processo de refinação (LIU et al., 2015).

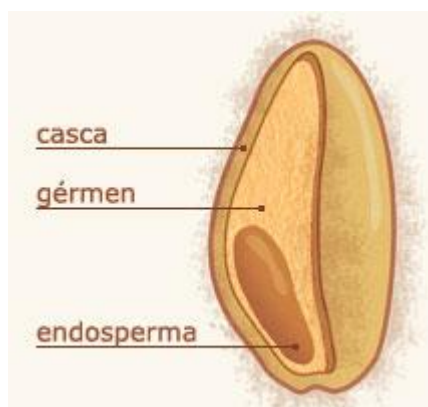


Figura 2: Grão de trigo

Fonte: <http://www.trigoesaude.com.br/trigo/caracteristicas-trigo.shtml>. (2012)

A farinha de trigo consiste principalmente em amido (aprox. 70-75%), água (aprox. 14%) e proteínas (aprox. 10-12%). Alguns constituintes da farinha, como os polissacarídeos não amiláceos (aprox. 2-3%) e os lípidos (aprox. 2%), têm um papel menos relevante na produção e qualidade do pão (GOESAERT et al., 2005). Apesar de ser uma boa fonte de calorias e outros nutrientes, o trigo é considerado nutricionalmente pobre, uma vez que as suas proteínas são deficientes em aminoácidos essenciais, tais como a lisina e treonina (HEENAN et al., 2008). Além disso, o pão feito com farinha de trigo é um alimento que apresenta uma baixa capacidade antioxidante (GUNENC et al., 2013).

2.1.1.2 Farinha de centeio

Atualmente, os consumidores têm como prioridade o aspecto saudável dos alimentos, bem como a sua qualidade nutricional e sensorial. De acordo com a FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*) a produção de centeio é de aproximadamente 16,6 milhões de toneladas em todo o mundo, representando a Europa 89,5% dessa produção. Nutricionistas recomendam o consumo de produtos à base de cereais, devido aos seus benefícios para a saúde, tais como a melhoria na

regulação dos níveis de glicose no sangue e controle de peso, diminuindo o risco de doenças cardiovasculares e certos tipos de cancro (LIUKKONEN et al., 2003).

Em comparação com o trigo, o centeio é uma fonte muito mais rica em fibras. Ao contrário do endosperma da farinha de trigo, a farinha de centeio normalmente retém a maioria dos seus nutrientes, uma vez que na moagem, a separação do germe e farelo do endosperma é muito difícil (CYRAN & CEGLINSKA, 2011).

O centeio (*Secale cereale* L.) é o segundo cereal mais consumido na Europa. Dados publicados recentemente indicam que o centeio e produtos à base de centeio (incluindo pães) são uma boa fonte de compostos fenólicos, os quais possuem propriedades antioxidantes (MICHALSKA et al., 2007). Produtos à base de centeio também são uma excelente fonte de fibra dietética, incluindo β -glucanas. Além disso, o centeio contém a maior quantidade de pentosanas entre os cereais, as quais aumentam o tempo dos nutrientes no estômago, proporcionando uma melhor digestão dos mesmos (HORSZWALD et al., 2009).

As proteínas do centeio afetam as propriedades físico-químicas e sensoriais de vários alimentos (MICHALSKA et al., 2007). O sabor dos produtos à base de centeio também depende das alterações que ocorrem durante o processamento, ou seja, as diferentes frações de moagem de centeio originam percepções sensoriais diferentes, que podem ser dependentes do conteúdo de compostos fenólicos (HEINIÖ et al., 2008). De facto, a camada exterior do grão de centeio é a que tem o sabor mais forte, influenciando na transformação do grão de centeio em farinha (HEINIÖ et al., 2003). Contudo, a moagem e o fracionamento dos grãos também podem alterar as concentrações de compostos bioativos na farinha (LIUKKONEN et al., 2003).

2.1.1.3 Sal

O sal de cozinha (cloreto de sódio) é utilizado na panificação devido a várias funções sensoriais e tecnológicas. Para além do sabor salgado que proporciona aos alimentos, o sal inibe o crescimento de leveduras e, assim, serve para controlar a taxa de fermentação e reduzir a atividade da água do produto. Desse modo, prolonga o tempo de prateleira devido à inibição microbiana. O sal também melhora a textura do pão, pois facilita a formação de uma rede de glúten durante a mistura da massa (PFLAUM et al., 2013). O teor de sal recomendado pela OMS é de 5 g de sal/dia. No entanto, níveis de sódio elevados na dieta são a principal causa de hipertensão de entre outras doenças (DOYLE & GLASS, 2010).

Segundo a Lei n° 75/2009 de 12 de agosto, o teor máximo permitido para o sal no pão, após confeccionado, é de 1,4 g por 100 g de pão (ou seja, 14 g de sal por quilograma de pão ou o correspondente a 0,55 g de sódio por 100 g de pão).

2.1.1.4 Levedura/Fermento

A levedura/fermento mais utilizada é o fermento de padeiro, correspondendo à levedura *Saccharomyces cerevisiae*. A levedura é utilizada com o objetivo da geração de dióxido de carbono (CO₂) na fermentação, sendo também responsável pelo sabor do pão e por afetar a reologia da massa (REZAEI et al., 2014). Contudo, algumas padarias usam a “massa-mãe”, “massa velha”, “isco” ou “*massa madre*” (em Castelhana) como fonte de leveduras, correspondendo a uma massa anteriormente preparada ou a resultante da mistura de farinha de trigo com água à qual foi ou não adicionado fermento.

2.1.2 Processo de fabrico

Os ingredientes anteriormente referidos são misturados até obter uma massa viscoelástica, que posteriormente passa pelo processo de fermentação e cozedura. Durante todas as etapas da panificação ocorrem transformações bioquímicas e físicas (GOESAERT et al., 2005).

Durante a mistura da massa do pão de trigo, as proteínas do glúten (albuminas, globulinas, gliadina e glutenina) formam uma rede na qual o dióxido de carbono gerado pela fermentação das leveduras é mantido, conduzindo à expansão posterior da massa durante a fermentação e a cozedura (GOESAERT et al., 2005). Refira-se que o pão de centeio é geralmente produzido com farinha do grão inteiro. Ao contrário das proteínas da farinha de trigo que formam a referida rede contínua, as proteínas do centeio não formam essa rede, resultando numa menor retenção de gases. Por essa razão, o pão de centeio possui uma estrutura mais compacta em comparação com o pão de trigo, devido ao menor número de poros e maior número de grandes partículas (PENTIKÄINEN et al., 2014).

Durante o processo de cozedura do pão, um conjunto complexo de reações químicas acontece. A inativação das leveduras ocorre entre os 45-50 °C e das enzimas entre os 60-80 °C (DZIKI et al., 2014). Nas temperaturas entre os 50-65 °C ocorre a gelatinização do amido, a 60-70 °C a desnaturação das proteínas, e a partir dos 230-

250 °C ocorrem as reações de Maillard (DZIKI et al., 2014). Estas desempenham um papel essencial na determinação dos atributos de qualidade do pão, como as características sensoriais, seu valor nutricional e atividade antioxidante (DZIKI et al., 2014).

Embora alguns compostos sejam destruídos durante o processamento dos alimentos, outros novos compostos podem ser introduzidos. As reações enzimáticas e a fermentação podem influenciar o sabor do miolo do pão, enquanto as reações causadas pelo calor afetam principalmente o sabor da crosta do pão (PENG et al., 2010).

A espessura da crosta do pão é um aspeto importante na qualidade do mesmo. A cor desta região do pão é diferente e distinta da de outras partes, ou seja, ela difere da do miolo devido às reações de escurecimento que ocorrem na sua superfície. Assim que o produto é colocado no forno, a água começa a evaporar na região mais quente, começando as camadas superficiais a secar. Abaixo desta região de secagem, o vapor de água se difunde através dos poros interligados na direção da superfície. A transferência de vapor do núcleo para a superfície é contínua. À medida que o fluxo de água no estado líquido a partir do núcleo é menor do que o fluxo de evaporação à superfície, desenvolve-se uma zona de secagem, a qual aumenta lentamente em espessura, formando-se a crosta (POUR-DAMANAB et al., 2012).

2.1.3 Composição nutricional de diferentes tipos de pão

Segundo o Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, a composição dos diferentes tipos de pães consumidos em Portugal está descrita na Tabela 2.

O teor de açúcares totais, expresso em sacarose e expresso em matéria seca, do pão não pode exceder 3%, segundo a Portaria n.º 52/2015 e o teor máximo permitido para o sal no pão, após confeccionado, é de 1,4 g por 100 g de pão, tal como referido anteriormente.

Tal como observado nas farinhas, o pão de centeio destaca-se por apresentar teores de fibra, potássio e magnésio superiores ao pão de trigo. Pelo contrário, o pão de centeio apresenta um menor teor de gordura total, bem como de sódio.

Tabela 2: Composição média dos diferentes tipos de pão (por 100 g de parte edível).

Componentes	Pão de trigo	Pão de centeio
Energia, kcal	289	263
Água, g	26,2	29,4
Proteína, g	8,4	5,9
Gordura total, g	2,2	0,8
Amido, g	55,2	54,2
Cinza, g	2,09	1,90
Sódio (Na), mg	610	517
Potássio (K), mg	121	248
Cálcio (Ca), mg	43	56
Fósforo (P), mg	162	103
Magnésio (Mg), mg	31	62
Ferro (Fe), mg	2,2	1,2
Zinco (Zn), mg	1,0	1,3
Fibra alimentar, g	3,8	5,8

Fonte: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (2010).

2.2 OUTROS INGREDIENTES ADICIONADOS AO PÃO

Inúmeros ingredientes podem ser adicionados ao pão, tais como, enchidos, uvas passas e chocolate, entre outros. Como no futuro se pretende adicionar “alcaparras” e azeite, nesta secção serão abordados estes produtos.

2.2.1 Azeitonas e “Alcaparras”

A azeitona é um fruto proveniente da oliveira que pertence à família *Oleaceae*, espécie *Olea europaea* L.. A oliveira é uma árvore de pequeno porte, nativa de regiões tropicais e temperadas, e tem grande importância comercial na região do Mediterrâneo (BOSKOU, 2006).

Botanicamente, a azeitona, fruto da oliveira, é constituída por três partes, epicarpo ou pele, mesocarpo ou polpa, e endocarpo ou caroço. Possui aproximadamente 2 a 3 cm de largura e comprimento. Apresenta algumas diferenças morfológicas e fisiológicas que a distingue de outras drupas (um tipo de fruto carnoso, com apenas uma semente), como um elevado teor de gordura (12-30%). Contudo, essas características dependem da época do ano e variedade da azeitona (COI, 2015). Na Tabela 3 está indicada a composição nutricional média da azeitona.

Tabela 3: Composição nutricional média da azeitona.

Parâmetro	Valor (%)
Água	71,9
Proteínas	1,4
Gordura total	18,5
Hidratos de carbono	0,0
Cinzas	5,10
Fibra Alimentar	4,0

Fonte: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (2010).

Os frutos maiores (mais de 4 g) são usados para produzir azeitonas de mesa. No caso da produção de azeitona de mesa, além do tamanho do fruto, várias outras propriedades são levadas em conta, como a forma, cor e textura, assumindo estas também fundamental importância (GHANBARI et al., 2012).

Para as azeitonas se tornarem edíveis é necessário que ocorra um conjunto de alterações físico-químicas que tem como objetivo a remoção, pelo menos parcial, do amargor natural da fruta, pois raramente são usadas e/ou consumidas na sua forma natural (PARINOS et al., 2007). O sabor é devido a oleuropeína, um composto polifenólico existente apenas no fruto da oliveira, que não faz mal à saúde, diferindo consideravelmente de região para região e dependendo também da variedade. No entanto, algumas azeitonas à medida que amadurecem tornam-se mais doces, ainda na árvore. Na maioria dos casos isso se deve à ocorrência de uma fermentação, sendo um exemplo disso a variedade Thrubolea na Grécia. Vários métodos são usados para retirar o amargor da fruta, sendo o uso de hidróxido de sódio ou de potássio bastante comum, seguido de salmoura e lavagem em água (COI, 2015).

A produção de azeitonas de mesa em Portugal, em 2013, foi de aproximadamente 8.789 hectares, correspondendo a 17.532 toneladas, tendo sido observado um aumento de 46,4% em relação ao ano anterior (INE, 2013).

No Nordeste de Portugal produz-se um tipo particular de azeitonas, designadas por “alcaparras” (Figura 3). Estas correspondem a azeitonas cortadas ao meio, sendo em grande parte produzidas por produtores locais, comercializadas no mercado local e aromatizadas com especiarias como ervas, cebola, alho, vinagre e azeite.



Figura 3:Alcaparras.
Fonte: Arquivo pessoal.

As "alcaparras" são processadas a partir de azeitonas saudáveis verdes ou verde-amarelo, que são quebradas usando um martelo de madeira, sendo a polpa e o caroço separados. A polpa é cortada em duas partes aproximadamente iguais, perpendicularmente ao eixo maior do fruto, e colocada em água, a qual é mudada de três ou quatro vezes durante uma semana. Este tratamento remove a amargura das azeitonas podendo assim serem consumidas (SOUSA et al., 2008).

A composição química das "alcaparras" em percentagem por 100 g de peso fresco é a seguinte: humidade (72,5); proteínas (1,1); minerais (3,4); hidratos de carbono (4,6); fibras (2,7); gordura (14,6); ácidos gordos saturados (SFA) (2,1); ácidos gordos monoinsaturados (MUFA) (10,0); ácidos gordos poliinsaturados (PUFA) (0,5); PUFA:SFA (0,3); (MUFA+PUFA):SFA (5,0); vitamina E (1,2) e polifenóis (1,3) (SOUSA et al., 2011). Desta destaca-se o teor elevado de ácidos gordos monoinsaturados, resultado da presença do ácido oleico (C18:1), benéficos para a saúde humana. Além destas propriedades, verificou-se um aumento no interesse dos produtos da oliveira devido às suas propriedades antimicrobianas e antioxidantes. As "alcaparras" são uma boa fonte de compostos fenólicos, ou seja, podem ser úteis na prevenção de doenças em que os radicais livres estão envolvidos (SOUSA et al., 2008). No entanto, a composição fenólica varia de acordo com vários fatores como o método de processamento, a cultivar e o grau de maturação (SOUSA et al., 2008).

Na região de Trás-os-Montes (Nordeste de Portugal) são utilizadas principalmente cinco cultivares diferentes para a produção de "alcaparras", designadamente, Cobrançosa, Madural, Negrinha de Freixo, Santulhana e Verdeal

Transmontana. Em relação à atividade antioxidante e composição fenólica, as cultivares Cobrançosa e Santulhana foram as que apresentaram os melhores resultados. Portanto, verifica-se que a cultivar utilizada é importante para definir a composição final do produto obtido em termos de compostos fenólicos e atividade antioxidante (MALHEIRO et al., 2011).

2.2.2 Azeite

De acordo com o Conselho Oleícola Internacional (COI, 2015), nos anos de 2014/2015, foram produzidas cerca de 2.390.500 toneladas de azeite. A Espanha é o maior produtor de azeite do mundo com uma produção de aproximadamente 837.600 toneladas. Portugal é o quarto maior produtor de azeite, totalizando 61,0 toneladas.

Os azeites virgens são obtidos a partir do fruto da oliveira (*Olea europaea* L.) unicamente por processos mecânicos ou físicos, onde proíbem-se a utilização de solventes, e que não tenham sofrido qualquer tratamento além da lavagem, decantação, centrifugação e filtração (SANTOS, et al., 2013).

O azeite é composto principalmente por uma fração saponificável (98,5-99,5%), sendo esta formada maioritariamente por uma matriz de lípidos, designadamente triglicéridos. A composição de ácidos gordos é caracterizada predominantemente pelo ácido oleico (C18:1), possuindo, contudo, outros compostos em menores quantidades, tais como, ceras, carotenóides e tocoferóis.

As variedades Cobrançosa, Verdeal Transmontana e Madural são responsáveis por mais de 90% da área de olival em Trás-os-Montes, Portugal, e responsáveis maioritariamente pela DOP (Denominação de Origem Protegida) “Azeite de Trás-os-Montes” (MATOS et al., 2007).

Ao azeite tem sido atribuído propriedades para o tratamento de certas doenças, resultado da sua composição em ácidos gordos e à presença de certos constituintes, principalmente compostos fenólicos, tocoferóis e esqualeno. Contudo, o processo de oxidação pode reduzir o conteúdo dos seus componentes antioxidantes, diminuindo a estabilidade e as características nutricionais do azeite (SILVA et al., 2015).

De acordo com o Regulamento Delegado (UE) N.º 1830/2015 de 8 julho de 2015, relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise a utilizar nas determinações, as características das diferentes categorias de azeite encontram-se descritas na Tabela 4.

Tabela 4: Características dos azeites.

Categoria	Acidez (%)	Índice de Peróxidos (mEq O₂/Kg)	K₂₃₂	K₂₆₈ ou K₂₇₀	ΔK
Azeite virgem extra	≤ 0,8	≤ 20	≤ 2,50	≤ 0,22	≤ 0,01
Azeite virgem	≤ 2,0	≤ 20	≤ 2,60	≤ 0,25	≤ 0,01
Azeite lampante	> 2,0	-	-	-	-
Azeite refinado	≤ 0,3	≤ 5	-	≤ 1,10	≤ 0,16
Azeite	≤ 1,0	≤ 1,5	-	≤ 0,90	≤ 0,15

Capítulo III

MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento do pão transmontano com “alcaparras” foi seguida uma formulação industrial utilizada no fabrico do pão transmontano da empresa M. Ferreira e Filhas Lda., que comercializa sob a marca “Pão de Gimonde”. À formulação tradicional do pão transmontano seguida por esta empresa há vários anos e sujeita a segredo industrial, foram adicionadas azeitonas verdes descaroadas ou conhecidas na região de Trás-os-Montes pelo nome de “alcaparras”. A elaboração de todo o pão analisado no presente trabalho foi realizada nas dependências da empresa M. Ferreira e Filhas Lda., localizada no Nordeste Transmontano, em Gimonde, Portugal.

3.1 MATÉRIAS-PRIMAS UTILIZADAS NO FABRICO DO PÃO

Os ingredientes utilizados no fabrico do pão foram: farinha de centeio, farinha de trigo, água (gelada e morna), sal, leveduras, azeite e “alcaparras”. Os ingredientes foram fornecidos pela empresa M. Ferreira e Filhas Lda., exceto as “alcaparras”, as quais foram adquiridas à empresa “Gralho - Azeitonas e Alcaparras”, localizada em Vale de Gouvinhas, Mirandela, Portugal.

3.2 PARTE EXPERIMENTAL REALIZADA

3.2.1 Formulações Padrão seguidas no fabrico do pão com “alcaparras”

Inicialmente foi realizado um primeiro ensaio onde se produziu pão transmontano com 0, 3, 5 e 7% (m/m) de “alcaparras”, utilizando unicamente farinha de trigo na sua formulação. Decidiu-se posteriormente realizar um segundo ensaio no qual fosse utilizada farinha de centeio e azeite, tendo em conta as propriedades nutricionais dessa farinha e do facto do azeite ser um produto bastante apreciado na região de Trás-os-Montes. Assim, neste segundo ensaio adicionou-se azeite e farinha de centeio à mistura, tendo também sido utilizada uma maior percentagem de “alcaparras”, relativamente ao primeiro ensaio. Desse modo, nesse segundo ensaio foram elaborados pães com farinhas de trigo e centeio com 0, 7 e 14% (m/m) de “alcaparras”, e pães com 0 e 7% (m/m) de “alcaparras” e azeite.

