**Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública**

**Otimização de propriedades nutricionais e sensoriais
de produtos à base de amaranto enriquecidos com
frutanos, para intervenção em celíacos**

Vanessa Dias Capriles

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Nutrição em Saúde Pública para
obtenção do título de Doutor em Ciências.**

**Área de Concentração: Nutrição em Saúde
Pública**

Orientador: Prof. Dr. José Alfredo Gomes Arêas

**São Paulo
2009**

Otimização de propriedades nutricionais e sensoriais de produtos à base de amaranto enriquecidos com frutanos, para intervenção em celíacos

Vanessa Dias Capriles

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientador: Prof. Dr. José Alfredo Gomes Arêas

**São Paulo
2009**

Janus

Universidade de São Paulo

RELATÓRIO DE DEFESA

Aluno: 6138 - 3335660 - 1 / Página 1 de 1

Relatório de defesa pública de Tese do(a) Senhor(a) Vanessa Dias Capriles no Programa: Nutrição em Saúde Pública, do(a) Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

Aos 17 dias do mês de dezembro de 2009, no(a) Sala Prof. Borges Vieira realizou-se a Defesa da Tese do(a) Senhor(a) Vanessa Dias Capriles, apresentada para a obtenção do título de Doutor intitulada:

"Otimização de propriedades nutricionais e sensoriais de produtos à base de amaranto enriquecidos com frutanos, para intervenção em celíacos"

Após declarada aberta a sessão, o(a) Sr(a) Presidente passa a palavra ao candidato para exposição e a seguir aos examinadores para as devidas arguições que se desenvolvem nos termos regimentais. Em seguida, a Comissão Julgadora proclama o resultado:

Nome dos Participantes da Banca	Função	Sigla da CPG	Resultado
Jose Alfredo Gomes Areas	Presidente	FSP - USP	Aprovado
Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres	Titular	FSP - USP	Aprovado
Deborah Helena Markowicz Bastos	Titular	FSP - USP	Aprovado
Inar Alves de Castro	Titular	FCF - USP	Aprovado
Yoon Kil Chang	Titular	UNICAMP - Externo	Aprovado

Resultado Final: Aprovado**Parecer da Comissão Julgadora ***

Eu, Vania dos Santos Silva *Vania*, lavrei o presente relatório, que assino juntamente com os(as) Senhores(as) examinadores. São Paulo, aos 17 dias do mês de dezembro de 2009.

Elizabeth
Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres

Deborah
Deborah Helena Markowicz Bastos

Inar
Inar Alves de Castro

Yoon Kil Chang
Yoon Kil Chang

Jose Alfredo
Jose Alfredo Gomes Areas
Presidente da comissão julgadora

* Obs: Se o candidato for reprovado por algum dos membros, o preenchimento do parecer é obrigatório.

A defesa foi homologada pela Comissão de Pós-Graduação em 18/12/2009 e, portanto, o(a) aluno(a) faz jus ao título de Doutor em Ciências obtido no Programa Nutrição em Saúde Pública.

Rubens
Presidente da Comissão de Pós-Graduação

Prof. Dr. Rubens de C. F. Adorno
Vice-Presidente da CPG

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na sua forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida **exclusivamente** para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da tese.

DEDICATÓRIA

Ao meu pai pela imensa dedicação, amor e cuidado.

A minha irmã pelo carinho, amizade e admiração mútua.

Ao Eric, meu grande amor, pelo incentivo, apoio e colaboração.

Vocês foram fundamentais para que eu chegasse até aqui.

Agradeço imensamente e divido com vocês esta conquista!

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Arêas, exemplo de dedicação ao trabalho docente e à pesquisa científica, por ter me acolhido em seu grupo de pesquisa e por ter acreditado e confiado em mim. Agradeço por toda a aprendizagem e contribuição para o meu desenvolvimento profissional e pessoal durante estes nove anos de convivência.

Ao meu pai, a minha irmã e ao Eric pela presença, amor, incentivo e carinho que enriquecem a minha vida. Espero sempre ser merecedora do orgulho que vocês têm de mim. Agradeço de maneira especial ao meu pai pela dedicação que sempre teve comigo e com a minha irmã, mesmo diante das adversidades; e por ter sempre acreditado em meu potencial.

Ao Eric Coli, amigo, namorado e futuro marido, por ter transformado a minha vida e pelas conquistas que obtive simplesmente por ter você ao meu lado. Obrigada pelo auxílio, apoio, encorajamento, cuidado e respeito que dedicou a mim ao longo destes doze anos de companheirismo.

A todos os grandes amigos e colegas de trabalho dos laboratórios de Bioquímica e Propriedades Funcionais dos Alimentos, de Bromatologia, e de Técnica Dietética pelo aprendizado e alegria que me proporcionaram. Sinto um enorme carinho e gratidão por todos vocês.

Sou grata particularmente a algumas pessoas pela colaboração direta para a construção deste trabalho: Andréa Guerra, Andréa Lemos, Áurea Bombo, Carol Conti, Karen Pacheco, Karina Dantas, Luíla Castro, Simone Mendonça e Vitor Rosa.

Às grandes amigas e técnicas de laboratório: Rosana Soares pela presença constante, ajuda nos momentos de dificuldade, paciência e apoio; Geni Sampaio pela participação e pelo valioso auxílio em todas as etapas do doutorado; e Ana Paula Geraldo pela preciosa contribuição e incentivo.

Em especial, agradeço todos os voluntários pela participação fundamental nas diferentes fases desta pesquisa.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa concedida.

À Professora Elizabeth Machado pela disponibilização do laboratório de Técnica Dietética para o desenvolvimento e análise sensorial dos produtos; mas, sobretudo pela valiosa colaboração e consideração que tem por mim.

Às Professoras Elizabeth Torres e Deborah Bastos pelo apoio e incentivo constantes, e por disponibilizar a estrutura e os equipamentos do laboratório de Bromatologia.

Aos Professores Yoon Chang e Caroline Steel pela oportunidade de cursar a disciplina Tecnologia Avançada de Panificação (FEA/UNICAMP), pela confiança, consideração, apoio e incentivo.

Aos Professores Inar Castro, Yoon Chang, Elizabeth Torres, Deborah Bastos, Elizabeth Machado e Caroline Steel, membros da Comissão Julgadora, pelo precioso tempo dedicado a revisão deste trabalho e pelas valiosas sugestões.

Às empresas que colaboraram para a realização desta pesquisa através do envio e doação de amostras de seus produtos: Duas Rodas Industrial, Gelita do Brasil, Lapiendrius Indústria e Comércio, Liotécnica Tecnologia em Alimentos, Norte Salineira, Raí Ingredients Comercial, Sabores e Aromas Alimentos e Vogler Ingredients.

Em especial à empresa Orafiti NV, pelo apoio através do fornecimento da mistura de frutanos, ingrediente essencial para a realização deste trabalho. E aos senhores Juliana Hirata Terra e Fernando Casado que intermediaram esta parceria.

À engenheira Sandra pelo inestimável auxílio e a empresa Inbramaq por disponibilizar seus equipamentos para a produção dos extrusados.

Aos Professores do Departamento de Nutrição, por tantos anos de convívio e aprendizado. Aos funcionários do Departamento de Nutrição, que me acompanharam desde a Iniciação Científica e pelos quais sempre tive muito carinho e respeito.

À Faculdade de Saúde Pública e à Universidade de São Paulo pela minha formação e por todos os amigos que acrescentaram a minha vida.

Enfim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

A Deus, pela alegria de viver e por mais esta conquista!

*“O futuro tem muitos nomes:
Para os fracos, é o inatingível.
Para os temerosos, o desconhecido.
Para os valentes, é a oportunidade.”*

Victor Hugo (1802-1885)

Capriles VD. Otimização de propriedades nutricionais e sensoriais de produtos à base de amaranto enriquecidos com frutanos, para intervenção em celíacos [tese de doutorado]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública da USP; 2009.

Resumo

Introdução: A doença celíaca não tem cura e apresenta como único tratamento a dieta isenta de glúten. Frequentemente observa-se a má absorção de cálcio em celíacos, consequência dos menores níveis de transportadores de cálcio no enterócito desses indivíduos. Os celíacos têm dificuldade em dar sequência ao tratamento dietético devido à escassez de produtos isentos de glúten, tornando fundamental o desenvolvimento de produtos para esta população. Isso pode ser feito por meio do uso de matérias primas isentas de glúten e com valor nutritivo agregado, como o grão de amaranto, e de ingredientes que contribuem para o aumento da absorção de cálcio através de absorção passiva nos colonócitos, como os frutanos inulina e oligofrutose.

Objetivo: Desenvolver e otimizar as propriedades nutricionais e sensoriais de produtos à base de amaranto enriquecidos com frutanos, para intervenção nutricional em celíacos. **Metodologia:** Foram elaborados *snacks* à base de milho e amaranto (50, 75 e 100%), barras e pães sem glúten, enriquecidos com 4 gramas de frutanos/porção. Para maximizar a aceitabilidade das barras foi utilizado um planejamento experimental para misturas de amaranto extrusado, estourado e laminado. Para maximizar o valor nutritivo e a aceitabilidade do pão sem glúten foi utilizado o planejamento experimental para misturas de farinha de arroz, fécula de batata e farinha de amaranto. Os produtos foram caracterizados quanto a composição centesimal, o índice glicêmico (IG) e a carga glicêmica (CG). Também foram avaliadas as propriedades físicas e a aceitabilidade (escala hedônica estruturada de nove pontos) durante o período de armazenamento. **Resultados e discussão:** Os *snacks* foram aceitos e apresentaram estabilidade de suas características físicas e da aceitabilidade durante os 135 dias de armazenamento. O efeito combinado do amaranto e dos frutanos gerou redução de 19% do IG e de 56% da CG dos *snacks*. O amaranto estourado e laminado apresentaram interações sinérgicas para a aceitabilidade das barras ($R^2_{(aj)} > 92\%$, $p = 0,00$). A formulação à base de amaranto estourado e laminado (1/2, 1/2) foi diversificada em seis diferentes sabores e apresentou estabilidade de suas propriedades físicas e da aceitabilidade durante os seis meses de armazenamento. A estimativa da resposta glicêmica revelou IG moderado e CG baixa das barras. Pães com 33 e 45% de farinha de amaranto apresentaram destacado valor nutritivo e aceitabilidade. A incorporação de amaranto e de frutanos ocasionou redução de 20% do IG e de até 53% da CG do pão sem glúten. **Conclusão:** Os produtos desenvolvidos (*snacks*, barras e pães sem glúten) apresentaram destacado valor nutritivo em relação aos produtos convencionais, atenuação da resposta glicêmica e alta aceitabilidade pelo consumidor, podendo contribuir para uma maior variação e adequação da dieta dos celíacos e também para auxiliar no aumento da absorção de cálcio.

Descritores: *Amaranthus cruentus*; *snacks* extrusados; barras de cereais; pães sem glúten; modelagem de mistura; resposta glicêmica.

Capriles VD. Otimização de propriedades nutricionais e sensoriais de produtos à base de amaranto enriquecidos com frutanos, para intervenção em celíacos./ Nutritional and sensory optimization of amaranth based products enriched with fructans, for nutritional intervention in celiac [thesis]. São Paulo (BR): Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo; 2009.

Abstract

Introduction: Celiac disease does not have a cure and the only scientifically proven treatment is strict lifelong adherence to a gluten-free diet. Calcium malabsorption is frequently found in celiac, possibly due to negligible amounts of calcium-binding protein in their enterocytes. Compliance with dietary treatment is often difficult due to the lack of gluten-free products, so it is essential to develop specific products for this population. This can be done through the use of gluten-free raw materials of great nutritional value, such as amaranth grain, and ingredients that contribute to the calcium absorption increase through passive absorption in colonocytes, such as the fructans inulin and oligofructose. **Objective:** Develop and optimize the nutritional and sensory properties of amaranth based products enriched with fructans, for nutritional intervention in celiac. **Methods:** Snacks from blends of corn and amaranth (50, 75 and 100%), amaranth bars and gluten-free bread, all enriched with 4 grams of fructans/ portion, were prepared. A mixture experiment of extruded, popped and flaked amaranth was used to optimize the sensory acceptability of the bars. A mixture experiment of rice flour, potato starch and amaranth flour was used to maximize the nutritional value and sensory acceptability of gluten-free bread. Products chemical composition, glycemic index (GI) and glycemic load (GL), were evaluated. The physical properties and sensory acceptability (nine point hedonic scale) were assessed during the storage time. **Results and discussion:** Snacks were sensory accepted and maintained their physical characteristics and sensory acceptability during the 135 days of storage. The combined effect of amaranth and fructans resulted in 19% reduction of GI and 56% of GL of snacks. Popped and flaked amaranth present synergistic interactions to sensory acceptability of the bars ($R^2_{(adj)} > 92\%$, $p = 0,00$). Bars were produced with popped and flaked amaranth (1/2, 1/2) in six different flavors and its physical properties and sensory acceptability were stable during the six months of storage. The predicted glycemic response showed moderate GI and low GL bars. Breads with 33 and 45% of amaranth flour had higher nutritional value and sensory acceptability. Amaranth and fructans addition led to a reduction of approximately 20% of GI and up to 53% of the GL of gluten-free breads. **Conclusion:** The developed products (snacks, bars and gluten-free breads) had superior nutritional composition than conventional products, reduced glycemic response, high consumer sensory acceptability, great potential to contribute to variation and adequacy of celiac diet and also help to increase calcium absorption.

Descriptors: *Amaranthus cruentus*; extrudate snacks; cereal bars; gluten-free bread; mixture experimental design; glycemic response.

ÍNDICE

1 APRESENTAÇÃO	1
2 INTRODUÇÃO	3
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
3.1 DOENÇA CELÍACA	
3.1.1 Aspectos Gerais	5
3.1.2 Osteopatia Metabólica em Celíacos	8
3.1.3 Risco Aumentado de Fraturas	11
3.1.4 Importância da Dieta Isenta de Glúten na Massa Óssea dos Celíacos	11
3.1.5 Prevenção e Tratamento da Perda Óssea em Celíacos	12
3.2 FRUTANOS DO TIPO INULINA	
3.2.1 Conceito	13
3.2.2 Efeitos Fisiológicos	15
3.2.3 Efeito sobre a Biodisponibilidade de Cálcio	16
3.2.4 Aplicação em Alimentos	21
3.3 AMARANTO	
3.3.1 Aspectos Históricos	22
3.3.2 Aspectos Botânicos	23
3.3.3 Aspectos Nutricionais e Funcionais do Grão de Amaranto	24
3.3.4 Uso do Grão de Amaranto na Alimentação Humana	25
3.4 REFERÊNCIAS	27
4 OBJETIVOS	33
5 CAPÍTULOS	
CAPÍTULO 1. Desenvolvimento e caracterização de <i>snacks</i> à base de amaranto enriquecidos com frutanos	34
CAPÍTULO 2. Efeito do amaranto e dos frutanos na resposta glicêmica de <i>snacks</i> extrusados	56
CAPÍTULO 3. Barras de amaranto enriquecidas com frutanos: otimização da aceitabilidade através de metodologia de superfície de resposta	79
CAPÍTULO 4. Barras de amaranto enriquecidas com frutanos: propriedades físicas e nutricionais e estabilidade sensorial durante o armazenamento	101

CAPÍTULO 5. Frutanos como melhorador tecnológico e nutricional do pão sem glúten	124
CAPÍTULO 6. Efeito da farinha de amaranto integral nas propriedades físicas e nutricionais do pão sem glúten	144
<hr/>	
6 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS	170
<hr/>	
ANEXOS	
ANEXO 1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa – COEP/FSP (protocolo 1404)	172
ANEXO 2. Termo de consentimento livre e esclarecido entregue aos participantes da análise sensorial dos produtos.	173
ANEXO 3. Ficha de avaliação da aceitabilidade dos <i>snacks</i> .	174
ANEXO 4. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa – COEP/FSP (protocolo 1960)	175
ANEXO 5. Termo de consentimento livre e esclarecido entregue aos participantes da avaliação da resposta glicêmica dos produtos.	176
ANEXO 6. Informações técnicas sobre sorbitol e sucralose.	178
ANEXO 7. Ficha de avaliação da aceitabilidade das barras.	180
ANEXO 8. Avaliação dos modelos de regressão ajustados as propriedades das barras de amaranto.	181
ANEXO 9. Ficha de avaliação da aceitabilidade dos pães.	188
ANEXO 10. Avaliação dos modelos de regressão ajustados as propriedades dos pães sem glúten.	189
<hr/>	
CURRÍCULO LATTES	197
<hr/>	

1 APRESENTAÇÃO

Esta tese compõe-se de uma breve INTRODUÇÃO, seguida das seções REVISÃO BIBLIOGRÁFICA e OBJETIVOS. A seguir encontram-se os CAPÍTULOS, que incluem seis manuscritos originais a serem submetidos para publicação. Cada capítulo inclui os seguintes tópicos: Resumo, Introdução, Material e métodos, Resultados e discussão, Conclusões e Referências. Depois dos capítulos, encontra-se uma seção final para CONCLUSÕES e CONSIDERAÇÕES FINAIS. Documentos e outras informações relevantes são apresentados em ANEXOS.

Relação de artigos publicados derivados dessa pesquisa:

A primeira parte da REVISÃO BIBLIOGRÁFICA baseia-se em um artigo de revisão sobre a osteopatia metabólica em celíacos (artigo 1). Os artigos listados a baixo referem-se aos resultados obtidos na fase de pré-testes dessa pesquisa. Nesta fase foi possível aprender a processar o grão de amaranto (artigos 2, 3 e 4), padronizar o processo de aromatização dos *snacks* (artigo 5) e os métodos para a avaliação da digestibilidade do amido *in vitro* (artigos 5 e 6), e quantificar alguns compostos presentes no grão de amaranto (artigos 4, 6 e 7). Esses artigos publicados não foram incluídos como resultados na tese. O artigo 8 foi submetido para publicação, e encontra-se em avaliação.

ARTIGO 1: Capriles VD, Martini LA, Arêas JAG. Metabolic osteopathy in celiac disease: importance of a gluten-free diet. *Nutrition Reviews*. 2009; 67(10): 599-606.

ARTIGO 2: Capriles VD, Almeida EL, Ferreira RE, Arêas JAG, Steel CJ, Chang YK. Physical and sensory properties of regular and reduced-fat pound cakes with added amaranth flour. *Cereal Chemistry*. 2008; 85(5): 614-618.

ARTIGO 3: Capriles VD, Coelho KD, Guerra-Matias AC, Arêas JAG. Efeito da adição de amaranto na composição e na aceitabilidade do biscoito tipo cookie e do pão de forma. *Alimentos e Nutrição*. 2006; 17(3): 269-274.

ARTIGO 4: Capriles VD, Coelho KD, Guerra-Matias AC, Arêas JAG. Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. *Journal of Food Science*. 2008; 73(7): H160-H164.

ARTIGO 5: Capriles VD, Soares RAM, Pinto e Silva MEM, Arêas JAG. Effect of fructans-based fat replacer on chemical composition, starch digestibility and sensory acceptability of corn snacks. *International Journal of Food Science and Technology*. 2009; 44(10): 1895–1901.

ARTIGO 6: Capriles VD, Guerra-Matias AC, Arêas JAG. Marcador *in vitro* da resposta glicêmica dos alimentos como ferramenta de auxílio à prescrição e avaliação de dietas. *Revista de Nutrição*. 2009; 22(4): 549-557.

ARTIGO 7: Queiroz YS, Soares RAM, Capriles VD, Torres EAFS, Arêas JAG. Efeito do processamento na atividade antioxidante do grão de amaranto (*Amaranthus cruentus* L. BRS-Alegria). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 2009. in press.

ARTIGO 8: Capriles VD, Arêas JAG. Avanços na produção de pães sem glúten: aspectos tecnológicos e nutricionais. Artigo submetido em 14 de janeiro de 2009, encontra-se em avaliação pelo Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos.

Financiamento:

Esta pesquisa recebeu auxílio financeiro da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) por meio da bolsa de doutorado direto, processo nº04/14127-3.

2 INTRODUÇÃO

A doença celíaca (DC) ainda não tem cura e apresenta como único tratamento a dieta isenta de glúten que deve ser seguida por toda a vida de forma a prevenir uma série de complicações, tais como prejuízos nutricionais, osteoporose e cânceres (KAGNOFF, 2005). São frequentes as dificuldades para a sequência do tratamento, devido à escassez de produtos isentos de glúten e o impacto negativo desta restrição alimentar no convívio social (LEE e NEWMAN, 2003).

A DC vem sendo considerada um problema de Saúde Pública mundial, devido as taxas de prevalência observadas em vários países, a morbidade variável e a probabilidade aumentada de complicações graves que podem comprometer a qualidade de vida dos indivíduos (CATALDO e MONTALTO, 2007). Por isso, é necessário o melhor preparo dos profissionais de saúde para o reconhecimento e tratamento desta doença, bem como esforços para o desenvolvimento e maior disponibilização de alimentos isentos de glúten, além da avaliação rigorosa do teor de glúten em alimentos, bebidas e medicamentos.

Frequentemente observa-se reduzida densidade mineral óssea (DMO) no diagnóstico da DC tanto em crianças, adolescentes e adultos. A dieta sem glúten promove um rápido aumento da massa óssea podendo resultar em normalização da DMO nas crianças. Em adultos, a dieta aumenta, mas raramente normaliza a DMO (CAPRILES et al., 2009a), como consequência, os adultos celíacos apresentam risco 27% maior de fraturas ósseas que o restante da população (OLMOS et al., 2008).

O maior risco de fraturas pode ser atribuído a reduzida DMO, que é um problema clínico e prático para os pacientes, uma vez que pode assumir grande importância, prejudicando a vida diária por causar dores ósseas e reduzir a função física e a mobilidade podendo ocasionar isolamento social e depressão (CORAZZA et al., 2005), por isso, a prevenção e tratamento da osteoporose devem ser considerados.

Visando aumentar a DMO, a suplementação terapêutica de cálcio e vitamina D já foi testada nesta população, entretanto, sem benefícios consideráveis, possivelmente devido aos menores níveis da proteína calbindina-D9k na mucosa

intestinal dos celíacos (COLSTON et al., 1994). A proteína ligadora de cálcio dependente da vitamina D, a calbindina-D9k, está envolvida na absorção transcelular de cálcio (absorção por transporte ativo).

Desta forma, novas abordagens terapêuticas devem ser testadas. Dentre elas, a ingestão de compostos com potencial de aumentar a absorção de cálcio e a DMO, como os frutanos inulina e oligofrutose (GRIFFIN et al., 2002, 2003; ABRAMS et al., 2005, 2007a; HOLLOWAY et al., 2007). A absorção no cólon é responsável por cerca de 70% do aumento da absorção de cálcio ocasionada pela ingestão da mistura de inulina e oligofrutose (ABRAMS et al., 2007b). Ou seja, este efeito pode ser especialmente importante em condições fisiológicas ou anatômicas em que a absorção de cálcio no intestino delgado está prejudicada, por isso, acreditamos que o consumo destes frutanos pode contribuir para o aumento da massa óssea dos celíacos.

Produtos isentos de glúten geralmente são elaborados com farinhas e amidos refinados, e por isso apresentam baixos teores de fibra alimentar, vitaminas e minerais, sendo um dos fatores responsáveis pelo consumo inadequado destes nutrientes pelos celíacos (THOMPSON et al., 2005). Desta forma, o desenvolvimento de novos produtos por meio da utilização de matérias primas isentas de glúten e com valor nutritivo agregado é fundamental. Por apresentar elevado valor nutritivo e não conter glúten, o grão de amaranto é uma matéria prima atraente para a elaboração de produtos para celíacos.

Devido à importância e às frequentes dificuldades para o seguimento do tratamento, o presente trabalho propõe-se a desenvolver e otimizar as propriedades nutricionais e sensoriais de produtos à base de amaranto enriquecidos com frutanos, visando contribuir para a maior variação e adequação da dieta dos celíacos, bem como para uma possível redução do risco de osteopenia/ osteoporose observado nesta população.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 DOENÇA CELÍACA

3.1.1 Aspectos Gerais

Conceito

A doença celíaca (DC) é uma desordem auto-imune sistêmica que afeta indivíduos geneticamente susceptíveis, sendo provocada pela intolerância permanente à ingestão de glúten, termo utilizado para designar as prolaminas encontradas no trigo (gliadina), na cevada (hordeína) e no centeio (secalina). Ocasionalmente, a aveia pode ser contaminada por estes grãos durante o processamento, e por isso, também apresentar glúten (KAGNOFF, 2005).

Patogênese

A patogênese da DC envolve a combinação de susceptibilidade genética (presença dos alelos HLA-DQ2 e HLA-DQ8), exposição ambiental (consumo de glúten) e resposta imunológica que causa inflamação da mucosa do intestino delgado e atrofia das vilosidades, resultando em má absorção de nutrientes (KAGNOFF, 2005).

Diagnóstico

O diagnóstico é baseado na suspeita clínica e confirmação por meio de testes laboratoriais. Inicialmente são realizados testes sorológicos. Apesar da presença de auto-anticorpos contra o endomísio (EMA) e transglutaminase tecidual (anti-tTG), bem como a tipagem do HLA-DQ2/HLA-DQ8 fortalecerem o diagnóstico da DC, a biopsia da mucosa do intestino delgado ainda representa o padrão ouro para o diagnóstico. A biopsia é utilizada para a confirmação de resultados com sorologia positiva. A partir disso, tem-se um diagnóstico inicial de DC; o diagnóstico definitivo é obtido com a resolução dos sintomas após a remoção do glúten da dieta (GREEN et al., 2005).

Formas Clínicas

O modelo do *iceberg* celíaco é comumente utilizado para ilustrar a distribuição das formas clínicas da doença. A porção visível do *iceberg* representa a forma clássica da DC, que é caracterizada por sintomas gastrointestinais (diarréia e distensão abdominal) e má nutrição; e a maior proporção de casos, representada pela porção submersa do *iceberg* consiste das formas atípica, latente e silenciosa da DC, que são caracterizadas por pouco ou nenhum sintoma gastrointestinal e pela predominância de manifestações extra-intestinais, tais como baixa estatura, anemia ferropriva, osteoporose entre outras (FASANO, 2005; GREEN, 2005).

A DC pode ser diagnosticada em qualquer idade; mas isto ocorre com maior frequência em crianças pequenas, entre 9 e 24 meses de idade quando o glúten é introduzido na dieta; e na terceira e quarta décadas de vida (KAGNOFF, 2005). A forma clássica da DC ocorre comumente em crianças pequenas, enquanto que a forma atípica vem sendo frequentemente observada em crianças maiores e adolescentes (FASANO, 2005). A maioria dos celíacos diagnosticados na idade adulta apresenta as formas atípica ou silenciosa da DC (GREEN, 2005). Mais casos vem sendo diagnosticados como consequência do melhor reconhecimento da doença e das desordens associadas, do aumento da suspeita clínica, e da utilização de testes sorológicos com maior sensibilidade e especificidade (GREEN et al., 2005).

Prevalência

As taxas de prevalência da DC têm apresentado consideráveis mudanças nas últimas décadas. A doença era considerada rara, uma vez que os estudos eram limitados apenas aos pacientes com sintomas típicos, e não consideravam a manifestação clínica variada. A partir dos anos 90, estudos populacionais mais amplos foram realizados por meio de rastreamento sorológico, indicando que a prevalência da DC é próxima a 1% em populações ocidentais (REWERS, 2005).

Algumas pesquisas foram realizadas em bancos de sangue com doadores aparentemente saudáveis e revelaram as seguintes taxas de prevalência da DC: Israel 1:157 (SHAMIR et al., 2002), Irã 1:166 (SHAHBAZKHANI et al., 2003), Estados Unidos 1:125 (NERI et al., 2004), Islândia 1:136 (JOHANNSSON et al., 2009).

Estudos deste tipo realizados no Brasil indicaram taxas de 1:681 em Brasília (GANDOLFI et al., 2000), de 1:417 em Curitiba (PEREIRA et al., 2006), e de 1:273 em Ribeirão Preto, São Paulo (MELO et al., 2006).

Tratamento: Dieta Isenta de Glúten

A DC ainda não tem cura e o único tratamento cientificamente comprovado é a dieta isenta de glúten. Após a instalação da dieta, a resposta clínica é rápida, havendo desaparecimento dos sintomas gastrointestinais e restauração da morfologia normal da mucosa intestinal. Mas se o glúten for novamente consumido desencadeia a recorrência da doença (GREEN, 2005; GREEN et al., 2005; KAGNOFF, 2005).

Esta restrição alimentar deve ser seguida por toda a vida, prevenindo complicações em curto prazo, que são os prejuízos nutricionais, de crescimento e desenvolvimento psicomotor e sexual, problemas de fertilidade, alterações dentárias, osteoporose e anemias; e em longo prazo, atrofia do baço e cânceres do trato gastrointestinal (REWERS, 2005).

O tratamento consiste da exclusão do trigo, do centeio, da cevada e seus híbridos e derivados da dieta. O consumo de aveia é controverso devido a possibilidade de contaminação com os cereais que contem glúten; assim como o uso de amido de trigo, pois este pode apresentar traços de glúten (KUPPER, 2005). Os celíacos devem ficar atentos a possível contaminação cruzada entre os alimentos, e realizar a leitura dos rótulos dos alimentos industrializados e dos medicamentos.

Seguir uma dieta estritamente isenta de glúten pode parecer simples, no entanto, na prática evidencia-se uma série de dificuldades para dar sequência ao tratamento devido à escassez de produtos isentos de glúten e o impacto negativo desta restrição alimentar no convívio social, comprometendo a qualidade de vida dos indivíduos (LEE e NEWMAN, 2003).

Produtos isentos de glúten geralmente são elaborados com farinhas e amidos refinados, e por isso apresentam baixos teores de fibra alimentar e de micronutrientes, sendo um dos fatores responsáveis pelo consumo inadequado destes nutrientes pelos celíacos (THOMPSON et al., 2005). Desta forma, o desenvolvimento de novos produtos por meio da utilização de matérias primas com valor nutritivo agregado é fundamental.

3.1.2 Osteopatia Metabólica em Celíacos

Frequentemente observa-se reduzida densidade mineral óssea (DMO) no diagnóstico da DC tanto em crianças e adolescentes, como em adultos. Celíacos em tratamento apresentam menor prevalência de perda óssea, mostrando que em alguns pacientes a dieta sem glúten aumenta a DMO. Estudos prospectivos confirmam esta tendência (BAI et al., 1997; KEMPPAINEN et al., 1999a).

A dieta promove um rápido aumento da massa óssea podendo resultar em normalização da DMO nas crianças. Em adultos, a dieta aumenta, mas raramente normaliza a DMO. Como consequência, adultos celíacos apresentam risco 27% maior de fraturas ósseas que o restante da população (OLMOS et al., 2008).

Aspectos Fisiopatológicos

A desmineralização óssea em celíacos apresenta patogênese multifatorial. Os possíveis fatores envolvidos, marcados como 1 a 4 na Figura 1 são explicados a seguir.

Figura 1 – Possíveis mecanismos envolvidos na redução da massa óssea de celíacos não tratados. Fonte: Adaptado de CAPRILES et al., (2009a).

1) **Má absorção intestinal:** A lesão da mucosa intestinal ocasiona má absorção e consequentemente baixos níveis séricos de cálcio (hipocalcemia) além de hipovitaminose D (ZANCHI et al., 2008). A vitamina D regula a absorção intestinal de cálcio por estimular a expressão de proteínas transportadoras de cálcio através do enterócito, assim, uma mucosa intestinal normal é necessária para a absorção adequada. Outros mecanismos contribuem para a baixa biodisponibilidade de cálcio, como a ingestão insuficiente de cálcio e de vitamina D concomitantemente a deficiência de lactase (CAPRILES et al., 2009a). Geralmente o status de vitamina D em celíacos é baixo como consequência do consumo inadequado (KEMPPAINEN et al., 1999b).

2) **Hipersecreção de PTH:** Como resposta a hipocalcemia, ocorre a hipersecreção do paratormônio (PTH). O PTH eleva a reabsorção óssea, e contribui para o aumento da absorção intestinal de cálcio através do estímulo do transporte ativo. No entanto, os celíacos apresentam quantidades negligenciáveis do transportador de cálcio dependente de vitamina D, a proteína calbindina-D9k. A mucosa intestinal dos celíacos não tratados apresenta quantidades insignificantes desta proteína, enquanto que a dos celíacos em tratamento apresenta apenas um quarto dos valores normais (COLSTON et al., 1994). O baixo nível deste transportador leva a menor absorção do cálcio, consequentemente a hipocalcemia que pode acarretar em hiperparatireoidismo secundário como um mecanismo compensatório, aumentando o catabolismo ósseo em alguns pacientes (KEMPPAINEN et al., 1999b).

