

EFEITO DA ADIÇÃO DE ZEÍNA E COLÁGENO HIDROLISADO NAS CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE PÃO SEM GLÚTEN

EFFECT OF THE ADDITION OF ZEIN AND HYDROLYZED COLLAGEN ON THE
PHYSICAL CHARACTERISTICS OF GLUTEN-FREE BREAD

Raissa Ingrid Santana Araújo Costa

Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, Brasil
Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos. E-mail: rai_ingrid@hotmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-6497-2111>

Ane Rafele Silva Moura

Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, Brasil
Graduada em Engenharia de Alimentos. E-mail: anemoura@academico.ufs.br
<https://orcid.org/0000-0002-0871-189X>

Paulo Roberto Gagliardi

Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, Brasil
Doutor em Agronomia. E-mail: prgagli@academico.ufs.br
<https://orcid.org/0000-0002-9394-8604>

Patricia Beltrão Lessa Constant

Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, Brasil
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos. E-mail: pblconstant@academico.ufs.br
<https://orcid.org/0000-0001-7095-940X>

Submissão: 12-01-2024

Aceite: 13-05-2024

RESUMO: O pão com boas características de qualidade requer o desenvolvimento adequado da massa e bom aspecto físico que são dependentes do glúten. Na produção de pães sem glúten é necessário estudar substitutos adequados de maneira a manter as características de elasticidade e extensibilidade necessárias a formação do produto. O presente trabalho objetivou desenvolver pães isentos de glúten elaborados com farinha de arroz, com a adição de zeína e colágeno hidrolisado em diferentes proporções, avaliando seus efeitos no produto final. O delineamento usado foi fatorial 2x2 inteiramente casualizado e submetido a análises físicas, passando por análise de variância (ANOVA) e Teste de médias de Tukey ($p \leq 0,05$) utilizando o *software Statistical Analysis System (SAS®) Studio*, e microscopia digital. De acordo com os resultados a coloração da crosta e do miolo dos pães tiveram influência da zeína



e dos pigmentos do milho tornando-os pães amarelados. A adição do colágeno hidrolisado e zeína isolada tiveram influência significativa ($p \leq 0,05$) quanto ao volume específico, perda de peso ao assar e firmeza, tornando os pães com maior volume específico ($2,19 \pm 0,05 \text{ cm}^3/\text{g}$), menor percentual de perda de peso ($10,16 \pm 0,02\%$) e menor firmeza da crosta (5668 gf) em comparação com o controle. A microscopia digital comprovou visualmente o aumento da porosidade da crosta e do número de células do miolo, os tornando menos firmes. Portanto, a adição da zeína isolada e do colágeno hidrolisado teve um efeito positivo nos pães sem glúten, contudo, não apresentou o mesmo comportamento que as proteínas do glúten.

PALAVRAS-CHAVE: Zeína isolada. Panificação. Celíaco. Colágeno. Pão de forma.

ABSTRACT: Bread with good quality characteristics requires proper dough development and a good physical appearance, which are dependent on gluten. In the production of gluten-free bread, it is necessary to study suitable substitutes to maintain the necessary elasticity and extensibility characteristics for product formation. This study aimed to develop gluten-free bread made with rice flour, with the addition of zein and hydrolyzed collagen in different proportions, evaluating their effects on the final product. The experimental design used was a 2x2 completely randomized factorial design, subjected to physical analyses, which underwent analysis of variance (ANOVA) and Tukey's mean test ($p \leq 0.05$) using Statistical Analysis System (SAS®) Studio software, and digital microscopy. According to the results, the crust and crumb color of the bread were influenced by zein and corn pigments, making them yellowish. The addition of hydrolyzed collagen and isolated zein significantly influenced ($p \leq 0.05$) specific volume, weight loss during baking, and firmness, resulting in bread with higher specific volume ($2.19 \pm 0.05 \text{ cm}^3/\text{g}$), lower percentage of weight loss ($10.16 \pm 0.02\%$), and lower crust firmness (5668 gf) compared to the control. Digital microscopy visually confirmed an increase in crust porosity and crumb cell count, making them less firm. Therefore, the addition of isolated zein and hydrolyzed collagen had a positive effect on gluten-free bread; however, they did not exhibit the same behavior as gluten proteins.

Keywords: Zeína isolated. Baking. Celiac. Collagen. Bread loaf.

Introdução

A produção de pão é uma das atividades mais antigas da humanidade, sendo que sua origem é relatada pelo cultivo de cereais no Oriente Médio (CAUVAIN; YOUNG, 2009; KOHMANN, 2010). Tradicionalmente, o pão é elaborado a partir da farinha derivada do trigo, porém outros tipos de cereais, leguminosas e legumes podem ser moídos, produzindo uma farinha, contudo restringe-se ao trigo e algumas outras sementes de cereais a presença de proteínas que possuem a capacidade de formar uma rede de glúten na massa (CAUVAIN; YOUNG, 2009).

O glúten é uma rede proteica formada por gluteninas e prolaminas presente no trigo, na aveia, na cevada e no centeio, o qual possui a capacidade de aumentar a absorção de água, coesividade, viscosidade e elasticidade, tendo assim um papel importante em produtos de panificação, de confeitaria e em massas, apresentando um amplo mercado consumidor (WIESER, 2006). Contudo, seu consumo pode provocar reações adversas, tais como alergia ao trigo e doença celíaca (O'SHEA; ARENDT; GALLAGHER, 2014).

A doença celíaca (DC) é uma intolerância alimentar, ou seja, uma enfermidade do sistema imunológico, que inviabiliza o metabolismo do glúten, o qual é o termo empregado para especificar as prolaminas. As frações proteicas do glúten tóxicas ao paciente com doença celíaca são diferentes em cada um dos cereais: gliadina no trigo, hordeína na cevada, secalina no centeio e avenina na aveia (FRANCO, 2015).

Estima-se que no Brasil existe um portador da doença celíaca para cada trezentos habitantes. O seu tratamento é feito a partir da dieta isenta de glúten, não podendo ser consumido trigo, aveia, centeio, cevada e malte ou seus derivados (ARAÚJO; ARAÚJO, 2011). Para garantir essa prática no Brasil, foi promulgada a Lei nº10.674, de 16 de maio de 2003, a qual determina que todos os alimentos industrializados deverão conter em seu rótulo, obrigatoriamente, as inscrições “contém Glúten” ou “não contém Glúten” (BRASIL, 2003).

A adesão à dieta isenta de glúten torna-se difícil devido à falta de produtos disponíveis no mercado e os produtos com substitutos do glúten nem sempre atingem qualidade e sabor semelhantes aos produtos originais, os quais nem sempre dispõem de qualidade nutricional que atendam às necessidades diárias (CJAZA-BULSA, 2014; CARLI; SEIDEL; MARAN, 2017). Segundo dados da Associação de Celíacos do Brasil (ACELBRA), os produtos que os celíacos buscam encontrar no mercado com mais facilidade são o pão (47%), seguido de bolacha/biscoito (21%), macarrão (21%) e pizza (11%) (ACELBRA, 2004).

Diante disso, existe a necessidade de estudar as características tecnológicas, sensoriais e nutricionais dos substitutos de glúten, principalmente para pães sem glúten, como por exemplo a utilização de farinhas isentas de glúten, como a farinha de arroz, a utilização da proteína presente no milho, a zeína e a adição de colágeno hidrolisado.

A farinha de arroz é utilizada como fonte de amido base na preparação de pães sem glúten devido ao baixo nível de prolamina, além disso, o arroz possui características nutricionais favoráveis, como baixo teor de sódio, gordura e alta quantidade de hidratos de carbono facilmente digeríveis (SILVA, 2014; SALEHI, 2019). No entanto, farinhas e amidos apresentam baixo teor de proteína, o que leva a pães com menor teor de proteína, mas com maior teor de carboidratos do que os pães de trigo. Como consequência, pães com menor qualidade nutricional, aroma fraco e crosta leve são obtidos, uma vez que as proteínas são necessárias para as reações de Maillard, que são responsáveis pela cor da crosta e geração de compostos voláteis (PICO *et al.*, 2019; GARCÍA-SEGOVIA; IGUAL; MARTÍNEZ-MONZÓ, 2020).

Uma possibilidade para melhorar as características tecnológicas da panificação utilizando farinha de arroz é a adição de colágeno ao produto elaborado (GRAÇA *et al.*, 2017). O colágeno hidrolisado é uma proteína natural derivada do colágeno nativo, encontrado na pele e ossos de bovinos, suínos, aves e peixes e a sua utilização se deve principalmente pela capacidade de retenção de água, por possuir alto teor proteico (de 84 a 90%) e por ser um agente ligante (DENIS *et al.* 2008). Ressalta-se que este ingrediente é isento de carboidratos e seu produto não apresenta sabor amargo, além de contribuir para uma boa aglutinação e textura crocante (FERREIRA; ROBERTO; CAMISA, 2018).

As fontes de proteínas também têm sido investigadas para melhorar a qualidade e o desenvolvimento de pães isento de glúten, a exemplo da zeína (SMITH *et al.*, 2017; FRANCO, 2015; SCHOBER *et al.*, 2008). Zeína é o nome específico de uma das proteínas derivadas do endosperma dos grãos de milho, classificada do grupo das prolaminas, caracterizadas pelo alto

teor de aminoácidos apolares que conferem estrutura molecular hidrofóbica e solúvel em álcool e representando cerca de 60% das proteínas totais do milho (PAPALIA; LONDERO, 2015; SOSA; CALIFANO; LORENZO, 2019).