Na Figura 4 está representado o fluxograma seguido no fabrico dos pães mencionados anteriormente e na Figura 5 apresentam-se algumas fotografias tiradas ao longo do processo de fabrico.

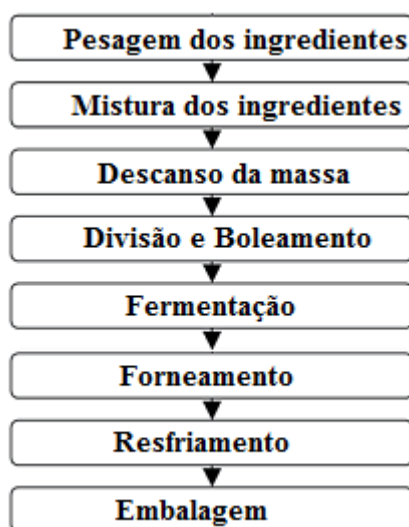


Figura 4: Fluxograma do fabrico do pão com "alcaparras" seguido no presente trabalho.



Figura 5: Alguns passos efetuados ao longo do fabrico do pão com "alcaparras".

Assim, foram testadas as seguintes formulações:

1° Ensaio

- 0% (m/m) de "alcaparras" e farinha de trigo
- 3% (m/m) de "alcaparras" e farinha de trigo
- 5% (m/m) de "alcaparras" e farinha de trigo
- 7% (m/m) de "alcaparras" e farinha de trigo

2° Ensaio

- 0% (m/m) de "alcaparras" e farinhas de trigo e centeio
- 7% (m/m) de "alcaparras" e farinhas de trigo e centeio
- 14% (m/m) de "alcaparras" e farinhas de trigo e centeio
- 0% (m/m) de "alcaparras", farinhas de trigo e centeio, e azeite
- 7% (m/m) de "alcaparras", farinhas de trigo e centeio, e azeite

3.2.2 Análises Físicas

3.2.2.1 Determinação da cor

A determinação da cor foi realizada com o colorímetro da marca Konica Minolta, modelo Chroma meter CR-400, tendo sido determinados os parâmetros de cor CIELab, designadamente o L^* , a^* e b^* , usando o software Spectra Magic Nx (versão CM-S100W 2.03.0006, Konica Minolta Company, Osaka, Japão). O L^* é uma medida aproximada da luminosidade que varia entre preto e branco, estando os valores num intervalo de 0-100, respetivamente. A coordenada a^* apresenta valores positivos para a cor vermelha e valores negativos para a cor verde, enquanto a coordenada b^* apresenta valores positivos para a cor amarela e valores negativos para a cor azul (ALVARENGA, 2000; DELGADO et al., 2015). Os parâmetros C^* (croma ou saturação) e h^* (tonalidade) também foram calculados através das seguintes equações:

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}}$$

$$h^* = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

O croma (C^*) mede a pureza ou saturação da cor, enquanto a tonalidade (h^*) indica a distinção ou variação de cor sutil existente (RAJASEKAR et al., 2012).

3.2.2.2 Dimensões

Para a análise das dimensões dos pães estudados, determinaram-se as medidas de altura e comprimento, com o auxílio de um paquímetro digital (Caliper Stainless Hardened, 0 – 150 mm).

3.2.2.3 Determinação da perda de peso após cozimento (Baking loss)

A perda de peso após cozimento foi calculada pela diferença da massa do pão imediatamente depois de ser removido do forno (w_i), mas após ter arrefecido, e a massa do mesmo após 24h (w_f), segundo a seguinte equação :

$$Baking\ loss\ (\%) = \frac{w_i - w_f}{w_f} \times 100. \text{ (ŞAKIYAN, 2014).}$$

3.2.3 Análises Químicas

As amostras antes de serem analisadas foram congeladas e liofilizadas num liofilizador modelo Scan CoolSafe (Vassingerod, Dinamarca) durante 48 horas, tempo necessário para que a amostra ficasse suficientemente seca e frágil para moer num moinho. Após sua retirada do liofilizador, as amostras foram pesadas e moídas no

moinho para laboratório IKA M20 (São Paulo, Brasil), tendo posteriormente sido passada na peneiro n° 18 (malha de 1 mm).

3.2.3.1 Determinação do pH do pão

Os valores de pH das amostras foram determinados de acordo com o método oficial da AOAC n° 943.02. Nessa forma, foram pesadas 10,0 gramas de amostra, às quais foram adicionadas 100 mL de água recentemente aquecida a 25 °C. Agitou-se a solução para que as partículas ficassem uniformemente suspensas e deixou-se em contacto durante 30 minutos, agitando frequentemente. Após este período, foi deixado repousar durante 10 minutos, e decantou-se o sobrenadante para um copo. Determinou-se imediatamente o pH através de um eléctrodo de pH associado a um potenciómetro previamente calibrado com soluções-tampão de pH 4,01 e pH 7,01.

3.2.3.2 Teor em Cinzas do Pão - método direto por incineração

Foram pesadas aproximadamente 3 gramas em cadinhos previamente calcinados, arrefecidos num exsiccador até à temperatura ambiente e pesados. Em seguida, as amostras foram inseridas numa mufla a 550 °C até que as cinzas se apresentassem esbranquiçadas. Arrefeceram-se num exsiccador e pesaram-se os cadinhos com as amostras.

A percentagem de cinzas foi calculada pela seguinte expressão:

$$\text{Cinzas (\%, em peso seco)} = \left(\frac{P_2 - P_0}{P_1} \times 100 \right)$$

Sendo: P_0 = peso do cadinho; P_1 = peso de amostra liofilizada; P_2 = peso final após calcinação

3.2.3.3 Determinação do teor de proteínas total no pão

Para determinar o teor de proteína total no pão seguiu-se o método da AOAC - Official Method 920.87. Em primeiro lugar foi realizada a digestão da amostra que consistiu no seguinte: uma grama de cada amostra, perfeitamente homogeneizada, foi colocada num tubo Kjeldahl, ao qual se adicionaram 15 mL de ácido sulfúrico concentrado e duas pastilhas de catalisador (3,5 g de K_2SO_4 e 3,5 mg de Se). Os tubos foram colocados na unidade mineralizadora, tendo-se aumentado progressivamente a temperatura até 350–400 °C e mantendo-se durante 45 a 60 minutos. As amostras foram retiradas quando o líquido se tornou límpido (nitidamente transparente e incolor) e deixou-se arrefecer.

Após arrefecimento (50–60 °C), iniciou-se o processo de destilação e titulação. No fim do ciclo, os resultados finais (teor de azoto) apareceram no visor do aparelho. Multiplicou-se a percentagem de azoto por 5,7 para obter a percentagem de proteína.

3.2.3.4 Determinação do teor de gordura no pão - método de hidrólise ácida

Para determinar o teor de gordura no pão seguiu-se o método oficial da AOAC – Método 922.06. Colocaram-se 2 g de amostra num copo de 50 mL e adicionaram-se 2 mL de álcool etílico e 10 mL de solução de ácido clorídrico. Misturou-se a solução e colocou-se o copo num banho de água a 70-80 °C durante 30-40 min. Após esse período foram adicionados 10 mL de álcool etílico e deixou-se arrefecer.

Transferiu-se a mistura do copo para ampolas de decantação, tendo-se lavado o copo com 25 mL de éter etílico, adicionado em três porções, e agitou-se vigorosamente durante 1 min. Adicionaram-se 25 mL de éter de petróleo redestilado e agitou-se vigorosamente durante 1 min. Deixou-se repousar até que o líquido superior ficasse praticamente transparente. Posteriormente a solução de éter-gordura passou através de um funil com um filtro constituído por algodão, sendo recolhida num balão previamente seco numa estufa a 105 °C.

O líquido remanescente da ampola de extração foi reextraído duas vezes, com 15 mL de éter etílico. Passaram-se as soluções de éter através do filtro para o mesmo balão anteriormente referido e lavou-se o filtro e a haste do funil com alguns mililitros de éter. Evaporaram-se os éteres lentamente num evaporador rotativo, à temperatura de 50 °C durante 15 minutos. Em seguida, colocaram-se os balões numa estufa a 50 °C, até se atingir peso constante. Corrigiu-se este peso tendo em conta o branco realizado com os reagentes utilizados.

A percentagem de gordura foi calculada pela expressão: $\frac{P_f - P_b}{P_a} \times 100$

Onde: P_f : massa final (amostra+balão); P_b : massa do balão; P_a : massa da amostra liofilizada.

3.2.3.5 Fibra dietética total no pão - método gravimétrico enzimático

A determinação do teor de fibra alimentar total foi realizada tendo por base o método oficial da AOAC 985.29. Segundo este método, os duplicados de cada amostra seca e moída (com um teor de gordura <10%) são submetidos a digestão enzimática, com o objetivo de promover a hidrólise do amido e das proteínas presentes na amostra.

Executou-se um branco durante todo o processo juntamente com as amostras para avaliar qualquer contribuição dos reagentes. Assim, pesou-se, em duplicado, 1 grama de amostra, com uma precisão de 0,1 mg (os pesos das amostras não deveriam diferir mais de 20 mg) para copos de 400 mL, aos quais se adicionou 50 mL de tampão fosfato (pH 6,0). Verificou-se o pH e se necessário ajustou-se o valor de pH a $6,0 \pm 0,2$. Adicionou-se 0,1 mL da solução de Termamil (α -amilase termoestável), tapou-se o copo com papel de alumínio e o mesmo foi colocado num banho de água a ferver durante 15 minutos, agitando-se suavemente em intervalos de 5 minutos.

Deixaram-se as soluções arrefecer à temperatura ambiente. Posteriormente, ajustou-se o valor de pH a $7,5 \pm 0,2$ pela adição de 10 mL de solução de NaOH 0,275 N e adicionou-se 43,8 μ L de protease. Tapou-se o copo com folha de alumínio e incubou-se a 60 °C durante 30 minutos, com agitação contínua.

Após arrefecimento, adicionaram-se 10 mL de solução HCl 0,325 M, tendo-se medido o pH e quando necessário adicionou-se ácido gota a gota até o valor de pH final se encontrar entre 4,0-4,6. Adicionou-se 0,3 mL de amiloglucosidase, tapou-se com papel de alumínio, e incubou-se a 60 °C durante 30 minutos, com agitação contínua.

Adicionaram-se 280 mL de álcool etílico a 95% pré-aquecido a 60 °C (o volume foi medido antes do aquecimento) e deixou-se a precipitar à temperatura ambiente durante 60 minutos.

Antes da filtração e lavagem do precipitado, pesou-se um cadinho (contendo Celite) em uma balança analítica e molhou-se a camada de Celite no cadinho, usando um esguicho com álcool etílico a 78% para redistribuir a mesma. Aplicou-se sucção para colocar a Celite sobre a placa porosa do cadinho e transferiu-se quantitativamente o precipitado da solução enzimática para o cadinho.

Lavou-se o resíduo, sucessivamente, com três porções de 20 mL de álcool etílico a 78% (v/v), duas porções de 10 mL de álcool etílico a 95% (v/v), e duas porções de 10 mL de acetona.

A secagem dos cadinhos contendo o resíduo foi realizada durante a noite numa estufa a 105 °C. Após arrefecimento num exsiccador, pesou-se rigorosamente a massa do resíduo. Foi subtraído o peso do cadinho e da Celite para determinar o peso do resíduo.

Dividiu-se o resíduo em duas partes e pesaram-se os mesmos. Analisou-se uma das partes em termos de proteína e a segunda amostra do resíduo do duplicado foi incinerada durante 5 horas a 525 °C para determinar as cinzas. Deixou-se arrefecer num exsiccador e pesou-se.

O teor de Fibra Dietética total (TDF) foi calculado de acordo com a seguinte expressão: $TDF (\%, \text{ peso seco}) = ((\text{massa do resíduo} - P - A - B)/\text{massa da amostra}) \times 100$, onde a massa do resíduo = massa (mg) do resíduo após secagem; P e A = massas (mg) de proteína e cinzas, respetivamente, B = massa do branco (mg); e a massa da amostra liofilizada (mg) usada.

3.2.3.6 Determinação do teor em sal no pão

Pesou-se para um copo cerca de 10 gramas da amostra e arrastou-se a mesma com água quente para um balão de 100 mL. Agitou-se e deixou-se arrefecer até à temperatura ambiente. Posteriormente, foram adicionados ao balão 2 mL de solução de ferrocianeto de potássio (0,35 M) e 2 mL de acetato de zinco (1,37 M). Agitou-se e deixou-se em repouso por 10 minutos. Aferiu-se o balão volumétrico com água, tendo a solução sido posteriormente filtrada.

Num erlenmeyer de 250 mL, foi introduzido 10 mL do filtrado, 1 mL de ácido nítrico a 65%, 50 mL de água destilada, 10 mL de nitrato de prata (0,099 M), 1 mL de sulfato duplo de ferro e de amónio (0,83 M), e deixou-se repousar 10 minutos ao abrigo da luz.

Titulou-se o excesso de nitrato de prata com tiocianato de potássio (KSCN) (0,099 M) até ao aparecimento de uma cor vermelha alaranjada. Registou-se o valor gasto na titulação (V) em mL, tendo o teor em sal sido determinado pela seguinte expressão:

$$\text{NaCl } (\%, \text{ em peso seco}) = \frac{5,844}{m} (10 - V)$$

onde *m* corresponde à massa de amostra liofilizada.

3.2.4 Avaliação da Atividade Antioxidante

3.2.4.1 Preparação dos extratos em metanol

Homogeneizou-se 1 grama de amostra com 10 mL de metanol a 80% (v/v) e colocou-se a agitar a 37 °C durante 2 horas (MICHALSKA *et al.*, 2007). Evaporou-se o solvente num evaporador rotativo, pesando-se o extrato obtido e determinando-se os rendimentos de extração. Estes foram determinados pela seguinte expressão:

$$\text{Rendimento de extração } (\%) = \frac{\text{massa}_{\text{extrato}}}{\text{massa}_{\text{amostra}}} \times 100$$

Os extratos foram redissolvidos em metanol a 80% (v/v) de forma a obter uma concentração de 50 mg de extrato/mL.

3.2.4.2 Determinação da Capacidade Redutora Total

Utilizou-se o reagente de Folin-Ciocalteu de acordo com o método de Singleton e Rossi (1965). Preparou-se uma solução padrão de ácido gálico (40 mM), a partir da qual diferentes padrões em metanol a 80% (v/v) foram preparados, designadamente: 0,02; 0,04; 0,08; 0,16; e 0,32 mM.

Misturaram-se 0,5 mL de cada uma dessas soluções (em duplicado) com 0,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu e agitou-se no vortex. Após 3 minutos, adicionaram-se 0,5 mL da solução de carbonato de sódio (saturada). Em seguida adicionaram-se 3,5 mL de água destilada e manteve-se a reação no escuro durante 90 minutos, tendo-se lido a absorvância num Espectrofotômetro NANOCOLOR® UV/VIS (Düren, Alemanha) de cada um dos padrões a 725 nm.

Em simultâneo, preparou-se um branco com metanol a 80% (v/v) em vez de amostra, seguindo todos os passos anteriores. Fez-se o zero de absorvância com esta solução.

As soluções de extrato foram diluídas de forma a obter diferentes concentrações, as quais foram analisadas da mesma forma que os padrões. Os resultados foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/grama de amostra em peso fresco.

3.2.4.3 Efeito Bloqueador dos Radicais Livres 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

De cada solução de extrato preparou-se uma solução diluída com a concentração de 4,17 mg extrato/mL. Misturaram-se 300 µL de cada uma das soluções com 2,7 mL de uma solução metanólica contendo radicais livres de DPPH (6×10^{-5} M).

Preparou-se uma solução idêntica com metanol a 80% (v/v) (300 µL) em vez de amostra. Todas as soluções foram agitadas e colocadas a repousar no escuro durante 1 hora. Mediu-se posteriormente a absorvância num Espectrofotômetro NANOCOLOR® UV/VIS (Düren, Alemanha) a 517 nm. Utilizou-se metanol a 80% (v/v) para estabelecer o zero de absorvância.

Calculou-se o efeito bloqueador dos radicais livres DPPH através da seguinte equação:

$$\% \text{ Efeito Bloqueador dos Radicais Livres de DPPH} = \frac{Abs_{DPPH} - Abs_A}{Abs_{DPPH}} \times 100$$

Sendo: Abs_A = Absorvância da solução com extrato da amostra (4,17 mg extrato/mL).

Abs_{DPPH} = Absorvância da solução de DPPH.

3.2.4.4 Poder Redutor

A 0,5 mL de amostra adicionaram-se 1,25 mL de solução tampão de fosfato 0,2 M (pH 6,6) e 1,25 mL de ferricianeto de potássio (1%, m/v), tendo-se agitado a mistura no vortex. Colocou-se a solução a 50 °C durante 20 minutos, adicionou-se 1,25 mL de ácido tricloroacético a 10% (m/v) e novamente se agitou vigorosamente no vortex. Retiraram-se 2,5 mL do sobrenadante e adicionaram-se 2,5 mL de água e 0,5 mL de cloreto de ferro (III) a 0,1% (m/v).

Leu-se a absorvância num Espectrofotômetro NANOCOLOR® UV/VIS (Düren, Alemanha) a 700 nm e fez-se o branco com o solvente de extração (metanol a 80% (v/v)). Prepararam-se várias concentrações de extrato e aquela que forneceu uma absorvância de 0,5 foi designada por EC_{50} .

3.2.5 Análise Microbiológica

3.2.5.1 Preparação da suspensão-mãe e diluições decimais

Através de utilização de bisturis, retiraram-se pequenas porções de diferentes zonas das amostras. Foram pesadas quantidades de 10 gramas de amostra para um volume de 90 mL de água peptonada, obtendo-se uma diluição de 10^{-1} . Esta suspensão-mãe foi homogeneizada num stomacher durante 120 segundos e transferida para um recipiente estéril. Seguidamente, foram preparadas diluições decimais seriadas da suspensão-mãe, de modo a se obter o número apropriado de microrganismos para a contagem em meio de cultura sólido utilizando a técnica de incorporação do inóculo. Foram preparadas duas placas de meio para cada diluição examinada e os resultados expressos em UFC (unidades formadoras de colónias) por g.

As análises microbiológicas foram realizadas nos tempos 0, 2 e 4 dias (1° Ensaio) e 0, 2 e 5 dias (2° Ensaio) após o fabrico do pão.

3.2.5.1.1 Contagem de microrganismos a 30 °C

A contagem de microrganismos a 30 °C foi efetuada de acordo com a norma ISO 4833:2003, incorporando um volume de 1 mL de cada diluição da amostra no meio

Plate Count Agar (PCA – da Liofilchem). As placas foram incubadas a 30 °C durante 48 horas.

3.2.5.1.2 Contagem total de fungos

A contagem total de fungos foi realizada segundo a Norma ISO 7954:1987. Para o efeito, incorporou-se 1 mL das diluições da amostra em meio seletivo *Rosa Bengal CAF Agar* (RBCA – da Liofilchem), seguida de incubação a 25 °C durante 72 horas.

3.2.5.2 Análise da qualidade do ar

Com objetivo de avaliar a qualidade microbiológica do ar da zona de fabrico do pão, utilizou-se o método de sedimentação passiva de partículas através da exposição de placas contendo os meios de cultura PCA, para contagem de microrganismos a 30 °C, e RBCA, para a contagem de bolores e leveduras. Assim, 10 placas de Petri com 90 mm de diâmetro de cada meio de cultura foram distribuídas em diferentes locais da zona de fabrico, afastadas sensivelmente a 1 m do chão e das paredes. Após exposição das placas, estas foram armazenadas e transportadas numa caixa térmica, e posteriormente incubadas a 30 °C e 25 °C durante 48 e 72 horas, respetivamente. Uma vez que a amostragem por sedimentação não determina diretamente o número de microrganismos presentes num dado volume de ar, utilizou-se a relação 23:1 sugerida por FRIBREG et al. (1999), que compreende a razão entre o número de células na superfície e o número de células no ar.


