

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
MESTRADO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

JANAINA ARONNE MASSAD

**REOLOGIA DE FARINHA INTEGRAL PARA BISCOITOS
ENRIQUECIDA COM DIFERENTES FONTES PROTEICAS**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

LONDRINA

2021

JANAINA ARONNE MASSAD

**REOLOGIA DE FARINHA INTEGRAL PARA BISCOITOS
ENRIQUECIDA COM DIFERENTES FONTES PROTEICAS**

Rheology of integral flour for biscuits enriched with different protein sources

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador(a): Prof(a). Dr(a). Lyssa Setsuko Sakanaka.

Co-orientador: Prof. Dr. Fabio Yamashita.

LONDRINA

2021



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos.

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Câmpus Londrina



JANAINA ARONNE MASSAD

ESTUDO DA REOLOGIA DE MISTURAS DE PROTEÍNAS DE SOJA, DE SORO DE LEITE E DE ERVILHA E FARINHA DE TRIGO INTEGRAL PARA BISCOITOS

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Tecnologia De Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologia De Alimentos.

Data de aprovação: 26 de Fevereiro de 2021

Prof.a Lyssa Setsuko Sakanaka, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Maria Victoria Eiras Grossmann, Doutorado - Universidade Estadual de Londrina (UEL)

Prof Paulo De Tarso Carvalho, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 26/02/2021.

Dedico este trabalho a Deus, que sempre foi o autor da minha vida e do meu destino; à minha mãe Graciema e minha filha Jasmin que me incentivaram nos momentos difíceis e compreenderam a minha ausência enquanto eu me dedicava à realização deste projeto.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à minha querida orientadora Profa. Dra. Lyssa Setsuko Sakanaka por acreditar em minha pesquisa, me acolhendo em todos os momentos. Minha gratidão por compartilhar sua sabedoria, experiência e seu precioso tempo.

Ao co-orientador científico Prof. Dr. Fabio Yamashita, pela sua grande cooperação e revisão.

Também quero agradecer à Universidade Tecnológica Federal do Paraná e ao seu corpo docente pela qualidade do ensino oferecido.

Aos membros das bancas examinadoras da qualificação e de defesa pelas contribuições que valorizaram o trabalho.

À amiga Veri Souza que auxiliou em diversas leituras da dissertação, nas buscas de referências e nos ajustes e organizações.

Agradeço à Corbion Group Brazil, à Patrícia Carvalho especialmente, no apoio com as análises do projeto. E ao Laboratório Multiusuários da UTFPR-câmpus Londrina (LabMult-LD), à Talita Kato, pelo auxílio na determinação das proteínas das matérias-primas e misturas.

Agradeço à Danisco Brasil Ltda e à Labonathus Biotecnologia Internacional pelo fornecimento das amostras de isolados proteicos para o trabalho.

Agradeço a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização desse projeto.

RESUMO

MASSAD, Janaina Aronne. **Reologia de farinha integral para biscoitos enriquecida com diferentes fontes proteicas**. 2021. 69f. Dissertação (Mestrado Tecnologia de Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2021.

O biscoito é um produto aceito e consumido por diversos indivíduos, de qualquer idade e conta com alto poder atrativo, principalmente para as crianças e idosos. Quando há uma substituição parcial da farinha de trigo por outras proteínas na formulação de produtos de panificação, algumas características tecnológicas e reológicas das misturas são afetadas, causando prejuízos de processabilidade e/ou sensoriais aos produtos elaborados. O objetivo geral do trabalho consistiu em desenvolver uma mistura de farinha de trigo integral enriquecida com proteínas (isolado de soja (PS), soro de leite (PSL) e/ou isolado de ervilha (PE)), para biscoitos moldados. A reologia da massa foi avaliada no equipamento Mixolab®. Em relação ao parâmetro de absorção de água, observou-se que os menores níveis de absorção de água foram encontrados com as misturas contendo PSL, sendo menor quanto maior a proporção em PSL na mistura. Este resultado comprometeu o tempo de desenvolvimento da massa, uma vez que as misturas contendo maiores teores de PSL apresentaram maiores tempos de desenvolvimento, diferentemente das amostras contendo PE e de PS, que apresentaram tempos de desenvolvimento mais próximos ao observado para a amostra controle (100% de farinha de trigo integral). As formulações com PSL (100%) e as misturas binárias de PSL com PE foram as que apresentaram maior estabilidade da mistura. Em relação à Amplitude, observou-se que as misturas contendo PE e PSL se apresentaram mais próximas à região da amostra controle. O modelo para o parâmetro C1 apresentou um baixo coeficiente de determinação, indicando que o modelo não conseguiu explicar a influência das misturas sobre esta variável. As misturas contendo proteína de ervilha e soro de leite são as mais promissoras para aumentar o parâmetro C2, uma vez que, durante o processamento, formam um gel que compensa o enfraquecimento do glúten exposto ao aquecimento. De uma maneira geral, as proteínas externas promovem uma competição com a proteína do glúten pela água, resultando em prejuízo na formação da rede de glúten, e afetando a Estabilidade. Por outro lado, a proteína de ervilha e o soro de leite têm um papel na mistura que impacta a Amplitude de forma positiva. A mistura otimizada para biscoitos moldados foi definida aplicando-se a função Desejabilidade e resultou em 75% de farinha de trigo integral, 18,75% de PE e 6,25% de PSL. Comparando com o teor de proteínas da farinha de trigo integral pura ($12,75 \pm 0,4\%$), a formulação otimizada apresentou um aumento (64%) no teor proteico da mistura, representando um aporte interessante no nível de consumidores, e, pode-se considerar que a mistura otimizada é enriquecida com proteínas.

Palavras-chave: Mixolab®. Simplex-Centroide. Biscoito. Enriquecimento.

ABSTRACT

MASSAD, Janaina Aronne. **Rheology of integral flour for biscuits enriched with different protein sources**. 2021. 69p. Dissertation (Master in Food Technology) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2021.

The biscuit is a product accepted and consumed by several individuals, of any age and has a high attractive power, especially for children and elderly. When there is a partial replacement of wheat flour by other proteins in the formulation of bakery products, some technological and rheological characteristics of the mixtures are affected, causing losses of processability and/or sensory to the elaborated products. The general objective of the work was to develop a mixture of whole wheat flour enriched with proteins (soy isolate (PS), whey (PSL) and/or pea isolate (PE)), for molded biscuits. The rheology of the mass was evaluated in the Mixolab® equipment. In relation to the water absorption parameter, it was observed that the lowest levels of water absorption were found with mixtures containing PSL, the lower the higher the proportion of PSL in the mixture. This result compromised the development time of the mass, since the mixtures containing higher levels of PSL showed longer development times, unlike samples containing PE and PS, which showed development times closer to that observed for the control sample (100 % of whole wheat flour). The formulations with whey protein (PSL) (100%) and the binary mixtures of PSL with PE were the ones that presented the highest mixture stability. In relation to the Amplitude, it was observed that the mixtures containing PE and PSL were closer to the control sample region. The model for parameter C1 showed a low coefficient of determination, indicating that the model cannot explain the influence of mixtures on this variable. Blends containing pea protein and whey are the most promising for increasing the C2 parameter, since, during processing, they form a gel that compensates the weakening of gluten matrix exposed to heating. In general, the presence of external proteins promoted competition with the gluten protein for water, resulting in damage to the formation of the gluten matrix, and affecting the Stability. On the other hand, pea protein and whey had a positive influence over the mixture Amplitude. The optimal mixture for molded biscuits was obtained applying desirability function and resulted in 75% whole wheat flour, 18.75% PE and 6.25% PSL. Comparing with the protein content of pure whole wheat flour ($12.75 \pm 0.4\%$), the optimized formulation showed an increase by 64% in protein content, representing an interesting contribution at the consumer level, and, it can be considered that the optimized mixture is enriched with proteins.

Keywords: Mixolab®. Simplex-Centroide. Biscuit. Enrichment.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Curva típica do Mixolab®	26
Figura 2 - Curva típica Mixolab® com detalhes de Estabilidade e Declives	27
Figura 3 - Delineamento experimental simplex centroide para mistura de 3 componentes com restrição	33
Figura 4 - Curva Mixolab® obtida para o experimento farinha integral pura (Controle), primeiro lote	37
Figura 5 - Curva de Contorno do Parâmetro Absorção de Água (%) das misturas ..	40
Figura 6 - Curva de Contorno do Parâmetro Tempo de Desenvolvimento (%) das misturas	43
Figura 7 - Curva de Contorno do Parâmetro Estabilidade (min) das misturas	44
Figura 8 - Curva de Contorno do Parâmetro Amplitude (Nm) das misturas	48
Figura 9 - Curva de Contorno do Parâmetro C2 (Nm) das misturas.....	51
Figura 10 - Curva de Contorno do Parâmetro C3 (Nm) das misturas.....	53
Figura 11 - Curva de Contorno do Parâmetro C4 (Nm) das misturas.....	54
Figura 12 - Curva de Contorno do Parâmetro C5 (Nm) das misturas.....	56
Figura 13 - Otimização da mistura de proteínas pela função de desejabilidade.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Planejamento simplex-centroide com restrições de mistura de 3 componentes com valores reais (em porcentagens) e codificados.....	33
Tabela 2 - Parâmetros médios do Mixolab® para farinha de trigo integral e formulações do planejamento de mistura.....	38
Tabela 3 - Coeficientes dos modelos gerados pelo planejamento de mistura simplex-centroide	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIMAPI	Associação Brasileira das Indústrias de Biscoitos, Massas Alimentícias e Pães e Bolos Industrializados
ANOVA	Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
IDR	Ingestão Diária Recomendada
PE	Proteína de Ervilha
PIS	Proteína Isolada de Soja
PS	Proteína de Soja
PSL	Proteína do Soro do Leite
RVA	<i>Rapid Visco Analyser</i>
SIMABESP	Sindicato da Indústria de Massas Alimentícias e Biscoitos do Estado de São Paulo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral.....	15
2.2	Objetivos específicos.....	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1	Produção de biscoitos fortificados.....	16
3.2	Fontes proteicas.....	19
3.2.1	Proteínas do leite.....	20
3.2.2	Proteínas da soja.....	21
3.2.3	Proteínas de ervilha.....	22
3.2.4	Farinha de trigo integral.....	23
3.3	Planejamento de misturas	28
4	MATERIAL E MÉTODOS	32
4.1	Material.....	32
4.2	Métodos.....	32
4.2.1	Planejamento de misturas	32
4.2.2	Determinação dos parâmetros reológicos	34
4.2.3	Caracterização da farinha de trigo integral.....	34
4.2.4	Determinação de proteínas dos ingredientes e da mistura otimizada	35
4.2.5	Tratamento dos dados e função desejabilidade	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
5.1	Análise de proteínas das matérias primas	36
5.2	Efeito das proteínas no comportamento reológico da massa de trigo	36
5.2.1	Absorção de água	40
5.2.2	Tempo de desenvolvimento	42
5.2.3	Estabilidade.....	44
5.2.4	Amplitude	47
5.2.5	C1.....	49
5.2.6	C2.....	50
5.2.7	C3.....	52
5.2.8	C4.....	54

5.2.9	C5.....	55
5.3	Análise global e função desejabilidade.....	57
6	CONCLUSÃO	61
	REFERÊNCIAS.....	62

1 INTRODUÇÃO

Conceitua-se biscoito como o produto elaborado pela combinação de farinhas, amidos e/ou féculas com outros ingredientes, expostos a processos de amassamento e cocção, fermentados ou não (BRASIL, 2005). As diversas formas e texturas, bem como a qualidade dos biscoitos variam conforme a relação de seus ingredientes (MAACHE-REZZOUG, 1998).

Um dos principais ingredientes, a farinha, apresenta propriedades que variam conforme o tipo de trigo do qual deriva, sendo necessários alguns testes analíticos e reológicos, para manter a uniformidade e qualidade do produto final. Os testes mais utilizados para caracterizar as farinhas para produção de biscoitos podem ser divididos em químicos, enzimáticos e físicos. Dentre essas, as características reológicas da farinha são consideradas importantes, pois estão relacionadas com alguns defeitos nos biscoitos salgados, por exemplo, o *checking*, bolhas e textura fora de padrão. Em biscoitos moldados podem surgir alterações na moldagem, ou seja, após ser moldado, o biscoito apresenta contração alterando medidas e se encontrando fora do padrão (BACK, 2011).

A procura por produtos que oferecem benefícios à saúde é uma tendência consolidada. Os alimentos, principalmente aqueles que são amplamente consumidos pela população, são meios eficazes para a incorporação de nutrientes e, dessa forma, são de interesse desse mercado em expansão. Dentre esses alimentos, biscoitos são produtos de grande potencial de enriquecimento, porque são amplamente consumidos, apresentam variadas formas e sabores agradáveis, longa vida útil, oferecem conveniência, e podem ser consumidos como *snacks* ou como complemento para outros alimentos (patês, pastas cremosas, dentre outros) (NOGUEIRA, 2019).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) define o alimento enriquecido, ou fortificado, como todo aquele a que for acrescentado um nutriente com o propósito de fortalecer seu valor nutricional, seja restabelecendo quantitativamente os nutrientes perdidos durante o processamento do alimento, seja suplementando-o com nutrientes em condição superior ao seu conteúdo normal (BRASIL, 1998).

Um dos desafios industriais é que quando há uma substituição parcial da farinha de trigo por outras proteínas na formulação de produtos de panificação, algumas características tecnológicas e reológicas das misturas são afetadas,

causando prejuízos de processabilidade e/ou sensoriais aos produtos elaborados (WATANABE, 2014). Normalmente os estudos de incorporação/substituição de farinhas por gomas, proteínas ou micronutrientes são estudados em equipamentos como alveógrafo, farinógrafo, reômetros e mais recentemente, o Mixolab® (BRESSIANI et al., 2019).

Em estudo sobre as propriedades reológicas da massa e da qualidade na fabricação de biscoitos, Tang e Liu (2017) avaliaram o efeito de proteínas do soro de leite, ou proteínas de soja, nas propriedades de produtos de pastificio e de panificação à base de trigo. A rede de glúten é a responsável pelas características viscoelásticas na massa de trigo, assim como pela estrutura e força da massa ao reter o gás; e a incorporação de proteínas adicionais interfere no desenvolvimento dessa rede e, por isso, têm efeitos negativos nos produtos de panificação, especialmente quando a quantidade de proteínas adicionais for maior do que 5% (TANG; LIU, 2017).

Estudos com farinhas enriquecidas com outros ingredientes (grãos, leguminosas, subprodutos de vegetais ou fonte de origem animal) para fins de fortificação com proteína têm sido desenvolvidos (MIRONEASA; CODINA, 2019; NOGUEIRA, 2019; DABIJA; CODINÃ; FRADINHO, 2017; QAYYUM, 2017; TANG; LIU, 2017). Observou-se que isolados proteicos vegetais foram empregados como fontes alternativas de enriquecimento proteico, porque, além do alto teor de proteína (geralmente acima de 88%), são facilmente absorvidos pelo organismo humano e, alguns, equivalem à qualidade das proteínas do leite, carnes e ovos (NOGUEIRA, 2019). Apesar dos isolados proteicos serem amplamente estudados separadamente em termos de características funcionais, sejam tecnológicas ou fisiológicas, sua funcionalidade em um produto depende da proporção no qual essas proteínas são inseridas. Assim, é importante estudar sua característica na matriz do produto, em todos os estágios do processo, e verificar a interação das diferentes fontes de proteínas que permitirão a melhor correlação de sua funcionalidade no produto final. Isolados proteicos de soja e soro de leite são amplamente utilizados na indústria de alimentos em geral, principalmente por causa da alta disponibilidade de suas matérias primas e pelos benefícios nutricionais que apresentam (NOGUEIRA, 2019, TANG; LIU, 2017).

Neste aspecto, o objetivo deste trabalho foi o de encontrar uma mistura de farinha de trigo integral e isolados proteicos (soja, soro de leite e/ou de ervilha) para biscoitos moldados, que permita alegação de enriquecimento protéico.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver uma mistura para biscoitos moldados, a base de farinha de trigo integral e enriquecida com proteínas (soja, soro de leite e/ou ervilha).

2.2 Objetivos específicos

- ◆ Avaliar a intensidade das alterações nas propriedades reológicas da farinha de trigo integral quando enriquecida com diferentes proteínas;
- ◆ Estabelecer a melhor proporção entre diferentes fontes proteicas em substituição a farinha de trigo integral na elaboração de biscoitos, em termos de comportamento reológico da massa.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Produção de biscoitos fortificados

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) conceitua biscoitos ou bolachas como:

Produtos obtidos pela mistura de farinha (s), amido (s) e/ou fécula (s) com outros ingredientes, submetidos a processos de amassamento e cocção, fermentados ou não. Podem apresentar cobertura, recheio, formato e textura diversos (BRASIL, 2005).

Uma das classificações de biscoito se fundamenta na forma de moldagem e/ou corte dos biscoitos, podendo ser laminados e estampados, rotativos ou moldados, extrusados e cortados por arame, depositados ou pingados. Suas matérias-primas utilizadas dependem do tipo de biscoito, do sabor, aroma e textura planejados. Todas influenciam de forma direta no aspecto final do produto (BACK, 2011).