3) **Desequilíbrio da remodelação óssea:** A remodelação óssea consiste de uma série de eventos coordenados e realizados durante toda a vida visando à manutenção da massa óssea. Desta forma, o osso é constantemente reabsorvido e formado em sítios específicos denominados unidade multicelular básica. O processo inicia-se com a migração dos osteoclastos para estes sítios (fase de ativação) e continua com a fase de reabsorção de uma parte do osso por estas células e então ocorre a apoptose dos osteoclastos, seguida por uma fase de formação óssea pelos osteoblastos (KEARNS et al., 2008).

As citocinas receptor ativador do fator nuclear NF- κ B (RANK), seu ligante (RANKL) e a osteoprotegerina (OPG) constituem o sistema RANK/RANKL/OPG que é atualmente considerado o mecanismo regulatório mais potente da remodelação óssea. A reabsorção óssea é dependente de um fator de diferenciação dos osteoclastos, o RANKL que é expressa e secretada pelos osteoblastos, que se liga ao RANK que está localizado na superfície dos pré-osteoclastos, e assim, estimula a diferenciação destas células em osteoclastos ativos. Os osteoblastos também secretam OPG, que se liga ao RANKL inibindo a interação RANKL-RANK; ou seja, o efeito final dos altos níveis de OPG é a inibição da diferenciação e atividade dos osteoclastos (KEARNS et al., 2008). Portanto, a homeostase óssea é alcançada através de um balanço entre os níveis de RANKL e OPG.

Recentemente foram observados maiores níveis séricos de RANKL e OPG em celíacos em comparação aos indivíduos controle. No entanto, a razão RANKL/OPG que é aumentada nos celíacos não tratados, parece ser corrigida pela dieta, atingindo níveis similares aos dos indivíduos controle (TARANTA et al., 2004).

Celíacos usualmente apresentam maiores níveis de marcadores bioquímicos da formação e da reabsorção óssea, o que pode ser corrigido pelo tratamento dietético (MAUTALEN et al., 1997).

4) Alterações inflamatórias e imunológicas: Mecanismos sistêmicos da perda óssea também vêm recebendo atenção, em particular a hiperprodução de citocinas pró-inflamatórias pela mucosa intestinal, que podem contribuir para o desequilíbrio da remodelação óssea. Foram detectados em celíacos não tratados altos níveis séricos de citocinas que ativam os osteoclastos [como as interleucinas IL-1, IL-6 e o fator de necrose tumoral- α (TNF- α)], além de baixos níveis de citocinas que inibem a atividade destas células (como as interleucinas IL-18 e IL-12) (TARANTA et al., 2004). Os níveis destas citocinas tendem a retornar ao normal por meio da dieta isenta de glúten.

Além disso, no momento do diagnóstico 51% dos pacientes apresentam anticorpos contra estruturas ósseas, indicando que estes também podem contribuir na fisiopatologia da redução da massa óssea em celíacos (SUGAI et al., 2002).

3.1.3 Risco Aumentado de Fraturas

OLMOS et al., (2008) realizaram uma meta-análise das informações epidemiológicas existentes sobre a ocorrência de fraturas em celíacos. Foram avaliados dados de oito estudos que incluíam no total 20.955 adultos celíacos, dentre os quais 8,7% apresentaram fraturas, e 96.777 controles, dentre os quais 6,1% apresentaram fraturas. O valor de “odds ratio” (OR) ponderado indicou que o risco de fraturas ósseas é 27% maior em celíacos (OR = 1,27, 95% IC = 1,20–1,34).

O maior risco de fraturas pode ser atribuído a baixa DMO, que é um problema clínico e prático para os pacientes, uma vez que pode assumir grande importância, prejudicando a vida diária por causar dores ósseas e reduzir a função física e a mobilidade podendo ocasionar isolamento social e depressão (CORAZZA et al., 2005), por isso, a prevenção e tratamento da osteoporose devem ser considerados visando melhorar a qualidade de vida dos pacientes celíacos.

3.1.4 Importância da Dieta Isenta de Glúten na Massa Óssea dos Celíacos

Após a instituição da dieta isenta de glúten em crianças celíacas, ocorre melhora na absorção intestinal de cálcio e dos parâmetros bioquímicos, além de um rápido aumento na DMO, podendo resultar em normalização da DMO após um ano de tratamento (TAU et al., 2006; ZANCHI et al., 2008). A adesão ao tratamento por longo período permite mineralização e metabolismo ósseo normais. Há relatos de DMO normal em adultos que mantêm a dieta sem glúten desde a infância e adolescência (MORA et al., 1999).

Um ano de dieta sem glúten promove aumento substancial da DMO de celíacos diagnosticados na idade adulta (BAI et al., 1997; KEMPPAINEN et al., 1999a) mesmo em mulheres na pós-menopausa (VALDIMARSSON et al., 2000). As mudanças na DMO e nos marcadores bioquímicos são resultantes da recuperação da atrofia vilositária e do estado nutricional; mas, apesar da melhora clínica, os adultos celíacos tratados por longos períodos, podem apresentar baixa DMO (BAI et al., 1997; KEMPPAINEN et al., 1999a). Estudos vêm mostrando que aproximadamente 30-40% dos adultos celíacos apresentam osteopenia e 30% tem osteoporose (BAI et al., 1997; KEMPPAINEN et al., 1999b).

A osteopenia é a condição na qual a DMO encontra-se entre 1,0 e 2,5 desvios padrão (DP) abaixo da média esperada para adultos jovens saudáveis; enquanto que na osteoprose a DMO encontra-se pelo menos 2,5 DP abaixo do esperado (WHO, 1994). Estudos epidemiológicos sugerem que o risco relativo de fraturas eleva-se de 1,4 a 2,6 vezes para cada DP abaixo da média (MARSHALL et al., 1996).

Alguns trabalhos apontam a importância do diagnóstico precoce da DC para a prevenção de distúrbios ósseos, uma vez que a instalação do tratamento antes da puberdade permite maior absorção de cálcio na fase de maior crescimento ósseo e o alcance de um pico de massa óssea adequado, reduzindo o risco de osteoporose na idade adulta (SDEPANIAN et al., 2003; TAU et al., 2006; ZANCHI et al., 2008).

3.1.5 Prevenção e Tratamento da Perda Óssea em Celíacos

Pacientes com DC devem ser acompanhados em intervalos regulares por uma equipe multidisciplinar e participar de grupos de apoios, como a Associação de Celíacos do Brasil (ACELBRA) para se informarem e lidarem melhor com as restrições impostas pela doença e se prevenirem de suas complicações.

As metas do acompanhamento nutricional são aliviar os sintomas, curar o intestino e reverter as consequências da má absorção intestinal, e auxiliar o paciente a manter uma dieta isenta de glúten diversificada, balanceada e nutricionalmente adequada, visando o bom estado nutricional do indivíduo (KUPPER, 2005). Os celíacos devem ser adequadamente esclarecidos da importância da estrita adesão a dieta durante toda a vida como um fator de proteção contra uma série de complicações associadas a DC.

As recomendações gerais para prevenção e tratamento da osteoporose em celíacos devem ser adotadas. Assim, ênfase deve ser dada a qualidade nutricional da dieta, particularmente em relação ao consumo adequado de cálcio e vitamina D associados ou não a suplementação. Os celíacos devem praticar exercícios físicos, não fumar e não exceder o consumo de bebidas alcoólicas (SCOTT et al., 2000; CORAZZA et al., 2005).

No entanto, estudos de avaliação do consumo alimentar vêm mostrando que crianças e adultos celíacos consomem quantidades insuficientes de cálcio

(KEMPPAINEN et al., 1999b; SDEPANIAN et al., 2003; PAZIANAS et al., 2005; KINSEY et al., 2008) e de vitamina D (KINSEY et al., 2008).

Visando o aumento da DMO, intervenções com a suplementação de cálcio e vitamina D já foram realizadas nesta população. No entanto, poucos trabalhos foram conduzidos, e não mostraram benefício adicional da suplementação em relação a dieta isenta de glúten. Outras doses devem ser testadas futuramente, em ensaios clínicos bem delineados.

Observou-se que um ano de suplementação de cálcio (1 g/dia) e vitamina D (32 U/semana) (MAUTALEN et al., 1997), e de suplementação de vitamina D (50 µg/dia) (CARACENI et al., 1988) não geraram benefícios adicionais aos obtidos com a dieta isoladamente, em adultos celíacos. MEYER et al. (2001) também não observaram benefícios adicionais da suplementação de cálcio (1 g/dia) e vitamina D (864 U/dia) na DMO de mulheres celíacas na pós-menopausa. Dois anos de suplementação de cálcio (1 g/dia) e de vitamina D (400 U/dia) ocasionaram aumento da DMO de crianças celíacas, no entanto, a normalização, não ocorreu (MUZZO et al., 2000).

Assim, acreditamos que novas abordagens terapêuticas devem ser testadas visando a atenuação desta problemática, dentre elas, a ingestão de compostos com potencial de aumentar a absorção de cálcio e a DMO, como os frutanos inulina e oligofrutose.

3.2 FRUTANOS DO TIPO INULINA

3.2.1 Conceito

Os frutanos do tipo inulina são carboidratos de reserva encontrados em alimentos comumente consumidos como a banana, o alho, a cebola, o trigo, assim como na raiz da chicória, de onde são extraídos em escala industrial. Estruturalmente são polímeros de β -D-frutofuranoses unidas por ligações do tipo $\beta(2\rightarrow1)$, e diferem quanto ao grau de polimerização, sendo que o da oligofrutose é inferior a dez e o da inulina pode ir até setenta (ROBERFROID e DELZENNE, 1998). O primeiro

monômero da cadeia pode ser tanto um resíduo de β -D-glucopiranosil como de β -D-frutofuranosil, como ilustra a Figura 2.

Figura 2 – Estrutura química das moléculas presentes nos frutanos do tipo inulina. G – glicose, F – frutose. n e m indicam o grau de polimerização (unidades de frutofuranoses). Fonte: Adaptado de ROBERFROID et al. (1998).

A inulina (grau de polimerização – $GP_{\text{médio}} = 12$) é obtida industrialmente a partir da extração com água quente das raízes da chicória (*Cichorium intybus*), seguida de refinação e secagem por atomização. A inulina com alto GP é obtida a partir de separação física ($GP_{\text{médio}} = 25$), e por meio da hidrólise enzimática parcial da inulina, é obtida a oligofrutose ($GP_{\text{médio}} = 4$) (ROBERFROID, 2005).

A mistura comercial de inulina e oligofrutose (Raftilose® Synergy1, Orafiti NV, Tienen, Bélgica) é obtida a partir da mistura de 50% de inulina de alto GP e de 50% de oligofrutose. Contém 92% de frutanos e 8% de açúcares (glicose, frutose e sacarose). Esse produto foi escolhido para uso nessa pesquisa devido aos resultados promissores relacionados ao aumento da absorção de cálcio em seres humanos (Quadro 1).

3.2.2 Efeitos Fisiológicos

Fibra Alimentar

As enzimas intestinais humanas não são capazes de hidrolisar as ligações do tipo $\beta(2\rightarrow1)$ encontradas na inulina e na oligofrutose, assim, estes chegam intactos ao cólon. Como consequência, ocorre aumento do volume das fezes e na frequência de evacuações. Por conta destes efeitos fisiológicos, são incluídos na categoria de fibras alimentares. No entanto, devido as suas propriedades fermentativas específicas, estes frutanos apresentam efeitos gastrointestinais e sistêmicos distintos das demais fibras (ROBERFROID, 2005).

Prebiótico

Os frutanos inulina e oligofrutose são os compostos mais investigados em estudos envolvendo seres humanos, sendo os únicos que satisfazem todos os critérios para sua classificação como ingrediente alimentar prebiótico (GIBSON et al., 2004).

“Prebiótico é um ingrediente fermentado seletivamente que ocasiona mudanças específicas na composição e/ ou atividade da microbiota intestinal, ocasionando benefícios à saúde e ao bem estar do hospedeiro (GIBSON et al., 2004).

Em estudos realizados com seres humanos, o efeito bifidogênico (aumento do número de bactérias do gênero *Bifidobacterium*) foi obtido com o consumo diário de 4 a 40 gramas de frutanos. É importante, entretanto, que seja utilizada a dose mínima, para que efeitos colaterais indesejados como flatulência e desarranjos intestinais sejam reduzidos. De acordo com KOLIDA e GIBSON (2007) o consumo diário de 5 a 8 gramas de frutanos parece ser suficiente para obter o efeito prebiótico.

Efeitos Promissores

A inulina e a oligofrutose também podem oferecer outros efeitos benéficos à saúde, como a redução dos níveis de triglicérides e LDL-colesterol sérico, a estimulação do sistema imune, a redução do risco de doenças colônicas e o aumento da absorção de cálcio (ROBERFROID, 2005).

3.2.3 Efeito sobre a Biodisponibilidade de Cálcio

A absorção do cálcio acontece por transporte ativo (via transcelular, absorção através das células intestinais) principalmente na porção inicial do jejuno, processo que ocorre através da proteína ligadora de cálcio dependente da vitamina D, a calbindina-D9k. Outro mecanismo de absorção é a difusão passiva (via paracelular, absorção entre as células intestinais), processo dependente do gradiente de concentração entre o lúmen intestinal e líquidos corporais, este mecanismo não é saturável e ocorre durante toda a extensão do intestino delgado e grosso (SCHOLZ-AHRENS e SCHREZENMEIR, 2007).

A fermentação colônica dos frutanos gera a produção de ácidos graxos de cadeia curta (essencialmente acetato, propionato e butirato) e outros ácidos orgânicos, como o lactato, e gases que são acompanhados pelo aumento do conteúdo cecal e redução do pH do lúmen intestinal, o que favorece a solubilidade e a difusão do cálcio através da mucosa colônica. A fermentação ocasiona mudanças estruturais na mucosa intestinal, uma vez que o butirato, a principal fonte de energia para a mucosa colônica, atua na proliferação celular (hipertrofia do ceco), aumentando a área absorptiva do epitélio intestinal. Relatos indicam que o ácido butírico estimula a expressão da calbindina-D9k, podendo também influenciar o transporte ativo do cálcio (SCHOLZ-AHRENS e SCHREZENMEIR, 2002; 2007).

Modelos Biológicos

Na última década, vários estudos vêm mostrando que o consumo de inulina e oligofrutose aumenta a absorção de cálcio e a DMO de ratos em crescimento, bem como aliviam a perda de massa óssea de ratas ovariectomizadas, modelo utilizado para simular a pós-menopausa (SCHOLZ-AHRENS e SCHREZENMEIR, 2002; 2007).

Estudos indicam que devido ao seu menor peso molecular, a oligofrutose é fermentada mais rapidamente, no cólon proximal. Enquanto que a inulina é um substrato fermentado mais lentamente, nas partes distais do cólon. Combinando os dois tipos de frutanos parece haver um efeito sinérgico na absorção de cálcio porque o processo fermentativo passa a ocorrer durante toda a extensão do cólon,

aumentando a área por onde o cálcio pode ser absorvido (COUDRAY et al., 2003; VAN LOO, 2004). Por isso, foi estimulado o estudo da mistura de inulina e oligofrutose em seres humanos.

Ensaio Clínicos

Ensaio de Curta Duração

Os ensaios de curta duração vêm mostrando que o consumo de frutanos pode aumentar a absorção de cálcio em indivíduos saudáveis (Quadro 1). Entretanto, os estudos diferem quanto o planejamento experimental, tempo de estudo, tipo e quantidade de frutano consumido, tipo de controle utilizado, faixa etária dos indivíduos e método utilizado para a avaliação da taxa de absorção de cálcio. Estes fatores podem ter contribuído para os diferentes resultados observados.

Possivelmente, no ensaio de VAN DEN HEUVEL *et al.* (1998) não foi observado efeito na taxa de absorção de cálcio, devido a coleta de urina por 24 horas ser um tempo muito curto para incluir o componente colonico da absorção de cálcio. Observa-se ampliação do tempo de coleta de urina nos demais estudos, com variação de 36 a 72 horas (Quadro 1).

A presença de indivíduos em diferentes estágios hormonais pode ser um fator responsável pela falta de efeito no estudo de TAHIRI et al. (2003). Quando as mulheres foram estratificadas por tempo na pós-menopausa, os autores observaram uma tendência de aumento da absorção de cálcio nas mulheres com mais de seis anos na menopausa. Foram observados resultados positivos no estudo de HOLLOWAY et al. (2007).

Além disso, a inulina e a oligofrutose, bem como a sua mistura não foram testadas sob as mesmas condições experimentais, o que permite apenas fazer hipóteses sobre um possível efeito sinérgico entre eles considerando os resultados obtidos em animais (COUDRAY et al., 2003; VAN LOO, 2004). No entanto, o consumo diário desta mistura resultou em aumento da absorção de cálcio de adolescentes (GRIFFIN et al., 2002, 2003; ABRAMS et al., 2005) e de mulheres na pós-menopausa (HOLLOWAY et al., 2007).

Quadro 1 – Resultados de estudos da avaliação do efeito da inulina e da oligofrutose na absorção de cálcio de indivíduos saudáveis.

Frutano (g/dia)	Tempo	Tipo de estudo	Indivíduos	Método utilizado	Absorção de cálcio	Referência
ADOLESCENTES						
15g Oligofrutose (3 doses de 5g/ dia) (Raftilose P95, Orafti)	9 dias de intervenção, 19 dias de <i>washout</i>	Ensaio randomizado cruzado, duplo-cego, placebo-controlado (sacarose)	12 meninos adolescentes (14-16 anos)	Quantificação de isótopos estáveis (⁴⁴ Ca, ⁴⁸ Ca) na urina de 36 horas	Aumento de 10,8 ±5,6% (p<0,05) em relação ao controle	Van Den Heuvel et al. (1999)
8g Oligofrutose (2 doses de 4g/dia) (Raftilose P95, Orafti)	3 semanas de intervenção, 2 semanas de <i>washout</i>	Ensaio randomizado cruzado, duplo-cego, placebo-controlado (sacarose)	30 meninas adolescentes (11-14 anos). Consumo de cálcio: 1500 mg/dia	Quantificação de isótopos estáveis (⁴⁶ Ca, ⁴² Ca) na urina de 48 horas	Não houve diferença entre os grupos (31,8 ±9,3% versus 31,8 ±10,0%; p=0,75)	Griffin et al. (2002)
8g Inulina+oligofrutose (2 doses de 4g/dia) (Raftilose Synergy1, Orafti)	3 semanas de intervenção, 2 semanas de <i>washout</i>	Ensaio randomizado cruzado, duplo-cego, placebo-controlado (sacarose)	29 meninas adolescentes (11-14 anos). Consumo de cálcio: 1500 mg/dia	Quantificação de isótopos estáveis (⁴⁶ Ca, ⁴² Ca) na urina de 48 horas	Aumento em relação ao controle (38,2 ±9,8% versus 32,3 ±9,8%; p=0,01)	
8g Inulina+oligofrutose (2 doses de 4g/dia) (Raftilose Synergy1, Orafti)	3 semanas de intervenção, 2 semanas de <i>washout</i>	Ensaio randomizado cruzado, duplo-cego, placebo-controlado (sacarose)	54 meninas adolescentes (10-15 anos). Consumo de cálcio: 1390 ±453 mg/dia	Quantificação de isótopos estáveis (⁴⁶ Ca, ⁴² Ca) na urina de 48 horas	Aumento em relação ao controle (36,1 ±9,8% versus 33,1 ±9,2%; p=0,027)	Griffin et al. (2003)
8g Inulina+oligofrutose (Dose única) (Raftilose Synergy1, Orafti)	8 semanas de intervenção	Ensaio clínico duplo-cego randomizado, placebo-controlado (maltodextrina)	98 meninos e meninas adolescentes (9-13 anos) 48 no grupo intervenção e 50 no controle. Consumo de cálcio: 900-1000 mg/dia	Quantificação de isótopos estáveis (⁴⁶ Ca, ⁴² Ca) na urina de 48 horas	Maior no grupo intervenção (38,5 ±1,2% versus 30,0 ±1,3%; p=0,001)	Abrams et al. (2005)
8g Inulina+oligofrutose (Dose única) (Raftilose Synergy1, Orafti)	1 ano de intervenção	Ensaio clínico duplo-cego randomizado, placebo-controlado (maltodextrina)	92 meninos e meninas adolescentes (9-13 anos) 47 no grupo intervenção e 45 no controle. Consumo de cálcio: 900-1000 mg/dia	Quantificação de isótopos estáveis (⁴⁶ Ca, ⁴² Ca) na urina de 48 horas	Maior no grupo intervenção (37,7 ±2,1% versus 31,7 ±2,3%; p=0,048)	

Frutano (g/dia)	Tempo	Tipo de estudo	Indivíduos	Método utilizado	Absorção de cálcio	Referência
ADULTOS JOVENS						
40g Inulina (produto não informado)	12 dias (2 dias de dieta controle, 14 dias de aumento progressivo do teor de fibra na dieta, e 12 dias de dieta controle + 40g de inulina)	Ensaio cruzado, quadrado latino, composto por três tratamentos (1- dieta controle 18g fibra/dia, 2 – inulina: dieta controle + 40g inulina/dia e 3- dieta controle + 40g de fibra de beterraba)	9 homens jovens (21,5 ±2,5 anos)	Balanço metabólico mineral	Aumento em relação ao controle (de 21,3 ±12,5% para 33,7 ±12,1%, p<0,001)	Coudray et al. (1997)
15g Oligofrutose (3 doses de 5g/ dia) (produto não informado)	21 dias de intervenção	Ensaio randomizado cruzado, duplo-cego, com quatro tratamentos (1- dieta + 15g de inulina/dia, 2- dieta + 15g de oligofrutose/dia, 3 – dieta + 15g de galactooligosacarídeo/dia, 4 - dieta controle)	12 homens jovens (20-30 anos)	Quantificação de isótopos estáveis (⁴⁴ Ca, ⁴⁸ Ca) na urina de 24 horas	Não houve diferença entre os grupos (26,3 ±1,9% versus 28,1 ±4,3%, p>0,05)	Van Den Heuvel et al. (1998)
15g Inulina (3 doses de 5g/ dia) (produto não informado)	21 dias de intervenção				Não houve diferença entre os grupos (25,8 ±2,3% versus 28,1 ±4,3%, p>0,05)	
MULHERES NA PÓS-MENOPAUSA						
10g Oligofrutose (2 doses de 5g/ dia) (produto não informado)	5 semanas de intervenção, 3 semanas de <i>washout</i>	Ensaio randomizado cruzado, duplo-cego, placebo-controlado (sacarose)	12 mulheres (50-70 anos, com mais de 2 anos na pós-menopausa, sem uso de terapia de reposição hormonal)	Quantificação de isótopo estável (⁴⁴ Ca,) nas fezes (coleta de 5 a 7 dias)	Não houve diferença entre os grupos (35,6 ±9,4% versus 36,5 ±8,5%, p>0,05)	Tahiri et al. (2003)
10g Inulina+oligofrutose (2 doses de 5g/ dia) (Raftilose Synergy1, Orafti)	6 semanas de intervenção, 6 semanas de <i>washout</i>	Ensaio randomizado cruzado, duplo-cego, placebo-controlado (maltodextrina)	15 mulheres (72±6 anos, com mais de 10 anos na pós-menopuasa, sem uso de terapia de reposição hormonal e drogas que interferem no metabolismo ósseo)	Quantificação de isótopos estáveis (⁴⁶ Ca, ⁴² Ca) na urina de 72 horas	Frutanos ocasionaram aumento (5,1 ±2,1%), o placebo ocasionou redução (3,3 ±2,2%), (p<0,05)	Holloway et al. (2007)

Ensaio de Longa Duração

ABRAMS et al. (2005) realizaram o único estudo de longa duração publicado até o momento. Trata-se de um ensaio clínico duplo-cego randomizado, com controle placebo. Participaram do estudo meninas e meninos pré-puberes (n=92, entre 9 e 13 anos) que consumiam níveis normais de cálcio (900-1000mg/ dia). Os indivíduos foram aleatoriamente divididos para receberem suplementação de 8g/dia de uma mistura de inulina e oligofrutose ou maltodextrina (placebo). A absorção de cálcio foi significativamente maior no grupo que consumiu os frutanos durante um ano de estudo (diferença: $5,9 \pm 2,8\%$), como mostra o Quadro 1. Resultando em maior agregação de cálcio no esqueleto para o grupo intervenção do que no controle (218 ± 10 mg/dia versus 189 ± 10 mg/dia, $p=0,04$). Também houve aumento significativo na densidade mineral óssea corpórea (0.047 ± 0.004 g/cm²/ano versus 0.032 ± 0.004 g/cm²/ano, $p=0,01$),

Posteriormente, os autores investigaram os dados dos 48 adolescentes que fizeram parte do grupo intervenção. Destes, 32 (67%) foram considerados sensíveis a intervenção com frutanos, ou seja, apresentaram aumento de pelo menos 3% da absorção de cálcio após 8 semanas de estudo (ABRAMS et al., 2007a). Os autores estimaram que 15g adicionais de cálcio podem ser depositados no esqueleto destes indivíduos. Essa quantidade representa cerca de 10-15% da taxa anual de cálcio que é depositada nos ossos, nesta faixa etária. O benefício nos indivíduos sensíveis a intervenção seria comparável a aumentar a ingestão dietética de cálcio em 250-320mg/dia. A sensibilidade a intervenção pode ser influenciada por fatores genéticos, pelo consumo usual de frutanos e outros aspectos relacionados a dieta, pela adesão a intervenção dentre outros fatores ainda não identificados (ABRAMS et al., 2007a).

ABRAMS et al., (2007b) realizaram um novo estudo com 13 adultos jovens (18-27 anos) que consumiram 8g/dia de inulina e oligofrutose durante oito semanas. Oito (62%) indivíduos responderam a intervenção (aumento de 3% da absorção de cálcio), e foram submetidos a um teste para avaliar a cinética de absorção de cálcio durante 26 horas. Considerando que a absorção colônica de cálcio se inicia 7 horas após a ingestão, os autores concluíram que a absorção colônica é responsável por $69,6 \pm 18,6\%$ do aumento da absorção de cálcio ocasionada pelo consumo dos

frutanos, fortalecendo as hipóteses elaboradas com base nos modelos animais. Ou seja, este benefício, pode ser especialmente importante em condições fisiológicas ou anatômicas em que a absorção de cálcio no intestino delgado está prejudicada. Assim, acreditamos que o consumo destes frutanos pode trazer benefícios para os indivíduos celíacos.

No entanto, são necessários mais ensaios clínicos bem delineados para a compreensão dos mecanismos de ação dos frutanos inulina e oligofrutose no aumento da absorção de cálcio, e para avaliar se os efeitos persistem em longo prazo e se podem ser considerados como benefícios reais para a saúde óssea; e também para testar se estes efeitos poderiam beneficiar indivíduos com outras faixas etárias e em diferentes condições fisiológicas. Ainda é necessário avaliar o efeito destes compostos em diferentes matrizes alimentícias de forma a conhecer a sua estabilidade e bioatividade.

3.2.4 Aplicação em Alimentos

Os frutanos inulina e oligofrutose vêm sendo incorporados à formulação de diferentes tipos de produtos, buscando tanto a sua alegação como alimento funcional, ou a melhoria de seu valor nutritivo e de suas propriedades organolépticas.

Estes frutanos estão disponíveis comercialmente como ingredientes alimentícios na forma de pós ou de xaropes. A oligofrutose apresenta alta solubilidade e propriedades tecnológicas que permitem o seu uso com o substituto de açúcares; para isso, é normalmente utilizada em combinação com edulcorantes de alta intensidade. A inulina apresenta capacidade de formação de gel, e aumenta a estabilidade de espumas e emulsões. Estas propriedades permitem o seu uso como substituto de gorduras, sem comprometer a textura e o sabor de vários tipos de alimentos (FRANCK, 2002). Quando utilizados em substituição a açúcares e gorduras, os frutanos podem contribuir para a redução do valor calórico do produto, uma vez que fornecem 1,5 kcal/g (6,3 kJ/g) (ROBERFROID, 1999). Os frutanos podem fornecer energia através da absorção dos produtos de sua fermentação (ácidos graxos de cadeia curta) no cólon.

A incorporação destes frutanos pode contribuir para o aumento do teor de fibra alimentar dos produtos, como foi observado em formulação de pães (PERESSINI e SENSIDONI, 2009), massas alimentícias (BRENNAN et al., 2004), sobremessas lácteas (GONZÁLEZ-TOMÁS et al., 2009), *snacks* extrusados (CAPRILES et al., 2009b), dentre outros.

A inulina e a oligofrutose foram utilizados como substituto de gordura na formulação de mortadela (GARCIA et al., 2006), iogurte (BRENNAN e TUDORICA, 2008), *snacks* extrusados (CAPRILES et al., 2009b), e de açúcares em barras de cereais (DUTCOSKY et al., 2006), gerando produtos aceitos sensorialmente.

Estes frutanos também podem ser combinados com ingredientes probióticos para gerar alimentos com potencial simbiótico, tais como iogurte (ARYANA e MCGREW, 2007), queijo (BURITI et al., 2007) e petit-suisse (CARDARELLI et al., 2008).

Independentemente do tipo de alimento, a determinação do teor de frutanos em produtos enriquecidos e processados é essencial para conhecer a estabilidade destes ingredientes durante o processamento e se os níveis presentes são potencialmente relevantes para a saúde humana.

3.3 AMARANTO

3.3.1 Aspectos Históricos

O amaranto é originário provavelmente das Américas do Sul e Central. Representou a base da dieta de diversas civilizações pré-colombianas, dentre estas os Maias, Incas e Astecas; além de ser considerado um alimento sagrado utilizado em rituais religiosos. No entanto, no período colonial, em consequência da pressão exercida pelos espanhóis para erradicar as cerimônias pagãs, o consumo e cultivo do amaranto foram proibidos. Assim, essa cultura quase desapareceu, mantendo-se espalhada apenas em algumas regiões andinas de forma incipiente (SAUNDERS e BECKER, 1984; TEUTONICO e KNORR, 1985).

Em 1975, o amaranto ressurgiu mundialmente, quando a *National Academy of Sciences* o considera como uma das culturas mais promissoras para alimentar a humanidade (SAUNDERS e BECKER, 1984; TEUTONICO e KNORR, 1985). Desde então houve um significativo aumento na atividade de pesquisa envolvendo o amaranto. Vários estudos vêm apontando os benefícios nutricionais e funcionais deste alimento, e por isso, atualmente têm-se áreas de cultivo distribuídas em todos os continentes.

Recentemente o amaranto foi adaptado ao clima e solo brasileiros pela Embrapa-Cerrados (Planaltina – DF), recebendo a denominação *Amaranthus cruentus* L., variedade BRS - Alegria (SPEHAR et al., 2003; TEIXEIRA et al., 2003). O nome alegria refere-se a um confeito mexicano preparado com grãos de amaranto estourados e unidos com xarope de glicose ou caramelo (BREENE, 1991).

3.3.2 Aspectos Botânicos

O amaranto é um gênero botânico (*Amaranthus*), que está inserido na classe das dicotiledôneas na família Amaranthaceae e possui mais de 60 espécies, sendo três delas as mais estudadas e cultivadas: *A. cruentus*, *A. caudatus* e *A. hypocondriacus*. Por compartilhar algumas de suas características e propriedades com os cereais, é chamado de pseudocereal (SAUNDERS e BECKER, 1984; TEUTONICO e KNORR, 1985).

A planta apresenta capacidade de adaptação a diferentes condições de solo e clima, podendo ser produzida desde ao nível do mar até em altitudes superiores a 3.500 m (TEIXEIRA et al., 2003). As diferentes espécies de amaranto são morfologicamente semelhantes, com caule principal alcançando até 2,5 m de altura, e apresentam folhas largas e a inflorescência terminal é uma panícula de diferentes cores. Os grãos são pequenos e de forma lenticular (cerca de 1 a 1,5 mm de diâmetro e 0,5 mm de espessura, pesando de 0,5 – 1,2 mg), com coloração variada, que pode ser branca, bege, amarela, rosada, vermelha, marrom e preta (SAUNDERS e BECKER, 1984; TEIXEIRA et al., 2003). O grão de *A. cruentus*, utilizado neste estudo, apresenta coloração bege.