3.2.6 Avaliação Sensorial

Os pães produzidos no 2º Ensaio foram avaliados sensorialmente. O painel foi composto por 12 provadores (8 do sexo feminino e 4 do sexo masculino, com idades compreendidas entre os 24 e os 52 anos). O perfil sensorial incluiu atributos relacionados com a textura, aroma e sabor.

A avaliação sensorial do pão foi realizada em dois períodos: após terem sido produzidos e arrefecidos (0 dias), e após dois dias (2 dias). Os pães foram mantidos à temperatura ambiente (24 ± 2 °C).

A aparência exterior, a cor da crosta, a cor do miolo, o cheiro/odor, a textura global, a dureza, a aparência do miolo em relação ao número e tamanho dos alvéolos, a aparência do miolo em relação à presença das alcaparras, o sabor, o nível de salgado e a apreciação global foram parâmetros avaliados numa escala hedónica de 7 pontos, como

mostrada na ficha de avaliação (Figura 6). Cada provador avaliou o pão para cada um dos parâmetros como: 1 - muito inaceitável; 2 - inaceitável; 3 - ligeiramente inaceitável; 4 - nem aceitável, nem inaceitável; 5 - ligeiramente aceitável; 6 – aceitável; e 7 - muito aceitável.


INSTITUTO POLITÉCNICO DE BRAGANÇA
 Escola Superior Agrária

NOME _____ IDADE _____ SEXO _____

DATA _____ AMOSTRA _____

PARÂMETROS A AVALIAR NO PÃO

1. Aparência exterior

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muito inaceitável	Inaceitável	Ligeiramente inaceitável	Nem aceitável, nem inaceitável	Ligeiramente aceitável	Aceitável	Muito aceitável

2. Cor da Crosta

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muito inaceitável	Inaceitável	Ligeiramente inaceitável	Nem aceitável, nem inaceitável	Ligeiramente aceitável	Aceitável	Muito aceitável

3. Cor do miolo

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muito inaceitável	Inaceitável	Ligeiramente inaceitável	Nem aceitável, nem inaceitável	Ligeiramente aceitável	Aceitável	Muito aceitável

4. Cheiro/Odor

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muito inaceitável	Inaceitável	Ligeiramente inaceitável	Nem aceitável, nem inaceitável	Ligeiramente aceitável	Aceitável	Muito aceitável

5. Textura Geral

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muito inaceitável	Inaceitável	Ligeiramente inaceitável	Nem aceitável, nem inaceitável	Ligeiramente aceitável	Aceitável	Muito aceitável

5.1 Dureza

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muito inaceitável	Inaceitável	Ligeiramente inaceitável	Nem aceitável, nem inaceitável	Ligeiramente aceitável	Aceitável	Muito aceitável

5.2 Aparência do miolo em relação ao número e tamanho dos alvéolos

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muito inaceitável	Inaceitável	Ligeiramente inaceitável	Nem aceitável, nem inaceitável	Ligeiramente aceitável	Aceitável	Muito aceitável

5.3 Aparência do miolo em relação à presença das “alcaparras”

1	2	3	4	5	6	7	
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muito inaceitável	Inaceitável	Ligeiramente e inaceitável	Nem aceitável, nem inaceitável	Ligeiramente e aceitável	Aceitável	Muito aceitável	Não aplicável

6. Sabor

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muito inaceitável	Inaceitável	Ligeiramente inaceitável	Nem aceitável, nem inaceitável	Ligeiramente aceitável	Aceitável	Muito aceitável

6.1 Salgado

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muito inaceitável	Inaceitável	Ligeiramente inaceitável	Nem aceitável, nem inaceitável	Ligeiramente aceitável	Aceitável	Muito aceitável

7. Apreciação Global

1	2	3	4	5	6	7
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Muito inaceitável	Inaceitável	Ligeiramente inaceitável	Nem aceitável, nem inaceitável	Ligeiramente aceitável	Aceitável	Muito aceitável

Obs: _____

Figura 6: Ficha utilizada na avaliação sensorial dos pães.

3.2.7 Avaliação do azeite

Também se procedeu à análise da qualidade do azeite utilizado no fabrico do pão do 2º Ensaio. Nas secções seguintes descrevem-se os parâmetros analisados.

3.2.7.1 Acidez

A determinação da acidez foi realizada de acordo com o Anexo II do Regulamento (CEE) nº 2568/91 da Comissão Europeia de 11 de Julho de 1991. Procedeu-se à diluição de aproximadamente 5,0 gramas de azeite com uma solução etanol/éter etílico (1:1), tendo-se adicionado à solução o indicador fenolftaleína. Em seguida, realizou-se a titulação da solução com uma solução padronizada de hidróxido de sódio 0,1 M, até aparecimento de cor rosa persistente. A acidez, em percentagem de ácido oleico livre na amostra, foi determinada utilizando a seguinte equação:

$$\text{Acidez (\% ácido oleico)} = \frac{V.C.M}{10,m}$$

Onde: *V* - volume de hidróxido de sódio gasto na titulação (mL); *C* - concentração exata da solução de hidróxido de sódio (mol/L); *M* - massa molar do ácido oleico em g/mol; *m* - massa da amostra em grama.

3.2.7.2 Índice de Peróxido

A determinação do índice de peróxido seguiu a metodologia descrita no Anexo III do regulamento anteriormente referido. O método consistiu na dissolução de aproximadamente 1,2 gramas de azeite em 15 mL de ácido acético glacial, 10 mL de clorofórmio, 1 mL de uma solução de iodeto de potássio e agitou-se durante 1 minuto. Tapou-se imediatamente o Erlenmeyer, o qual foi mantido no escuro durante 5 minutos. Após esse período, adicionaram-se 75 mL de água destilada, umas gotas de solução de amido (1 g/100 mL) (indicador) e titulou-se o iodo libertado com uma solução padrão de tiosulfato de sódio 0,01 N, até a solução ficar incolor. Em paralelo, foi realizado um ensaio sem a amostra de azeite (ensaio do branco). Os valores de índice de peróxido foram calculados segundo a fórmula:
$$\text{IP} \left(\text{meq} \frac{\text{oxigénio}}{\text{Kg}} \right) = \frac{V.N.1000}{m}$$

Onde: *V* - volume de tiosulfato de sódio gasto na titulação, tendo em conta o ensaio do branco (L); *N* - normalidade exata da solução de tiosulfato de sódio; *m* - massa da amostra (g).

3.2.7.3 Espectrofotometria no Ultravioleta

A análise da absorvância no ultravioleta foi efetuada segundo o Anexo IX do regulamento acima citado, seguindo a seguinte metodologia: aproximadamente 0,6 g de amostra foram dissolvidas em 10 mL de iso-octano (2,2,4-trimetilpentano). Em seguida,

procedeu-se à leitura das absorvâncias no espectrofotómetro de ultravioleta-visível (modelo Genesys™) nos comprimentos prescritos (232 a 274 nm).

Exprimiram-se as extinções específicas nos diferentes comprimentos de onda de acordo com a fórmula: $K_\lambda = \frac{E_\lambda}{c \cdot S}$, onde: K_λ = extinção específica no comprimento de onda λ ; E_λ = extinção medida no comprimento de onda λ ; C = concentração da solução em g/100 ml; S = percurso ótico em centímetros.

A determinação do ΔK foi efetuada segundo a seguinte expressão: $\Delta K = K_m \frac{K_{m-4} + K_{m+4}}{2}$, em que, K_m representa a extinção específica no comprimento de onda m , correspondente ao um valor máximo de absorvância na gama de 270 nm.

3.2.7.4 Estabilidade Oxidativa

A estabilidade oxidativa foi avaliada pelo tempo de indução de oxidação descrita por MALHEIRO, et al. (2012). O aparelho utilizado nas determinações foi o Rancimat 743 (Methrom Ltd., Suíça). Nesta metodologia aquece-se o azeite na presença de oxigénio, sendo os compostos de oxidação arrastados pelo fluxo de ar e dissolvidos numa solução aquosa. Nesta solução está imerso um eléctrodo que mede a condutividade. O cálculo dos tempos de estabilidade oxidativa das amostras é feito pelo programa informático do aparelho e os resultados são registados como o tempo de indução (horas). No presente trabalho aqueceram-se 3,0 gramas de amostra a $120 \pm 1,6$ °C, tendo sido injetado oxigénio (20L/h) na amostra.

3.2.8 Análise Estatística

De forma a avaliar se existiam diferenças significativas entre as amostras em relação à percentagem de “alcaparras” e ao tempo de armazenamento realizou-se a análise estatística utilizando o software SPSS (versão 18.0) (SPSS Inc., Chicago, USA). A análise estatística foi realizada para as propriedades físico-químicas, análise microbiológica, análise sensorial e atividade antioxidante das amostras dos pães. Todas as variáveis dependentes foram analisadas para verificar a sua normalidade e homogeneidade da variância (Testes de Shapiro-Wilk e Levene, respetivamente). Quando foi observada homogeneidade de variâncias, aplicou-se uma ANOVA, seguida do test *post-hoc* de Tukey. No caso das variáveis não serem homogêneas, usou-se a ANOVA de Welch, seguida do teste de Dunnett T3. Todos os testes estatísticos foram realizados ao nível de significância de 5%.

Capítulo IV

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta secção descrevem-se e discutem-se os resultados obtidos nas análises físico-químicas, atividade antioxidante, análise sensorial e microbiológica efetuada aos pães elaborados no 1º e 2º Ensaio.

4.1 1º Ensaio

Neste ensaio foram elaborados pães com 0, 3, 5 e 7% (m/m) de “alcaparras”, utilizando somente farinha de trigo na sua formulação.

4.1.1 Análises Físicas

Segundo MENKOVSKA et al. (2002), a qualidade do produto é determinada pelas propriedades físicas da massa, nomeadamente volume do pão, assim como pela cor do miolo e da còdea. Neste estudo foram realizadas algumas determinações físicas aos pães elaborados, tais como: dimensões, cor da còdea, cor do fundo e do miolo, e o *baking loss*.

4.1.1.1 Dimensões

O diâmetro e a altura dos pães elaborados no 1º Ensaio encontram-se descritos na Tabela 5.

Tabela 5: Valores do diâmetro e altura dos pães elaborados no 1º Ensaio.

Parâmetro	Tempo	Concentração de alcaparras (%)			
		0	3	5	7
Diâmetro (mm)	0 dias	69,5±3,5 ^{a,A}	68,1±3,1 ^{a,A}	68,3±3,1 ^{a,A}	67,9±2,7 ^{a,A}
	2 dias	71,5±7,8 ^{b,A}	67,6±2,7 ^{a,b,A}	66,1±2,4 ^{a,b,A}	62,4±6,3 ^{a,A}
	4 dias	68,8±4,5 ^{a,A}	71,1±2,7 ^{a,A}	66,1±2,9 ^{a,A}	67,5±4,8 ^{a,A}
Altura (mm)	0 dias	48,8±0,4 ^{b,A}	49,8±3,9 ^{a,b,A}	47,0±0,8 ^{a,A}	45,8±1,3 ^{a,A}
	2 dias	51,1±3,5 ^{a,A}	51,3±2,9 ^{a,A}	49,8±3,7 ^{a,A}	52,2±7,6 ^{a,A}
	4 dias	49,3±2,2 ^{a,b,A}	50,9±2,7 ^{b,A}	48,5±2,7 ^{a,b,A}	46,4±1,8 ^{a,A}

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

Em termos gerais, a partir dos valores obtidos, verificou-se que não foram observadas diferenças significativas nas dimensões dos pães produzidos em relação ao tempo, tendo sido em alguns casos pontuais observadas diferenças significativas entre pães com diferentes percentagens de “alcaparras”. Contudo, as médias do diâmetro e da altura de todos os pães variaram entre 62,4–71,5 mm e 45,8–52,2 mm, respetivamente, sugerindo uma grande uniformidade das dimensões dos pães produzidos.

Na Figura 7 encontram-se representados alguns dos pães produzidos com diferentes percentagens de “alcaparras”, relativos ao tempo de 0 dias, onde se pode constatar a semelhança de dimensões entre eles. Resultados semelhantes foram obtidos para os outros tempos (resultados não mostrados).

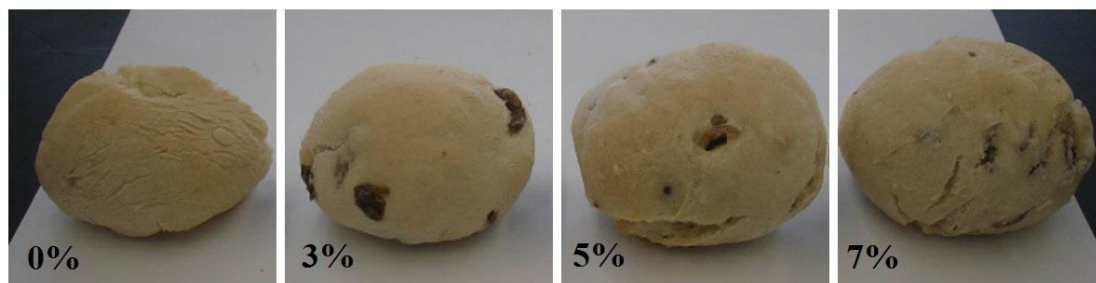


Figura 7: Aspeto exterior de pães com diferentes percentagens de “alcaparras” (0 dias).

4.1.1.2 Determinação da Cor

A cor é uma característica muito importante dos alimentos sendo esta a primeira sensação que o consumidor percebe. Os dados da cor da còdea, fundo e miolo são apresentados nas Tabelas 6, 7 e 8, respetivamente.

Verificou-se que relativamente ao parâmetro L^* (luminosidade), a còdea foi a que apresentou o maior valor (80,27), sendo, portanto, a parte mais clara do pão, o que pode ser justificado pela presença de farinha na crosta, enquanto o fundo (55,50) correspondeu à parte mais escura. Relativamente à incorporação de “alcaparras”, não se verificou uma diferença significativa na luminosidade das amostras quando a adição deste componente, mesmo em termos de miolo, que seria a parte mais afetada. Em termos de tempo de armazenamento, verificou-se que em algumas situações se observou uma diminuição na luminosidade após 4 dias.

Em relação à coordenada a^* , a còdea e o fundo apresentaram valores positivos, indicadores da predominância da cor vermelha, que se pode dever à ocorrência de reações de Maillard e de caramelização, levando ao escurecimento progressivo da crosta (ESTELLER, *et al.*, 2005). Tendo em conta a presença de “alcaparras”, poder-se-ia esperar valores negativos desta coordenada à medida que se aumentou a percentagem de “alcaparras”, uma vez que estas têm cor verde. Contudo, os pães com maior percentagem de “alcaparras” não apresentaram valores de b^* mais negativos. Este facto deve-se à presença individualizada das “alcaparras” e não à sua presença homogénea em todo o produto, sugerindo que as medições possam ter sido efetuadas em zonas sem “alcaparras”. LÓPEZ (2015) ao analisar pães com tremoço, verificou que estes

apresentaram maior tendência para terem uma cor verde. Em relação ao tempo, salvo situações pontuais, não se observaram diferenças significativas nos 0 e 2 dias.

Em relação à coordenada b^* , os valores são sempre positivos o que indica que as amostras (côdea, fundo e miolo) apresentaram uma coloração amarelada. Os menores valores de b^* foram observados no miolo. Na maioria das situações, não se observaram diferenças significativas entre amostras com diferentes percentagens de “alcaparras” e ao longo do tempo.

Em relação ao parâmetro de cor C^* (croma), que mede a intensidade da coloração, salvo raras exceções, não se verificaram diferenças significativas na cor da côdea, fundo e miolo entre as amostras com diferentes percentagens de “alcaparras” e ao longo do tempo. As amostras com os maiores valores foram as do fundo, seguidas pela côdea e miolo.

Quanto ao parâmetro h^* , as amostras do fundo foram as que apresentaram os menores valores de h^* . Não se observaram diferenças significativas entre os pães com diferentes percentagens de “alcaparras” e o tempo, salvo algumas exceções, possivelmente devida à heterogeneidade natural das amostras.

Tabela 6: Resultados da análise de cor da côdea das amostras de pão elaborado no 1º Ensaio.

Parâmetro	Tempo	Concentração de alcaparras (%)			
		0	3	5	7
L^*	0 dias	78,21±2,37 ^{a,b,B}	80,27±1,16 ^{b,B}	78,79±2,49 ^{a,b,A}	77,23±1,95 ^{a,B}
	2 dias	74,03±1,42 ^{a,A}	75,35±1,50 ^{a,A}	77,47±1,65 ^{a,A}	74,30±0,27 ^{a,A,B}
	4 dias	74,32±1,86 ^{a,A}	73,85±0,88 ^{a,A}	76,13±1,46 ^{a,A}	73,07±1,72 ^{a,A}
a^*	0 dias	2,06±1,11 ^{a,A}	1,16±0,39 ^{a,A}	1,54±0,93 ^{a,A}	1,93±1,00 ^{a,A}
	2 dias	4,00±0,73 ^{b,B}	3,35±0,78 ^{a,b,B}	1,84±0,31 ^{a,A}	2,68±1,04 ^{a,b,A}
	4 dias	3,54±0,66 ^{a,B}	4,11±0,88 ^{a,B}	2,28±0,48 ^{a,A}	3,19±0,62 ^{a,A}
b^*	0 dias	20,74±2,99 ^{a,A}	18,86±1,18 ^{a,A}	20,22±2,77 ^{a,A}	23,12±3,33 ^{a,A}
	2 dias	21,45±1,84 ^{a,A}	20,43±2,29 ^{a,A}	17,96±1,85 ^{a,A}	21,28±1,39 ^{a,A}
	4 dias	20,19±1,75 ^{a,A}	21,26±1,99 ^{a,A}	18,15±1,34 ^{a,A}	21,94±1,01 ^{a,A}
C^*	0 dias	20,85±3,08 ^{a,A}	18,89±1,20 ^{a,A}	20,29±2,82 ^{a,A}	23,21±3,40 ^{a,A}
	2 dias	21,82±1,92 ^{a,A}	20,70±2,38 ^{a,A}	18,05±1,86 ^{a,A}	21,46±1,50 ^{a,A}
	4 dias	20,50±1,79 ^{a,A}	21,66±2,12 ^{a,A}	18,30±1,37 ^{a,A}	22,17±1,03 ^{a,A}
h^*	0 dias	84,61±2,46 ^{a,B}	86,53±0,96 ^{a,B}	85,83±2,20 ^{a,B}	85,44±1,69 ^{a,A}
	2 dias	79,50±1,25 ^{a,A}	80,77±1,18 ^{a,b,A}	84,18±0,63 ^{b,A,B}	82,94±2,3 ^{a,b,A}
	4 dias	80,07±1,54 ^{a,A}	79,17±1,38 ^{a,A}	82,87±1,16 ^{a,A}	81,75±1,52 ^{a,A}

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

Tabela 7: Resultados da análise de cor ao fundo das amostras de pão elaborado no 1º Ensaio.