Dentre as diversas classificações de biscoitos, a mais empregada se refere àquela baseada na forma de moldagem e/ou corte dos biscoitos que segundo Gonçalves (2014) são:

- ❖ Laminados e estampados: a massa é laminada e o produto é cortado e estampado por cortadores rotativos ou prensas. Exemplos: Maria e *cream cracker*;
- ❖ Rotativos ou moldados: a massa é prensada nas cavidades de um rolo moldador, com crivos impressos com o desenho desejado. Exemplo: biscoitos recheados;
- ❖ Extrusados e cortados por arame: o biscoito é formado por extrusão através de uma trefila (peça que dá o formato pretendido ao produto). O processo pode ser contínuo e o corte feito por guilhotina, fio ou arame. Exemplos: rosquinhas e *cookies*;
- ❖ Depositados ou pingados: são produzidos a partir de uma massa quase líquida e depositados sobre a esteira do forno, em fôrmas ou bandejas. Exemplos: champanha, suspiro e *waffer*.

No Brasil se observa uma variedade de hábitos alimentares, mas com a maior parte da população consumindo como base alimentar: arroz, fubá, farinha de

mandioca e açúcar, que constituem significativas fontes calóricas, porém insatisfatórias nutricionalmente em relação às necessidades fundamentais para saúde humana (HAJ-ISA; CARVALHO, 2011; SANTANA; SARTI, 2019).

Os hábitos alimentares da população brasileira têm como característica a baixa ingestão de fibras, vitaminas e minerais, principalmente em decorrência do consumo inferior de vegetais frescos. As indústrias, na tentativa de promover o consumo desses nutrientes, vêm propondo mudanças na fabricação de novos produtos alimentícios que tenham equivalência ao teor de nutrientes do alimento original, além de serem economicamente acessíveis à população menos favorecida. Uma das opções é referente à adição de novos ingredientes que intervenham no acréscimo do teor de nutrientes dos alimentos habituais (FASOLIN et al., 2007).

O trigo também apresenta um papel de grande importância na alimentação brasileira, especialmente como produtos de panificação, dentre os quais os biscoitos, que são de relevância comercial em decorrência de suas características de produção, consumo, vida útil e aceitação. Muitos desses produtos vêm sendo desenvolvidos com o intuito de melhorar a formulação em termos nutricionais (MARIANI et al., 2015).

O conceito de enriquecimento das farinhas para emprego em panificação e confeitaria não é atual. A aplicação técnico-prática e econômica da utilização de misturas de farinhas aos alimentos já foi corroborada por outros estudos, além de experimentos de utilização na indústria (FASOLIN et al., 2007; LIMA, 2015; MAIA et al., 2018).

No Brasil, já é possível encontrar programas de fabricação de alimentos elaborados, na tentativa de sobrepor ou diminuir a proteína de origem animal (carne, ovos, laticínios), por proteínas de origem vegetal (soja, grão-de-bico, ervilha, lentilha, edamame) que expressam custos inferiores. Os derivados proteicos da soja e do milho já são encontrados na suplementação ou em alteração parcial da farinha de trigo em pães, biscoitos e macarrão. Os biscoitos do tipo *cookie* retratam um maior consumo, durabilidade e boa aceitação, principalmente entre as crianças, e vem sendo utilizados nas pesquisas, como fortificados ou fontes de fibras e proteínas, principalmente devido à demanda atual de cuidados com a saúde e a alimentação (FASOLIN et al., 2007).

O Sindicato da Indústria de Massas Alimentícias e Biscoitos do Estado de São Paulo (SIMABESP) apontou, em seu balanço de 2018, que a indústria brasileira de biscoitos vem obtendo um desempenho estável, com uma leve retração de 0,5% no

faturamento e 0,8% no volume de vendas. Os biscoitos são alimentos contínuos na cesta de produtos básicos do brasileiro, em decorrência de qualidade e preço. Por sua vez, a Associação Brasileira das Indústrias de Biscoitos, Massas Alimentícias e Pães e Bolos Industrializados (ABIMAPI) relata a venda, em 2019, de 1,475 milhões de toneladas de biscoitos, totalizando 18,795 bilhões de reais, nas categorias: biscoito recheado, água e sal/*cream cracker*, secos/doces especiais, salgado, *waffer*, Maria/maisena, rosquinha, *cookie*, coberto/palito, recheado salgado, importados, champanhe e sortido. Outro dado importante observado neste mesmo ano foi o consumo de sete quilos de biscoitos per capita, representando 210.147.125 quilos do produto em 2019. Com isso, o Brasil ficou situado em quarto lugar no ranking de vendas de biscoito, principalmente os recheados (ABIMAPI, 2020).

Os biscoitos não são necessariamente fontes de minerais ou outros nutrientes como proteínas, e a sua fortificação tem sido aplicada na correção de deficiências a fim de garantir que o consumo de vitaminas e minerais alcance os níveis recomendados. Os novos conceitos de otimizar funções fisiológicas e prevenir doenças crônicas, relativo ao fato da sociedade contemporânea se encontrar preocupada com a saúde física, derivam em um acréscimo na produção e comercialização dos alimentos fortificados. A fortificação é um processo relativamente simples, desde que se obedeça a uma seleção adequada do tipo de aditivo a ser empregado e do alimento usado como veículo de transporte; uma vez que o alimento pode interferir na absorção do aditivo, diminuindo sua biodisponibilidade (FIB, 2014).

Uma das tendências atuais é o enriquecimento proteico de produtos de panificação, massas e biscoitos. Por um lado vantajoso, em termos nutricionais, as proteínas do soro de leite e da soja exibem várias propriedades funcionais, incluindo boa solubilidade, formação de gel, alta viscosidade, ação emulsificante, capacidade de retenção de umidade, e atividade estabilizante de espuma, que poderiam impactar significativamente na estrutura da massa e a qualidade de alguns tipos de produtos. Por exemplo, a habilidade das proteínas do soro de leite de espessar e formar um gel sob aquecimento poderia ser vantajosa para algumas aplicações; entretanto, esta habilidade poderia também ser desvantajosa para outras (TANG; LIU, 2017).

Por isso, a seleção da fonte de proteína com funcionalidade apropriada desempenha um importante papel em certas aplicações. Além disso, o desenvolvimento de uma fase contínua de proteínas onde a quantidade de proteínas externas fosse maior do que a quantidade de glúten na farinha de trigo poderia conferir

um efeito protetivo na estrutura da massa para gerar uma melhora na qualidade de produtos de panificação (TANG; LIU, 2017) e, em especial, durante o processamento de biscoitos.

Um biscoito regularmente comercializado atualmente, feito com farinha de trigo integral e outros ingredientes integrais, exibe uma composição nutricional numa porção de 30g, de 6% de carboidratos, 3% de proteínas, 8% de gorduras totais, 10% de fibra alimentar e 3% de sódio dos valores diários de referência com base em uma dieta de 2.000 kcal ou 8.400 kJ (NESTLÉ, 2021).

Levando em consideração o conteúdo de proteínas, biscoitos comerciais contêm, em média, 7 a 10% das mesmas, o que é considerado baixo (NOGUEIRA; STEEL, 2018).

Para Alimentos Enriquecidos ou Fortificados é permitido o enriquecimento ou fortificação desde que 100 ml ou 100 g do produto, pronto para consumo, forneçam no mínimo 15% da IDR (Ingestão Diária Recomendada) de referência, no caso de líquidos, e 30% da IDR de referência, no caso de sólidos. Esses alimentos, de acordo com o Regulamento Técnico de Informação Nutricional Complementar, poderão ter o "*claim*": Alto Teor ou Rico (BRASIL, 1998).

3.2 Fontes proteicas

As proteínas são moléculas essenciais ao organismo animal que devem estar presentes na alimentação em quantidades adequadas. A qualidade da proteína tem relação com a sua capacidade de satisfazer as demandas nutricionais do homem por aminoácidos essenciais e nitrogênio não-essencial, para a síntese proteica. As proteínas de origem animal são classificadas como de alto valor biológico, no entanto, diversos estudos vêm demonstrando que misturas de vegetais, como a de um cereal e uma leguminosa, também resultam em misturas proteicas de alto valor biológico (PIRES et al., 2006).

A proteína de origem vegetal pode ser utilizada como alternativa da proteína animal, principalmente para adições em alimentos, podendo substituir a matéria-prima e possuir uma variedade de fontes, dentre elas, as leguminosas, os cereais e as sementes oleaginosas. Fontes vegetais de proteínas podem distinguir de fontes animais nos parâmetros digestibilidade, composição de aminoácidos e presença de

fatores antinutricionais. No entanto, as proteínas de origem vegetal podem aperfeiçoar o valor nutricional de produtos alimentícios, compensando a ausência de alimentos à base de carne e aumentando a disponibilidade de proteínas. Existem alguns tipos de proteína vegetal empregados na produção que alimentos que serão explicados a seguir, bem como a farinha de trigo integral (SILVA; BORA; AZEVEDO, 2010).

3.2.1 Proteínas do leite

As proteínas do leite englobam as α_1 , α_2 , β e K-caseínas, β -lactoglobulina (β LG), α -lactoalbumina (α LA), lactoferrina, albumina do soro bovino, imunoglobulinas e β 2-microglobulina, onde 80% do total das proteínas do leite são referentes às caseínas. O soro, que contém cerca de 93% de água e 0,6% de proteínas, pode ser concentrado para elaborar diversos ingredientes. Uma das vantagens de utilização das proteínas do soro do leite é que elas se ligam aos componentes aromáticos; no entanto, essas proteínas são sensíveis a altas temperaturas (GUIMARÃES, 2011; SOARES et al., 2018).

As proteínas do soro do leite constituem de um produto residual da fabricação de queijos, de alto valor nutricional e particularidades funcionais. Sua adição em produtos de panificação beneficia os aspectos físicos, como a emulsificação e a capacidade de estabilização, além de melhorar características sensoriais. Essas proteínas concedem aos produtos formulados melhor aparência e melhores características sensoriais, em decorrência de suas qualidades funcionais, destacando-se: solubilidade e dispersibilidade, opacidade, ligação e retenção de gordura, retenção de água, emulsificação, viscosidade, estabilidade térmica, geleificação e formação de filmes, entre outras. Em produtos de panificação, a proteína concentrada do soro de leite pode ser empregada como substituto de gordura em produtos com teor reduzido da mesma (KRÜGER et al., 2003; SOARES et al., 2018).

As proteínas do soro de leite são as proteínas de melhor qualidade disponíveis e têm razão de eficiência proteica alta e um perfil de aminoácidos completo (GANI et al., 2015). São proteínas globulares e solúveis em uma gama ampla de pH, sendo as mais importantes a beta-lactoglobulina e alfa-lactoalbumina (representam de 70-80% do soro de leite (MORR, 1989; MULVIHILL, 1992). As proteínas do soro de leite

também são recomendadas devido aos seus efeitos benéficos em aumentar a imunidade e reduzirem o risco de doenças cardíacas e incidência de câncer (LI, 2005).

3.2.2 Proteínas da soja

A soja é um grão que apresenta a maior quantidade de micronutrientes em relação às demais leguminosas. A soja contém a maior qualidade e quantidade de proteína do que qualquer outra fonte vegetal e é uma fonte barata de proteínas e calorias para consumo humano e, adicionalmente, é vista como um substituto de baixo custo comparado às proteínas do leite, em países em desenvolvimento (AMMAR; SALEM; BADR, 2011).

A proteína isolada de soja (PIS) é extraída a partir da farinha de soja desengordurada, por meio de um processamento que possibilita a extração de outros componentes, dentre eles, carboidratos, fibras e fatores antinutricionais, caracterizando a forma mais refinada e pura da proteína da soja disponível no mercado. A PIS é quase isenta de odor, cor, de sabor neutro e apresenta no mínimo 88% de proteínas em base seca (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO, 2016). Os isolados proteicos de soja são ricos em aminoácidos como o ácido glutâmico, ácido aspártico, leucina, arginina e lisina (SOLAE, 2019).

Alguns benefícios da proteína isolada de soja são: fonte de proteínas de alta qualidade, sabor neutro em comparação a outros produtos da soja, favorecendo sua adição a alimentos, e ingredientes diversos. Como é de origem vegetal, não contém lactose e colesterol, o tratamento térmico realizado em seu processamento inativa os fatores antinutricionais, preservando a qualidade da proteína em sua forma isolada (DAGUER; ASSIS; BERSOT, 2010).

Campos et al. (2011) esclarecem que fatores antinutricionais representam os compostos existentes em ampla variedade de alimentos de origem vegetal e que, em concentrações elevadas, podem desencadear reações tóxicas e/ou interferir na biodisponibilidade e digestibilidade de alguns nutrientes.

3.2.3 Proteínas de ervilha

A aplicação de proteínas vegetais na concepção de novos produtos ou no acréscimo de alimentos padronizados vem sendo o intuito de diversos estudos que avaliam o potencial físico-químico e funcional destas proteínas. Em decorrência de uma inadequação de suprimentos e da carência de proteínas alimentares, têm ocorrido buscas constantes de leguminosas não convencionais como novas fontes de proteína, seja para uso em ingredientes alimentares funcionais, como para suplementação nutricional. O aumento do interesse por proteínas vegetais para produção de alimentos levou a experimentação da ervilha como uma cultura altamente proteica (SANDBERG, 2011).

As frações proteicas da proteína de ervilha apresentam 65% de globulinas, sendo pobres em aminoácidos sulfurados. As albuminas da proteína de ervilha são ricas em metioninas e cisteína, no entanto, por constituírem a porção menor, faz com que as proteínas de ervilha não sejam consideradas fontes desses aminoácidos (SINGH; JAMBUNATHAM, 1982; ABD-ELATIEF, 2006). No entanto, a ervilha é uma leguminosa rica em proteína bruta e em aminoácidos essenciais, como lisina e treonina, fibras e isoflavonoides, que contribuem no combate a várias doenças crônicas, além de conter fósforo, cálcio, vitaminas A, B1, B2, C, ferro e potássio, gerando relevância em seu uso quando adicionada na dieta humana. Além disso, possui baixo índice glicêmico, presença de compostos com propriedades antioxidantes e substâncias anti-inflamatórias, que evitam doenças cardíacas; fitonutrientes que protegem contra o câncer; e substâncias que protegem do Alzheimer e do diabetes do tipo 2 (SANDBERG, 2011).

Em estudo de Vieito (2016) foi realizada a produção de bolachas com uma mistura de proteína de ervilha, de arroz e do soro do leite, e observou-se que o acréscimo de proteína de ervilha resultou em bolachas com menor teor de umidade. A escolha da proteína de ervilha se deu por ela atender um conjunto de características mais adequado, isto é, sabor diferenciado e menos intenso quando comparado à proteína de arroz, segundo os provadores.

3.2.4 Farinha de trigo integral

O trigo é reconhecido pela grande contribuição à saúde, além de um alimento essencial da dieta ocidental e, quando consumido na forma de grãos integrais,

preserva-se a maioria dos teores de vitaminas, minerais, ácidos graxos e fibras. A fibra do trigo tem importante papel na saúde, estimulando a eliminação das fezes, por aumentar o bolo fecal, e diminuindo o tempo de trânsito intestinal, provocando uma possível redução no risco de câncer colorretal. Alguns componentes encontrados no trigo são potenciais indicativos de saúde, como os polifenóis, que apresentam alta atividade antioxidante, e os fitoesteróis do germe de trigo, capazes de diminuir os níveis de colesterol, de alto fator de risco para doenças cardiovasculares (DALTON; TAPSELL; PROBST, 2012).

Nos últimos anos houve um crescente interesse em produtos integrais entre os consumidores, especialmente aqueles mais preocupados com a saúde, assim direcionando o desenvolvimento de produtos à base de cereais. Neste contexto, a farinha de trigo do grão inteiro se tornou o objeto de pesquisa em todo mundo. Nela, os principais componentes anatômicos do grão, como o endosperma, casca, e germe estão presentes nas mesmas proporções que no grão em sua forma intacta, o que o caracteriza como uma excelente fonte de ingredientes nutricionais e funcionais para a saúde humana (SCHEUER et al., 2014).

A granulometria da farinha de trigo integral é um fator que afeta a qualidade do produto e funcionalidade da mesma. É desconhecida a influência que a granulometria da farinha obtida por moagem do grão inteiro de trigo exerce sobre as propriedades técnicas da farinha e as características de assamento, principalmente, pela maioria dos estudos se referir à granulometria do farelo usado em diferentes níveis de reincorporação nas propriedades da massa e qualidade dos produtos finais como pães, massas e biscoitos (BRESSIANI et al., 2019).

A farinha de trigo é a mais apropriada para produção de produtos de panificação, bolachas e biscoitos devido às suas propriedades reológicas. Durante o processo de fabricação ocorrem inúmeras alterações físico-químicas na massa, em função da hidratação, aquecimento e trabalho mecânico gerados durante o processamento.

As propriedades reológicas de farinha de trigo indicam as características do glúten e predizem a qualidade e comportamento funcional do glúten durante a produção de massa. Assim, tradicionalmente, mudanças nas propriedades reológicas durante o processo de produção de massas são estudadas com equipamentos que separadamente controlam cada passo do processo, como comportamento do

amassamento, estágio de fermentação, descanso e variação de temperatura sofridos pela massa durante o processo de produção da mesma (BRESSIANI et al., 2019).

Equipamentos para avaliar a consistência da massa durante a mistura, como o Farinógrafo, Mixógrafo e Consistógrafo, foram amplamente usados para estudar o comportamento da massa. Da mesma forma, mudanças no comportamento do amido associadas aos processos térmicos são avaliadas com base na viscosidade da solução de amido durante os ciclos de aquecimento e resfriamento usando o Viscoamílografo ou o *Newport Rapid Visco Analyser*. (BRESSIANI et al., 2019).