3.3.3 Aspectos Nutricionais e Funcionais do Grão de Amaranto

O grão de *A. cruentus* apresenta cerca de 60% de amido, 15% de proteína, 13% de fibra alimentar, 8% de lipídeos e 4% de cinzas (GAMEL et al., 2006; CAPRILES et al., 2008a); destacando-se por apresentar teores de proteína, de fibra e de vitaminas e minerais superiores aos observados na maioria dos grãos de cereais (ESCUDERO et al., 2004).

O teor protéico e o seu perfil de aminoácidos fazem com que seja uma atrativa fonte protéica, apresenta conteúdo expressivo de aminoácidos essenciais, especialmente lisina (5%) e aminoácidos sulfurados (4%) (ESCUDERO et al., 2004; MENDONÇA et al., 2009). Quanto à fração lipídica observam-se elevados teores de ácidos graxos insaturados, representando cerca de 75% do óleo de amaranto, além de esqualeno (5 – 12%), um composto associado a efeitos hipocolesterolêmicos e anticarcinogênicos (ESCUDERO et al., 2004; GAMEL et al., 2007; RODAS e BRESSANI, 2009). Algumas substâncias presentes em sua composição podem apresentar atividade antioxidante, tais como o esqualeno, os tocoferóis, os tocotrienóis, os flavonóides e os compostos fenólicos (QUEIROZ et al., 2009).

O grão de amaranto apresenta baixos teores de fatores antinutricionais. Estudos indicam que estes são termolábeis (CHAVEZ-JAUREGUI et al., 2000; GAMEL et al., 2004). Assim, recomenda-se o consumo do grão de amaranto devidamente processado.

Foi observado em diferentes modelos biológicos o efeito hipocolesterolêmico do grão de amaranto; sendo este associado a diversos compostos presentes em sua composição, como o esqualeno, a fibra alimentar, os tocotrienóis, os compostos isoprenóides e a proteína (PLATE e ARÊAS, 2002; MENDONÇA et al., 2009). No entanto, ensaios clínicos bem delineados são necessários para a avaliação deste efeito potencial em seres humanos.

3.3.4 Uso do Grão de Amaranto na Alimentação Humana

Moagem

O grão de *A. cruentus* (Figura 3) apresenta basicamente duas partes distintas: a fração embrião-casca, que representa aproximadamente 26% do grão, e contém altos teores de proteína, fibra alimentar, lipídeos e cinzas; e o perisperma, que corresponde a 74% do grão, e contém principalmente amido (BETSCHART et al., 1981).

Figura 3 – Ilustração do grão de *A. cruentus* em corte transversal e longitudinal. Fonte: Adaptado de IRVING et al. (1981).

Devido ao pequeno tamanho deste grão, tradicionalmente tem-se realizado a sua moagem para obtenção da farinha integral. No entanto, alguns pesquisadores vêm investigando a moagem fracionada visando separar o germe (ou embrião), o perisperma e o farelo do grão de amaranto e assim obter farinhas ricas em proteína e lipídeos, amido e fibra alimentar, respectivamente (TOSI et al., 2001, 2002).

Processamento Térmico

Os grãos podem ser utilizados crus, processados ou moídos para serem consumidos como suspensão com água ou leite; ou serem incorporados em diversas preparações, tais como produtos de panificação, pudins, mingaus, massas alimentícias, bebidas e confeitados (BREENE, 1991; BRESSANI, 1998).

Os processos de cocção, explosão, torração, extrusão e laminação do grão de amaranto são viáveis para seu emprego culinário ou industrial devido as suas características de uniformidade e curto tempo de produção. Estes processamentos preservam o valor nutritivo do grão de amaranto (CAPRILES et al., 2008a) e aumentam o aproveitamento de sua proteína (BRESSANI, 1998), e geram produtos com atividade antioxidante (QUEIROZ et al., 2009). Os produtos obtidos também podem ser utilizados para a obtenção de farinhas pregelatinizadas, no entanto, ainda é necessário caracterizá-las visando a sua aplicação tecnológica.

Desenvolvimento de Produtos

Apesar dos benefícios nutricionais e do seu potencial como alimento funcional, o amaranto ainda é um alimento pouco difundido no Brasil. Para o aumento do consumo desta matéria prima e, conseqüentemente, para a sua introdução nas práticas dietéticas atuais é preconizada a utilização da farinha do grão de amaranto misturada à farinha de trigo, arroz ou milho em preparações convencionais (CAPRILES et al., 2006). Este tipo de abordagem vem mostrando o grande potencial do amaranto na panificação, melhorando o valor nutritivo de pães, biscoitos e bolos, gerando produtos aceitos sensorialmente (CAPRILES et al., 2006, 2008b).

Outra aplicação interessante é na elaboração de produtos de conveniência, tais como *snacks* extrusados (CHAVEZ-JAUREGUI et al., 2000, 2003), cereais matinais extrusados e barras de cereais (COELHO, 2006) e granolas.

Novos estudos estão sendo realizados no Laboratório de Bioquímica e Propriedades Funcionais dos Alimentos (FSP/USP) para caracterizar as propriedades tecnológicas, nutricionais e funcionais do óleo, do amido e do isolado protéico de amaranto, visando a incorporação destes ingredientes na alimentação humana.

Produtos para Celíacos

O grão de amaranto é um alimento isento de glúten (MARCÍLIO et al., 2005; NEMEDI et al., 2007). Esta característica associada ao seu elevado valor nutritivo,

fazem com que o seu consumo venha sendo recomendado para celíacos (KUPPER, 2005).

Alguns pesquisadores já comprovaram a viabilidade da utilização do grão de amaranto na elaboração de produtos isentos de glúten e aceitos sensorialmente, tais como biscoitos amanteigados (TOSI et al., 1996), biscoitos do tipo cookie (MARCÍLIO et al., 2005); bem como a sua incorporação na formulação de pão sem glúten (GAMBUS et al., 2002).

No entanto, considerando a elevada prevalência de indivíduos celíacos diabéticos (MURRAY, 2005) e o fato do grão de amaranto processado ocasionar elevada resposta glicêmica (CAPRILES et al., 2008a), novos estudos devem ser realizados visando o desenvolvimento de abordagens para a redução da resposta glicêmica de produtos e preparações à base de amaranto.

3.4 REFERÊNCIAS

- ABRAMS, S. *et al.* Young adolescents who respond to an inulin-type fructan substantially increase total absorbed calcium and daily calcium accretion to the skeleton. *J Nutr*, v. 137, n. 11 Suppl, p. 2524S-2526S, 2007a.
- ABRAMS, S. *et al.* A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *Am J Clin Nutr*, v. 82, n. 2, p. 471-476, 2005.
- ABRAMS, S. *et al.* An inulin-type fructan enhances calcium absorption primarily via an effect on colonic absorption in humans. *J Nutr*, v. 137, n. 10, p. 2208-2212, 2007b.
- ARYANA, K.; MCGREW, P. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. *LWT-Food Science and Technology*, v. 40, n. 10, p. 1808-1814, 2007.
- BAI, J. *et al.* Long-term effect of gluten restriction on bone mineral density of patients with coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther*, v. 11, n. 1, p. 157-64, 1997.
- BETSCHART, A. *et al.* *Amaranthus cruentus* - milling characteristics, distribution of nutrients within seed components, and the effects of temperature on nutritional quality. *J Food Sci*, v. 46, n. 4, p. 1181-1187, 1981.
- BRENE, W. Food uses of grain amaranth. *Cereal Foods World*, v. 36, n. 5, p. 426-430, 1991.
- BRENNAN, C. *et al.* Inulin-enriched pasta: effects on textural properties and starch degradation. *Food Chem*, v. 86, n. 2, p. 189-193, 2004.
- BRENNAN, C.; TUDORICA, C. Carbohydrate-based fat replacers in the modification of the rheological, textural and sensory quality of yoghurt:

- comparative study of the utilisation of barley beta-glucan, guar gum and inulin. *Int J Food Sci Tech*, v. 43, n. 5, p. 824-833, 2008.
- BRESSANI, R. Amaranth: the nutritive value and potential uses of the grain and by products. *Food Nutr Bull*, v. 10, p. 49-59, 1998.
- BURITI, F. *et al.* Synbiotic potential of fresh cream cheese supplemented with inulin and *Lactobacillus paracasei* in co-culture with *Streptococcus thermophilus*. *Food Chem*, v. 104, n. 4, p. 1605-1610, 2007.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Efeito da adição de amaranto na composição e na aceitabilidade do biscoito tipo cookie e do pão de forma. *Alimentos e Nutrição*, v. 17, n. 3, p. 269-274, 2006.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. *J Food Sci*, v. 73, n. 7, p. H160-4, 2008a.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Physical and sensory properties of regular and reduced-fat pound cakes with added amaranth flour. *Cereal Chem*, v. 85, n. 5, p. 614-618, 2008b.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Metabolic osteopathy in celiac disease: importance of a gluten-free diet. *Nutr Rev*, v. 67, n. 10, p. 599-606, 2009a.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Effect of fructans-based fat replacer on chemical composition, starch digestibility and sensory acceptability of corn snacks. *Int J Food Sci Tech*, v. 44, n. 10, p. 1895-1901, 2009b.
- CARACENI, M. *et al.* Bone and mineral metabolism in adult celiac disease. *Am J Gastroenterol*, v. 83, n. 3, p. 274-277, 1988.
- CARDARELLI, H. *et al.* Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic petit-suisse cheese. *LWT-Food Science and Technology*, v. 41, n. 6, p. 1037-1046, 2008.
- CATALDO, F.; MONTALTO, G. Celiac disease in the developing countries: a new and challenging public health problem. *World J Gastroenterol*, v. 13, n. 15, p. 2153-2159, 2007.
- CHAVEZ-JAUREGUI, R. *et al.* Extrusion cooking process for amaranth (*Amaranthus caudatus* L.). *J Food Sci*, v. 65, n. 6, p. 1009-1015, 2000.
- COELHO, K. D. *Desenvolvimento e avaliação da aceitação de cereais matinais e barras de cereais à base de amaranto (Amaranthus cruentus L).* (Mestrado) - PRONUT (FCF/FEA/FSP). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- COLSTON, K. *et al.* Localisation of vitamin D receptor in normal human duodenum and in patients with coeliac disease. *Gut*, v. 35, n. 9, p. 1219-1225, 1994.
- CORAZZA, G. *et al.* Bones in coeliac disease: diagnosis and treatment. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, v. 19, n. 3, p. 453-465, 2005.
- COUDRAY, C. *et al.* Effect of soluble or partly soluble dietary fibres supplementation on absorption and balance of calcium, magnesium, iron and zinc in healthy young men. *Eur J Clin Nutr*, v. 51, n. 6, p. 375-380, 1997.
- COUDRAY, C. *et al.* Effects of inulin-type fructans of different chain length and type of branching on intestinal absorption and balance of calcium and magnesium in rats. *Eur J Nutr*, v. 42, n. 2, p. 91-98, 2003.
- DUTCOSKY, S. *et al.* Combined sensory optimization of a prebiotic cereal product using multicomponent mixture experiments. *Food Chem*, v. 98, n. 4, p. 630-638, 2006.

- ESCUADERO, N. *et al.* Comparison of the chemical composition and nutritional value of *Amaranthus cruentus* flour and its protein concentrate. *Plant Foods Hum Nutr*, v. 59, n. 1, p. 15-21, 2004.
- FASANO, A. Clinical presentation of celiac disease in the pediatric population. *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S68-73, 2005.
- FRANCK, A. Technological functionality of inulin and oligofructose. *Br J Nutr*, v. 87, p. S287-S291, 2002.
- GAMBUS, H. *et al.* The research on quality improvement of gluten-free bread by amaranthus flour addition. *Zywnosc*, v. 9, p. 99-112, 2002.
- GAMEL, T. *et al.* Nutritional study of raw and popped seed proteins of *Amaranthus caudatus* L and *Amaranthus cruentus* L. *J Sci Food Agr*, v. 84, n. 10, p. 1153-1158, 2004.
- GAMEL, T. *et al.* Seed treatments affect functional and antinutritional properties of amaranth flours. *J Sci Food Agr*, v. 86, n. 7, p. 1095-1102, 2006.
- GAMEL, T. *et al.* Characterization of amaranth seed oils. *J Food Lipids*, v. 14, n. 3, p. 323-334, 2007.
- GANDOLFI, L. *et al.* Prevalence of celiac disease among blood donors in Brazil. *Am J Gastroenterol*, v. 95, n. 3, p. 689-92, 2000.
- GARCIA, M. *et al.* Effect of inulin on the textural and sensory properties of mortadella, a Spanish cooked meat product. *Int J Food Sci Tech*, v. 41, n. 10, p. 1207-1215, 2006.
- GIBSON, G. *et al.* Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev*, v. 17, n. 2, p. 259-75, 2004.
- GONZÁLEZ-TOMÁS, L. *et al.* Inulin-enriched dairy desserts: physicochemical and sensory aspects. *J Dairy Sci*, v. 92, n. 9, p. 4188-99, 2009.
- GREEN, P. The many faces of celiac disease: clinical presentation of celiac disease in the adult population. *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S74-8, 2005.
- GREEN, P. *et al.* Diagnosis of coeliac disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, v. 19, n. 3, p. 389-400, 2005.
- GRIFFIN, I. *et al.* Non-digestible oligosaccharides and calcium absorption in girls with adequate calcium intakes. *Br J Nutr*, v. 87, p. S187-S191, 2002.
- GRIFFIN, I. *et al.* Enriched chicory inulin increases calcium absorption mainly in girls with lower calcium absorption. *Nutr Res*, v. 23, n. 7, p. 901-909, 2003.
- HOLLOWAY, L. *et al.* Effects of oligofructose-enriched inulin on intestinal absorption of calcium and magnesium and bone turnover markers in postmenopausal women. *Br J Nutr*, v. 97, n. 2, p. 365-372, 2007.
- IRVING, D. *et al.* Morphological-studies on *amaranthus-cruentus*. *J Food Sci*, v. 46, n. 4, p. 1170-1174, 1981.
- JOHANSSON, G. *et al.* The prevalence of celiac disease in blood donors in Iceland. *Dig Dis Sci*, v. 54, n. 2, p. 348-50, 2009.
- KAGNOFF, M. Overview and pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S10-8, 2005.
- KEARNS, A. *et al.* Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. *Endocr Rev*, v. 29, n. 2, p. 155-192, 2008.
- KEMPPAINEN, T. *et al.* Bone recovery after a gluten-free diet: a 5-year follow-up study. *Bone*, v. 25, n. 3, p. 355-360, 1999a.

- KEMPPAINEN, T. *et al.* Osteoporosis in adult patients with celiac disease. *Bone*, v. 24, n. 3, p. 249-255, 1999b.
- KINSEY, L. *et al.* A dietary survey to determine if patients with coeliac disease are meeting current healthy eating guidelines and how their diet compares to that of the British general population. *Eur J Clin Nutr*, v. 62, n. 11, p. 1333-1342, 2008.
- KOLIDA, S.; GIBSON, G. Prebiotic capacity of inulin-type fructans. *J Nutr*, v. 137, n. 11 Suppl, p. 2503S-2506S, 2007.
- KUPPER, C. Dietary guidelines and implementation for celiac disease. *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S121-7, 2005.
- LEE, A.; NEWMAN, J. Celiac diet: its impact on quality of life. *J Am Diet Assoc*, v. 103, n. 11, p. 1533-5, 2003.
- MARCÍLIO, R. *et al.* Avaliação da farinha de amaranto na elaboração de biscoito sem glúten do tipo cookie. *Brazilian J Food Technol*, v. 8, n. 2, p. 175-181, 2005.
- MARSHALL, D. *et al.* Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ*, v. 312, n. 7041, p. 1254-1259, 1996.
- MAUTALEN, C. *et al.* Effect of treatment on bone mass, mineral metabolism, and body composition in untreated celiac disease patients. *Am J Gastroenterol*, v. 92, n. 2, p. 313-318, 1997.
- MELO, S. *et al.* Prevalence and demographic characteristics of celiac disease among blood donors in Ribeirão Preto, State of São Paulo, Brazil. *Dig Dis Sci*, v. 51, n. 5, p. 1020-1025, 2006.
- MENDONÇA, S. *et al.* Amaranth protein presents cholesterol-lowering effect. *Food Chem*, v. 116, n. 3, p. 738-742, 2009.
- MEYER, D. *et al.* Osteoporosis in a north american adult population with celiac disease. *Am J Gastroenterol*, v. 96, n. 1, p. 112-119, 2001.
- MORA, S. *et al.* Bone density and bone metabolism are normal after long-term gluten-free diet in young celiac patients. *Am J Gastroenterol*, v. 94, n.2, p. 398-403, 1999.
- MURRAY, J. Celiac disease in patients with an affected member, type 1 diabetes, iron-deficiency, or osteoporosis? *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S52-56, 2005.
- MUZZO, S. *et al.* Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone mineral density of celiac children. *Nutr Res*, v. 20, n. 9, p. 1241-1247, 2000.
- NEMEDI, E. *et al.* Detection of gluten contamination with PCR method. *ACTA Alimentaria*, v. 36, n. 2, p. 241-248, 2007.
- NERI, E. *et al.* Human tissue transglutaminase ELISA and an old study: a revision of the blood donor screening study for coeliac disease in the USA. *Scand J Gastroenterol*, v. 39, n. 2, p. 195-197, 2004.
- OLMOS, M. *et al.* Systematic review and meta-analysis of observational studies on the prevalence of fractures in coeliac disease. *Dig Liver Dis*, v. 40, n. 1, p. 46-53, 2008.
- PAZIANAS, M. *et al.* Calcium absorption and bone mineral density in celiacs after long term treatment with gluten-free diet and adequate calcium intake. *Osteoporos Int*, v. 16, n. 1, p. 56-63, 2005.

- PEREIRA, M. *et al.* Prevalence of celiac disease in an urban area of Brazil with predominantly European ancestry. *World J Gastroenterol*, v. 12, n. 40, p. 6546-6550, 2006.
- PERESSINI, D.; SENSIDONI, A. Effect of soluble dietary fibre addition on rheological and breadmaking properties of wheat doughs. *J Cereal Sci*, v. 49, n. 2, p. 190-201, 2009.
- PLATE, A.; ARÊAS, J. Cholesterol-lowering effect of extruded amaranth (*Amaranthus caudatus* L.) in hypercholesterolemic rabbits. *Food Chem*, v. 76, n. 1, p. 1-6, 2002.
- QUEIROZ, Y. S. *et al.* Efeito do processamento na atividade antioxidante do grão de amaranto (*Amaranthus cruentus* L. BRS-Alegria). *Arch Latin Nutri*, in press, 2009.
- REWERS, M. Epidemiology of celiac disease: what are the prevalence, incidence, and progression of celiac disease? *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S47-51, 2005.
- ROBERFROID, M. Caloric value of inulin and oligofructose. *J Nutr*, v. 129, n. 7 Suppl, p. 1436S-7S, 1999.
- ROBERFROID, M. Introducing inulin-type fructans. *Br J Nutr*, v. 93 Suppl 1, p. S13-25, 2005.
- ROBERFROID, M.; DELZENNE, N. Dietary fructans. *Annu Rev Nutr*, v. 18, p. 117-143, 1998.
- ROBERFROID, M. *et al.* The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. *J Nutr*, v. 128, n. 1, p. 11-19, 1998.
- RODAS, B.; BRESSANI, R. The oil, fatty acid and squalene content of varieties of raw and processed grain amaranth. *Arch Latin Nutri*, v. 59, n. 1, p. 82-87, 2009.
- SAUNDERS, R. M.; BECKER, R. Amaranth: a potential food and feed recourse. *Adv Cereal Sci Technol*, v. 6, p. 39, 1984.
- SCHOLZ-AHRENS, K.; SCHREZENMEIR, J. Inulin, oligofructose and mineral metabolism - experimental data and mechanism. *Br J Nutr*, v. 87, p. S179-S186, 2002.
- SCHOLZ-AHRENS, K.; SCHREZENMEIR, J. Inulin and oligofructose and mineral metabolism: The evidence from animal trials. *J Nutr*, v. 137, n. 11, p. 2513S-2523S, 2007.
- SCOTT, E. *et al.* Guidelines for osteoporosis in coeliac disease and inflammatory bowel disease. British Society of Gastroenterology. *Gut*, v. 46 Suppl 1, p. i1-8, 2000.
- SDEPANIAN, V. *et al.* Bone mineral density of the lumbar spine in children and adolescents with celiac disease on a gluten-free diet in São Paulo, Brazil. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, v. 37, n. 5, p. 571-576, 2003.
- SHAHBAZKHANI, B. *et al.* High prevalence of coeliac disease in apparently healthy Iranian blood donors. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, v. 15, n. 5, p. 475-478, 2003.
- SHAMIR, R. *et al.* The use of a single serological marker underestimates the prevalence of celiac disease in Israel: a study of blood donors. *Am J Gastroenterol*, v. 97, n. 10, p. 2589-2594, 2002.
- SPEHAR, C. *et al.* Amaranth BRS Alegria: alternative for diversification of cropping systems. *Pesq Agropec Bras*, v. 38, n. 5, p. 659-663, 2003.

- SUGAI, E. *et al.* Bone-specific antibodies in sera from patients with celiac disease: characterization and implications in osteoporosis. *J Clin Immunol*, v. 22, n. 6, p. 353-362, 2002.
- TAHIRI, M. *et al.* Effect of short-chain fructooligosaccharides on intestinal calcium absorption and calcium status in postmenopausal women: a stable-isotope study. *Am J Clin Nutr*, v. 77, n. 2, p. 449-457, 2003.
- TARANTA, A. *et al.* Imbalance of osteoclastogenesis-regulating factors in patients with celiac disease. *J Bone Miner Res*, v. 19, n. 7, p. 1112-1121, 2004.
- TAU, C. *et al.* Bone mineral density in children with celiac disease. Effect of a Gluten-free diet. *Eur J Clin Nutr*, v. 60, n. 3, p. 358-363, 2006.
- TEIXEIRA, D. *et al.* Agronomic characterization of amaranth for cultivation in the Brazilian Savannah. *Pesq Agropec Bras*, v. 38, n. 1, p. 45-51, 2003.
- TEUTONICO, R.; KNORR, D. Amaranth: Composition, properties and applications of a rediscovered food crop. *Food Tech*, v. 39, n. 4, p. 49-59, 1985.
- THOMPSON, T. *et al.* Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium and grain foods? *J Hum Nutr Diet*, v. 18, n. 3, p. 163-169, 2005.
- TOSI, E. *et al.* Dietary fiber obtained from amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain by differential milling. *Food Chem*, v. 73, n. 4, p. 441-443, 2001.
- TOSI, E. *et al.* Whole and defatted hyperproteic amaranth flours tested as wheat flour supplementation in mold breads. *LWT-Food Science and Technology*, v. 35, n. 5, p. 472-475, 2002.
- TOSI, E. A. *et al.* Utilización de la harina integral de amaranto (*Amaranthus cruentus*) en la fabricación de galletas para celíacos. *Alimentaria*, n. 269, p. 49-51, 1996.
- VALDIMARSSON, T. *et al.* Three years' follow-up of bone density in adult coeliac disease: significance of secondary hyperparathyroidism. *Scand J Gastroenterol*, v. 35, n. 3, p. 274-80, 2000.
- VAN DEN HEUVEL, E. *et al.* Oligofructose stimulates calcium absorption in adolescents. *Am J Clin Nutr*, v. 69, n. 3, p. 544-548, 1999.
- VAN DEN HEUVEL, E. *et al.* Nondigestible oligosaccharides do not interfere with calcium and nonheme-iron absorption in young, healthy men. *Am J Clin Nutr*, v. 67, n. 3, p. 445-451, 1998.
- VAN LOO, J. The specificity of the interaction with intestinal bacterial fermentation by prebiotics determines their physiological efficacy. *Nutr Res Rev*, v. 17, n. 1, p. 89-98, JUN 2004 2004.
- ZANCHI, C. *et al.* Bone metabolism in celiac disease. *J Pediatr*, v. 153, n. 2, p. 262-265, 2008.
- WHO - World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. World Health Organ Tech Rep Ser. 1994;843:1-129.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver produtos à base de amaranto enriquecidos com frutanos, para intervenção nutricional em celíacos.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✦ Desenvolver *snacks*, barras e pães sem glúten à base de amaranto enriquecidos com quatro gramas de inulina e oligofrutose por porção.
- ✦ Investigar o efeito do processamento sobre a estabilidade dos frutanos.
- ✦ Maximizar o valor nutritivo e a aceitabilidade dos produtos.
- ✦ Determinar a resposta glicêmica dos produtos desenvolvidos.
- ✦ Avaliar a estabilidade dos produtos durante o período de armazenamento.

5 CAPÍTULOS

CAPÍTULO 1. Desenvolvimento e caracterização de *snacks* à base de amaranto enriquecidos com frutanos

RESUMO

Os celíacos têm dificuldade em dar sequência ao tratamento dietético devido à escassez de produtos isentos de glúten, tornando fundamental o desenvolvimento de produtos para esta população. Foram elaborados *snacks* à base de milho e amaranto (50, 75 e 100%) aos quais foram adicionados 13,3% de frutanos (mistura de inulina e oligofrutose) na etapa de aromatização. Os *snacks* foram condimentados nos sabores bacon e pizza, embalados e armazenados durante 135 dias a temperatura ambiente. Os *snacks* apresentaram vantajosa composição em relação aos similares comerciais (redução do valor calórico, aumento dos teores de proteínas e de fibras e a isenção de lipídeos). A vida de prateleira de 135 dias só pode ser atribuída aos *snacks* obtidos a partir da combinação de milho e amaranto (50%) nos aromas bacon e pizza e o *snack* elaborado com 75% de amaranto no aroma pizza por apresentarem e manterem alta aceitabilidade (valores da escala hedônica ≥ 6) pelos consumidores durante todo o período. Esses *snacks* se apresentam como uma alternativa para se oferecer a população um alimento que combine conveniência e nutrição. E podem contribuir para o aumento da oferta de produtos isentos de glúten, possibilitando uma maior variação e adequação da dieta dos celíacos.

INTRODUÇÃO

A doença celíaca afeta aproximadamente 1% da população ocidental, não tem cura e apresenta como único tratamento a dieta isenta de glúten que deve ser seguida por toda a vida, prevenindo uma série de complicações, como os prejuízos nutricionais e os cânceres do tubo digestivo (KAGNOFF, 2005; REWERS, 2005).

Frequentemente observa-se reduzida densidade mineral óssea em crianças, adolescentes e adultos celíacos. Por isso, intervenções com a suplementação de cálcio e vitamina D já foram realizadas (CARACENI et al., 1988; MAUTALEN et al., 1997; MUZZO et al., 2000); no entanto, sem benefício considerável, possivelmente devido aos menores níveis de transportadores de cálcio (proteína calbindina-D9k) no enterócito desses indivíduos (COLSTON et al., 1994). Assim novas abordagens terapêuticas devem ser testadas nesta população. Dentre elas, a

ingestão de compostos com potencial de aumentar a absorção de cálcio e a densidade mineral óssea, como a mistura de frutanos inulina e oligofrutose (GRIFFIN et al., 2002, 2003; ABRAMS et al., 2005, 2007a; HOLLOWAY et al., 2007). Estes frutanos são fibras alimentares solúveis, que podem contribuir com o aumento da absorção de cálcio através da absorção colônica (ABRAMS et al., 2007b); efeito que pode ser especialmente importante para os celíacos, uma vez que a absorção de cálcio no intestino delgado está prejudicada nestes indivíduos.

Os celíacos têm dificuldades em dar sequência ao tratamento dietético devido à escassez de produtos isentos de glúten, tornando fundamental o desenvolvimento de produtos para esta população. Isso pode ser feito por meio da incorporação de ingredientes que contribuem para o aumento da absorção de cálcio, como os frutanos inulina e oligofrutose (ABRAMS et al., 2005), e matérias primas isentas de glúten e com valor nutritivo agregado, como o grão de amaranto.

O grão de *Amaranthus cruentus* L. apresenta cerca de 60% de amido, 15% de proteína, 13% de fibra, 8% de lipídeos e 4% de cinzas (CAPRILES et al., 2008). Estudos indicam o elevado potencial do amaranto na elaboração de *snacks*, obtendo-se produtos aceitos sensorialmente (CHAVEZ-JAUREGUI et al., 2000, 2003, 2009). *Snacks* são produtos prontos para o consumo, obtidos por meio da cocção por extrusão de farinhas amiláceas, seguida de secagem e aromatização. Durante o processo de extrusão a matéria prima é rapidamente cozida e texturizada por ação combinada da umidade, da pressão, da temperatura e do cisalhamento mecânico (MITCHELL e ARÊAS, 1992). Para se tornar palatável e aceito para o consumo o produto é aromatizado. Nesta etapa, é possível incorporar a mistura de inulina e oligofrutose à formulação, sem prejudicar a aceitabilidade do *snack* (CAPRILES et al., 2009), obtendo-se um produto enriquecido com quatro gramas de frutanos por porção (30g), metade da quantidade consumida diariamente que foi responsável pelo aumento da absorção de cálcio e da densidade mineral óssea de adolescentes saudáveis (ABRAMS et al., 2005, 2007a).

O objetivo deste trabalho foi o de desenvolver *snacks* à base de amaranto enriquecidos com frutanos, e caracteriza-los quanto a composição centesimal e a estabilidade sensorial durante o armazenamento; visando contribuir para a maior variação e adequação da dieta dos celíacos.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Foram utilizados *grits* de milho degerminado (*Zea mays* L.), aroma de bacon e de pizza (Raí Ingredients Comercial Ltda, São Paulo, Brasil), sal micronizado (Norte Salineira S.A. – Indústria e Comércio, Rio Grande do Norte, Brasil), água mineral e a mistura de inulina e oligofrutose (Raftilose® Synergy1, Orafiti NV, Tienen, Bélgica).

Os grãos de amaranto (*A. cruentus* L. BRS-Alegria) cultivados em Brasília – DF, Brasil, foram moídos (moinho de martelos fixos MML 100 – Astecma, Equipamentos de Moagem Ltda, São Paulo, Brasil) para obtenção da farinha (granulometria < 0,85mm), que foi desengordurada com hexano na proporção de 1:5 (massa:volume). A Tabela 1 apresenta a composição das matérias primas utilizadas.

Tabela 1 – Composição centesimal das matérias primas utilizadas no processo de extrusão.

	<i>Grits</i> de milho	Farinha de amaranto
Umidade	12,26 ±0,05	11,37 ±0,04
Cinzas	0,24 ±0,05	3,63 ±0,00
Lipídeos	0,23 ±0,03	1,37 ±0,04
Proteína	7,90 ±0,38	17,30 ±0,48
Amido total	89,39 ±0,23	61,89 ±0,31
Fibra alimentar	2,71	15,24
Fibra insolúvel	2,59 ±0,30	13,49 ±0,90
Fibra solúvel	0,20 ±0,04	1,75 ±0,10

Resultados expressos em base seca (g/100g).

Produção dos *snacks*

Os *snacks* foram produzidos em extrusora de parafuso único com razão de comprimento/ diâmetro (L/D) de 20 e capacidade de produção de 180 kg/hora (Inbra 200 – Inbramaq, Indústria de Máquinas Ltda, São Paulo, Brasil). Foram utilizadas as combinações de *grits* de milho com 50, 75 e 100% de farinha de amaranto (amostras codificadas como 50%A, 75%A e 100%A, respectivamente), com umidade ajustada

para 15% (base seca), pois este foi teor de umidade otimizado para a máxima expansão do extrusado de amaranto (CHAVEZ-JAUREGUI et al., 2000; COELHO, 2006)

As seguintes condições do processo de extrusão foram fixadas, com base em experimentos preliminares: velocidade da rosca em 404 rpm; taxa de compressão da rosca de 1:1; trafilagem de três furos com 3,17 mm de diâmetro interno; sub-trafilagem com cento e cinquenta e quatro furos com 3,17 mm de diâmetro interno; Input de energia de 18 A em 220 V. As zonas de alimentação e de transição (primeira e segunda zonas respectivamente) foram mantidas em 25 °C e a terceira zona (zona de alta pressão) e o orifício de saída em 90 °C.

A aromatização foi realizada de acordo com o processamento desenvolvido por CAPRILES et al. (2009) para substituição de gordura em *snacks* e incorporação da mistura de inulina e oligofrutose. Para isso, foi utilizada uma solução aromatizante composta por 60% de sólidos e 40% de água. Todas as amostras foram aromatizadas com as mesmas quantidades de sal (2%), aroma (4%) e a mistura de inulina e oligofrutose (13,3%). O processo foi realizado em drageador (AIR 400 – Erweka, Heusenstamm, Alemanha) por meio da aspersão da solução aromatizante sobre o *snack*, seguido de agitação e secagem com ar aquecido a 80 °C por período de um minuto para cada 100g de *snack*. Este processo permite que o teor de água adicionado durante a aromatização seja removido e por isso não foi considerado no cálculo da formulação do *snack*.

