

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**ALIMENTOS**

**NAÁRA MEDEIROS ARAÚJO LIMA OLIVEIRA**

**ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE PÃO DE FORMA COM CONCENTRADO**  
**PROTÉICO DE SORO DE LEITE E CARBONATO DE CÁLCIO**

**JOÃO PESSOA-PB**

**2011**

**NAÁRA MEDEIROS ARAÚJO LIMA OLIVEIRA**

**ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE PÃO DE FORMA COM CONCENTRADO  
PROTÉICO DE SORO DE LEITE E CARBONATO DE CÁLCIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para a obtenção para o grau de Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.

Orientador(a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Janeeyre Ferreira Maciel

**JOÃO PESSOA-PB**

2011

**NAÁRA MEDEIROS ARAÚJO LIMA OLIVEIRA**

**ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE PÃO DE FORMA COM CONCENTRADO  
PROTÉICO DE SORO DE LEITE E CARBONATO DE CÁLCIO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Tecnologia da Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento às exigências para a obtenção para o grau de Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.

Aprovado pela Banca Examinadora em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof. Dr. Ânoar Abbas El Aouar  
Membro Interno

---

Profa. Dra. Mabel de Barros Batista  
Membro Interno

---

Profa. Dra. Maria da Conceição Rodrigues Gonçalves  
Membro Externo

A Deus por permitir que eu alcançasse mais uma vitória em  
minha vida.

Aos meus familiares e amigos.

Dedico.

## **AGRADECIMENTOS**

Sou grata antes de tudo a DEUS, fonte de luz e misericórdia em minha vida, que sempre opera realizações imensas naqueles que NELE crêem.

Agradeço também a minha família, especialmente aos meus pais: José e Palmyra. Minha querida avó Marietta pelos incentivos dados, quando me faltou a coragem em continuar. A minha irmã Anelise e o meu cunhado Carlos Alberto, que no momento certo, foram presenças constantes de apoio, estímulo e por terem acreditado em mim e no meu potencial. Em especial, ao meu tio Lindemberg e a minha tia Palmyrena pela atenção que me foi dada.

À minha orientadora e coordenadora do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, por quem tenho um carinho muito especial, Professora Dr<sup>o</sup> Janeeyre Ferreira Maciel, pela paciência, pelo empenho, pela especial atenção, força, confiança e credibilidade a minha pessoa. Agradeço principalmente pelos ensinamentos por ela transmitidos, que foram essenciais não somente para a conclusão da minha Dissertação como também para a minha vida profissional.

À equipe de professores, João Andrade, Heinz Johann Holschuh, Pushkar Singh Bora, Eduardo de Jesus Oliveira, Macelino Cavalheiro, Ricardo Targino Moreira e Janeeyre Ferreira Maciel pelos valiosos ensinamentos no decorrer do curso, propiciando um embasamento teórico-prático que sem dúvida contribuiu muito na formação de um alicerce sólido para que eu possa desempenhar a minha profissão com segurança.

Ao secretário do Programa, Humberto Bandeira, pela atenção nos momentos em que dele precisei.

À empresa Alibra Ingredientes Ltda. pelo fornecimento do concentrado protéico de soro de leite.

Aos técnicos e funcionários dos Laboratórios de Bioquímica, Microbiologia, Análises Químicas, Análise Sensorial, Águas, Pescado, Flavor, Padaria Piloto (UFPB/João Pessoa): Gilvandro, Claudionor, Eunice, Nely e Rosana.

À Universidade Federal da Paraíba, em especial ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos pela oportunidade de crescimento profissional e pessoal, assim como na realização de um sonho.

Agradeço à boa vontade e principalmente o espírito de equipe das minhas amigas colaboradoras do Doutorado, que muito me auxiliaram na arte de fazer pão - minhas colegas da Padaria - Adriana, Fátima e Érica por terem sido tão generosas e não mediram esforços em colaborar com a minha pesquisa, especialmente, a você Adri que me ajudou muito, sou muito grata a você. Aprendi muito com a ajuda deste grupo que despertava em mim o desejo de realizar o melhor.

Às alunas da graduação que também deram sua contribuição neste trabalho especialmente a Polyana, Diva e a Carine Ellen, o meu agradecimento sincero.

Aos colegas de turma, Anna Débora, Christine, Cristiane, Ingrid, Júlio, Tatyana, Aline, Salete, Rosana, Katharina, que ao iniciarmos a nossa caminhada na realização deste trabalho tínhamos muitas dúvidas, incertezas e ansiedades, porém aprendemos juntos a enfrentar os desafios que surgiram ao longo desta etapa.

Muito obrigada a todos vocês!

*A vitória é daqueles que acreditam na força e no poder de DEUS que está dentro de cada um de nós. Lutar, persistir, saber retirar as pedras do caminho e continuar em busca de seus sonhos é desfrutar do valor e do sabor da vida.*

Palmyra Medeiros

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Págs.</b>
<b>FIGURA 1</b> - Processo de produção do Concentrado Protéico de Soro de Leite (CPS). ....	27
<b>FIGURA 2</b> - Etapas do processo de elaboração dos pães de forma. ....	35
<b>FIGURA 3</b> - Ficha de avaliação sensorial. ....	37
<b>FIGURA 4</b> - Percentagem de aceitação dos atributos (sabor, aparência e maciez) dos pães de forma.....	43



## LISTA DE QUADROS

**Págs.**

<b>QUADRO 1-</b> Biodisponibilidade de cálcio de alguns alimentos .....	25
<b>QUADRO 2-</b> Ingestão Diária Recomendada de cálcio e proteínas para adultos, crianças, gestantes e lactantes adultas. ....	26
<b>QUADRO 3</b> - Composição dos concentrados protéicos de soro de leite com diferentes percentuais de proteína .....	28
<b>QUADRO 4</b> - Composição de aminoácidos (g/100 g) no concentrado protéico de soro de leite com 35% de proteínas.....	30

## LISTA DE TABELAS

Págs.

<b>TABELA 1</b> - Médias e desvios padrão dos resultados das determinações de pH e acidez da massa fresca dos pães de forma convencional e adicionados de CPS e carbonato de cálcio, em três diferentes concentrações. ....	39
<b>TABELA 2</b> - Médias e desvios padrão dos resultados das determinações de pH, acidez e volume específico do pão de forma convencional e dos adicionados de CPS e carbonato de cálcio, em três diferentes concentrações.....	40
<b>TABELA 3</b> - Médias dos escores do teste de aceitação para as quatro formulações de pães de forma elaboradas.....	43
<b>TABELA 4</b> - Médias e desvios padrão dos resultados da composição química dos pães de forma convencional, controle (com 7,5% de concentrado protéico de soro) e enriquecido com carbonato de cálcio. ....	44

## LISTA DE SIMBOLOS E ABREVIATURAS

pH	Potencial Hidrogeniônico
CPS	Concentrado protéico de soro
Ltda	Limitada
SP	São Paulo
Cm	Centímetros
%	por cento
N	Normalidade
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
RDA	Recommended Dietary Allowances
DRI	Dietary Reference Intakes
Mg	Miligramas
°C	Grau Celsius
Ca	Cálcio
DCV	Cardiovasculares
mL	Mililitros
UFPB	Universidade Federal da Paraíba
EUA	Estados Unidos da América
CONV	Pão convencional
CT	Centro de Tecnologia
F1	Pão de forma com 7,5% de CPS e 1,5% de carbonato de cálcio
F2	Pão de forma com 7,5% de CPS e 2,0% de carbonato de cálcio
F3	Pão de forma com 7,5% de CPS e 2,5% de carbonato de cálcio
ANOVA	Análise de Variância
NMP	Número Mais Provável
EDTA	Ácido etileno diamino tetraacético
IAL	Instituto Adolfo Lutz
PB	Paraíba
MS	Matéria seca
L	Lactose

M	Minerais
P	Proteína
G	Gramas
cm <sup>3</sup>	Centímetros cúbicos
R	Software estatístico
UFC/g	Unidade formadora de colônia por grama
min	Minutos

## SUMÁRIO

	Págs.
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>19</b>
2.1 Objetivo geral.....	19
2.2 Objetivos específicos.....	19
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>20</b>
3.1 Importância das proteínas e do cálcio na alimentação humana .....	20
3.2 Concentrado protéico de soro de leite (CPS) .....	26
3.2.1 <i>Processo de obtenção</i> .....	26
3.2.2 <i>Características nutricionais</i> .....	28
3.2.3 <i>Uso do Concentrado Protéico de Soro de Leite (CPS) em produtos de panificação</i> ....	30
3.3 Sais de Cálcio .....	30
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
4.1 Local de execução .....	33
4.2 Aquisição dos ingredientes.....	33
4.3 Elaboração dos pães de forma.....	33
4.4 Avaliação microbiológica .....	34
4.5 Avaliação físico-química da massa fresca e dos pães .....	34
4.6 Avaliação sensorial dos pães.....	36
4.7 Determinação da concentração de cálcio nos pães .....	37
4.8 Composição química do pão de forma selecionado .....	38
4.9 Análise estatística.....	38
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>39</b>
5.1 Avaliação microbiológica dos pães de forma .....	39
5.2 Avaliação físico-química da massa fresca e dos pães .....	39
5.3 Avaliação sensorial dos pães.....	42

<b>5.3.1 Teste de aceitação .....</b>	<b>42</b>
<b>5.4 Determinação do teor de cálcio nos pães .....</b>	<b>43</b>
<b>5.5 Composição química do pão de forma selecionado .....</b>	<b>44</b>
 <b>6 CONCLUSÕES.....</b>	 <b>47</b>
 <b>REFERÊNCIAS .....</b>	 <b>48</b>
 <b>ANEXO.....</b>	 <b>57</b>

**OLIVEIRA, N. M. A L. Enriquecimento Nutricional de Pão de Forma com Concentrado Protéico de Soro Leite e Carbonato de Cálcio.** João Pessoa, 2010, 57f . Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Federal da Paraíba.

## **RESUMO**

Neste trabalho o objetivo foi enriquecer pão de forma com 7,5% de concentrado protéico de soro de leite (CPS) e com carbonato de cálcio, nas concentrações de 1,5%, 2,0% e 2,5%, disponibilizando um produto final com maior concentração de proteínas e minerais, especialmente o mineral cálcio. Ainda, foi elaborado pão de forma convencional, para fins de comparação. Os pães foram avaliados quanto a aceitação sensorial e submetidos às análises de pH, acidez e volume específico. O pH e acidez da massa fresca também foram analisados. Essas análises foram realizadas em triplicata, com cinco repetições. Das três formulações testadas somente uma foi selecionada com base nos resultados dos testes físico-químicos e sensoriais. As concentrações de proteínas, lipídeos, cinzas, cloretos e cálcio foram determinadas somente no pão selecionado e no produto convencional, em triplicata, com três repetições. Foram verificados na massa fresca redução de acidez e aumento de pH devidos provavelmente a adição do carbonato de cálcio, entretanto, essas modificações não implicaram na redução de volume dos pães elaborados. No teste sensorial, a formulação F2 apresentou a melhor aceitação, sendo, por essa razão, selecionada. Nas análises de composição química foi verificado que a adição de concentrado protéico de soro de leite e carbonato de cálcio à formulação de pão de forma resultou em produto final com maior valor nutricional, quando comparado ao pão convencional, especialmente em termos de proteínas e cálcio. No caso do cálcio, o incremento foi suficiente para fornecer em torno de 70% da IDR para adultos. O enriquecimento de pão de forma com CPS e carbonato de cálcio se constitui em importante alternativa na elevação do consumo de cálcio, especialmente pela boa aceitação e baixo custo do produto, quando comparado ao leite e derivados, principais fontes desse mineral.

**Palavras-chave:** Pão de forma. Concentrado protéico de soro de leite. Testes sensoriais. Cálcio.

**OLIVEIRA, N. M. A. L. Nutritional Enrichment of Tin Loaf with Whey Milk Protean Concentrate and Calcium Carbonate.** João Pessoa, 2010, 57f. Essay (Masters degree in Science and Food Technology), Federal University of Paraíba.