A análise Mixolab® pode ser considerada uma avaliação que, em apenas um teste, prediz em vários graus a qualidade final do produto, assim simulando os passos do processo de panificação (mistura, assamento e resfriamento). A técnica Mixolab® mede o torque associado com a massa durante o processo com variações de temperatura, possibilitando medir informação da quantidade de água requerida para o desenvolvimento da massa, o tempo de desenvolvimento da massa, força e enfraquecimento do glúten, gelatinização do amido e a retrogradação, atividade enzimática e resistência do gel da massa (BRESSIANI et al., 2019).

O Mixolab® é um instrumento desenvolvido pela *Chopin Technologies Company*, empregado na avaliação dos efeitos de amassamento e temperatura do glúten, do amido, entre outros elementos, observando a interação entre os componentes por meio da força gerada entre os braços, ao longo do tempo (CHOPIN, 2012; DHAKA; GULIA; KHATKAR, 2012). No equipamento, é possível medir, em tempo real, o torque (Nm) produzido pela mistura da massa entre os dois braços de amassamento (KOKSEL et al., 2009).

O Mixolab® é utilizado para o controle de qualidade e consistência de farinhas, sendo possível avaliar a influência de aditivos e enzimas, além de desenvolver novas formulações, como produtos sem fibras ou sem glúten. O aparelho permite alcançar a análise integral das propriedades de farinhas em um único teste, antecipando seu comportamento durante a mistura e cocção (CHOPIN, 2012).

O aparelho realiza uma análise simples, que utiliza uma pequena quantidade de amostra ($\pm 150\text{g}$), e duração de aproximadamente 45 minutos. O Mixolab® determina a absorção de água da farinha e a qualidade plástica da massa; a qualidade da rede proteica ao ser sujeitada ao estresse térmico e mecânico; o comportamento do amido (temperatura de gelatinização) e a atividade enzimática; proporciona o controle de qualidade do produto finalizado, já que pressupõe o comportamento em

toda a linha de produção, antes do produto ser concebido, além de prognosticar o tempo de vida do produto, em função da retrogradação do amido (DHAKA; GULIA; KHATKAR, 2012).

Segundo Chopin (2012) as fases ou parâmetros avaliados no perfil Chopin + são:

1- Mistura inicial/comportamento da proteína (30°C): absorção de água, formação da massa. Em relação ao índice de absorção, quanto maior o índice, maior é a absorção de água da farinha. Sobre o índice de mistura, quanto maior o índice, maior a estabilidade.

2- Resistência do glúten ao aquecimento, ou seja, quanto maior o índice de glúten, maior a resistência do glúten ao aquecimento. Observa-se a qualidade proteica sob estresse térmico.

3- Comportamento do amido (viscosidade máxima): o pico máximo de gelatinização depende da quantidade de amido e de enzimas que estão agindo. Quanto maior o índice maior é a viscosidade do gel formado.

4- Estabilidade do gel formado (atividade de α -amilase): função da integridade do amido para suportar a atividade amilolítica. A estabilidade é diretamente relacionada ao ataque amilásico. Quanto maior o índice amilásico, menor a atividade enzimática.

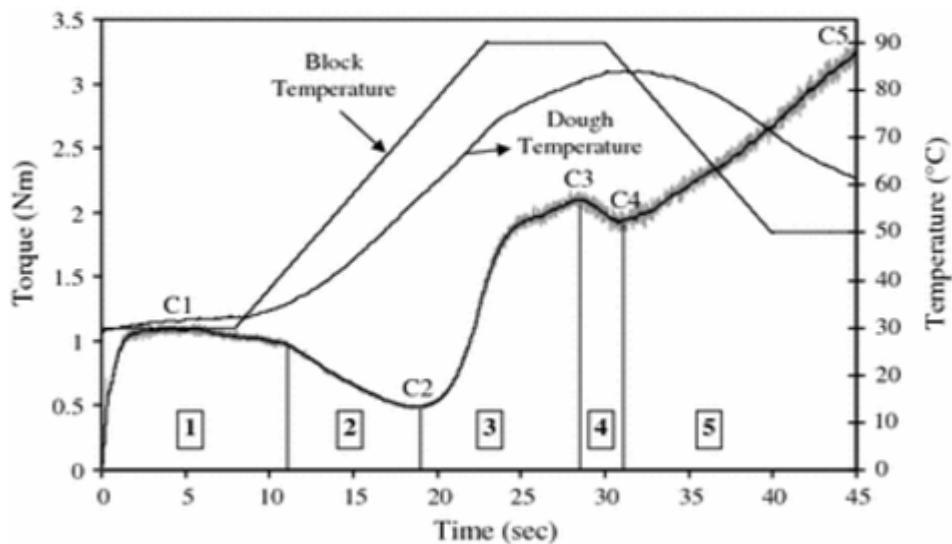
5- Retrogradação (característica do amido/vida útil): função característica da recristalização do amido. Quanto maior o índice de retrogradação, menor a vida útil do produto.

Existem cinco parâmetros usados para avaliar a curva do Mixolab®, C1 e C2 estão relacionados à qualidade da proteína da farinha (glúten), enquanto C3, C4 e C5 estão relacionados às características do amido da farinha de trigo. Os valores Mixolab® geralmente estão em concordância com os valores do Farinógrafo (KOKSEL et al., 2009).

Uma curva típica do Mixolab® é mostrada na Figura 1. Ela é separada em cinco estágios diferentes. No estágio 1, características da mistura da massa como estabilidade, elasticidade e absorção de água podem ser medidas. Durante este estágio, um aumento no torque é observado até um máximo ser alcançado e a massa pode resistir à deformação por algum tempo. A consistência da massa diminui com a mistura excessiva, que é uma indicação do enfraquecimento do glúten (estágio 2). No início do aquecimento, o glúten sofreu uma diminuição adicional na consistência da

massa, denominado de enfraquecimento térmico. Quanto maior a redução na consistência, menor a qualidade do glúten. Enquanto a temperatura aumenta, primeiro uma redução e depois um aumento na consistência é observado. O aumento na consistência é principalmente devido à gelatinização do amido (estágio 3). Durante este estágio, grânulos de amido incham e absorvem água e moléculas de amilose lixiviam, resultando em um aumento na viscosidade. No estágio 4, a consistência decresce, como um resultado da atividade amilolítica, bem como em função da contínua ação do calor e do trabalho mecânico. A intensidade do decréscimo depende da atividade amilásica (KOKSEL et al., 2009).

Figura 1 - Curva típica do Mixolab®



Fonte: Yağcı (2019).

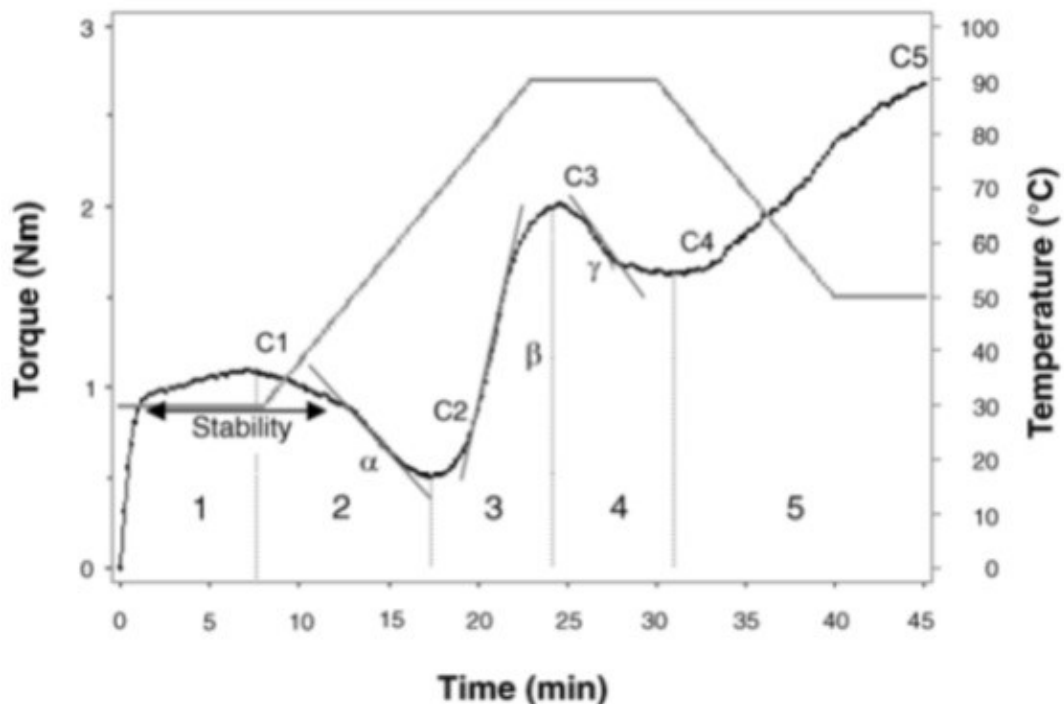
O estágio 5 também relacionado à retrogradação do amido.

Existem oito parâmetros (C1 a C5 e declives α , β , γ) usados para avaliar a curva Mixolab. Esses estão ilustrados na Figura 2. C1 representa o ponto máximo do primeiro estágio de mistura. C2-C5 representam o ponto final dos correspondentes estágios de mistura. O declive α é o declive da curva entre o fim do período de 30°C e C2, e indica a velocidade do enfraquecimento da rede de proteína (glúten) devido aos efeitos do aquecimento. O declive β é o declive da curva entre C2 e C3 e é um indicador da velocidade de gelatinização do amido, quando há ruptura das ligações de hidrogênio. O declive γ (Figura 2) é o declive da curva entre C3 e C4 e mostra a velocidade da degradação enzimática (α -amilase) (KOKSEL et al., 2009).

Os estágios 3, 4 e 5 da curva Mixolab mostram forte similaridade às curvas obtidas no RVA (*Rapid Visco Analyser-Perten*). A diferença entre valores Mixolab C1

e C2 está relacionada à qualidade do glúten; valores mais altos indicam propriedades de glúten mais fraco. Entretanto, o Mixolab produz resultados com medidas feitas na massa em si, e não em uma suspensão ou solução viscosa. Por isso, o processo Mixolab tem a vantagem de ser capaz de medir propriedades de glúten e amido (e enzimas associadas) conjuntamente, portanto sendo mais representativa de um teste real (KOKSEL et al., 2009).

Figura 2 - Curva típica Mixolab® com detalhes de Estabilidade e Declives



Fonte: Koksel (2009).

Especificamente, os parâmetros Mixolab® podem ser numericamente descritos como C1 (consistência máxima durante o período de 30°C); tempo para C1 (tempo requerido para que a massa alcance C1); estabilidade (tempo durante o qual o torque é maior que C1 - 11%); amplitude (largura da crista da curva em C1); C2 (valor de torque mínimo obtido durante o período de aquecimento); C3 (torque máximo durante o período de 90°C); C4 (torque mínimo durante o período de 90°C); e C5 (torque ao final do teste) (CAFFE-TREML et al., 2010).

O Mixolab® foi usado para a avaliação da qualidade de variados trigos empregados na fabricação de massas alimentícias. Também foi utilizado para investigar efeitos de hidrocoloides e sementes de linhaça nas propriedades reológicas de massa. Foi testada a possibilidade de utilização do Mixolab® para prever o

assamento de bolos e qualidade de cookies de diferentes farinhas de trigo (KOKSEL et al., 2009; STOENESCU et al., 2010).

3.3 Planejamento de misturas

De uma forma geral, experimentos com misturas tratam das proporções dos ingredientes de um produto e devem satisfazer duas restrições. Para q componentes, $0 \leq x_i \leq 1$ para $1 \leq i \leq q$ (onde x_i indica a proporção do i -ésimo componente) e $x_1 + x_2 + \dots + x_q = 1$. Todas as combinações possíveis dos diferentes componentes constituem um espaço simplex de dimensão $q - 1$, sobre o qual uma superfície de resposta pode ser obtida para um determinado parâmetro de interesse. Em experimentos que envolvem a mistura de ingredientes, as características de interesse no produto dependem apenas da proporção dos componentes da mistura e não de seus valores absolutos (CORNELL, 2011).

Uma abordagem intuitiva em experimentos de formulação é avaliar as respostas associadas a cada ingrediente separado, a cada par de ingredientes (em proporções iguais), a cada trio de ingredientes (também em proporções iguais); e assim, sucessivamente. Um planejamento experimental deste tipo é chamado de simplex-centroide (CORNELL; DENG, 1982).

Em outras palavras, no planejamento experimental simplex-centroide, a análise de uma mistura de q componentes é feita através de $2q - 1$ ensaios que correspondem a cada uma das q permutações de substâncias simples $(1, 0, 0, \dots, 0)$; as $(q - 2)$ permutações $(1, 1, 0, \dots, 0)$ de misturas binárias; as $(q - 3)$ permutações $(1, 1, 1, \dots, 0)$ de misturas ternárias; assim sucessivamente, até a mistura q -nária $(1, 1, 1, \dots, 1, 1)$, que é o ponto centroide (CORNELL, 2011).

Obtidos os resultados para os pontos experimentais do planejamento simplex-centroide é possível ajustar um polinômio de ordem q que modela a superfície de resposta. Para o caso específico de três componentes, são avaliadas apenas sete misturas distintas, assim, não há graus de liberdade suficientes para a construção de um modelo cúbico completo (que demanda 10 ensaios distintos) (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

Portanto, a análise de regressão fica restrita à complexidade máxima do modelo cúbico especial conforme a Equação 1.

$$x = (x_1, x_2, x_3). y(x) = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{123} x_1 x_2 x_3 \quad [\text{Eq. 1}]$$

O modelo da Equação (1) pode ser demasiadamente complexo, mesmo para pequenos valores de q . Assim, é comum a utilização de modelos de ordem inferior cujo resíduo, de acordo com a análise de variância (ANOVA), seja aceitável (CALADO; MONTGOMERY, 2003).

Muitas vezes pode haver restrições adicionais, de valores mínimos associados à cada componente da mistura. Ou seja, a região experimental não cobre todo o espaço simplex, mas apenas um subespaço do mesmo. Nestes casos, os componentes originais são representados através de pseudocomponentes (x_i') (CORNELL, 2011).

Para misturas onde um ou mais componentes possuem limites inferiores (L_i), tal que $L_i \leq x_i \leq 1$, com $i = 1, 2, \dots, q$, a transformação para pseudocomponentes é dada pela Equação (2), $x_i' = x_i - L_i / (1 - L)$, onde $L = \sum_{i=1}^q L_i < 1$.

Desenhos padrões para experimentos com misturas incluem desenhos simplex-centroide (introduzidos por Scheffe, 1963). Um desenho simplex-centroide é composto por misturas com um componente, dois componentes em iguais proporções, três componentes em iguais proporções, a misturas com todos os componentes presentes em iguais proporções. O desenho avalia pontos centroides (centro do triângulo), e ele algumas vezes é ampliado incluindo pontos interiores adicionais.

Um delineamento simplex centroide com q componentes consiste em um delineamento com $2^q - 1$ pontos distintos. Estes pontos são:

As q permutações dos $(1, 0, 0, \dots, 0)$ ou misturas simples são:

- ◆ as $\binom{q}{2}$ permutações de $(\frac{1}{2}, \frac{1}{2}, 0, 0, \dots, 0)$ ou todas as misturas binárias,
- ◆ as $\binom{q}{3}$ permutações de $(\frac{1}{3}, \frac{1}{3}, \frac{1}{3}, 0, 0, \dots, 0)$
- ◆ e assim por diante, além do ponto central (centroide geral) $(\frac{1}{q}, \frac{1}{q}, \frac{1}{q}, \dots, \frac{1}{q})$

Os pontos do delineamento simplex-centroide com q componentes podem suportar até um polinômio de ordem q, expressos conforme Equação (3):

$$E(y) = \sum_{i=1}^q \beta_i x_i + \sum_{i < j} \sum_{j=1}^q \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i < j < k} \sum_{k=1}^q \beta_{ijk} x_i x_j x_k + \dots + \beta_{12\dots q} x_1 x_2 x_3 \dots x_q$$

[Eq. (3)]

Para q=3 componentes, o modelo pode ser simplificado e expresso conforme Equação (4).

$$E(y) = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{12} x_1 x_2 + \beta_{13} x_1 x_3 + \beta_{23} x_2 x_3 + \beta_{123} x_1 x_2 x_3 \quad [\text{Eq. (4)}]$$

que é um polinômio cúbico especial.

Por serem delineamentos relativamente eficientes para ajustar um modelo cúbico especial, os delineamentos simplex-centroide são geralmente utilizados quando o experimentador estima que alguns termos cúbicos podem ser necessários no modelo final.

Geralmente, delineamento de misturas simplex-centroide é usado para estudar relações entre proporções de diferentes variáveis e respostas (CHEN et al., 2010). Ele pode não só estabelecer o modelo de superfície de variáveis contínuas, estimando cada elemento na mistura e suas interações, mas pode também otimizar os componentes de acordo com o alvo para determinar a melhor proporção de ingredientes (JIAN-ZHONG et al., 2007). Esta é a chamada Ferramenta de Desejabilidade.

Atualmente, este modelo é extensivamente usado para formulação nas indústrias de alimentos (BAHRAMPARVAR et al., 2015).