Planejamento experimental

Foram produzidos 2 kg de cada amostra. Trinta gramas de *snacks* foram acondicionadas em embalagens de filme flexível (gramatura de 122 g/m², composto por poliéster 17 g/m², tintas 3 g/m², alumínio 22 g/m², polietileno 80 g/m²) fornecido pela empresa Rangel Indústria e Comércio Ltda (São Paulo, Brasil). O armazenamento foi realizado em temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 135 dias.

Quinzenalmente seis embalagens aleatórias de cada amostra foram abertas e seus conteúdos misturados. Quinze unidades aleatórias de cada amostra foram utilizadas para análise de textura. O restante foi triturado e utilizado para as

determinações de umidade, de atividade de água e de cor. A cada 45 dias, mais oito embalagens aleatórias de cada amostra foram abertas, seus conteúdos foram misturados. E então três unidades aleatórias de cada amostra foram embaladas em sacos de polipropileno codificados com três números aleatórios, e submetidas à avaliação sensorial.

Análise dos *snacks*

Propriedades de expansão

Os *snacks* obtidos apresentaram formato cilíndrico, e com o auxílio de um paquímetro foram medidos o diâmetro e a altura de trinta unidades aleatórias de cada amostra. Esses valores foram utilizados para o cálculo do volume dos *snacks* segundo a seguinte fórmula: $\text{Volume} = \pi r^2 h$; sendo: $\pi = 3,14$; r^2 = raio ao quadrado; h = altura. Foram pesadas trinta unidades aleatórias de cada *snack* em balança analítica, e então calculada a densidade pela relação massa/ volume (mg/mm^3) e o volume específico pela relação volume/ massa (mm^3/mg).

Composição centesimal

Os teores de umidade, cinzas, lipídeos e proteína foram determinados de acordo com os métodos 950.46, 923.03, 920.39C e 960.52 da AOAC, respectivamente (AOAC, 2003). Amido total foi quantificado por meio da hidrólise enzimática e determinação espectrofotométrica da glicose liberada (amido = glicose x 1,1) segundo GOÑI et al. (1997).

A fibra alimentar foi determinada utilizando-se o método enzimático-gravimétrico para quantificação das frações solúvel e insolúvel de acordo com PROSKY et al. (1988), com modificações de MC CLEARY e ROSSITER (2004). Esta modificação foi realizada porque o método de PROSKY et al. (1988) não permite a quantificação dos frutanos de baixo peso molecular. Por isso, foi realizada a hidrólise completa dos frutanos por meio da adição da mistura de frutanases parcialmente purificadas (E-FRMXLQ, Megazyme International Ireland Ltd., Irlanda), no mesmo estágio em que é realizada a incubação com amiloglicosidase na metodologia proposta por PROSKY et al. (1988).

Paralelamente foi realizada a determinação de frutanos totais de acordo com o método enzimático-colorimétrico (MC CLEARY e ROSSITER, 2004), com o uso de kit analítico (K-FRUCHK, Megazyme International Ireland Ltd., Irlanda). A soma das duas determinações representou o teor de fibra alimentar total presente nas amostras.

Todas as determinações foram realizadas em triplicata.

O valor calórico foi estimado com base nos fatores de conversão de Atwater: 4 kcal/g (17 kJ/g) para proteínas e carboidratos, 9 kcal/g (37 kJ/g) para lipídeos (MERRILL e WATT, 1973) e de 1,5 kcal/g (6,3 kJ/g) para os frutanos (ROBERFROID, 1999a).

Deteção de glúten

A detecção de glúten nas matérias primas e nos *snacks* foi realizada de acordo com o método AOAC 991.19 (AOAC 2005) que consiste de imunoensaio enzimático com anticorpo monoclonal. Esta análise foi realizada pelo Laboratório de Ciência e Tecnologia de Cereais da Universidade Federal de Santa Catarina.

Determinação da vida de prateleira

Foram monitorados o teor de umidade, a atividade de água, a textura e a cor instrumental, bem como o grau de aceitação dos *snacks* durante os 135 dias de armazenamento.

O teor de umidade foi determinado por dessecação em estufa a 105 °C, até peso constante, de acordo com o método 950.46 da AOAC (AOAC, 2003) e a atividade de água em medidor automático (CX-2, Aqualab-Decagon Devices Inc., Washington, Estados Unidos da América) a temperatura ambiente.

A força necessária para o cisalhamento completo do produto foi utilizada para avaliar a crocância, principal propriedade de textura dos *snacks*. Este parâmetro foi avaliado como a força máxima oferecida pela amostra durante o cisalhamento em uma cela do tipo “Warner Bratzler” acoplada ao analisador de textura (TA-XT2i, Stable Micro Systems, Surrey, Reino Unido). A velocidade de corte foi de 1 mm/s. A análise foi realizada em quinze unidades aleatórias de cada amostra.

A cor das amostras trituradas foi avaliada em triplicata no aparelho Color Quest XE (Hunter Lab, Estados Unidos da América), adotando-se o sistema CIE-Lab, com ângulo de observação de 10° e iluminante padrão D65, que corresponde a luz natural do dia. Foram medidos os valores de L* ou luminosidade (preto 0/ branco 100), a* (verde -/ vermelho +) e b* (azul -/ amarelo +).

Avaliação sensorial

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (protocolo 1404 – ANEXO 1). Os participantes foram informados detalhadamente sobre os objetivos e procedimentos utilizados, assegurando-se a proteção da privacidade. Foram recolhidos e entregues termos de consentimento aos participantes (ANEXO 2).

Em cada sessão participaram 50 provadores que foram recrutados dentre alunos e funcionários da FSP/ USP (idades entre 17 e 50 anos). Estes foram convidados a participar de todas as sessões por isso os painéis foram constituídos em sua maioria pelos mesmos provadores (cerca de 86%).

Três unidades aleatórias de cada amostra embaladas em sacos de polipropileno codificados com três números aleatórios foram entregues aos provadores, juntamente com a ficha de avaliação (ANEXO 3) e um copo de água para a neutralização entre as amostras. Em cada sessão, os provadores avaliaram os três produtos que apresentavam o mesmo aroma, e estes foram apresentados de forma monádica e sequencial, utilizando blocos incompletos balanceados.

Foram avaliados a aceitação da cor, da textura, do sabor e a aceitação global dos *snacks* em uma escala hedônica estruturada de nove pontos, 1 – desgostei muitíssimo, 5 – não gostei/ nem desgostei, 9 – gostei muitíssimo (STONE e SIDEL, 1985).

Para estimar a vida de prateleira dos produtos com base na avaliação sensorial, foram utilizadas e comparadas duas abordagens: limite de aceitação e metodologia de corte por falha. Por meio do limite de aceitação a vida de prateleira é determinada quando a aceitação global atinge um valor predeterminado, foi

considerado como ponto de corte o valor 6 (gostei ligeiramente) da escala hedônica estruturada de nove pontos, de acordo com MUÑOZ et al. (1992).

Na metodologia de corte por falha a vida de prateleira é estabelecida no tempo em que a primeira mudança significativa no grau de aceitação é detectada. Ou seja, neste período, os consumidores detectam uma diferença na aceitação do produto armazenado em relação ao produto fresco. Este valor pode ser calculado por meio da seguinte equação (HOUGH et al., 2002):

$$S = F - Z_{\alpha} \sqrt{\frac{2.MSE}{n}}$$

S = aceitabilidade mínima tolerável para a amostra em armazenamento, F = aceitabilidade da amostra fresca, Z_{α} = coordenada da curva normal monocaudal para o nível de significância $\alpha = 0,05$, MSE = quadrado médio do resíduo (erro) derivado da análise de variância da avaliação sensorial, n = número de consumidores.

Análise de dados

Os resultados foram expressos como média e desvio padrão. Para comparação de médias, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey. O software MINITAB 15.0 (Minitab Inc., Pensilvânia, Estados Unidos da América, 2006) foi utilizado para análise estatística adotando-se nível de significância de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Expansão e textura

A expansão dos produtos extrusados é dependente do grau de gelatinização do amido e da taxa de evaporação da água no momento da saída do produto da extrusora. O grau de gelatinização do amido é afetado pelas condições de processo e pela composição da matéria prima. O amido gelatinizado contribui com a viscosidade, a elasticidade e a capacidade de retenção de gás da massa fundida formada durante o processo. Quando o material é forçado pela matriz para sair da extrusora, ele expande rapidamente devido a evaporação instantânea da água,

ocasionada pela diferença de pressão entre o interior do equipamento e o ambiente, formando bolhas no interior da massa fundida, gerando um produto com diâmetro várias vezes maior que o tamanho do orifício da matriz do equipamento (MITCHELL e ARÊAS, 1992; MERCIER et al., 1998).

Geralmente a expansão máxima é desejada para *snacks* extrusados, uma vez que produtos com grande expansão são mais crocantes, porque a estrutura interna apresenta células maiores com paredes finas (MERCIER et al., 1998). A densidade aparente e o volume específico são medidas da expansão volumétrica que é a soma das expansões radial e axial dos extrusados (CHIANG e JOHNSON, 1977; ALVAREZ-MARTINEZ et al., 1988).

Os resultados da Tabela 2 indicam que a variação de 50 a 100% de farinha de amaranto na formulação não interferiu na densidade, no volume específico e nem na textura instrumental dos *snacks*; possivelmente porque os teores de amido presentes nestas amostras possibilitaram uma boa expansão do produto.

Tabela 2 – Expansão e textura dos *snacks* à base de milho e amaranto (50, 75 e 100%) enriquecidos com frutanos.

	<i>Snacks com aroma de bacon</i>			<i>Snacks com aroma de pizza</i>		
	50%A +F	75%A +F	100%A +F	50%A +F	75%A +F	100%A +F
Densidade (mg/mm ³)	0,22 ^a ±0,06	0,24 ^a ±0,08	0,18 ^a ±0,04	0,23 ^a ±0,07	0,26 ^a ±0,07	0,26 ^a ±0,07
Volume específico (mm ³ /mg)	4,86 ^a ±1,38	4,67 ^a ±1,53	5,66 ^a ±1,21	4,63 ^a ±1,14	4,16 ^a ±1,14	4,15 ^a ±1,20
Força de cisalhamento (N)	29,94 ^a ±4,68	28,59 ^a ±4,04	25,51 ^a ±4,22	28,23 ^a ±7,12	26,28 ^a ±5,36	28,28 ^a ±5,38

A: amaranto, F: frutanos

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$)

Composição centesimal

A Tabela 3 apresenta a composição dos *snacks* antes e após a aromatização. Ao comparar as amostras antes da aromatização (50%A, 75%A e 100%A), observou-se que quanto maior o teor de amaranto na formulação, maiores os teores de cinzas, proteínas e fibra alimentar dos *snacks*; uma vez que a farinha de amaranto apresenta maiores teores destes componentes que o *grits* de milho (Tabela 1)

Tabela 3 – Composição centesimal dos *snacks* à base de milho e amaranto (50, 75 e 100%) antes e após a incorporação de frutanos.

	50%A	50%A +F	75%A	75%A +F	100%A	100%A +F
Valor calórico (Kcal)*	321	280	304	266	298	255
Valor calórico (KJ)*	1348	1176	1279	1118	1252	1071
Umidade*	8,34 ^a ±0,06	8,91 ^a ±0,0	8,62 ^a ±0,18	8,82 ^a ±0,11	7,91 ^b ±0,18	7,91 ^b ±0,47
Cinzas	1,86 ^e ±0,05	7,02 ^b ±0,10	2,87 ^d ±0,02	7,63 ^b ±0,08	4,03 ^c ±0,49	8,46 ^a ±0,00
Lipídeos	0,14 ^c ±0,02	0,17 ^c ±0,05	0,30 ^a ±0,02	0,29 ^a ±0,01	0,32 ^a ±0,02	0,31 ^a ±0,03
Proteína	12,08 ^d ±0,27	10,33 ^e ±0,26	15,14 ^b ±0,49	13,35 ^c ±0,26	18,20 ^a ±0,11	15,40 ^b ±0,09
Amido	74,95 ^a ±0,51	60,35 ^c ±0,37	67,18 ^b ±0,78	53,09 ^d ±0,38	61,72 ^c ±0,47	47,39 ^e ±0,39
Fibra alimentar	10,24	23,37	14,64	26,55	15,36	27,89
Fibra insolúvel	8,40 ^c ±0,33	6,52 ^d ±0,74	11,98 ^a ±0,98	9,48 ^{bc} ±0,86	11,92 ^a ±0,62	10,38 ^b ±0,96
Fibra solúvel	1,84	16,85	2,66	17,07	3,44	17,51
Frutanos	0,60 ^b ±0,04	15,83 ^a ±0,33	0,81 ^b ±0,07	15,70 ^a ±0,06	1,03 ^b ±0,09	15,55 ^a ±0,14
Outros compostos	1,24 ^c ±0,16	1,02 ^c ±0,34	1,85 ^b ±0,23	1,37 ^c ±0,18	2,41 ^a ±0,28	1,96 ^{ab} ±0,35

A: amaranto, F: frutanos

*Resultados expressos em base úmida (100g). Demais resultados foram expressos em base seca (g/ 100g).

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Os resultados da Tabela 3 indicam que após a aromatização ocorreu a manutenção do teor de lipídeos, aumento do teor de cinzas, e redução do teor de amido e de proteínas devido ao expressivo aumento do teor de fibra alimentar em função do enriquecimento com frutanos.

A determinação do teor de frutanos em produtos enriquecidos e processados é essencial para saber se os níveis presentes são relevantes para a saúde humana. Observa-se que a aromatização ocasionou aumento de 13,3 a 13,9% de frutanos nos produtos, ou seja, a quantidade planejada (4g da mistura de inulina e oligofrutose / 30g de *snack*, base úmida) foi obtida para todas as formulações. Os produtos foram elaborados para apresentarem em uma porção a quantidade equivalente a dose diária para a qual foi observado o efeito prebiótico (ROBERFROID, 1999b; RAO, 2001) metade da quantidade consumida diariamente que foi responsável pelo aumento da absorção de cálcio e da densidade mineral óssea de adolescentes saudáveis (ABRAMS et al., 2005, 2007a).

Snacks disponíveis no mercado apresentam em média 467,2 kcal; 77,7g de carboidratos; 6,8g de proteínas; 14,8g de lipídeos e menos de 2g de fibra em 100g (CAPRILES et al., 2007). Ao comparar estes dados com os resultados apresentados na Tabela 3, observou-se que os *snacks* desenvolvidos apresentaram redução de pelo menos de 35,6% do valor calórico, aumento de 52% do conteúdo de proteínas, aumento em pelo menos dez vezes o teor de fibra em relação aos similares comerciais, além da eliminação do teor de lipídeos.

A composição e o conteúdo comparativo permitem a utilização das alegações de “light”, “isento de gordura” e “alto teor de fibra” para os *snacks* desenvolvidos, de acordo com as exigências para o uso de alegações nutricionais estabelecidas pelo CODEX ALIMENTARIUS (1996) e que foram adotadas no Brasil por meio do Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar, Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. Para o uso destas alegações o produto deve apresentar redução mínima de 25% do valor energético e de 40 kcal/ 100g de alimento sólido; o conteúdo máximo de 0,5g de gordura/ 100g de alimento sólido; e o valor mínimo de 6g de fibras/ 100g de alimento sólido, respectivamente.

No Brasil, a legislação permite a alegação de funcionalidade para alimentos que utilizem substâncias com funções plenamente reconhecidas pela comunidade

científica. O Regulamento Técnico de procedimentos para registro de alimento com alegação de propriedades funcionais e ou de saúde em sua rotulagem, Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999, estabelece que a alegação de propriedade funcional “é aquela relativa ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano”. De acordo com a lista de alegações aprovadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2009), os novos *snacks* podem receber alegações de funcionalidade relacionadas à inulina e oligofrutose, uma vez que cumprem a exigência da porção diária do produto pronto para consumo apresentar mais de 3g destas fibras. Desta forma, pode-se utilizar também a alegação: “A inulina e os frutooligossacarídeos – FOS contribuem para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma dieta equilibrada e hábitos de vida saudáveis”.

Os *snacks* desenvolvidos também podem ser considerados fonte de proteínas para todos os grupos populacionais, uma vez que oferecem no mínimo 10% da ingestão diária recomendada/ 100g de alimento sólido (Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998). A ingestão diária recomendada é de 13g para crianças de 1-3 anos, 19g para crianças de 4-6 anos, 34g para crianças de 7-10 anos; 50g para adultos e 71g para gestantes e nutrizes (Resolução nº 269, de 22 de setembro de 2005).

Deteção de glúten

O amaranto e os *snacks* desenvolvidos apresentaram valores inferiores a 20 ppm de gliadina; sendo considerados alimentos naturalmente sem glúten (CODEX ALIMENTARIUS, 2003), e, portanto seguros para o consumo por indivíduos celíacos.

Determinação da vida de prateleira

Não foi observado efeito do tipo de aroma (bacon ou pizza) nas características de umidade, atividade de água e força necessária para o cisalhamento dos *snacks*; por isso estes dados foram representados pelos valores observados para os *snacks* no aroma bacon. Já os atributos de cor e a aceitabilidade sensorial foram discriminados em função do aroma.

Apesar do aumento do teor de umidade e consequentemente da atividade de água dos *snacks* (Figura 1), estes mantiveram baixo teor de umidade (de 8 a 10%) e baixa atividade de água (0,44 - 0,53) durante os 135 dias de armazenamento, podendo ser considerados aparentemente microbiologicamente estáveis (ASCHERI et al., 2005).

Figura 1 – Teor de umidade e atividade de água dos *snacks* à base de milho e amaranto (50, 75 e 100%) enriquecidos com frutanos, durante o período de armazenamento.

A: amaranto, F: frutanos.

Os dados representam a média de três determinações, e as barras o desvio padrão.

Não foi observado efeito significativo do tempo na força necessária para o cisalhamento dos *snacks*. As amostras não diferiram entre si quanto a textura instrumental durante todo o período (Figura 2).

Figura 2 – Força necessária para o cisalhamento dos *snacks* à base de milho e amaranto (50, 75 e 100%) enriquecidos com frutanos, durante o período de armazenamento.

A: amaranto, F: frutanos.

Os dados representam a média de três determinações, e as barras o desvio padrão.

A Figura 3 mostra os parâmetros de cor dos *snacks* com os aromas de bacon e de pizza durante o período de armazenamento. De forma geral, observou-se a estabilidade dos parâmetros de cor das amostras, devido aos baixos valores de atividade de água que não propiciaram o crescimento microbiano e reações enzimáticas que poderiam alterar os pigmentos dos produtos.

As amostras com 50% A + F apresentaram cor mais clara (maior valor de L*) e com maior tendência ao amarelo (maior valor de b*) em relação ao *snack* elaborado com 100% A + F durante todo o período, para ambos os aromas.

Figura 3 – Parâmetros de cor dos snacks à base de milho e amaranto (50, 75 e 100%) enriquecidos com frutanos e condimentados nos sabores bacon e pizza, durante o período de armazenamento.

A: amaranto, F: frutanos.

Os dados representam a média de três determinações, e as barras o desvio padrão.

A Tabela 4 apresenta a aceitabilidade dos *snacks* durante o armazenamento.

Tabela 4 – Aceitabilidade dos *snacks* à base de milho e amaranto (50, 75 e 100%) enriquecidos com frutanos, durante o período de armazenamento.

Amostra	dia	Atributos de aceitação			
		Cor	Textura	Sabor	Global
50% A + F bacon	1	6,09 ^{Aabc} ±1,47	6,51 ^{Aa} ±1,32	5,81 ^{Aa} ±1,61	5,70 ^{Aab} ±1,54
	45	6,58 ^{Aab} ±1,54	6,93 ^{Aa} ±1,33	6,04 ^{Aa} ±1,77	6,10 ^{Aab} ±1,49
	90	6,27 ^{Ab} ±1,52	6,69 ^{Aa} ±1,62	5,54 ^{Aa} ±1,99	5,62 ^{Aab} ±1,89
	135	6,33 ^{Aab} ±1,53	6,79 ^{Aa} ±1,48	5,73 ^{Aab} ±1,83	5,96 ^{Aa} ±1,66
	S	5,60	6,02	5,20	5,16
50% A + F pizza	1	6,92 ^{Aa} ±1,53	6,48 ^{Aa} ±1,84	6,29 ^{Aa} ±1,77	6,31 ^{Aa} ±1,83
	45	6,89 ^{Aa} ±1,22	6,81 ^{Aa} ±1,42	6,75 ^{Aa} ±1,16	6,69 ^{Aa} ±1,09
	90	7,02 ^{Aa} ±1,53	6,48 ^{Aa} ±1,79	6,46 ^{Aa} ±1,63	6,37 ^{Aa} ±1,69
	135	6,81 ^{Aa} ±1,52	6,42 ^{Aa} ±1,87	6,46 ^{Aa} ±1,53	6,35 ^{Aa} ±1,47
	S	6,43	5,93	5,79	5,79
75% A + F bacon	1	5,38 ^{Acd} ±1,57	6,77 ^{Aa} ±1,31	5,29 ^{Aa} ±1,76	5,34 ^{Ab} ±1,81
	45	5,79 ^{Abc} ±1,62	6,48 ^{Aa} ±1,69	5,33 ^{Ab} ±2,09	5,56 ^{Ab} ±1,88
	90	5,44 ^{Abc} ±1,51	6,50 ^{Aa} ±1,79	5,42 ^{Aa} ±2,21	5,35 ^{Ab} ±2,13
	135	5,92 ^{Aabc} ±1,48	6,87 ^{Aa} ±1,25	4,83 ^{Ab} ±2,02	4,75 ^{Ab} ±2,06
	S	4,89	6,27	4,64	4,65
75% A + F pizza	1	6,54 ^{Aab} ±1,48	7,20 ^{Aa} ±1,44	6,10 ^{Aa} ±2,19	6,33 ^{Aa} ±1,77
	45	6,42 ^{Aab} ±1,35	7,04 ^{Aa} ±1,09	6,33 ^{Aa} ±1,45	6,39 ^{Aa} ±1,19
	90	6,37 ^{Aab} ±1,51	6,81 ^{Aa} ±1,57	6,10 ^{Aa} ±1,93	6,23 ^{Aa} ±1,82
	135	6,25 ^{Aab} ±1,74	6,94 ^{Aa} ±1,17	6,23 ^{Aa} ±1,72	6,27 ^{Aa} ±1,51
	S	5,99	6,76	5,49	5,77
100% A + F bacon	1	4,98 ^{Ad} ±1,63	6,55 ^{Aa} ±1,58	5,62 ^{Aa} ±1,92	5,19 ^{Ab} ±1,81
	45	5,35 ^{Ac} ±1,79	6,89 ^{Aa} ±1,57	5,39 ^{Ab} ±1,94	5,45 ^{Ab} ±1,66
	90	5,21 ^{Ac} ±1,81	6,81 ^{Aa} ±1,57	5,83 ^{Aa} ±2,11	5,08 ^{Aab} ±2,05
	135	5,21 ^{Ac} ±1,44	7,25 ^{Aa} ±1,19	5,15 ^{Ab} ±1,89	5,45 ^{Aa} ±1,93
	S	4,46	6,01	4,96	4,59
100% A + F pizza	1	5,69 ^{Abcd} ±1,73	7,27 ^{Aa} ±1,64	5,41 ^{Aa} ±1,89	5,68 ^{Aab} ±1,82
	45	5,44 ^{Ac} ±1,78	7,46 ^{Aa} ±1,20	5,75 ^{Aab} ±1,91	5,73 ^{Aab} ±1,87
	90	5,69 ^{Abc} ±1,87	7,12 ^{Aa} ±1,56	5,33 ^{Aa} ±2,20	5,54 ^{Aab} ±2,15
	135	5,54 ^{Abc} ±2,03	7,25 ^{Aa} ±1,18	5,42 ^{Aab} ±1,93	5,73 ^{Aab} ±1,88
	S	5,09	6,84	4,75	5,07

A: amaranto, F: frutanos

Diferentes letras maiúsculas, na mesma coluna, indicam diferença significativa da amostra em função do tempo de armazenamento ($p \leq 0,05$).

Diferentes letras minúsculas, na mesma coluna, indicam diferença significativa entre as amostras ($p \leq 0,05$) em cada período de armazenamento.

S - aceitabilidade mínima tolerável para a amostra em armazenamento

A vida de prateleira dos alimentos é dependente das modificações que podem ocorrer ao longo do tempo, e principalmente da percepção do consumidor. Desta forma, a avaliação com consumidores é a ferramenta mais adequada para determinar a vida de prateleira de um alimento (HOUGH et al., 2002). Observa-se na Tabela 4 que o tempo de armazenamento não teve efeito no nível de aceitabilidade alcançado junto aos provadores, devido a estabilidade estrutural e de textura, importantes para os *snacks* (HEIDENREICH et al., 2004; MAZUMDER et al., 2007).

A adição de 50% de milho na formulação dos *snacks* (50%A +F) resultou em um produto com cor mais clara e amarelada (maiores valores de L* e b*, Figura 3) e com maior grau de aceitação da cor em relação ao *snack* obtido com 100%A +F nos dois aromas durante todo período de armazenamento (Tabela 4). A adição de 25% de milho na formulação (*snacks* 75%A +F) não ocasionou diferença significativa da aceitação da cor em relação ao *snack* à base de amaranto puro (100%A +F). Observa-se também que não houve efeito do aroma na aceitação da cor, uma vez que os produtos elaborados com a mesma proporção de amaranto e milho não diferiram quanto o grau de aceitação da cor durante os 135 dias de estocagem.

Não foram observados efeitos significativos da combinação de matéria prima, nem do tipo de aroma e nem do tempo de armazenamento na aceitação da textura dos *snacks* (Tabela 4). Todos os produtos apresentaram crocância aceita (média dos valores hedônicos ≥ 6 – gostei ligeiramente) durante o período de estudo. A perda de crocância por causa da absorção de umidade durante o armazenamento é o principal fator que determina a vida de prateleira de *snacks* extrusados (HEIDENREICH et al., 2004; MAZUMDER et al., 2007). O tipo de armazenamento empregado neste estudo possibilitou a estabilidade da textura porque valores de atividade de água críticos para a manutenção da crocância de *snacks* foram mantidos, aw entre 0,40 e 0,55 de acordo com HEIDENREICH et al. (2004).

Ao final do estudo os produtos elaborados com 75%A +F e 100%A +F no aroma bacon apresentaram menor grau de aceitação do sabor que os produtos similares condimentados no aroma pizza. De forma geral, observa-se que o sabor dos *snacks* foi o parâmetro que obteve o menor grau de aceitação, possivelmente devido ao sabor intrínseco do amaranto, alimento desconhecido pelos brasileiros. O aroma

de pizza mascarou melhor a cor e o sabor dos *snacks*, aumentando a aceitabilidade do produto.

Não foi observado efeito da combinação de matéria prima na aceitação global dos *snacks* que receberam o mesmo aroma. Observou-se que o uso do aroma de pizza ocasionou aumento significativo da aceitação global do *snack* 75%A +F durante toda a vida de prateleira.

Os valores de aceitação mínima tolerável para a amostra em armazenamento (S), estimados com a metodologia de corte por falha (Tabela 4), indicavam que todas as amostras teriam a sua vida de prateleira em 135 dias, que foi o período de armazenamento estudado. Entretanto, utilizando o limite de qualidade e de comercialização estabelecido por MUÑOZ et al. (1992) para alimentos (valor 6 em uma escala hedônica estruturada de nove pontos), apenas os *snacks* elaborados com 50%A +F nos aromas bacon e pizza e o *snack* elaborado com 75%A +F no aroma pizza seriam considerados produtos com elevado potencial de mercado devido a manutenção da aceitabilidade por um período longo de armazenamento.

CHÁVEZ-JÁUREGUI et al., (2009) também não observaram efeito significativo do tempo de armazenamento (75 dias) ou do aroma utilizado na aceitabilidade dos *snacks* à base de milho e amaranto (80%) tanto no aroma bacon ($6,0 \pm 1,8$ v $6,8 \pm 1,4$) como no aroma pizza ($6,3 \pm 1,9$ v $6,3 \pm 1,8$). Não foram encontradas diferenças de aceitação global ao início e ao final do período de armazenamento entre os *snacks* desenvolvidos no estudo citado acima e as formulações mais promissoras encontradas neste trabalho que foram os *snacks* 50%A +F tanto no aroma bacon ($5,7 \pm 1,5$ v $6,0 \pm 1,6$) como no aroma pizza ($6,3 \pm 1,8$ v $6,4 \pm 1,5$) e nem em relação ao *snack* 75%A +F no aroma pizza ($6,3 \pm 1,7$ v $6,3 \pm 1,5$). Deve-se considerar que os *snacks* desenvolvidos por CHÁVEZ-JÁUREGUI (2009) foram aromatizados com a utilização de 22% de gordura vegetal hidrogenada como agente fixador do aroma. O uso de lipídios como agente fixador de aroma pode aumentar a aceitabilidade do *snack* (CAPRILES et al., 2007, 2009). Assim, os novos *snacks* de amaranto apresentaram composição mais vantajosa com significativa redução de lipídeos e aumento do teor de fibra solúvel prebiótica, e o mesmo grau de aceitação, mas com a estabilidade sensorial confirmada para o dobro do tempo em relação ao estudo anterior.

CONCLUSÃO

A produção de *snacks* à base de milho e amaranto (50% e 75%) enriquecidos com frutanos é viável, obtendo-se produtos com boa aceitação por consumidores não familiarizados com esse pseudocereal. Melhorias tecnológicas são necessárias para aumentar o grau de aceitação da cor e do sabor do *snack* à base de amaranto puro.

O processo de fabricação, a formulação, a embalagem e o armazenamento empregados possibilitaram a obtenção de *snacks* de elevado valor nutritivo e com vida de prateleira relativamente longa. Estas características mostraram o elevado potencial destes novos produtos como alternativas para os *snacks* atualmente disponíveis no mercado, atendendo a crescente demanda por alimentos que associem conveniência a saúde.

Por serem isentos de glúten, os *snacks* à base de milho e amaranto enriquecidos com frutanos podem contribuir para uma maior variação e adequação da dieta dos celíacos e também para o aumento da absorção de cálcio, que está frequentemente prejudicada nesta população.