Portanto, o desenvolvimento de novas formulações de pães sem glúten utilizando zeína e colágeno hidrolisado oferecem um método viável para aumentar a ingestão de proteína na dieta, promovem a inovação no setor de pães, produtos de confeitaria, podem melhorar características físicas, sensoriais e nutracêuticas, como melhorar ainda mais a reologia da massa, o desempenho do cozimento desse tipo de pão, coloração da crosta, e por fim, disponibilizar ao consumidor que possui a doença celíaca um produto de qualidade.

Metodologia

Os experimentos foram realizados na Universidade Federal de Sergipe. As matérias-primas para o isolamento da proteína do milho (farinha de milho flocada) e para as elaborações dos pães adquiridos em estabelecimentos comerciais localizados em Aracaju-SE.

Extração da proteína do milho

A extração química da proteína do milho, zeína, foi conduzida segundo o método modificado realizado por Sant'ana (2012), no qual uma solução de álcool etílico 70% contendo 0,5% ácido ascórbico foi adicionada a amostra (farinha de milho flocada), numa proporção de 10:1 (volume/peso), sob agitação por 24 horas à temperatura de 25 ± 2 °C. Em seguida, a solução foi centrifugada por 15 minutos a 9000 rpm. O sobrenadante foi submetido a secagem em desidratador com ar forçado a temperatura de 25 ± 2 °C por 24 horas, posteriormente armazenado em recipiente hermeticamente fechado sob refrigeração. O rendimento da extração foi calculado de acordo com a equação 1.

$$\text{Rendimento (\%)} = \left(\frac{\text{massa obtida(g)}}{\text{massa da matéria-prima(g)}} \right) \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Formulação dos pães sem glúten

As formulações foram desenvolvidas em conformidade com a área de panificação, em que a soma das farinhas deve ser equivalente a 100% e os demais ingredientes são calculados com base na quantidade de farinha (Tabela 1)

Tabela 1- Formulações de pães sem glúten elaborados com farinha de arroz.

Ingredientes	Quantidade (%)	Quantidade (g)
Farinha de arroz	100	400
Água	100	400
Óleo de girassol	6	24
Açúcar	5	20
Sal	2	8
Fermento biológico	2	8

Goma xantana	2	8
Carbonato de cálcio	*	*
Zeína	**	**
Colágeno hidrolisado	**	**

* A quantidade de carbonato de cálcio (10 g) é utilizada apenas para os tratamentos que continham zeína. **As quantidades de zeína e colágeno hidrolisado variaram conforme o delineamento experimental. Fonte: Autores, 2023.

Delineamento Experimental

Um delineamento inteiramente casualizado foi empregado para avaliar o efeito de duas variáveis independentes na composição dos pães processados com farinha de arroz. As variáveis em estudo foram a zeína isolada e colágeno hidrolisado nas concentrações mostradas na tabela 2. As concentrações de zeína e colágeno, empregados em conjunto, foram determinados considerando o teor médio de proteínas em pães feitos com farinha de trigo, que varia entre 10 e 15%. Além disso, foram realizados ensaios preliminares para determinar a concentração máxima de cada componente (colágeno e zeína), enquanto as variáveis dependentes foram analisadas.

Tabela 2 - Delineamento experimental para avaliação do efeito da zeína e do colágeno na elaboração dos pães sem glúten com farinha de arroz

Tratamento	Colágeno hidrolisado (%)	Zeína (%)
Controle	0	0
Colágeno	4	0
Zeína	0	8
Colágeno e Zeína	4	8

Fonte: Autores, 2023.

Processamento dos pães sem glúten

Os ingredientes foram pesados e homogeneizados em batedeira orbital na seguinte ordem: inicialmente foi misturada água, óleo de girassol, açúcar, sal, goma xantana por aproximadamente 5 minutos na velocidade 2, em seguida adicionou-se a farinha de arroz, fermento biológico seco e, de acordo com o tratamento (Tabela 2), a zeína e/ou colágeno, homogeneizando-os por mais 5 minutos na velocidade 2. Nas formulações dos pães adicionados da zeína houve previamente o ajuste do seu pH com carbonato de cálcio até próximo a neutralidade.

As massas acondicionadas foram enformadas (formas de alumínio de dimensões 20x5x9 cm) e levadas à fermentação na câmara BOD, permanecendo por 40 minutos a uma temperatura de 29 °C sendo então submetida à operação de forneamento por 60 minutos em forno a gás convencional a temperatura de 200 °C. Ao final do forneamento, os pães foram desenformados e colocados para resfriar até atingirem a temperatura ambiente (25 ± 2 °C), em seguida armazenados em embalagens de polietileno de baixa densidade e temperatura ambiente (25 ± 2 °C) para posterior realização das análises experimentais.

Análises Físicas do Pão

A avaliação das cores dos pães sem glúten foi realizada por meio do sistema de leitura de três parâmetros, o CIELAB, também conhecido como espaço $L^* a^* b^*$, a partir do colorímetro *Color Reader* (Minolta, Modelo: CR-10).

O volume específico (Equação 2) foi determinado de acordo com metodologia de Brito e Cereda (2015).

$$VE = \frac{V}{m} \quad \text{Equação 2,}$$

onde: VE =volume específico ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$); V=volume (cm^3) e m=massa (g).

A perda de peso ao assar (PPA) foi determinada segundo a metodologia de El- Dash (1978) e calculada segundo a Equação 3.

$$PPA = \left(\frac{PA-PP}{PA} \right) \times 100\% \quad \text{Equação 3}$$

onde: PPA=Porcentagem da perda de peso ao assar (%); PA=Peso anterior ao assamento (g); PP=Peso posterior ao assamento (g).

A firmeza da crosta dos pães, para cada tratamento, foi realizada em triplicata segundo a metodologia da AACCC (74-09) (2000) com adaptações. Cada tratamento dos pães sem glúten foi colocada no centro da plataforma do Analisador de Textura (CT3™ *Texture Analyzer*), sendo então comprimidas por sonda cilíndrica de 36 mm de diâmetro nas seguintes condições de trabalho: velocidade de pré-teste: 2 mm/s; velocidade de teste: 1,7 mm/s; velocidade de pós-teste: 1,7 mm/s; compressão: 40%; força de disparo: 5 g. Posteriormente, fatias de 25 mm de espessura também foram submetidas as mesmas condições citadas anteriormente com modificação da compressão (30%).

A análise de microscopia digital dos quatro tratamentos foi realizada utilizando o microscópio digital da Marca Dino-Lite, modelo Dino-Lite Plus AM313T, aproximação 20x ~ 230x e o software DinoCapture 2.0. Através da análise visual das imagens capturadas, foi observada a estrutura do miolo e casca dos pães adicionados de zeína e colágeno segundo o delineamento experimental, sendo estas comparadas ao controle.

O rendimento da zeína foi analisado pelo software Microsoft Excel a partir da média das massas obtidas em cada extração juntamente com seu desvio padrão. As análises físicas: cor instrumental, volume específico, perda de peso ao assar e firmeza, foram avaliadas estatisticamente pelo software Statistical Analysis System (SAS®) Studio por Análise de Variância (ANOVA) e Teste de médias de Tukey ($p \leq 0,05$), para que fossem comparadas as médias e determinado qual o efeito de cada variável sobre as características físicas dos pães sem glúten.

Resultados e discussões

O rendimento médio de zeína (Figura 1) obtido neste trabalho foi de $9,19 \pm 1,0\%$ que está de acordo ao encontrado em literatura (SGABIERE, 1996; GIACOMELLI *et al.*, 2012;

SANTOS *et al.*, 2018). De acordo com Papalia & Londelio (2015) e Tan *et al.* (2024) a concentração de zeína pode corresponder de 60 a 70% do total de proteínas do grão de milho.

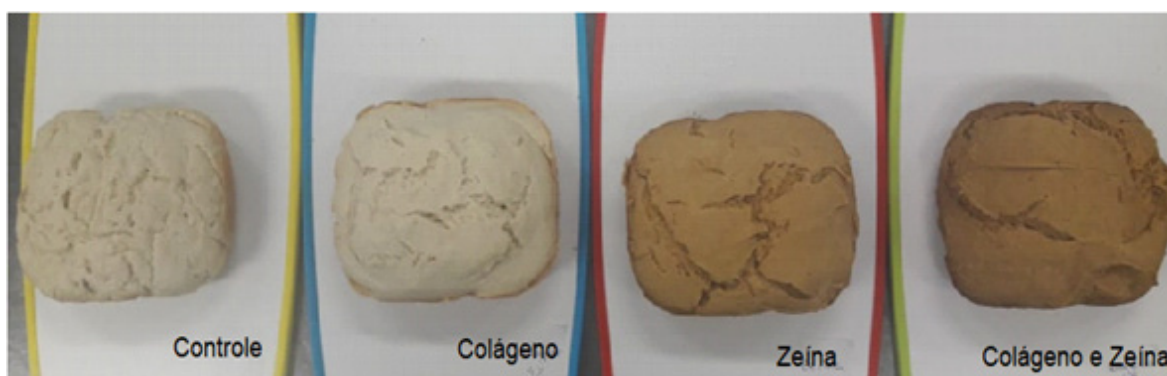
Figura 1 - Zeína isolada



Fonte: Autores, 2023.