4 MATERIAL E MÉTODOS

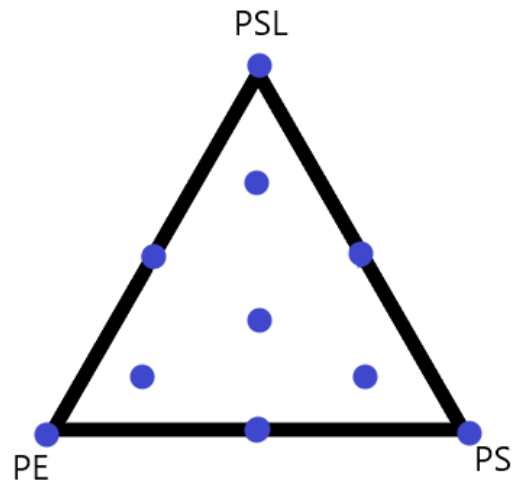
4.1 Material

Os ingredientes utilizados foram: farinha de trigo integral (Sementes Paraná Ltda, situada em Mauá da Serra, PR); soro de leite em pó parcialmente desmineralizado (Relat - Laticínios Renner Ltda); isolado proteico de ervilha (Roquette Freres, de origem francesa, com nome comercial de NUTRALYS S85F, distribuída pela Labonathus Biotecnologia Internacional Ltda.); e isolado proteico de soja (Dupont do Brasil, fabricada pela SOLAE USA, com nome comercial de SUPRO® XT 221D IP).

4.2 Métodos

4.2.1 Planejamento de misturas

Foram estudadas misturas contendo farinha de trigo integral e as proteínas isoladas ou puras. Devido a questões de processamento, não se trabalhou com substituição total da farinha de trigo integral, a qual ficou limitada ao valor de 75% (m/m). À farinha de trigo integral foram adicionados proteína isolada de soja, proteína isolada de ervilha ou soro de leite, de acordo com o desenho experimental, segundo a distribuição simplex-centroide para misturas (Figura 3, Tabela 1). Neste planejamento, os vértices são representados por 25% de soro de leite (PSL), 25% de proteína de ervilha (PE) e 25 % de proteína de soja (PS).

Figura 3 - Delineamento experimental simplex centroide para mistura de 3 componentes com restrição

Fonte: Autoria própria

Tabela 1 - Planejamento simplex-centroide com restrições de mistura de 3 componentes com valores reais (em porcentagens) e codificados

Ensaio	Farinha de trigo integral (F)	Proteína de Ervilha (PE)	Proteína de Soja (PS)	Proteína de Soro de leite (PSL)
1	75%	25% (1)	0 (0)	0 (0)
2	75%	0 (0)	25% (1)	0 (0)
3	75%	0 (0)	0 (0)	25% (1)
4	75%	12,50% (0.50)	12,50% (0.50)	0 (0)
5	75%	12,50% (0.50)	0 (0)	12,50% (0.50)
6	75%	0 (0)	12,50% (0.50)	12,50% (0.50)
7	75%	16,66% (0.66)	4,17% (0.17)	4,17% (0.17)
8	75%	4,17% (0.17)	16,66% (0.66)	4,17% (0.17)
9	75%	4,17% (0.17)	4,17% (0.17)	16,66% (0.66)
10	75%	8,33% (0.33)	8,33% (0.33)	8,33% (0.33)
C	100%	0	0	0

Legenda: C: Farinha de trigo integral pura (ensaio controle).

Fonte: Autoria própria

Foram analisados dois lotes de misturas (duas replicatas genuínas feitas com dois lotes de farinha de trigo integral diferentes), correspondendo a 12 ensaios com três repetições no ponto central, para cada um dos dois lotes. Estes testes foram avaliados nas suas propriedades reológicas (comportamento reológico no Mixolab® protocolo Chopin +) e comparação com a análise Mixolab® da farinha de trigo integral 100% pura, conforme descrito no item 4.2.2.

Um modelo cúbico especial foi empregado para descrição de cada variável dependente do delineamento experimental. Foram também avaliados os coeficientes

do modelo quanto à significância pela análise de variância (ANOVA). Os coeficientes de determinação também foram gerados e avaliados de modo a se observar se o modelo gerado permite explicar a influência dos componentes da mistura sobre cada variável dependente.

4.2.2 Determinação dos parâmetros reológicos

Todas as misturas, incluindo o controle foram submetidas a análise dos parâmetros reológicos, utilizando o Mixolab®. O Mixolab® (Chopin, Paris, France) foi empregado para a obtenção dos seguintes parâmetros: Absorção de água; tempo de desenvolvimento; tempo de estabilidade (Estabilidade); torque máximo (C1); Enfraquecimento da Proteína (C2); Temperatura de gel; torque de pico (C3); torque de queda (C4) e torque de reversão (C5). Para cada ensaio, uma quantidade das formulações de trigo-proteína foi colocada dentro do reservatório do equipamento, e misturada para obter uma massa de 75 g. Após a mistura dos sólidos, uma quantidade de água é automaticamente adicionada para a massa produzir um torque de 1,1 Nm. Os ensaios seguiram o seguinte protocolo padrão do equipamento: (1) Manutenção da temperatura constante a 30°C por 8 min; (2) Elevação da temperatura da massa a 90°C com taxa de 4°C/min, mantendo-se nesta temperatura por 7 min; (3) Resfriamento da temperatura da massa para 50°C a uma taxa de 4°C min⁻¹, mantendo-se nesta condição por 5 min. A velocidade de mistura durante a análise foi de 80 rpm. Os ensaios foram realizados em duplicata para cada amostra, seguindo-se um planejamento experimental conforme descrito no item 4.2.1.

4.2.3 Caracterização da farinha de trigo integral

A farinha de trigo integral de dois lotes diferentes foi caracterizada quanto aos parâmetros reológicos no equipamento (Mixolab®) pelo protocolo Chopin + e conforme o item 4.2.2. A duração dos testes foi de aproximadamente 45 min (DUBAT, 2010; CHOPIN, 2012).

4.2.4 Determinação de proteínas dos ingredientes e da mistura otimizada

A determinação de proteínas foi realizada nos ingredientes puros e na mistura otimizada, aplicando a metodologia do Mikrokjedahl e Makrokjedahl segundo AOAC (2005), e utilizando o fator de correção de 5,7 e 6,25 para farinhas puras e as misturas e proteínas puras, respectivamente.

4.2.5 Tratamento dos dados e função desejabilidade

O planejamento experimental e tratamento dos dados foram feitos utilizando o software Statistica 10.0. A função desejabilidade também foi realizada aplicando a ferramenta do mesmo software.

Os parâmetros desejados para a utilização da ferramenta são: Absorção de água, Tempo de desenvolvimento, Amplitude, Estabilidade, C1 e C2.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análise de proteínas das matérias primas

O resultado da análise realizada com as proteínas isoladas resultou em valores de teor de proteínas de $82,7 \pm 0,4\%$, $86,0 \pm 0,6\%$, $12,4 \pm 0,5\%$, para isolado proteico de soja, proteína isolada de ervilha e soro de leite, respectivamente. A farinha de trigo integral pura resultou em $12,7 \pm 0,4\%$ de proteínas. Esses valores estão próximos aos apresentados pelos laudos das respectivas matérias-primas e também coerentes com dados da literatura (NOGUEIRA, 2019).

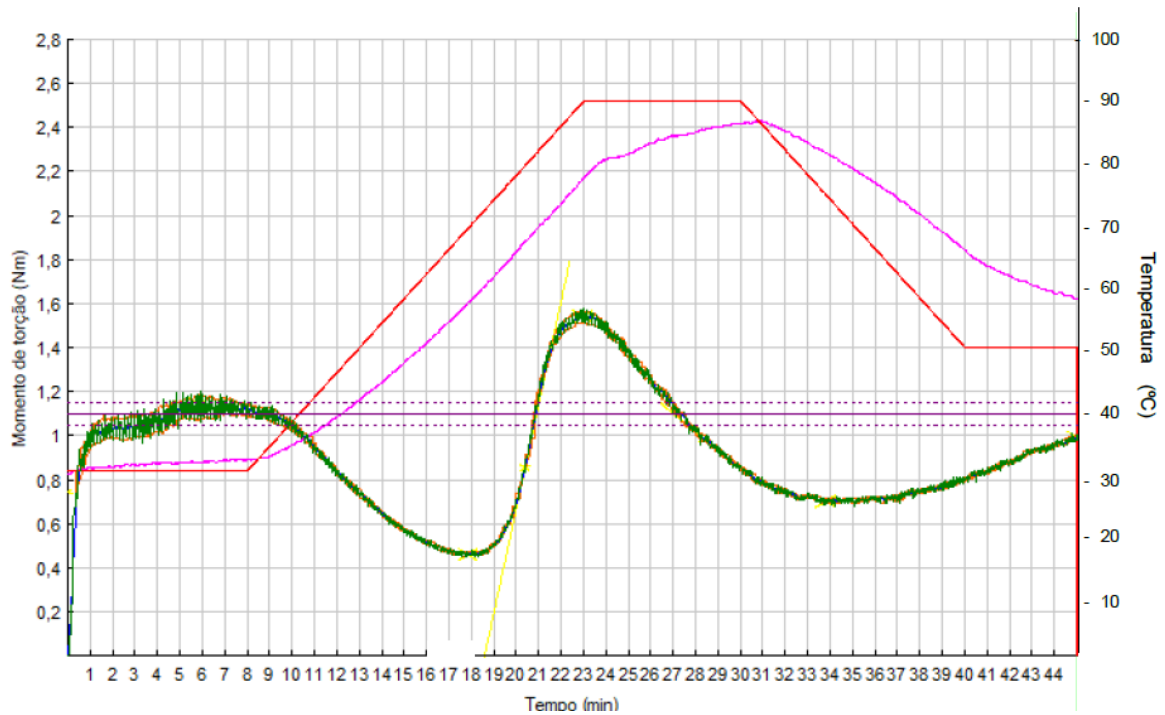
5.2 Efeito das proteínas no comportamento reológico da massa de trigo

A adição de proteínas externas resulta em mudanças na reologia das massas, tendo consequências na processabilidade e características sensoriais dos produtos, o que pode ser positivo, uma vez que as proteínas, dependendo da proporção, podem causar um efeito protetivo na estrutura da massa, melhorando a qualidade dos produtos panificáveis (TANG; LIU, 2017).

A influência de ingredientes e aditivos nas características da massa pode ser avaliada no Mixolab®, cujos parâmetros permitem caracterizar o comportamento físico-químico das proteínas e amidos na massa, quando submetidos a um controle simultâneo de cisalhamento mecânico e temperatura (ROSELL; COLLAR; HAROS, 2007; APRODU; BANU, 2014; TANG; LIU, 2017).

A Figura 4 apresenta um gráfico com a curva Mixolab® obtida para um dos experimentos.

Figura 4 - Curva Mixolab® obtida para o experimento farinha integral pura (Controle), primeiro lote.



Fonte: Autoria própria.

As médias dos resultados dos parâmetros obtidos no Mixolab® (Figura 4) estão descritas na Tabela 2, em que se apresentam tanto as variáveis independentes dos tratamentos (PE, PS e PSL) quanto às variáveis dependentes, ou resposta (Absorção de água, Tempo de desenvolvimento, Amplitude, Estabilidade, C1, C2, C3, C4 e C5), além do ensaio controle contendo 100% de farinha de trigo integral (C).

Tabela 2 - Parâmetros médios do Mixolab para farinha de trigo integral e formulações do planejamento de mistura

Ensaio	PE	PS	PSL	AbsA (%)	Tempo D (min)	A (Nm)	E (min)	C1 (Nm)	C2 (Nm)	C3 (Nm)	C4 (Nm)	C5 (Nm)
C	0	0	0	69,0	7,02	0,09	9,68	1,12	0,43	1,59	0,87	1,23
1	100,00	0,00	0,00	87,8	7,66	0,18	6,10	1,02	0,43	0,78	0,24	0,17
2	0,00	100,00	0,00	77,3	5,52	0,06	4,58	1,10	0,20	0,75	0,62	1,05
3	0,00	0,00	100,00	45,7	9,16	0,11	7,48	1,09	0,21	1,10	0,88	1,54
4	50,00	50,00	0,00	84,8	7,11	0,08	5,50	1,61	0,35	0,99	0,71	0,67
5	50,00	0,00	50,00	62,8	10,11	0,13	7,36	1,14	0,40	1,41	0,89	1,26
6	0,00	50,00	50,00	61,1	8,72	0,08	5,20	1,10	0,18	1,01	0,80	1,23
7	66,67	16,67	16,67	80,5	8,94	0,16	4,78	1,06	0,34	0,88	0,38	0,12
8	16,67	66,67	16,67	74,3	7,67	0,06	5,70	1,12	0,22	0,96	0,73	1,12
9	16,67	16,67	66,67	56,4	9,94	0,11	7,17	1,08	0,23	1,22	0,94	1,37
10	33,33	33,33	33,33	69,3	8,92	0,08	5,93	1,11	0,33	1,14	0,77	1,29

Legenda: C: farinha de trigo integral (controle). PE: proteína de ervilha. PS: proteína de soja. PSL: soro de leite. AbsA: Absorção de água, Tempo D : tempo de Desenvolvimento(min), A: Amplitude, E: Estabilidade, C1, C2, C3, C4 e C5: parâmetros Mixolab®.

Fonte: Autoria própria.

Na Tabela 3 estão apresentados os coeficientes de regressão do modelo cúbico utilizado no planejamento de misturas. Estes modelos foram utilizados para gerar as figuras de interação entre as três proteínas utilizadas nas misturas (Figuras 5 a 10). Os coeficientes que não apresentaram significância estatística ($p > 0,05$) foram mantidos na equação para manter a qualidade do ajuste do modelo. Os modelos apresentaram bons coeficientes de determinação ($R^2 \geq 0,80$), com exceção do modelo do parâmetro C1, o que significa que para este, o modelo não é confiável e não explica o efeito das proteínas externas sobre a variável dependente.

Tabela 3 - Coeficientes dos modelos gerados pelo planejamento de mistura simplex-centroide

Variáveis	TempoD	AbsA	A	E	C1	C2	C3	C4	C5
Proteína de ervilha (L)	7,7126*	88,3317*	0,0598*	5,3822*	1,1268*	0,3497*	0,5236*	0,1022	0,0773
Proteína de soja (L)	5,5456*	76,9576*	0,0595*	4,7526*	1,0948*	0,2130*	0,8270*	0,7302*	1,2622*
Soro de leite (L)	9,2033*	45,4031*	0,1175*	7,8822*	1,0732*	0,2162*	1,2252*	1,0753*	1,6536*
Proteína de ervilha x Proteína de soja (Q)	1,9533*	9,6427*	0,0105	3,8696*	0,0743	-0,0836	0,1911	-1,3443*	-2,9482*
Proteína de ervilha x Soro de leite (Q)	6,7287*	-	0,1277*	2,9287*	0,1680	0,4919*	2,1134*	1,3149*	1,6097*
Proteína de soja x Soro de leite (Q)	5,3746*	-15,0664*	-0,0750*	-3,0304*	0,0540	-0,1297*	0,2242	0,2278	-
Proteína de ervilha x Proteína de soja x Soro de leite (C)	-	-	-0,1370	-20,4480*	-0,2284	-0,7070*	-	6,0172*	11,5164
R²	0,92	0,98	0,82	0,86	0,20	0,93	0,91	0,82	0,80

Legenda: Linear (L), Quadrático (Q), Cúbico (C). A: Amplitude. E: Estabilidade. C1, C2, C3, C4 e C5: parâmetros Mixolab. *: significativo ao nível de 5%.

Fonte: Autoria própria.

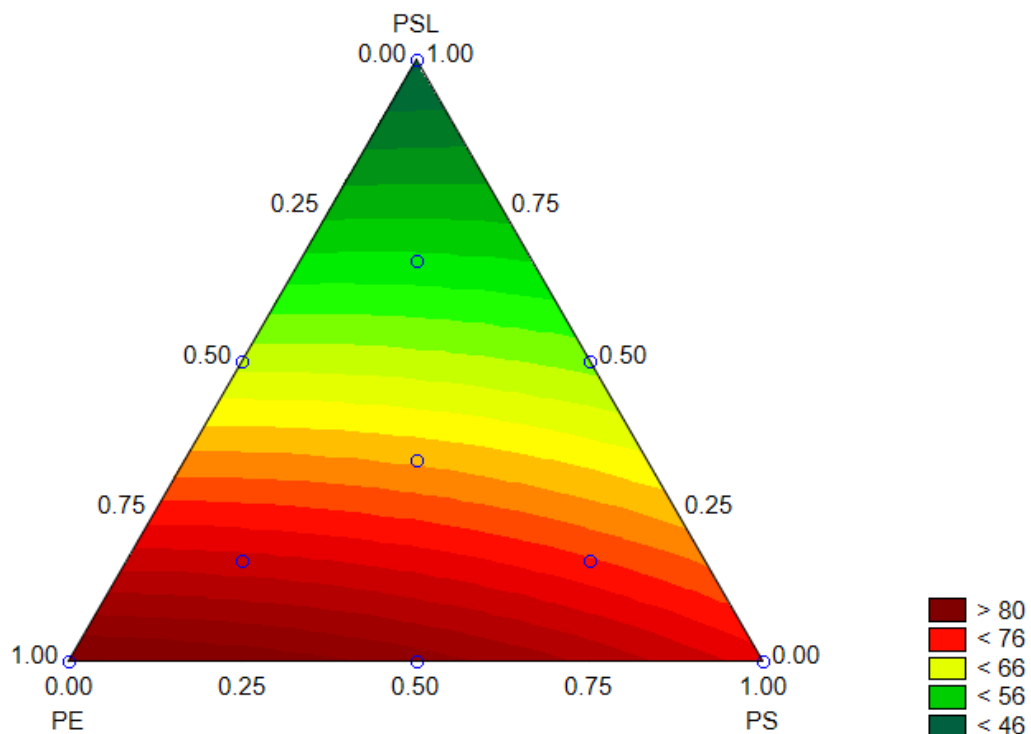
5.2.1 Absorção de água

Biscoitos moldados devem ser processados com pouca água na massa, para uma otimização de energia requerida no forneamento, a fim de garantir a baixa umidade final do produto, que tem padrão de, aproximadamente, 1,5%.