## **A B S T R A C T**

The aim of this work was to enrich tin loaf with 7,5% of whey protean concentrate (WPC) and calcium carbonate in concentrations of 1,5%, 2,0% and 2,5% developing a final product with more concentration of proteins and minerals, especially calcium. Yet, conventional tin loaf was prepared by ways of comparison. The loaves were evaluated in relation to sensorial acceptance and were submitted to analysis of pH, acidity and specific volume. The pH and acidity of fresh dough were also analyzed. These analysis were carried out in third copy with five repetitions. Out of the tested formulations only one was selected based in results of physical chemical and sensorial tests. The proteins, lipids, ashes, chlorides and calcium concentrations were determinated only in selected formulation and in conventional product, in third copy, with three repetitions. Acidity reduction and pH increase were checked in fresh dough, probably due to the addition of calcium carbonate, however, these modifications did not result in volume reduction of the loaves. In the sensorial test, the formulation F2 presented the best acceptance, being for that reason selected. In the chemical composition analysis it was checked that the addition of whey protean concentrate and calcium carbonate to the tin loaf formulation, resulted in a final product with greater nutritional value as compared to conventional bread, especially in terms of proteins and calcium. In the case of calcium, the increment was sufficient to supply around 70% of the DRI for adults. Tin loaf enrichment with WPC and calcium carbonate establish as an important alternative in the elevation of calcium consumption, especially for the good acceptance and low cost of the product as compared to milk and derivatives, which are the main sources of this mineral.

**Keywords:** Tin loaf. Whey protean concentrate. Sensorial tests. Calcium.



## **1 INTRODUÇÃO**

No Brasil, alguns estudos sobre consumo alimentar mostram que dos nutrientes avaliados o cálcio é o que apresenta maior inadequação (SAMPAIO, 1997; MONTILLA; ALDRIGHI ; MARUCCI, 2003; LOPES et al., 2005). Pinheiro et al. (2008), ao conduzirem uma pesquisa com 2.420 pessoas acima de 40 anos, em 150 municípios das cinco regiões do país, revelaram que 90% dos entrevistados ingeriam, em média, 400 mg de cálcio, o que equivale a 40% do recomendado pela IDR - Ingestão Diária Recomendada para esse grupo populacional (BRASIL, 2005a).

A falta de cálcio resulta em distúrbios orgânicos tais como raquitismo, retardo do crescimento e osteoporose (COZZOLINO, 2005). Além da perda da massa óssea, pode acarretar câibras e irritabilidade, por ser um mineral necessário na transmissão nervosa, na contração muscular e na regulação dos batimentos cardíacos (KRAUSE; MAHAN, 2002).

A prevenção à deficiência nutricional de cálcio deveria ser alcançada preferencialmente por meio da ingestão de alimentos fontes e ricos nesse mineral, tais como leite e derivados, vegetais de folhas verdes, nozes e peixes. No entanto, alguns fatores como o custo elevado de alguns alimentos, hábitos culturais e alimentares limitam o consumo desse micronutriente (MILLER; JARVIS; BEAN, 2001; LEVY-COSTA, 2005).

Outras estratégias que podem ser adotadas para minimizar os danos causados pela deficiência de cálcio são a fortificação de alimentos e o uso de suplementação com esse mineral em populações de risco.

O pão tem sido muito usado para fins de enriquecimento nutricional, especialmente por ser uma das principais fontes calóricas da dieta em muitos países e ser amplamente consumido por indivíduos de diversas classes sociais (RANHOTRA; GELROTH; LEINEN; 2000; KAJISHIMA; PUMAR; GERMANI, 2003).

A adição de leite e/ou derivados às formulações de pães contribui para a elevação do teor de cálcio, destacando-se entre os derivados o soro de leite em pó e o concentrado protéico de soro de leite (CPS).

Rodrigues (2008), ao adicionar 7,5% de CPS à formulação de pão de forma, encontrou teor de cálcio médio de 134,63 mg/100 g pão, sendo esta concentração insuficiente para classificar o produto final como alimento fonte de cálcio para adultos. A adição de

concentração mais elevada desse ingrediente (10%) resultou em produto final com baixa umidade, devido a menor capacidade de absorção de água da massa durante a mistura. Portanto, em excesso, as proteínas do soro de leite poderão ter efeitos negativos nas características sensoriais dos pães, devido à interação entre essas proteínas e as proteínas do glúten (RENNER; ABDEL-SALAM, 1991).

Uma solução para incrementar o percentual de cálcio na composição química do pão é adicionar sais inorgânicos, que parecem ser tão bem absorvidos e retidos como os sais orgânicos (RANHOTRA; GEROLTH; LEINEN, 2000).

Dentre os sais de cálcio utilizados para o enriquecimento de alimentos destacam-se fosfato, sulfato e carbonato de cálcio, sendo este último amplamente usado devido sua alta concentração em cálcio (40%) e por ser economicamente mais barato (KAJISHIMA; PUMAR; GERMANI, 2003).

O enriquecimento do pão de forma com CPS e carbonato de cálcio se constitui em uma importante alternativa de melhoria do valor nutricional de pães, elevando especialmente o teor de proteínas de alto valor biológico e de cálcio, contribuindo para a redução da deficiência verificada no consumo desse mineral.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Desenvolver uma nova formulação de pão de forma enriquecida com concentrado protéico de soro de leite (CPS) e carbonato de cálcio, em concentrações que resultassem em produto final com boa aceitação sensorial e rico em cálcio.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- ✓ Elaborar pães de forma com 7,5% de CPS e com diferentes concentrações de carbonato de cálcio;
- ✓ Determinar o pH e acidez da massa fresca, obtida logo após a etapa de mistura dos ingredientes;
- ✓ Determinar pH, acidez e volume específico dos pães elaborados;
- ✓ Submeter os produtos elaborados à avaliação microbiológica e sensorial;
- ✓ Determinar as concentrações de cálcio nos produtos elaborados;
- ✓ Determinar a composição química do produto selecionado, com base nos resultados dos testes físico-químicos e sensoriais, para fins de rotulagem e comparação com o produto convencional.

### **3 REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 Importância das proteínas e do cálcio na alimentação humana**

As proteínas são macromoléculas presentes em todas as células dos organismos vivos e respondem pela grande maioria de suas funções. Atuam como enzimas, estão envolvidas no controle da motilidade (inclusive a contração muscular), exercem papel imunológico, participam do armazenamento e transporte de nutrientes (mioglobina, hemoglobina e ferritina) e de outras substâncias e na integração do funcionamento de diversos órgãos, por meio dos hormônios (ANTUNES, 2003).

Estruturalmente, as proteínas são formadas a partir da ligação peptídica entre dois aminoácidos (ROSSI; TIRAPEGUI; CASTRO, 2005; COZOLLINO, 2005). Essas macromoléculas são caracterizadas como esqueletos de carboidratos contendo um grupo amino ( $\text{NH}_2$ ) adicionado ao carbono  $\alpha$  (o carbono próximo ao grupo carboxila) (KRAUSE; MAHAN, 2002).

Além de participarem na síntese protéica e no metabolismo energético, quase todos os aminoácidos apresentam funções específicas no organismo. O triptofano, por exemplo, é um precursor da vitamina niacina e do neurotransmissor serotonina; a metionina é o principal doador de grupos metílicos para a síntese de determinados compostos, tais como colina e carnitina, cisteína e outros compostos que contêm enxofre. A fenilalanina é precursora da tirosina, a qual é responsável pela formação de tiroxina e epinefrina. Arginina e citrulina estão envolvidas especificamente na síntese da uréia no fígado. A glicina, o mais simples dos aminoácidos, combina-se com alguns tipos de compostos tóxicos, convertendo essas substâncias em compostos não-tóxicos, que são excretados pela urina; é também usada na síntese do núcleo porfirínico da hemoglobina e constituinte de um dos ácidos biliares. Histidina é essencial para a síntese de histamina, composto que causa vasodilatação no sistema circulatório. Arginina, glicina e metionina unem-se a um grupo fosfato para formar o fosfato de creatina, um importante reservatório de ligação fosfato de alta energia na célula. A glutamina é o aminoácido livre mais abundante no plasma e no tecido muscular e é utilizada

em altas taxas por células de divisão rápida, incluindo leucócitos e enterócitos, para fornecer energia e favorecer a biossíntese de nucleotídeos. Além disso, o ácido glutâmico é precursor do neurotransmissor denominado ácido gama-aminobutírico (OLIVEIRA; MARCHINI, 2008; CARDOSO, 2006; KRAUSE; MAHAN, 2002; COZOLLINO, 2005).

Do ponto de vista nutricional, os aminoácidos foram inicialmente classificados em essenciais e não-essenciais, entretanto, com o avanço do conhecimento do metabolismo protéico e das características nutricionais desses compostos, essa classificação tem sofrido modificações, podendo ser, atualmente, classificados em indispensáveis (essenciais) e dispensáveis (não-essenciais) (OLIVEIRA; MARCHINI, 2008; CARDOSO, 2006). Os nove aminoácidos indispensáveis (histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, treonina, triptofano e valina) são aqueles cujos esqueletos de carbono não podem ser sintetizados pelo organismo humano, necessitando ser obtidos pela dieta. O aprofundamento nos conhecimentos dos diversos dados reportados recentemente, sobre o metabolismo intermediário e as características nutricionais dos aminoácidos dispensáveis tem contribuído para uma discussão sobre a definição desses compostos.

Segundo Laidlaw e Kopple (1987), os aminoácidos dispensáveis podem ser divididos em duas classes: verdadeiramente dispensáveis e condicionalmente indispensáveis. Cinco aminoácidos (alanina, ácido aspártico, asparagina, ácido glutâmico e serina) são denominados dispensáveis, uma vez que esses podem ser sintetizados no organismo a partir de outros aminoácidos ou de outros metabólitos de complexos nitrogenados. Além disso, seis aminoácidos (arginina, cisteína, glutamina, glicina, prolina e tirosina) são considerados condicionalmente indispensáveis, uma vez que são sintetizados a partir de outros aminoácidos e/ou sua síntese é limitada sob condições fisiopatológicas especiais. Portanto, a designação aminoácido condicionalmente essencial caracteriza que em condições normais o organismo pode sintetizar estes aminoácidos para alcançar a necessidade metabólica. Por outro lado, em condições fisiológicas ou fisiopatológicas específicas ocorre a necessidade de ingestão desses aminoácidos, necessidade esta que ainda não foi determinada com exatidão e que, presumivelmente, varie em grande extensão de acordo com a condição específica. Além disso, a designação condicionalmente indispensável, ou ainda “semi-essencial” indica, em princípio, que esses aminoácidos podem ser necessários na dieta, a menos que quantidades suficientes de seus precursores estejam disponíveis e/ou as atividades de enzimas envolvidas em vias

metabólicas relevantes sejam suficientes para promover a síntese destes aminoácidos em uma taxa metabólica significativa (OLIVEIRA; MARCHINI, 2008; CARDOSO, 2006).

A proteína da dieta é digerida e os aminoácidos são absorvidos e entram no “pool” de aminoácidos circulantes. Este “pool” fornece aminoácidos para a síntese de todas as proteínas corpóreas. Todas as proteínas corpóreas são substituídas em diferentes taxas; a taxa útil de “turnover” de proteína comanda a necessidade de proteína do indivíduo. No estado alimentado o nitrogênio é excretado do corpo na forma de uréia (KRAUSE; MAHAN, 2002).

A qualidade nutricional de uma proteína reflete a capacidade desta em fornecer aminoácidos essenciais ao organismo nas quantidades necessárias ao crescimento e à manutenção, portanto esses aminoácidos devem estar biodisponíveis para o organismo (COZZOLINO, 2005).

Diversos fatores podem influenciar essa biodisponibilidade, como conformação estrutural, presença de compostos antinutricionais, efeito das condições de processamento e complexação com outros nutrientes. Quanto à conformação estrutural, observa-se que quanto menos complexa for a estrutura na qual se estabiliza a cadeia polipeptídica, mais fácil será o acesso das enzimas digestivas, aumentando a digestibilidade da proteína e a biodisponibilidade de seus aminoácidos para o organismo (COZZOLINO, 2005).

Fatores antinutricionais, como inibidores de tripsina e quimiotripsina (tipo Kunitz e Bowman-Birk) e lecitinas, interferem negativamente na atividade de determinadas enzimas digestivas, reduzindo a digestibilidade e a qualidade nutricional das proteínas (COZZOLINO, 2005).