O resultado médio de cor da crosta e do miolo dos pães sem glúten de acordo com o delineamento experimental, utilizando-se os parâmetros segundo o sistema CIELAB, estão expressos na Tabela 3 e a análise visual das crostas estão demonstradas na Figura 2.

Figura 2 - Análise visual da cor da crosta dos pães sem glúten de acordo com cada tratamento.



Fonte: Autores, 2023.

Tabela 3 - Determinação de cor instrumental (escala CIELAB) da crosta e do miolo dos pães sem glúten.

Tratamento	Crosta			Miolo		
	a*	b*	L*	a*	b*	L*
Controle	4,47 ^b ±1,3	28,43 ^b ±4,0	56,83 ^a ±2,2	4,90 ^c ±0,0	29,30 ^b ±0,4	56,50 ^a ±1,2
Colágeno	5,0 ^b ±0,2	30,03 ^b ±1,5	56,90 ^a ±2,6	4,20 ^c ±0,4	28,57 ^b ±0,6	56,37 ^a ±0,8
Zeína	13,43 ^a ±1,0	43,27 ^a ±1,4	47,87 ^{ab} ±2,6	11,70 ^b ±0,4	41,93 ^a ±1,3	47,77 ^b ±2,7
Colágeno e zeína	13,9 ^a ±0,7	40,33 ^a ±2,3	38,93 ^b ±5,7	13,43 ^a ±0,2	41,53 ^a ±1,8	42,67 ^c ±2,4

Coordenadas colorimétricas: L*(luminosidade), a*(intensidade de vermelho/verde) e b* (intensidade de amarelo/azul). Média da triplicata ± desvio padrão. Médias com letras em comum, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si (p ≤ 0,05) pelo teste de Tukey.

Fonte: Autores, 2023.

Analisando a cor da crosta e do miolo apresentada na Tabela 3 observa-se que o parâmetro luminosidade L^* com valores mais altos indicam maior refletância da luz, traduzindo-se em pães com coloração clara, pobres em açúcares, como no caso dos tratamentos Controle e Colágeno, os quais não diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si, como mostra a Figura 2. Essa coloração é justificada pois os pães sem glúten são geralmente identificados por ter cor mais clara do que pães de trigo em virtude de amidos e farinha de arroz terem teores menores de proteínas que os pães a base de trigo, que impacta diretamente no menor desenvolvimento da reação de Maillard (WRONKOWSKA; HAROS; SORAL-SMIETANA, 2013). Outros estudos também ressaltam que a cor do miolo é afetada diretamente pelas características da farinha de arroz (GOMEZ *et al.*, 2003; PARK & KIM, 2023).

Em relação aos parâmetros de cromaticidade a^* (desvio para o vermelho) e b^* (desvio para o amarelo) verificou-se que os tratamentos Zeína e Colágeno com Zeína apresentaram os maiores valores e diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) dos tratamentos Controle e Colágeno, ou seja, os valores de a^* quando são maiores indicam uma coloração mais escura de crosta e miolo, e os valores de b^* quando forem valores altos são traduzidos para amostras com forte coloração amarelada ou dourada (ESTELLER & LANNES, 2005; SKENDI, PAPAGEORGIOU & VARZAKAS, 2021). Estes resultados podem ser confirmados na Figura 10, na qual visualmente os tratamentos Controle e Colágeno são mais claros e os Zeína e Colágeno com Zeína são mais amarelados.

Um aumento significativo do amarelamento no pão suplementado com a proteína lupina foi observado por Kohajdová *et al.* (2011). O mesmo efeito do amarelamento foi relatado por Ziobro *et al.* (2016) em seu estudo dos efeitos das proteínas isoladas (albumina, colágeno, ervilha, lupina e soja) sobre a qualidade e estrutura do pão sem glúten, no qual os autores observaram que a presença das proteínas diminuiu significativamente a luminosidade (L^*) dos pães, contudo obtiveram valores dos parâmetros a^* e b^* positivos.

Miñarro *et al.* (2010) avaliaram a influência de proteína unicelular sobre as características do pão sem glúten. Segundo os autores, os pães contendo proteínas unicelulares ficaram mais escuros que a mesma fórmula sem este ingrediente, devido à própria cor da proteína ($L^*=65$, $a^*=6$, e $b^*=21$). Já Graça *et al.* (2017) utilizaram colágeno em pó e em fibra em pão sem glúten com farinha de arroz e observaram que a luminosidade da crosta e do miolo em pães de colágeno em pó foi significativamente maior, ou seja, pães mais claros, e que o croma a^* e b^* tiveram maiores valores para as formulações com o colágeno em fibra, tendo assim influência na cor dos pães.

Segundo Herculano *et al.* (2021) embora a coloração dourada seja característica de produtos forneados, essa cor pode aparecer por outras razões, a exemplo de pães ricos em proteínas, açúcares redutores e ovos (carotenoides). Wronkowska, Haros & Soral-Smietana (2013) também citam que a própria formulação do pão pode alterar a cor do pão final. Portanto, os tratamentos Zeína e Colágeno com Zeína obtiveram valores maiores nos parâmetros de cromaticidade devido a presença da própria zeína e do pigmento do milho que permaneceu na proteína mesmo após sua extração, resultando em pães mais amarelados.

O volume específico é uma das características visuais mais importante nos pães, a qual influencia fortemente a escolha do consumidor. É também a medida utilizada para verificar a capacidade da farinha de expandir e reter o gás no interior da massa durante o forneamento

(EVANGELHO *et al.*, 2012; BORSUK *et al.*, 2021). De acordo com o delineamento experimental, a Tabela 4 demonstra os valores médios dos volumes específicos dos pães sem glúten, os quais foram analisados segundo a Análise de Variância (ANOVA) e Teste de médias de Tukey ($p \leq 0,05$) para verificar o efeito do colágeno hidrolisado e zeína nos pães sem glúten. A Figura 3 ilustra o volume dos pães de acordo com seu respectivo tratamento.

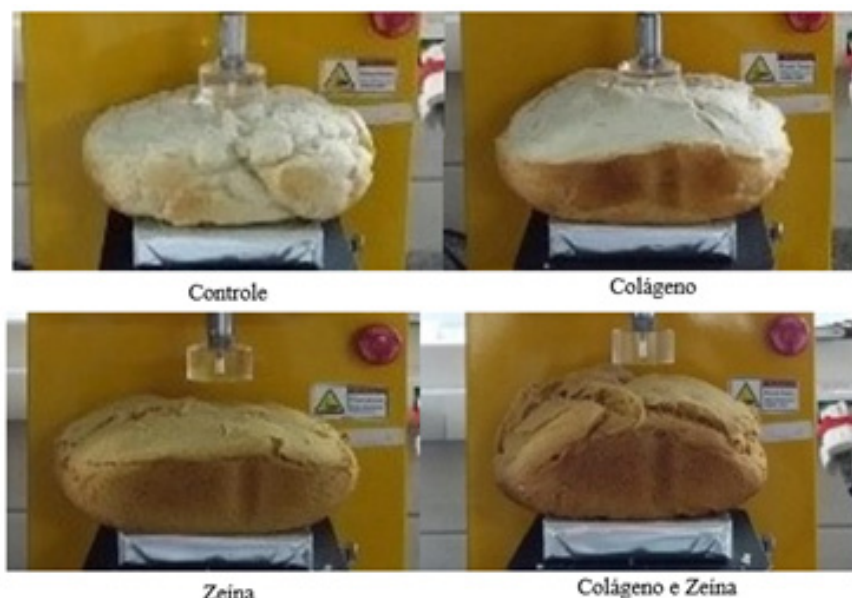
Tabela 4 - Volumes específicos dos pães sem glúten segundo o delineamento experimental.

Tratamento	Volume específico ($\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$)*
Controle	$1,43^c \pm 0,06$
Colágeno	$2,08^a \pm 0,06$
Zeína	$1,92^b \pm 0,04$
Colágeno e Zeína	$2,19^a \pm 0,05$

*Média da triplicata \pm desvio padrão. Médias com letras em comum, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. Fonte: autores (2023).

O maior volume específico ($2,19 \pm 0,05 \text{ cm}^3/\text{g}$) foi observado no pão que continha em sua formulação o colágeno hidrolisado e a zeína (Tabela 10) e este tratamento não obteve diferença estatística ($p \leq 0,05$) ao ser comparado com a formulação adicionado apenas com colágeno hidrolisado, dados comprovados visualmente na Figura 3. O tratamento com zeína resultou em um volume específico ($1,92 \pm 0,04 \text{ cm}^3/\text{g}$) estatisticamente menor que os que utilizaram colágeno, porém um valor significativamente melhor que o controle, pois este último apresentou o menor volume específico ($1,43 \pm 0,06 \text{ cm}^3/\text{g}$) e diferiu significativamente ($p \leq 0,05$) de todas as outras formulações. Sendo assim, a presença das proteínas impactou positivamente no volume específico dos pães sem glúten em comparação ao controle.