Parâmetro	Tempo	Concentração de alcaparras (%)			
		0	3	5	7
L^*	0 dias	61,90±5,89 ^{a,A}	59,11±3,60 ^{a,B}	58,90±2,49 ^{a,A}	58,90±2,49 ^{a,A}
	2 dias	64,23±3,73 ^{a,b,A}	60,98±2,57 ^{a,b,B}	58,71±3,72 ^{a,A}	63,84±2,25 ^{b,A}
	4 dias	61,81±1,64 ^{b,A}	55,86±3,39 ^{a,A}	55,50±1,72 ^{a,A}	60,97±3,26 ^{b,A}
a^*	0 dias	10,96±2,06 ^{a,A}	12,17±1,69 ^{a,A,B}	12,92±1,18 ^{a,A}	11,92±1,13 ^{a,A}
	2 dias	9,18±2,10 ^{a,A}	11,29±1,65 ^{a,A}	11,71±1,27 ^{a,A}	9,59±1,56 ^{a,A}
	4 dias	9,83±0,70 ^{a,A}	13,02±1,27 ^{b,B}	12,93±1,10 ^{b,A}	10,33±2,90 ^{a,b,A}
b^*	0 dias	32,66±1,38 ^{a,A}	32,92±3,35 ^{a,b,A}	36,83±1,56 ^{b,B}	33,93±3,71 ^{a,b,A}
	2 dias	29,88±3,00 ^{a,A}	34,37±1,36 ^{a,A}	32,38±2,24 ^{a,A}	33,78±1,74 ^{a,A}
	4 dias	31,65±0,80 ^{a,A}	32,56±1,98 ^{a,A}	30,39±3,22 ^{a,A}	30,96±3,51 ^{a,A}
C^*	0 dias	34,50±1,41 ^{a,A}	35,14±3,30 ^{a,B}	39,06±1,22 ^{a,B}	36,02±3,12 ^{a,B}
	2 dias	31,28±3,43 ^{a,A}	36,20±1,56 ^{a,A}	34,47±1,91 ^{a,A}	35,12±2,06 ^{a,A,B}
	4 dias	33,15±0,74 ^{a,A}	35,09±1,67 ^{a,A}	33,05±3,18 ^{a,A}	32,68±4,14 ^{a,A}
h^*	0 dias	71,48±3,38 ^{a,A}	69,63±2,81 ^{a,A,B}	70,62±2,25 ^{a,A}	70,38±3,75 ^{a,A}
	2 dias	73,08±2,39 ^{a,b,A}	71,85±2,34 ^{a,b,B}	70,02±2,88 ^{a,A}	74,24±1,89 ^{b,A}
	4 dias	72,74±1,34 ^{b,A}	68,14±2,72 ^{a,A}	66,86±2,06 ^{a,A}	71,88±3,54 ^{a,b,A}

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

Tabela 8: Resultados da análise de cor ao miolo das amostras de pão elaborado no 1º Ensaio.

Parâmetro	Tempo	Concentração de alcaparras (%)			
		0	3	5	7
L^*	0 dias	74,03±1,59 ^{a,B}	72,67±4,99 ^{a,B}	71,38±4,31 ^{a,A}	75,60±3,03 ^{a,A}
	2 dias	67,22±3,45 ^{a,b,A}	66,28±2,99 ^{a,b,B}	68,84±3,00 ^{a,A}	69,05±4,49 ^{b,A}
	4 dias	67,07±5,67 ^{b,A}	65,21±2,66 ^{a,A}	70,83±1,84 ^{a,A}	69,22±6,45 ^{b,A}
a^*	0 dias	-0,24±0,21 ^{a,A}	-0,22±0,33 ^{a,A}	0,21±0,26 ^{a,A}	0,04±0,33 ^{a,A}
	2 dias	0,18±0,15 ^{a,A}	-0,05±0,14 ^{a,A}	-0,04±0,34 ^{a,A}	0,23±0,49 ^{a,A}
	4 dias	0,09±0,22 ^{a,A}	0,15±0,13 ^{a,A}	0,17±0,08 ^{a,A}	0,30±0,34 ^{a,A}
b^*	0 dias	13,06±1,51 ^{a,A}	13,32±0,84 ^{a,B}	13,40±0,58 ^{a,B}	13,71±1,09 ^{a,B}
	2 dias	12,34±1,20 ^{a,A}	11,14±0,69 ^{a,A}	11,50±1,00 ^{a,A}	12,02±0,59 ^{a,A}
	4 dias	11,47±0,53 ^{a,A}	12,01±0,67 ^{a,A}	12,17±0,55 ^{a,A}	11,94±0,65 ^{a,A}
C^*	0 dias	13,06±1,51 ^{a,A}	13,33±0,84 ^{a,B}	13,40±0,58 ^{a,B}	13,71±1,09 ^{a,B}
	2 dias	12,34±1,21 ^{a,A}	11,14±0,69 ^{a,A}	11,50±0,99 ^{a,A}	12,03±0,58 ^{a,A}
	4 dias	11,47±0,53 ^{a,A}	12,01±0,68 ^{a,A}	12,17±0,55 ^{a,A}	11,94±0,65 ^{a,A}
h^*	0 dias	91,06±0,96 ^{a,B}	90,99±1,45 ^{a,A}	89,09±1,20 ^{a,A}	89,90±1,35 ^{a,A}
	2 dias	89,23±0,63 ^{a,A}	90,26±0,72 ^{a,A}	90,31±1,73 ^{a,A}	88,84±2,44 ^{a,A}
	4 dias	89,46±1,08 ^{a,A}	89,31±0,61 ^{a,A}	89,15±0,36 ^{a,A}	88,56±1,61 ^{a,A}

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

4.1.1.3 Determinação da perda de peso após cozimento (Baking loss)

Em relação ao *baking loss* verificaram-se que os valores, apresentados na Tabela 9, foram relativamente baixos, nunca sendo superiores a 0,25%.

Tabela 9: Resultados na análise do Baking loss (%).

Concentração de alcaparras (%)			
0	3	5	7
0,15±0,02 ^a	0,18±0,01 ^b	0,16±0,02 ^{a,b}	0,17±0,01 ^{a,b}

Nota: Diferentes letras indicam que as amostras com são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$).

4.1.2 Análises Químicas

Nos pães produzidos no 1º Ensaio foram realizadas várias determinações químicas, tais como o pH e teores de humidade, cinzas, proteína, gordura, fibra dietética e sal, como descrito no capítulo anterior. Na Tabela 10 são apresentados os resultados das análises químicas das formulações de pão com 0, 3, 5 e 7% de “alcaparras”, logo após o término da confecção e após 2 dias de armazenamento. Os dados relativos aos 4 dias não foram determinados porque o pão apresentou desenvolvimento de bolores à superfície, não se encontrando em condições para consumo. Assim, decidiu-se não o analisar em termos químicos.

Tabela 10: Resultados da análise química das amostras do pão elaborados no 1º Ensaio.

Parâmetros	Tempo	Alcaparras	Concentração de alcaparras (%)			
			0	3	5	7
pH	0 dias	4,97± 0,04	5,95±0,01 ^{d,A}	5,91±0,01 ^{c,A}	5,89±0,01 ^{b,A}	5,85±0,01 ^{a,A}
	2 dias		5,96±0,01 ^{b,B}	5,95±0,01 ^{b,B}	5,91±0,01 ^{a,B}	5,90±0,01 ^{a,B}
Humidade (%)	0 dias	35,50± 4,75	32,21	33,18	33,94	37,11
	2 dias		31,22	32,42	33,77	34,55
Cinzas (% p.f.)	0 dias	6,36± 0,45	1,46±0,01 ^{a,A}	1,61±0,01 ^{b,A}	1,69±0,02 ^{c,A}	1,74±0,01 ^{d,A}
	2 dias		1,47±0,01 ^{a,A}	1,48±0,01 ^{a,B}	1,68±0,02 ^{b,A}	1,74±0,01 ^{c,A}
Proteínas (% p.f.)	0 dias	2,72± 0,33	9,87±0,22 ^{b,A}	9,74±0,27 ^{a,b,A}	9,45±0,08 ^{a,b,A}	9,32±0,07 ^{a,A}
	2 dias		9,96±0,08 ^{a,A}	10,58±0,13 ^{b,B}	9,92±0,09 ^{a,B}	9,99±0,09 ^{a,B}
Gordura (% p.f.)	0 dias	8,97± 0,27	1,76±0,42 ^{a,A}	1,76±0,04 ^{a,A}	1,88±0,08 ^{a,A}	2,38±0,08 ^{a,A}
	2 dias		1,37±0,14 ^{a,A}	1,92±0,05 ^{a,b,A}	2,44±0,39 ^{b,A}	2,24±0,40 ^{b,A}
Fibras (% p.f.)	0 dias	13,40± 0,05	4,58±0,01 ^{a,A}	4,81±0,10 ^{a,b,A}	4,85±0,03 ^{b,A}	4,71±0,07 ^{a,A}
	2 dias		4,12±0,03 ^{a,B}	3,95±0,08 ^{a,B}	4,38±0,01 ^{b,B}	4,40±0,07 ^{b,B}
Teor de Sal (% p.f.)	0 dias	5,45± 0,01	0,43±0,04 ^{a,A}	0,57±0,04 ^{b,A}	0,54±0,03 ^{b,A}	0,64±0,04 ^{b,A}
	2 dias		0,35±0,02 ^{a,B}	0,44±0,04 ^{b,B}	0,50±0,04 ^{b,B}	0,61±0,02 ^{c,A}

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

O valor de pH das amostras variou significativamente entre 0 e 2 dias, aumentando o valor de pH com o tempo. Pelo contrário, com o aumento da percentagem de “alcaparras”, observou-se um decréscimo no valor de pH, resultado do menor valor observado nesse tipo de azeitonas (4,97±0,04).

O teor de humidade é um parâmetro de qualidade importante. Os valores no tempo de 0 dias variaram de 32,21 a 37,11%, enquanto após 2 dias os valores variaram entre 31,22 e 34,55%, ambos para 0 e 7% de “alcaparras”, respetivamente. A determinação da humidade está relacionada com o prazo de validade dos alimentos, visto que um teor elevado, favorece o desenvolvimento de microorganismos, diminuindo a vida de prateleira dos alimentos.

Relativamente às cinzas, os valores variaram entre 1,46–1,74%, tendo-se observado um aumento significativo para as maiores percentagens de “alcaparras” (5 e 7%), resultado da maior percentagem de cinzas neste tipo de azeitonas (6,36%).

Em termos de proteína, não se observou qualquer tendência nos valores com o aumento da percentagem de “alcaparras”, tendo os valores variado entre 9,32 e 10,58%. Já com o tempo, na presença de “alcaparras” observou-se um aumento nos valores de proteína.

Em termos de gordura não se observaram diferenças significativas entre os diferentes pães nos 0 dias e ao longo dos dois dias de armazenamento. Contudo, em termos gerais, os valores variaram entre 1,37 e 2,44%, tendo a adição de “alcaparras” acarretado um aumento no teor de gordura nos pães analisados no segundo dia. Esse facto é devido ao elevado teor de gordura nas “alcaparras” (8,97%). No entanto, como estas são adicionadas à massa, os pães produzidos podem apresentar alguma variabilidade no número de frutos, podendo uns conter mais ou menos “alcaparras”, e portanto, maior ou menor teor de gordura, explicando os valores obtidos.

Relativamente às fibras, a análise dos resultados permitiu observar que o teor de fibras aumentou com a percentagem de “alcaparras”, com exceção da amostra com 7% de “alcaparras”, aos 0 dias, sendo novamente este resultado explicado pela variabilidade do número de “alcaparras” presentes nos pães, sugerindo que, no futuro, seria interessante aumentar a percentagem de alcaparras no pão de modo a que a diferença entre eles fosse mais evidente. Relativamente ao tempo de armazenamento, as amostras apresentaram diferenças significativas entre si.

Já o teor em sal diferiu significativamente entre as amostras. O aumento desse teor esteve relacionado com a presença de “alcaparras”, tendo sido o maior valor (0,64 g NaCl/100 g amostra) determinado para a percentagem de 7% e o menor valor (0,35 g NaCl/100 g amostra) no pão sem “alcaparras”. Esses resultados podem ser explicados pelo alto teor em sal das “alcaparras” (5,45 g NaCl/100 g amostra) devido ao seu processamento, pois estas depois da remoção do seu amargor são mantidas em salmoura

até o momento do consumo. Relativamente à questão legal, os teores estão em conformidade com a Lei n° 75/2009 de 12 de agosto, que indica um teor máximo permitido de 1,4 g por 100 g de pão.

Assim, em termos gerais, a maior percentagem de alcaparras (7%) originou um pão com um menor valor de pH, e maiores teores de cinzas, gordura e sal face ao controlo (0% de “alcaparras”).

4.1.3 Atividade Antioxidante

4.1.3.1 Capacidade redutora total

Os resultados obtidos para a capacidade redutora nos pães, com farinha de trigo e “alcaparras”, estão representados na Figura 8. No tempo 0 dias os valores da capacidade redutora total variaram entre 0,217 e 0,242 mg GAE/g de matéria fresca, enquanto no segundo dia os valores variaram de 0,139 a 0,187 mg GAE/g de matéria fresca, tendo sido os maiores valores observados nos pães com maior percentagem de “alcaparras”. Possivelmente esse aumento foi devido ao elevado teor de compostos fenólicos nas “alcaparras” (1,63 mg GAE/g de matéria fresca). Este resultado vem ao encontro ao referido por MALHEIRO, et al. (2011), o qual relatou que as “alcaparras” são uma boa fonte de compostos bioativos, tais como os compostos fenólicos. Em relação ao tempo de armazenamento (0 e 2 dias), observou-se um decréscimo significativo na capacidade redutora total.

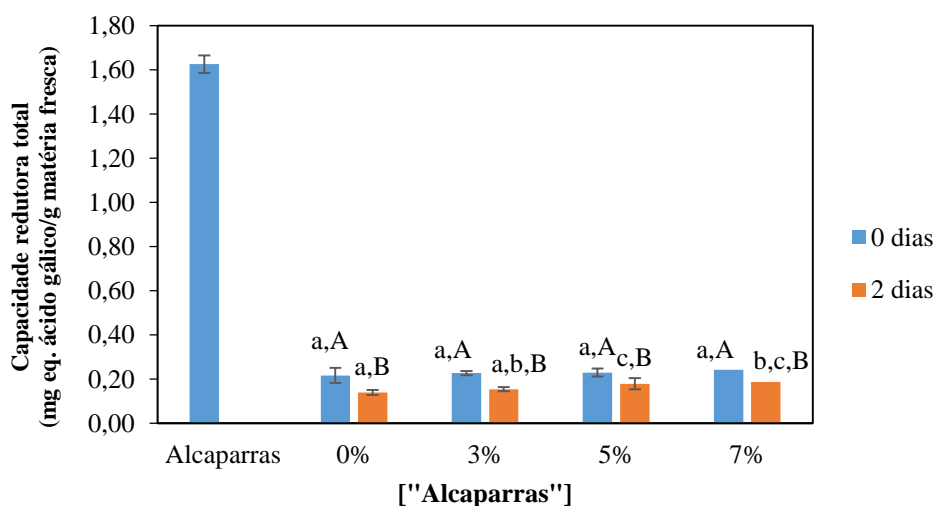


Figura 8: Capacidade redutora total dos pães de trigo produzidos no 1º Ensaio.

Nota: Diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

4.1.3.2 Efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH

A atividade antioxidante determinada pelo método de DPPH, expressa em % de efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH para soluções de extracto com a concentração de 4,17 mg extrato/mL, para os pães de trigo e “alcaparras” (Figura 9) demonstrou que em relação ao tempo de armazenamento os valores foram significativamente diferentes entre si, observando-se novamente uma diminuição da % do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH desde o início até ao segundo dia de armazenamento.

No que se refere à adição de “alcaparras”, observou-se um aumento significativo do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH. Deste modo, os pães que apresentaram a maior capacidade bloqueadora dos radicais livres de DPPH, foram aqueles que apresentaram a maior percentagem de “alcaparras”, podendo estes resultados ser explicados pelo elevado efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH das “alcaparras” (95,07%).

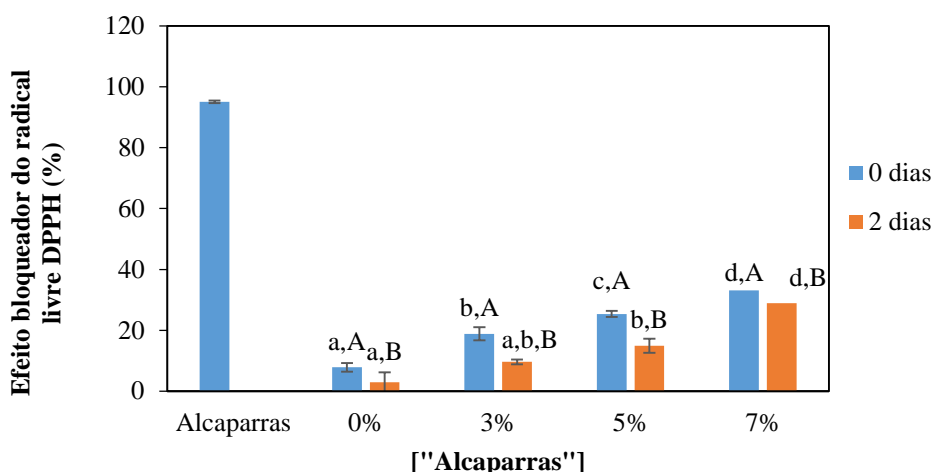


Figura 9: Efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH (%) para a concentração de 4,17 mg de extrato/mL para os pães de trigo elaborados no 1º Ensaio.

Nota: Diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

4.1.3.3 Poder Redutor

Ao observar os resultados obtidos para o poder redutor (Figura 10), constatou-se que houve um aumento do poder redutor com a concentração de extrato, tendo as “alcaparras” um poder redutor visivelmente superior aos dos pães de trigo.

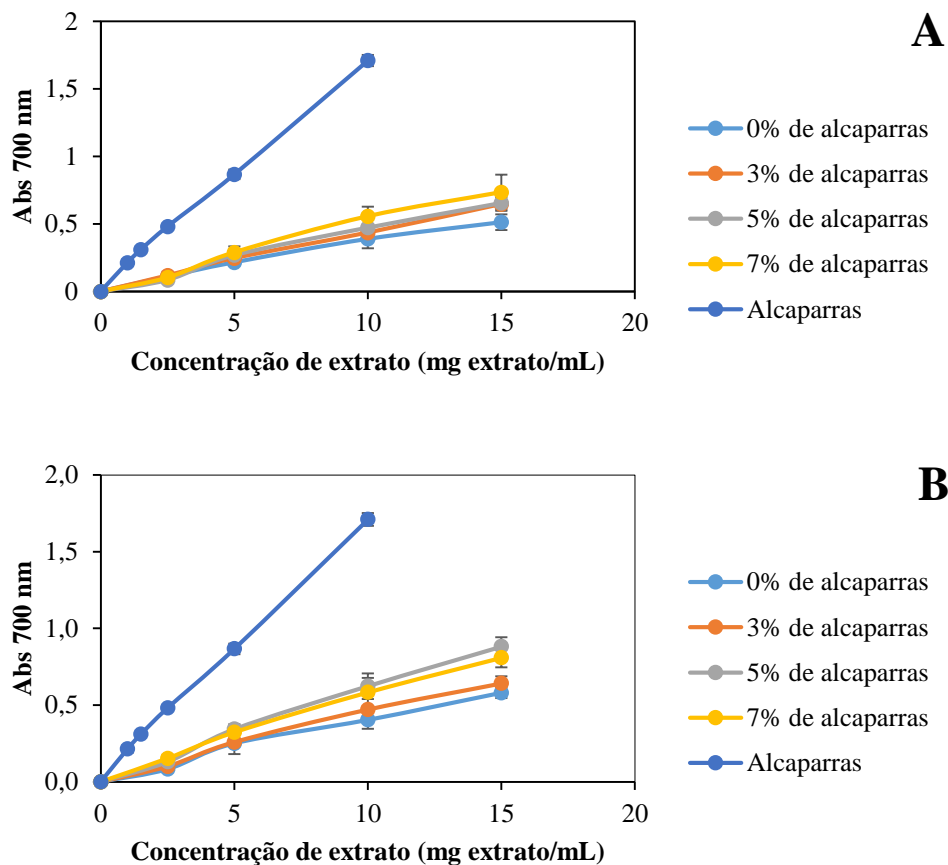


Figura 10: Poder redutor do pão de trigo elaborados no 1º Ensaio. A) 0 dias; B) 2 dias.