Em relação aos efeitos do processamento térmico, reações com açúcares redutores e grupamentos  $\alpha$ -amino também decrescem a digestibilidade dos resíduos de lisina, sendo a reação de Maillard ou “reação de escurecimento não enzimático” aquela que apresenta o maior impacto sensorial e nutricional. Outras reações como as interações com radicais livres, compostos fenólicos, solventes halogênicos e nitritos também contribuem para reduzir a digestibilidade e, conseqüentemente, a biodisponibilidade das proteínas (COZZOLINO, 2005).

As proteínas estão amplamente distribuídas na natureza, no entanto as proteínas de origem animal são consideradas como referência em termos de composição de aminoácidos essenciais. Os alimentos de origem animal como carnes, aves, peixes, leite, queijo e ovo, possuem proteínas de boa qualidade, suficiente para torná-los as melhores fontes de

aminoácidos essenciais para o organismo humano (PENNA; PINHEIRO 2004). Os alimentos de origem vegetal também são fontes significativas de proteínas. As leguminosas são as mais ricas, contendo de 10% a 30% de proteínas. No entanto, é válido destacar que elas apresentam alguma deficiência em aminoácidos sulfurados, como metionina e cisteína. Os cereais possuem teor protéico menor que as leguminosas, cerca de 6% a 15% em média, e são deficientes, principalmente, em lisina. No entanto, apesar dessa deficiência em aminoácidos específicos, esses grupos de alimentos contribuem com uma parcela significativa de ingestão protéica para a população, pois representam uma fonte protéica de menor custo, consequentemente de maior consumo, principalmente nos países de menor nível sócio-econômico. Frutas e hortaliças são fontes pobres, cerca de 1 a 2% do peso total (COZZOLINO, 2005; KRAUSE; MAHAN, 2002).

Apesar das limitações nutricionais apresentadas pelas proteínas vegetais em termos de aminoácidos essenciais, deve-se enfatizar que a alimentação e as dietas incluem vários tipos de alimentos que são consumidos simultaneamente, podendo ocorrer um efeito complementar. Desse modo, uma mistura adequada de cereais (arroz, trigo, milho, etc.) com leguminosas (feijão, soja, ervilha, etc.) ingeridas na mesma refeição e em proporções balanceadas apresentam valor nutricional adequado, do ponto de vista protéico, similarmente ao verificado em proteínas de origem animal (COZZOLINO, 2005; KRAUSE; MAHAN, 2002).

A ingestão de dietas hipoprotéicas promove diminuição do nitrogênio urinário, o que indica um mecanismo de adaptação do organismo. Após 4 a 5 dias de balanço nitrogenado negativo, o equilíbrio é restabelecido em um nível menor. Se esse balanço negativo persistir, o organismo não consegue adaptar-se e a deficiência de ingestão protéica é acompanhada por edema, perda de massa muscular, fígado gorduroso, dermatose, diminuição da resposta imune e debilidade geral. A deficiência protéica atinge principalmente crianças, devido ao fato de as necessidades de ingestão de proteínas e energia por quilograma de peso corporal estarem aumentadas e existir elevada suscetibilidade a fatores como infecção, o que aumenta a necessidade de ingestão de proteínas (KRAUSE; MAHAN, 2002; COZZOLINO, 2005).

O cálcio é o mineral mais abundante e importante do corpo humano, constituindo cerca de 1,5 a 2% do peso corpóreo e 39% dos minerais corpóreos. Cerca de 99% deste mineral está presente nos ossos e dentes. O restante (1%) está no sangue e fluidos extracelulares e no interior das células de tecidos moles, regulando muitas funções metabólicas importantes, tais como contração e relaxamento muscular, coagulação do sangue,

transmissão dos impulsos nervosos, ativação das reações enzimáticas e estimulação da secreção hormonal (KRAUSE; MAHAN, 2002).

Os ossos são considerados reservatórios de cálcio, estando em contínuo processo de manutenção. Daí a grande importância do conteúdo de cálcio na alimentação. Se houver deficiência de cálcio na alimentação, o organismo tende a manter seus níveis sanguíneos de três formas: diminuindo a excreção, aumentando a absorção e retirando dos ossos (BATTESTIN et al., 2002). Essa deficiência pode prejudicar a estrutura óssea, provocando o raquitismo, retardamento do crescimento, falhas no mecanismo de coagulação do sangue, distúrbios nervosos, contrações musculares convulsivas e osteoporose (PALLAORO, 1997).

O risco de desenvolver osteoporose na vida adulta depende especialmente da massa óssea máxima alcançada na idade jovem (LANZILLOTTI et al., 2003). Até os 20 anos de idade, o acúmulo de cálcio no esqueleto é de aproximadamente 150 mg por dia, na maturidade a quantidade de cálcio permanece constante, porém em mulheres na menopausa aumenta a renovação e diminui a formação óssea em cada unidade de remodelação, levando à perda de massa óssea (CASHMAN, 2002).

São muitas as fontes de cálcio utilizáveis pelo organismo, sendo o leite e seus derivados considerados as melhores e mais biodisponíveis fontes desse mineral. Os vegetais de folhas verdes (espinafre, couve-manteiga, brócolis, couve-flor, taioba, repolho, salsa, alface, etc.), leite de soja, caruru, castanha-do-pará, frutas frescas, feijão, todas as nozes e sementes, principalmente amêndoas e gergelim, e também frutas secas, como figos, tâmaras, passas, casca de ovo etc., apresentam consideráveis quantidades de cálcio, no entanto a biodisponibilidade é contestada (DE ANGELIS, 1979).

Quando se avalia a fonte de cálcio, a quantidade de cálcio presente é mais importante que a biodisponibilidade em si. A eficiência da absorção do cálcio é praticamente similar na maioria dos alimentos, incluindo leite, couve-manteiga, espinafre, brócolis e bertalha. Deve-se ressaltar que o cálcio pode ter baixa absorção em alguns alimentos ricos em ácido oxálico, como batata doce, feijão e espinafre. Alimentos ricos em ácido fítico como feijão cru, sementes, castanhas, cereais e isolados de soja, também podem proporcionar baixa absorção de cálcio. No entanto, o ácido fítico (forma de armazenamento de fósforo em sementes) é um inibidor moderado (COZZOLINO, 2005).

A lactose parece aumentar a absorção do cálcio em crianças. No entanto, em adultos, a absorção desse mineral em vários produtos perecíveis parece ser equivalente. O papel da fibra



na dieta sobre a absorção intestinal de cálcio tem apresentado resultados controversos, pois esta parece sofrer influência do ácido gástrico (VOSER, 2006).

A eficiência na absorção de cálcio no organismo aumenta durante períodos de alta necessidade, como na infância, e ocorre com maior quantidade no início do intestino delgado. Já o intestino grosso pode ser responsável pela absorção de mais de 10% de cálcio total. Porém para que essa absorção seja eficiente, é necessário que a microbiota intestinal esteja saudável para poder absorver adequadamente. Estudos realizados sugerem que é preciso saber quanto do nutriente está presente no alimento que podemos absorver, ou seja, quanto está disponível (DURIGAN et al., 2002). No Quadro 1 a seguir, está apresentada a biodisponibilidade de cálcio em alguns alimentos.

Em 1997, a Academia Americana de Ciências de Washington, EUA, desenvolveu as DRIs (*Dietary Reference Intakes*) para cálcio, magnésio, fósforo, flúor e vitamina D nas diferentes faixas etárias, para manter o estado nutricional e promover resistência óssea (INSTITUTE OF MEDICINE, 1997). As novas recomendações DRIs (*Dietary Reference Intakes*) surgiram em 1993 para substituir as RDAs (*Recommended Dietary Allowances*) e são baseadas nos efeitos benéficos dos nutrientes ao organismo e na prevenção de deficiências. Segundo Cobayashi, (2004) a nova recomendação para cálcio baseia-se principalmente na relação existente entre ingestão de cálcio e saúde óssea.

**QUADRO 1** – Biodisponibilidade de cálcio de alguns alimentos.

<b>Alimento</b>	<b>Biodisponibilidade</b>
Brócolis	58,10%
Couve-manteiga	55,50
Leite integral	32,10%
Iorgute	32,10%
Tofu	31%
Espinafre	30%

**Fonte:** Weaver, Heaney ; 2003.

A Ingestão Diária Recomendada (IDR) é definida como a quantidade de proteínas, vitaminas e minerais que deve ser consumida diariamente para atender às necessidades nutricionais da maior parte dos indivíduos e grupos de pessoas de uma população sadia (BRASIL, 2005a). Todos os valores de IDR são baseados na RDA e indicado para diversos

grupos populacionais (adultos, lactentes e crianças, gestantes e lactantes). Os valores de IDR para cálcio e proteínas, em diferentes estágios de vida, estão apresentados no Quadro 2.

**QUADRO 2**-Ingestão diária recomendada de cálcio e proteínas para adultos, crianças, gestantes e lactantes adultas.

<b>Grupos</b>	<b>IDR de cálcio (mg/dia)</b>	<b>IDR de proteínas (g/100g)</b>
Lactente de 0-6 meses	300	9,1
Lactente de 7-11 meses	400	11
Crianças de 1 a 3 anos	500	13
Crianças de 4 a 6 anos	600	19
Crianças de 7 a 10 anos	700	34
Adultos	1000	50
Gestantes adultas	1200	71
Lactantes	1000	71

**Fonte:** BRASIL, 2005a.

### **3.2 Concentrado protéico de soro de leite (CPS)**

O concentrado protéico de soro de leite (CPS) é uma substância obtida pela remoção de constituintes não protéicos do soro de modo que o produto final contenha não menos do que 25 % de proteína. Esse produto está disponível numa ampla faixa de concentrações de proteínas (35, 50, 65 e 80 g proteínas/100 g CPS). Porém, quando essa porcentagem está acima de 90 % de proteínas, o produto é denominado isolado protéico de soro (RENNER, ABDEL-SALAM, 1991).

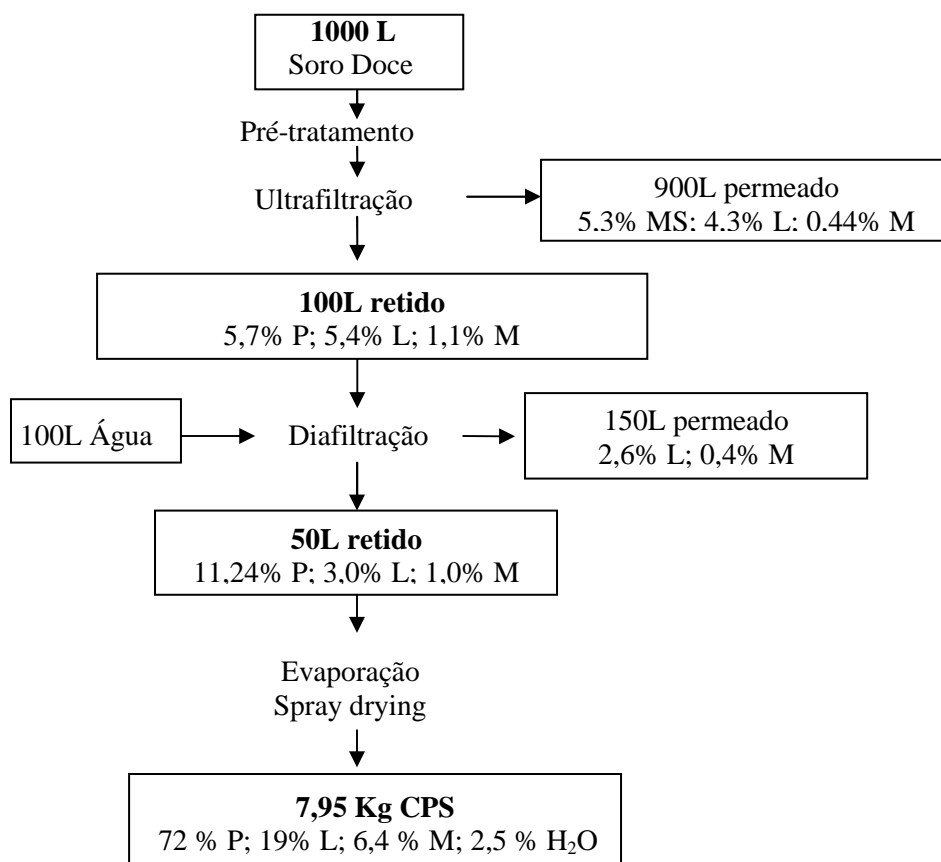
#### **3.2.1 Processo de obtenção**

O concentrado protéico de soro de leite (CPS) é obtido por concentração do soro de leite fluido. No processo de concentração podem ser utilizadas diferentes técnicas como precipitação, filtração, ou diálise (RENNER, ABDEL-SALAM, 1991). A baixa concentração de proteínas no soro de leite fluido (cerca de 0,8 %) e o elevado conteúdo de água e lactose

(94% e 4,5%, respectivamente) aumentam os custos com tecnologia para concentrá-lo, especialmente por ultrafiltração. Porém, quando os laticínios investem no aproveitamento e concentração do soro de leite, acabam se favorecendo dos benefícios nutricionais e tecnológicos que as proteínas do soro de leite oferecem (ANTUNES, 2003).