Por esse motivo o parâmetro absorção de água da farinha de trigo é muito importante. A amostra controle exibiu absorção de água de $69,0 \pm 0,10\%$, representada pela região alaranjada da curva de contorno, próximo e logo abaixo da região do ponto central (Figura 5).

Os menores níveis de absorção de água foram encontrados com as misturas contendo soro de leite, sendo menor quanto maior a proporção em soro de leite (Figura 5). Tang e Liu (2017) também obtiveram decréscimo de absorção de água na análise Mixolab® com a incorporação de soro de leite na massa de farinha, indo de 58% para 42,7%, comportamento também relatado por Indrani et al. (2007), Sudha, Rajeswari e Rao (2011) e Nogueira, Oliveira e Steel (2020), quando da substituição de farinha de trigo por soro de leite.

Figura 5 - Curva de Contorno do Parâmetro Absorção de Água (%) das misturas



Legenda: PE: proteína de ervilha. PSL: soro de leite. PS: proteína de soja.

Fonte: Autoria própria.

Por sua vez, Parate, Kawadkar e Sonawane (2011) observaram a necessidade de aumentar a quantidade de água na massa para alcançar uma consistência adequada da massa de biscoito, ao trabalhar com a adição de 20% a 40% de proteína de soro concentrada. Vale ressaltar que este comportamento diferenciado está associado com a utilização de proteína de soro concentrada, sendo que, neste estudo foi utilizado o soro de leite concentrado, que apresentou em torno de 12,4% de proteínas.

Com relação à adição de proteína de ervilha, um aumento significativo na absorção de água foi observado em estudo de Nogueira e Steel (2018), ao trabalharem com farinha de ervilha, corroborando com os resultados deste trabalho. Entretanto, massas preparadas com 10%, 20% e 30% de farinha de ervilha foram muito similares em termos de características de consistência e manuseio à massa de farinha de trigo (NOGUEIRA; STEEL, 2018).

Ainda de acordo com Nogueira e Steel (2018), a adição de farinhas de proteínas parece contribuir para o aumento da absorção de água, devido aos outros componentes (fibras, por exemplo) presentes nelas. Ao contrário, produtos de soro (isolados, concentrados ou hidrolisados) tendem a diminuir este parâmetro, provavelmente devido a uma menor capacidade de se ligar à água ou pelo impedimento físico à hidratação da farinha de trigo. Em geral, um enfraquecimento da massa é observado com a adição de proteínas externas (NOGUEIRA; STEEL, 2018).

Em relação à presença de proteína de soja na massa, a mistura exibiu diferentes comportamentos nas mensurações feitas no Mixolab®. A incorporação de proteína de soja (0% a 30%) aumentou a absorção de água de 53,8% para 94,4% na massa (TANG; LIU, 2017). Um efeito significativo da proteína de soja também foi observado para o parâmetro absorção de água das misturas avaliadas neste trabalho. No entanto, a maior influência para aumento de absorção de água foi observada pela adição da proteína de ervilha.

Qayyum et al. (2017) também observaram que, com o aumento da proporção de farinha de ervilha em farinha de trigo branca, a absorção de água aumentou. Esse aumento em capacidade de absorver água é devido ao gradual aumento da porcentagem de proteína. Devido à presença de proteínas que não são de trigo, a água passa a ficar inacessível para as proteínas do trigo responsáveis pelo desenvolvimento da estrutura tridimensional do glúten (DES-MARCHAIS et al., 2011).

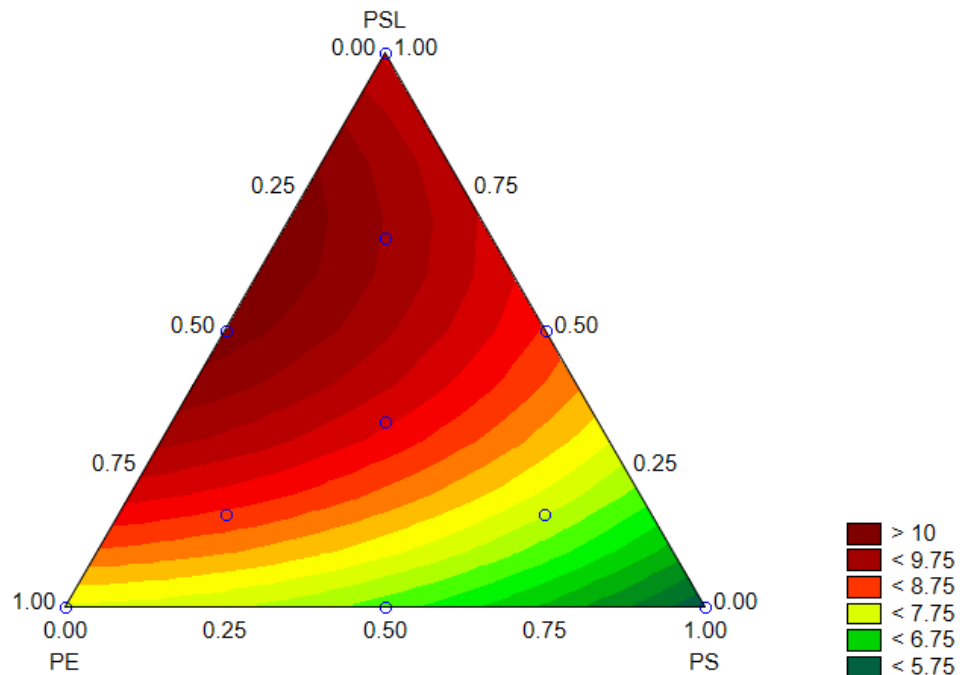
5.2.2 Tempo de desenvolvimento

Tempo de desenvolvimento é o tempo total entre o início da análise Mixolab® até o pico de torque C1. É o tempo requerido para obter C1. Quanto mais forte é a farinha de trigo, maior é o tempo de desenvolvimento (DUBAT; BOINOT, 2012). Ou seja, é um parâmetro que está relacionado com o tempo em que ocorre a absorção de água, o desenvolvimento da massa e conseqüentemente, a formação da rede de glúten.

Em estudo de Tang e Liu (2017), estes observaram que, conforme o nível de substituição de proteína de soro de leite aumentou de 0% a 20%, o tempo de desenvolvimento também aumentou de $1,12 \pm 0,07$ min para $4,42 \pm 0,02$ min, mas o tempo de estabilidade baixou de $7,62 \pm 0,28$ min a $3,66 \pm 0,08$ min. Entretanto, quando o nível de proteína de soro de leite ficou entre 20 e 30%, não houve mudanças significativas para o tempo de desenvolvimento.

O mesmo comportamento foi observado neste trabalho, ao se trabalhar com o soro de leite, onde os maiores tempos de desenvolvimento (maior que 10 min) foram obtidos com os ensaios com proporção de 50% a 75% de PSL na substituição. Este resultado pode ser traduzido pela região vermelho escura observada na Figura 6.

Figura 6 - Curva de Contorno do Parâmetro Tempo de Desenvolvimento (min) das misturas



Legenda: PE: proteína de ervilha. PSL: soro de leite. PS: proteína de soja.
Fonte: Autoria própria.

O tempo de desenvolvimento decresceu significativamente ($p < 0.01$) com o aumento do nível de substituição de farinha de trigo pela farinha de ervilha (de 0 a 20%), no estudo de Qayyum et al. (2017), para desenvolvimento de biscoitos doces.

Este comportamento da massa se deve à redução na concentração das proteínas do glúten com o aumento da quantidade de proteína de ervilha. Resultados similares foram reportados por Pasha et al. (2011), Mohammad et al. (2012) e Kohajdova, Karovičova e Magala (2013). Entretanto, neste trabalho, não foi observado este decréscimo pelo fato de que foram empregados farinha de trigo integral como referência para os parâmetros, e proteína isolada de ervilha, enquanto os autores previamente citados trabalharam com farinha de ervilha.

No caso deste trabalho, o foco está na busca por uma mistura de proteínas que apresente um tempo de desenvolvimento próximo ao da amostra controle (farinha de trigo integral pura), que, no caso, resultou em 7,02 min. Neste aspecto, ao analisar a Figura 6, observa-se que as misturas com comportamento similar ao controle encontram-se na região de cor amarela da curva de contorno do parâmetro, isto é, na região contendo maior proporção de proteína de ervilha e menor de soja.

A presença do soro de leite resulta em uma massa com uma menor capacidade de absorção de água (conforme discussão no item 5.2.1), o que pode

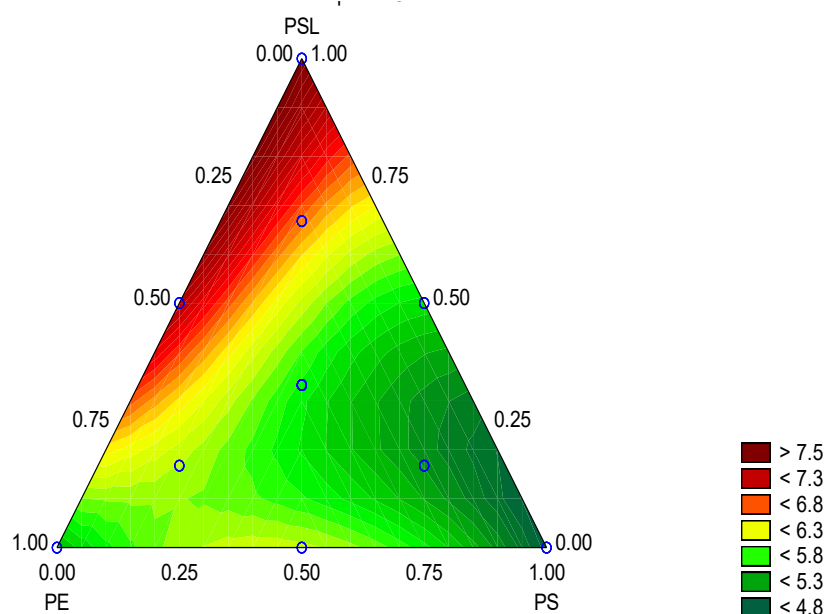
levar a um prejuízo na formação da rede de glúten. Tang e Liu (2017) afirmam que a adição de soro de leite levou a um sistema complexo e atrasou a hidratação, o alongamento e o alinhamento do glúten de trigo, levando a um aumento do tempo de desenvolvimento.

Por outro lado, apesar da maior capacidade de absorção de água das misturas contendo proteína de ervilha e isolado de soja (item 5.2.1), dependendo da concentração, estas não afetaram o tempo de desenvolvimento da massa contendo farinha de trigo integral.

5.2.3 Estabilidade

O tempo de estabilidade da massa é um indicador da força da farinha, onde valores maiores (região de coloração vermelha da Figura 7) sugerem que a massa é mais forte. Nesta etapa inicial do teste no equipamento Mixolab®, existe um emprego de trabalho mecânico com hidratação das farinhas, o que provoca o estiramento e alinhamento das proteínas, formando uma estrutura viscoelástica tridimensional; cuja resistência ao cisalhamento pode ser traduzida como a força da rede de glúten do trigo (COLLAR; BOLLAIN; ROSELL, 2007).

Figura 7 - Curva de Contorno do Parâmetro Estabilidade (min) das misturas



Legenda: PE: proteína de ervilha. PSL: soro de leite. PS: proteína de soja
 Fonte: Autoria própria.

Ao analisar a Tabela 3 e a Figura 7, observa-se que as formulações com soro de leite (PSL) puro (100%) e as misturas binárias de PSL com proteína de ervilha (PE) foram as que apresentaram maior estabilidade da mistura, com valores variando entre 7,3 e 7,5 min, mas bem abaixo do ensaio controle (100% de farinha de trigo integral, que foi de 9,03 min). Em estudo de Tang e Liu (2017), ao trabalharem com misturas contendo farinha de trigo e soro de leite, estes observaram que o tempo de estabilidade também decresceu, atingindo até 48% do valor da amostra controle, ao trabalhar com cinco até 20% de adição de proteína externa; por outro lado, ao trabalhar com 25 a 30% de adição de PSL, o prejuízo na redução no tempo de estabilidade foi menor (de 44,5 e 30%, respectivamente). Os autores atribuíram esse comportamento à diluição do glúten de trigo e à interferência do PSL na rede de glúten.

Conforme observado para o tempo de desenvolvimento (item 5.2.2), devido à diluição do glúten pela presença do PSL, Tang e Liu (2017) afirmam que o aumento do tempo de desenvolvimento, resulta em uma conseqüente redução do tempo de estabilidade de massa. Zadow (1981) complementa essa observação ao afirmar que o enfraquecimento da força da massa pelo PSL está relacionado à interferência dos grupamentos sulfidrilas destas proteínas sobre as reações de transformação dissulfeto/sulfidrilas do glúten que ocorrem normalmente durante a formação da massa, isto é, durante a fase de aplicação das forças de cisalhamento em conjunto com a hidratação, que ocorrem no primeiro estágio do Mixolab®.

Adicionalmente, Lupano (2000) afirma que as proteínas de soro de leite “quebram” a estrutura do glúten, o que também pode contribuir para a diminuição da Estabilidade das massas adicionadas de PSL, também observado por Dasappa et al. (2007), ao trabalharem com adição de soro de leite concentrado (0 a 15% de substituição) em massa de trigo para desenvolvimento de pão (Parotta).

Um aumento na absorção de água, tempo de desenvolvimento da massa e uma redução na estabilidade da massa pela incorporação de farinha de ervilha em farinha de trigo também foram reportados por Kohajdová et al. (2011), que atribuíram esse aumento à redução do conteúdo de glúten do sistema da massa e à habilidade das proteínas de ervilha em absorver água, limitando a disponibilidade de água para o desenvolvimento da rede de glúten. Este comportamento da mistura de farinha de trigo com proteína de ervilha devido à redução do conteúdo de glúten do sistema da massa, corrobora com o trabalho de Dabija, Codinã e Fradinho (2017), para os quais,

a presença da proteína de ervilha constituiu o principal responsável pelo efeito negativo sobre as propriedades reológicas da massa.

O mesmo raciocínio pode explicar por que as misturas contendo isolado proteico de soja (PS) apresentaram menor estabilidade (Figura 5). Ao se trabalhar com 100% de PE ou PS, observaram-se as maiores reduções no tempo de estabilidade. As proteínas de soja, assim como as proteínas de ervilha, apresentam alta capacidade de hidratação, o que deve ter limitado a água disponível para formação da rede de glúten, resultando no enfraquecimento da massa, e em valores de tempo de estabilidade menores. Considerando que o tempo de estabilidade é uma medida relacionada à força do glúten estável e com torque maior que C1 – 11%, se este não está sendo formado apropriadamente nesta etapa, ou demorará mais tempo para ser formado, haverá uma redução na Estabilidade.

Por sua vez, Tang e Liu (2017), ao trabalharem com substituição da farinha de trigo por PS (entre 5 a 30%), identificaram um comportamento distinto da PS sobre o tempo de estabilidade da massa, dependendo da quantidade de proteína adicionada. Ao trabalhar com 5% de PS, os autores também observaram uma redução neste parâmetro, correspondente a 22,5% do valor da amostra controle. Por outro lado, as amostras contendo entre 10% até 30% de PS mostraram um aumento de até 37% no tempo de estabilidade, comparada ao da farinha de trigo controle.

Tang e Liu (2017) atribuíram esses resultados à alta capacidade de hidratação das proteínas de soja associada à agregação das mesmas durante a etapa inicial do Mixolab®, resultando na maior tolerância mecânica da massa, e traduzida nos valores de tempo de estabilidade do Mixolab®. Este comportamento diferente pode estar associado à fonte de proteína de soja e/ou ao método de extração, uma vez que são fatores que afetam as propriedades funcionais dessas proteínas.

Em trabalho publicado por Nogueira (2019), esta aplicou as mesmas proteínas externas utilizadas neste trabalho, na substituição de farinha de trigo refinada empregada para elaboração de biscoitos. No trabalho, a autora variou a concentração de proteínas de 0 a 30%, utilizando um delineamento composto central rotacional 2³. A autora observou um aumento na Estabilidade ao utilizar a proteína de ervilha nas condições de seu estudo. Em relação às proteínas de soja e soro de leite, a pesquisadora relata comportamentos distintos dependendo da quantidade de substituição. Nas concentrações menores e maiores de substituição, a Estabilidade da massa diminui, e aumentou nas concentrações intermediárias das PS e PSL, muito

provavelmente devido às características de hidratação, capacidade de ligações e agregação dessas proteínas, conforme já relatados em outros trabalhos e descritos anteriormente (LUPANO, 2000; KOHAJDOVÁ et al., 2011; DABIJA; CODINÃ e FRADINHO, 2017; TANG; LIU, 2017).