REFERÊNCIAS

- ABRAMS, S. *et al.* A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *Am J Clin Nutr*, v. 82, n. 2, p. 471-476, 2005.
- ABRAMS, S. *et al.* An inulin-type fructan enhances calcium absorption primarily via an effect on colonic absorption in humans. *J Nutr*, v. 137, n. 10, p. 2208-2212, 2007b.
- ABRAMS, S. *et al.* Young adolescents who respond to an inulin-type fructan substantially increase total absorbed calcium and daily calcium accretion to the skeleton. *J Nutr*, v. 137, n. 11 Suppl, p. 2524S-2526S, 2007a.
- ALVAREZ-MARTINEZ, L. *et al.* A general-model for expansion of extruded products. *J Food Sci*, v. 53, n. 2, p. 609-615, 1988.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Gaithersburg, Md.: AOAC, 2003.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of the AOAC International*. 18th ed. Maryland: AOAC, 2005.
- ASCHERI, D.P.R. *et al.* Isotermas de adsorción de agua y estabilidad de harinas extruídas de amaranto, arroz y maíz: estudio comparativo. *Alimentaria*, v. 42, n. 363, p. 100-107, 2005.
- BRASIL. Lista das alegações aprovadas para Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Publicado pela Agência Nacional de

- Vigilância Sanitária. Acesso em: 9 ago. 2009. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm
- BRASIL. Portaria n. 27, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 jan. 1998.
- BRASIL. Resolução nº 19, de 30 de abril de 1999. Regulamento de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais ou de Saúde em sua Rotulagem. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 3 mai. 1999.
- BRASIL. Resolução nº 269, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico sobre a Ingestão Diária Recomendada (IDR) de Proteína, Vitaminas e Minerais. Publicado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 23 de setembro de 2005. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=18828&word=> Acesso em: 9 ago. 2009.
- BRASIL. Resolução nº 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 26 dez. 2003.
- BRASIL. Rotulagem Nutricional Obrigatória. Modelos de rótulos de alimentos. Referências para cálculo de Valor Diário para crianças. Atualizado em 23 de janeiro de 2006. Acesso em: 9 ago. 2009 Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/rotulos/crianca.htm>.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Development and assessment of acceptability and nutritional properties of a light snack. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 3, p. 562-566, 2007.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. *J Food Sci*, v. 73, n. 7, p. H160-4, 2008.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Effect of fructans-based fat replacer on chemical composition, starch digestibility and sensory acceptability of corn snacks. *Int J Food Sci Tech*, v. 44, n. 10, p. 1895-1901, 2009.
- CARACENI, M. *et al.* Bone and mineral metabolism in adult celiac disease. *Am J Gastroenterol*, v. 83, n. 3, p. 274-277, 1988.
- CHAVEZ-JAUREGUI, R. *et al.* Extrusion cooking process for amaranth (*Amaranthus caudatus* L.). *J Food Sci*, v. 65, n. 6, p. 1009-1015, 2000.
- CHAVEZ-JAUREGUI, R. *et al.* Acceptability of snacks produced by the extrusion of amaranth and blends of chickpea and bovine lung. *Int J Food Sci Tech*, v. 38, n. 7, p. 795-798, 2003.
- CHAVEZ-JAUREGUI, R. *et al.* Storage effect on the acceptability of snacks made of pure amaranth and blends of amaranth and corn and chickpea. *Alimentaria*, v. 405, p. 117-121., 2009.
- CHIANG, B.; JOHNSON, J. Gelatinization of starch in extruded products. *Cereal Chem*, v. 54, n. 3, p. 436-443, 1977.
- Codex Alimentarius Commission, 1996. Alinorm 97/22 Appendix II Guidelines for use of nutrition claims. Report twenty-fourth session of the codex committee on food labeling. Acesso em: 9 ago. 2009. Disponível em: www.fao.org/docrep/meeting/005/W1715E/W1715E03.htm#app2

- Codex Alimentarius Commission. Report of the twenty-five session of the codex committee on nutrition and foods for special dietary uses - Alinorm 04/27/26. Appendix III – Draft revised standard for gluten free-foods. Bonn, Germany, 3–7 November 2003. Acesso em: 9 ago. 2009. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/meeting/008/j1464e/j1464e00.htm>.
- COELHO, K. D. *Desenvolvimento e avaliação da aceitação de cereais matinais e barras de cereais à base de amaranto (Amaranthus cruentus L.)*. (Mestrado) - PRONUT (FCF/FEA/FSP). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- COLSTON, K. *et al.* Localisation of vitamin D receptor in normal human duodenum and in patients with coeliac disease. *Gut*, v. 35, n. 9, p. 1219-1225, 1994.
- GOÑI, I. *et al.* A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutr Res*, v. 17, n. 3, p. 427-437, 1997.
- GRIFFIN, I. *et al.* Non-digestible oligosaccharides and calcium absorption in girls with adequate calcium intakes. *Br J Nutr*, v. 87, p. S187-S191, 2002.
- GRIFFIN, I. *et al.* Enriched chicory inulin increases calcium absorption mainly in girls with lower calcium absorption. *Nutr Res*, v. 23, n. 7, p. 901-909, 2003.
- HEIDENREICH, S. *et al.* Relationship between water activity and crispness of extruded rice crisps. *Journal of Texture Studies*, v. 35, n. 6, p. 621-633, 2004.
- HOLLOWAY, L. *et al.* Effects of oligofructose-enriched inulin on intestinal absorption of calcium and magnesium and bone turnover markers in postmenopausal women. *Br J Nutr*, v. 97, n. 2, p. 365-372, 2007.
- HOUGH, G. *et al.* Consumer acceptability versus trained sensory panel scores of powdered milk shelf-life defects. *J Dairy Sci*, v. 85, n. 9, p. 2075-2080, 2002.
- KAGNOFF, M. Overview and pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S10-8, 2005.
- MAUTALEN, C. *et al.* Effect of treatment on bone mass, mineral metabolism, and body composition in untreated celiac disease patients. *Am J Gastroenterol*, v. 92, n. 2, p. 313-318, 1997.
- MAZUMDER, P. *et al.* Textural attributes of a model snack food at different moisture contents. *J Food Eng*, v. 79, n. 2, p. 511-516, 2007.
- MC CLEARY, B.; ROSSITER, P. Measurement of novel dietary fibers. *J Assoc Off Anal Chem*, v. 87, n. 3, p. 707-717, 2004.
- MERCIER, C. *et al.* *Extrusion cooking*. 2. ed. St Paul: American Association of Cereal Chemists, 1998.
- MERRILL, A. L.; WATT, B. K. *Energy value of foods: basis and derivation*, revised. US Department of Agriculture, Agriculture Handbook 74; 1973. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/Classics/index.html> Acesso em: 9 ago. 2009.
- MITCHELL, J. R.; ARÊAS, J. A. G. Structural in biopolymers during extrusion. In: Kokini J.L., et al. (Coord). *Food extrusion science and technology*. New York: Marcel Dekker, 1992. p.345-360.
- MUÑOZ, A. M. *et al.* *Sensory evaluation in quality control*. New York: Van Nostrand Reinhold, 1992.
- MUZZO, S. *et al.* Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone mineral density of celiac children. *Nutr Res*, v. 20, n. 9, p. 1241-1247, 2000.

- PROSKY, L. *et al.* Determination of insoluble, soluble and total dietary fiber in foods and food-products - Interlaboratory study. *J Assoc Off Anal Chem*, v. 71, n. 5, p. 1017-1023, 1988.
- RAO, V. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. *Nutr Res*, v. 21, n. 6, p. 843-848, 2001.
- REWERS, M. Epidemiology of celiac disease: what are the prevalence, incidence, and progression of celiac disease? *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S47-51, 2005.
- ROBERFROID, M. Caloric value of inulin and oligofructose. *J Nutr*, v. 129, n. 7 Suppl, p. 1436S-7S, 1999a.
- ROBERFROID, M. Concepts in functional foods: The case of inulin and oligofructose. *J Nutr*, v. 129, n. 7, p. 1398S-1401S, 1999b.
- STONE, H.; SIDEL, J.L. *Sensory Evaluation Practices*. London: Academic Press, 1985.

CAPÍTULO 2. Efeito do amaranto e dos frutanos na resposta glicêmica de *snacks* extrusados

RESUMO

Considerando a associação entre doença celíaca e diabetes, torna-se importante atenuar a resposta glicêmica de produtos sem glúten. Foram produzidos *snacks* à base de milho e amaranto (0, 50 e 100%) aos quais foram adicionados 13,3% de frutanos (mistura de inulina e oligofrutose) na etapa de aromatização. Foi avaliada a resposta glicêmica *in vivo*, sendo calculados o índice glicêmico (IG) e a carga glicêmica (CG). O *snack* de milho apresentou elevado IG:81 e CG:19. O aumento dos níveis de amaranto não alterou de forma significativa o IG:81 e 73, mas ocasionou redução da CG:16 e 12 dos produtos. A incorporação de frutanos ocasionou redução dos valores de IG:72, 65 e 65; e CG:14, 11 e 8 dos *snacks*. Os três *snacks* apresentaram elevado IG como consequência das drásticas condições do processo de cocção por extrusão que ocasionam alta disponibilidade do amido. A diminuição da CG deve-se principalmente a redução do teor de carboidratos disponíveis nos *snacks*, em função da adição de amaranto e de frutanos na formulação. A combinação dos efeitos do amaranto e dos frutanos resultou em *snacks* com menor IG e CG. Estes produtos podem contribuir para maior variação da dieta e melhor controle glicêmico dos celíacos diabéticos.

INTRODUÇÃO

A extensão e a duração do aumento da glicemia pós-prandial é uma importante resposta metabólica a ingestão de alimentos, e tem sido relacionada a doenças crônicas não transmissíveis; por isso, existe um interesse crescente na investigação da resposta glicêmica dos alimentos e da dieta.

A resposta glicêmica é dependente da velocidade de digestão e absorção dos carboidratos presentes nos alimentos, processos que envolvem fatores intrínsecos e extrínsecos a estes, tais como a composição do alimento, o grau de cozimento e de processamento, a interação amido-nutriente, além dos efeitos fisiológicos e bioquímicos da mastigação, do esvaziamento gástrico e da absorção intestinal (JENKINS et al., 1981; WOLEVER et al., 1991; FAO/ WHO, 1998).

Para avaliar a resposta glicêmica produzida pelos alimentos foram sugeridos o índice glicêmico e a carga glicêmica. O Índice Glicêmico (IG) foi definido como a relação entre as áreas das curvas de resposta glicêmica produzidas por um determinado alimento e pela mesma quantidade de carboidrato disponível do

alimento controle (pão branco ou glicose) consumido pelo mesmo indivíduo (JENKINS et al., 1981; WOLEVER et al., 1991; FAO/ WHO, 1998). Desta forma, o IG classifica os carboidratos dos alimentos em função do seu potencial em aumentar a glicemia em relação aos carboidratos de um alimento controle.

A resposta glicêmica ocasionada por um alimento ou refeição é determinada tanto pela quantidade como pela qualidade (IG) dos carboidratos consumidos. Assim, foi proposta a carga glicêmica (CG), que é o produto do IG do alimento e da quantidade de carboidratos disponíveis contida na porção consumida deste alimento (SALMERON et al., 1997), como uma medida real do efeito dos alimentos na resposta glicêmica. A soma da CG individual dos alimentos consumidos, representa a CG da dieta.

Alimentos com baixo IG apresentam substratos de lenta digestão e/ ou não digeríveis, promovendo lenta e gradual resposta glicêmica. Assim, alimentos de baixo IG e CG além de oferecerem substratos para a fermentação pela microbiota colônica, também promovem sensação de saciedade e plenitude gástrica; podendo contribuir para o controle de peso (FAO/WHO 1998; BALL et al., 2003). Dados de estudos epidemiológicos e clínicos indicam que a substituição de carboidratos com alto IG e CG por baixo IG e CG promove a evolução benéfica de diversos parâmetros metabólicos, como a melhora do controle glicêmico por pacientes diabéticos dependentes ou não de insulina (BRAND-MILLER, 2003; GILBERTSON et al., 2003; LIVESEY et al., 2008; ROVNER et al., 2009), a diminuição dos níveis plasmáticos de triacilgliceróis, e o aumento da sensação de saciedade (BRAND-MILLER, 2003; LIVESEY et al., 2008).

A doença celíaca é uma enfermidade crônica causada pela intolerância à ingestão das prolaminas do trigo, da cevada e do centeio, denominadas genericamente como glúten (KAGNOFF, 2005). A doença não tem cura e apresenta como único tratamento a dieta isenta de glúten que deve ser seguida por toda a vida. Esta doença está associada a uma incidência aumentada de diabetes insulino-dependente (MURRAY, 2005), assim, muitos celíacos além de manterem uma dieta isenta de glúten também devem manter um bom controle glicêmico.

Devido ao seu elevado valor nutritivo e a ausência de glúten, o grão de amaranto é recomendado para celíacos. Entretanto, os estudos indicam que o

amaranto devidamente processado apresenta alto IG (CHATURVEDI et al., 1997; GUERRA-MATIAS e ARÊAS, 2005; CAPRILES et al., 2008, 2009a). Considerando a associação entre doença celíaca e diabetes, torna-se importante desenvolver e modificar produtos de amaranto para que estes promovam baixa resposta glicêmica (CAPRILES et al., 2008).

Com base em ensaios de digestibilidade do amido *in vitro*, acredita-se que a incorporação de frutanos por meio da etapa de aromatização possa reduzir o IG e a CG de *snacks* extrusados (CAPRILES et al., 2009b). Os ensaios *in vitro* são utilizados como alternativas para estimar a resposta glicêmica dos alimentos ou como uma etapa preliminar aos ensaios *in vivo*, uma vez que estes são de alto custo, trabalhosos, invasivos e necessitam de considerável período de experimentação, (CAPRILES et al., 2009a).

Foram elaborados *snacks* à base de milho e amaranto (0, 50, 75 e 100%) aos quais foram adicionados 13,3% de frutanos (mistura de inulina e oligofrutose) na etapa de aromatização (CAPÍTULO 1). Como a composição é um dos fatores intrínsecos que influenciam a resposta glicêmica dos alimentos, o objetivo deste estudo foi o de avaliar o efeito da adição de amaranto e de frutanos na digestibilidade do amido *in vitro*, e na resposta glicêmica *in vivo* ocasionada pela ingestão de *snacks* extrusados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Produtos testados

Os *snacks* à base de milho e amaranto (50, 75 e 100%) foram produzidos de acordo com as condições expostas no CAPÍTULO 1. Estes também foram comparados a um *snack* de milho previamente desenvolvido sob as mesmas condições experimentais (CAPRILES et al., 2009b). As amostras foram enriquecidas com 13,3% de frutanos (mistura de inulina e oligofrutose) durante a etapa de aromatização.

Para analisar o efeito do amaranto, os produtos foram avaliados previamente a adição de frutanos. Para torná-los palatáveis e comparáveis aos *snacks*

aromatizados foram adicionadas as mesmas concentrações de sal e aroma por meio da aspersão de solução aquosa e secagem posterior.

Como uma estimativa inicial da resposta glicêmica dos alimentos, foi avaliada a cinética de digestão do amido *in vitro*.

Cinética da digestão do amido *in vitro*

As amostras foram secas em estufa com circulação de ar a 60 °C durante 18 horas, moídas (tamanho de partícula < 0,250mm) e então armazenadas a temperatura ambiente (aproximadamente 25 °C) até a realização das análises. O pão branco, alimento utilizado como controle, foi submetido aos mesmos procedimentos.

O teor de amido resistente foi quantificado de acordo com a metodologia proposta por GOÑI et al. (1996) e por determinação espectrofotométrica da glicose liberada por meio da reação com glicose oxidase, peroxidase e ABTS (BERGMEYER e BERNET, 1974). O teor de amido resistente foi calculado como glicose x 0,9. O teor de amido disponível foi obtido pela diferença entre a quantidade de amido total (previamente determinada, CAPÍTULO 1) e a de amido resistente.

A cinética da digestão do amido *in vitro* foi avaliada de acordo com o método proposto por GOÑI et al. (1997), com as adaptações de ROSIN et al. (2002). O método consiste de hidrólise enzimática controlada e determinação da porcentagem de amido total hidrolisado durante o período de incubação enzimática.

O procedimento experimental envolvia a pesagem de uma porção da amostra seca e desengordurada que apresentasse 25 mg de amido total. A amostra foi incubada (40°C, 60 min, pH 1,5) sob agitação horizontal constante com pepsina (P-7012, Sigma-Aldrich® Brasil Ltda, Brasil) [0,1 mL de solução (1g de pepsina/ 10 mL de tampão KCl/ HCl)]. Posteriormente, realizou-se a incubação (37°C, 120 min, pH 6,9) sob agitação horizontal constante com α -amilase (A-3176, Sigma-Aldrich® Brasil Ltda, Brasil) [1 mL de solução (40 U de α -amilase /mL de tampão trismaleato)]. Foram colhidas alíquotas de 1mL da amostra nos tempos 30, 60, 90 e 120 minutos, que foram imediatamente imersas em banho a 100°C por 5 minutos sob agitação para inativação da enzima, seguida de refrigeração até a próxima etapa de digestão. As alíquotas foram hidrolisadas (60°C, 45 min, pH 4,75) com

amiloglicosidase (A-7255, Sigma-Aldrich® Brasil Ltda, Brasil) [80µL de solução (140 U/ mL de tampão acetato de sódio)]. Ajustou-se o volume para 10 mL com água destilada. A determinação da glicose liberada foi realizada por meio da incubação de alíquotas de 40µL da solução com a amostra com 2 mL do reagente de glicose (glicosidase/ peroxidase/ ABTS) a 37°C por 10 minutos, de acordo com BERGMEYER e BERNET (1974). A leitura foi realizada a $\lambda = 430$ nm em espectrofotômetro UV-1650 PC (Shimadzu Corporation, Japão). A glicose mensurada foi convertida em amido por meio do fator de conversão 0,9.

A partir dos teores de amido total hidrolisado após 30, 60, 90 e 120 minutos de incubação foram elaboradas as curva de hidrólise. E então, foram calculadas as áreas sob as curvas, e calculado o índice de hidrólise (IH), representando a razão em porcentagem da área sob a curva de hidrólise do alimento teste em relação ao alimento controle (pão branco).

O IH tem se mostrado um bom preditor *in vitro* da resposta glicêmica dos alimentos, e foi altamente correlacionado com o índice glicêmico (IG) *in vivo*. Assim, os valores de IH obtidos *in vitro*, foram utilizados para estimar os valores de IG, de acordo com a equação estabelecida por GOÑI et. al (1997): $IG = 39,71 + 0,549(IH)$, $r = 0,89$, $p < 0,05$.

Resposta glicêmica em humanos

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FSP/USP (protocolo 1960 – ANEXO 4). Os voluntários foram informados detalhadamente sobre os objetivos e procedimentos utilizados, assegurando-se a proteção da privacidade. Foram recolhidos e entregues termos de consentimento aos participantes (ANEXO 5).

Como alimento controle foi utilizado o pão branco (pão francês) obtido de uma padaria fixa, produzido com 2 horas de antecedência ao teste. Este também foi utilizado como controle na avaliação *in vitro*.

Tanto para o alimento controle como para os alimentos testes, foram utilizadas porções que apresentavam 25g de carboidratos disponíveis (Tabela 1).

Tabela 1 – Porções dos alimentos utilizados para a avaliação da resposta glicêmica.

Alimento	Código	Porção (g)
Alimento controle: pão branco	pão	41,7
<i>Snack</i> de milho	M	31,4
<i>Snack</i> de milho + frutanos	M + F	38,1
<i>Snack</i> de milho e amaranto (50%)	50% A	36,9
<i>Snack</i> de milho e amaranto (50%) + frutanos	50% A + F	45,5
<i>Snack</i> de amaranto	100% A	44,0
<i>Snack</i> de amaranto + frutanos	100% A + F	57,3

Adultos saudáveis, não fumantes e que não faziam uso de medicações (exceto anticoncepcionais orais ou injetáveis) foram recrutados junto a estudantes e funcionários da FSP/ USP. Dezesete voluntários participaram deste estudo. Os resultados de dois voluntários foram excluídos por apresentarem constantemente resultados diferentes do grupo, tanto para o alimento controle, como para dois alimentos testes. Como critério de exclusão considerou-se os valores de áreas de resposta glicêmica maiores que dois desvios-padrão da média (WOLEVER et al., 2008; BRAND-MILLER et al., 2009). Por isso, são apresentados os resultados de 15 voluntários (13 mulheres e 2 homens) com $26,2 \pm 4,1$ anos de idade e $21,5 \pm 1,8 \text{ kg/m}^2$ de índice de massa corporal – IMC (média $\pm$ desvio padrão).

Cada voluntário participou de pelo menos quatro sessões, sendo duas para avaliar o alimento controle (pão branco) e as outras para avaliar o produto com e sem frutanos. De acordo com a disponibilidade dos voluntários, não foi possível que dez deles avaliassem os seis produtos. Assim, cinco participaram da avaliação dos seis *snacks* testados, três da avaliação de quatro, e nove da avaliação de dois destes produtos.

Quando a duplicata da área de resposta glicêmica do alimento controle apresentou coeficiente de variação superior a 20%, foi realizada a análise em triplicata (em dois voluntários). Inicialmente foi oferecido o alimento controle (pão branco) e posteriormente os alimentos testes, de forma casualizada.

O índice glicêmico (IG) foi determinado de acordo com método proposto por WOLEVER et al. (1991) e FAO/ WHO (1998), seguindo as recomendações de WOLEVER et al. (2008). Os voluntários foram distribuídos de acordo com a sua disponibilidade para participar do estudo, de forma que cada produto teste fosse avaliado por dez indivíduos. As sessões de avaliação da resposta glicêmica foram agendadas no período da manhã de acordo com a disponibilidade dos voluntários, com espaçamento de 3 a 7 dias entre as avaliações. Os participantes foram orientados a manterem seus hábitos alimentares e atividades físicas, e a não consumirem álcool nos dias anteriores ao teste. As medições de glicose no sangue foram realizadas após jejum (10 a 12 horas) e consumo de 25g de carboidrato disponível do alimento a ser testado ou do alimento controle, utilizando-se sempre o mesmo acompanhamento líquido (água). Os voluntários tinham até 10 minutos para ingerir o alimento avaliado, podendo consumir até 500 mL de água durante as duas horas de teste.

Foi realizada a coleta de sangue capilar da polpa digital para avaliar a glicemia de jejum, seguido pelo consumo do alimento correspondente, e posteriores punções nos tempos 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos após a ingestão do alimento (após a primeira mordida). A concentração de glicose sanguínea foi determinada em glicosímetro (Accu-Check® Active, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemanha).

O cálculo da área sob a curva de resposta glicêmica foi realizado geometricamente aplicando-se a regra trapezoidal, a qual considera apenas a área de incremento glicêmico acima do valor de glicose de jejum (WOLEVER et al., 1991; FAO/ WHO, 1998). O valor médio da área de resposta glicêmica do pão branco foi considerado como controle (IG do pão = 100), e o IG dos alimentos testados foram expressos como a razão em porcentagem da área de resposta glicêmica do alimento teste em relação à área do alimento controle. A média dos IGs individuais foi considerada como o IG do produto testado (WOLEVER et al., 1991). E então, este valor foi multiplicado por 0,7 fornecendo uma estimativa do IG obtido com glicose como alimento controle (IG da glicose = 100), este valor foi utilizado para calcular a Carga Glicêmica (CG) que foi determinada como produto do IG do alimento e da quantidade de carboidrato disponível existente na porção do alimento $[CG = (IG \times \text{teor de carboidrato disponível na porção}) / 100]$ (SALMERON et al., 1997).

Com base nestes valores foi possível classificar o IG e a CG dos alimentos testados. Considerando a glicose como alimento controle, o IG é classificado em baixo (≤ 55), moderado (56 - 69) ou alto (≥ 70) (BRAND-MILLER e FOSTER-POWELL, 1999). A CG dos alimentos pode ser classificada em baixa (≤ 10), moderada (11 - 19) ou alta (≥ 20) (Harvard School of Public Health, 2009).

Análise de dados

Os resultados da avaliação *in vitro* foram expressos como média e desvio padrão, e o da avaliação *in vivo*, como média e erro padrão. Para comparação de médias, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey. Foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson e a significância da correlação foi avaliada através do teste t de Student bicaudal.

A análise estatística foi realizada com o auxílio do software MINITAB 15.0 (Minitab Inc., Pensilvânia, Estados Unidos da América, 2006), adotando-se nível de significância de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição centesimal

A Tabela 2 apresenta a composição centesimal dos *snacks* à base de milho e amaranto antes e após a aromatização. Os resultados referentes as amostras obtidas com 50, 75 e 100% de amaranto foram discutidos previamente no CAPÍTULO 1.

A Tabela 2 também apresenta os teores de amido resistente (AR) e de amido disponível das diferentes formulações. Observa-se que os *snacks* sem aroma (M, 50%A, 75%A e 100%A) não diferem quanto o teor de AR, que foi diluído devido a adição de frutanos durante a etapa de aromatização. Todas as amostras apresentaram teores insignificantes de AR ($<1\%$ base seca), de acordo com a classificação proposta por GOÑI et al. (1996).

Tabela 2 – Composição centesimal e frações do amido dos *snacks* à base de milho e amaranto antes e após a incorporação de frutanos.

	M	M +F	50%A	50%A +F	75%A	75%A +F	100%A	100%A +F
Umidade	7,00 ^c ±0,40	9,31 ^a ±0,43	8,34 ^{ab} ±0,06	8,91 ^{ab} ±0,0	8,62 ^{ab} ±0,18	8,82 ^{ab} ±0,11	7,91 ^{bc} ±0,18	7,91 ^{bc} ±0,47
Cinzas	0,28 ^g ±0,04	3,76 ^d ±0,05	1,86 ^f ±0,05	7,02 ^c ±0,10	2,87 ^e ±0,02	7,63 ^b ±0,08	4,03 ^d ±0,49	8,46 ^a ±0,00
Lipídeos	0,22 ^b ±0,02	0,13 ^b ±0,02	0,14 ^b ±0,02	0,17 ^b ±0,05	0,30 ^a ±0,02	0,29 ^a ±0,01	0,32 ^a ±0,02	0,31 ^a ±0,03
Proteína	7,48 ^f ±0,05	6,87 ^f ±0,10	12,08 ^d ±0,27	10,33 ^e ±0,26	15,14 ^b ±0,49	13,35 ^c ±0,26	18,20 ^a ±0,11	15,40 ^b ±0,09
Amido total	89,66 ^a ±0,34	72,10 ^c ±0,84	74,95 ^b ±0,51	60,36 ^e ±0,37	67,19 ^d ±0,78	53,09 ^f ±0,38	61,72 ^c ±0,47	47,38 ^g ±0,39
Amido resistente	0,67 ^a ±0,08	0,55 ^{ab} ±0,06	0,58 ^a ±0,09	0,43 ^b ±0,01	0,62 ^a ±0,08	0,49 ^b ±0,06	0,66 ^a ±0,05	0,50 ^b ±0,04
Amido disponível	88,99	71,55	74,37	59,93	66,57	52,60	61,06	46,88
Fibra alimentar	2,44	16,94	10,24	23,37	14,64	26,55	15,36	27,89
Fibra insolúvel	2,22 ^e ±0,09	2,22 ^e ±0,09	8,40 ^c ±0,33	6,52 ^d ±0,74	11,98 ^a ±0,98	9,48 ^{bc} ±0,86	11,92 ^a ±0,62	10,38 ^b ±0,96
Fibra solúvel	0,22	14,72	1,84	16,85	2,66	17,07	3,44	17,51
Frutanos	0,19 ^d ±0,02	14,69 ^b ±0,41	0,60 ^{dc} ±0,04	15,83 ^a ±0,33	0,81 ^{dc} ±0,07	15,70 ^a ±0,06	1,03 ^c ±0,09	15,55 ^a ±0,14
Outros compostos	0,03 ^d ±0,00	0,03 ^d ±0,00	1,24 ^c ±0,16	1,02 ^c ±0,34	1,85 ^b ±0,23	1,37 ^c ±0,18	2,41 ^a ±0,28	1,96 ^{ab} ±0,35

M: milho, A: amaranto, F: frutanos.

Resultados expressos em base seca (g/ 100g).

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Cinética da digestão do amido *in vitro*

A cocção por extrusão é um processo tecnológico no qual a matéria prima é rapidamente cozida e texturizada por ação combinada da umidade, da pressão, da temperatura e do cisalhamento mecânico (MITCHELL e ARÊAS, 1992). As drásticas condições deste processo ocasionam a perda completa da estrutura granular e da cristalinidade do amido devido a gelatinização e a dextrinização (GOMEZ e AGUILERA, 1983, 1984; GONZALEZ et al., 2007) gerando produtos que apresentam elevada digestibilidade do amido (GUERRA-MATIAS e ARÊAS, 2004, 2005; BRENNAN et al., 2008; CAPRILES et al., 2008, 2009ab).

A Figura 1 apresenta a cinética de digestão do amido *in vitro* dos extrusados à base de milho e amaranto em comparação ao pão branco, utilizado como alimento controle.

Figura 1 – Cinética de digestão do amido *in vitro* dos *snacks* à base de milho e de amaranto, em comparação ao pão branco.

M: milho, A: amaranto.

Os dados representam a média de três determinações, e as barras o desvio padrão.

Observa-se que o aumento do teor de amaranto na formulação ocasionou redução da velocidade de hidrólise e do grau de amido hidrolisado durante o ensaio.

Os produtos elaborados com 0, 50, 75 e 100% de amaranto, apresentaram 99, 95, 93 e 81% de amido hidrolisado ao final da incubação enzimática, respectivamente. Os quatro *snacks* apresentaram curva de hidrólise do amido superior ou igual a do alimento controle, caracterizando assim, a elevada digestibilidade do amido destes produtos.

Ao comparar os produtos observa-se que o *snack* obtido com 100% A apresentou cerca de 10g a mais de fibra insolúvel que o produto elaborado com M, e redução de 18% do teor de amido hidrolisado após 120 min de incubação enzimática. Estes resultados são comparáveis aos obtidos por BRENNAN et al. (2008) que observaram redução de 17% da quantidade de carboidratos digeridos no ensaio *in vitro*, após adicionarem 15% de farelo de trigo à formulação de um cereal matinal extrusado.

A adição de frutanos (13g/ 100g) ocasionou redução da digestibilidade do amido de todos os produtos, que passaram a apresentar 73, 76, 69 e 56% de amido hidrolisado ao final do ensaio (em função do nível de amaranto na formulação), valores inferiores ao do pão branco (Figura 2).

Figura 2 – Cinética de digestão do amido *in vitro* dos *snacks* à base de milho e de amaranto enriquecidos com frutanos, em comparação ao pão branco.

M: milho, A: amaranto, F: frutanos.

Os dados representam a média de três determinações, e as barras o desvio padrão.

Ao comparar os dados das Figuras 1 e 2 observa-se que a incorporação de 13,3% de frutanos a formulação por meio do processo de aromatização ocasionou redução de aproximadamente 26% do teor de amido hidrolisado ao final do ensaio.

A adição de frutanos na etapa de aromatização deve ocasionar maior atenuação da resposta glicêmica do que a adição prévia ao processo de extrusão, uma vez que este processo pode gerar alterações moleculares na fibra alimentar, ocasionando perda parcial dos frutanos (CAPRILES et al., 2009b). Provavelmente por isso, BRENNAN et al. (2008) observaram redução de apenas 12% do teor de amido hidrolisado após 120 min de incubação enzimática ao incorporarem 15% de inulina a uma mistura de farinhas que foi extrusada para elaboração de cereais matinais. Os autores observaram bons resultados quanto as suas propriedades físicas; entretanto, ainda não se conhece a estabilidade dos frutanos durante o processo de extrusão.

A partir das áreas sob a curva de hidrólise do amido foi calculado o índice de hidrólise (IH), que foi utilizado para estimar o índice glicêmico (IG) e a carga glicêmica (CG) das amostras (Tabela 3).

Tabela 3 – Resposta glicêmica estimada dos *snacks* à base de milho e amaranto antes e após a incorporação de frutanos.

	pão branco	M	M +F	50%A	50%A +F	75%A	75%A +F	100%A	100%A +F
IH	100 ^{cd} ±0,00	133,42 ^a ±3,29	82,14 ^e ±0,01	120,77 ^b ±1,87	84,05 ^e ±2,38	103,92 ^c ±2,42	85,98 ^e ±1,23	96,73 ^d ±1,39	67,25 ^f ±0,83
IG _(pão)	94,61 ^{cd} ±0,00	112,96 ^a ±1,80	84,80 ^e ±0,01	106,01 ^b ±1,03	91,34 ^d ±1,30	96,76 ^c ±1,33	86,91 ^e ±0,67	92,81 ^{cd} ±0,76	76,63 ^f ±0,46
IG _(glicose)	66,23 ^{cd} ±0,00	79,07 ^a ±1,26	59,36 ^e ±0,00	74,21 ^b ±0,72	63,94 ^d ±0,91	67,73 ^c ±0,93	60,84 ^e ±0,47	64,97 ^{cd} ±0,53	53,64 ^f ±0,32
CD (30g)	17,84	23,90	19,69	20,31	16,49	18,42	14,52	17,05	13,10
CG (30g)	11,81 ^d ±0,00	18,90 ^a ±0,30	11,69 ^d ±0,00	15,07 ^b ±0,15	10,55 ^e ±0,15	12,47 ^c ±0,17	8,84 ^f ±0,07	11,08 ^e ±0,09	7,02 ^g ±0,04

M: milho, A: amaranto, F: frutanos.

IH = índice de hidrólise, IG = índice glicêmico, CD = carboidrato disponível, CG = carga glicêmica.

Valores obtidos pelas equações: $IG_{(pão)} = 39,71 + 0,549(IH)$; $IG_{(glicose)} = IG_{(pão)} * 0,7$; $CG = [(IG_{(glicose)} * CD \text{ na porção}) / 100]$.

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Observa-se que os extrusados obtidos com M e 50%A apresentaram valores de IH maiores que o do pão branco, caracterizando uma digestibilidade mais rápida e mais elevada. O extrusado de amaranto puro (100%A) apresentou IH similar ao do pão branco, concordando com os resultados avaliados anteriormente *in vitro* (GUERRA-MATIAS e ARÊAS, 2004; CAPRILES et al., 2008).