Figura 3 - Análise visual do volume dos pães sem glúten.



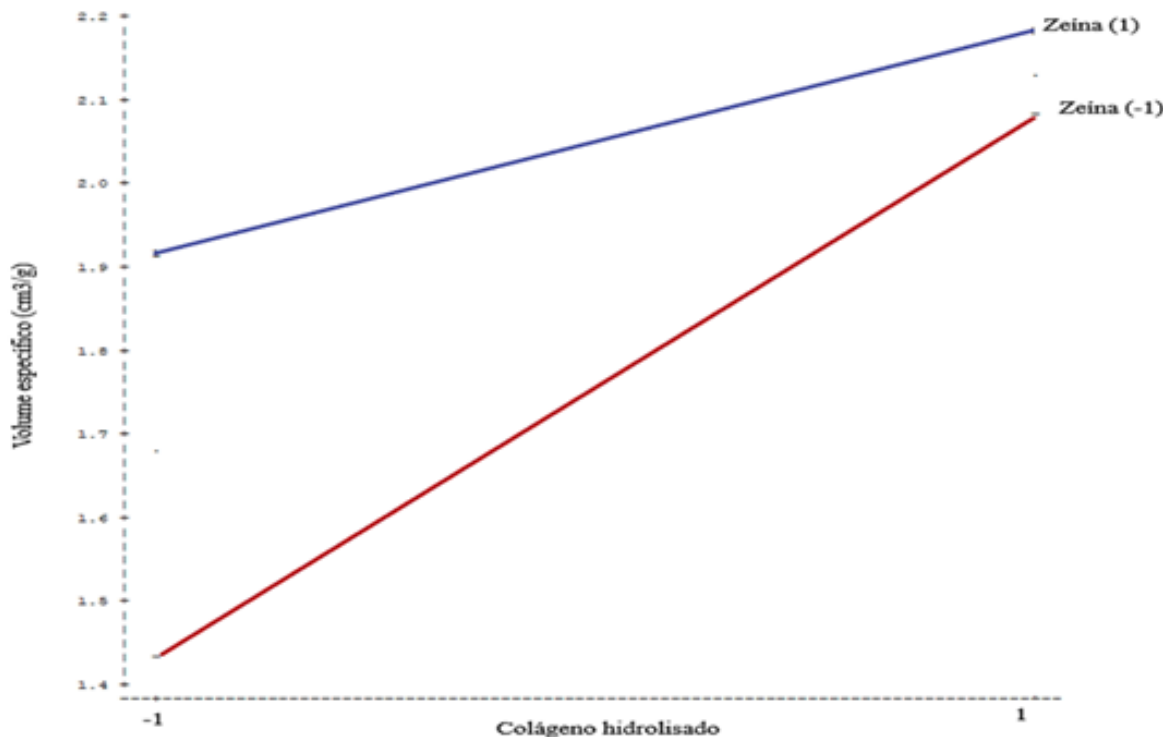
Fonte: autores (2023)

Os pães sem glúten com a adição tanto do colágeno hidrolisado quanto da zeína apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) daqueles que não continham essas proteínas em sua formulação, ou seja, a presença dessas proteínas promoveu efeito sobre o volume específico, aumentando significativamente a capacidade a retenção de gás gerado durante a fermentação e o

forneamento dos pães sem glúten. A capacidade de retenção de gás é uma dificuldade tecnológica encontrada na produção de massas sem glúten, originando pães com baixo volume específico e miolo firme e borrachento (MOORE *et al.*, 2004; SOUZA, SIQUEIRA & DALA-PAULA, 2023). Portanto, ao melhorar o volume específico obtém-se um pão sem glúten de melhor qualidade.

A interação entre o colágeno hidrolisado e a zeína sobre o volume específico encontra-se no gráfico da Figura 4.

Figura 4 - Interação entre o colágeno hidrolisado e a zeína sobre o volume específico dos pães sem glúten.



Fonte: autores (2023)

Observa-se na Figura 4 que os pães que não continham em sua formulação nem o colágeno e nem a zeína (-1 e -1) apresentaram menor volume específico ($1,43 \pm 0,06 \text{ cm}^3\text{g}^{-1}$), contudo ao ser adicionado apenas o colágeno hidrolisado ao tratamento já se obtém um aumento significativo ($p \leq 0,05$) desta característica ($2,08 \pm 0,06 \text{ cm}^3\text{g}^{-1}$).

Os pães sem glúten adicionados com a zeína apresentaram também um aumento no volume específico para as duas condições do colágeno (-1 e 1), em que a interação colágeno e zeína (1 e 1) torna-se estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) sendo o resultando do maior volume específico dos pães ($2,19 \pm 0,05 \text{ cm}^3\text{g}^{-1}$), ou seja, pães com maior capacidade de retenção de gás no interior da massa durante a fermentação e o forneamento. Esta conclusão é confirmada por Ziobro *et al.* (2016), em que eles citam que a capacidade da estrutura do miolo para reter o gás produzido durante a fermentação tem impacto significativo no volume do pão.

As proteínas utilizadas em massas sem glúten apresentam importante papel, pois elas podem conter o gás produzido durante a fermentação, a água e estabilizar o gel de amido formado durante a gelatinização. A capacidade das proteínas de formar uma estrutura está relacionada com suas propriedades emulsionante e de expansão (ZIOBRO *et al.*, 2016). O Colágeno e a

zeína usados neste trabalho contribuíram para um maior volume específico, provavelmente pela capacidade de retenção de água e por possíveis interações entre as cadeias das proteínas e do amido, que podem ter formado “redes” aprisionando o CO₂ (BERTA *et al.*, 2019).

O volume específico de pães sem glúten pode variar bastante, dependendo do tipo de farinha, aditivos, açúcares disponíveis, teor de fibras, fermento, pH e do processo utilizado, em consequência, a retenção de gás é um fenômeno complexo relacionado a muitos fatores diferentes e relacionados as propriedades da massa (GUSMÃO, 2017; MIÑARRO *et al.*, 2010; SOUZA, SIQUEIRA, & DALA-PAULA, 2023, FEDERICI *et al.*, 2020). Neste experimento, o volume específico variou entre 1,43 e 2,19 cm³/g nas formulações desenvolvidas, resultados comparáveis a outras formulações de pães sem glúten, como no estudo realizado por Elgeti *et al.* (2014) sobre o aperfeiçoamento de volume e textura de pão sem glúten usando farinha branca de quinoa, o qual obteve valores de volume específico entre 1,65 e 2,5 cm³/g.

Graça *et al.* (2017) também verificaram em seu estudo da adição de colágeno em pães sem glúten que o volume específico de seus pães variou entre 2,6 e 3,8 cm³/g e que os pães adicionados com 2% e 4% de colágeno em fibras foram os que apresentaram os volumes mais altos. Já Miñarro *et al.* (2010) encontrou valores entre 2,21 e 3,3 cm³/g em seu estudo da influência de proteínas unicelulares nas características dos pães sem glúten.

A perda de peso ao assar, é uma medida que demonstra a capacidade da massa em reter água, sendo acentuada em pães sem glúten devido à ausência da rede proteica (EVANGELHO *et al.*, 2012; YANO, 2019). A análise de perda de peso ao assar foi realizada mediante comparação de peso do produto antes e após o forneamento e de acordo com o delineamento experimental seus valores médios estão demonstrados na Tabela 13, os quais foram analisados segundo a Análise de Variância (ANOVA) e Teste de médias de Tukey (p≤0,05) para verificar o efeito do colágeno hidrolisado e zeína nos pães sem glúten (Tabelas 13, 14 e 15).

Tabela 5 - Perda de peso ao assar dos pães sem glúten segundo o delineamento experimental.

Tratamento	Perda de peso ao assar (%)*
Controle	11,06 ^a ± 0,04
Colágeno	10,41 ^b ± 0,04
Zeína	10,30 ^c ± 0,03
Colágeno e Zeína	10,16 ^d ± 0,02