Na Figura 11 encontram-se os valores de EC_{50} , para os pães de trigo com “alcaparras”. Os resultados foram semelhantes aos obtidos nos ensaios da capacidade redutora total e do efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH, tendo o poder redutor das amostras aumentado (menores valores de EC_{50}) com a adição de “alcaparras”, com exceção dos 5%. Contudo, os valores obtidos nos pães com 5% de “alcaparras” não foram significativamente diferentes dos determinados nos pães com 7% de “alcaparras”.

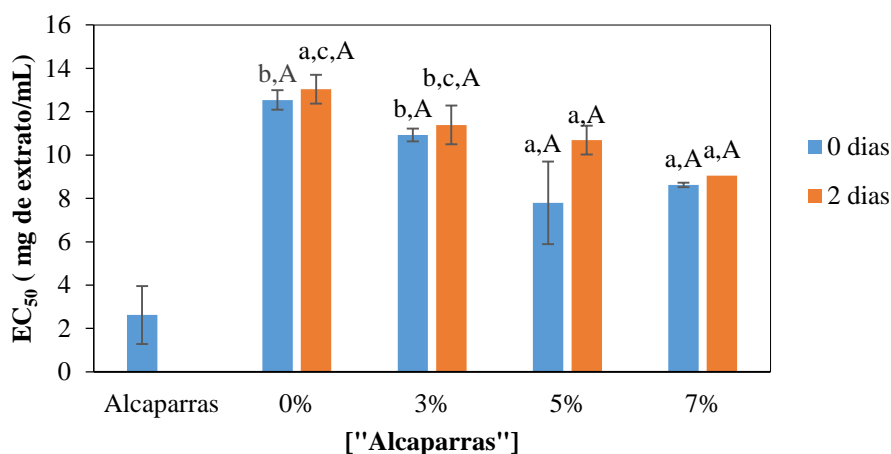


Figura 11: Valores de EC_{50} (mg de extracto/mL) determinados no ensaio do poder redutor no pão de trigo com “alcaparras” elaborados no 1º Ensaio.

Nota: Diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

4.1.4 Análise Microbiológica

Alguns microrganismos estão envolvidos em processos que causam efeitos indesejáveis nos próprios alimentos, ou na saúde dos consumidores levando quer à deterioração, quer a ocorrência de doenças de origem alimentar. A qualidade/segurança dos alimentos pode ser determinada com base na contagem de microrganismos mesófilos, microrganismos indicadores, e a presença ou o número de microrganismos patogénicos. Dado que a legislação portuguesa é omissa relativamente à grande maioria dos alimentos prontos a comer foram publicadas, em 2005, pelo Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA), linhas de orientação para a apreciação da qualidade microbiológica dos produtos (Santos et al., 2005). Nesta apreciação são usados quatro níveis de qualidade/segurança: satisfatório (indica boa qualidade microbiológica), aceitável (o produto alimentar encontra-se dentro dos limites estabelecidos), não satisfatório (indica que o produto não satisfaz um ou mais dos valores estabelecidos) ou inaceitável/potencialmente perigoso (os resultados indicam a presença de microrganismos patogénicos ou toxinas que poderão constituir um risco para a saúde). De acordo com o tipo de ingredientes que entram na composição dos alimentos, o tratamento térmico ou outro procedimento que lhe seja aplicado, os alimentos são divididos em três categorias. Assim, com base nos valores guia, as alcaparras e o pão com alcaparras são classificados nas categorias 3 e 2, respetivamente

Os resultados obtidos nas análises microbiológicas efetuadas às “alcaparras” e aos pães de trigo com 0, 3, 5 e 7% de “alcaparras” estão representados na Tabelas 11 e 12. As “alcaparras” utilizadas na confeção do pão apresentavam uma população de microrganismos totais a 30 °C e de bolores e leveduras de 4,3 e de 3,45 log UFC/g, respetivamente, indicando ser resultados satisfatórios para os microrganismos totais a 30 °C e aceitáveis para bolores e leveduras, de acordo com os valores guia do INSA. No tempo zero, dia de confeção do pão, a população microbiana era idêntica em todos os pães analisados. Contudo, do tempo zero para o segundo dia, observou-se um aumento significativo de microrganismos mesófilos e de bolores e leveduras, observando-se ao quarto dia valores considerados não satisfatórios para os microrganismos analisados. Assim, estes pães teriam que ter um prazo inferior a 4 dias.

Tabela 11: Evolução das contagens de microrganismos totais a 30 °C (UFC/g) no 1° Ensaio.

Tempo	Alcaparras	Concentração de alcaparras (%)			
		0	3	5	7
0 dias		$8,8 \times 10^1 \pm 2,8 \times 10^{1a,A}$	$4,5 \times 10^1 \pm 4,5 \times 10^{1a,A}$	$5,7 \times 10^1 \pm 2,5 \times 10^{1a,A}$	$1,6 \times 10^2 \pm 1,0 \times 10^{2a,A}$
2 dias	$7,3 \times 10^3 \pm 1,9 \times 10^3$	$3,9 \times 10^4 \pm 2,0 \times 10^{4a,B}$	$3,4 \times 10^4 \pm 1,2 \times 10^{4a,B}$	$4,1 \times 10^4 \pm 1,6 \times 10^{4a,B}$	$6,5 \times 10^4 \pm 5,2 \times 10^{4a,B}$
4 dias		$3,0 \times 10^6 \pm 1,0 \times 10^{6a,C}$	$4,0 \times 10^6 \pm 1,9 \times 10^{6a,C}$	$8,7 \times 10^6 \pm 6,2 \times 10^{6a,b,C}$	$2,8 \times 10^7 \pm 3,5 \times 10^{6b,C}$

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

Tabela 12: Evolução das contagens de Bolores e Leveduras (UFC/g) no 1° Ensaio.

Tempo	Alcaparras	Concentração de alcaparras (%)			
		0	3	5	7
0 dias		$< 1,0 \times 10^{1a,A}$	$< 1,0 \times 10^{1a,A}$	$< 1,0 \times 10^{1a,A}$	$1,2 \times 10^1 \pm 9,57 \times 10^{1a,A}$
2 dias	$2,0 \times 10^4 \pm 2,8 \times 10^3$	$< 1,0 \times 10^{1a,A}$	$1,9 \times 10^2 \pm 2,3 \times 10^{2a,A}$	$< 1,0 \times 10^1 \pm a,A$	$5,1 \times 10^2 \pm 6,8 \times 10^{2a,A}$
4 dias		$1,2 \times 10^4 \pm 1,9 \times 10^{4a,b,B}$	$4,6 \times 10^3 \pm 5,1 \times 10^{3a,B}$	$8,9 \times 10^3 \pm 7,2 \times 10^{3a,b,B}$	$4,0 \times 10^4 \pm 0,01^{b,B}$

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

4.2. 2° ENSAIO

Num segundo ensaio, foram elaborados pães com farinhas de trigo e centeio, com 0, 7 e 14% (m/m) de “alcaparras”, e pães com 0 e 7% (m/m) de “alcaparras” e com azeite.

4.2.1 Análises Físicas

Em relação às propriedades físicas, foram determinadas as dimensões, cor da cêdea, fundo e do miolo.

4.2.1.1 Dimensões

Da observação dos resultados da análise das dimensões (Tabela 13), verificou-se que embora se observassem, em algumas situações pontuais, diferenças significativas entre as amostras, estas eram muito semelhantes entre si, principalmente quando as amostras são comparadas temporalmente.

Tabela 13: Resultados da análise de diâmetro e altura das amostras do pão elaborados no 2° Ensaio.

Parâmetro	Tempo	Concentração de alcaparras (%)				
		0	7	14	0 com azeite	7 com azeite
Diâmetro (mm)	0 dias	67,3±3,5 ^{a,b,A}	65,5±2,6 ^{a,A}	67,0±2,8 ^{a,b,A}	78,7±5,2 ^B	72,9±5,1 ^{b,c,A}
	2 dias	65,5±4,6 ^{a,b,A}	64,6±4,3 ^A	66,4±4,6 ^{b,A}	71,5±1,7 ^{a,b,A}	73,1±1,5 ^{b,A}
	5 dias	64,2±3,2 ^{a,A}	64,8±5,8 ^{a,b,A}	67,9±2,9 ^{b,c,A}	70,6 ±3,2 ^{b,c,A}	72,0±1,3 ^{c,A}
Altura (mm)	0 dias	35,9±2,4 ^{a,A}	42,2±2,1 ^{b,c,A}	43,1±5,2 ^{c,A}	36,6±2,8 ^{a,b,A}	41,7±3,6 ^{a,b,c,A}
	2 dias	36,5±2,8 ^{a,A}	41,3±2,1 ^{a,b,A}	39,5±1,9 ^{a,b,A}	37,7±3,0 ^{a,b,A}	42,3±4,2 ^{b,A}
	5 dias	36,0±1,5 ^{a,A}	40,9±1,5 ^{b,A}	42,6±3,3 ^{b,A}	38,9±2,9 ^{a,b,A}	39,3±3,1 ^{a,b,A}

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

O maior valor obtido para a altura foi de 43,1 mm no pão de centeio com 14% de “alcaparras” e o menor valor foi de 35,9 mm no pão de centeio com 0% de “alcaparras”.

Na Figura 12 apresentam-se imagens do pão com diferentes percentagens de “alcaparras” e após a adição de azeite, onde podem ser visualizadas a coloração da cêdea e o formato dos pães produzidos.

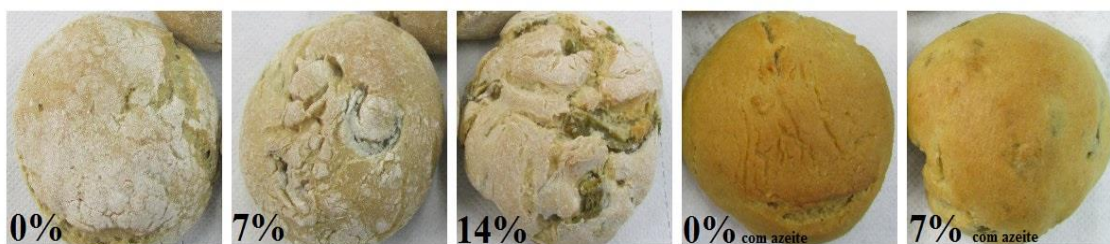


Figura 12: Pães de trigo e centeio com diferentes percentagens de “alcaparras” e com e sem azeite (0 dias).

4.2.1.2 Determinação da Cor

Um dos parâmetros de qualidade de um produto é a cor, sendo esta fundamental para a aceitação do produto. Os dados da cor da cêdea, fundo e miolo são apresentados nas Tabelas 14, 15 e 16, respetivamente.

Em termos de luminosidade, o fundo foi a parte do pão com menor luminosidade, não se tendo detetado qualquer relação com a percentagem de “alcaparras” na maioria das situações. Para a cêdea notou-se que no tempo de 0 dias, a luminosidade aumentou com a percentagem de “alcaparras” para o pão de centeio+trigo. A adição de azeite diminuiu o valor da luminosidade da cêdea. Em termos de miolo, no pão de centeio+trigo sem azeite, o aumento da percentagem de “alcaparras” não alterou o valor de L^* . A adição de azeite também não alterou o valor da luminosidade do miolo. Em termos gerais, na maioria das situações a luminosidade não variou com o tempo.

Os maiores valores de a^* , determinados no fundo dos pães indicam uma coloração mais avermelhada para esta zona do pão, possivelmente resultante da maior temperatura a que o fundo está sujeito. Nos pães com azeite observou-se um aumento nesta coordenada, ao nível da cêdea. No miolo dos pães de centeio+trigo com 14% de “alcaparras” sem azeite e nos pães elaborados com azeite (0 e 7% de “alcaparras”) observou-se um aumento significativo deste parâmetro ao segundo e quarto dias.

Foi no parâmetro b^* , sendo que maiores valores são característicos de uma forte coloração amarelada ou dourada, que se detetaram mais diferenças entre as amostras. Os maiores valores de b^* foram sempre observados nas amostras com azeite, indicando que este ingrediente afeta a cor do pão obtido, tal como observado na Figura 12. O tempo não afetou este parâmetro na maioria das situações.

Em relação ao parâmetro C^* , os valores mais elevados foram notados nas amostras com azeite, tendo sido a cêdea e o miolo as partes do pão onde esse aumento foi mais evidente.

Os menores valores de h^* foram observados no fundo, tendo a cõdea e o fundo dos pães com azeite (0 e 7% de “alcaparras”) apresentado os maiores valores para este parâmetro. Na maioria das situações não se observou qualquer variação com o tempo.

Em termos gerais, a adição de azeite teve um maior efeito na cor do pão do que a adição de “alcaparras”, diminuindo a luminosidade da cõdea, tornando-a mais avermelhada e amarelada. Em relação ao miolo, a adição de azeite aumentou a tonalidade amarela.

Tabela 14: Resultados da análise de cor da cõdea das amostras do pão elaboradas no 2º Ensaio.

Parâmetro	Tempo	Concentração de alcaparras (%)				
		0	7	14	0 com azeite	7 com azeite
L^*	0 dias	69,35±8,07 ^{a,b,A}	67,00±2,17 ^{b,A}	74,90±3,30 ^{a,A}	54,80±1,94 ^{c,A}	56,30±1,90 ^{c,A}
	2 dias	70,57±1,98 ^{c,A,B}	63,74±2,74 ^{b,A}	68,24±3,01 ^{c,A}	52,71±1,25 ^{a,A}	55,36±2,91 ^{a,A}
	5 dias	67,13±3,38 ^{a,A}	65,19±3,79 ^{a,A}	65,81±2,48 ^{a,A}	50,84±1,87 ^{b,A}	56,35±1,25 ^{c,A}
a^*	0 dias	4,97±2,21 ^{b,B}	5,46±0,55 ^{b,A}	2,70±0,79 ^{a,A}	9,69±1,55 ^{b,A}	10,15±1,80 ^{b,A}
	2 dias	4,34±0,82 ^{a,b,A}	6,02±1,30 ^{a,b,A}	4,38±0,81 ^{a,A}	10,07±1,36 ^{b,A}	8,27±2,78 ^{a,b,A}
	5 dias	3,59±0,79 ^{a,A}	3,22±2,94 ^{a,A}	3,89±2,99 ^{a,A}	11,70±1,11 ^{b,A}	8,07±1,56 ^{b,A}
b^*	0 dias	18,38±5,20 ^{a,b,A}	20,13±2,96 ^{b,A}	13,00±1,93 ^{a,A}	36,91±0,69 ^{c,B}	36,12±0,33 ^{c,A}
	2 dias	15,22±1,59 ^{a,A}	20,24±2,41 ^{b,A}	16,53±1,47 ^{a,b,A,B}	35,25±1,12 ^{c,A}	33,73±3,80 ^{c,A}
	5 dias	16,84±1,45 ^{a,A}	17,20±3,04 ^{a,A}	17,40±3,74 ^{a,B}	34,33±0,69 ^{b,A}	34,14±1,96 ^{b,A}
C^*	0 dias	19,09±5,45 ^{a,b,A}	20,88±2,87 ^{b,A}	13,28±2,01 ^{a,A}	38,19±0,75 ^{c,B}	37,55±0,53 ^{c,A}
	2 dias	15,83±1,74 ^{a,A}	21,14±2,49 ^{b,A}	17,11±1,45 ^{a,b,A,B}	36,68±1,38 ^{c,A}	34,78±4,26 ^{c,A}
	5 dias	17,23±1,54 ^{a,A}	17,66±3,36 ^{a,A}	18,00±3,90 ^{a,B}	36,28±0,69 ^{b,A}	35,10±2,18 ^{b,A}
h^*	0 dias	75,58±5,53 ^{a,A}	74,60±2,48 ^{a,A}	78,43±2,31 ^{a,A}	75,30±2,28 ^{a,B}	74,33±2,66 ^{a,A}
	2 dias	74,17±1,60 ^{a,A}	73,44±3,12 ^{a,A}	75,11±2,87 ^{a,A}	74,10±1,71 ^{a,B}	76,58±3,56 ^{a,A}
	5 dias	78,05±1,99 ^{a,A}	80,69±9,18 ^{a,A}	79,16±10,97 ^{a,A}	71,18±1,76 ^{a,A}	76,77±1,98 ^{a,A}

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

Tabela 15: Resultados da análise da cor do fundo das amostras do pão elaboradas no 2º Ensaio.

Parâmetro	Tempo	Concentração de alcaparras (%)				
		0	7	14	0 com azeite	7 com azeite
L^*	0 dias	45,72±1,76 ^{a,A}	48,40±2,33 ^{a,b,c,A}	53,95±4,49 ^{b,c,B}	47,47±0,82 ^{a,b,B}	51,26±1,92 ^{c,A}
	2 dias	46,42±4,91 ^{a,A}	48,80±4,45 ^{a,A}	47,64±2,67 ^{a,A,B}	45,28±1,69 ^{a,A,B}	50,53±3,89 ^{a,A}
	5 dias	46,74±6,03 ^{a,b,A}	48,36±3,19 ^{b,A}	46,68±5,21 ^{a,b,A}	41,10±3,24 ^{a,A}	43,11±2,61 ^{a,b,B}
a^*	0 dias	15,27±1,10 ^{b,B}	12,84±1,75 ^{b,A}	8,61±1,83 ^{a,A}	14,13±0,63 ^{b,A}	13,87±1,49 ^{b,A}
	2 dias	12,07±1,24 ^{a,b,A}	11,43±2,65 ^{a,b,A}	9,97±1,46 ^{a,A}	14,27±0,90 ^{b,A}	12,94±2,19 ^{a,b,A}
	5 dias	10,85±2,23 ^{a,A}	10,68±1,83 ^{a,A}	10,25±3,05 ^{a,A}	15,15±1,22 ^{b,A}	14,64±0,60 ^{b,A}
b^*	0 dias	27,92±1,65 ^{c,B}	22,77±3,52 ^{b,A}	17,66±1,54 ^{a,A}	34,21±1,25 ^{d,B}	36,11±0,78 ^{d,A}
	2 dias	20,33±2,74 ^{a,A}	21,77±3,50 ^{a,A}	18,20±3,08 ^{a,A}	31,76±2,01 ^{b,B}	33,64±0,99 ^{b,B}
	5 dias	19,94±4,44 ^{a,A}	22,29±3,41 ^{a,A}	19,41±2,97 ^{a,A}	28,61±2,59 ^{b,A}	28,76±2,24 ^{b,C}
C^*	0 dias	31,82±1,93 ^{b,B}	26,16±3,79 ^{a,b,A}	19,68±2,11 ^{a,A}	37,02±1,12 ^{c,B}	38,71±0,87 ^{c,C}
	2 dias	23,67±2,71 ^{a,A}	24,62±4,22 ^{b,A}	20,78±3,18 ^{c,A}	34,85±1,72 ^{b,A,B}	36,10±1,04 ^{b,B}
	5 dias	22,77±4,56 ^{a,A}	24,75±3,62 ^{a,A}	22,02±3,81 ^{a,A}	32,44±1,89 ^{b,A}	32,30±1,85 ^{b,A}
h^*	0 dias	61,34±0,88 ^{a,A}	60,46±2,26 ^{a,A}	64,24±3,25 ^{a,b,A}	67,54±1,30 ^{b,A}	69,00±2,15 ^{b,A}
	2 dias	59,16±3,14 ^{a,A}	62,51±2,88 ^{a,b,A}	61,17±3,43 ^{a,b,A}	65,74±2,28 ^{b,c,A,B}	69,00±3,48 ^{c,A}
	5 dias	61,16±5,08 ^{a,A}	64,33±3,06 ^{a,A}	62,60±5,23 ^{a,A}	61,95±3,82 ^{a,B}	62,92±2,50 ^{a,B}

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes

letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

Tabela 16: Resultados da análise da cor do miolo das amostras do pão elaborados no 2º Ensaio.