Ao comparar a digestibilidade do amido dos produtos antes da aromatização, observou-se que o aumento do teor de amaranto na formulação (0, 50, 75, 100%) ocasionou redução proporcional do IH ($r = -0,969$, $p = 0,031$); devido ao aumento do teor de fibra alimentar nas formulações ($r = -0,954$, $p = 0,046$), em especial a fração solúvel ($r = -0,969$, $p = 0,031$). Sabe-se que polissacarídeos não amido tem a capacidade de se hidratar, e assim restringem a quantidade de água que pode se ligar ao amido e consequentemente a sua taxa de gelatinização durante o processo de extrusão (YANNIOTIS et al., 2007).

A adição de frutanos ocasionou redução significativa do IH de todos os produtos, que passaram a apresentar valores inferiores ao do pão branco. O aumento do teor de fibra foi o responsável por este efeito ($r = -0,900$, $p = 0,002$), em especial a fração solúvel ($r = -0,852$, $p = 0,007$) que apresenta propriedade viscosa, dificultando a ação das enzimas amilolíticas (FAO/WHO 1998; CAPRILES et al., 2009b).

Na Tabela Internacional de IG e CG (ATKINSON et al., 2008) são descritos os seguintes valores, média de dezesseis estudos, para o pão branco $IG_{(pão)} = 108$, $IG_{(glicose)} = 75$, $CG = 11$ para uma porção de 30g; valores comparáveis aos dados estimados na Tabela 3. Desta forma, acredita-se que os valores de IG estimados para os *snacks* seriam próximos aos observados em seres humanos.

Os *snacks* obtidos com M e 50%A seriam classificados como alimentos de IG alto, e os obtidos com 75%A e 100%A como IG moderado. Não houve diferença de IG estimado entre o extrusado de amaranto e o pão branco, concordando com os dados obtidos em ensaio com seres humanos (GUERRA-MATIAS e ARÊAS, 2005). Após a adição de frutanos, os produtos passariam a apresentar IG moderado, com exceção do *snack* elaborado com 100%A +F que apresentou IG baixo.

Em relação a CG, os extrusados podem ser classificados como alimentos de CG moderada. A adição de frutanos ocasionou a redução da CG dos produtos.

Observou-se que os *snacks* 75%A +F e 100%A +F apresentam potencial para serem classificados como alimentos de baixa CG.

O efeito combinado do amaranto e dos frutanos tem potencial de reduzir em até 32% o IG e em 63% a CG em relação ao extrusado de milho (Tabela 3). Ressalta-se que os marcadores *in vitro* levam em consideração apenas os fatores intrínsecos aos alimentos que podem influenciar o aproveitamento dos carboidratos, e somente os ensaios *in vivo* para a determinação do índice glicêmico podem refletir a parte metabólica das respostas do organismo humano; sendo, portanto, necessário confirmar estes resultados em ensaios com seres humanos.

Resposta glicêmica aos *snacks*

Tentamos realizar esta análise nos *snacks* elaborados com 75%A e 75%A +F, no entanto, conseguimos contar com a colaboração de apenas metade (n=5) do número recomendado de voluntários. Por isso, os dados obtidos para estas amostras foram desconsiderados.

A Figura 3 apresenta as curvas de resposta glicêmica aos *snacks*. Os valores de glicemia de jejum (entre 4,7 e 4,9 mmol/L), assim como a ocorrência de pico de resposta glicêmica após 30 min da ingestão do alimento e o registro dos menores valores de glicemia após 120 min, bem como os formatos das curvas estão de acordo com as observações de BRAND-MILLER et al. (2009), que avaliaram a resposta glicêmica de mais de mil alimentos.

Figura 3 – Curvas de resposta glicêmica aos *snacks* em função dos níveis de amaranto e de frutanos na formulação, em comparação ao pão branco.

M: milho, A: Amaranto, F: frutanos.

Cada *snack* com e sem frutanos foi testado em um grupo de 8 – 10 indivíduos saudáveis. Os dados representam a média, e as barras o erro padrão. Para o alimento controle, foi utilizada a média dos três grupos.

As drásticas condições de temperatura, pressão e cisalhamento mecânico que ocorrem durante o processo de cocção por extrusão ocasionam alto grau de gelatinização do amido, o que resulta no fácil acesso enzimático e rápida digestão, gerando, conseqüentemente, produtos que ocasionam elevada resposta glicêmica, de forma similar ou até mesmo maior que a ocasionada pelo pão branco (BRAND et al., 1985; GUERRA-MATIAS e ARÊAS, 2005; BRAND-MILLER et al., 2009), como mostra a Figura 3.

Os *snacks* elaborados com M e com 50%A apresentaram curva de resposta glicêmica superior a do alimento controle, enquanto o *snack* produzido com 100%A apresentou curva próxima a do pão branco, concordando com os resultados de GUERRA-MATIAS e ARÊAS (2005), e com os obtidos *in vitro* (Figura 1). Diferentemente do esperado, a adição de frutanos (13,3%) não alterou a resposta glicêmica dos produtos. As únicas diferenças observadas foram os menores valores de glicemia após 60 min do consumo dos *snacks* 50%A+F e 100%A+F em relação aos produtos similares sem frutanos (50%A e 100%A).

A partir das curvas de resposta glicêmica foram calculados a área de resposta glicêmica (ARG), o IG e a CG dos *snacks*. Estes valores são apresentados na Tabela 4. Os resultados do pão 1 referem-se ao grupo que avaliou os *snacks* M e M +F, os do pão 2 ao grupo que avaliou os *snacks* 50%A e 50%A +F e os do pão 3 ao grupo que avaliou os *snacks* 100%A e 100%A +F. Não foram observadas diferenças entre os resultados obtidos para o alimento controle nos três grupos (pão 1, pão 2, pão 3), permitindo desta forma, a comparação entre os diferentes *snacks*.

Na Tabela Internacional de IG e CG (ATKINSON et al., 2008) são descritos os seguintes valores, média de dezesseis estudos, para o pão branco $IG_{(pão)} = 108$, $IG_{(glicose)} = 75$, $CG = 11$ para uma porção de 30g; dados comparáveis aos resultados apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Resposta glicêmica dos *snacks* à base de milho e amaranto antes e após a incorporação de frutanos.

	Pão 1	M	M +F	Pão 2	50%A	50%A +F	Pão 3	100%A	100%A +F
ARG	83,66 ^{bc}	104,15 ^a	86,31 ^{bc}	87,49 ^{bc}	101,76 ^a	79,23 ^c	84,67 ^{bc}	89,88 ^{abc}	77,08 ^c
(mmol.min.L ⁻¹)	±4,88	±3,44	±3,46	±4,36	±5,21	±2,96	±4,04	±4,25	±2,38
IG _(pão)	100 ^{bcd}	115,97 ^a	102,43 ^{abc}	100 ^{bcd}	115,61 ^a	86,10 ^d	100 ^{bcd}	104,93 ^{abc}	93,48 ^{cd}
	±0,00	±3,01	±4,60	±0,00	±6,14	±5,06	±0,00	±3,47	±3,32
IG _(glicose)	70 ^{bc}	81,18 ^a	71,70 ^{abc}	70 ^{bc}	80,93 ^a	65,40 ^c	70 ^{bc}	73,45 ^{abc}	65,94 ^c
	±0,00	±2,11	±3,22	±0,00	±4,30	±3,71	±0,00	±2,42	±2,33
CD porção de 30g	17,99	23,90	19,69	17,99	20,31	16,49	17,99	17,05	13,10
CG	12,59 ^{cd}	19,40 ^a	14,12 ^c	12,59 ^{cd}	16,44 ^b	10,78 ^d	12,59 ^{cd}	12,52 ^{cd}	8,56 ^e
porção de 30g	±0,00	±0,50	±0,63	±0,00	±0,87	±0,61	±0,00	±0,41	±0,31

M: milho, A: amaranto, F: frutanos.

ARG= área de resposta glicêmica, IG= índice glicêmico, CD= carboidratos disponíveis, CG= carga glicêmica.

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si (p≤ 0,05)

Os produtos elaborados com M e 50%A apresentaram IG superior ao do alimento controle, como era esperado com base na simulação *in vitro* (Tabela 3). O *snack* 100%A apresentou IG similar ao do pão branco, concordando com os resultados avaliados anteriormente *in vitro* (Tabela 3) e *in vivo* (GUERRA-MATIAS e ARÊAS, 2005). Não foi observado efeito dos níveis de amaranho no IG dos extrusados, e os três produtos apresentaram IG_(glicose) alto (≥ 70).

Diferentemente do esperado com base na simulação *in vitro* (Tabela 3) não houve efeito significativo dos frutanos no IG dos produtos, com exceção do *snack* elaborado com 50% de amaranho. Também não houve diferença de IG entre os três produtos enriquecidos com frutanos.

Em relação a CG, os três extrusados puros podem ser classificados como alimentos de CG moderada (11 - 19). A adição de frutanos ocasionou a redução da CG dos produtos, mas mesmo assim os *snacks* M +F e 50%A +F continuam na categoria dos alimentos com CG moderada. Já o *snack* 100%A +F apresenta CG baixa (≤ 10). A adição de amaranho e de frutanos, ocasionou redução da CG dos *snacks* devido ao aumento do teor de fibra alimentar ($r = -0,981$, $p = 0,001$) e consequente diminuição da quantidade de carboidratos disponíveis ($r = 0,984$, $p = 0,000$).

Observa-se na Figura 4 que os valores de IG e CG obtidos *in vivo* foram um pouco superiores aos estimados *in vitro*, mas classificam praticamente da mesma forma o IG e a CG dos *snacks*. Foi encontrada uma alta correlação entre os valores de IG e CG estimados e os obtidos *in vivo* ($r = 0,873$, $p = 0,023$; $r = 0,982$, $p = 0,001$ respectivamente); isto porque o IH foi altamente correlacionado com o IG ($r = 0,936$, $p = 0,006$) e a CG ($r = 0,930$, $p = 0,007$) obtidos no ensaio com seres humanos.

Estes resultados mostram o elevado potencial do marcador *in vitro* IH como uma etapa inicial na avaliação da disponibilidade dos carboidratos dos alimentos, e como um critério para seleção dos alimentos na ausência de dados de IG e CG dos mesmos. Todavia, deve ser considerado o número limitado de alimentos estudados para os quais já foram observadas correlações entre o IH e o IG; e o fato dos marcadores *in vitro* considerarem apenas os fatores intrínsecos aos alimentos que influenciam o aproveitamento dos carboidratos disponíveis (CAPRILES et al., 2009a).

Figura 4 – Comparação da resposta glicêmica *in vivo* e *in vitro* dos *snacks* em função dos níveis de amaranto e de frutanos na formulação.

M: milho, A: amaranto, F: frutanos.

As colunas representam a média, e as barras o erro padrão.

A adição de frutanos ocasionou redução de 12% do IG e de 27% da CG do *snack* M+F, resultados inferiores a redução estimada *in vitro*, de 25% do IG e de 38% da CG. Para os *snacks* 50%A+F e 100%A+F a adição de frutanos ocasionou redução de 19% e de 10% do IG, e de 34% e de 32% da CG respectivamente; resultados muito próximos aos esperados *in vitro*: redução de 14 e de 17% do IG, e de 30 e de 37% da CG, respectivamente.

Sabe-se que a adição de fibras alimentares solúveis viscosas retarda a digestão e a absorção dos carboidratos, devido a formação de um gel envolvendo o alimento e as secreções digestivas humanas, consequentemente diminui a resposta glicêmica tanto em indivíduos saudáveis como em diabéticos (JENKINS et al., 2002, 2008). Como a concentração e o grau de viscosidade das fibras estão relacionados a taxa de redução da resposta glicêmica pós-prandial, seria interessante avaliar se a incorporação de maiores quantidades de frutanos ou se a adição de fibras que apresentam maior viscosidade poderia contribuir para uma atenuação considerável da resposta glicêmica dos extrusados, ou seja, obtenção de produtos de baixo IG e CG.

Outra possibilidade seria adicionar as fibras solúveis às matérias primas previamente ao processo de extrusão e avaliar se as interações que ocorrem entre os nutrientes durante este processo poderiam ocasionar redução da resposta glicêmica dos extrusados.

CONCLUSÃO

Os *snacks* extrusados independentemente dos níveis de amaranço na formulação (0, 50 e 100%) ocasionaram elevada resposta glicêmica, como consequência da alta digestibilidade do amido devido às drásticas condições de temperatura, cisalhamento e pressão a que foram submetidos durante o processamento. A incorporação de 13,3% de frutanos na etapa de aromatização não alterou de forma significativa o IG dos produtos. Entretanto, o efeito combinado do amaranço e dos frutanos gerou redução de até 19% do IG e 56% da CG em relação ao extrusado de milho. A diminuição da CG deve-se principalmente a redução do teor de carboidratos disponíveis nos *snacks*, em função da adição de amaranço e de frutanos na formulação.

A abordagem adotada permitiu melhorar o valor nutritivo e atenuar a resposta glicêmica de produtos sem glúten, podendo contribuir para um melhor controle glicêmico dos celíacos diabéticos.

Novas abordagens, como o aumento do teor de frutanos, a incorporação de fibras que apresentem maior viscosidade, e a extrusão destes materiais devem ser testadas na tentativa de se obter um *snack* de baixo IG e CG.

REFERÊNCIAS

- ATKINSON, F. *et al.* International tables of glycemic index and glycemic load values: 2008. *Diabetes Care*, v. 31, n. 12, p. 2281-2283, 2008.
- BALL, S. *et al.* Prolongation of satiety after low versus moderately high glycemic index meals in obese adolescents. *Pediatrics*, v. 111, n. 3, p. 488-494, 2003.
- BERGMEYER, M. V.; BERNET, E. Determination of glucose with glucose oxidase and peroxidase. In: Bergmeyer, H.U. (Coord). *Methods of enzymatic analysis*. New York: Academic Press, 1974. p. 1204-1212.
- BRAND, J. *et al.* Food-processing and the glycemic index. *Am J Clin Nutr*, v. 42, n. 6, p. 1192-1196, 1985.
- BRAND-MILLER, J. Glycemic load and chronic disease. *Nutr Rev*, v. 61, n. 5, p. S49-S55, 2003.
- BRAND-MILLER, J.; FOSTER-POWELL, K. Diets with a low glycemic index: from theory to practice. *Nutrition Today*, v. 34, n. 2, p. 64-72, 1999.
- BRAND-MILLER, J. *et al.* Glycemic index, postprandial glycemia, and the shape of the curve in healthy subjects: analysis of a database of more than 1000 foods. *Am J Clin Nutr*, v. 89, n. 1, p. 97-105, 2009.
- BRENNAN, M. *et al.* Effect of inclusion of soluble and insoluble fibres into extruded breakfast cereal products made with reverse screw configuration. *Int J Food Sci Tech*, v. 43, n. 12, p. 2278-2288, 2008.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. *J Food Sci*, v. 73, n. 7, p. H160-4, 2008.
- CAPRILES, V. D. *et al.* Marcador in vitro da resposta glicêmica dos alimentos como ferramenta de auxílio à prescrição e avaliação de dietas. *Rev Nutr*, v. 22, n. 4, p. 549-557, 2009a.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Effect of fructans-based fat replacer on chemical composition, starch digestibility and sensory acceptability of corn snacks. *Int J Food Sci Tech*, v. 44, n. 10, p. 1895-1901, 2009b.
- CHATURVEDI, A. *et al.* Glycemic index of grain amaranth, wheat and rice in NIDDM subjects. *Plant Foods Hum Nutr*, v. 50, n. 2, p. 171-178, 1997.
- FAO/ WHO – Food and Agriculture Organization/ World Health Organization. Carbohydrates in human nutrition. Report of a join FAO/ WHO expert consultation. 66. Rome 1998.
- GILBERTSON, H. *et al.* Effect of low-glycemic-index dietary advice on dietary quality and food choice in children with type 1 diabetes. *Am J Clin Nutr*, v. 77, n. 1, p. 83-90, 2003.
- GOMEZ, M.; AGUILERA, J. Changes in the starch fraction during extrusion cooking of corn. *J Food Sci*, v. 48, n. 2, p. 378-381, 1983.
- GOMEZ, M.; AGUILERA, J. A physicochemical model for extrusion of corn starch. *J Food Sci*, v. 49, n. 1, p. 40-43, 1984.
- GOÑI, I. *et al.* Analysis of resistant starch: A method for foods and food products. *Food Chem*, v. 56, n. 4, p. 445-449, 1996.
- GOÑI, I. *et al.* A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index. *Nutr Res*, v. 17, n. 3, p. 427-437, 1997.

- GONZALEZ, R. *et al.* Amaranth starch-rich fraction properties modified by extrusion and fluidized bed heating. *LWT-Food Science and Technology*, v. 40, n. 1, p. 136-143, 2007.
- GUERRA-MATIAS, A. C.; ARÊAS, J. A. G. Cinética de hidrólise do amido de produto extrusado (snack) a base de amaranto (*Amaranthus cruentus* L.). *Nutrire*, v. 27, n. 1, p. 43-54, 2004.
- GUERRA-MATIAS, A.; ARÊAS, J. Glycemic and insulinemic responses in women consuming extruded amaranth (*Amaranthus cruentus* L.). *Nutr Res*, v. 25, n. 9, p. 815-822, 2005.
- Harvard School of Public Health. The Nutrition source. Carbohydrates and Glycemic load. Disponível em: <http://www.hsph.harvard.edu/nutritionsource/what-should-you-eat/carbohydrates-and-the-glycemic-load/> [Acesso em 09 Ago 2009]
- JENKINS, A. *et al.* Comparable Postprandial Glucose Reductions with Viscous Fiber Blend Enriched Biscuits in Healthy Subjects and Patients with Diabetes Mellitus: Acute Randomized Controlled Clinical Trial. *Croatian Medical Journal*, v. 49, n. 6, p. 772-782, 2008.
- JENKINS, A. *et al.* Depression of the glycemic index by high levels of beta-glucan fiber in two functional foods tested in type 2 diabetes. *Eur J Clin Nutr*, v. 56, n. 7, p. 622-628, 2002.
- JENKINS, D. *et al.* Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrates exchange. *Am J Clin Nutr*, v. 34, n. 3, p. 362-366, 1981.
- KAGNOFF, M. Overview and pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S10-8, 2005.
- LIVESEY, G. *et al.* Glycemic response and health - a systematic review and meta-analysis: relations between dietary glycemic properties and health outcomes. *Am J Clin Nutr*, v. 87, n. 1, p. 258S-268S, 2008.
- MITCHELL, J. R.; ARÊAS, J. A. G. Strutural in biopolymers during extrusion. In: Kokini J.L., et al. (Coord). *Food extrusion science and technology*. New York: Marcel Dekker, 1992. p.345-360.
- MURRAY, J. Celiac disease in patients with an affected member, type 1 diabetes, iron-deficiency, or osteoporosis? *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S52-56, 2005.
- ROSIN, P. *et al.* Measurement and characterization of dietary starches. *J Food Comp Anal*, v. 15, n. 4, p. 367-377, 2002.
- ROVNER, A. *et al.* The effect of a low-glycemic diet vs a standard diet on blood glucose levels and macronutrient intake in children with type 1 diabetes. *J Am Diet Assoc*, v. 109, n. 2, p. 303-307, 2009.
- SALMERON, J. *et al.* Dietary fiber, glycemic load, and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. *JAMA*, v. 277, n. 6, p. 472-477, 1997.
- WOLEVER, T. *et al.* The glycemic index: methodological and clinical implications. *Am J Clin Nutr*, v. 54, n. 5, p. 846-854, 1991.
- WOLEVER, T. *et al.* Measuring the glycemic index of foods: interlaboratory study. *Am J Clin Nutr*, v. 87, n. 1, p. 247S-257S, 2008.
- YANNIOTIS, S. *et al.* Effect of pectin and wheat fibers on quality attributes of extruded cornstarch. *J Food Eng*, v. 80, n. 2, p. 594-599, 2007.

CAPÍTULO 3. Barras de amaranto enriquecidas com frutanos: otimização da aceitabilidade através de metodologia de superfície de resposta

RESUMO

Um planejamento experimental para misturas de amaranto extrusado, estourado e laminado foi utilizado para desenvolver e maximizar a aceitabilidade de barras de amaranto enriquecidas com os frutanos inulina e oligofrutose. Os modelos de regressão ajustados aos dados experimentais mostraram que os componentes amaranto estourado e laminado apresentaram interações sinérgicas para a aceitação da aparência, da textura e da aceitação global do produto. A mistura binária de amaranto estourado e laminado ($\frac{1}{2}$, $\frac{1}{2}$) resultou nas formulações de barras de amaranto com o maior nível de aceitabilidade alcançado junto aos consumidores (aceitação global de 6,8 em uma escala hedônica estruturada de nove pontos). Todas as formulações apresentaram 6,2g de fibra alimentar por porção (25g), sendo destas 4,2g de frutanos. O planejamento experimental para misturas ternárias e a avaliação sensorial possibilitaram caracterizar e obter uma formulação de barra isenta de glúten, com alta aceitabilidade pelo consumidor, elevado valor nutritivo e propriedades funcionais. Esses resultados mostram o elevado potencial da barra de amaranto para a população em geral, e também para os celíacos.

INTRODUÇÃO

O crescimento substancial do mercado de barras de cereais, nos últimos vinte anos, deve-se ao desenvolvimento de produtos inovadores, por meio de fortificações com vitaminas e minerais e a incorporação de compostos bioativos, e o fato dos consumidores associarem as barras a produtos saudáveis (BOUSTANI e MITCHELL, 1990; BOWER e WHITTEN, 2000; PALAZZOLO, 2003).

A variedade de ingredientes e a procura de benefícios à saúde permitem uma grande possibilidade de diversificação deste produto. Entretanto, a população celíaca é praticamente excluída do consumo de barras de cereais, uma vez que estas frequentemente são elaboradas com ingredientes derivados de cereais que contêm glúten, como flocos de aveia, farelo de trigo e malte.

A doença celíaca não tem cura e apresenta como único tratamento a dieta isenta de glúten que deve ser seguida por toda a vida, prevenindo uma série de

complicações, dentre estas, a má absorção de cálcio e a reduzida densidade mineral óssea (CAPRILES et al., 2009).

Os celíacos têm dificuldades em dar sequência ao tratamento dietético, devido à escassez de produtos isentos de glúten e os impactos negativos desta restrição alimentar na qualidade de vida dos indivíduos (LEE e NEWMAN, 2003). Desta forma, o desenvolvimento de produtos para esta população é fundamental. Isso pode ser feito por meio da incorporação de ingredientes que contribuem para o aumento da absorção de cálcio, como os frutanos inulina e oligofrutose (ABRAMS et al., 2005), e matérias primas isentas de glúten e com valor nutritivo agregado, como o grão de amaranto. Este grão pode ser submetido a diferentes processamentos térmicos, como a extrusão, a laminação e a explosão para ser consumido ou incluído em preparações (CAPRILES et al., 2008).

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar as interações entre as misturas de amaranto extrusado, estourado e laminado e identificar as proporções entre os três componentes que possibilitem maximizar a aceitabilidade de barras enriquecidas com inulina e oligofrutose.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ingredientes

Castanha do Pará, coco ralado desidratado, uva passa, lecitina de soja, sucralose (10mg/ g ingrediente) e xarope de sorbitol foram adquiridos no mercado local. Foram cedidas amostras da mistura de inulina e oligofrutose (Raftilose® Synergy1, Orafiti NV, Tienen, Bélgica) e de colágeno hidrolisado (Hidrogel® B50, Gelita do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil).

O grão de amaranto (*Amaranthus cruentus* L. BRS-Alegria), cultivado em Brasília – DF, Brasil, foi processado para obtenção do produto estourado e extrusado. O grão foi estourado em frigideira aquecida com temperatura de 90 °C, e pressão atmosférica, por cerca de 10 - 15 segundos.

Para obtenção do extrusado, a farinha de amaranto desengordurada foi processada nas condições descritas no CAPÍTULO 1, adotando-se uma trafilha de dez furos com 3,17 mm de diâmetro interno.

O amaranto (*Amaranthus cruentus* L.) laminado foi adquirido de um fornecedor boliviano (Sociedad Agropecuaria Industrial y Técnica, La Paz, Bolívia).

A Figura 1 mostra as características do amaranto extrusado, estourado e laminado, e a Tabela 1, a composição centesimal destas matérias primas.

Figura 1 – Aparência do amaranto extrusado (1), estourado (2) e laminado (3).

Tabela 1 – Composição centesimal do amaranto processado.

	umidade	cinzas	proteína	lipídeos	fibra solúvel	fibra insolúvel	amido
Extrusado	7,91 ^c ±0,19	4,03 ^a ±0,49	18,20 ^a ±0,11	0,31 ^b ±0,02	3,44 ^a ±0,28	11,82 ^a ±0,99	61,72 ^a ±0,47
Estourado	1,30 ^b ±0,02	3,49 ^a ±0,15	15,20 ^b ±0,29	5,11 ^a ±0,40	2,04 ^b ±0,29	12,89 ^a ±0,50	60,63 ^a ±3,61
Laminado	10,17 ^a ±0,06	3,45 ^a ±0,08	15,34 ^b ±0,17	5,30 ^a ±0,09	1,71 ^b ±0,03	11,80 ^a ±0,20	62,83 ^a ±1,22

Resultados expressos em base seca (g/ 100g).

Mesmas letras na coluna indicam não haver diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$).

Fonte: Capriles et al. (2008).

Planejamento experimental

Foi utilizado o planejamento experimental centróide simplex para misturas ternárias com o objetivo de avaliar os efeitos da interação entre o amaranto extrusado (x_1), o amaranto estourado (x_2) e o amaranto laminado (x_3) na aceitabilidade, nas

propriedades físicas e na composição centesimal das barras. Foi adotado o modelo cúbico especial, que contém além dos termos do modelo aditivo, termos cruzados que descrevem a interação entre dois e três componentes. Foram realizadas duas repetições do ponto central e a inclusão de três pontos axiais, totalizando doze formulações. O maior nível de cada componente representava 42% da formulação total, de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2 – Planejamento experimental e níveis de amaranto extrusado (x_1), estourado (x_2) e laminado (x_3) na mistura.

Ensaio	Proporção de cada componente na mistura			Proporção de cada componente na barra (g/ 100g)		
	x_1	x_2	x_3	x_1	x_2	x_3
1	1,00	0,00	0,00	42,00	0,00	0,00
2	0,00	1,00	0,00	0,00	42,00	0,00
3	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	42,00
4	0,50	0,50	0,00	21,00	21,00	0,00
5	0,50	0,00	0,50	21,00	0,00	21,00
6	0,00	0,50	0,50	0,00	21,00	21,00
7	0,33	0,33	0,33	14,00	14,00	14,00
8	0,33	0,33	0,33	14,00	14,00	14,00
9	0,33	0,33	0,33	14,00	14,00	14,00
10	0,66	0,17	0,17	27,73	7,13	7,13
11	0,17	0,66	0,17	7,13	27,73	7,13
12	0,17	0,17	0,66	7,13	7,13	27,73

Produção das barras

A proporção entre o agente de ligação e os ingredientes secos foi de 40:60, padronizada em testes preliminares. As quantidades dos ingredientes utilizados para a produção das barras estão mostradas na Tabela 3.

Tabela 3 – Ingredientes utilizados para a produção das barras de amaranto (g/100g).

Ingredientes secos		Xarope de ligação	
Ingredientes	peso (g)	Ingredientes	peso (g)
Amaranto	42,00	Inulina e oligofrutose	17,00
Uva passa	7,04	Xarope de sorbitol	16,00
Castanha do Para	4,00	Colágeno hidrolisado	5,68
Coco ralado desidratado	3,48	Sucralose	1,00
Maça desidratada	3,48	Lecitina de soja	0,32

Os níveis de sorbitol e sucralose presentes nas formulações são seguros para o consumo e estão de acordo com a Resolução nº 18 de 24 de março de 2008 que instituiu o Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos (BRASIL 2008). O ANEXO 6 apresenta informações técnicas e nutricionais sobre o sorbitol e a sucralose.

Foi observado efeito prebiótico por meio da ingestão diária de 4 - 5g de inulina e oligofrutose (ROBERFROID, 1999; RAO, 2001), e aumento da absorção de cálcio em adolescentes por meio do consumo diário de 8g da mistura de inulina e oligofrutose (ABRAMS et al., 2005). Considerando estes valores, as formulações foram enriquecidas de modo a apresentar 4g da mistura de inulina e oligofrutose por porção de 25g.

Para a produção das barras, os ingredientes secos, previamente misturados, foram incorporados à mistura aquecida do xarope de ligação. A seguir, a massa homogênea foi acondicionada em bandejas, prensada e laminada, com o auxílio de um rolo (Figura 2).

Após o resfriamento, as barras foram cortadas em porções de 12,5g (obtendo-se 60 mini-barras para cada formulação) e embaladas em sacos de polipropileno codificados com três dígitos aleatórios, e armazenadas a temperatura ambiente por um dia até a avaliação de sua aceitabilidade e propriedades físico-químicas.

Figura 2 – Fluxograma de produção das barras de amaranto.

Avaliação sensorial

Foi aplicado um teste afetivo com escala hedônica estruturada de nove pontos, 1 – desgostei muitíssimo, 9 – gostei muitíssimo (STONE e SIDEL, 1985) para avaliar a aceitação da aparência, da textura, do sabor e a aceitação global das doze barras obtidas com o planejamento experimental (ANEXO 7). Para isso foram recrutados consumidores de barras de cereais (provadores não treinados) em meio a funcionários e estudantes da FSP/ USP (121 mulheres e 11 homens com idade entre 19 e 61 anos). Cada provador avaliou três produtos, que foram apresentados de forma monádica e sequencial, utilizando blocos incompletos balanceados. Foi oferecido um copo de água para a neutralização de sabores entre as amostras.

Inicialmente, foi adotado o planejamento centróide simplex com duas repetições do ponto central (formulações de 1 a 9 apresentadas na Tabela 2). As nove formulações obtidas foram avaliadas por 99 provadores. Cada provador avaliou três formulações sendo uma delas o ponto central. O modelo cúbico foi significativo para a aceitação global; no entanto, não havia condições de avaliar se este apresentava

falta de ajuste, uma vez que o número de ensaios era igual ao número de coeficientes do modelo a serem estimados (BARROS NETO et al., 2007). Desta forma, realizou-se a ampliação do modelo com a adição de três pontos axiais, formulações correspondentes aos ensaios 10, 11 e 12 (Tabela 2) e estas foram avaliadas em uma segunda sessão de avaliação sensorial com 33 provadores. Assim, o número de níveis do planejamento experimental passou a ser maior que o número de parâmetros do modelo ajustado, permitindo então testar se havia falta de ajuste.

Propriedades físicas

Foram pesadas dez unidades aleatórias de cada amostra em balança analítica. Com o auxílio de um paquímetro foram medidos o comprimento, a altura e a largura de dez unidades aleatórias de cada amostra. Esses valores foram utilizados para o cálculo do volume das barras segundo a seguinte fórmula: Volume = altura x comprimento x largura. O volume específico foi calculado pela relação volume/ massa (cm^3/g).

Foi avaliada a força de corte, como a medida da força máxima requerida para quebrar as amostras utilizando-se o probe Warner-Bratzler acoplado ao analisador de textura (TA-XT2i, Stable Micro Systems, Surrey, UK) na velocidade de 1 mm/s. A análise foi realizada em dez unidades aleatórias de cada amostra.

A cor foi avaliada para as amostras trituradas, em triplicata no aparelho Color Quest XE (Hunter Lab, Estados Unidos da América) seguindo o sistema CIE-Lab, com ângulo de observação de 10° e iluminante padrão D65, que corresponde a luz natural do dia. Foram medidos os valores de L^* ou luminosidade (preto 0/ branco 100), a^* (verde -/ vermelho +) e b^* (azul -/ amarelo +).

Também foram avaliados em triplicata, o pH adotando-se o método AOAC 945.42 em pHmetro (PA 200, Marconi Equipamentos para Laboratório Ltda., São Paulo, Brasil) e a atividade de água em medidor automático (CX-2, Aqualab-Decagon Devices Inc., Washington, Estados Unidos da América) a temperatura ambiente.

Composição centesimal

A composição centesimal foi determinada de acordo com as metodologias apresentadas no CAPÍTULO 1. Na determinação de amido total, foi descontada a concentração de 85µg de glicose/ g de barra, equivalente a leitura ocasionada pelas quantidades de sorbitol e sucralose presentes na formulação (ANEXO 6).

Análise de dados

Os resultados foram expressos como média e desvio padrão. Para comparação de médias, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey. Foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson e a significância da correlação foi avaliada através do teste t de Student bicaudal.