No processo de obtenção do CPS, as proteínas e lipídios do soro de leite são recuperados comercialmente por ultrafiltração, em virtude do tamanho de suas moléculas, ficando retidos, enquanto a lactose e os minerais podem atravessar a membrana. O fluxo de retido (5,7% de proteína) é encaminhado aos evaporadores e secador tipo *spray drier* para produzir concentrado protéico de soro pulverizado (Figura 1) (YEE; WILEY; BAOB, 2007).

Para promover uma maior concentração de proteínas, combina-se a ultrafiltração com a diafiltração, que consiste em se fazer passar, após ter atingindo a concentração desejada, um elevado volume de água deionizada através do concentrado para se retirar o máximo de lactose e outros compostos de baixo peso molecular, ao mesmo tempo concentrando e purificando ainda mais as proteínas (BORGES et al., 2001).



**FIGURA 1** - Processo de produção do Concentrado Protéico de Soro de Leite (CPS).

**Legenda:** MS = matéria seca, P= proteína, L= lactose, M = minerais

**Fonte:** Renner, Abdel-Salam (1991).

### 3.2.2 Características nutricionais

O concentrado protéico de soro de leite é fonte de proteínas e minerais de alta qualidade e valor biológico (USDEC NEWS, 1999). É composto por quatro frações protéicas principais que apresentam pontos isoelétricos de 5,2 ( $\beta$ -lactoglobulina), 4,2-4,5 ( $\alpha$ -lactoalbumina), 4,7-4,9 (albumina do soro bovino) e 5,5-8,3 (imunoglobulinas). Esse ingrediente lácteo com 35% de proteína é constituído por 51,5% de lactose, 3% de gordura, 6,7% de cinzas e 3,8% de umidade. Com o aumento do teor de proteínas no CPS, ocorre elevação também nos teores de lipídios e cinzas (QUADRO 3).

**QUADRO 3** - Composição dos concentrados protéicos de soro de leite com diferentes percentuais de proteína.

Componentes	Concentrado protéico de soro (%)			
	35	50	65	80
Umidade (%)	4,6	4,3	4,2	4,0
Proteínas (%)	36,2	52,1	63,0	81,0
Lactose (%)	46,5	30,9	21,1	3,5
Lipídios (%)	2,1	3,7	5,6	7,2
Cinzas (%)	2,1	3,7	5,6	7,2

Fonte: Kilara (1994).

O soro de leite, na forma de concentrado protéico de soro, representa uma mistura de proteínas com importantes propriedades físicas, químicas e funcionais, desempenhando papel na nutrição, como uma fonte excepcionalmente rica e balanceada de aminoácidos essenciais de elevada digestibilidade e rápida absorção tais como triptofano, leucina, isoleucina, treonina e lisina (RENNER, ABDEL-SALAM, 1991; REGESTER et al., 1996; SMITHERS et al., 1996).

O índice de eficiência protéica e valor biológico de proteínas do CPS superam os obtidos pelas caseínas, especialmente por serem ricas em aminoácidos sulfurados (ANTUNES, 2003; SWAISGOOD, 1996).

Evidências científicas continuam mostrando que o CPS contém uma variedade de nutrientes e fatores capazes de melhorar a saúde e prevenir doenças. Recentemente tem-se apresentado como uma alternativa nas áreas de bioavaliação de nutrientes, regulamento de crescimento celular e maturação, probióticos, prebióticos, eliminação de toxina e virulência de patógenos. Todos esses fatores indicam que há potencial para produzir alimentos funcionais e nutracêuticos, ambos para prevenir o organismo contra doenças infecciosas e crônicas usando CPS (USDEC NEWS, 2006).

A adição de CPS nas formulações de alimentos pode contribuir de diferentes formas, para a melhoria nutricional dos produtos finais, promovendo aumento no desempenho físico de esportistas, fortificando alimentos em dietas restritas, particularmente para uso geriátrico e hospitalar, diminuindo a pressão sangüínea, auxiliando na diminuição de alguns fatores de risco de doenças crônicas e estimulando a secreção de insulina (ANDERSON, 2006; BAER, 2006; RENNER, ABDEL-SALAM, 1991).

Atribuem-se também às proteínas do CPS possíveis atividades contra o câncer, hipocolesterolêmica, antiinflamatória, de proteção e reparo das células entéricas, entre outras (MCINTOSH et al., 1998). Em outras pesquisas, são encontrados relatos sobre a ação imunomoduladora (MORENO, 2002), antiulcerogênica (ROSANELI, 2002) e para os hidrolisados protéicos, ação anti-hipertensiva (COSTA, 2004).

As proteínas do CPS possuem aminoácidos essenciais em quantidades superiores as recomendadas, exceto os aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina), que atendem às recomendações para todas as idades (SGARBIERI, 2004).

No Quadro 4, estão descritos os aminoácidos presentes no concentrado protéico de soro a 35% de proteínas.

O CPS é considerado uma boa fonte de minerais como cálcio, fósforo e magnésio, mantendo a mesma proporção cálcio-fósforo presente no leite. Com relação às vitaminas, o CPS é uma fonte significativa de vitamina B<sub>12</sub>, riboflavina e tiamina (RENNER; ABDEL-SALAM, 1991).

**QUADRO 4** - Composição de aminoácidos (g/100 g) no concentrado protéico de soro de leite com 35% de proteínas.

<b>Aminoácidos</b>	<b>CPS<sup>1</sup></b>	<b>CPS<sup>2</sup></b>	<b>Recomendações FAO/OMS<sup>3</sup></b>
Treonina	6,68	5,59	3,4
Metionina + Cisteína	2,46	4,92	2,5
Valina	5,42	2,47	3,5
Leucina	10,55	12,53	6,6
Isoleucina	5,69	4,57	2,8
Fenilalanina + Tirosina	3,14	5,74	5,8
Lisina	9,97	8,48	5,8
Histidina	5,54	1,64	1,9
Triptofano	-	1,55	1,1

Fonte: <sup>1</sup>Pacheco et al. (2005); <sup>2</sup>Lara et al. (2005); <sup>3</sup>FAO/OMS (1989).

### ***3.2.3 Uso do Concentrado Protéico de Soro de Leite (CPS) em produtos de panificação***

O uso de CPS promove melhoria nas características sensoriais e nutricionais dos produtos de panificação, podendo substituir clara de ovo, ovo inteiro e leite em pó, oferecendo especialmente vantagens econômicas e microbiológicas. Entre as características sensoriais, destacam-se a intensificação da cor da casca e o aumento na maciez do miolo do pão. Com relação aos benefícios nutricionais, promove elevação no teor de cálcio e suplementação com aminoácidos essenciais tais como lisina, metionina e triptofano (HARAGUCHI, 2007).

### **3.3 Sais de Cálcio**

Dentre os sais de cálcio utilizados para enriquecimento de farinha de trigo e produtos de panificação temos: carbonato de cálcio, fosfato de cálcio e sulfato de cálcio (KAJISHIMA, et al., 2003).

O carbonato de cálcio é um produto obtido no processo de beneficiamento de um minério que contém calcita e apatita. A separação, através da flotação, resulta no calcário purificado. Esse produto, usado como suplemento mineral na nutrição animal e humana, não tem efeito prejudicial à saúde (PRATA; SANTIN, 2002).

No Reino Unido, a fortificação das farinhas de trigo brancas com carbonato de cálcio é obrigatória, demonstrando contribuir para aproximadamente 14% do consumo total de cálcio, o qual se for removido, pode resultar num significativo aumento do número de adolescentes com insuficiência na ingestão de cálcio (FAIRWEATHER-TAIT, 2002).

Segundo (KRUGER; GALLAHER; SCHOLLUM; 2003), a biodisponibilidade do carbonato de cálcio é semelhante a do cálcio do leite. Estes autores compararam a biodisponibilidade de cálcio do leite desnatado com leite desnatado enriquecido com carbonato de cálcio em ratos machos em fase de crescimento. Os resultados mostraram não haver diferença entre as duas fontes testadas, com relação aos parâmetros avaliados, implicando que o tipo de sal de cálcio utilizado para fortificação não foi o fator determinante para a biodisponibilidade. Portanto, produtos alimentares fortificados com carbonato de cálcio ou leite são opções convenientes para aumentar a ingestão de cálcio na dieta.

Ranhotra et al. (2000) demonstraram que a farinha de trigo pode ser enriquecida com até 2,38g de carbonato de cálcio/100g de farinha, sem afetar adversamente a qualidade dos pães obtidos, sendo o mineral bem absorvido e retido.

Kajishima et al. (2001) enriqueceram pão francês com diferentes sais de cálcio (sulfato de cálcio, carbonato de cálcio e fosfato de cálcio dibásico), utilizando quantidades que correspondiam a 100% da IDR para adultos/100g de pão. O enriquecimento melhorou a cor da farinha e os resultados obtidos na reologia das massas foram satisfatórios, mostrando que se pode utilizar qualquer uma das fontes para se elaborar pão enriquecido com cálcio.

Barbarykin et al. (2004) desenvolveram uma formulação de pão, usando carbonato de cálcio e aplicaram em um grupo controle de pessoas com insuficiência renal crônica com quadro clínico de hiperfosfatemia. Este estudo demonstrou que o pão enriquecido com carbonato de cálcio permitiu uma melhora da hiperfosfatemia sem induzir a hipercalcemia. Podendo ser recomendado para aqueles com doença renal terminal, que necessitam de grandes

quantidades de cálcio e possuem um quadro clínico de hiperfosfatemia. Concluindo ainda, que o pão enriquecido pode ser de fácil preparo em padarias, e ser uma alternativa mais barata, em comparação com medicamentos que são normalmente usados no tratamento de hiperfosfatemia.

Romanchik-Cerpovicz e Mckemie (2007) estudaram a fortificação de farinhas para tortilhas com carbonato de cálcio e outras fontes de cálcio, demonstrando que este sal de cálcio é facilmente disponível aos humanos, bem como o citrato e o lactato de cálcio, podendo oferecer aos consumidores uma alternativa nutritiva para a ingestão de cálcio, além de ser um produto isento de lactose, indicado indivíduos com intolerância a lactose a terem uma obtenção adequada de cálcio.



## **4. MATERIAL E MÉTODOS**

### **4.1 Local de execução**

O presente trabalho foi desenvolvido no Campus I da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Os pães de forma foram elaborados na Padaria Piloto e analisados nos Laboratórios de Bioquímica de Alimentos, Análise de Alimentos, Microbiologia de Alimentos e Análise Sensorial do Centro de Tecnologia da UFPB, todos localizados na cidade de João Pessoa-PB.

### **4.2 Aquisição dos ingredientes**

O concentrado protéico de soro de leite (CPS) utilizado nesta pesquisa foi fornecido pela empresa ALIBRA<sup>®</sup> Ingredientes Ltda , localizada no município de Campinas-SP. O carbonato de cálcio foi fornecido pela Plury Química Ltda. Os demais ingredientes (farinha de trigo especial, fermento biológico seco instantâneo, açúcar cristal, gordura vegetal hidrogenada e sal) utilizados na elaboração dos pães de forma foram adquiridos em supermercado local.