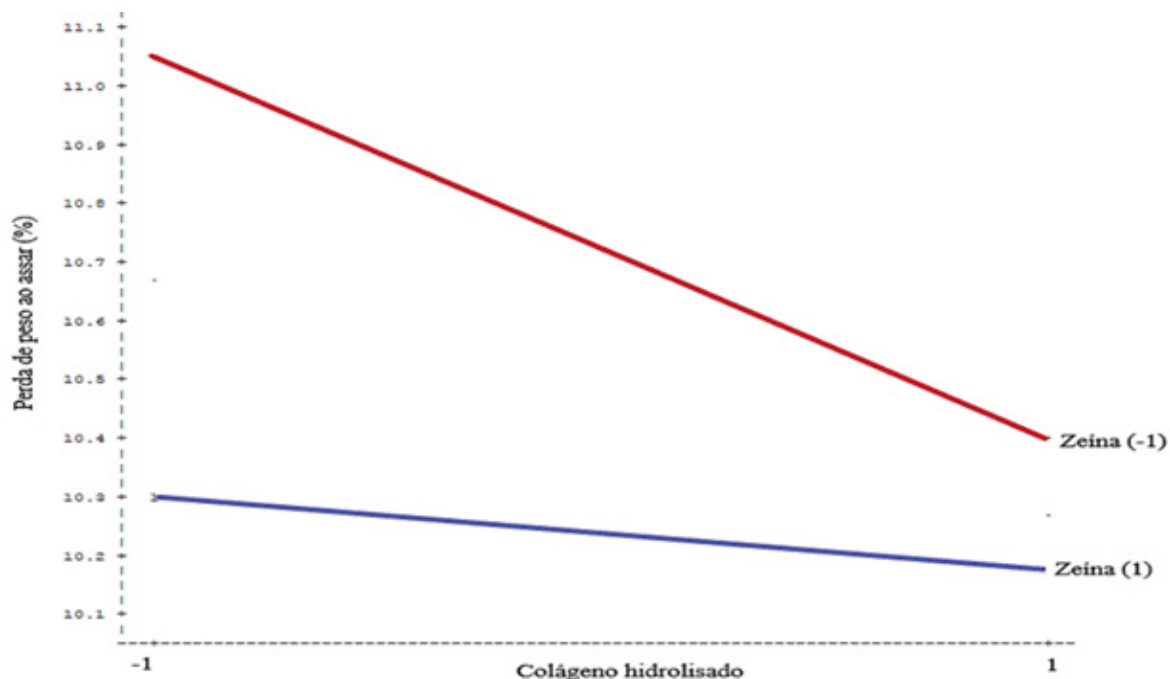
*Média da triplicata (± desvio padrão). Médias com letras em comum, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si (p ≤ 0,05) pelo teste de Tukey.

Fonte: autores (2023)

Todos os tratamentos aplicados nos pães sem glúten diferiram estatisticamente entre si a 5% de significância quanto a perda de peso ao assar (Tabela 5). A maior perda de peso ao assar foi observada no pão sem glúten controle (11,06 ± 0,04%), enquanto que o tratamento Colágeno e Zeína apresentou a menor perda de peso (10,16 ± 0,02%). Destaca-se também que os pães elaborados com colágeno hidrolisado apresentaram uma perda de peso significativamente maior ao comparado com os pães adicionados apenas da zeína, contudo a combinação colágeno hidrolisado e zeína obtém o resultado ainda mais satisfatório ao ser comparado com a adição isolada dessas proteínas.

Os pães sem glúten com a adição tanto do colágeno hidrolisado quanto da zeína apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) daqueles que não continham essas proteínas em sua formulação, ou seja a presença dessas proteínas promoveram efeito positivo sobre a perda de peso ao assar comparado ao controle, reduzindo significativamente a perda de água do produto, reforçando o resultado observado na Tabela 13. A interação entre o colágeno hidrolisado e a zeína sobre a perda de peso ao assar encontra-se no gráfico na Figura 5.

Figura 5 - Interação entre o colágeno hidrolisado e a zeína sobre a perda de peso ao assar.



Fonte: autores (2023)

Ao analisar a Figura 11 nota-se que os pães que não continham nem o colágeno e nem a zeína (-1 e -1) apresentaram um maior percentual de perda de peso ao assar ($11,06 \pm 0,04\%$), contudo os pães que não continham em sua formulação a zeína (1 e -1) ainda assim conseguiram uma redução da perda de peso ao assar devido a presença do colágeno.

Nos pães sem glúten que foram adicionados com a zeína observou-se uma redução no percentual de perda de peso ao assar para as duas condições do colágeno (-1 e 1), em que a interação colágeno e zeína (1 e 1) torna-se estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$) resultando no menor percentual de perda de peso nos pães ($10,16 \pm 0,02\%$), ou seja maior capacidade de retenção de água.

Segundo Ziobro et al (2016) a capacidade de conter a água e estabilizar o gel de amido formado durante a gelatinização é um dos papéis importantes que as proteínas exercem em massas sem glúten. Miñarro *et al.* (2010) também descreveu que a presença de proteínas unicelulares nas formulações de pães sem glúten resultou na diminuição de perda de peso ao assar, a qual seria a explicação para a funcionalidade da proteína, a qual para o autor é a capacidade de reter água.

A perda de peso dos pães sem glúten adicionados ou não de colágeno hidrolisado e zeína em função do forneamento variou entre 10,16 e 11,06%. Valores semelhantes foram encontrados na literatura, como no estudo realizado por Gusmão (2017) sobre o desenvolvimento de pão de forma sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e

prebiótico, o qual obteve uma perda de peso dos pães em função do forneamento entre 3,88 e 12,43%. Já Nobre (2015) encontrou valores entre 8,49 e 11,46% para perda de peso em pães sem glúten desenvolvidos com farinha de quinoa e arroz.

Miñarro *et al.* (2012) encontrou valores entre 11,31 e 12,06% para perda de peso em pães sem glúten produzidos a partir de farinhas de legumes, como grão de bico, ervilha, soja e alfarroba. Graça *et al.* (2017), avaliando o efeito da adição de colágeno em pão sem glúten elaborado com farinha de arroz, observaram os pães adicionados de colágeno em pó apresentaram valores inferiores de perdas na cocção e atribuíram esse fato da alta capacidade do colágeno em pó de absorverem água. Drub *et al.* (2021), avaliando o efeito de diferentes farinhas nas propriedades do pão sem glúten observaram que a farinha de quinoa foi a que proporcionou maior retenção de umidade e, conseqüentemente, menor perda de peso.

A Tabela 6 mostra a firmeza da crosta e do miolo das amostras avaliadas.

Tabela 6 - Firmeza da crosta e do miolo dos pães sem glúten segundo delineamento experimental.

Tratamento	Firmeza (gf)	
	Crosta*	Miolo*
Controle	9314 ^a	6454 ^a ±340
Colágeno	5002 ^d	5383 ^a ±757
Zeína	7560 ^b	4995 ^a ±526
Colágeno e Zeína	5668 ^c	5341 ^a ±749

*Média da triplicata ± desvio padrão. Médias com letras em comum, na mesma coluna, não diferem estatisticamente entre si ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey. Fonte: Autores (2023).

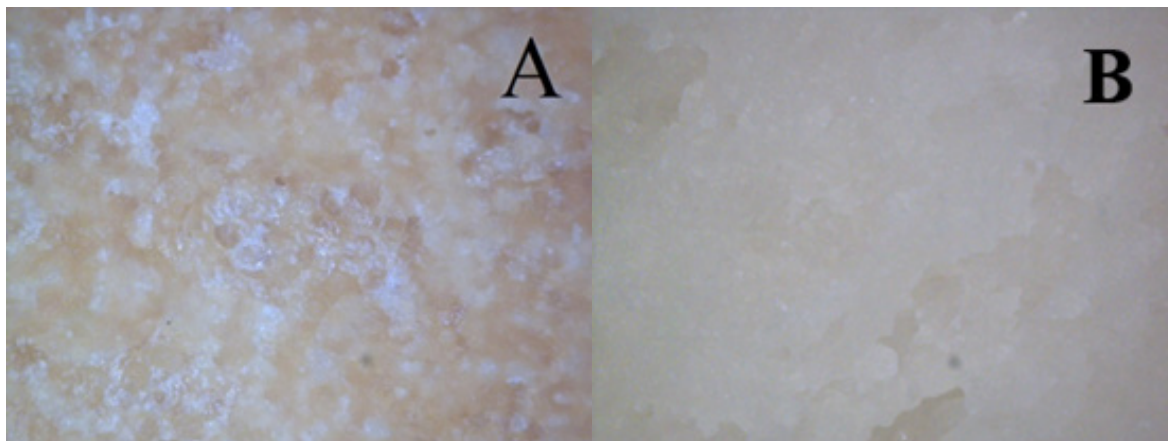
Todos os tratamentos aplicados nos pães sem glúten não diferiram estatisticamente entre si a 5% de significância quanto a firmeza do miolo (Tabela 6). No entanto, os valores da firmeza para a crosta dos pães apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) em todos os tratamentos. A formulação controle apresentou maior valor de firmeza para a crosta (9314 gf) o que pode ser explicado pelo fato deste apresentar um aspecto compacto na superfície possivelmente por não apresentar uma rede estruturada tão definida. Já a formulação Colágeno apresentou o menor valor de firmeza (5002 gf) seguido do tratamento Colágeno e Zeína (5668 gf), ou seja, a adição das proteínas acarretou na diminuição da dureza dos pães.

Berta *et al.* (2019) encontraram resultados que indicaram a diminuição da dureza da crosta com o aumento da concentração de zeína dos seus pães e essa redução pode ser explicada pela retenção de água adicional pela proteína na crosta. O aumento do teor de proteína zeína na farinha resultou em uma crosta de pão de maior atividade de água e, conseqüentemente, menor dureza, uma vez que a água age como um plastificador.

Segundo Ziobro *et al.* (2016) as mudanças de textura estão intimamente relacionadas com a migração da água para a crosta, e as mudanças causadas pela recristalização dos polímeros de amido. A proteína afeta significativamente esse processo, pois em um pão à base de amido, em que não há interações proteína-amido, a água é vinculada apenas por uma fração de carboidrato, endurecendo muito mais rápido do que um pão de trigo padrão que contendo glúten (ZIOBRO *et al.*, 2016). Portanto, ao adicionar as proteínas, zeína e colágeno hidrolisado, essa interação proteína-amido é estabelecida, causando um efeito positivo na retenção de água na crosta e diminuição da dureza nos pães sem glúten.