A estabilidade da massa variou também significativamente ($p < 0.01$) nos estudos de Qayyum et al. (2017). De acordo com estes autores, com a mudança do nível de substituição de farinha de trigo por ervilha, o tempo de desenvolvimento e a estabilidade se correlacionaram inversamente. Com a substituição de glúten de trigo, a massa enfraqueceu e sua estabilidade decresceu de $6,5 \pm 0,42$ min para $3,10 \pm 0,13$ min com substituição respectiva de 0 a 20% de farinha de ervilha.

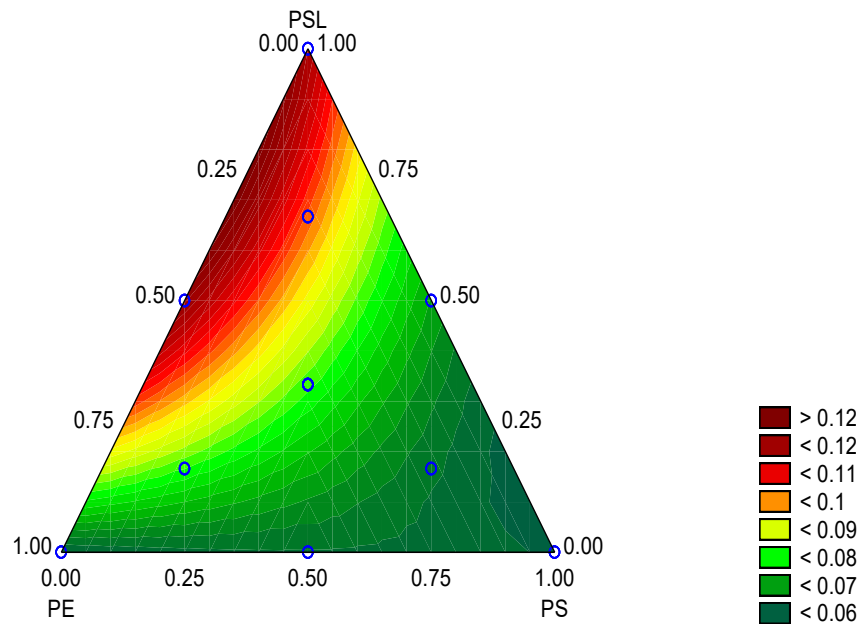
Neste trabalho, de forma semelhante, observou-se um decréscimo da estabilidade nos ensaios contendo os maiores níveis de substituição de farinha de trigo por isolado protéico de ervilha (de 6,3 min a 5,8 min para as maiores concentrações de proteínas de ervilha, nas faixas de cor verde claro e amarelo).

5.2.4 Amplitude

A Amplitude representa a largura da curva em C1, e está relacionada com a elasticidade do glúten. Quanto mais elástico é a amplitude, maior é a elasticidade da massa (DUBAT; BOINOT, 2012). É possível observar que, as formulações contendo PSL contribuíram para o aumento nos valores da Amplitude, e de maneira significativa ($p < 0,05$; Figura 8), comparada ao valor do parâmetro para a farinha de trigo integral pura (100%), que ficou na ordem de 0,093 Nm (Tabela 2). A PSL tem os maiores efeitos individuais para C3, C4 e C5.

Por outro lado, as misturas com proteína de soja e de ervilha isoladas tiveram efeitos negativos sobre o parâmetro, isto é, a presença dessas proteínas na mistura reduziu o valor da Amplitude, comparada com a formulação controle (Figura 8).

Figura 8 - Curva de Contorno do Parâmetro Amplitude (Nm) das misturas



Legenda: PE: proteína de ervilha. PSL: soro de leite. PS: proteína de soja.
 Fonte: Autoria própria.

De forma similar ao discutido para a Estabilidade, devido à alta capacidade de hidratação das PS e PE, estas acabam por competir com o glúten pela água no sistema, prejudicando a formação da rede de glúten, e, conseqüentemente, enfraquecendo a força da massa. No entanto, diferentemente da Estabilidade, que representa o tempo necessário para que a massa mantenha torque maior que C1 - 11%, para Amplitude, não necessariamente se considera a força da massa acima desse valor. É um parâmetro que está relacionado à etapa de mistura, em que ocorre simultaneamente uma hidratação, cisalhamentos uni e bidirecionais e temperatura, para a formação da rede proteica.

O PSL também apresenta alta capacidade de hidratação. Nogueira (2019) realizou um estudo para medir a capacidade de hidratação das proteínas de ervilha, soja e soro de leite, encontrando valores de $620 \pm 5\%$, $527 \pm 4\%$ e $445 \pm 6\%$ respectivamente. Dentre as três proteínas, o soro de leite é o que apresenta menor capacidade de absorção de água, a parte de conter aminoácidos hidrofóbicos e globulares que podem formar ligações de hidrogênio e dissulfetos (LUPANO, 2000), e assim, resultar em ligações com a rede de glúten, o que pode contribuir para aumentar os valores da Amplitude.

Levando em consideração que o intuito é obter uma mistura que apresente os parâmetros mais semelhantes ao da farinha de trigo integral pura, pelo diagrama de

misturas (Figura 8), o ideal seria trabalhar na faixa indicada pela coloração alaranjada, isto é, na região de maiores proporções de soro de leite e de proteína de ervilha, e menor proporção de proteína de soja. Considerando que no modelo cúbico gerado para este parâmetro, nenhuma das variáveis apresentaram um coeficiente de regressão de importância, é possível afirmar que é mais indicado trabalhar com misturas binárias de proteínas de ervilha e de soro de leite para se ter uma Amplitude com valor mais próximo do controle, considerado ideal para processabilidade.

5.2.5 C1

Em relação ao parâmetro C1, este representa o máximo torque atingido pela massa durante a mistura a 30°C (COLLAR; BOLLAIN; ROSELL, 2007). Neste trabalho, o modelo para o parâmetro C1 apresentou um baixo coeficiente de determinação ($R^2 = 0,20$), indicando que o modelo não consegue explicar a influência das misturas sobre esta variável. Com exceção da formulação adicionada da mistura binária de PE e PS, que apresentou C1 igual a 1,61 Nm, as demais misturas apresentaram valores de C1 entre 1,02 e 1,14 Nm (Tabela 2), e a farinha de trigo integral (controle) apresentou um valor do parâmetro C1 de 1,12 Nm. Esse valor foi menor do que o apresentado por Nogueira (2019), no entanto, vale mencionar que a autora trabalhou com farinha de trigo refinada e, no presente trabalho, a farinha de trigo foi integral. Considerando que a farinha de trigo integral apresenta uma força de rede de glúten menor do que a da farinha de trigo comum, em função das fibras, este comportamento com menores valores para C1 da farinha de trigo integral são justificados.

Em relação às misturas com isolados proteicos, Nogueira (2019) também não conseguiu gerar um modelo matemático que explicasse o efeito da substituição dessas proteínas na massa de trigo refinada para biscoitos: e os valores de C1 apresentaram uma variação bem grande (de 0,46 a 2,56 Nm), dependendo da proteína e sua concentração, diferentemente do observado neste trabalho, cujos valores ficaram próximos (1,02 a 1,61 Nm).

Tang e Liu (2017) afirmaram que, comparada à mistura com soro de leite, a massa de farinha com proteína de soja exibiu comportamentos diferentes nos parâmetros Mixolab®. A Estabilidade e C1 primeiro decresceram ao aplicar um nível

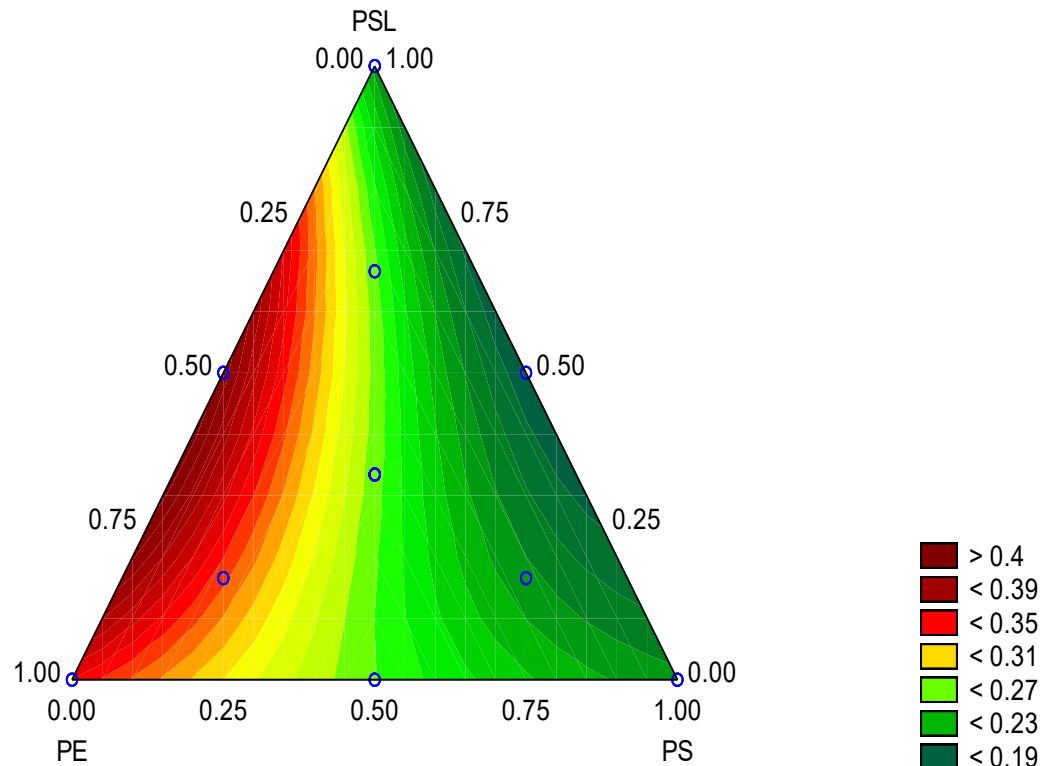
de até 4,17% de substituição e depois, continuamente, aumentaram com o posterior aumento de proteína de soja de 5 a 25%. O aumento desses parâmetros na presença de proteína de soja foi atribuído à agregação da proteína de soja e sua superior capacidade em ligar água ao sistema da massa, o que aumentou a tolerância mecânica da massa. Fato esse que não foi observado no presente trabalho, ao trabalhar com concentrações similares de PS, e, conforme descrito anteriormente, podem estar relacionadas à origem botânica da soja, ou pelo fato de termos utilizado farinha de trigo integral.

Dabija, Codinã e Fradinho (2017), por sua vez, não observaram diferenças para o parâmetro C1 entre a massa de farinha de trigo e a massa de farinha de trigo adicionada de farinha de ervilha.

5.2.6 C2

Em relação ao parâmetro C2, a mistura binária da proteína de ervilha com o soro de leite reduziu o enfraquecimento da massa, em termos de pico mínimo de torque (Tabela 3 e Figura 9), devido à sinergia entre estas proteínas para reforçar a rede de glúten, impedindo o enfraquecimento da mesma durante a mistura com exposição ao aquecimento. Por outro lado, a mistura das três proteínas teve um efeito negativo sobre este parâmetro, isto é, reduziu o valor de C2 (Figura 9).

Figura 9 - Curva de Contorno do Parâmetro C2 (Nm) das misturas



Legenda: PE: proteína de ervilha. PSL: soro de leite. PS: proteína de soja.

Fonte: Autoria própria.

Zadow (1981) reportou que o enfraquecimento da massa de farinha de trigo pelo soro de leite é devido à interferência de grupos sulfidril das proteínas do soro de leite na reação normal de intercâmbio sulfidril/dissulfito que ocorre durante o desenvolvimento da massa de farinha de trigo.

Como o parâmetro C2 reflete um enfraquecimento do glúten, a adição de proteínas de soja, ervilha e de soro de leite diminuiu a concentração das proteínas que compõe o glúten e prejudica o estado contínuo da massa de farinha de trigo, tornando difícil formar uma rede com estrutura estável sob os efeitos duplos de força mecânica e aquecimento; assim o torque mínimo (C2) continuou a decrescer e o enfraquecimento da rede continuou a aumentar. Mas é importante observar que, dependendo da proporção e tipo de proteínas, este efeito é maior ou até mesmo oposto.

Quanto maior o decréscimo na consistência, pior é a qualidade da proteína do glúten (SCHMIELE et al., 2017). Proteínas de glúten com boa qualidade para panificação são representadas por C2 na faixa de 0,5-0,6 Nm (LACKO-BARTOŠOVÁ; KONVALINA; LACKO-BARTOŠOVÁ, 2019).

No caso de biscoitos, essa faixa não é requerida. É possível observar que a farinha de trigo integral utilizada neste trabalho, e que é adequada para biscoitos, tem C2 igual a 0,43 Nm (farinha com glúten mais fraco) (Tabela 2). Ao avaliar o diagrama de misturas (Figura 9), observa-se que esta região fica localizada na área de coloração vermelho de intensidade máxima, isto é, na região em que se tem uma proporção de proteína de ervilha e de soro de leite em maior concentração e menor proporção de proteína de soja.

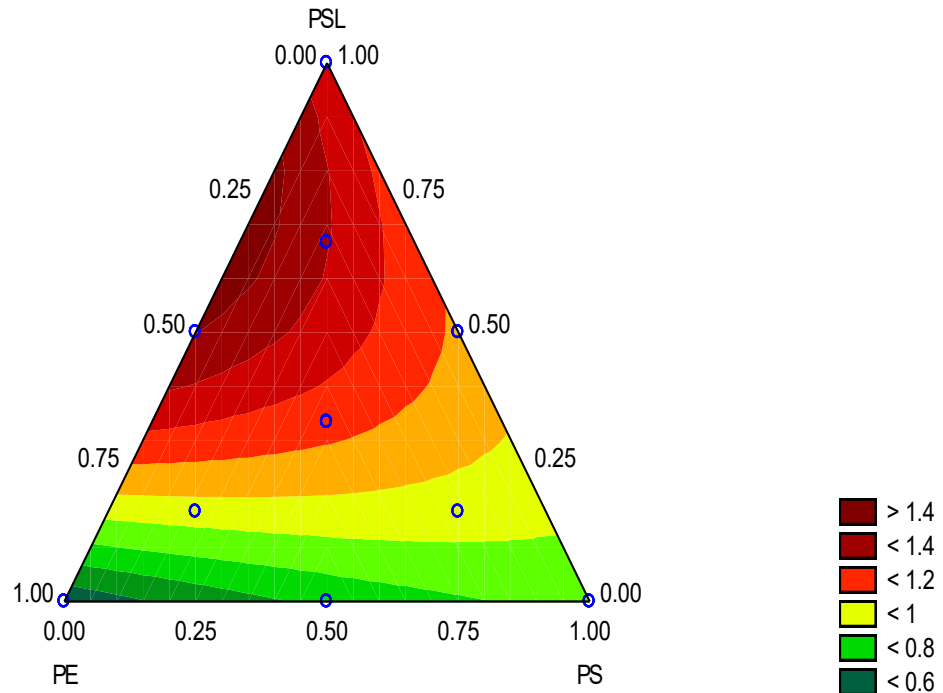
Em estudo de Dabija, Codinã e Fradinho (2017), uma diferença insignificante ($p > 0,10$) sobre C2 foi observada para a mistura de farinha de trigo e ervilha comparado com a farinha pura.

5.2.7 C3

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 3 e Figura 10, observa-se que desconsiderando o valor da farinha integral, os maiores valores de C3 foram obtidos nas misturas com soro de leite puro (100%) e nas misturas binárias contendo PSL com PE, devido à sinergia entre estas proteínas. Durante o estágio de aquecimento, os grânulos de amido absorvem água disponível no meio e incham. Cadeias de amilose lixiviam dentro da fase aquosa intergranular, promovendo um aumento na viscosidade e elevando o pico de torque. O PSL diminui a absorção de água pela massa, pois compete pela água com as cadeias de amido primárias durante o aquecimento.

O alto pico de torque (C3) das misturas de PSL com PE ocorreu, possivelmente devido à geleificação das proteínas do soro de leite e de ervilha. Marco e Rosell (2008) reportaram a geleificação induzida termicamente de proteínas durante o tratamento térmico, que modificaram grandemente comportamentos reológicos da massa. As proteínas do soro de leite formam géis viscoelásticos sob aquecimento acima de sua temperatura de desnaturação, de 67°C a 80°C, dependendo do pH do meio (ANDRADE; NASSER, 2005).

Figura 10 - Curva de Contorno do Parâmetro C3 (Nm) das misturas



Legenda: PE: proteína de ervilha. PSL: soro de leite. PS: proteína de soja
 Fonte: Autoria própria.

No estágio de aquecimento, nenhuma informação do Mixolab® foi obtida quando o nível de substituição de proteína de soja foi maior que 10%. Isso se deu, provavelmente, por causa da maior porcentagem de absorção de água pela proteína de soja. A massa não conseguiu segurar a água sob os duplos efeitos de cisalhamento mecânico e aquecimento até 90°C. O braço mecânico do Mixolab® "escorregou" no processo de mistura; assim, o instrumento não conseguiu detectar o valor de torque. Tang e Liu (2017) relataram que C3 diminuiu significativamente com o aumento no nível de proteína de soja, possivelmente, devido ao mais baixo conteúdo de amido e maior conteúdo de água na massa.