### **4.3 Elaboração dos pães de forma**

Os ingredientes usados para produzir os pães de forma foram: farinha de trigo especial (1500 g), água (825 mL), fermento biológico seco instantâneo (12 g), sal (27 g), açúcar cristal (90 g), gordura vegetal hidrogenada (60 g), concentrado protéico de soro de leite (CPS) (112,5 g) e carbonato de cálcio em três diferentes concentrações (22,5 g, 30 g e 37,5 g).

Todos os ingredientes secos foram homogeneizados em um misturador tipo espiral, na velocidade lenta por  $\pm 15$  minutos (até atingir o ponto de véu), sendo feita a adição da água. Em seguida, a massa que se encontrava com temperatura de aproximadamente 24°C foi boleada e submetida a descanso de 10 minutos, sendo posteriormente, dividida em unidades de 750 g. Após a modelagem manual, porções individuais foram colocadas em formas (22 x 11 cm) previamente untadas com gordura vegetal hidrogenada e transportadas até a câmara de fermentação, permanecendo por, aproximadamente 1 hora e 40 minutos, a 35°C. Os pães foram assados a 200°C por 20 minutos, e após três horas de resfriamento foram fatiados, embalados em sacos plásticos de polietileno e armazenados à temperatura ambiente até a realização das análises. Na Figura 2 está apresentado o diagrama do processo de elaboração dos pães de forma.

No total, quatro formulações distintas foram elaboradas: pão de forma convencional (**CONV.**) e pães de forma com 7,5% de CPS, adicionados de três diferentes concentrações de carbonato de cálcio (F1: 1,5%; F2: 2,0% e F3: 2,5%).

#### **4.4 Avaliação microbiológica**

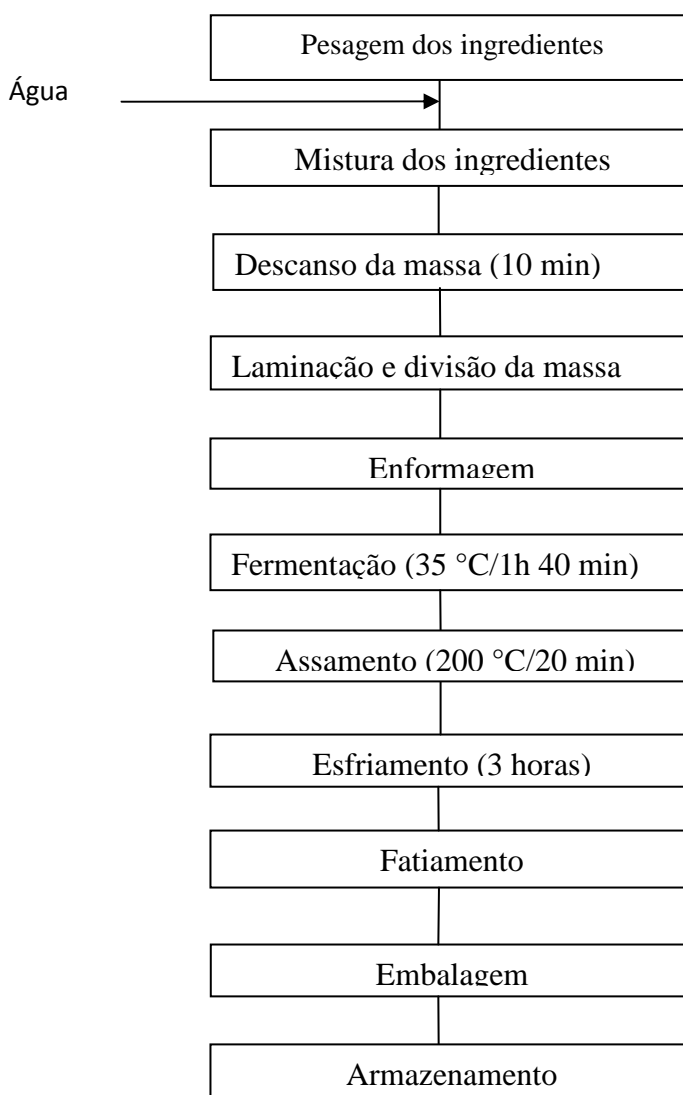
Os pães foram submetidos às seguintes análises microbiológicas: determinação do Número Mais Provável (NMP) de coliformes totais e fecais (NMP.mL<sup>-1</sup>) e pesquisa de *Salmonella*. A metodologia adotada foi a recomendada pela *American Public Health Association* – APHA (APHA, 2001).

#### **4.5 Avaliação físico-química da massa fresca e dos pães**

Dez gramas de massa fresca, obtida logo após a etapa de mistura, foram coletadas, em triplicata, de cada uma das quatro formulações elaboradas, para as determinações de pH e acidez. O pH foi determinado em potenciômetro da marca WTW-Germany, modelo 330i,

previamente calibrado, operando-o de acordo com as instruções do fabricante, e a acidez por titulação com solução de NaOH 0,1 N até pH 8,5, sendo expressa como a quantidade, em mL, de NaOH 0,1N/10g de pão (HERVÉ ROBERT et al., 2006).

Posteriormente, amostras de pães das quatro formulações foram coletadas para as determinações de pH, acidez e volume específico. As análises de pH e acidez foram conduzidas conforme descrito para a massa fresca, e o volume específico determinado pelo método de deslocamento das sementes de painço, sendo obtido pela divisão do volume do pão ( $\text{cm}^3$ ) por sua massa (g), e expresso em  $\text{cm}^3/\text{g}$  (EL-DASH; CAMARGO; DIAZ, 1982). Todas as análises foram realizadas em triplicata, com cinco repetições.



**FIGURA 2** - Etapas do processo de elaboração dos pães de forma.

#### **4.6 Avaliação sensorial dos pães**

Amostras das quatro formulações de pães de forma elaboradas foram submetidas ao teste sensorial de aceitação, utilizando-se a metodologia (165/IV) recomendada pelo Instituto Adolfo Lutz – IAL (BRASIL, 2005). Todas as amostras foram analisadas 24 horas após o processamento. Um grupo de 50 consumidores não-treinados, constituído por estudantes e servidores voluntários da Universidade Federal da Paraíba - UFPB, avaliaram a aceitação de cada amostra, por meio dos atributos aparência, sabor e maciez, utilizando escala hedônica estruturada de 9 pontos, com escores variando de 9 (gostei extremamente) até 1 (desgostei extremamente), conforme descrito na ficha de avaliação sensorial (Figura 3). As amostras foram servidas de forma monádica, em ordem aleatória de apresentação, sendo codificadas com três dígitos diferentes. Cada amostra foi servida em pratos brancos descartáveis, acompanhada de ficha de avaliação, um copo com água mineral e caneta esferográfica. Os provadores foram orientados a fazer uso da água, entre uma amostra e outra (FARIA; YOTSUYANAGI, 2002). O critério adotado para aceitação dos pães foi a obtenção de médias iguais ou superiores a 6,0, equivalente ao termo hedônico “gostei ligeiramente” (ROCHA; CARDOSO SANTIAGO, 2009). Esse experimento foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com seres humanos, da Universidade Federal da Paraíba-UFPB (protocolo CEP/CCS N. 0120/2009).

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

Faixa etária: até 20 anos ( ) até 30 anos ( ) acima de 30 anos ( )

1) Você está recebendo uma amostra de pão de forma. Por favor, **anote o número da amostra, prove e avalie**, utilizando a escala abaixo para indicar o quanto você gostou ou desgostou do produto. **Marque com um X**, a posição que reflita o seu julgamento.

**Amostra nº 941**

Aceitação Global		Sabor	Maciez	Aparência
9	Gostei Extremamente			
8	Gostei moderadamente			
7	Gostei regularmente			
6	Gostei ligeiramente			
5	Não gostei, nem desgostei			
4	Desgostei ligeiramente			
3	Desgostei regularmente			
2	Desgostei moderadamente			
1	Desgostei extremamente			

**FIGURA 3** - Ficha de avaliação sensorial.

#### **4.7 Determinação da concentração de cálcio nos pães**

As três formulações de pães de forma enriquecidas com concentrado protéico de soro de leite (7,5%) e carbonato de cálcio, nas concentrações de 1,5%, 2% e 2,5%, tiveram o teor de cálcio determinado por volumetria com EDTA, de acordo com a metodologia 396/IV, do Instituto Adolfo Lutz-IAL (BRASIL, 2005). Essas análises foram realizadas em triplicata, com três repetições.

#### **4.8 Composição química do pão de forma selecionado**

A formulação selecionada com base nos resultados dos testes físico-químicos e sensoriais foi submetida às seguintes análises: umidade, por secagem em estufa a 105°C até peso constante (012/IV, método IAL); cinzas, por carbonização seguida de incineração em forno mufla estabilizado a 550°C (437/IV, método IAL); lipídios, por extração com solvente (hexano) em extrator tipo *Soxhlet* por aproximadamente 10 horas (032/IV, método IAL); proteínas, pelo método padrão de *Kjeldahl*, com fator de conversão nitrogênio/proteína igual a 5,74 (036/IV, método IAL); carboidratos, por diferença; cálcio, por volumetria com EDTA (396/IV, método IAL); cloretos, por titulação com nitrato de prata (028/IV, método IAL) (BRASIL, 2005b). Todas as análises foram realizadas em triplicata, com três repetições. Para fins de comparação, os resultados da composição química da formulação selecionada foram comparados com os obtidos por Rodrigues (2008) para pães de forma convencional e com CPS 7,5%.

#### **4.9 Análise estatística**

Os dados da avaliação sensorial dos pães foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com 95% de intervalo de confiança, para comparação das médias.

Com relação às avaliações físico-químicas, foram aplicados aos dados testes de normalidade e homocedasticidade (Shapiro Wilk e Bartlett, respectivamente) a fim de verificar se os mesmos apresentavam distribuição normal. Quando estas não existiam, o estudo comparativo das médias dos diferentes tratamentos foi realizado com base nos testes não paramétricos de Kruskal Wallis e Wilcoxon-Mann-Whitney a 95% de probabilidade. As análises estatísticas foram realizadas com o auxílio do software R versão 2.9.1. (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2009).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Avaliação microbiológica dos pães de forma

Todas as amostras de pães de forma avaliadas estavam aptas ao consumo humano, não tendo sido verificada presença de *Salmonella*, coliformes totais e fecais (< 3 NMP/g).

### 5.2 Avaliação físico-química da massa fresca e dos pães

Os resultados das determinações de pH e acidez da massa fresca proveniente das quatro formulações de pães de forma elaboradas estão expressos na Tabela 1.

**TABELA 1** - Médias e desvios padrão dos resultados das determinações de pH e acidez da massa fresca dos pães de forma convencional e adicionados de CPS e carbonato de cálcio, em três diferentes concentrações.

Variáveis	Massa Fresca			
	CONV.	F1	F2	F3
pH*	5,64 <sup>d</sup> ± 0,15	6,64 <sup>c</sup> ± 0,10	6,80 <sup>b</sup> ± 0,08	6,99 <sup>a</sup> ± 0,09
Acidez* (mL de NaOH/10g)	3,23 <sup>a</sup> ± 0,49	2,97 <sup>ab</sup> ± 0,73	2,61 <sup>bc</sup> ± 0,73	2,21 <sup>c</sup> ± 0,44

CONV: pão de forma sem CPS e carbonato de cálcio; F1: pão de forma contendo 7,5% de CPS e 1,5% de CaCO<sub>3</sub>; F2: pão de forma contendo 7,5% de CPS e 2,0% de CaCO<sub>3</sub>; F3: pão de forma contendo 7,5% de CPS e 2,5% de CaCO<sub>3</sub>.

\*Médias seguidas de letras iguais na linha, não diferem significativamente entre si, pelos testes de ANOVA e Tukey, ao nível de 5% de significância.

O pH médio da massa fresca, para todas as quatro formulações de pães de forma avaliadas, variou de 5,64 a 6,99, tendo sido verificada elevação do mesmo com o aumento na concentração de carbonato de cálcio. O aumento no pH foi acompanhado por redução

gradativa da acidez, de 3,23 para 2,21 mL de NaOH 0,1N/10 g pão. Esses efeitos atribuídos ao carbonato de cálcio já eram esperados, tendo em vista seu uso extensivo como aditivo regulador de acidez em diversos grupos de alimentos (BRASIL, 1998; RIZZON; GASPARIN, 2005).