Aplicou-se um modelo de regressão múltipla, do tipo cúbico especial para as misturas de amaranto extrusado (x_1), o amaranto estourado (x_2) e o amaranto laminado (x_3), representado pela seguinte equação: $Y = b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{123}x_1x_2x_3$; onde Y é a resposta estudada, b são os coeficientes da regressão e x_1 , x_2 e x_3 são os níveis de cada componente na mistura (BARROS NETO et al., 2007). Foram calculados os coeficientes para os modelos e seus respectivos erros padrão e níveis de significância. A qualidade dos modelos foi avaliada por meio de análise de variância, do coeficiente de determinação, e análise visual do gráfico de resíduos contra as respostas previstas e do gráfico de probabilidade normal (ANEXO 8). Foram gerados os diagramas triangulares com as curvas de contorno para os modelos ajustados as propriedades das barras de amaranto.

O software MINITAB 15.0 (Minitab Inc., Pensilvânia, Estados Unidos da América, 2006) foi utilizado para análise estatística adotando-se nível de significância de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação sensorial

A Tabela 4 apresenta o grau de aceitabilidade das barras, cujas aparências podem ser vistas na Figura 3.

Tabela 4 – Aceitabilidade das barras segundo os níveis de amaranto extrusado (x_1), estourado (x_2) e laminado (x_3) na mistura.

Ensaio	Proporção de cada componente na mistura			Atributos de aceitação			
	x_1	x_2	x_3	aparência	textura	sabor	global
1	1,00	0,00	0,00	5,4 ^c ±1,8	5,6 ^a ±1,7	5,5 ^b ±1,7	5,4 ^b ±1,7
2	0,00	1,00	0,00	6,2 ^{abc} ±1,8	5,8 ^a ±1,6	6,2 ^{ab} ±1,5	6,1 ^{ab} ±1,4
3	0,00	0,00	1,00	6,8 ^{ab} ±1,4	6,0 ^a ±2,1	6,1 ^{ab} ±1,7	6,1 ^{ab} ±1,6
4	0,50	0,50	0,00	5,3 ^c ±2,2	5,6 ^a ±2,0	6,5 ^{ab} ±1,5	6,3 ^{ab} ±1,6
5	0,50	0,00	0,50	5,8 ^{bc} ±1,9	5,8 ^a ±1,9	6,0 ^{ab} ±1,6	5,8 ^{ab} ±1,6
6	0,00	0,50	0,50	7,2 ^a ±1,4	6,6 ^a ±1,7	6,8 ^a ±1,6	6,8 ^a ±1,5
7	0,33	0,33	0,33	6,2 ^{abc} ±1,8	6,0 ^a ±1,9	6,1 ^{ab} ±1,7	6,0 ^{ab} ±1,8
8	0,33	0,33	0,33	6,2 ^{abc} ±1,9	5,9 ^a ±1,8	6,0 ^{ab} ±1,8	6,1 ^{ab} ±1,8
9	0,33	0,33	0,33	6,3 ^{abc} ±1,8	5,9 ^a ±1,9	6,5 ^{ab} ±1,7	6,2 ^{ab} ±1,8
10	0,66	0,17	0,17	5,8 ^{bc} ±1,8	5,8 ^a ±1,9	6,2 ^{ab} ±1,6	5,9 ^{ab} ±1,6
11	0,17	0,66	0,17	6,4 ^{abc} ±1,2	6,0 ^a ±1,3	6,4 ^{ab} ±1,5	6,2 ^{ab} ±1,2
12	0,17	0,17	0,66	6,5 ^{abc} ±1,4	6,1 ^a ±1,4	6,3 ^{ab} ±1,6	6,2 ^{ab} ±1,5

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Figura 3 – Barras obtidas com o planejamento experimental para misturas de amaranto extrusado, estourado e laminado.

Observa-se na Tabela 4 que as formulações com 50% ou mais de amaranto extrusado (ensaios 1, 4, 5 e 10) apresentaram os menores valores de aceitação da aparência, que foram significativamente menores que os atribuídos para a barra com 50% de amaranto estourado e 50% de amaranto laminado (ensaio 6). A barra formulada com 100% de amaranto extrusado (ensaio 1) obteve as menores médias dos valores hedônicos para todos os atributos de aceitação avaliados, enquanto que a formulação com amaranto estourado e laminado ($\frac{1}{2}$, $\frac{1}{2}$), ensaio 6, obteve os maiores valores.

A Tabela 5 apresenta os modelos ajustados para os atributos sensoriais das barras de amaranto. Os coeficientes não significativos ($p > 0,05$) foram excluídos do modelo. Os resultados da análise de regressão, da análise de variância, bem como o exame dos resíduos deixados pelos modelos são apresentados em ANEXO 8.

Tabela 5 – Modelos ajustados aos atributos de aceitação das barras de amaranto.

Atributo	Equação	$R^2_{(aj)} \%$	p	Falta de ajuste (p)
Aparência	$Y_1 = 5,45x_1 + 6,25x_2 + 6,74x_3 - 1,62x_{12} + 2,89x_{23}$ ($\pm 0,15$) ($\pm 0,15$) ($\pm 0,15$) ($\pm 0,65$) ($\pm 0,65$)	92,2	0,000	0,255
Textura	$Y_2 = 5,64x_1 + 5,84x_2 + 5,98x_3 + 2,54x_{23}$ ($\pm 0,06$) ($\pm 0,06$) ($\pm 0,06$) ($\pm 0,25$)	94,9	0,000	0,456
Sabor	$Y_3 = 5,58x_1 + 6,21x_2 + 6,15x_3$ ($\pm 0,21$) ($\pm 0,21$) ($\pm 0,21$)	52,8	0,081	0,534
Global	$Y_4 = 5,39x_1 + 6,06x_2 + 6,08x_3 + 2,30x_{12} + 2,94x_{23} - 10,36x_{123}$ ($\pm 0,09$) ($\pm 0,09$) ($\pm 0,09$) ($\pm 0,46$) ($\pm 0,46$) ($\pm 2,48$)	92,6	0,002	0,572

x_1 = amaranto extrusado, x_2 = amaranto estourado, x_3 = amaranto laminado

Os modelos quadráticos ajustados à aceitação da aparência e da textura, assim como o modelo cúbico ajustado a aceitação global foram significativos ($p < 0,01$), não apresentaram falta de ajuste e explicaram mais de 90% da variação observada. Esses modelos bem ajustados aos dados experimentais foram utilizados para a obtenção dos diagramas triangulares, apresentados na Figura 4.

Figura 4 – Gráficos de contornos para a aceitabilidade das barras de amaranto.

Nos diagramas triangulares são indicadas as curvas de contornos (linhas ligando pontos de resposta de igual valor). Os três vértices correspondem às respostas dos componentes puros. Os pontos sobre os lados do triângulo equilátero representam os resultados das misturas binárias. Na região interna encontram-se as respostas referentes às misturas ternárias (BARROS NETO et al., 2007).

Os coeficientes dos modelos ajustados e os gráficos de contorno mostraram que quanto maior a proporção de amaranto extrusado na mistura, menor a aceitação da aparência das barras. Como observado na Figura 1, o extrusado apresenta maior volume e cor mais escura do que o amaranto estourado e laminado. Desta forma, as barras elaboradas com maiores proporções deste ingrediente apresentaram maior volume, cor mais escura, além de aspecto seco e opaco (Figura 3), resultando em baixa aceitação da aparência (valores da escala hedônica < 6). Os componentes amaranto extrusado e estourado apresentaram interação antagônica, prejudicando a aceitação da aparência das barras, possivelmente, devido as grandes diferenças de tamanho e cor entre estes ingredientes (Figuras 1 e 3).

Barras comercializadas são formuladas com cereais laminados, principalmente a aveia; e esta maior similaridade com as barras convencionais, de acordo com os comentários dos provadores, favoreceu a aceitação da aparência das formulações elaboradas com as maiores proporções de amaranto laminado.

Observou-se interação sinérgica entre os componentes amaranto estourado e laminado. As misturas destes componentes resultaram em barras compactas, com cor clara e com aspecto de umidade e brilho (Figura 3), ou seja, com aspecto mais próximo a das barras comerciais e por isso com maior grau de aceitação. A combinação destes componentes resultou em produtos com aspecto heterogêneo, indicando mistura de cereais.

As barras formuladas com as maiores proporções de amaranto estourado e laminado apresentaram os maiores valores de aceitação da textura; uma vez que estes componentes apresentaram menor volume que o amaranto extrusado, e por isso geraram produtos mais compactos, mais úmidos e com textura de barra mastigável, como a maioria das barras comerciais. A maior similaridade com as barras

comerciais, de acordo com os provadores, foi responsável pela maior aceitação da textura das barras formuladas com amaranto estourado e laminado. De acordo com BOUSTANI e MITCHELL (1990) e com BOWER e WHITTEN (2000) a maioria dos consumidores preferem as barras com textura mastigável a barras crocantes.

No entanto, alguns provadores indicaram maior aceitação para as barras com as maiores proporções de amaranto extrusado, por serem mais crocantes e diferentes das comercializadas. A Figura 4 sugere que as misturas com maiores proporções de amaranto estourado e laminado, podendo apresentar até 33% de amaranto extrusado, resultaram em barras com textura aceita (valores hedônicos > 6).

Acredita-se que barras com maiores teores de amaranto extrusado possam ter aparência e textura aceitas, desde que seja utilizado um extrusado mais compacto que o empregado no presente estudo; que apresentou volume específico três vezes maior que o do extrusado de arroz ($0,012 \text{ cm}^3.\text{mg}^{-1}$ v $0,004 \text{ cm}^3.\text{mg}^{-1}$, de acordo com a Figura 5), que é tradicionalmente utilizado na formulação das barras de cereais.

Figura 5 – Volume ocupado por 30g de extrusado de arroz comercial e de extrusado de amaranto obtido em laboratório.

Não foram observados efeitos dos componentes puros e nem de interações entre eles na aceitação do sabor das barras, que foram formuladas de modo a não mascarar o sabor dos componentes da mistura.

O modelo de regressão ajustado aos dados experimentais mostra o efeito sinérgico das misturas binárias de amaranto estourado com extrusado, e com o laminado. Já a mistura ternária prejudica a aceitação global das barras, provavelmente devido aos efeitos negativos do amaranto extrusado na aparência e na textura dos produtos. Observou-se que as amostras com os maiores índices de aceitação global foram obtidas na região experimental com as maiores proporções de amaranto estourado e laminado na mistura. Estes resultados podem ser explicados

em parte pelas propriedades físico-químicas das barras, que são mostradas na Tabela 6.

Propriedades físico-químicas

Tabela 6 – Propriedades físico-químicas das barras segundo os níveis de amaranto extrusado (x_1), estourado (x_2) e laminado (x_3) na mistura.

Ensaio	Proporção de cada componente na mistura			Volume específico (cm ³ /g)	Força de corte (Kg força)	Umidade (%)	Atividade de água	pH	Cor		
	x_1	x_2	x_3						L*	a*	b*
1	1,00	0,00	0,00	5,45 ^a ±0,30	3,53 ^c ±0,31	11,93 ^d ±0,08	0,45 ^g ±0,004	6,04 ^a ±0,01	63,38 ^{ef} ±0,50	6,36 ^a ±0,06	24,71 ^a ±0,25
2	0,00	1,00	0,00	2,82 ^d ±0,14	4,04 ^c ±0,47	13,25 ^{bc} ±0,17	0,45 ^{fg} ±0,001	5,48 ^h ±0,02	75,32 ^a ±0,06	3,76 ^g ±0,28	20,51 ^c ±0,37
3	0,00	0,00	1,00	1,09 ^g ±0,05	12,55 ^a ±1,31	14,55 ^a ±0,43	0,49 ^a ±0,002	5,89 ^c ±0,02	65,30 ^d ±0,73	4,63 ^f ±0,23	24,47 ^{ab} ±0,14
4	0,50	0,50	0,00	4,44 ^b ±0,30	5,70 ^d ±0,98	10,63 ^e ±0,16	0,44 ^h ±0,001	5,67 ^{de} ±0,02	68,78 ^c ±0,87	5,79 ^{bc} ±0,06	24,67 ^a ±0,08
5	0,50	0,00	0,50	3,27 ^c ±0,20	7,70 ^{bc} ±1,80	11,69 ^d ±0,42	0,47 ^c ±0,001	5,71 ^d ±0,03	64,70 ^{de} ±0,76	6,11 ^{ab} ±0,19	25,09 ^a ±0,24
6	0,00	0,50	0,50	1,88 ^f ±0,09	9,16 ^b ±1,34	14,71 ^a ±0,37	0,47 ^c ±0,002	5,98 ^{ab} ±0,06	60,34 ^g ±0,99	5,40 ^{cd} ±0,12	19,57 ^c ±0,72
7	0,33	0,33	0,33	3,02 ^{cd} ±0,16	7,44 ^c ±0,86	11,63 ^d ±0,16	0,45 ^{fg} ±0,001	5,56 ^{fgh} ±0,01	70,50 ^{bc} ±0,08	5,77 ^{bc} ±0,12	24,90 ^a ±0,20
8	0,33	0,33	0,33	2,88 ^{cd} ±0,15	7,16 ^{cd} ±0,90	11,66 ^d ±0,04	0,47 ^{cd} ±0,003	5,58 ^{fg} ±0,01	70,43 ^{bc} ±0,09	4,91 ^{ef} ±0,11	23,18 ^{cd} ±0,11
9	0,33	0,33	0,33	2,99 ^{cd} ±0,16	7,20 ^{cd} ±0,79	11,60 ^d ±0,04	0,46 ^{de} ±0,005	5,95 ^{bc} ±0,01	72,12 ^b ±0,55	5,23 ^{de} ±0,07	23,58 ^c ±0,28
10	0,66	0,17	0,17	4,11 ^b ±0,27	2,74 ^e ±0,42	12,47 ^{cd} ±0,14	0,46 ^{ef} ±0,003	5,62 ^{ef} ±0,05	63,85 ^{de} ±0,30	6,35 ^a ±0,03	24,51 ^a ±0,04
11	0,17	0,66	0,17	2,38 ^e ±0,14	6,30 ^{cd} ±0,78	13,47 ^b ±0,19	0,46 ^{def} ±0,001	5,32 ⁱ ±0,02	63,98 ^e ±0,50	5,44 ^{cd} ±0,02	22,34 ^d ±0,28
12	0,17	0,17	0,66	2,08 ^{ef} ±0,01	7,31 ^c ±1,11	13,86 ^{ab} ±0,16	0,48 ^b ±0,001	5,51 ^{gh} ±0,01	61,95 ^{fg} ±0,61	5,55 ^{cd} ±0,21	22,67 ^{cd} ±0,75

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si (p ≤ 0,05).

A Tabela 7 apresenta os modelos ajustados para as propriedades físico-químicas das barras de amaranto. Os coeficientes não significativos ($p > 0,05$) foram excluídos do modelo. Os resultados da análise de regressão, da análise de variância, bem como o exame dos resíduos deixados pelos modelos são apresentados em ANEXO 8.

Tabela 7 – Modelos ajustados às propriedades físicas das barras de amaranto.

Propriedade	Equação	$R^2_{(aj)}$ %	p	Falta de ajuste (p)
Volume específico	$Y_5 = 5,47x_1 + 2,61x_2 + 0,99x_3$ ($\pm 0,16$) ($\pm 0,16$) ($\pm 0,16$)	96,4	0,000	0,082
Atividade de água	$Y_7 = 0,44x_1 + 0,45x_2 + 0,49x_3$ ($\pm 0,004$) ($\pm 0,004$) ($\pm 0,004$)	86,4	0,000	0,713
a*	$Y_8 = 6,72x_1 + 4,44x_2 + 5,16x_3$ ($\pm 0,35$) ($\pm 0,35$) ($\pm 0,35$)	58,0	0,008	0,496
b*	$Y_9 = 25,96x_1 + 20,60x_2 + 23,49x_3$ ($\pm 0,90$) ($\pm 0,90$) ($\pm 0,90$)	52,0	0,015	0,352

x_1 = amaranto extrusado, x_2 = amaranto estourado, x_3 = amaranto laminado

Apenas o modelo linear ajustado ao volume específico das barras explica mais de 90% da variação observada. Além disso, esta foi a propriedade físico-química que ocasionou maior impacto na aceitabilidade das barras de amaranto. Por isso, optou-se por apresentar somente o digrama triangular desta propriedade (Figura 6).

Figura 6 – Gráfico de contornos para o volume específico (cm^3/g) das barras de amaranto.

Quanto maiores os níveis de amaranto extrusado na mistura, maior o volume específico das preparações. Já o amaranto estourado e laminado contribuem para a obtenção de barras menos volumosas (Figura 6). Observou-se que quanto menor o volume das barras, maiores os valores hedônicos atribuídos a aceitação da aparência ($r = -0,916$, $p = 0,000$), da textura ($r = -0,740$, $p = 0,006$) e a aceitação global ($r = -0,633$, $p = 0,027$) do produto.

A textura instrumental não foi correlacionada à textura avaliada sensorialmente, possivelmente devido a variabilidade dos dados da análise instrumental (coeficiente de variação entre 9 e 23%). Também não foi possível investigar o efeito dos componentes na textura instrumental das barras, uma vez que apesar do modelo de regressão ajustado a força de corte ($y = 3,17x_1 + 5,18x_2 + 11,86x_3$) ter sido significativo ($R^2_{(adj)} = 76,8\%$, $p = 0,001$), este apresentava falta de ajuste ($p = 0,012$).

Vários fatores podem influenciar a textura de um alimento, tais como a composição química, processamento, geometria entre outros (BOURNE, 2002). Neste caso, as variáveis relacionadas as barras como a diferença de volume e de força empregada no processo manual de prensagem contribuíram para a variabilidade das medidas, uma vez que houve padronização das condições em que a análise de textura foi realizada. Como as barras são multicomponentes, podem apresentar uma maior variabilidade intrínseca de suas propriedades de textura, e possivelmente o teste utilizado pode não ser o mais adequado para avaliar esta propriedade das barras.

A diferença de umidade entre as barras de amaranto é explicada em parte pela umidade das matérias primas (Tabela 1) e pelas características delas, como o volume específico. Os valores de umidade das barras variaram de 11,9 a 14,7% e os de atividade de água de 0,44 a 0,49 (Tabela 6), valores considerados microbiologicamente seguros. Valores de atividade de água acima de 0,60 favorecem o desenvolvimento de bactérias e fungos (EVANGELISTA, 2003). Os valores observados para as barras de amaranto são próximos aos reportados para outras formulações de barras de cereais, para as quais os valores de umidade variaram de 7 a 16% e os de atividade de água de 0,50 a 0,74 (ESCOBAR et al., 1994; FREITAS e MORETTI, 2005; TOSI et al., 2005; GUTKOSKI et al., 2007).

Não foram observados efeitos dos componentes da mistura no pH das barras. Os valores de pH variaram de 5,3 a 6,0, mostrando a baixa acidez dos produtos elaborados. Os valores encontrados são próximos a faixa de observação de FREITAS e MORETTI (2005) para barras de cereais elaboradas com proteína de soja e gérmen de trigo, $pH \sim 5,0$, e de MATSUURA (2005) para barras elaboradas com albebo de maracujá, $pH \sim 6,3$.

Não foram observados efeitos dos componentes da mistura no valor de L^* das barras. Os modelos de regressão linear ajustados às coordenadas a^* e b^* do espaço de cor foram significativos e não apresentavam falta de ajuste; no entanto, estes explicavam menos de 60% da variação observada. E apenas a coordenada b^* foi fracamente correlacionada com a aceitação da aparência ($r = -0,648$, $p = 0,023$) e a aceitação global das barras ($r = -0,666$, $p = 0,018$), indicando que quanto maior a quantidade de amaranto estourado na mistura, menor o valor da coordenada b^* e maior a aceitação da barra. Provavelmente a cor não foi fortemente associada a aceitação das barras porque não foi avaliada a aceitação da cor, e também pelo fato do volume das barras ter exercido maior impacto na aceitação da aparência das mesmas.

Composição centesimal

Não houve efeito significativo dos componentes na composição centesimal das barras de amaranto (Tabela 8).

Tabela 8 – Composição das barras segundo os níveis de amaranto extrusado (x_1), estourado (x_2) e laminado (x_3) na mistura.

Ensaio	Proporção de cada componente na mistura			umidade	cinzas	proteína	lipídeos	Fibra alimentar				amido total
	x_1	x_2	x_3					total	insolúvel	solúvel*	frutanos	
1	1,00	0,00	0,00	11,93 ^d ±0,08	2,01 ^a ±0,03	14,34 ^c ±0,00	4,82 ^d ±0,05	29,89	7,24 ^a ±0,26	3,32 ^a ±0,20	19,33 ^a ±0,05	33,58 ^a ±0,65
2	0,00	1,00	0,00	13,25 ^{bc} ±0,17	1,56 ^d ±0,07	14,73 ^{bc} ±0,45	8,05 ^b ±0,04	27,97	6,60 ^{bc} ±0,24	2,26 ^e ±0,18	19,11 ^a ±0,54	31,83 ^a ±0,48
3	0,00	0,00	1,00	14,55 ^a ±0,43	1,62 ^{cd} ±0,01	15,14 ^{bc} ±0,33	8,92 ^a ±0,41	28,23	6,25 ^c ±0,16	2,49 ^{cde} ±0,09	19,49 ^a ±0,14	31,02 ^a ±0,57
4	0,50	0,50	0,00	10,63 ^e ±0,16	1,47 ^d ±0,00	17,96 ^a ±0,27	6,48 ^c ±0,20	28,54	6,91 ^{ab} ±0,24	2,78 ^{bc} ±0,16	18,85 ^a ±0,21	32,71 ^a ±0,10
5	0,50	0,00	0,50	11,69 ^d ±0,42	1,51 ^d ±0,09	15,51 ^{bc} ±0,27	5,48 ^d ±0,03	28,85	6,84 ^{ab} ±0,18	2,94 ^b ±0,14	19,07 ^a ±0,05	32,30 ^a ±0,11
6	0,00	0,50	0,50	14,71 ^a ±0,37	1,86 ^{ab} ±0,07	15,16 ^{bc} ±0,44	8,48 ^{ab} ±0,36	28,29	6,42 ^{bc} ±0,14	2,37 ^{de} ±0,11	19,50 ^a ±0,18	31,42 ^a ±0,52
7	0,33	0,33	0,33	11,63 ^d ±0,16	1,79 ^{bc} ±0,01	14,48 ^c ±0,20	6,72 ^c ±0,05	28,12	6,66 ^{bc} ±0,18	2,67 ^{bcd} ±0,13	18,79 ^a ±0,11	33,53 ^a ±0,97
8	0,33	0,33	0,33	11,66 ^d ±0,04	1,81 ^{bc} ±0,01	14,63 ^{bc} ±0,20	6,78 ^c ±0,05	28,34	6,66 ^{bc} ±0,18	2,67 ^{bcd} ±0,13	19,01 ^a ±0,11	33,51 ^a ±0,97
9	0,33	0,33	0,33	11,60 ^d ±0,04	1,79 ^{abc} ±0,01	14,45 ^c ±0,20	6,70 ^c ±0,05	28,17	6,66 ^{bc} ±0,18	2,67 ^{bcd} ±0,13	18,84 ^a ±0,01	31,82 ^a ±0,15
10	0,66	0,17	0,17	12,47 ^{cd} ±0,14	1,90 ^{ab} ±0,03	14,51 ^c ±0,50	6,91 ^c ±0,03	28,32	6,67 ^{bc} ±0,20	2,41 ^{cde} ±0,15	19,23 ^a ±0,19	31,84 ^a ±0,40
11	0,17	0,66	0,17	13,47 ^b ±0,19	1,64 ^{cd} ±0,09	15,83 ^b ±0,00	6,50 ^c ±0,03	28,88	6,80 ^{ab} ±0,19	2,74 ^{bcd} ±0,16	19,34 ^a ±0,38	32,35 ^a ±0,08
12	0,17	0,17	0,66	13,86 ^{ab} ±0,16	1,48 ^d ±0,06	15,03 ^{bc} ±0,38	7,91 ^b ±0,01	28,53	6,56 ^{bc} ±0,16	2,59 ^{bcd} ±0,18	19,38 ^a ±0,03	31,79 ^a ±0,33

Resultados expressos em base seca (g/ 100g). *Fibra solúvel determinada com remoção dos frutanos.

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Observa-se o elevado teor de fibra alimentar destas preparações, cerca de 28%, sendo destas 19% de frutanos. Esta quantidade equivale a 4,2 gramas de frutanos por porção de barra (25 gramas), mostrando que não houve perdas significativas durante o processamento e a quantidade planejada foi atingida.

As barras de amaranto foram desenvolvidas especialmente para a população celíaca. Devido a associação entre a doença celíaca e o diabetes insulino-dependente (MURRAY, 2005), os açúcares utilizados para compor o xarope de ligação das barras de cereais foram substituídos por sucralose, para conferir sabor, e pela mistura de xarope de sorbitol, frutanos e colágeno hidrolisado, para conferir corpo.

O amaranto estourado foi utilizado previamente na formulação de barras de cereais, em níveis que correspondiam a 6% (ESCOBAR et al., 1994), 12% (ESTEVEZ et al., 1995; ESCOBAR et al., 1998), 16 a 19% (TOSI et al., 2005) e 47% (COELHO, 2006) da formulação. COELHO (2006) também utilizou a combinação de 34% de amaranto estourado e 13% de amaranto extrusado.

Este é o primeiro trabalho onde o amaranto foi utilizado isoladamente para compor a mistura de grãos em barras de cereais, representando 42% da formulação. O maior teor de amaranto na formulação, o uso de colágeno e o enriquecimento com frutanos são responsáveis pelos maiores teores de proteína e fibra das novas formulações.

Otimização da aceitabilidade

O modelo de regressão ajustado aos dados experimentais é útil para realizar previsões quando o valor de MQ_R/MQ_r for dez vezes maior que o valor do F tabelado para o número apropriado de graus de liberdade, no nível de confiança escolhido (BARROS NETO et al., 2007). Desta forma, os modelos ajustados (Tabela 5) não tem caráter preditivo, uma vez que o valor tabelado de $F_{6,5}$ é 4,39. Mas estes modelos podem ser utilizados para analisar o comportamento das respostas.

Assim, a partir dos modelos ajustados para os atributos de aceitação (Tabela 5) e dos gráficos de contornos obtidos (Figura 4) foram selecionadas três formulações que apresentariam os maiores valores de aceitação global. Estas barras foram produzidas e tiveram a sua aceitabilidade avaliada, como mostra a Tabela 9.

Tabela 9 – Respostas esperadas e obtidas experimentalmente para os atributos de aceitação das barras de amaranto.

	Proporção na mistura			Respostas esperadas [#]				Respostas obtidas			
	x ₁	x ₂	x ₃	aparência	textura	sabor	global	aparência	textura	sabor	global
1	0,00	0,50	0,50	7,2	6,5	6,6	6,80	6,8 ^a ±1,4	6,2 ^a ±2,0	6,6 ^a ±1,5	6,8 ^a ±1,3
2	0,33	0,67	0,00	5,6	5,6	6,4	6,34	6,2 ^a ±1,9	5,8 ^a ±1,9	6,4 ^a ±1,7	6,0 ^a ±1,8
3	0,50	0,50	0,00	5,5	5,6	6,3	6,30	6,4 ^a ±1,6	6,1 ^a ±1,9	6,4 ^a ±1,7	6,1 ^a ±1,8

x₁= amaranto extrusado, x₂= amaranto estourado, x₃= amaranto laminado

[#]Respostas esperadas calculadas a partir dos modelos apresentados na Tabela 4.

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si (p < 0,05).

A reprodução experimental das formulações selecionadas é importante para testar a qualidade do ajuste do modelo. Observa-se na Tabela 9 que os valores obtidos experimentalmente são próximos aos previstos pelos modelos ajustados. Não houve diferença de aceitação entre as formulações testadas no ensaio confirmatório, mostrando que as três apresentam potencial. As médias dos valores hedônicos atribuídos as barras variaram entre 6- “gostei ligeiramente” e 7-“gostei muito”.

Os coeficientes dos modelos ajustados e os gráficos de contorno mostram que o amaranto estourado e laminado apresentam interações sinérgicas para a aceitação da aparência, da textura e aceitação global, indicando que a mistura binária em partes equivalentes ($\frac{1}{2}$, $\frac{1}{2}$) resulta nas formulações com maior aceitabilidade. A elevada aceitabilidade desta formulação (aceitação global 6,8 em uma escala hedônica estruturada de nove pontos) associada ao seu valor nutritivo, mostra o elevado potencial destas barras como alternativas para a população em geral, e também para os celíacos, podendo contribuir para a maior adesão a dieta isenta de glúten.

CONCLUSÃO

Misturas de amaranto extrusado, estourado e laminado são tecnologicamente viáveis para elaboração de barras enriquecidas com frutanos (16g/ 100g). Misturas de amaranto estourado e laminado apresentam interações sinérgicas para a aceitação da aparência, da textura e aceitação global, uma vez que resultam em barras mais compactas, úmidas, com brilho e textura mastigável, propriedades encontradas em barras convencionais.

O planejamento experimental e a avaliação sensorial possibilitaram otimizar uma formulação de barra isenta de glúten, com alta aceitabilidade, elevado valor nutritivo e propriedades funcionais.

REFERÊNCIAS

- ABRAMS, S. *et al.* A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *Am J Clin Nutr*, v. 82, n. 2, p. 471-476, 2005.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of the AOAC International*. 18th ed. Maryland: AOAC, 2005.
- BARROS NETO, B. D. *et al.* Como modelar misturas. In: BARROS NETO, B. D. *et al* (Ed.). *Como fazer experimentos*. Campinas: Editora da Unicamp, 2007. p. 363-417.
- BOURNE, M. C. *Food texture and viscosity: concept and measurement*. New York: Academic Press, 2002.
- BOUSTANI, P.; MITCHELL, V. W. Cereal bars: a perceptual, chemical and sensory analysis. *Br Food J*, v. 92, n. 5, p. 17-22, 1990.
- BOWER, J.; WHITTEN, R. Sensory characteristics and consumer liking for cereal bar snack foods. *J Sensory Stud*, v. 15, n. 3, p. 327-345, 2000.
- BRASIL. Resolução n. 18, de 24 de março de 2008. Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos. *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, 25 mar. 2008.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. *J Food Sci*, v. 73, n. 7, p. H160-4, 2008.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Metabolic osteopathy in celiac disease: importance of a gluten-free diet. *Nutr Rev*, v. 67, n. 10, p. 599-606, 2009.
- COELHO, K. D. *Desenvolvimento e avaliação da aceitação de cereais matinais e barras de cereais à base de amaranto (Amaranthus cruentus L.)*. (Mestrado) - PRONUT (FCF/FEA/FSP). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

- ESCOBAR, B. *et al.*. Cereal bars with peanut and puffed amaranthus: chemical composition and stability in accelerated storage. *Arch Latin Nutri*, v. 44, n. 1, p. 36-40, 1994.
- ESCOBAR, B. *et al.* Nutritional characteristics of cereal and peanut bars. *Arch Latin Nutri*, v. 48, n. 2, p. 156-159, 1998.
- ESTEVEZ, A. *et al.* Cereal and nut bars, nutritional quality and storage stability. *Plant Foods Hum Nutr*, v. 47, n. 4, p. 309-317, 1995.
- EVANGELISTA, J. *Tecnologia de Alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 2003.
- FREITAS, D; MORETTI, R. H. Cereal bars with soy protein and wheat germ, physicochemical characteristics and texture during the storage. *Arch Latin Nutri*, v. 55, n. 3, p. 299-304, 2005.
- GONZALEZ, E.; DRAGANCHUK, M. Flavoring nutrition bars. *Cereal Foods World*, v. 48, n. 5, p. 250-251, 2003.
- GUTKOSKI, L. *et al.* Development of oat based cereal bars with high dietary fiber content. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 2, p. 355-363, 2007.
- LEE, A.; NEWMAN, J. Celiac diet: its impact on quality of life. *J Am Diet Assoc*, v. 103, n. 11, p. 1533-1535, 2003.
- MATSUURA, F. C. A. U. *Estudo do albebo de maracujá e de seu aproveitamento em barras de cereais*. (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- MURRAY, J. Celiac disease in patients with an affected member, type 1 diabetes, iron-deficiency, or osteoporosis? *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S52-56, 2005.
- PALAZZOLO, G. Cereal bars: They're not just for breakfast anymore. *Cereal Foods World*, v. 48, n. 2, p. 70-72, 2003.
- RAO, V. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. *Nutr Res*, v. 21, n. 6, p. 843-848, 2001.
- ROBERFROID, M. Concepts in functional foods: The case of inulin and oligofructose. *J Nutr*, v. 129, n. 7, p. 1398S-1401S, 1999b.
- STONE, H.; SIDEL, J.L. *Sensory Evaluation Practices*. London: Academic Press, 1985.
- TOSI, E. *et al.* Desarrollo de una golosina de alto valor proteico a partir de amaranto, otros cereales y oleaginosas. *Alimentaria*, n. 366, p. 75-81, 2005.