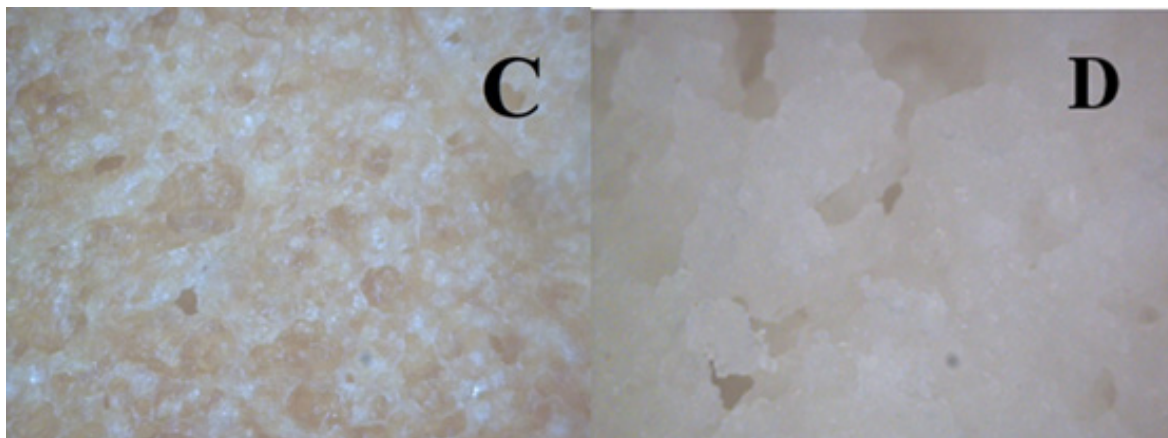
A microscopia aplicada em produtos de panificação tem sido utilizada com a finalidade de observar o formato e distribuição dos alvéolos na rede formada, contribuindo para a retenção do gás da fermentação e estruturação celular do miolo (RATHNAYAKE, NAVARATNE & NAVARATNE, 2018). Wolter *et al.* (2014) também descreveram que análise de imagem digital é utilizada para caracterizar a estrutura do miolo e comparar os pães em termos de área de fatia, número de células, volume celular e porosidade. Neste intuito, a microscopia digital foi aplicada na crosta e no miolo dos quatro tratamentos dos pães sem glúten (Figuras 6, 7, 8 e 9).

Figura 6 - Microscopia digital do tratamento controle.



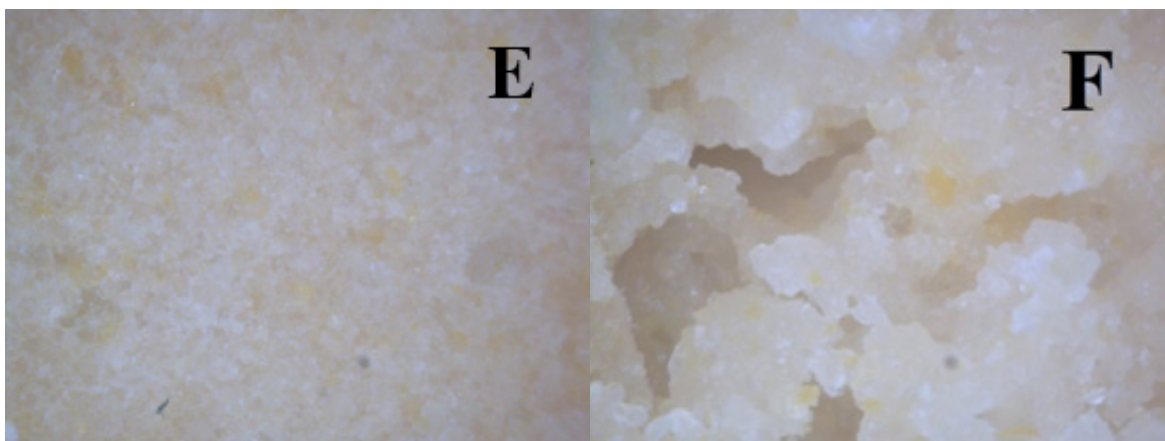
(A) Microscopia da crosta do tratamento controle; (B) Microscopia do miolo do tratamento controle. Fonte: Autores (2023).

Figura 7 - Microscopia digital do tratamento colágeno.



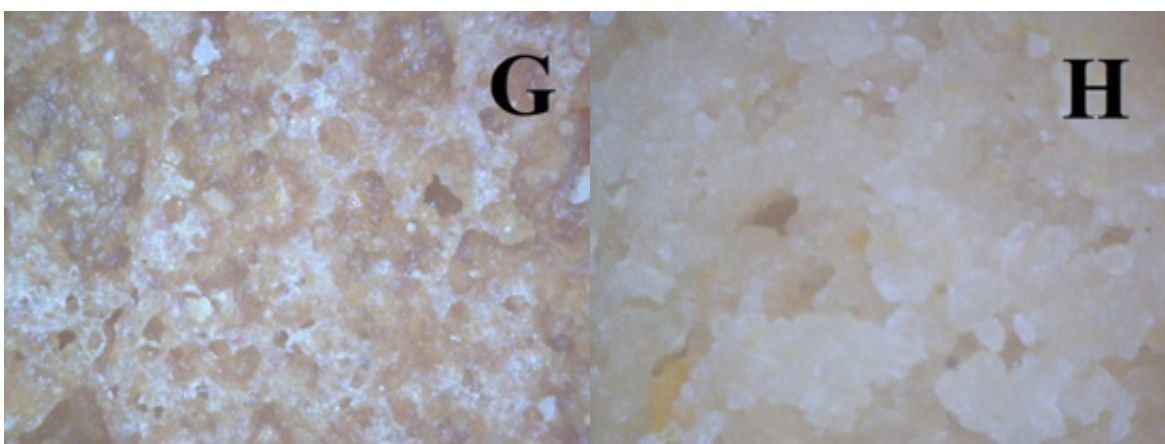
(C) Microscopia da crosta do tratamento colágeno; (D) Microscopia do miolo do tratamento colágeno. Fonte: Autores (2023).

Figura 8 - Microscopia digital do tratamento zeína.



(E) Microscopia da crosta do tratamento zeína; (F) Microscopia do miolo do tratamento zeína. Fonte: Autores (2023).

Figura 9 - Microscopia digital do tratamento colágeno e zeína.



(G) Microscopia da crosta do tratamento colágeno e zeína; (H) Microscopia do miolo do tratamento colágeno e zeína. Fonte: Autores (2023).

A análise das imagens da crosta dos pães sem glúten elaborados neste estudo indica que todos os tratamentos apresentaram uma maior densidade celular, ou seja, poros menores e mais unidos, e isso se deve a retrogradação do amido que ocorre durante o resfriamento. A retrogradação é um processo no qual as moléculas de amilose auto associam-se, e formam um gel que resulta num aumento da consistência final e é responsável pelo endurecimento de produtos à base de amido (SILVA, 2014). Contudo os tratamentos controle (Figura 6A) e zeína (Figura 8E) apresentaram uma estrutura celular mais uniforme ao serem comparados com os tratamentos colágeno (Figura 7C) e colágeno e zeína (Figura 9G), tornando assim sua crosta mais firme em comparação com as duas últimas formulações e esse resultado é confirmado pelos valores encontrados de firmeza da crosta (Tabela 6).

As imagens do miolo dos pães sem glúten demonstraram que o tratamento controle apresentou menor número de células, portanto baixa formação de bolhas de ar, e maior homogeneidade da rede celular devido a geleificação do amido presente na farinha de arroz, portanto um miolo mais uniforme e denso. Os tratamentos colágeno, zeína, colágeno e zeína

também demonstraram a geleificação do amido da farinha de arroz, contudo foi visualizada uma maior quantidade de número de células no miolo, sendo estas células pequenas, alongadas e desuniformes. Além disso, foi possível verificar a presença de partículas de coloração amarelada (Figuras 8F e 9H), provenientes da zeína e que contribuíram também para coloração amarelada dos pães.

O aumento da quantidade de células no miolo pode ser explicado pela presença das proteínas nas formulações, pois estas proteínas formaram pequenas estruturas celulares, retendo as bolhas de ar e resultando em miolos mais porosos. Ziobro *et al.* (2016) cita que as mudanças observadas na porosidade refletem diferenças nas propriedades físico-químicas das proteínas analisadas (estrutura, solubilidade, hidratação etc.), que levam à capacidade de retenção de gás modificada. Esse resultado também foi encontrado por Berta *et al.* (2019) no seu estudo de pães sem glúten com concentração de zeína crescente são comparados a uma receita de controle com farinha de trigo, no qual verificaram que a estimativa qualitativa da porosidade do miolo sugere que a adição de zeína ao pão produz maior tamanho de bolha, mas que não afetou significativamente o volume do pão (BERTA *et al.*, 2019).