Parâmetro	Tempo	Concentração de alcaparras (%)				
		0	7	14	0 com azeite	7 com azeite
<i>L</i> *	0 dias	62,75±1,64 ^{b,B}	60,03±2,62 ^{a,b,B}	58,02±3,79 ^{a,A}	60,15±2,92 ^{a,b,B}	63,49±1,87 ^{b,A}
	2 dias	58,00±0,90 ^{a,b,A}	55,37±2,06 ^{a,A}	57,01±1,87 ^{a,A}	58,17±1,61 ^{b,c,A,B}	61,18±3,55 ^{b,A}
	5 dias	56,88±1,78 ^{a,A}	59,05±4,13 ^{a,A,B}	54,54±7,08 ^{a,A}	57,02±1,01 ^{a,A}	60,63±0,86 ^{a,A}
<i>a</i> *	0 dias	1,67±0,18 ^{b,A}	1,35±0,45 ^{b,A}	1,24±0,20 ^{b,A}	0,27±0,34 ^{a,A}	0,28±0,19 ^{a,A}
	2 dias	1,90±0,14 ^{b,A}	1,69±0,34 ^{b,A}	1,70±0,21 ^{b,B}	0,65±0,15 ^{a,A,B}	0,47±0,16 ^{a,A,B}
	5 dias	0,83±1,78 ^{a,A}	1,47±0,43 ^{b,A}	1,81±0,40 ^{c,B}	0,76±0,10 ^{a,b,B}	0,70±0,20 ^{a,B}
<i>b</i> *	0 dias	16,63±0,31 ^{a,A}	16,94±0,57 ^{a,A}	16,99±1,01 ^{a,A}	21,06±0,53 ^{b,A}	21,56±0,27 ^{b,A}
	2 dias	15,82±0,60 ^{a,A}	16,34±0,95 ^{a,A}	16,48±1,19 ^{a,A}	21,30±0,48 ^{b,A}	21,71±1,31 ^{b,A}
	5 dias	14,04±2,28 ^{a,A}	15,90±0,97 ^{a,A}	16,45±0,89 ^{a,A}	20,91±0,30 ^{b,A}	21,47±0,64 ^{b,A}
<i>C</i> *	0 dias	16,72±0,32 ^{a,A}	17,00±0,57 ^{a,A}	17,04±1,01 ^{a,A}	21,06±0,54 ^{b,A}	21,57±0,27 ^{b,A}
	2 dias	15,94±0,61 ^{a,A}	16,43±0,96 ^{a,A}	16,57±1,17 ^{a,A}	21,31±0,48 ^{b,A}	21,72±1,31 ^{b,A}
	5 dias	14,15±2,30 ^{a,A}	15,97±0,98 ^{a,A}	16,55±0,92 ^{a,A}	20,93±0,30 ^{b,A}	21,49±0,65 ^{b,A}
<i>h</i> *	0 dias	84,26±0,58 ^{a,B}	85,44±1,50 ^{a,b,A}	85,84±0,60 ^{b,B}	89,30±0,91 ^{c,B}	89,27±0,51 ^{c,A}
	2 dias	83,15±0,32 ^{a,A}	84,11±1,02 ^{a,A}	84,06±0,99 ^{a,A}	88,26±0,39 ^{b,A,B}	88,76±0,39 ^{b,A,B}
	5 dias	87,52±7,49 ^{a,b,A,B}	84,72±1,48 ^{a,A}	83,75±1,13 ^{a,A}	87,92±0,30 ^{b,A}	88,15±0,49 ^{b,B}

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

4.2.2 Análises Químicas

Da observação dos resultados das análises químicas (Tabela 18), verificou-se novamente que o valor de pH nos pães diminuiu com a adição das “alcaparras”, tendo sido o maior valor (6,03) obtido no pão com 0% de “alcaparras” e com azeite. O valor do pH não se alterou ao longo do tempo, com exceção do pão com 7% de “alcaparras” e azeite entre os 0 e o segundo dia.

Em relação ao teor de cinzas, ao aumentar a percentagem de “alcaparras”, observou-se um aumento no teor de cinzas, o que pode ser justificado pelo elevado teor de cinzas das “alcaparras” (6,35%). SOUZA, et al. (2011) refere que os valores de cinzas das “alcaparras” podem variar entre 1,0% e 8,3%, tendo uma média equivalente a 3,4%, resultado da presença do sal (salmoura) na sua conservação.

Em termos de proteínas, ao adicionar “alcaparras” ao pão com centeio+trigo, com e sem azeite, observou-se um decréscimo na percentagem de proteínas. De facto as “alcaparras” apresentam baixos valores de proteínas, com uma média de 2,72%. Segundo um estudo realizado por CONDE (2008), a polpa da azeitona de mesa apresenta valores baixos de proteína, cerca de 3%, sendo a água (60%) o maior contribuinte. Já a adição de azeite, ao comparar o pão sem “alcaparras” e com 7%, acarretou um aumento do teor de proteína.

Tabela 17: Resultados da análise química das amostras do pão elaboradas no 2º Ensaio.

Parâmetros	Tempo	Alcaparras	Concentração de alcaparras (%)				
			0	7	14	0 com azeite	7 com azeite
pH	0 dias		6,01±0,02 ^{c,A}	5,92±0,02 ^{b,A}	5,87±0,02 ^{a,A}	5,99±0,02 ^{c,A}	5,97±0,02 ^{c,B}
	2 dias	4,97±0,04	6,02±0,03 ^{d,A}	5,95±0,01 ^{b,c,A}	5,87±0,01 ^{a,A}	6,00±0,03 ^{c,d,A}	5,93±0,02 ^{b,A}
	5 dias		6,02±0,02 ^{c,A}	5,94±0,01 ^{b,A}	5,86±0,02 ^{a,A}	6,03±0,01 ^{c,A}	5,95±0,01 ^{a,A,B}
Humidade (%)	0 dias		33,83	34,56	34,19	23,55	27,07
	2 dias	35,50±4,75	32,48	34,37	32,18	21,44	25,51
	5 dias		34,38	33,08	33,94	23,23	25,68
Cinzas (% p.f.)	0 dias		1,57±0,03 ^{b,A}	2,21±0,01 ^{d,A}	2,69±0,01 ^{c,A}	1,33±0,01 ^{a,A}	1,91±0,01 ^{c,A}
	2 dias	6,35±0,45	1,56±0,01 ^{b,A}	2,04±0,30 ^{a,b,c,A,B}	2,95±0,05 ^{c,B}	1,38±0,02 ^{a,B}	1,97±0,11 ^{b,A,B}
	5 dias		1,54±0,01 ^{b,A}	2,10±0,01 ^{d,B}	2,88±0,01 ^{c,B}	1,34±0,02 ^{a,A,B}	1,98±0,02 ^{c,B}
Proteínas (% p.f.)	0 dias		8,50±0,11 ^{b,A}	8,25±0,05 ^{a,A}	8,17±0,08 ^{a,A}	8,85±0,02 ^{c,A}	8,33±0,05 ^{a,b,A}
	2 dias	2,72±0,33	8,49±0,07 ^{a,b,A}	8,25±0,06 ^{a,A}	8,10±0,26 ^{a,b,c,A}	8,94±0,12 ^{c,A}	8,68±0,02 ^{b,c,B}
	5 dias		8,38±0,05 ^{a,b,A}	8,49±0,03 ^{b,B}	8,24±0,05 ^{a,A}	8,98±0,03 ^{c,A}	8,42±0,20 ^{a,b,c,A,B}
Gordura (% p.f.)	0 dias		1,48±0,07 ^{a,B}	2,88±0,09 ^{b,C}	3,60±0,07 ^{c,A}	13,97±0,18 ^{d,C}	13,77±1,07 ^{d,A}
	2 dias	8,97±0,27	1,38±0,24 ^{a,A,B}	2,60±0,07 ^{b,B}	3,76±0,32 ^{c,A}	12,51±0,56 ^{d,B}	12,70±0,59 ^{d,A}
	5 dias		1,08±0,01 ^{a,A}	1,92±1,03 ^{a,A}	3,39±0,48 ^{a,A}	11,38±0,42 ^{b,A}	12,77±0,22 ^{b,A}
Teor de Sal (% p.f.)	0 dias		0,88±0,09 ^{a,b,A}	1,21±0,01 ^{b,d,A}	2,09±0,09 ^{c,A}	0,84±0,05 ^{a,A}	1,23±0,05 ^{d,A}
	2 dias	5,45±0,01	0,88±0,05 ^{b,A}	1,17±0,05 ^{c,A}	2,18±0,05 ^{c,A}	0,90±0,01 ^{a,A}	1,29±0,09 ^{b,A}
	5 dias		0,80±0,04 ^{b,A}	1,21±0,05 ^{c,A}	2,17±0,04 ^{c,A}	0,90±0,05 ^{a,A}	1,31±0,05 ^{b,A}

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

Foi na gordura que se observaram as maiores diferenças. A adição de azeite acarretou um aumento significativo (cerca de 4 vezes) no teor de gordura. A adição de “alcaparras” aumentou o teor de gordura, sendo esse aumento mais evidente no pão de centeio+trigo sem azeite com 7 e 14% de “alcaparras”.

A adição de “alcaparras” ao pão acarretou um aumento no teor de sal do pão, tendo o pão com 14% de alcaparras ultrapassado o teor máximo permitido pela Lei n° 75/2009, que é de 1,4 g por 100 g de pão. Assim, este pão não poderia ser comercializado, devendo a percentagem de “alcaparras” ser reduzida.

4.2.3 Atividade Antioxidante

4.2.3.1 Capacidade redutora total

Os resultados obtidos para a capacidade redutora total dos pães, com farinha de centeio+trigo e “alcaparras”, estão representados na Figura 13. A capacidade redutora total foi analisada aos 0 e 2 dias, e notou-se que com o tempo de armazenamento a atividade antioxidante teve um decréscimo significativo. Ao considerar a adição de “alcaparras” nos pães de centeio+trigo, os valores da capacidade redutora variaram entre 0,274 mg GAE/g mat. fresca e 0,478 mg GAE/g mat. fresca para o pão de centeio com 0% e 14% de “alcaparras”, ambos sem azeite, observando-se assim um aumento no teor de compostos fenólicos.

Quando comparados os pães de centeio+trigo e “alcaparras”, com e sem adição de azeite, constataram-se resultados semelhantes. Este facto pode estar relacionado com o pão ter sofrido um tratamento térmico, e com isto o azeite ter perdido as suas propriedades antioxidantes. Assim como verificou CERRETANI et al. (2009), que estudou a atividade antioxidante nos azeites após terem sofrido aquecimento doméstico, como a fritura, e o aquecimento convencional, estes autores constataram que esses tratamentos podiam afetar os compostos fenólicos, a estabilidade à oxidação e a degradação do azeite.

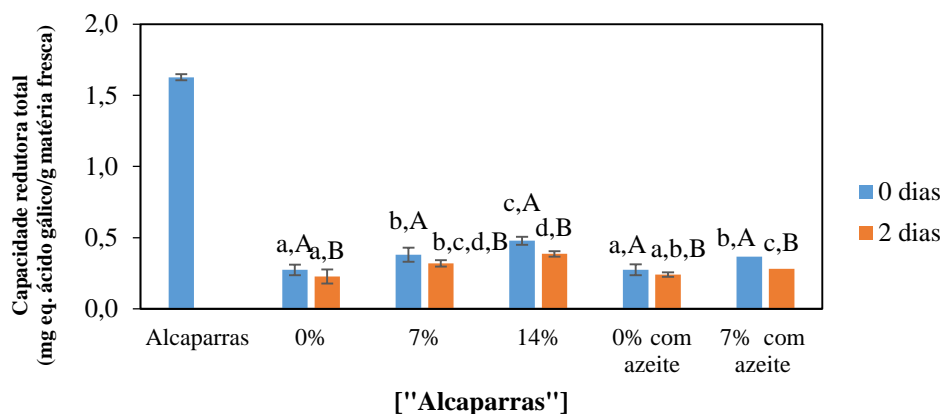


Figura 13: Capacidade redutora total dos pães de centeio+trigo com e sem azeite elaborados no 2º Ensaio.

Nota: Diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

Quando comparados os tipos de farinha, encontraram-se valores de 0,217 mg GAE/g de matéria fresca para o pão elaborado unicamente com farinha de trigo e 0,274 mg GAE/g de matéria fresca para o pão produzido com farinhas de centeio+trigo, ambos sem “alcaparras”. Observou-se, assim, que os valores para farinha de trigo foram inferiores aos da farinha de centeio+trigo, indicando que a farinha de centeio será mais rica em compostos com capacidade redutora. Estes resultados foram semelhantes aos descritos por MICHALSKA, et al. (2007), o qual comparou as propriedades antioxidantes de pães de centeio com as de pães de trigo, indicando que o pão de centeio é uma fonte mais rica em compostos fenólicos do que a farinha de trigo.

4.2.3.2 Efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH

O poder antioxidante dos pães de centeio+trigo com “alcaparras”, em termos do efeito bloqueador de radicais livres DPPH, encontra-se representado na Figura 14. Em relação à percentagem de “alcaparras”, os valores variaram entre 19,80% e 47,34%, nos pães com 0 e 14% de “alcaparras”, respetivamente, ambos no tempo de 0 dias. Verificou-se mais uma vez que, com o aumento da percentagem de “alcaparras”, se observou um maior efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH.

Nota-se que para todos os pães de centeio+trigo elaborados, não se observou uma diferença significativa em relação ao tempo de armazenamento (0 e 2 dias). Quanto à adição de azeite no pão com “alcaparras”, o mesmo não teve influência sobre o efeito bloqueador de radicais livres de DPPH, assim como observado na capacidade redutora total.

Ao compararmos os diferentes tipos de farinha, o pão de centeio+trigo (2º Ensaio) e o pão de trigo (1º Ensaio), ambos sem “alcaparras”, apresentaram valores de 19,80% e 7,83%, respectivamente, mostrando um maior efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH da farinha de centeio. Porém, para os pães de centeio+trigo e só com trigo, ambos com 7% de “alcaparras”, os valores do efeito bloqueador foram de 33,01% e 33,06%, respectivamente, sugerindo que o poder antioxidante das “alcaparras” se sobrepõe ao efeito da farinha.

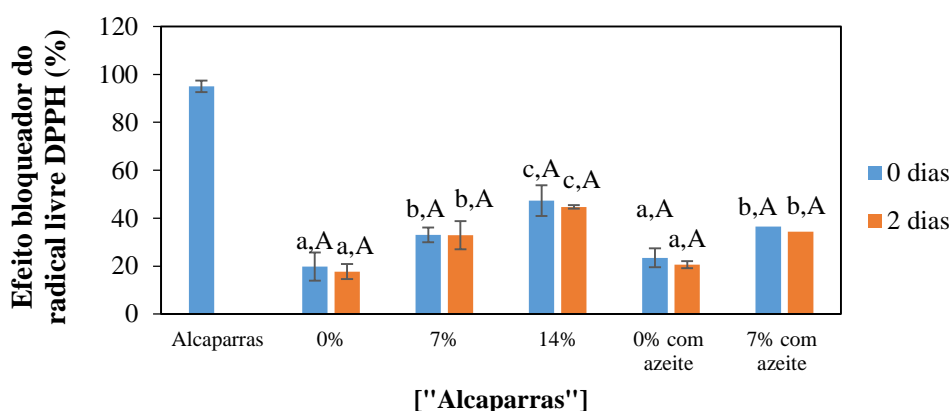


Figura 14: Efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH para uma solução de extrato com uma concentração de 4,17 mg de extrato/mL para os pães de centeio+trigo elaborados no 2º Ensaio. Nota: Diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

4.2.3.3. Poder Redutor

Os resultados obtidos para o poder redutor estão apresentados na Figura 15, observando-se um aumento do poder redutor à medida que se aumenta a concentração dos extratos. Quanto à adição de “alcaparras” ao pão, constatou-se que nos pães de centeio+trigo se observou um aumento do poder redutor ao aumentar a percentagem de “alcaparras”.

Na Figura 16 encontram-se os valores de EC_{50} para os pães de centeio+trigo elaborados no 2º Ensaio. Os pães com as maiores percentagens de “alcaparras” demonstraram um maior poder redutor, o que significa uma maior atividade antioxidante, traduzida num valor inferior de EC_{50} .

Os valores de EC_{50} nos pães sem “alcaparras” variaram entre 12,54 e 13,03 mg de extrato/mL nos pães de trigo, enquanto nos pães de centeio+trigo variaram entre 11,86 e 10,34 mg de extrato/mL, nos tempos de 0 e 2 dias, respectivamente. Assim,

estes resultados sugerem novamente que a farinha de centeio é uma melhor fonte de antioxidantes em comparação com a farinha de trigo.

Relativamente à adição de azeite, no tempo de 0 dias, observou-se que os pães com azeite apresentaram um maior poder redutor (menor valor de EC₅₀) face aos pães sem adição de azeite. Contudo, no segundo dia essas diferenças não foram significativas.

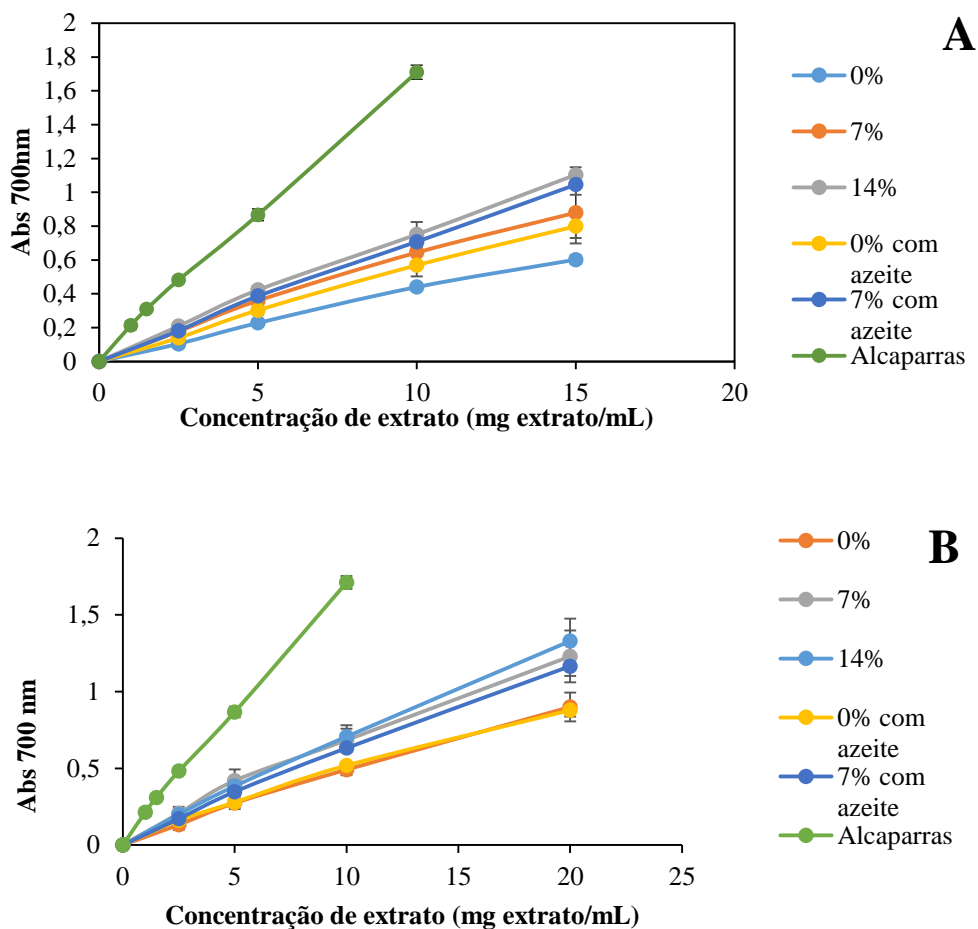


Figura 15: Poder redutor dos pães de centeio+trigo elaborados no 2º Ensaio. A) 0 dias; B) 2 dias.