Nos estudos de Dabija, Codinã e Fradinho (2017) foi constatado que tanto a consistência da massa, como a atividade enzimática do sistema da massa foram próximos para suas amostras com adição de farinha de ervilha comparadas com o controle. Na fase de gelatinização, correspondente ao segundo estágio de aquecimento, a consistência da massa aumentou até o nível de substituição de 15% de farinha de ervilha e depois decresceu. Neste estágio, a temperatura da massa com adição de farinha de ervilha aumentou para a gelatinização do amido indicando um atraso da gelatinização do amido. Isso explica por que a amostra contendo 75%

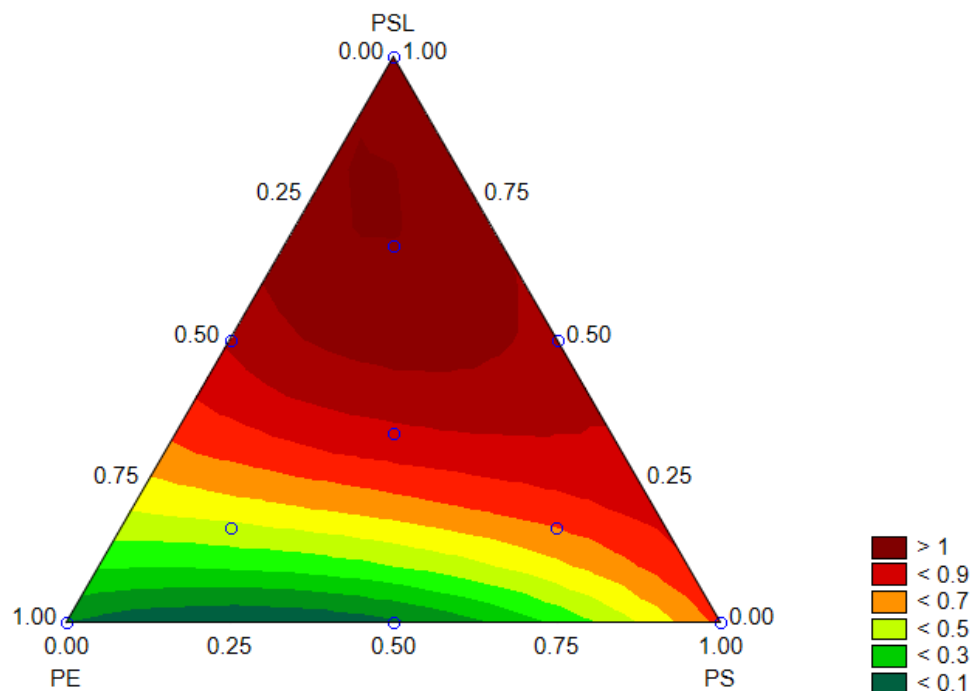
farinha de trigo e 25% proteína de ervilha, obteve valor bem mais baixo de C3 (0,78 Nm) que o padrão (1,5 Nm) (Tabela 2).

5.2.8 C4

Para Tang e Liu (2017) a adição de proteína de soro de leite aumentou o parâmetro C4, indicando que a adição de soro de leite reduziu a estabilidade térmica do amido na massa. Segundo os autores, a adição de proteína de soro de leite destruiu a estrutura contínua da rede de glúten e, subsequentemente, enfraqueceu seu efeito protetivo no amido sujeito à amilase.

Diferentemente, neste trabalho, foi observado um efeito oposto do soro de leite na degradação do amido da massa. As proteínas de soro de leite formam gel e mantiveram o torque C4 mais alto (Figura 11) (ANDRADE; NASSER, 2005).

Figura 11- Curva de Contorno do Parâmetro C4 (Nm) das misturas



Legenda: PE: proteína de ervilha. PSL: soro de leite. PS: proteína de soja.
Fonte: Autoria própria.

Dabija, Codinã e Fradinho (2017) verificaram que, com relação à consistência da massa durante o estágio quatro, obteve-se um decréscimo no valor, o menor de todos com a amostra com maior teor de substituição da farinha de trigo pela farinha

de ervilha (20%). Este resultado corrobora com este estudo, conforme ilustrado na Figura 11 e comparado ao ensaio com farinha de trigo integral pura (0,865 Nm).

Um decréscimo neste parâmetro também foi observado por Schmiele et al. (2017) ao trabalhar com substituição de farinha de trigo por proteína de soja comparado ao padrão farinha de trigo. Com o aumento dos níveis de proteína hidrolisada de soja, uma menor concentração de enzimas nas misturas foi observada, como esperado, provavelmente devido à diluição da farinha de trigo com a adição das proteínas, levando a redução da força da hidrólise do amido nessas amostras, e traduzidas nos valores do parâmetro C4. Ao mesmo tempo, a geleificação proteica pode ter interferido neste parâmetro. Este resultado é comparável ao deste estudo, em que se observa uma região de menores valores de C4, próximas da região da proteína de soja, mas não tão baixos quanto à região próxima da proteína de ervilha, dependendo das misturas.

5.2.9 C5

O aumento do torque, representado pelo parâmetro C5, está associado com a recristalização do amido e está relacionado com a retrogradação das moléculas de amido (MIRONEASA; CODINÃ, 2017), ou seja, quanto maiores os valores de C5, maior é a retrogradação da massa. No entanto, quando proteínas externas são adicionadas, o aumento nos valores desse parâmetro não necessariamente reflete a retrogradação do amido.

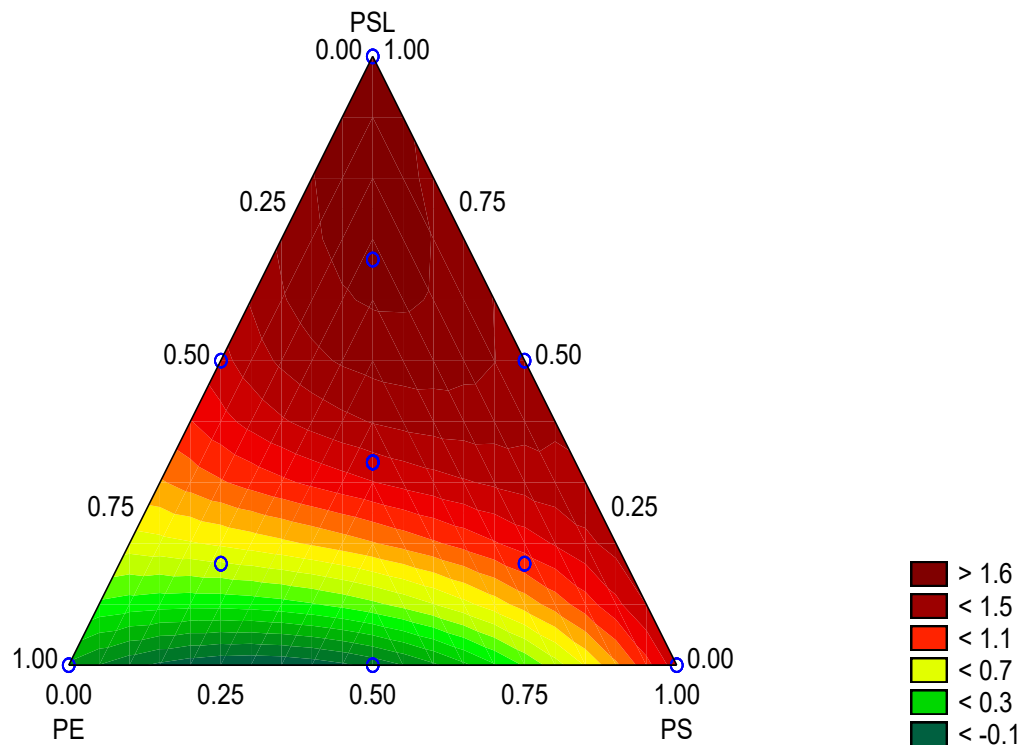
A aplicação das proteínas de soja e soro de leite na mistura com farinha de trigo teve um efeito positivo e significativo ($p < 0,05$) no parâmetro C5 (Figura 12), mas a mistura com proteína de ervilha teve um efeito negativo e significativo sobre o mesmo (Tabela 3).

Com o aumento do nível de substituição de soro de leite, o parâmetro C5 inicialmente decresceu e depois aumentou. C5 pode ter decrescido porque a proporção de amido decresceu. Em concentrações maiores de soro de leite, o reforço do gel de proteínas do leite durante o estágio de resfriamento pode ter causado o aumento novamente de C5 (TANG; LIU, 2017) (Figura 12).

Esta rede de gel das proteínas do soro de leite é mais forte que a do amido. A rede proteica, por sua diversidade de aminoácidos, permite ligações diferentes e

mais fortes do que as de amido na retrogradação. Por isso, o maior resultado encontrado para C5 foi obtido com a amostra contendo 100% de PSL, e nas demais com maiores proporções de soro de leite. Desta forma, entende-se que, a adição de soro de leite prejudica o *shelf life* de produtos panificados, acelerando a retrogradação e, por consequência, causando o endurecimento dos mesmos.

Figura 12 - Curva de Contorno do Parâmetro C5 (Nm) das misturas



Legenda: PE: proteína de ervilha. PSL: soro de leite. PS: proteína de soja.
Fonte: Autoria própria.

Em seu trabalho, Schmiele et al. (2017) observaram que, no último estágio da análise Mixolab®, ou seja, o quinto, a massa é resfriada a 58-60°C, e o parâmetro C5 é acessado. A massa padrão (farinha de trigo pura) apresentou o maior valor de C5, provavelmente, porque a farinha de trigo exibiu retrogradação maior na fase de resfriamento, devido ao maior grau de gelatinização na fase de aquecimento. A presença de maiores concentrações de proteína de ervilha resultou em diminuição de C5, em maior proporção do que misturas contendo maiores concentrações de proteína de soja (Figura 12, Tabela 3). Um significativo efeito anti-retrogradação no amido foi observado com o uso da proteína de ervilha, o que pode ser muito importante para prevenir endurecimento em produtos de panificação como pães e bolos.

Dabija, Codinã e Fradinho (2017) estudaram que o papel da farinha de ervilha foi claramente ressaltado no quinto estágio da curva Mixolab®, onde foi observada uma diminuição da consistência máxima durante o quinto estágio (C5), indicando uma melhoria no *shelf life* de produtos acabados de panificação, devido à menor retrogradação do amido. Tendo em vista que a retrogradação do amido pode ser associada ao fenômeno de endurecimento do pão, é possível, através destes valores, prever o comportamento do pão durante armazenagem.

No presente estudo também foi identificada a redução de C5 nas misturas mais ricas em proteína de ervilha, o que corrobora com as informações do estudo de Dabija, Codinã e Fradinho (2017), apesar do foco deste estudo ser formulação para biscoitos. Considerando que o objetivo era buscar uma mistura com comportamento mais próximo da farinha de trigo integral pura ($F = 1,228 \text{ Nm}$), o ideal seria buscar uma combinação próxima da faixa de vermelho de coloração intermediária, isto é, região com maior proporção de soro de leite e de proteína de soja e menor, ou nenhuma, proporção de proteína de ervilha (Figura 10).

5.3 Análise global e otimização da formulação de misturas

Um planejamento simplex centróide foi empregado para verificação do efeito das proteínas externas nas características reológicas da massa de farinha de trigo integral.

Avaliando-se o conjunto de resultados, pode-se afirmar que as proteínas adicionadas à massa competiram com as proteínas do glúten pela água, prejudicando a formação da rede de proteínas, e esse fenômeno foi refletido no parâmetro Estabilidade, conforme também reportado por outros autores (Zadow (1981), Lupano (2000), Dasappa et al. (2007), Kohajdová et al. (2011), Dabija, Codinã e Fradinho (2017) e Tang e Liu (2017)) e discutido anteriormente.

Para a absorção de água, a mistura ternária se mostrou bastante equilibrada com relação ao controle. As proteínas de ervilha e de soja se mostraram, enquanto misturas, promissoras para o tempo de desenvolvimento aproximado aos valores do controle.

A proteína de ervilha e o soro de leite tiveram um papel importante na mistura que afetou o parâmetro Amplitude de forma positiva, e as amostras com maior

proporção de proteína de soja tiveram resultados bastante inferiores aos da farinha de trigo integral pura, para este parâmetro.

As misturas contendo proteína de ervilha e soro de leite são as mais promissoras para aumentar o parâmetro C2, uma vez que, durante o processamento, formam um gel que compensa o enfraquecimento do glúten exposto ao aquecimento.

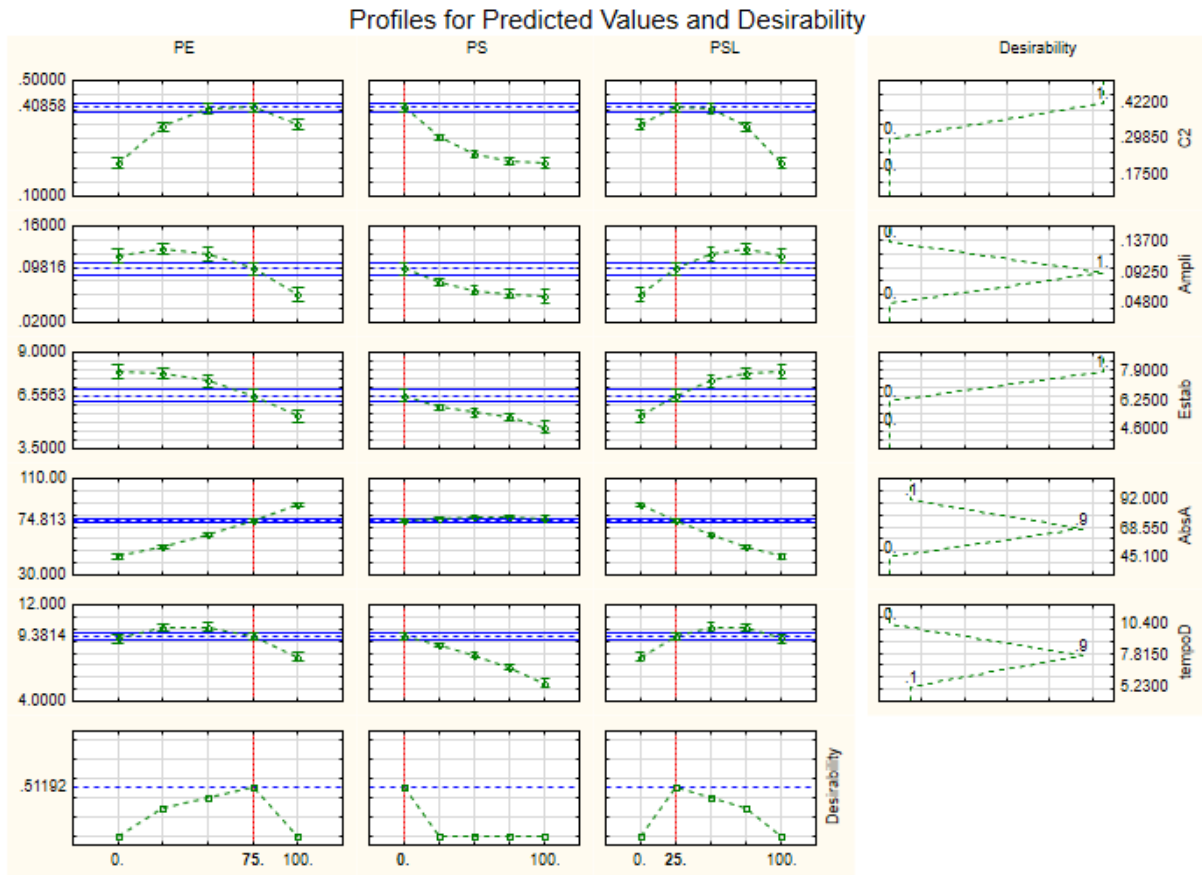
Após análise de cada parâmetro reológico das misturas, a próxima etapa é a aplicação da função estatística de desejabilidade. A função foi utilizada para indicar qual seria a formulação da massa ideal para ser usada na produção de biscoitos, em termos de proporção das proteínas adicionadas, PE, PS e PSL, considerando o objetivo de que a mistura deve apresentar propriedades reológicas mais próximas da obtida pela farinha de trigo integral pura (Controle).

Vale ressaltar que os parâmetros: Absorção de água, Tempo de desenvolvimento, Amplitude, Estabilidade, C1 e C2 são parâmetros relacionados à formação e força da massa e enfraquecimento do glúten durante o processamento da massa e, portanto, parâmetros importantes a serem considerados na otimização da formulação. Ao analisar a Tabela 3, observa-se que todos os modelos para estes parâmetros apresentaram altos coeficientes de determinação ($R^2 \geq 0,80$), com exceção do parâmetro C1 ($R^2 = 0,20$), logo, este não foi considerado na análise da otimização.

Em relação aos parâmetros C3, C4 e C5, parâmetros relacionados aos fenômenos de gelatinização de amido, ação da alfa amilase e retrogradação do amido, estes foram desconsiderados na análise de otimização. Isto porque estes fenômenos ocorrem praticamente todos dentro da etapa de forneamento do biscoito e, portanto, não são decisivos para o *shelf life* do produto, uma vez que a atividade de água e umidade finais são muito baixas em biscoitos moldados.

O resultado da análise da otimização empregando a função desejabilidade pode ser visualizada na Figura 13.

Figura 13 - Otimização da mistura de proteínas pela função de desejabilidade



Legenda: PE: proteína de ervilha. PS: proteína de soja. PSL: soro de leite.
Fonte: Autoria própria.