Segundo Quaglia (1991), as condições ótimas para as leveduras, durante a fermentação alcoólica da massa fresca, se estabelecem com valores de pH em torno de 5,0. Quando essa variável atinge valores acima de 6,0, a fermentação pode ficar prejudicada, favorecendo a produção excessiva de glicerina e ácido acético, além do álcool etílico. Como consequência, pode ocorrer problemas de qualidade sensorial nos pães, como sabor desagradável e volume reduzido, o que interfere diretamente na textura do produto.

Os resultados das determinações de pH, acidez e volume específico dos pães de forma convencional e adicionados de CPS e carbonato de cálcio estão expressos na Tabela 2.

**TABELA 2** - Médias e desvios padrão dos resultados das determinações de pH, acidez e volume específico do pão de forma convencional e dos adicionados de CPS e carbonato de cálcio, em três diferentes concentrações.

Pães de Forma				
Variáveis	CONV.	F1	F2	F3
<b>pH*</b>	5,50 <sup>c</sup> ± 0,25	6,91 <sup>b</sup> ± 0,04	7,06 <sup>a</sup> ± 0,08	7,18 <sup>a</sup> ± 0,09
<b>Acidez (mL de NaOH 0,1N/10 g pão)*</b>	3,35 <sup>a</sup> ± 0,43	2,00 <sup>b</sup> ± 0,22	1,58 <sup>c</sup> ± 0,20	1,27 <sup>d</sup> ± 0,20
<b>Volume específico**</b>	4,45 <sup>a</sup> ± 0,14	4,62 <sup>b</sup> ± 0,07	4,49 <sup>a</sup> ± 0,08	4,55 <sup>c</sup> ± 0,05

CONV: pão de forma sem CPS e carbonato de cálcio; F1: pão de forma contendo 7,5% de CPS e 1,5% de CaCO<sub>3</sub>; F2: pão de forma contendo 7,5% de CPS e 2,0% de CaCO<sub>3</sub>; F3: pão de forma contendo 7,5% de CPS e 2,5% de CaCO<sub>3</sub>.

\*Médias seguidas de letras iguais na linha, não diferem significativamente entre si, pelos testes de ANOVA e Tukey, com nível de 5% de probabilidade.

\*\*Médias seguidas de letras iguais na linha, não diferem significativamente entre si, pelos testes de Kruskal Wallis e Wilcoxon-Mann-Whitney (teste U), ao nível de 5% de significância.

Os valores médios de pH e acidez do pão de forma convencional foram próximos aos verificados na massa fresca desse tipo de pão (Tabela 2). Martinez-Anaya et al. (1990) também verificaram pequena variação de pH e acidez entre massa fresca e pães prontos. Quando os pães contendo CPS e carbonato de cálcio foram comparados com suas respectivas massas frescas, foi verificado aumento no pH e redução na acidez (Tabela 2), indicando que a



presença desses ingredientes favoreceu maior desacidificação dos pães após o assamento. Rodrigues et al. (2007) também verificaram redução de acidez no pão de forma com 7,5% de CPS quando comparado ao produto convencional.

O volume específico dos pães de forma ficou acima de  $4,0 \text{ cm}^3/\text{g}$ , variando de  $4,45 \text{ cm}^3/\text{g}$  a  $4,62 \text{ cm}^3/\text{g}$ , resultados considerados satisfatórios quando comparados aos valores encontrados em outros estudos envolvendo pães (AZEVEDO et al., 2007; RODRIGUES et al., 2007; LIMA et al., 2009; GURGEL; MACIEL; FARIAS, 2010).

Os pães adicionados de carbonato de cálcio, nas diferentes concentrações testadas, ao contrário do que se esperava, apresentaram aumento ou mantiveram o volume específico similar ao do pão de forma convencional. Esse comportamento foi verificado por Kajishima; Pumar e Germani, (2003) ao avaliar o desempenho de pães tipo francês elaborados com farinha de trigo enriquecida com diferentes sais de cálcio (sulfato, carbonato e fosfato de cálcio), destacando que, embora não tenha sido verificada diferença significativa quanto ao volume específico dos pães adicionados de diferentes sais de cálcio e o produto padrão (sem adição de sais de cálcio), foram observados aumentos dos valores dessa característica nos produtos com a adição de sais de cálcio.

Um dos fatores que pode ter contribuído para a obtenção de resultados satisfatórios nas determinações de volume dos pães com cálcio, foi a adição do concentrado protéico de soro de leite (CPS), que esteve ausente no pão convencional e presente na concentração de 7,5%, nas três formulações que receberam o sal de cálcio. Kulp et al. (1988) afirmaram que a adição de proteínas do soro de leite ao pão de forma contribui para aumento no volume específico. Caldas et al. (2007) obteve volume específico de  $4,0 \text{ cm}^3/\text{g}$  para o pão de forma com soro de leite fluido. Azevedo et al. (2007) e Rodrigues et al. (2007) encontraram valores acima de  $4,0 \text{ cm}^3/\text{g}$  para o volume específico de pães de forma adicionados de soro de leite em pó e concentrado protéico de soro (CPS), respectivamente.

Gurgel (2010) observou efeito negativo na redução do volume específico de pães de forma, enriquecidos com diferentes concentrações de carbonato de cálcio e 7,5% de soro de leite em pó, a partir da adição de 3% ( $868,63\text{mg}/100\text{g}$  de pão) desse sal na massa desse tipo de produto. Ranhoski et al., (2000) mostraram que quantidades em torno de 300mg de cálcio em 453,6g (1 libra) de pão não provocam efeito desfavorável na qualidade do produto.

### 5.3 Avaliação sensorial dos pães

#### 5.3.1 Teste de aceitação

Todas as amostras de pães testadas foram bem aceitas pelos provadores, com escores médios na escala hedônica variando de 7,0 a 8,37 (Tabela 3), valores acima de 6,0, critério pré-estabelecido nessa pesquisa como limite mínimo de aceitação das amostras. Entretanto, somente a formulação F2 obteve aceitação similar a do produto convencional, sendo por essa razão selecionada.

A formulação F2 obteve escores médios para aparência, maciez e sabor entre 7,85 e 8,0, valores elevados quando comparados aos dos pães de forma elaborados por Lima et al. (2009) e Vasconcelos et al.(2006), indicando a boa aceitação das amostras.

Com relação aos atributos aparência e maciez, a formulação F2 apresentou maior aceitação, enquanto que as formulações F1 e F3 não diferiram entre si. Quanto ao atributo sabor não houve diferença entre as amostras F1 e F2, sendo o menor escore médio verificado para a formulação F3.

**TABELA 3** - Médias dos escores do teste de aceitação para as quatro formulações de pães de forma elaboradas.

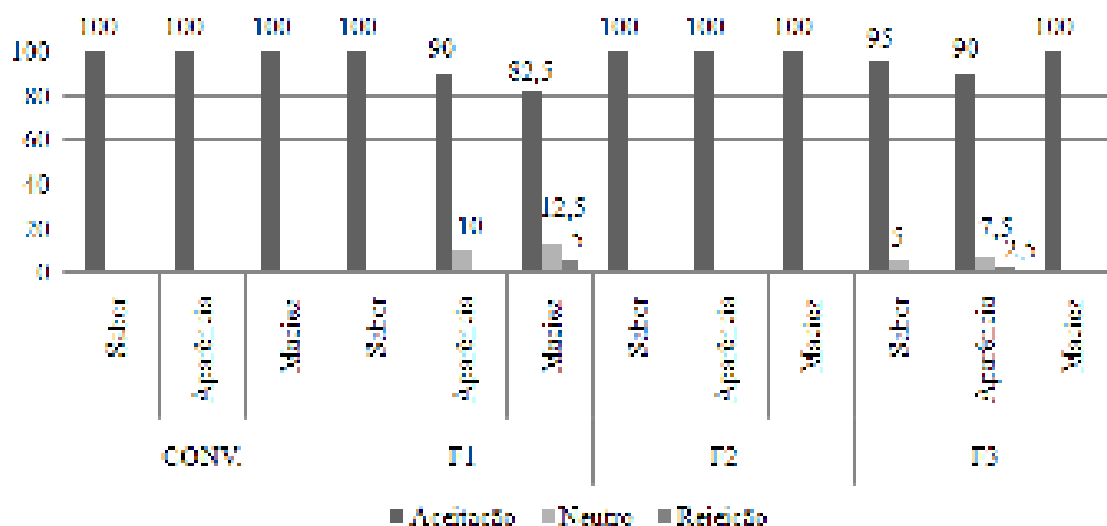
Atributos	CONV.	F1	F2	F3
Aparência	8,37 <sup>a</sup> ± 0,49	7,6 <sup>bc</sup> ± 1,28	8,0 <sup>ab</sup> ± 0,82	7,1 <sup>c</sup> ± 1,13
Maciez	8,37 <sup>a</sup> ± 0,49	7,0 <sup>b</sup> ± 1,38	8,0 <sup>a</sup> ± 0,78	7,0 <sup>b</sup> ± 0,85
Sabor	8,07 <sup>a</sup> ± 0,74	7,5 <sup>bc</sup> ± 0,78	7,85 <sup>ab</sup> ± 0,80	7,0 <sup>c</sup> ± 1,09

F1: pão de forma contendo 7,5% de CPS e 1,5% de CaCO<sub>3</sub>; F2: pão de forma contendo 7,5% de CPS e 2,0% de CaCO<sub>3</sub>; F3: pão de forma contendo 7,5% de CPS e 2,5% de CaCO<sub>3</sub>.

Letras diferentes na mesma linha diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

Nessa pesquisa, a adição de CPS e carbonato de cálcio, nas concentrações testadas, parecem não ter prejudicado a aceitação do pão de forma, tendo sido obtidos escores médios  $\geq 7,0$  para todas as formulações.

Com relação à frequência de notas atribuídas aos pães de forma (Figura 4), novamente foi verificado que apesar de todas as formulações terem sido bem aceitas, somente a formulação F2 obteve 100% de aceitação, se assemelhando ao pão de forma convencional. A formulação F1 obteve o maior nível de rejeição (5%).



**FIGURA 3** - Percentagem de aceitação dos atributos (sabor, aparência e maciez) dos pães de forma.

CONV: pão de forma sem CPS e carbonato de cálcio; F1: pão de forma contendo 7,5% de CPS e 1,5% de  $\text{CaCO}_3$ ; F2: pão de forma contendo 7,5% de CPS e 2,0% de  $\text{CaCO}_3$ ; F3: pão de forma contendo 7,5% de CPS e 2,5% de  $\text{CaCO}_3$ .

#### 5.4 Determinação do teor de cálcio nos pães

As médias dos teores de cálcio nos pães de forma enriquecidos com 7,5% de concentrado protéico de soro de leite (CPS) e carbonato de cálcio, nas concentrações 1,5%, 2% e 2,5% foram, respectivamente, 512 mg/100 g, 697 mg/100 g e 817 mg/100 g pão. Todas essas formulações alcançaram valores acima de 300 mg de cálcio/100 g pão, podendo ser classificadas como alimentos ricos em cálcio (BRASIL,1998).

### 5.5 Composição química do pão de forma selecionado

As médias e desvios padrão da composição química da formulação de pão de forma selecionada estão expressos na Tabela 4. Para fins de comparação, foi adicionada a composição do pão de forma convencional.

**TABELA 4** - Médias e desvios padrão dos resultados da composição química dos pães de forma convencional e enriquecido com CPS e carbonato de cálcio.