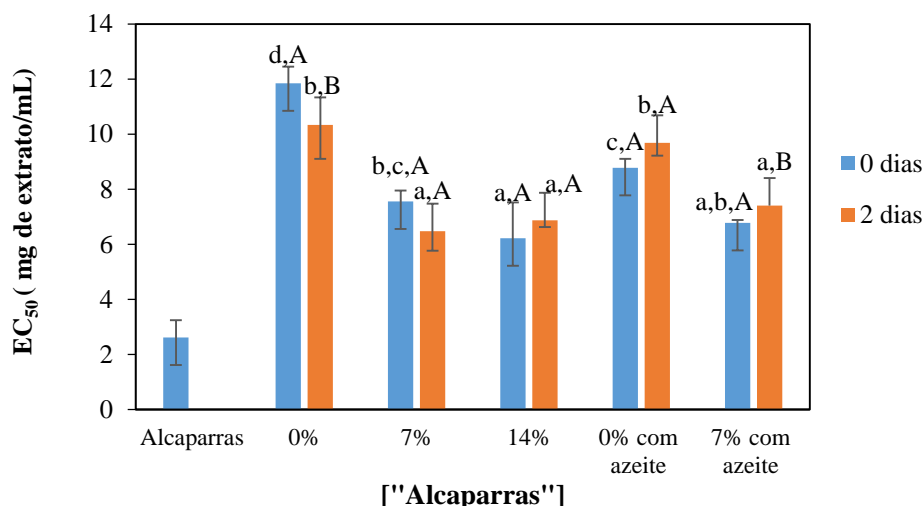


Figura 16: Valores de EC₅₀ determinados no ensaio do poder redutor nos pães de centeio+trigo com “alcaparras” elaborados no 2º Ensaio.

Nota: Diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

4.2.4 Análises Microbiológicas

Os resultados das análises microbiológicas do 2º Ensaio realizadas às “alcaparras” e aos pães elaborados estão representados nas Tabelas 19 e 20. A Tabela 19 evidencia a evolução dos microrganismos mesófilos ao longo dos 5 dias testados. À semelhança do ensaio anterior, observou-se um aumento da população no período testado, sendo estes valores significativos em todas as amostras analisadas do 2º para o 5º dia (aumentos na ordem dos 3 a 5 logaritmos). Assim ao 5º dia todas as amostras analisadas apresentavam valores considerados não satisfatórios, de acordo com os valores guia do INSA (SANTOS et al., 2005).

Refira-se, porém, que os valores da população de mesófilos no pão com 7% de “alcaparras” e azeite mantiveram-se praticamente constantes nos tempos de 0 e 2 dias, sugerindo que o azeite exerceu um efeito inibitório no crescimento de microrganismos no pão.

No que diz respeito aos bolores e leveduras, os maiores valores observaram-se ao 5º dia em todas as amostras analisadas, onde já se notava a presença evidente de bolores com aspeto esbranquiçado e esverdeado, tal como se pode observar na Figura 17. As características intrínsecas do alimento, designadamente, pH, atividade da água, composição do alimento, bem como as condições gerais de higiene no processamento, a qualidade da matéria-prima e as condições de armazenamento são

fatores que influenciam o desenvolvimento microbiano e, por conseguinte, o tempo de vida útil do produto alimentar.



Figura 17: Aspeto exterior dos pães ao quinto dia após confeitura.

As maiores contagens de microrganismos totais a 30 °C e de bolores e leveduras observadas no pão com 0% e 7% de alcaparras poderão estar correlacionados com a menor concentração de sal, com maiores valores de pH, e com o teor de humidade do alimento.

Em relação aos resultados obtidos na avaliação microbiológica da qualidade do ar interior da padaria, obtiveram-se valores de 379,57 UFC/m³ e 491,37 UFC/m³ para os microrganismos mesófilos totais e fungos, respetivamente. Estes valores são inferiores aos limites referenciados pelo Decreto-Lei n.º 79/2006 (500 UFC/m³), indicando uma boa qualidade do ar interior. Assim, o desenvolvimento de microrganismos no produto não se deveu a uma elevada presença destes microrganismos no ar nas áreas de processamento, que poderiam contribuir para a contaminação dos alimentos, afetando a sua qualidade.

Tabela 18: Evolução das contagens de microrganismos totais a 30 °C (UFC/g) no 2° Ensaio.

Tempo	Alcaparras	Concentração de alcaparras (%)				
		0 %	7 %	14%	0% com azeite	7% com azeite
0 dias		$1,8 \times 10^1 \pm 1,4 \times 10^{1a,A}$	$2,0 \times 10^1 \pm 1,0 \times 10^{1a,A}$	$4,0 \times 10^1 \pm 3,9 \times 10^{1a,A}$	$3,7 \times 10^1 \pm 3,9 \times 10^{1a,A}$	$1,0 \times 10^2 \pm 9,8 \times 10^{1a,A}$
2 dias	$2,2 \times 10^2 \pm 1,0 \times 10^{-3}$	$1,8 \times 10^4 \pm 8,8 \times 10^{3c,B}$	$1,5 \times 10^4 \pm 1,2 \times 10^{3b,c,B}$	$6,3 \times 10^2 \pm 2,2 \times 10^{2a,b,B}$	$7,8 \times 10^3 \pm 7,5 \times 10^{2a,b,B}$	$2,0 \times 10^2 \pm 2,7 \times 10^{2a,A}$
5 dias		$1,1 \times 10^7 \pm 3,9 \times 10^{5b,C}$	$1,4 \times 10^7 \pm 7,5 \times 10^{6b,C}$	$5,1 \times 10^6 \pm 2,8 \times 10^{6a,b,C}$	$1,1 \times 10^6 \pm 5,9 \times 10^{5a,C}$	$3,5 \times 10^6 \pm 1,9 \times 10^{6a,bB}$

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

Tabela 19: Evolução das contagens de Bolores e Leveduras (UFC/g) no 2° Ensaio.

Tempo	Alcaparras	Concentração de alcaparras (%)				
		0 %	7 %	14%	0% com azeite	7% com azeite
0 dias		$1,0 \times 10^{1a,A}$	$1,7 \times 10^1 \pm 2,8 \times 10^{1a,A}$	$2,3 \times 10^1 \pm 2,8 \times 10^{1a,A}$	$3,4 \times 10^1 \pm 5,7 \times 10^{1a,A,B}$	$2,3 \times 10^1 \pm 2,31 \times 10^{1a,A}$
2 dias	$3,6 \times 10^2 \pm 1,0 \times 10^{-3}$	$1,0 \times 10^1 \pm 1,2 \times 10^{1a,A}$	$1,0 \times 10^{1a,A,B}$	$1,0 \times 10^{1a,A}$	$1,0 \times 10^{1a,A}$	$7,33 \times 10^1 \pm 1,1 \times 10^{1a,A}$
5 dias		$1,9 \times 10^5 \pm 1,9 \times 10^{5a,B}$	$7,1 \times 10^4 \pm 1,2 \times 10^{5a,B}$	$8,6 \times 10^4 \pm 9,9 \times 10^{4a,B}$	$1,9 \times 10^3 \pm 1,7 \times 10^{3a,B}$	$1,6 \times 10^4 \pm 2,7 \times 10^{3a,B}$

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

4.2.5 Análise Sensorial

No setor alimentício a análise sensorial é de grande importância para avaliar a aceitabilidade de um produto por parte do consumidor e em simultâneo avaliar a qualidade do mesmo. A análise sensorial dos cinco tipos de pão foi realizada no dia da confeção dos pães e após 2 dias, tendo sido realizada por doze provadores não treinados, 4 homens e 8 mulheres, com idades compreendidas entre os 20 e os 55 anos (Figura 18).

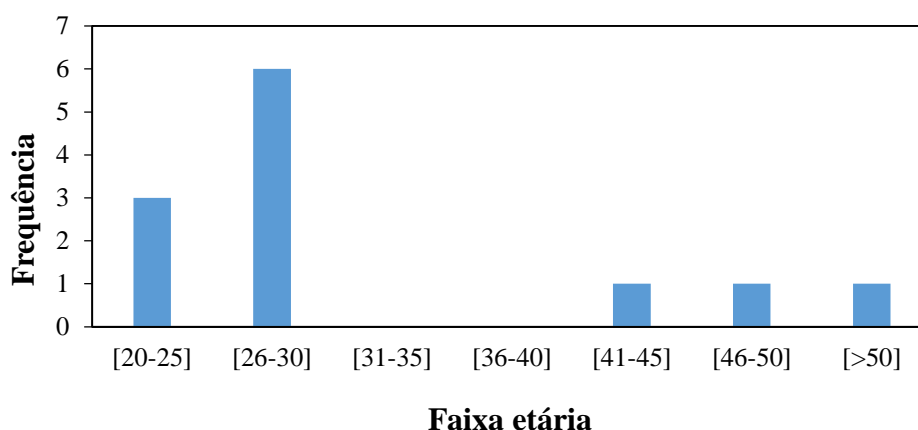


Figura 18: Histograma de frequência das idades dos provadores.

Na Tabela 21 apresentam-se os resultados obtidos nas determinações sensoriais executadas aos diferentes tipos de pães.

Em termos sensoriais, verificou-se que os provadores não conseguiram detectar diferenças significativas entre as amostras. Contudo, após dois dias observou-se para alguns parâmetros uma menor classificação.

Em termos médios (Figura 19), após confeção (0 dias), o pão de centeio+trigo com azeite e 7% de “alcaparras” foi o que apresentou a melhor classificação em termos de textura global, seguido pelo pão com azeite e 0% de “alcaparras”. Já em relação à aparência exterior e cor da crosta, o pão com 7% de “alcaparras” (sem azeite) foi o que obteve a melhor classificação. O pão com 14% de “alcaparras” foi o que apresentou a melhor classificação na cor do miolo. O pão de centeio+trigo com azeite foi o pior classificado em termos de cheiro/odor. Já em termos de dureza, aparência do miolo em relação ao número e tamanho dos alvéolos e sabor, todos os pães elaborados apresentaram uma classificação semelhante. Contudo, pode-se verificar que quanto ao sabor, os pães apresentaram uma classificação entre 5 e 6, indicando ser ligeiramente aceitável e muito aceitável.

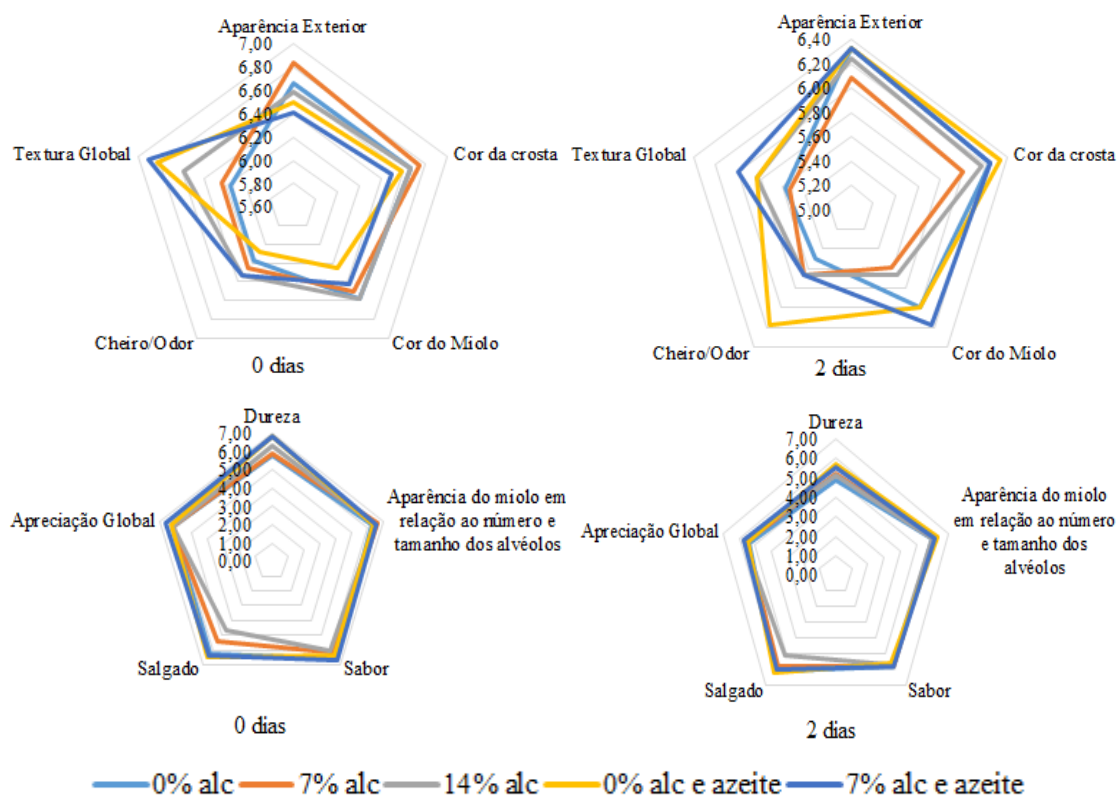


Figura 19: Resultados da análise sensorial dos pães elaborados no 2º Ensaio.

No que se refere à característica de “salgado”, o pão de azeite com 0% de “alcaparras” foi o que apresentou a maior pontuação, ao contrário do pão de centeio com 14% de “alcaparras” sem azeite. Relativamente à apreciação global, todos os pães apresentaram uma boa classificação, tendo o pão de centeio com azeite e 7% de “alcaparras” obtido a maior pontuação, em termos médios, tendo sido o preferido.

Após dois dias de armazenamento, observou-se, em algumas situações, uma alteração na pontuação relativamente à textura global, aparência exterior, cor da crosta, cor do miolo e cheiro/odor. O pão de centeio+trigo com azeite e 7% de “alcaparras” foi o que apresentou a maior classificação em termos médios de textura global e cor do miolo. Já em termos de cor da crosta e cheiro/odor, os pães de centeio+trigo com azeite (0% de “alcaparras”) foram os melhores classificados.

Tabela 20: Resultados da análise sensorial das amostras de pão elaborados no 2º Ensaio.

Parâmetros	Tempo	Concentração de alcaparras (%)				
		0 %	7 %	14%	0% com azeite	7% com azeite
Aparência Exterior	0 dias	6,67±0,47 ^{a,A}	6,83±0,37 ^{a,A}	6,58±0,86 ^{a,A}	6,50±0,50 ^{a,A}	6,42±0,49 ^{a,A}
	2 dias	6,33±0,62 ^{a,A}	6,08±0,64 ^{a,B}	6,25±0,60 ^{a,A}	6,33±0,47 ^{a,A}	6,33±0,47 ^{a,A}
Cor da crosta	0 dias	6,67±0,47 ^{a,A}	6,75±0,43 ^{a,A}	6,67±0,47 ^{a,A}	6,58±0,49 ^{a,A}	6,50±0,50 ^{a,A}
	2 dias	6,25±0,43 ^{a,B}	6,00±0,58 ^{a,B}	6,17±0,55 ^{a,B}	6,33±0,47 ^{a,A}	6,25±0,43 ^{a,A}
Cor do Miolo	0 dias	6,58±0,49 ^{a,A}	6,50±0,50 ^{a,A}	6,58±0,64 ^{a,A}	6,25±0,72 ^{a,A}	6,42±0,64 ^{a,A}
	2 dias	6,00±0,71 ^{a,B}	5,58±0,95 ^{a,B}	5,67±0,94 ^{a,B}	6,00±0,71 ^{a,A}	6,17±0,55 ^{a,A}
Cheiro/ Odor	0 dias	6,17±0,69 ^{a,A}	6,25±0,72 ^{a,A}	6,33±0,85 ^{a,A}	6,08±0,76 ^{a,A}	6,33±0,47 ^{a,A}
	2 dias	5,50±0,96 ^{a,A}	5,67±0,62 ^{a,A}	5,67±0,94 ^{a,A}	6,17±0,37 ^{a,A}	5,67±0,62 ^{a,B}
Textura Global	0 dias	6,17±1,28 ^{a,A}	6,25±0,83 ^{a,A}	6,58±0,49 ^{a,A}	6,83±0,37 ^{a,A}	6,91±0,29 ^{a,A}
	2 dias	5,58±1,04 ^{a,A}	5,55±0,78 ^{a,A}	5,83±0,55 ^{a,B}	5,83±0,55 ^{a,B}	6,00±0,41 ^{a,A}
Dureza	0 dias	5,83±1,21 ^{a,A}	5,91±1,08 ^{a,A}	6,33±0,75 ^{a,A}	6,83±0,37 ^{a,A}	6,82±0,39 ^{a,A}
	2 dias	4,92±1,32 ^{a,A}	5,25±0,72 ^{a,A}	5,17±0,69 ^{a,B}	5,67±1,03 ^{a,B}	5,50±1,12 ^{a,A}
Aparência do miolo em relação ao número e tamanho dos alvéolos	0 dias	6,33±0,62 ^{a,A}	6,67±0,47 ^{a,A}	6,50±0,50 ^{a,A}	6,42±0,49 ^{a,A}	6,58±0,49 ^{a,A}
	2 dias	6,00±0,58 ^{a,A}	6,08±0,49 ^{a,B}	6,00±0,58 ^{a,B}	6,33±0,47 ^{a,A}	6,17±0,55 ^{a,A}
Sabor	0 dias	6,58±0,49 ^{a,A}	6,17±0,55 ^{a,A}	6,00±0,91 ^{a,A}	6,33±0,47 ^{a,A}	6,67±0,47 ^{a,A}
	2 dias	5,82±1,03 ^{a,B}	5,83±0,80 ^{a,A}	5,67±0,85 ^{a,B}	5,58±1,11 ^{a,B}	5,75±1,16 ^{a,B}
Salgado	0 dias	6,27±0,62 ^{a,A}	5,45±1,30 ^{a,A}	4,64±1,43 ^{a,A}	6,50±0,50 ^{a,A}	6,36±0,77 ^{a,A}
	2 dias	6,08±0,86 ^{a,b,A}	5,75±1,01 ^{a,b,A}	5,08±0,86 ^{a,A}	6,25±0,60 ^{b,A}	6,00±0,58 ^{a,b,A}
Apreciação Global	0 dias	6,25±0,72 ^{a,A}	6,17±0,55 ^{a,A}	6,17±0,69 ^{a,A}	6,33±0,62 ^{a,A}	6,67±0,47 ^{a,A}
	2 dias	5,42±0,86 ^{a,B}	5,58±0,64 ^{a,B}	5,75±0,83 ^{a,B}	5,50±0,96 ^{a,B}	5,75±1,16 ^{a,B}

Nota: Na mesma linha, diferentes letras minúsculas indicam que as amostras com o mesmo tempo de armazenamento são significativamente diferentes entre si em relação à % de “alcaparras” ($p < 0,05$). Na mesma coluna, diferentes letras maiúsculas indicam que as amostras com a mesma percentagem de “alcaparras” são significativamente diferentes entre si em relação ao tempo de armazenamento ($p < 0,05$).