De acordo com a função de desejabilidade a mistura otimizada seria aquela contendo 75% de proteína de ervilha, 0% de proteína de soja e 25% de soro de leite, sendo esta proporção correspondente a 25% da concentração final da mistura com 75% de farinha de trigo integral.

A análise de proteínas da mistura otimizada resultou em $20,91 \pm 0,17\%$. Comparando com o teor de proteínas da farinha de trigo integral pura ($12,75 \pm 0,4\%$), observa-se que a formulação otimizada aumenta em 64% o teor proteico da mistura, representando um aporte interessante no nível de consumidores. Levando em conta que a legislação brasileira para Alimentos Enriquecidos ou Fortificados permite o enriquecimento ou fortificação desde que 100 g do produto, pronto para consumo, forneçam no mínimo 30% da IDR (Ingestão Diária Recomendada) de referência, no caso de sólidos, e esses alimentos, de acordo com o Regulamento Técnico de Informação Nutricional Complementar, poderão ter o "claim": Alto Teor ou Rico (BRASIL, 1998); pode-se considerar que a mistura final é enriquecida com proteínas.

E, em caso de comercialização apenas da base da mistura para a preparação de biscoitos, ela poderia ter o “*claim*” Rico em Proteínas. Embora caiba ressaltar que a legislação menciona produtos prontos para consumo e não se refira a bases de preparações.

Para um trabalho futuro, seria interessante refazer a análise reológica desta mistura otimizada para confirmar se os resultados são compatíveis com os obtidos neste trabalho. Além disso, uma compensação necessária no processo seria o aumento de água na formulação e um maior tempo de batimento da massa, para propiciar a melhor formação da rede de glúten.

6 CONCLUSÃO

Foi possível chegar a uma mistura de farinha de trigo integral e proteínas externas, com características semelhantes à farinha de trigo integral pura para produção de biscoitos moldados, sendo esta constituída por uma proporção 75%/25% proteína isolada de ervilha/soro de leite, correspondendo a 25% de substituição total da farinha de trigo integral.

O isolado proteico de soja não se mostrou o mais promissor em atender as características reológicas da mistura em suas diversas proporções utilizadas.

O incremento de teor proteico da mistura otimizada (de 64%) é interessante nutricionalmente ao nível de consumidores, especialmente em se tratando de alimentos para crianças e idosos. Maiores estudos relacionados com o perfil de aminoácidos, testes de formulação e sensoriais são necessários e interessantes para trabalhos futuros.

REFERÊNCIAS

ABD-ELATIEF, H. A. **Fortification of wheat flour with decorticated pigeon pea flour and protein isolate for bakery products**. 2006. 220f. Thesis (Ph.D. in Agriculture) - University of Khartoum, Khartoum, 2006.

ABIMAPI (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE BISCOITOS, MASSAS ALIMENTÍCIAS E PÃES & BOLOS INDUSTRIALIZADOS). **Estatística sobre biscoitos**. 2018. Disponível em: <<https://www.abimapi.com.br/estatistica-biscoito.php>>. Acesso em: 11 out. 2017.

AMMAR, A. S.; SALEM, S. A.; BADR, F. H. Rheological properties of wheat flour dough as affected by addition of whey and soy proteins. **Pak J Nutr**, Faisalabad, Pakistan, v. 10, n. 4, p. 302-306, 2011.

ANDRADE, C. T.; NASSER, R. O. Estudo reológico da gelificação induzida pelo calor de proteínas do soro do leite e dos géis resultantes sob condições variadas de pH. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 25, n. 2, p. 315-321, 2005.

APRODU, I.; BANU, I. Rheological, thermo-mechanical, and baking properties of wheat-millet flour blends. **Food Sci Technol Int**, v. 21, n. 5, p. 342-353, 2015.

BACK, L. **Matérias-primas e insumos: possíveis influências nos processos de produção em indústria de produtos alimentícios**. 2011. 54f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia da Produção) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2011.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**, 4. ed., Porto Alegre: Bookman, 2010.

BAHRAMPARVAR, M. et al. Application of simplex-centroid mixture design to optimize stabilizer combinations for ice cream manufacture. **J Food Sci Technol.**, v. 52, n. 3, p. 1480-8, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **RDC nº 263**, de 22 de setembro de 2005: aprova o “regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos”, constante do Anexo desta Resolução. Diário Oficial da União, Brasília, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. **Portaria nº 31**, de 13 de janeiro de 1998: aprova o regulamento técnico referente a alimentos adicionados de nutrientes essenciais, constante do anexo desta Portaria. Brasília: Diário Oficial da União, 1998. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/1998/anexo/anexo_prt0031_13_01_1998.pdf>. Acesso em: 26 mar 2021.

BRESSIANI, J. et al. Influence of milling whole wheat grains and particle size on thermo-mechanical properties of flour using Mixolab. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 37, n. 4, p. 276-284, 2019.

CAFFE-TREML, M. et al. Variability and relationships among Mixolab, Mixograph, and Baking parameters based on multienvironment spring wheat trials. **Cereal Chem.**, v. 87, n. 6, p. 574-580, 2010.

CALADO, V.; MONTGOMERY, C. D. **Planejamento de experimentos usando Statistica 1**. Rio de Janeiro: E-papers Serviços Editoriais, 2003.

CAMPOS, A. F. L. et al. Identificação e análise dos fatores antinutricionais nas possíveis interações entre medicamentos e alimento/ nutrientes em pacientes hospitalizados. **Einstein**, São Paulo, v. 9, n. 3, p. 319-325, 2011.

CHEN, R. et al. Application of simplex-centroid mixture design in developing and optimizing ceramic adsorbent for as (V) removal from water solution. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 131, (n. 1-3), p. 115-121, 2010.

CHOPIN. Chopin Technologies. **Gaining a better understanding of the Mixolab® curve**. Jul. 2012. Disponível em: <<http://www.chopin.fr/media/docs/MAB-GB-Web-web.pdf>>. Acesso em: 11 out. 2017.

COLLAR, C.; BOLLAIN, C.; ROSELL, C. M. Rheological behaviour of formulated bread doughs during mixing and heating. **Food Science and Technology International**, v. 13, n. 2, p. 99-107, 2007.

CORNELL, J. A. **A primer on experiments with mixtures**. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2011.

CORNELL, J. A.; DENG, J. C. Combining process variables and ingredient components in mixing experiments. **Journal of Food Science**. Hoboken, New Jersey, v. 47, n. 3, p. 836-843, 1982

DABIJA, A.; CODINĂ, G. G.; FRADINHO, P. Effect of yellow pea flour addition on wheat flour dough and bread quality. **Romanian Biotechnological Letters**, v. 22, n. 5, p. 12888-12897, 2017.

DALTON, S. M. C.; TAPSELL, L. C.; PROBST, Y. Potential health benefits of whole grain wheat components. **Nutrition Today**, v. 47, n. 4, p. 163-174, 2012.

DAGUER, H.; ASSIS, M. T. Q. M.; BERSOT, L. S. Controle da utilização de ingredientes não cárneos para injeção e marinação de carnes. **Ciência Rural**, v. 40, n. 9, p. 2037-2046, 2010.

DASAPPA, I. et al. Alveograph as a tool to assess the quality characteristics of wheat flour for parotta making. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 4, p. 1202-1206, 2007.

DES-MARCHAIS, L. P. et al. Bread-making potential of pea protein isolate produced by a novel ultrafiltration/diafiltration process. **Procedia Food Sci.**, v. 1, p. 1425-1430, 2011.

DHAKA, V., GULIA, N., KHATKAR, B.S. Application of Mixolab to assess the bread making quality of wheat varieties. **Scientific Reports**, Kansas, v.1, n.3, p.1-8, 2012.

DUBAT, A. A new AACC international approved method to measure rheological properties of a dough sample. **AACC International Report**. v.55, n.3, may-jun., 2010.

DUBAT, A. BOINOT, N. **Mixolab applications handbook: rheological and enzyme analyses**. May 2012. Disponível em: <<http://concereal.net/wp-content/uploads/2017/03/2012-CHOPIN-Mixolab-Applications-Handbook-EN-SPAIN-3.pdf>>. Acesso em: 29 mar 2021.

FASOLIN, L. H. Biscoitos produzidos com farinha de banana: avaliações química, física e sensorial. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 3, p. 524-529, 2007.

FIB. Food Ingredients Brasil. **Enriquecimento de alimentos com nutrientes**. n. 31, p. 27-33, 2014.

GANI, A. et al. Effect of whey and casein protein hydrolysates on rheological, textural and sensory properties of cookies. **J Food Sci Technol**, New Delhi, v. 59, n. 2, p. 5718-5726, 2015.

GONÇALVES, L. S. **Estudo do enriquecimento de biscoito tipo cracker com proteínas de bijupirá (*Rachycentron canadum*)**. 2014. 78f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) - Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2014.

GUIMARÃES, D. H. Utilização de soro de queijo na elaboração de biscoitos doces. **Revista Ciências Exatas e Naturais**, v.13, n. 2, p.271-85, 2011.

HAJ-ISA, N. M. A.; CARVALHO, E. S. Desenvolvimento de biscoitos, tipo salgado, enriquecidos pela adição de merluza. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.31, n.2, p.313-318, abr.-jun. 2011.

INDRANI, D. et al. Influence of whey protein concentrate on the rheological characteristics of dough, microstructure and quality of unleavened flat bread (parotta). **Food Research International**, v. 40, n. 10, p. 1254-1260, 2007.

- JIAN-ZHONG, Z. et al. Application of the mixture design to design the formulation of the pure cultures in Tibetan kefir. **Agri Sci China**, v. 6, p. 1383-1389, 2007.
- KOHAJDOVA, Z.; KAROVIČOVA, J.; MAGALA, M. Effect of lentil and bean flours on rheological and baking properties of wheat dough. **Chem. Pap.**, v. 67, n. 4, p. 398-407, 2013.
- KOKSEL, H., et al. Potential Utilization of Mixolab for Quality Evaluation of Bread Wheat Genotypes. **Cereal Chemistry Journal**, v. 86, n. 5, p. 522-6, 2009.
doi:10.1094/cchem-86-5-0522
- KRÜGER, C. C. H. et al. Biscoitos tipo “cookie” e “snack” enriquecidos, respectivamente com caseína obtida por coagulação enzimática e caseinato de sódio. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.23, n.1, p.81-86, 2003.
- LACKO-BARTOŠOVÁ, M.; KONVALINA, P.; LACKO-BARTOŠOVÁ, L. Baking quality prediction of spelt wheat based on rheological and mixolab parameters. **Acta Alimentaria**, v. 48, n. 2, p. 213-220, 2019.
- LI, C. P. et al. Improvement of functional properties of whey protein isolate through glycation and phosphorylation by dry heating. **J. Dairy Sci.**, Lancaster, v. 88, p. 4137-45, 2005.
- LIMA, S. G. **Utilização de *Pleurotus sajor-caju* em pó como enriquecedor nutricional da farinha de trigo tipo I**. 2015. 99f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos) - Universidade da Região de Joinville, Joinville, 2015.
- LUPANO, C. E. Gelation of mixed systems whey protein concentrate-gluten in acidic conditions. **Food Reseach International**, v. 33, p. 691-696, 2000.
- MAACHE-REZZOUG, Z. Effect of principal ingredients on rheological behaviour of biscuit dough and on quality of biscuits. **Journal of Food Engineering**, v. 35, n. 1, p. 23-42, 1998.
- MAIA, J. D. et al. Estudo da aceitabilidade do pão de forma enriquecido com farinha de resíduo da polpa de coco. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Campina Grande, v.17, n.1, p.1-9, 2015.
- MARCO, C.; ROSELL, C. M. Functional and rheological properties of protein enriched gluten free composite flours. **Journal of Food Engineering**, n. 88, p. 94-103, 2008.
- MARIANI, M. et al. Elaboração e avaliação de biscoitos sem glúten a partir de farelo de arroz e farinhas de arroz e de soja. **Braz. J. Food Technol.**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 70-78, jan./mar. 2015.

MIRONEASA, S.; CODINĂ, G. G. The Mixolab rheological properties and dough microstructure of defatted mustard seed–wheat composite flours. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 5, 201.

MORR, C. V. Whey proteins: manufacture. In: FOX, P. F. (Ed) **Developments in dairy chemistry-4: functional milk proteins**. New York: Elsevier Applied Science, 1989. p. 245-284.

MULVIHILL, D. M. Production, functional properties and utilization of milk protein products. In: FOX, P. F. (ed) **Advanced Dairy Chemistry: proteins**. New York: Elsevier Science Publishers, 1992. v.1. p. 369- 404.

NESTLÉ. **Biscoito Nesfit Cereais e Cacau 160g**. 2021. Disponível em: <<https://www.nestle.com.br/marcas/nesfit/biscoito-nesfit-cereais-e-cacau>>. Acesso em: 26 mar 2021.

NOGUEIRA, A. C. **Enriquecimento proteico de biscoitos**: utilização de diferentes hidrolisados e isolados proteicos. 2019. 247f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2019.

NOGUEIRA, A. C.; OLIVEIRA, R. A.; STEEL, C. J. Protein enrichment of wheat flour doughs: empirical rheology using protein hydrolysates. **Food Sci. Technol.**, Campinas, v. 40, supl. 1, p. 97-105, 2020.

NOGUEIRA, A. C.; STEEL, C. J. Protein enrichment of biscuits: a review. **Food Reviews International**, Abingdon, v. 34, n. 8, 796-809, 2018.

PARATE, V. R.; KAWADKAR, D. K.; SONAWANE, S. S. Study of whey protein concentrate fortification in cookies variety biscuits. **Int J. Food Eng.**, v. 7, n. 2, p. 1-12, 2011.

PASHA, I. et al. Quality evaluation of wheat-mung bean flour blends and their utilization in baked products. **Pak. J. Nutr.**, v. 10, n. 4, p. 388-392, 2011.

PIRES, C. V. et al. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26, n. 1, p. 179-187, 2006.

QAYYUM, A. et al. Rheological and qualitative assessment of wheat-pea composite flour and its utilization in biscuits. **Pakistan J of Agricult. Res.**, v. 30, n. 3, p. 258-265.

- ROSELL, C. M.; COLLAR, C.; HAROS, C. M. Assessment of hydrocolloid effects on the thermo-mechanical properties of wheat using the Mixolab. **Food Hydrocolloids**, v. 21, n. 3, p. 452-462, 2007.
- SANDBERG, A. S. Developing functional ingredients: a case study of pea protein. In: SAARELA, M. (ed) **Functional foods: concept to product**. 2. nd. Witney: Woodhead Publishing Limited, 2011. p. 359-382.
- SANTANA, A. B. C.; SARTI, F. M. **Mapeamento da qualidade nutricional da alimentação em diferentes estados do Brasil**. Confins, v. 39. Disponível em: <<http://journals.openedition.org/confins/18449>>. Acesso em: 18 mar 2020.
- SCHEUER, P. M. et al. Effects of fat replacement on properties of whole wheat bread. **Braz. J. Pharm. Sci.**, São Paulo, v. 50, n. 4, p. 703-712, 2014.
- SCHMIELE, M. et al. Mixolab for rheological evaluation of wheat flour partially replaced by soy protein hydrolysate and fructooligosaccharides for bread production. **LWT - Food Science and Technology**, v. 73, part B, p. 259-269, 2017.
- SILVA, B. L. A.; BORA, P. S.; AZEVEDO, C. C. Caracterização química parcial das proteínas das amêndoas da munguba (*pachira aquatica aubl*). **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 69, n. 3, 2010.
- SINGH, U.; JAMBUNATHAN, R. Distribution of seed protein fractions and amino acids in different anatomical parts of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and pigeonpea (*Cajanus cajan* L.). **Plant Food Hum Nutr**, v 31, p. 347-354, 1982.
- SOCIEDADE BRASILEIRA DE ALIMENTAÇÃO E NUTRIÇÃO (SBAN). **O benefício do consumo da proteína isolada de soja nas diferentes fases da vida**. São Paulo: SBAN, 2016.
- STOENESCU, G. et al. Prediction the quality of industrial flour using the Mixolab® device. **Bulletin Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Agriculture**, Cluj-Napoca (Romênia), v. 67, n. 2, p. 429-433, 2010.
- SUDHA, M. L.; RAJESWARI, G.; RAO, G. V. Influence of defatted soy flour and whey protein concentrate on dough rheological characteristics and quality of instant vermicelli. **J. Texture Stud.**, v. 42, n. 1, p. 72-80, 2011.
- TANG, X.; LIU, J. A comparative study of partial replacement of wheat flour with whey and soy protein on rheological properties of dough and cookie quality. **Journal of Food Quality**, v. 2017, 2017.

VIEITO, C. S. **Desenvolvimento e otimização de uma bolacha enriquecida com proteína de ervilha, cálcio e vitamina D**. 2016. 134f. Dissertação (Mestrado em Empreendedorismo e Inovação na Indústria Alimentar) - Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Viana do Castelo, 2016.

WATANABE, E. **Influência das proteínas formadoras do glúten na qualidade tecnológica da farinha de trigo para panificação**. 2014. 82f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Alimentos) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2014.

YAĞCI, S. Rheological properties and biscuit production from flour blends prepared from cereal based by-products. **Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi**, v. 23, n. 2, p. 142-149, 2019.

ZADOW, J. G. Measurement of the effect of whey protein concentrates on fermenting doughs by the Instron Tester. **Australian Journal of Dairy Technology**, v. 36, p. 56-59, 1981.