Ziobro *et al.* (2016) em seu estudo dos efeitos das proteínas isoladas (albumina, colágeno, ervilha, lupina e soja) sobre a qualidade e estrutura do pão sem glúten avaliaram parâmetros que caracterizam a estrutura do miolo a partir da análise de imagens digitais e relataram que a menor porosidade foi encontrada para o pão de controle, enquanto a adição de outros tipos de proteínas teve um impacto positivo na porosidade, especialmente quando o colágeno foi usado. Tendência semelhante também pôde ser observada para uma série de poros grandes (com diâmetro acima de 5mm), e a relação oposta foi notada para a densidade celular, que diminuiu em comparação com o controle. A diminuição mais acentuada da densidade celular pôde ser encontrada para o pão com colágeno, que também continha a maior porcentagem de poros grandes (ZIOBRO *et al.*, 2016).

Graça *et al.* (2017), aplicou diferentes concentrações de colágeno em pão de arroz sem glúten e observou a presença de estruturas da massa mais contínuas com adição crescente de colágeno comparadas com as proteínas presentes no padrão e que as massas adicionadas de 6% e 8% de colágeno apresentaram a maior quantidade de estruturas alongadas e contínuas.

Russo *et al.* (2014) relataram que o uso cepas de *Weissella* spp. usadas como inóculos, produzem *in situ* dextranas, que ajudam a melhorar a viscoelasticidade da massa, realçar o volume, maciez do miolo do pão e textura dos pães sem glúten, retardando a retrogradação do amido e prolongando a vida útil do pão.

Evangelho *et al.* (2012) encontrou em seu estudo sobre propriedades tecnológicas e nutricionais de pães preparados com diferentes proporções de farinha de arroz que o tratamento com 75% de farinha de arroz extrusada apresentou grandes bolhas de ar, alvéolos desuniformes e miolo úmido, além de ter sido verificado o maior volume específico dos pães. Já os pães com 10% e com 25% de farinha de arroz extrusada apresentaram miolo uniforme, mas volume semelhante ao do pão controle.

Salehi (2019) cita que uma grande variedade de estruturas pode ser encontrada entre os pães sem glúten, alguns apresentando maior área alveolar e um maior número de alvéolos e este fato se deve à diversidade de ingredientes adicionados à massa. O presente estudo pode verificar esta afirmação, pois com a adição das proteínas zeína e colágeno hidrolisado na formulação de

pão sem glúten foi observado o aumento da porosidade da crosta, tornando-as menos firme, e o aumento do número de células no miolo e conseqüentemente maior retenção de gás. Contudo, estes resultados não apresentaram o mesmo comportamento que as proteínas do glúten.

Considerações finais

De acordo com os resultados a coloração da crosta e do miolo dos pães tiveram influência da zeína e dos pigmentos do milho tornando-os pães amarelados. A adição do colágeno hidrolisado e zeína isolada teve influência significativa ($p \leq 0,05$) quanto ao volume específico, perda de peso ao assar e firmeza, tornando os pães com maior volume específico ($2,19 \pm 0,05 \text{ cm}^3/\text{g}$), menor percentual de perda de peso ($10,16 \pm 0,02\%$) e menor firmeza da crosta (5668 gf) em comparação com o controle. A microscopia digital comprovou visualmente o aumento da porosidade da crosta e do número de células do miolo, os tornando menos firmes. Portanto, a adição da zeína isolada e do colágeno hidrolisado teve um efeito positivo nos pães sem glúten, sendo um passo importante dado no sentido de obter produtos panificáveis sem glúten com melhores propriedades tecnológicas e sensoriais.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 13170**: Teste de ordenação em análise sensorial. Rio de Janeiro: ABNT, 1994.

ACELBRA. Associação dos Celíacos do Brasil. **Dados estatísticos**. Disponível em: <http://www.ancelbra.org.br/2004/estatisticas.php>. Acesso em: 18 de agosto de 2023.

ARAÚJO, H. M. C.; ARAÚJO, W. M. C. Coeliac disease. Following the diet and eating habits of participating individuals in the Federal District, Brazil. **Appetite**, v. 57, p. 105–109, 2011. DOI: 10.1016/j.appet.2011.04.007

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS – AACC. **Approved methods of the AACC**. 10th ed. St. Paul: 2000.

BERTA, M.; KOELEWIJN, I.; ÖHGREN, C.; STADING M. Effect of zein protein and hydroxypropyl methylcellulose on the texture of model gluten-free bread. **Journal of Texture Studies**, v. 50, p. 341-349, 2019. DOI:10.1111/jtxs.12394

BORSUK Y, BOURRÉ L, MCMILLIN K, SOPIWNYK E, JONES S, DYCK A, MALCOLMSON L. Impact of Ferment Processing Parameters on the Quality of White Pan Bread. **Applied Sciences**. v. 11, n. 21, p.10203. 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/app112110203>

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **LEI nº 10.674, de 16 de maio de 2003**. Brasília, DF: ANVISA, 2003. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/>

documents/33916/393963/lei_10674.pdf/eb3ab49c-5d38-4633-8c15-2031101ae27e . Acesso em 18 de agosto de 2023.

BRITO, V. H. S.; CEREDA, M. P. Método para determinação de volume específico como padrão de qualidade do polvilho azedo e sucedâneos. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 1, p. 14-22, 2015. DOI:10.1590/1981-6723.0214

CARLI, E. M.; SEIDEL, L. B.; MARAN, M. H. de S. Elaboração de produtos panificados livres de glúten. **Unoesc & Ciência - ACET**, v. 8, n. 1, p. 53-60, 2017. Disponível em: <https://periodicos.unoesc.edu.br/acet/article/view/12632> . Acesso em: 11 jan. 2024.

CAUVAIN, S. P.; YOUNG, L. S. **Tecnologia da panificação**. 2 ed., Braueri: Manole, 2009.

CJAZA-BULSA, G. Non-coeliac Gluten Sensitivity- A new disease with gluten intolerance. **Clinical Nutrition Poland**, v. 34, n. 2, p.189-94, 2014. DOI: 10.1016/j.clnu.2014.08.012

DENIS, A.; BRAMBATI, N.; DESSAUVAGES, B.; GUEDJ, S.; RIDOUX, C.; MEFFRE, N.; AUTIER, C.. Molecular weight determination of hydrolyzed collagens. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 6, p. 989-994, 2008. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2007.05.016

DRUB, T. F.; SANTOS, F. G.; CENTENO, A. C. L. S.; CAPRILES, V. D. Sorghum, millet and pseudocereals as ingredients for gluten-free whole-grain yeast rolls. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 23, p. 100293, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100293>

ELGETI, D. *et al.* Volume and texture improvement of gluten-free bread using quinoa white flour. **Journal of Cereal Science**, v. 59, n. 1, p. 41-47, 2014. DOI: 10.1016/j.jcs.2013.10.010.

ESTELLER, M. S.; LANNES, S. C. S. Parâmetros complementares para fixação de identidade e qualidade de produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, N. 4, p. 802-806, 2005. DOI:10.1590/S0101-20612005000400028

EVANGELHO, J. M. *et al.* Propriedades tecnológicas e nutricionais de pães preparados com diferentes proporções de farinha de arroz e farinha de arroz extrusada. **Revista Brasileira Agrociência**, v. 18, n. 4, p. 264-282, 2012. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/259069488>. Acesso em: 22 dez de 2023.

FERREIRA, P. M.; ROBERTO, B. S.; CAMISA, J. Caracterização de aceitabilidade de barras de cereais enriquecidas de colágeno hidrolisado. **Revista Virtual de Química**, v. 10, n. 1, p. 155-171, 2018. DOI: 10.21577/1984-6835.20180014

FRANCO, V. A. **Desenvolvimento de pão sem glúten com farinha de arroz e de batata-doce**. 2015. 129 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2015. Disponível em: <http://repositorio.bc.ufg.br/tede/handle/tede/5148>. Acesso em 23 out de 2023.

FEDERICI, E., SELLING, G. W., CAMPANELLA, O. H., JONES, O. G. Thermal treatment of dry zein to improve rheological properties in gluten-free dough. **Food Hydrocolloids**, v. 115, p. 1066629, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106629>

GARCÍA-SEGOVIA, P.; IGUAL, M.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J. Physicochemical properties and consumer acceptance of bread enriched with alternative proteins. **Foods**, v. 9, n. 7, p. 933, 2020. DOI: [10.3390/foods9070933](https://doi.org/10.3390/foods9070933).

GIACOMELLI, D.; MONEGO, B.; DELAGUSTIN, M. G.; BORBA, M. M.; RICALDE, S. R.; FACCO, E. M. P.; SIVIERO, J. Composição nutricional das farinhas de milho pré-cozida, moída a pedra e da preparação culinária de “polenta”. **Alim. Nutr.**, v. 23, n. 3, p. 415-420, 2012. Disponível em: <http://gcm.gastronomia.ufrj.br/wp-content/uploads/2020/04/Composic%CC%A7a%CC%83o-nutricional-das-farinhas-de-milho.pdf>. Acesso em: 6 jun de 2023.

GOMEZ, M.; RONDA, F.; BLANCO, C. A.; CABALLERO, P. A.; APESTEGUIA, A. Effects of dietary fibre on dough rheology and Bread quality. **European Food Research and Technology**, v. 216, n. 1, p. 51-56, 2003. DOI: [10.1007/s00217-002-0632-9](https://doi.org/10.1007/s00217-002-0632-9)

GRAÇA, C. S.; BARBOSA, J. B.; SOUZA, M. Z.; MOREIRA, A. S.; LUVIELMO, M. M.; MELLADO, M. M. S. Adição de colágeno em pão sem glúten elaborado com farinha de arroz. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, e2016105, 2017. DOI: [10.1590/1981-6723.10516](https://doi.org/10.1590/1981-6723.10516).