Nutrientes	CONV.	F2
Umidade (%)	34,85 <sup>a</sup> ± 0,25	35,21 <sup>a</sup> ± 0,84
Proteínas (g/100g)	6,97 <sup>b</sup> ± 0,30	8,80 <sup>a</sup> ± 0,69
Lipídios (g/100g)	3,01 <sup>a</sup> ± 0,27	1,86 <sup>b</sup> ± 0,29
Carboidratos* (g/100g)	53,87	51,58
Cinzas (g/100g)	1,30 <sup>b</sup> ± 0,07	2,55 <sup>a</sup> ± 0,23
Cloretos** (mg/100g)	242,81 <sup>a</sup> ± 6,18	167,69 <sup>b</sup> ± 0,36
Cálcio (mg/100g)	31,83 <sup>a</sup> ± 0,11	697,11 <sup>b</sup> ± 28,80

CONV.: pão de forma convencional (determinado por LIMA et al., 2009); F2: pão de forma contendo 7,5% de CPS e 2% de CaCO<sub>3</sub>.

\* Obtidos por diferença; \*\* Cloretos em Cloreto de Sódio.

Médias seguidas de letras iguais na linha, não diferem significativamente entre si, pelos teste t “Student”, ao nível de 5% de significância.

A umidade média dos pães de forma convencional e adicionado de 7,5% de CPS e de 2% de sal de cálcio foram, respectivamente, 34,85% e 35,21%. Na literatura, foram verificados valores bastante variáveis para a umidade deste tipo de pão, entre 32 e 37% (Lima et al., 2009; Tebaldi et al., 2007).

Com relação à legislação brasileira, durante muitos anos (1978-2005) a umidade dos pães foi controlada, sendo estabelecido inicialmente um limite máximo de 30% (BRASIL, 1978). Posteriormente, este valor foi alterado para 38% (BRASIL, 2000), e a partir de 22 de setembro de 2005 (BRASIL, 2005c) essa característica foi extinta. O teor elevado de umidade em pães aumenta a atividade microbiana, deixa o produto grudento e borrachudo, alterando sua textura, sendo este um dos fatores responsáveis pela perda da qualidade do produto.

A adição de concentrado protéico de soro de leite (CPS) ao pão de forma promoveu elevação no teor de proteínas, o que possibilitou a classificação do produto como alimento fonte desse nutriente para todos os grupos de indivíduos, incluindo gestantes e lactantes, que apresentam maior necessidade (BRASIL, 1998b ; BRASIL, 2005a). Esse incremento na concentração das proteínas, devido à adição de CPS, também contribui para reduzir a deficiência em aminoácidos de cadeia ramificada e essenciais, especialmente isoleucina, lisina e valina, presentes em baixas concentrações na farinha de trigo, principal ingrediente da formulação do pão.

O teor de lipídios na formulação F2 foi menor que o do pão convencional (Tabela 4), estando abaixo de 3%, podendo ser classificada como produto com baixo teor de gorduras totais (BRASIL, 1998).

A ingestão excessiva de gordura pode levar à obesidade, doença de caráter endêmico e que hoje está sendo considerado um problema sério de saúde pública no Brasil. Além de ser uma doença de caráter genético, a obesidade é uma enfermidade que, atualmente está relacionada principalmente às mudanças de hábitos alimentares que ocorreram com o tempo e ao sedentarismo (SALGADO et al., 2000). Esta enfermidade também pode estar relacionada com outros problemas crônicos, como diabetes, hipertensão, doenças cardiovasculares e câncer (SALGADO et al., 2000). Recentemente, os ácidos graxos trans foram incluídos entre os lipídeos dietéticos que atuam como fatores de risco para doença arterial coronariana, modulando a síntese do colesterol e de suas frações, tornando-se um novo item a ser considerado nas dietas humanas (CHIARA et al., 2003).

O teor de cinzas da formulação F2 foi maior (2,55 g/100 g) que o encontrado por Lima et al. (2009) para pão convencional (1,30 g/100 g), o que era esperado, uma vez que a adição de carbonato de cálcio eleva o teor desse mineral, e conseqüentemente o de cinzas. (BERNO, ;SPOTO;CANNIATTI-BRAZACA; 2007) encontraram teor de cinzas de 1,63% em pão de forma enriquecido com 15% de concentrado protéico de soro leite.

O teor de cloretos foi baixo o que é bom, pois o sal (cloreto de sódio) é a causa primária de pressão arterial elevada que pode levar à complicações cardiovasculares (DCV), incluindo ataque cardíaco e doenças relacionadas (MACGREGOR, 2007).

O valor médio obtido para o cálcio na formulação F2 foi 697,11 mg/100g , bem acima da quantidade necessária (300 mg/100 g) para classificar o produto como alimento rico neste mineral (BRASIL, 2005a; INSTITUTE of MEDICINE, 2009). Nessa concentração, o pão de

forma irá fornecer em torno de 70% da IDR de cálcio para adultos. Esse resultado sugere que o consumo do pão de forma com CPS e carbonato de cálcio, nas concentrações testadas se constitui em uma importante alternativa de elevação no consumo de cálcio, tendo em vista o amplo consumo de pães por indivíduos de diversas classes sociais, especialmente por sua boa aceitação sensorial e baixo custo, quando comparado ao leite e derivados, principais fontes desse mineral.

## **6 CONCLUSÕES**

O uso de 7,5% de CPS na formulação de pão de forma permitiu a obtenção de um produto fonte de proteínas para todos os grupos de indivíduos, incluindo gestantes e lactantes; a complementação desta formulação com 2% de carbonato de cálcio elevou o teor desse mineral a um nível correspondente a aproximadamente 70% da IDR de adultos, tornando o produto rico em cálcio.

O pH elevado e acidez reduzida da massa fresca contendo CPS e carbonato de cálcio não prejudicou o volume específico dos pães, e em duas das concentrações de sal de cálcio (1,5% e 2,5%) foram observados valores superiores ao do produto convencional (sem CPS e sal de cálcio).

O pão de forma com CPS e carbonato de cálcio apresentou boa aceitação sensorial. A formulação selecionada (F2), contendo 2% do sal de cálcio foi tão bem aceita quanto o produto convencional, tendo obtido escores médios acima de 7,0 em todos os atributos avaliados.

## REFERÊNCIAS

ANDERSON, H. **Influence of whey protein on satiety and food intake regulation.** Symposium Whey Protein: Physiological Effects Emerging Health Benefits. Institute of Food Technologists. USA. 2006.

ANTUNES, A. J. **Funcionalidade de proteínas do soro de leite bovino**, Barueri: Manole, 2003. 135p.

APHA - AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods.** 4 ed. Washington, 2001. 676p.

AZEVEDO et al. Enriquecimento nutricional de pão de forma com soro de leite em pó. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.62, n.357, p.175-178, 2007.

BABARYKIN, D. et al. Calcium-Enriched Bread for Treatment of Uremic Hyperphosphatemia. **Journal of Renal Nutrition**, v. 14, n. 3, p. 149-156, 2004.

BAER, D.J. **Effects of whey protein on body weight and fat in supplemented weight and obese adults.** Symposium Whey Protein: Physiological Effects Emerging Health Benefits. Institute of Food Technologists. USA. 2006.

BATTESTIN, L. et al. Análise de cálcio em diferentes tipos de bebidas. **Visão Acadêmica**, v. 3, n. 2, p. 79-86, 2002.

BATTOCHIO, J. R..et al. Perfil sensorial de pão de forma integral. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 2, p. 428-433, 2006.

BERNO, L.I.; SPOTO,M.H.F.; CANNIATTI-BRAZACA,S.G. Avaliação química e aceitabilidade de pão enriquecido com proteína concentrada do soro de leite bovino (whey protein). **Revista Alimentos e Nutrição**, v.18, n.1, p. 41-49, 2007.



OLIVEIRA, N. M. A L. **Enriquecimento Nutricional de Pão de Forma com Concentrado Protéico de Soro Leite e Carbonato de Cálcio.**

BORGES, P,F,Z. et al. Produção Piloto de Concentrados de Proteínas de Leite Bovino: Composição e Valor Nutritivo. **Brazilian Journal of food technology**, p 4-5, 2001.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Portaria n.27 de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar(conteúdo de nutrientes). **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF. 16 jan. 1998b. Seção1, p. 1789.

\_\_\_\_\_. Instrução normativa n.62 de 26 de agosto de 2003. Métodos Analíticos Oficiais para Análises Microbiológicas para Controle de Produtos de Origem Animal e Água. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil** , Brasília, DF , 22 de setembro de 2003. Seção 1. p.1890.

\_\_\_\_\_. Embrapa gado de leite. **Estatísticas do leite: Leite números**. Disponível em: <<http://www.cnp.gl.embrapa.br>>. Acesso em: 20 de jul. 2009. (procurar no texto)

\_\_\_\_\_. Resolução nº12 de 24 de julho de 1978. Aprova Normas Técnicas Especiais, relativas a alimentos e bebidas, para efeito em todo território nacional. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 de janeiro de 1978. Seção1, p.2792.

\_\_\_\_\_. Resolução nº 90 de 18 de outubro de 2000. Regulamento Técnico Para Fixação de Identidade e Qualidade de Pão. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, DF, 18 de setembro de 2000. Seção1, p.1.

\_\_\_\_\_. Resolução nº 263 de 22 de setembro de 2005.Regulamento Técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília , DF, 19 de Maio de 2005c, Seção 1. p.10.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria n.269, de 22 de setembro de 2005. Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 22 de set. 2005a.

BRASIL. Portaria nº 32 SVS/MS, 13 de janeiro de 1998. A Secretaria de Vigilância Sanitária do MS aprova o Regulamento Técnico para Suplementos Vitamínicos e ou de Minerais. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF. 15 de janeiro de 1998a .

OLIVEIRA, N. M. A L. **Enriquecimento Nutricional de Pão de Forma com Concentrado Protéico de Soro Leite e Carbonato de Cálcio.**

CALDAS et al. Substituição total da água da formulação de pão de forma por soro de leite: aceitação sensorial. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v.61, n.351, p. 64-67, 2006.

CARDOSO, P. R. A. **O impacto de um biscoito fortificado com cálcio sobre o estado nutricional e densidade mineral óssea em adolescentes.** 2004. 147f. Tese (Doutorado em ciências da Escola de Medicina) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

CASHMAN, K. D. Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. **Brazilian Journal of Nutrition**, v. 87, n.2, p.169-177, 2002.

CHIARA V. et al. Sensibilidade e especificidade de classificação de sobrepeso em adolescentes. **Saúde Pública**, 2003. v. 37, n. 2, p. 226 -231.

COBAYASHI, F. Cálcio: seu papel na nutrição e saúde. **Compacta Nutrição**, v.2, p.3-18, 2004.

COSTA, E. L. **Efeito do processamento térmico e enzimático na obtenção de hidrolisados do isolado protéico do soro de leite com atividade anti-hipertensiva.** 2004. Tese (Doutorado em Alimentos e Nutrição) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

COZZOLINO, S.M.F. **Biodisponibilidade de Nutrientes.** Barueri: Manole, 2005. 878p

DE ANGELIS, R.C. **Fisiologia da nutrição.** 2. ed. São Paulo: Edart, 1979. 320p.

DURIGAN, C. et al. Resistência de variedades de couve do pulgão *Brevicoryne Brassicae* (L., 1758) (Hemiptera: Aphididae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, p. 1-306, 2002. Supl.

EL-DASH, A. A .; CAMARGO, C. O.; DIAZ, N. M. **Fundamentos da tecnologia de panificação.** São Paulo: Fundação Tropical de Pesquisa e Tecnologia Agroindustrial, 1982. 349p. Série tecnologia agroindustrial.

FAIRWEATHER-TAIT, S.J.; TEUCHER, B. Calcium bioavailability in relation to bone health. **International Journal for Vitamin and Nutrition Reserch**, v.72, n 1, p.13-18, 2002.

OLIVEIRA, N. M. A L. **Enriquecimento Nutricional de Pão de Forma com Concentrado Protéico de Soro Leite e Carbonato de Cálcio.**

FAO/OMS - FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **Protein quality evolution.** Report of a joint FAO/WHO Expert Consultation. 1989. 72p. Food and Nutrition Paper, n.51

FARIA, E. V.; YOTSUYANAGI, K. **Técnicas de Análise Sensorial.** Campinas: ITAL/LAFISE, 2002. 116 p.

GURGEL, C.S.S; MACIEL, J. F; FARIAS, L,R, G . Aumento do teor de cálcio em pães adicionados de soro de leite e carbonato de cálcio. **Revista Alimentos Nutrição Araraquara.** v. 21, n.4, p. 563-571, 2010.