Relativamente à dureza, aparência do miolo em relação ao número e tamanho dos alvéolos, sabor e apreciação global, todos os pães apresentaram uma classificação semelhante. Em termos de apreciação global o pão de centeio+trigo com azeite e 7% de “alcaparras” continuou a ser o melhor classificado, ex aequo com pão de centeio+trigo sem azeite e 14% de “alcaparras”, ambos com uma pontuação média de cerca de 5,75.

No caso da aparência do miolo em relação à presença de “alcaparras” (Figura 20), nos pães sem azeite e com “alcaparras” (7 e 14%), a aceitação foi maior no primeiro dia, tendo sido o pão com 14% de “alcaparras” o preferido. Já para o pão com azeite e “alcaparras” (7%) não se observaram diferenças entre os dois tempos.

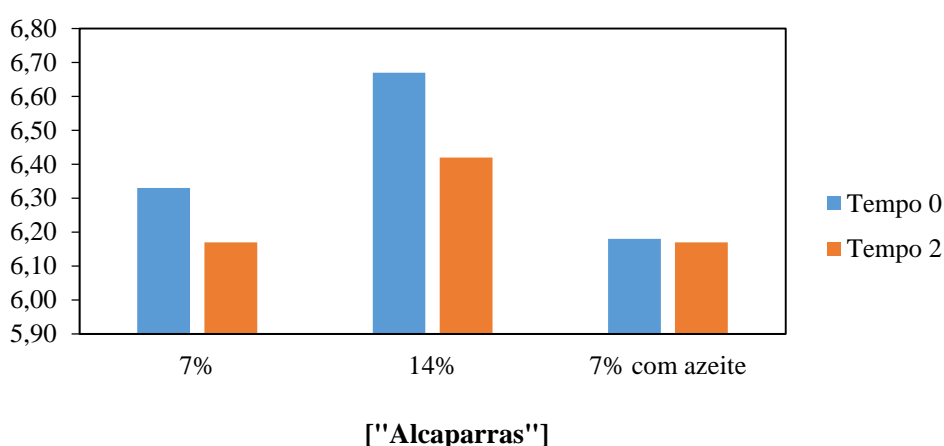


Figura 20: Aparência do miolo em relação à presença das alcaparras.

4.2.6 Análise do Azeite

Para determinar a qualidade do azeite utilizam-se alguns parâmetros químicos, como o grau de acidez, o qual está relacionado com a quantidade de ácidos gordos livres, sendo expresso em termos de ácido oleico. O grau de acidez num azeite poderá aumentar devido ao ataque de pragas aos frutos, má conservação, entre outros. Outras características importantes são o índice de peróxidos que determina a oxidação inicial do azeite, e os valores obtidos na espectrometria no ultravioleta, que também permite detetar o grau de oxidação do azeite.

O azeite para ser considerado como virgem extra deve obedecer a uma série de parâmetros químicos e sensoriais. De acordo com o Regulamento (CE) n° 1989/2003 da Comissão de 6 de novembro de 2003, relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, e no qual também se descrevem os métodos de análise, a acidez deve ser $\leq 0,8\%$, o índice de peróxidos ≤ 20 mEq.O₂/kg, o K₂₃₂ $\leq 2,50$, o K₂₇₀ $\leq 0,22$ e o

$\Delta K \leq 0,01$. Além dos parâmetros químicos, o azeite deve estar isento de defeitos sensoriais e deve apresentar uma mediana do frutado superior a zero. Na Tabela 21 estão apresentados os valores médios resultantes das determinações efetuadas para a acidez, índice de peróxido e espectroscopia no ultravioleta ao azeite utilizado no fabrico dos pães.

Tabela 21: Valores médios dos parâmetros de qualidade [acidez (% ácido oleico); índice de peróxido (m Eq.O₂/Kg); K₂₃₂; K₂₇₀ e ΔK].

Acidez	IP	K ₂₃₂	K ₂₇₀	ΔK
0,313±0,05	11,34±0,97	2,50±0,19	0,16±0,01	-0,09±0,001

Estes dados demonstram a elevada qualidade do azeite testado, o qual segundo o rótulo indicava ser um azeite virgem extra. Assim, segundo os parâmetros químicos, o azeite analisado obedecia a essa classificação. No entanto, refira-se que a análise sensorial não foi realizada. Sendo assim, não se pode afirmar com absoluta certeza que o azeite seria classificado como virgem extra.

Além dos parâmetros de qualidade, também foi realizada a análise de estabilidade oxidativa no azeite, para o qual se encontrou um período de indução de 7,85 horas.

Capítulo V

CONCLUSÕES

O objetivo deste estudo centrou-se na caracterização do pão transmontano ao qual foram adicionadas azeitonas descaroçadas, conhecidas como “alcaparras”, e azeite. Verificou-se que ao aumentar a percentagem de “alcaparras”, se observou um acréscimo nos teores de sal e gordura, estando este facto relacionado com as características das “alcaparras”. Deve ser referido que o pão com 14% (m/m) de “alcaparras” apresentou um teor em sal que ultrapassou o valor legal, devendo ser utilizada uma menor percentagem. Aos pães que se adicionaram azeite, observou-se um aumento de cerca de quatro vezes no teor de gordura em comparação com aqueles aos quais não foi adicionado azeite. A capacidade antioxidante do pão aumentou com a adição de “alcaparras”, tendo-se contudo observado um decréscimo ao longo do tempo de armazenamento.

Em termos microbiológicos, nos dois primeiros dias, todos os pães se encontraram em condições aceitáveis para o consumo. Contudo, a partir do quarto/quinto dia de armazenamento, observou-se o aparecimento de bolores na sua superfície.

Em termos sensoriais, no dia de confeção (0 dias), não se notaram diferenças significativas entre as amostras. No entanto, em termos médios, o pão com 7% (m/m) de “alcaparras” e azeite, foi o preferido pelos provadores, em termos de apreciação global.

De maneira geral, a adição de “alcaparras” e azeite permitiu produzir um pão com interessantes características nutricionais, valorizando três produtos típicos da região de Trás-os-Montes, podendo aumentar e diversificar o seu consumo, bem como aumentar o seu valor agregado.

Capítulo VI

REFERÊNCIAS

ABIMAPI, Associação Brasileira das Indústrias de Biscoitos, Massas Alimentícias e Pães & Bolos Industrializados. Disponível em: <http://abima.com.br/>. Acedido em 17 junho de 2015.

ALVARENGA, N. Estudos em textura de Queijo Serpa. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos; Universidade Técnica de Lisboa, Instituto Superior de Agronomia, Lisboa, 2000.

CERRETANI, L.; BENDINI, A.; RODRIGUEZ-ESTRADA, E.; VITTADINI, E.; CHIAVARO, E. (2009). Microwave heating of different commercial categories of olive oil: Part I. Effect on chemical oxidative stability indices and phenolic compounds. *Food Chemistry*, **115**, 1381-1388.

CONDE, C.; DELROT, S.; GERÓS, H. (2008). Physiological, biochemical and molecular changes occurring during olive development and ripening. *Journal of Plant Physiology*, **165**, 1545-1562.

COI, Conselho Oleícola Internacional (2013). Olive oil Market and informative newsletter (p.5). Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.org/news/view/682-year-2015-news/585-market-newsletter-march-2015>. Acedido em 22 junho de 2015.

COI - Conselho Oleícola Internacional. (2015). www.internationaloliveoil.org/web/aa-ingles/corp/publications/aa-publications.html. Acedido em 17 junho de 2015.

COI, Conselho Oleícola Internacional. (2015). Market Newsletter N° 97 – September 2015. (p.5). Disponível em: <http://www.internationaloliveoil.org/news/view/682-year-2015-news/628-market-newsletter-september-2015>. Acedido em 10 novembro de 2015.

CYRAN, M. R.; CEGLINSKA, A. (2011). Genetic variation in the extract viscosity of rye (*Secale cereale* L.) bread made from endosperm and wholemeal flour: Impact of high-molecular-weight arabinoxylan, starch and protein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **91**, 469-479.

Decreto Lei n° 343/88. Destina-se a fixar as características a que devem obedecer o azeite e os outros óleos comestíveis, as condições a observar na sua obtenção ou tratamento, bem como diversas regras sobre a sua comercialização. Diário da República, 1ª série. N° 225. 3951.

Decreto-Lei n.º 79/2006, de 4 de Abril, que aprova o Regulamento dos Sistema Energético e de Climatização dos Edifícios.

DELGADO, T.; PEREIRA, J. A.; CASAL, S.; RAMALHOSA, E. (2015). Effect of drying on color proximate composition and drying kinetics of sliced chestnuts. *Journal of Food Process Engineering* (doi:10.1111/jfpe.12244).

Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>. Acedido em 21 junho de 2015.

Disponível em: <http://sna.agr.br/pesquisa-revela-o-desempenho-do-setor-de-panificacao/>. Acedido em 21 junho de 2015.

Disponível em: <http://www.trigoesaude.com.br/trigo/caracteristicas-trigo.shtml>.
Acedido em 28 outubro de 2015.

Disponível em: <http://www.vicpani.com.br/index.php/consumo-de-pao-pelo-mundo>. Acedido em 21 junho de 2015.

Disponível em: <http://www.vicpani.com.br/index.php/consumo-de-pao-pelo-mundo>. Acedido em 21 junho de 2015.

Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/E>. Acedido em 09 de novembro de 2015.

DOYLE, M. E.; GLASS, K. A. (2010). Reduction and its effect on Food Safety, Food Quality, and Human Health. *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*, **9**, 44-56.

DZIKI, D.; ROZYLO, R.; GAWLIK-DZIKI, U.; SWIECA, M. (2014). Current trends in the enhancement of antioxidant activity of wheat bread by the addition of plant materials rich in phenolic compounds. *Trends in Food Science and Technology*, **40**, 48-61.

ESTELLER, M. S.; LANNES, S. C. S. (2005). Parâmetros complementares para fixação de identidade e qualidade de produtos panificados. *Food Science and Technology*, **25**, 802-806

FRIBERG, B.; FRIBERG, S.; BURMAN, L.G. (1999). Inconsistent correlation between aerobic bacterial surface and air counts in operating rooms with ultra clean laminar air flows: proposal of a new bacteriological standard for surface contamination. *Journal of Hospital Infection*, **42**, 287-293.

BOSKOU, D. (2006). Characteristics of the Olive Tree and Olive Fruit. In: *Olive Oil Chemistry and Technology*, Dimitrios Boskou (Ed.), AOAC Press, 13-19.

GHANBARI, R.; ANWAR, F.; ALKHARFY, K. M.; GILANI, A. H.; SAARI, N. (2012). Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (*Olea europaea* L.) - A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, **13**, 3291-3340.

GOESAERT, H.; VERAVERBEKE, W. S.; COURTIN, C. M.; GEBRUERS, K.; DELCOUR, J. A. (2005). Wheat flour constituents: how they impact bread quality, and how to impact their functionality. *Trends in Food Science & Technology*, **16**, 12-30.

GUNENC, A.; TAVAKOLI, H.; SEETHARAMAN, K.; MAYER, P. M.; FAIRBANKS, D.; HOSSEINIAN, F. (2013). Stability and antioxidant activity of alkyresorcinols in breads enriched with hard and soft wheat brans. *Food Research International*, **51**, 571-578.

HAMMAMI, S. B. M.; MANRIQUE, T.; RAPOPORT, H. F. (2011). Cultivar-based fruit size in olive depends on different tissue and cellular processes throughout growth. *Scientia Horticulturae*, **130**, 445-451.

HEENAN, S. P.; DUFOUR, J.; HAMID, N.; HARVEY, W.; DELAHUNTY, C. M. (2008). The sensory quality of fresh bread: Descriptive attributes and consumer perceptions. *Food Research International*, **41**, 989-997.

HEINIÖ, R. L.; HELENA, K. L.; KATINA, K.; MYLLYMAKI, O.; POUTANEN, K. (2003). Milling fractionation of rye produces different sensory profiles of both flour and bread. *LWT - Food Science and Technology*, **36**, 577-583.

HEINIÖ, R. L.; LIUKKONEN, K. H.; MYLLYMAKI, O.; PIHLAVA, J. M.; ADLERCREUTZ, H.; HEINONEN, S. M.; POUTANEN, K. (2008). Quantities of phenolic compounds and their impacts on the perceived flavour attributes of rye grain. *Journal of Cereal Science*, **47**, 566-575.

HORSZWALD, A.; TROSZYNSKA, A.; CASTILLO, M. D. (2009). Protein profile and sensorial properties of rye breads. *European Food Research and Technology*, **229**, 875-886.

INE, 2013. Estatísticas Agrícolas 2013. Edição 2014. Instituto Nacional de Estatística, Portugal. ISBN 978-989-25-0265-6.

INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DR. RICARDO JORGE (INSA) – Tabela de composição do Alimentos. Lisboa: INSA, 2010.

International Standard ISO 4833 (2003). *Microbiology of food and animal food and feeding stuffs - Horizontal methods for the enumeration of microorganisms – colony – count technique at 30 degrees C.*

International Standard ISO 7954 (1987). *Microbiology - General guidance for enumeration of yeasts and moulds - Colony count technique at 25 degrees C.*

Lei nº 75/2009 de 12 de agosto. Estabelece normas com vista à redução do teor de sal no pão bem como informação na rotulagem de alimentos embalados destinados ao consumo humano. Diário da República, 1.ª série N.º 155. 5225.

LIU, C.; LIU, L.; LI, L.; HAO, C.; ZHENG, X.; BIAN, K.; ZHANG, J.; WNAG, X. (2015). Effects of different milling processes on whole wheat flour quality and performance in steamed bread making. *LWT - Food Science and Technology*, **62**, 310-318.

LIUKKONEN, K.-H.; KATINA, K.; WILHELMSSON, A.; MYLLYMAKI, O.; LAMPI, A.-M.; KARILUOTO, S.; PIIRONEN, V.; HEINONEN, S.-M.; NURMI, T.; ADLERCREUTZ, H.; PELTOKETO, A.; PIHLAVA, J.-M.; HIETANIEMI, V.; POUTANEN, K. (2003). Process-induced changes on bioactive compounds in whole grain rye. *The Proceedings of the Nutrition Society*, **62**, 117-122.

MALHEIRO, R.; SOUZA, A.; CASAL, S.; BENTO, A.; PEREIRA, J. A. (2011). Cultivar effect on the phenolic composition and antioxidant potential of stoned table olives. *Food and Chemical Toxicology*, **49**, 450-457.

MALHEIRO, R.; CASAL, S.; LAMAS, H.; BENTO, A.; PEREIRA, J. A. (2012). Can tea extracts protect extra virgin olive oil from oxidation during microwave heating?. *Food Research International*, **48**, 148-154.

MATOS, L. C.; PEREIRA, J. A.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; OLIVEIRA, M. B. P. P. (2007). Evaluation of a numerical method to predict the polyphenols content in monovarietal olive oils. *Food Chemistry*, **102**, 976-983.

MENKOVSKA, M.; KNEZEVIC, D.; IVANOSKI, M. (2002). Protein Allelic Composition, Dough Rheology, and Baking Characteristics of Flour Mill Streams from Wheat Cultivars with Known and Varied Baking Qualities. *Cereal Chemistry*, **79**, 720-725.

MICHALSKA, A.; CEGLINSKA, A.; AMAROWICZ, R.; PISKULA, M. K.; SZAWAEANOWAK, D.; ZIELINSKI, H. (2007). Antioxidant contents and antioxidative properties of traditional rye breads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **55**, 734-740.

MINISTÉRIOS DA ECONOMIA, DA AGRICULTURA E DO MAR E DA SAÚDE Portaria n.º 52/2015 de 26 de fevereiro. Fixa as características a que devem obedecer os diferentes tipos de pão e de produtos afins do pão ou de padaria fina, e regula aspetos da sua comercialização. Diário da Republica, 1ª série – N.º40. 1202.

PARINOS, C. S.; STALIKAS, C. D.; GIANNOPOULOS, T. S.; PILIDIS, G. A. (2007). Chemical and physicochemical profile of wastewaters produced from the different stages of Spanish-style green olives processing. *Journal of Hazardous Materials*, **145**, 339-343.

PENG, X.; MA, J.; CHENG, K.-W.; JIANG, Y.; CHEN, F.; WANG, M. (2010). The effects of grape seed extract fortification on the antioxidant activity and quality attributes of bread. *Food Chemistry*, **119**, 49-53.

PENTIKÄINEN, S.; SOZER, N.; NARVAINEN, J.; YLATALO, S.; JURVELIN, J.; MANTILA, U. H.; TORRONEN, R.; AURA, A.-M.; POUTANEN, K. (2014). Effects of wheat and rye bread structure on mastication process and bolus properties. *Food Research International*, **66**, 356-364.

PFLAUM, T.; KONITZER, K.; HOFMANN, T.; KOEHLER, P.; (2013). Analytical and sensory studies on the release of sodium from wheat bread crumb. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **61**, 6485-6494.

RAJASEKAR, D., AKOH, C. C.; MARTINA, K. G.; MACLEAN, D. D. (2012). Physico-chemical characteristics of juice extracted by blender and mechanical press from pomegranate cultivars grown in Georgia. *Food Chemistry*, **133**, 1383-1393.

Regulamento (CEE) no 2568/91 da Comissão Europeia de 11 de Julho de 1991. *Jornal Oficial das Comunidades Europeias*. Relativo as características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados. 248/34.

Regulamento (CE) n.º 834/2007 de 28 de junho de 2007. Relativo à produção biológica e à rotulagem dos produtos biológicos. *Jornal Oficial da União Europeia*. 189/1.

Regulamento Delegado (UE) N° 2015/1830 de 8 de julho de 2015. Relativo às características dos azeites e dos óleos de bagaço de azeitona, bem como aos métodos de análise relacionados. *Jornal Oficial da União Europeia*. 266/9.

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

SANTOS, C. S.; CRUZ, R.; CUNHA, S. C.; CASAL, S. (2013). Effect of cooking on olive oil quality attributes. *Food Research International*, **54**, 2016-2024.

SANTOS, M. I.; CORREIA, C.; CAMPOS M. I. C. (2005). Valores Guia para avaliação da qualidade microbiológica de alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. *Revista da Ordem dos Farmacêuticos*, **64**, 66-68.

ŞAKIYAN, Ö. (2015). Optimization of formulation of soy-cakes baked in infrared-microwave combination oven by response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, **52**, 2910-2917.

SILVA, S. F.; ANJOS, C. A.; CAVALCANTI, R. N.; CELEGJINI, R. M. (2015). Evaluation of extra virgin olive oil stability by artificial neural network. *Food Chemistry*, **179**, 35-43.

SOLEIMANI POUR-DAMANAB, A.; JAFARY, A.; RAFIEE, S. (2012). Kinetics of the crust thickness development of bread during baking. *Journal of Food Science and Technology*, **51**, 1-7.

SOUSA, A.; FERREIRA, I. C. F.; BARROS, L.; BENTO, A.; PEREIRA, J. A. (2008). Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives “*alcaparras*”. *LWT - Food Science and Technology*, **41**, 739-745.

SOUSA, A.; CASAL, S.; BENTO, A.; MALHEIRO, R.; OLIVEIRA, M. B. P.; PEREIRA, J. A. (2011). Chemical characterization of “*alcaparras*” stoned table olives from northeast Portugal. *Molecules*, **16**, 9025-9040.