GUSMÃO, T. A. S. **Desenvolvimento de pão de forma sem glúten com farinha de arroz vermelho, enzima transglutaminase microbiana e prebiótico: avaliação tecnológica, sensorial e armazenabilidade**. 2017. 184f. Tese (Doutorado em Engenharia de Processos) – Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Ciências e Tecnologia, Campina Grande, 2017. Disponível em: <http://dspace.sti.ufcg.edu.br:8080/xmlui/handle/riufcg/909?show=full>. Acesso em 16 nov. de 2023.

HERCULANO, L. da F. L., PONTES, A. C. B., RODRIGUES, C. L. J., BARROSO, L. P., de OLIVEIRA, M. N., MEDEIROS, S. R. A., & RAYMUNDO, A. C. da S. N. M. Desenvolvimento de pães sem glúten a partir de farinhas pouco exploradas. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 62905–62924, 2021. DOI: <https://doi.org/10.34117/bjdv7n6-595>

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4 ed., São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. Disponível em: <https://wp.ufpel.edu.br/nutricaoobromatologia/files/2013/07/NormasADOLFOLUTZ.pdf>. Acesso em: 2 jan de 2024.

KOHAJDOVÁ Z, KAROVIČOVÁ J, SCHMIDT Š. Lupin composition and possible use in bakery – a review. *Czech J Food Sci*, v. 29, n. 3, p.203–211, 2011. Disponível em: <https://www.agriculturejournals.cz/pdfs/cjf/2011/03/01.pdf>. Acesso em: 26 nov de 2023.

KOHMANN, L. M. **Desenvolvimento de pão branco e integral livres de glúten e fortificados com cálcio e ferro**. 54f. Monografia (Especialização em Engenharia de Alimentos), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/28415>. Acesso em 26 nov de 2023.

MEZAIZE, S.; CHEVALLIER, S.; LE BAIL, A.; LAMBALLERIE, M. Optimization of gluten-free formulations for French-style breads. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 3, p. E140-146, 2009. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2009.01096.x

MIÑARRO, B.; ALBANELL, E.; AGUILAR, N.; GUAMIS, B.; CAPELLAS, M. Effect of legume flours on baking characteristics of gluten-free bread. **Journal of Cereal Science**, v. 56, p. 476-481, 2012. DOI: 10.1016/j.jcs.2012.04.012.

MIÑARRO, B.; NORMAHOMED, I.; GUAMIS, B. CAPELLAS, M. Influence of unicellular protein on gluten-free bread characteristics. **European Food Research and Technology**, v. 231, p. 171-179, 2010. DOI: 10.1007/s00217-010-1269-8.

MOORE, M. M.; SCHOBER, T. J.; DOCKERY, P.; ARENDT, E. K. Textural comparisons of gluten-free and wheat-based doughs, batters, and breads. **Cereal Chemistry**, v. 81, n. 5, p. 567-575, 2004. DOI:10.1094/CCHEM.2004.81.5.567

NOBRE, A. R. M. O. **Utilização de farinha de quinoa no desenvolvimento de pães sem glúten**. 83f. Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociência, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, SP, 2015.

O’SHEA N.; ARENDT, E. and GALLAGHER, E. State of the Art in Gluten-Free Research. **Journal of Food Science**, v. 79, n. 6, p. R1067–R1076, 2014. DOI: 10.1111/1750-3841.12479

PAPALIA, I. S.; LONDERO, P. M. G. Extração de zeína e sua aplicação na conservação de alimentos. **Ciência Rural**, v. 45, n. 2, p. 552-559, 2015. DOI: 10.1590/0103-8478cr20131649

Park, J.; Kim, H.-S. Rice-Based Gluten-Free Foods and Technologies: A Review. **Foods**, v. 12, p. 4110, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12224110>

PICO, J.; REGUILÓN, M. P.; BERNAL, J.; GÓMEZ, M. Effect of rice, pea, egg white and whey proteins on crust quality of rice flour corn starch based gluten-free breads. **Journal of Cereal Science**, v. 86, p.92–101, 2019. DOI:10.1016/j.jcs.2019.01.014

RATHNAYAKE, H. A., NAVARATNE, S. B., NAVARATNE, C. M. Porous Crumb Structure of Leavened Baked Products. **International Journal of Food Science**, v. 5, p. 2018:8187318. 2018. DOI: 10.1155/2018/8187318.

Russo, P. *et al.* Biotechnological Potential and Safety Evaluation of Dextran- and Riboflavin-Producing *Weissella Cibaria* Strains for Gluten-Free Baking. **Foods**, v. 13, n.1, p. 69, 2023. DOI: 10.3390/foods13010069

- SALEHI, F. Improvement of Gluten Free Bread and Cake Properties Using Natural Hydrocolloids: A Review. **Food science & nutrition**, v. 7, n. 11, p. 3391–3402. 2019. DOI: 10.1002/fsn3.1245
- SANT'ANA, R. C. O., PAES, M. C. D., BARBOSA, N. A., PIRES, C. V., OLIVEIRA, M. G. de A. **Novo Método de Extração de Zeina utilizando Agente Redutor Não Tóxico**. XXIX Congresso Nacional de Milho e Sorgo, Embrapa, agosto de 2012. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/72634/1/Novo-metodo.pdf>. Acesso em: 30 jan de 2023.
- SANTOS, D. S.; MONTEIRO, S. S.; PEREIRA, E. M.; MARINI, F. S.; VASCONCELLOS, A.; LIMA, J. F. Composição centesimal de milho Crioulo coletado em localidades do estado da Paraíba. **Revista Verde**, v. 13, n.3, p.308-312, 2018. DOI:10.18378/rvads.v13i3.5628
- SCHOBER T.J., BEAN S.R., BOYLE D.L., PARK S-H. Improved viscoelastic zein-starch doughs for leavened gluten-free breads: their rheology and microstructure. **J. Cereal Sci.** v. 48, p.755–767, 2008. DOI: 10.1016/j.jcs.2008.04.004
- SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. 2 ed., São Paulo: Livraria Varela, 1996.
- SILVA, J. F. **Desenvolvimento de mixes de panificação isentos de glúten a partir de subprodutos alimentares**. 83 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Alimentar). Universidade de Lisboa, Lisboa, 2014. Disponível em: <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/8234>. Acesso em 14 jul de 2023
- SKENDI, A.; PAPAGEORGIOU, M.; VARZAKAS, T. High Protein Substitutes for Gluten in Gluten-Free Bread. **Foods**. v. 10, p. 1997, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods100919>
- SMITH, B. M.; BEAN, S. R.; SELLING, G.; SESSA, D.; ARAMOUNI, F. M. Effect of salt and ethanol addition an zein-starch dough and bread quality. **Journal of Food Science**. v. 82, n. 3, 2017. DOI: 10.1111/1750-3841.13637
- SOSA, M.; CALIFANO, A.; LORENZO, G. Influence of quinoa and zein content on the structural, rheological, and textural properties of gluten-free pasta. **European Food Research and Technology**, v. 245, p. 343–353, 2019. DOI: 10.1007/s00217-018-3166-5
- SOUZA, F. R. F. DE, SIQUEIRA, B. M., & DALA-PAULA, B. M. Ingredientes substitutos de cereais fontes de glúten: uma revisão narrativa da literatura. **Segurança Alimentar e Nutricional**, v. 30, e023010, 2023. DOI: <https://doi.org/10.20396/san.v30i00.8667930>
- TAN, H.; ZHOU, H.; GUO, T.; ZHOU, Y.; WANG, S.; ZHANG, Y.; YUAN, R.; MA, L. Investigating the effects of zein preparation conditions on its structure, functional properties and zearalenone contamination. **Food Control**, v. 159, n. 1, p. 110297, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110297>.

WIESER, H. Chemistry of Gluten proteins. **Food Microbiology**, v. 24, n. 2, p.115–119, 2007. DOI: 10.1016/j.fm.2006.07.004.

WOLTER, A.; HAGER, A. S.; ZANNINI E.; CZERNY, M.; ARENDT, E. K. Influence of dextran-producing *Weissella cibaria* on baking properties and sensory profile of gluten-free and wheat breads. **International Journal of Food Microbiology**, v. 172, n. 83–91, 2014. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2013.11.015.

WRONKOWSKA, M.; HAROS, M.; SORAL-_SMIETANA, M. Effect of starch substitution buckwheat flour on gluten-free bread quality. **Food Bioprocess Technology**, v. 6, p. 1820-1827, 2013. DOI:10.1007/s11947-012-0839-0

Yano, H. Recent practical researches in the development of gluten-free breads. *npj Sci Food*, v. 3, n. 7 (2019). DOI: <https://doi.org/10.1038/s41538-019-0040-1>

ZIOBRO, R.; JUSZCZAK, L.; WITCZAK, M.; KORUS, J. Non-gluten proteins as structure forming agents in gluten-free bread. **J Food Sci Technol**, v. 53, n. 1, p. 571–580. DOI 10.1007/s13197-015-2043-5.