HARAGUCHI, F.,K., **Avaliação nutricional e hipercolesterolemia da “ proteína do soro do leite” comercial.** 2007. 66f. Dissertação ( Mestrado em Ciências Biológicas) – Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto.

HERVÉ, ROBERT et al. Study of the behaviour of *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc* starters during a complete wheat sourdough breadmaking process. **LWT**, v.39, p.256-265, 2006.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary references intakes for calcium, phosphorus, magnesium, vitamina D and fluoride** 1997. Washington DC: National Academy Press. Disponível em: <<http://www.map.edu.>>. Acesso em: 11 out 2009.

KAJISHIMA, S.; PUMAR, M.; GERMANI, R. Elaboração de pão francês com farinha enriquecida de sulfato de cálcio. **Boletim do Centro de Pesquisas e Processamentos de Alimentos**, Curitiba, v. 19, n. 2, p. 157-168, jul./dez. 2001.

KAJISHIMA, S.; PUMAR, M.; GERMANI, R. Efeito de adição de diferentes sais de cálcio nas características da massa e na elaboração de pão francês. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.23, n.2, p. 222-225, 2003.

KILARA, A. Whey protein functionality. In: HETTIARACHCHY, N.S.; ZIEGLER, G.R. (Ed.) **Protein functionality in food systems.** New York: Marcel Dekker,1994. p.325

KRAUSE, M.V.; MAHAN, L. K. **Alimentos, nutrição e dietoterapia.** São Paulo: Rocca, 2002. 957p.

OLIVEIRA, N. M. A L. **Enriquecimento Nutricional de Pão de Forma com Concentrado Protéico de Soro Leite e Carbonato de Cálcio.**

KRUGER, M. C.; GALLAHER, B. W.; SCHOLLUM, L. M. Bioavailability of calcium is equivalent from milk fortified with either calcium carbonate or milk calcium in growing male rats. **Nutrition Research**, v. 23. p. 1229-1237, 2003.

KULP, K. et al. Utilization of whey as a white pan bread ingredient. **Cereal Foods World**, v.33, n.5, p.441-447, 1988.

LAIDLAW, S. A.; KOPPLE, J. D. *Newer concepts of the indispensable amino acids*. **Am J Clin Nutrition**, n. 46. p. 593-605, 1987. Disponível em: <www.ajcn.org at Universidade Federal da Paraíba>. Acesso em: 18 out 2010.

LANZILLOTTI, H. S et al. Osteoporose em mulheres na pós-menopausa, cálcio dietético e outros fatores de risco. **Revista de Nutrição**, v.16, n.2, p.181-193, 2003.

LANZILLOTTI, H. S.; COUTO, S. R. M.; AFONSO, F. da M. Pirâmides alimentares: uma leitura semiótica. **Revista de Nutrição**, v.18, n.6. 2005.

LARA, M. G. et al. Preparation and scaling up a low phenylalanine enzymatic hydrolysate of bovine hey proteins. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n.4, p. 459-466, 2005.

LEVY-COSTA, R. B. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: distribuição e evolução (1974-2003). **Revista de Saúde Pública**. v. 39, n. 4, p. 530-540, 2005.

LIMA, A. S. et al. Avaliação físico-química e sensorial de pães de forma enriquecidos com soro de leite em pó. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n.3, p. 366-372, 2009.

LOPES, A. C. S. et al. Consumo de nutrientes em adultos e idosos em estudo de base populacional: projeto Bambuí. **Caderno de Saúde Pública**, v. 21. n. 4. p. 1201-1209.2005.

MACGREGOR, A. G. et al. Regional left ventricular and geometry analysis provides insights in myocardial remodelling in mild to moderate hypertension. **Oxford**, v. 9, n. 4, p 501- 508, 2007.

MACIEL, J. F. et al. Determinação de características físico-químicas de pão de forma elaborado com soro de queijo. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 58, n. 333, p. 44-49, 2003.

OLIVEIRA, N. M. A L. **Enriquecimento Nutricional de Pão de Forma com Concentrado Protéico de Soro Leite e Carbonato de Cálcio.**

MARTINEZ – ANAYA; M ; A. et al. Microflora of the sourdoughs of wheat flour bread. X. Interactions between yeast and lactic acid bacteria in wheat doughs and their effects on bread quality, **Cereal Chemistry**, v.67,n.1, p 85-91, 1990.

MCINTOSH, G. H. et al. Dairy proteins Project against dimethylhydrazine-induced intestinal cancers in rats. **Journal Nutrition**, n. 125, p. 809-816, 1998.

MILLER, G. D.; JARVIS, J. K.; BEAN, M. C. The Importance of Meeting Calcium Needs with Foods. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 20, n.2, p. 168-185, 2001.

MONTILLA, R. N. G. ; ALDRIGHI, J. M. ; MARUCCI, M. F. N. Avaliação do estado nutricional e do consumo alimentar de mulheres no climatério. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v.49. n.1. p. 91-95, 2003.

MORENO, Y. M. F. **Influência das proteínas de soro de leite bovino no estado nutricional, composição corporal e sistema imune em corte de crianças com Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS).** 2002. 105f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

OLIVEIRA, J.E.D.; MARCHINI, J. S. Nutrologia: Especialidade Médica. **Revista Associação Médica Brasileira** v.54, n.6, p 471-486, 2008. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ramb/v54n6/v54n6a08.pdf>>. Acesso em: 19 out 2010.

PACHECO, M. T. B. et al. Functional properties of whey protein hydrolysates from milk whey proteins concentrate. **Ciência Tecnologia Alimentos**, v.25, n.2, p.333-338, 2005.

PALLAORO, T. M. **Nutrição Molecular:** melhorando a qualidade de vida. Petrópolis: Vozes, 1997. 117p.

PENNA, A. L. B.; PINHEIRO, M. V. S. Substitutos de Gordura: Tipos e Aplicações em produtos lácteos. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, 2004. v. 15, n. 2, p 1-13.

PINHEIRO, M. M. et al. Nutrient intakes related to osteoporotic fractures in men and women – The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). **Nutrition Journal**,, 2008.

OLIVEIRA, N. M. A L. **Enriquecimento Nutricional de Pão de Forma com Concentrado Protéico de Soro Leite e Carbonato de Cálcio.**

PRATA, E. A.; SANTIN, J. C. Carbonato de cálcio – Segurança e Higiene do Trabalho. **Serrana** – Nutrição Animal, 2002. Disponível em: <<http://www.serrana.com.br>>. Acesso em: 22 Jan. 2009.

QUAGLIA, G. **Ciência y tecnología de la panificación.** Editora Acríbia, 485p. Zaragoza: Espanha, 1991.

RANHOTRA, G.S; GELROTH, J.A.; LEINEN, S.D. Utilization of calcium in breads highly fortified with calcium, as calcium carbonate or as dairy calcium. **Cereal Chemistry**, v.77, n.3, p.293-296, 2000.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria, 2009.

REGESTER, G. O. et al. Whey protein as nutritional and functional food ingredients. **Food Australia**, Waterloo, v.48, p. 123-127, 1996.

RENNER, E.; ABDEL-SALAM, M. . **Application of ultrafiltration in the dairy industry.** London: Elsevier Appl. Science, 1991. 371p.

RIZZON, L. A.; GASPARIN, A. M. O Carbonato de cálcio na descalcificação do vinho Isabel. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 720-723, 2005.

ROCHA, L. S.; CARDOSO SANTIAGO, R. A. Implicações nutricionais e sensoriais da polpa e casca de baru (*Dipterix Alata vog.*) na elaboração de pães. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n.4, p. 820-825, 2009.

RODRIGUES, F.F.G. **Elaboração de pão de forma com adição de concentrado protéico de soro de leite.** 2008. 64 f. Dissertação ( Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa.

RODRIGUES, F. F. G. et al. Adição de concentrado protéico de soro na formulação de pão de forma. **Revista do Instituto de Laticínios Cândido Tostes**, v. 62, p. 171-174, 2007.

ROMANCHIK-CERPOVICZ, J.E.; MCKEMIE, R. J. Fortification of All-Purpose Wheat-Flour Tortillas with Calcium Lactate, Calcium Carbonate, or Calcium Citrate Is Acceptable. **Journal of the American Dietetic Association.**, v. 107. n. 3. p. 506-509, 2007.

OLIVEIRA, N. M. A L. **Enriquecimento Nutricional de Pão de Forma com Concentrado Protéico de Soro Leite e Carbonato de Cálcio.**

ROSANELI, C. F. **Atividade antiulcerogênica de um concentrado de soro de leite bovino em modelos experimentais com ratos.** 2002. 81f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J.; CASTRO, I. A. Restrição moderada de energia e dieta hiperprotéica promovem redução ponderal em atletas de elite de Karatê. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 12, n. 2, 2005.

SALGADO, J.M.; SANTOS, A.C.; FISCHER, C.A.G. Efeito da suplementação de fontes de minerais sobre a mistura arroz/feijão. **Alimentação**. n. 58, p.32-36. 2000.

SAMPAIO, L. R. **Avaliação da dieta de idosos residentes no município de São Paulo.** 1997. 100f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia dos Alimentos) – Faculdade em Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de São Paulo.

SGARBIERI, V. C. Revisão: Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, v.17, n.4, p.397-409, 2004.

SMITHERS, G. W. et al. Symposium: advances in dairy foods processing and engineering. New opportunities from the isolation and utilization of whey proteins. **Journal of Dairy Science**, v. 79, n. 8, p.1454-1459, 1996.

SWAISGOOD, H. E. Characteristics of milk. **Food chemistry**, p. 841-878, 1996.

TEBALDI, V. M. R. et al. Avaliação microbiológica de bebidas lácteas fermentadas adquiridas no comércio varejista do sul de Minas Gerais. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n. 4, p. 1085- 1088, 2007.

USDEC NEWS. Uso de soro em iogurtes e produtos lácteos fermentados. **The U.S.Dairy Export Council**, v. 2, n. 2, p.1-4. Out, 1999.

\_\_\_\_\_. Aspectos Nutricionais de Ingredientes Lácteos Soro de Leite e Concentrados Protéicos. **The U.S.Dairy Export Council**, v. 8. n. 3. p. 1-4, 2006.

OLIVEIRA, N. M. A L. **Enriquecimento Nutricional de Pão de Forma com Concentrado Protéico de Soro Leite e Carbonato de Cálcio.**

VASCONCELOS, A. C. et al. Processamento e aceitabilidade de pães de forma a partir de funcionais: farinha de soja e fibra alimentar. **Alimentos e Nutrição Araraquara** v.17, n.1, p.43-49, 2006.

VOSER, R. C. **Comparação da densidade mineral óssea entre homens de meia idade que exercem diferentes tipos de atividades profissionais.** 2006. 142f. Tese (Doutorado em Medicina e Ciências da Saúde) – Geriatria, Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

WEAVER, C. M.; HEANEY, R. P. Cálcio. In: SHIS, M. E.; OLSON, J. A. SHIKE, M.; ROSS, A. C. (ed). **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença.** 9ed. São Paulo: Manole, 2003. p. 153-167.

YEE, K. W. K., WILEY, D. E., BAOB, J.. Whey protein concentrate production by continuous ultrafiltration: Operability under constant operating conditions. **Journal of Membrane Science**, v. 290, p.125–137, 2007.



## ANEXOS

### Anexo I – Certidão do Comitê de Ética.




UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA - UFPB  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO WANDERLEY HULW  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SÉRIES HUMANAS

#### CERTIDÃO

Com base na Resolução nº 196/96 do CNS/MS que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos, certifico que o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba, aprovou o parecer favorável do relator desse Comitê, autorizando a pesquisadora NAARA WEDERROS ARAÚJO LIMA OLIVEIRA, publicar a pesquisa intitulada ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE PÃO DE FORMA COM CONCENTRADO DE SORO DE LEITE E CARBONATO DE CÁLCIO, Protocolo CEP/CES Nº 0120/2009.

João Pessoa, 11 de outubro de 2010.

  
Japoneira Cortez Costa da Oliveira  
Coordenadora do Comitê de Ética  
em Pesquisa - CEP/CES

*Prof.ª. Japoneira Cortez Costa da Oliveira*  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa-HULW