CAPÍTULO 4. Barras de amaranto enriquecidas com frutanos: propriedades físicas e nutricionais e estabilidade sensorial durante o armazenamento

RESUMO

Barras de amaranto enriquecidas com inulina e oligofrutose foram desenvolvidas e diversificadas em seis diferentes sabores (banana, castanha do Para e uva passa, coco, damasco, morango e nozes). As amostras apresentaram alta aceitação pelo consumidor (aceitação global variando de 6,3 a 7,6 em uma escala hedônica estruturada de nove pontos) e vantagens nutricionais (redução calórica e alto teor de fibras) em relação aos produtos comerciais disponíveis nas categorias tradicional (n=59), light (n=60), diet (n=8), à base de soja (n=10) e quinoa (n=1). Foram estimados índice glicêmico moderado (IG de 80 a 86) e baixa carga glicêmica (CG de 3,3 a 4,3) para as seis formulações. As barras nos sabores banana, castanha do Para e uva passa, e coco foram armazenadas durante seis meses a temperatura ambiente, simulando condições convencionais. Houve estabilidade de suas propriedades físico-químicas e do grau de aceitabilidade (aceitação global variando de 6 a 8) durante os seis meses de armazenamento. Por apresentarem alta aceitabilidade, vantajosa composição nutricional e vida de prateleira de seis meses, as barras de amaranto apresentam elevado potencial como alternativas as barras de cereais convencionais. E por serem isentas de glúten, podem contribuir para uma maior variação e adequação da dieta dos celíacos.

INTRODUÇÃO

As barras de cereais foram desenvolvidas nos anos 80 para preencher uma lacuna de mercado onde os biscoitos e os confeitos eram vistos como uma forma de *snack* pouco saudável (BOUSTANI e MITCHELL, 1990; BOWER e WHITTEN, 2000). Os ingredientes tradicionais incluem cereais, frutas e castanhas. Ao longo dos anos houve grande diversificação das barras de cereais, sendo comercializados produtos com as características originais de dureza e crocância, e também barras macias e mastigáveis que podem apresentar recheios e coberturas (GONZALEZ e DRAGANCHUK, 2003; PALAZZOLO, 2003).

O crescimento substancial deste mercado nas últimas décadas deve-se ao foco em conveniência e saúde e ao desenvolvimento de produtos inovadores. Formulações foram modificadas por meio da redução do valor calórico, do teor de gordura e de açúcares, e de fortificações com vitaminas e minerais, e a incorporação de compostos

bioativos (BOUSTANI e MITCHELL, 1990; BOWER e WHITTEN, 2000; GONZALEZ e DRAGANCHUK, 2003; PALAZZOLO, 2003).

Entretanto, a população celíaca é praticamente excluída do consumo destes produtos, uma vez que as barras são frequentemente formuladas com ingredientes que contêm glúten. Por apresentar elevado valor nutritivo e não conter glúten, o grão de amaranto é uma matéria prima atraente para a elaboração de produtos para os celíacos (KUPPER, 2005). Por meio da mistura do grão de amaranto estourado e laminado foi possível obter uma barra isenta de glúten aceita sensorialmente (CAPÍTULO 3). Esta preparação foi elaborada com inulina e oligofrutose (4,2g/porção de 25g) em quantidade equivalente ao consumo diário para o qual foi observado o efeito prebiótico (ROBERFROID, 1999a; RAO, 2001) e metade da quantidade necessária para o aumento da absorção de cálcio (ABRAMS et al., 2005). O produto desenvolvido pode contribuir para a maior variação e adequação da dieta dos celíacos e também para o aumento da absorção de cálcio, que está frequentemente prejudicada nesta população.

Considerando-se a grande possibilidade de diversificação das barras de cereais, o objetivo deste trabalho foi o de incorporar diferentes sabores a barra à base de amaranto estourado e laminado (1/2:1/2) previamente desenvolvida (CAPÍTULO 3) e caracterizar as novas formulações quanto as propriedades físico-químicas, a composição centesimal, a digestibilidade do amido *in vitro* e também quanto a estabilidade sensorial durante o período de armazenamento.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ingredientes

Os 132 consumidores de barras de cereais, participantes da primeira fase deste estudo (CAPÍTULO 3), foram solicitados a sugerir os sabores mais adequados para as barras de amaranto. Foram selecionados para testes os sabores mais indicados: banana (39%), morango (30%), castanha do Pará e uva passa (20%), coco (12%), nozes (11%) e damasco (11%). A aplicação de chocolate foi indicada por 33% dos provadores, mas não foi testada para evitar que este ingrediente mascarasse o sabor das frutas e castanhas.

Banana passa, coco ralado desidratado, castanha do Pará, uva passa, damasco desidratado, nozes, lecitina de soja, sucralose (10 mg/ g ingrediente) e xarope de sorbitol foram adquiridos no mercado local. Foram cedidas amostras da mistura de inulina e oligofrutose (Raftilose[®]Synergy1, Orafiti NV, Tienen, Bélgica), de colágeno hidrolisado (Hidrogel[®] B50, Gelita do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil), de morango liofilizado (Liotécnica Tecnologia em Alimentos Ltda. São Paulo, Brasil), e dos aromas de banana e coco (Lapiendrius Indústria e Comércio Ltda., São Paulo, Brasil), morango (Sabores e Aromas Alimentos Ltda., Rio de Janeiro, Brasil), mel e damasco (Duas Rodas Industrial Ltda., Santa Catarina, Brasil).

Formulação e produção das barras

As barras foram produzidas de acordo com os procedimentos descritos no (CAPÍTULO 3). A formulação básica está ilustrada na Tabela 1, com exceção do produto no sabor morango. Barras formuladas com 17,9% de morango liofilizado não foram viáveis devido ao seu forte sabor. Por isso, a mistura de ingredientes secos foi constituída por 25% de amaranto estourado, 25% de amaranto laminado, 9,84% de morango liofilizado e 0,16% de aroma de morango.

Tabela 1 – Ingredientes utilizados para a produção das barras de amaranto (g/100g).

Ingredientes secos		Xarope de ligação	
Ingredientes	peso (g)	Ingredientes	peso (g)
Amaranto estourado	21,00	Inulina e oligofrutose	17,00
Amaranto laminado	21,00	Xarope de sorbitol	16,00
Frutas e castanhas	17,9	Colágeno hidrolisado	5,68
Aromas	0,10	Sucralose	1,00
		Lecitina de soja	0,32

Avaliação sensorial

Consumidores de barras de cereais (provadores não treinados) foram recrutados entre funcionários, estudantes e visitantes da FSP/ USP (61 mulheres e 5 homens com idade entre 17 e 55 anos). A aceitabilidade das novas formulações foi avaliada de acordo com o método apresentado no CAPÍTULO 3.

Visando maior informação de como os consumidores normalmente agiriam em relação ao produto, foi aplicado um teste de intenção de consumo. Os provadores foram questionados se normalmente consumiriam o produto. Foi esclarecido que esta pergunta significava: “se você comprasse esta barra de cereais ou se ela fosse servida em sua casa, você a consumiria: sim ou não?” (HOUGH et al., 2003), de acordo com o ANEXO 7.

As **propriedades físico-químicas** foram avaliadas seguindo os protocolos apresentados no CAPÍTULO 3.

Composição centesimal e cálculo do valor calórico

A composição centesimal foi determinada por meio dos métodos apresentados no CAPÍTULO 1. Na determinação de amido total, foi descontada a concentração de 85µg de glicose/ g de barra, equivalente a leitura ocasionada pelas quantidades de sorbitol e sucralose presentes na formulação.

O valor calórico foi calculado com o uso dos fatores de conversão de ATWATER: 4 kcal/g (17 kJ/g) para proteínas, 4 kcal/g (17 kJ/g) para carboidratos e 9 kcal/g (37 kJ/g) para lipídeos (MERRILL e WATT, 1973), o fator de conversão de 1,5 kcal/g (6,3 kJ/g) para os frutanos (ROBERFROID, 1999b) e o fator de conversão de 2,4 kcal/g (10 kJ/g) para o sorbitol (BRASIL 2003).

Valor nutritivo de barras de cereais disponíveis no mercado

Foram avaliados o valor calórico e o teor de macronutrientes declarados nos rótulos de 138 barras de cereais comercializadas no município de São Paulo em 2008.

Cinética da digestão do amido *in vitro* e estimativa da resposta glicêmica

A digestibilidade do amido *in vitro* foi determinada de acordo com as metodologias apresentadas no CAPÍTULO 2. Foi descontada a concentração de 2,12µg de glicose/ 100mg de barra a cada tempo de avaliação, equivalente leitura ocasionada pela quantidade de sorbitol e sucralose presente na formulação. Tanto a

sucralose como o sorbitol são obtidos a partir da sacarose, e por isso estes formaram cor na análise do teor de glicose nas determinações de amido total e na avaliação da cinética de hidrólise do amido *in vitro*. Apesar do valor de leitura ser baixo representando 5% do teor de glicose determinado, optou-se por descontar estes valores evitando-se quantificação e interpretações enviesadas, uma vez que estes compostos ocasionam baixa resposta glicêmica (ANEXO 6).

A avaliação da resposta glicêmica *in vivo* não foi realizada para as barras de amaranto porque as porções contendo 25g de carboidratos disponíveis requeridas para o teste, correspondem a variação de 85 a 107g de barras de amaranto. Com base na experiência anterior (CAPÍTULO 2), acreditamos que os voluntários não teriam capacidade de consumir esta quantidade de alimento seco e volumoso durante os 10 minutos estipulados para a realização do teste.

Determinação da vida de prateleira

Foram obtidas 250 mini-barras (porções de 12,5g) para cada formulação. As barras foram acondicionadas individualmente em embalagens de filme flexível (gramatura de 122 g/m², composto por poliéster 17 g/m², tintas 3 g/m², alumínio 22 g/m², polietileno 80 g/m²) fornecido pela empresa Rangel Indústria e Comercio Ltda (São Paulo, Brasil). O armazenamento foi realizado em temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante seis meses. As propriedades físico-químicas e a os atributos de aceitação das barras de amaranto foram monitoradas utilizando as metodologias descritas no CAPÍTULO 3.

A cada 45 dias, cinquenta embalagens aleatórias de cada formulação foram abertas. Dez mini-barras foram utilizadas para a avaliação da textura, sete mini-barras foram misturadas, moídas e utilizadas para determinação do teor de umidade, atividade de água, pH e cor. Trinta e três mini-barras foram armazenadas em embalagens de polietileno codificadas com três números aleatórios e submetidas à avaliação sensorial. Em cada sessão participaram 33 provadores que foram recrutados dentre alunos e funcionários da FSP/ USP. Cada provador avaliou os três produtos, que foram apresentados de forma monádica e sequencial, utilizando o delineamento inteiramente casualizado. Para estimar a vida de prateleira dos

produtos com base na avaliação sensorial, foram utilizadas e comparadas duas abordagens: limite de aceitação e metodologia de corte por falha, de acordo com os procedimentos apresentados no CAPÍTULO 1.

Análise de dados

Os resultados foram expressos como média e desvio padrão. Para comparação de médias, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey. Foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson e a significância da correlação foi avaliada através do teste t de Student bicaudal.

A análise estatística foi realizada com o auxílio do software MINITAB 15.0 (Minitab Inc., Pensilvânia, Estados Unidos da América, 2006), adotando-se nível de significância de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação sensorial

As barras obtidas estão apresentadas na Figura 1.

Figura 1 – Efeito das frutas e castanhas na aparência das barras de amaranto.

Os resultados da Tabela 2 mostram que as frutas e castanhas adicionadas às formulações tiveram uma boa combinação com o amaranto estourado e laminado em termos de aparência, textura, sabor e aceitação global. Todas as formulações desenvolvidas foram aceitas sensorialmente e apresentaram médias dos valores hedônicos compreendidas entre 6 e 8 que indicam “gostei ligeiramente” e “gostei muito”, respectivamente.

Tabela 2 – Aceitabilidade e intenção de consumo das barras de amaranto, segundo o tipo de ingrediente adicionado a formulação.

Atributos de aceitação	Tipos de barras de amaranto					
	banana	castanha e uva passa	coco	damasco	morango	nozes
Aparência	7,3 ^a ±1,3	7,2 ^a ±1,2	7,1 ^a ±1,4	6,8 ^a ±1,6	7,1 ^a ±1,9	6,8 ^a ±1,3
Textura	7,6 ^a ±1,3	7,2 ^{ab} ±1,3	6,8 ^{ab} ±1,8	7,0 ^{ab} ±1,5	6,5 ^b ±1,5	7,2 ^{ab} ±1,3
Sabor	7,7 ^a ±1,3	7,1 ^{ab} ±1,7	7,4 ^{ab} ±1,1	6,9 ^{ab} ±1,5	6,5 ^b ±2,2	6,6 ^{ab} ±1,6
Global	7,6 ^a ±1,1	7,1 ^{ab} ±1,4	7,2 ^{ab} ±1,2	6,8 ^{ab} ±1,4	6,3 ^b ±2,0	6,7 ^{ab} ±1,4
Intenção de consumo (%)	91	79	76	69	61	69

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Não foram observados efeitos dos ingredientes utilizados na aceitação da aparência das barras. Em relação aos demais atributos as únicas diferenças observadas foram a maior aceitação da textura, do sabor e da aceitação global da barra de banana em relação a barra de morango. As barras nos sabores banana, castanha do Pará e uva passa, e coco apresentaram maiores índices de consumo potencial, possivelmente porque estes são sabores encontrados com maior frequência nas barras comerciais.

Não foram encontradas correlações entre os atributos de aceitação (Tabela 2) e as propriedades físico-químicas das barras (Tabela 3).

Propriedades físico-químicas

Tabela 3 – Propriedades físico-químicas das barras de amaranto, segundo o tipo de ingrediente adicionado a formulação.

	Tipos de barras de amaranto					
	banana	castanha e uva passa	coco	damasco	morango	nozes
Volume específico (cm ³ /g)	1,62 ^d ±0,11	1,80 ^{cd} ±0,15	2,62 ^a ±0,19	1,96 ^c ±0,11	2,27 ^b ±0,14	1,90 ^c ±0,08
Força de corte (Kg força)	3,30 ^a ±0,57	3,97 ^a ±0,52	4,00 ^a ±0,58	3,94 ^a ±0,81	3,22 ^a ±0,83	3,90 ^a ±0,82
Umidade (%)	17,19 ^a ±0,38	13,74 ^b ±0,12	11,17 ^d ±0,34	17,48 ^a ±0,41	13,37 ^b ±0,11	12,17 ^c ±0,09
Atividade de água	0,56 ^a ±0,002	0,54 ^c ±0,002	0,50 ^e ±0,003	0,56 ^b ±0,001	0,50 ^e ±0,001	0,53 ^d ±0,002
pH	6,01 ^c ±0,03	5,87 ^d ±0,02	6,56 ^a ±0,03	5,74 ^e ±0,01	4,54 ^f ±0,03	6,33 ^b ±0,03
Cor						
L*	59,30 ^d ±2,05	64,81 ^c ±0,44	70,56 ^a ±0,96	66,15 ^{bc} ±1,17	66,17 ^{bc} ±0,51	67,95 ^b ±0,82
a*	4,11 ^c ±0,13	3,59 ^c ±0,08	3,72 ^c ±0,07	4,99 ^b ±0,49	7,77 ^a ±0,52	4,21 ^{bc} ±0,02
b*	18,03 ^c ±0,58	19,20 ^c ±0,68	20,82 ^b ±0,08	22,18 ^a ±0,29	15,92 ^d ±0,38	22,77 ^a ±0,44

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

As diferenças de volume específico entre as barras são decorrentes das diferenças de umidade, formato e densidade entre os ingredientes incorporados as formulações; acarretando em maior ou menor compactação do produto (Tabela 3). A utilização das frutas como a banana passa, uva passa e o damasco desidratado contribuiu para a maior umidade e agregação dos ingredientes, resultando em produtos mais compactos (Tabela 3). Não foram detectadas diferenças de textura instrumental entre as amostras.

De forma geral, os valores de umidade das barras de amaranto variaram de 11,2 a 17,2% e os de atividade de água de 0,50 a 0,56, valores considerados microbiologicamente seguros (EVANGELISTA, 2003). Os valores observados para

as barras de amaranto são próximos aos reportados para outras formulações de barras de cereais, para as quais os valores de umidade variaram de 7 a 16% e os de atividade de água de 0,50 a 0,74 (ESCOBAR et al., 1994; FREITAS e MORETTI, 2005; TOSI et al., 2005; GUTKOSKI et al., 2007).

As frutas e castanhas incorporadas às formulações influenciaram o valor de pH das barras. A barra no sabor morango apresentou o menor valor, indicando uma leve acidez característica desta fruta; o que pode ter influenciado na aceitação. Os valores de pH variaram de 4,5 a 6,6, mostrando a baixa acidez dos produtos elaborados; sendo comparáveis aos valores relatados para outras barras de cereais, pH entre 5,0 e 6,3 (FREITAS e MORETTI 2005; MATSUURA, 2005).

Os parâmetros de cor, avaliados pelo sistema CIELab diferiram entre as amostras de acordo com as cores características dos ingredientes utilizados. A barra no sabor coco foi a formulação mais clara, como indica o maior valor de L^* em relação às demais formulações. Quanto à cromaticidade, todas as barras apresentaram valores positivos de a^* e b^* , sendo a barra de morango a que apresentou a maior intensidade da cor vermelha (maior valor da coordenada a^*) e as barras de damasco e de nozes as que apresentavam a maior intensidade da cor amarela (maiores valores da coordenada b^*).

Composição centesimal

Quanto a composição centesimal, (Tabela 4) destacam-se o maior teor de lipídeos, menor teor de amido e maior valor calórico das barras elaboradas com castanha do Pará, coco e nozes em relação às barras elaboradas com frutas, o que se deve a composição destas matérias primas. Os maiores teores de proteínas e fibras encontrados na barra no sabor morango devem-se aos maiores níveis de amaranto nesta formulação.

As seis formulações apresentaram elevado teor de fibra alimentar, cerca de 28% sendo cerca de 19% frutanos totais. A determinação do teor de frutanos em produtos enriquecidos e processados é essencial para saber se os níveis presentes são relevantes para a saúde humana; no caso das barras desenvolvidas, foram obtidos

4,2g por porção (25 g), ou seja, não houve perdas significativas durante o processamento uma vez que a quantidade planejada foi obtida.

Observou-se que a quantidade de amido resistente encontrada nas barras foi proporcional ao nível de amaranto na formulação (42%); uma vez que o amaranto estourado e laminado apresentam 0,5% de amido resistente (CAPRILES et al., 2008).

Tabela 4 – Composição centesimal e valor calórico das barras de amaranto, segundo o tipo de ingrediente adicionado a formulação.

	Tipos de barras de amaranto					
	banana	castanha e uva passa	coco	damasco	morango	nozes
Valor calórico* (kcal)	249,6	293,9	317,9	246,5	255,3	326,1
Valor calórico* (kJ)	1041,0	1225,7	1325,7	1027,8	1064,7	1359,8
Umidade*	17,19 ^a ±0,38	13,74 ^b ±0,12	11,17 ^d ±0,34	17,48 ^a ±0,41	13,37 ^b ±0,11	12,17 ^c ±0,09
Cinzas	1,80 ^{ab} ±0,11	1,62 ^{ab} ±0,11	1,53 ^{ab} ±0,30	1,90 ^a ±0,49	1,64 ^{ab} ±0,14	1,25 ^b ±0,07
Lipídeos	3,57 ^d ±0,12	11,47 ^c ±0,01	14,52 ^b ±0,06	3,70 ^d ±0,11	3,15 ^d ±0,07	15,90 ^a ±0,38
Proteína	13,56 ^c ±0,08	15,05 ^{ab} ±0,18	14,19 ^{bc} ±0,20	14,09 ^c ±0,47	15,72 ^a ±0,25	14,50 ^{bc} ±0,32
Amido total	37,12 ^a ±0,54	28,43 ^b ±1,13	27,04 ^b ±0,95	35,65 ^a ±2,19	34,52 ^a ±2,85	26,76 ^b ±0,99
Amido resistente	0,20 ^b ±0,02	0,16 ^{bc} ±0,02	0,18 ^{bc} ±0,01	0,13 ^c ±0,01	0,14 ^c ±0,01	0,17 ^{bc} ±0,00
Amido disponível	39,18	29,10	30,02	36,15	35,52	27,18
Fibra alimentar	29,17	27,54	27,46	28,3	29,21	26,17
Fibra insolúvel	5,88 ^c ±0,14	6,81 ^b ±0,21	6,29 ^{bc} ±0,04	7,44 ^a ±0,35	7,71 ^a ±0,30	5,20 ^d ±0,17
Fibra solúvel	23,29	20,73	21,17	20,86	21,5	20,97
Frutanos	20,69 ^a ±0,60	18,89 ^b ±0,54	18,99 ^b ±0,35	18,72 ^b ±0,47	19,12 ^{ab} ±0,00	19,38 ^{ab} ±0,75
Outros compostos	2,60 ^a ±0,13	1,84 ^{cd} ±0,14	2,18 ^b ±0,20	2,14 ^{bc} ±0,08	2,38 ^{ab} ±0,11	1,59 ^d ±0,15

* Resultados expressos em base úmida. Demais resultados foram expressos em base seca (g/ 100g).
As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Outros pesquisadores utilizaram o amaranto estourado na formulação de barras de cereais, em níveis que correspondiam a 6% (ESCOBAR et al., 1994), 12% (ESCOBAR et al., 1998), 16 a 19% (TOSI et al., 2005) e 47% (COELHO, 2006) do produto. O presente estudo é o primeiro em que o amaranto foi utilizado isoladamente para compor a mistura de grãos na formulação de barras de cereais, e também no qual foi testada a sua combinação com diferentes frutas e oleaginosas. Devido ao maior teor de amaranto (42%), ao uso de colágeno hidrolisado e ao enriquecimento com frutanos, as formulações desenvolvidas apresentaram maiores teores de proteína e fibra alimentar e menores quantidades de amido em relação às barras com amaranto desenvolvidas pelos autores acima citados. A substituição de açúcares e de lipídeos no xarope de ligação justifica o menor valor calórico das barras elaboradas no presente estudo.

A Tabela 5 apresenta a comparação do valor calórico e do teor de macronutrientes das barras de amaranto desenvolvidas neste estudo e das barras de cereais comerciais. As barras comerciais foram agrupadas de acordo com as alegações apresentadas em seus rótulos em quatro categoriais: “tradicionais”, “light”, “diet” e as barras elaboradas com soja. Também foram coletados os dados da barra elaborada com grãos de quinoa, crispies de arroz e frutas, pois esta é a única barra isenta de glúten disponível no mercado brasileiro atualmente.

Observou-se que para a substituição de açúcares e gorduras na formulação das barras comerciais do tipo “diet” e de algumas do tipo “light” foram utilizados os polióis (sorbitol, maltitol e lactitol), a polidextrose, a goma arábica, a goma acácia e o colágeno hidrolisado como agentes de corpo, e os edulcorantes de alta intensidade sucralose, stévia, ciclamato de sódio e acessulfame de potássio; de acordo com as listas de ingredientes presentes nas embalagens.

O teor de carboidratos das barras de amaranto e das comerciais do tipo “diet” e “light” correspondem a soma da quantidade de amido, açúcares e polióis na porção (Tabela 5).

Tabela 5 – Valor nutritivo por porção (25g) das barras de amaranto e das barras comercializadas no município de São Paulo, 2008.

	Barras de amaranto						Barras comerciais				
	banana	castanha	coco	damasco	morango	nozes	tradicional (n= 59)	“light” (n= 60)	“diet” (n= 8)	soja (n=10)	quinoa (n= 1)
Valor calórico (kcal)	62,4	73,5	79,5	61,6	63,8	81,5	94,5 ±8,4	84,2 ±7,0	72,1 ±10,1	89,3 ±11,3	89,0
Valor calórico (kJ)	260,2	306,4	331,4	257,0	266,2	339,9	398,6 ±35,5	350,7 ±50,4	310,4 ±47,4	375,0 ±47,6	377,0
Carboidratos (g)	11,3	9,9	9,8	11,0	11,2	9,7	16,7 ±1,9	16,1 ±1,7	17,1 ±1,8	13,4 ±2,0	15,0
Proteína (g)	2,7	3,1	3,1	2,8	3,3	3,1	1,4 ±0,6	1,2 ±0,3	1,3 ±0,5	3,3 ±2,1	2,4
Lipídeos (g)	0,7	2,4	3,1	0,7	0,7	3,4	2,5 ±1,0	1,8 ±0,7	0,8 ±1,1	2,6 ±1,2	2,2
Fibra alimentar (g)	6,1	6,0	6,0	6,0	6,3	5,6	1,4 ±0,8	1,9 ±1,6	1,9 ±0,9	2,1 ±1,6	3,2

Ao comparar as barras comerciais, observou-se que as da categoria “light” apresentaram em média 30% de redução do teor de lipídeos e 11% de redução calórica em relação as tradicionais. Desta forma os produtos são considerados “light” em gordura, uma vez que apresentaram redução maior que 25% deste nutriente, de acordo com o Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar, Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998.

As barras “diet” foram formuladas com a substituição de açúcares e de gorduras, e por isso obtiveram em média redução de 24% do valor calórico e de 70% do teor de lipídeos em relação as tradicionais. Observou-se que tanto as barras “light” quanto as “diet” continham maiores teores de fibra alimentar que as tradicionais, devido a utilização de polidextrose, um tipo de fibra alimentar solúvel, como substituto de açúcares e de gorduras.

As barras de soja e quinoa apresentam valor calórico e teor de lipídeos compatíveis com o segmento das tradicionais, no entanto, se destacam pelos maiores teores de proteínas e de fibra alimentar, nutrientes encontrados em maiores quantidades nestas matérias-primas do que nos cereais.

Os consumidores associam as barras de cereais a produtos saudáveis, por apresentarem fibra alimentar em sua composição (MURPHY, 1995). Entretanto, observou-se grande variação, de 0 a 5,9g de fibra/ porção das barras comerciais (Tabela 5). Em média, as barras “tradicionais” e as barras de soja apresentam teor de lipídeos maior do que o de fibras, por se utilizar gordura, óleo vegetal e/ou chocolate em sua formulação. As barras “light” contêm praticamente teores equivalentes de lipídeos e de fibras. Apenas 17,5% das barras comercializadas possuem teores consideráveis de fibra alimentar (≥ 3 g/ porção).

Quanto às barras de amaranto, observou-se que os produtos nos sabores banana, damasco e morango podem ser classificados como “light”, uma vez que apresentaram redução calórica média de pelo menos 32%, em relação as barras tradicionais comerciais. As barras de amaranto nos sabores castanha do Pará e uva passa, coco e nozes são consideradas do segmento de barras “tradicionais” por apresentarem valor calórico e teor de lipídeos próximo a média do valor encontrado para as barras comerciais desta categoria.

As barras de amaranto apresentaram menor teor de carboidratos que as barras de cereais comerciais e quase o triplo do teor de proteína que as tradicionais, “diet” e “light”. O maior teor de proteína deve-se ao uso de colágeno hidrolisado em níveis correspondentes a 1,42g/ porção. Estes níveis de proteínas são próximos aos observados nas barras de soja e de quinoa.

As barras de amaranto foram enriquecidas com inulina e oligofrutose, por isso apresentam, em média, o quádruplo do teor de fibra das barras “tradicionais”, o triplo das “light”, “diet e à base de soja e o dobro da de quinoa. Como apresentam mais de 6% de fibra alimentar, pode-se utilizar a alegação de “alto teor de fibra” para as barras de amaranto, de acordo com a Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998; e a alegação de funcionalidade relacionada à inulina e oligofrutose: “A inulina e os frutooligossacarídeos – FOS contribuem para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma dieta equilibrada e hábitos de vida saudáveis”; uma vez que cumpriram a exigência da porção diária do produto pronto para consumo apresentar mais de 3g destas fibras (BRASIL, 2009).

Estimativa da resposta glicêmica

A Figura 2 apresenta a velocidade de digestão do amido *in vitro* das barras de amaranto em comparação ao pão branco, utilizado como alimento controle.

Figura 2 – Cinética de digestão do amido *in vitro* das barras de amaranto, em comparação ao pão branco.

Os dados representam a média de três determinações, e as barras o desvio padrão.

Observou-se que a quantidade de amido hidrolisado foi próxima entre as barras durante todo o período de incubação enzimática, e inferior ao observado para o pão branco.

A partir das áreas sob a curva de hidrólise do amido foi calculado o índice de hidrólise (IH), que foi utilizado para estimar o índice glicêmico (IG) e a carga glicêmica (CG) para uma porção (25g) das barras (Tabela 6), de acordo com os cálculos apresentados no CAPÍTULO 2.

Tabela 6 – Resposta glicêmica estimada das barras de amaranto, segundo o tipo de ingrediente adicionado a formulação.

	pão branco	Tipos de barras de amaranto					
		banana	castanha e uva passa	coco	damasco	morango	nozes
IH	100,00 ^a	79,44 ^{bcd}	81,66 ^{bc}	84,15 ^b	80,34 ^{bc}	73,81 ^d	77,89 ^{cd}
	±0,00	±2,47	±2,09	±1,08	±1,40	±1,68	±0,64
IG _(pão)	94,61 ^a	83,32 ^{bcd}	84,54 ^{bc}	85,91 ^b	83,82 ^{bc}	80,24 ^d	82,47 ^{cd}
	±0,00	±1,36	±1,15	±0,59	±0,77	±0,93	±0,35
IG _(glicose)	66,23 ^a	58,32 ^{bcd}	59,18 ^{bc}	60,14 ^b	58,67 ^{bc}	56,16 ^d	57,73 ^{cd}
	±0,00	±0,95	±0,80	±0,42	±0,54	±0,65	±0,24
CG	9,93 ^a	4,26 ^b	3,50 ^d	3,51 ^d	4,13 ^{bc}	4,06 ^c	3,30 ^e
	±0,00	±0,07	±0,05	±0,02	±0,04	±0,05	±0,01

IH = índice de hidrólise, IG = índice glicêmico, CG = carga glicêmica.

Valores obtidos pelas equações: $IG_{(pão)} = 39,71 + 0,549(IH)$; $IG_{(glicose)} = IG_{(pão)} * 0,7$;

$CG = [(IG_{(glicose)} * \text{teor de carboidrato disponível na porção}) / 100]$.

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Na Tabela Internacional de IG e CG (ATKINSON et al., 2008) são descritos os seguintes valores, média de dezesseis estudos, para o pão branco $IG_{(pão)} = 108$, $IG_{(glicose)} = 75$, $CG = 9,1$ para uma porção de 25g; valores comparáveis aos dados estimados na Tabela 6. Desta forma, acredita-se que os valores de IG estimados para as barras seriam próximos aos observados em seres humanos.

As barras de amaranto poderiam ser classificadas como alimentos de IG moderado ($IG_{(glicose)} = 56 - 69$). O que se deve provavelmente ao efeito combinado da quantidade de amaranto (42%) e de frutanos (~19%) na formulação. O amido do amaranto estourado e laminado são de alta digestibilidade (CAPRILES et al., 2008) e os frutanos podem contribuir para a diminuição na velocidade e na quantidade de

amido hidrolisado devido a propriedade viscosa das fibras alimentares solúveis, dificultando a ação enzimática (FAO/ WHO 1998). A menor quantidade de fruta na formulação pode ter sido responsável pelos menores valores estimados de IG para a barra no sabor de morango. Apesar de apresentarem IG moderado, as barras de amaranto contêm baixas quantidades de carboidratos disponíveis, e por isso são alimentos de baixa CG (≤ 10). É necessário ainda confirmar estes resultados em ensaios com seres humanos.

São poucas as informações a respeito da resposta glicêmica das barras de cereais. Na Tabela Internacional de IG e CG (ATKINSON et al., 2008) encontra-se uma grande diferença de resposta glicêmica nesta categoria de produto, com valores de IG_(glicose) de 33 a 78, e CG de 3 a 15 para uma porção de 25g. BRAND-MILLER et al. (2009) também observaram grande variação nos valores de IG_(glicose) de 43 a 77.

Determinação da vida de prateleira

As barras de amaranto nos sabores banana, castanha do Pará e uva passa, e coco apresentaram maior grau de aceitabilidade e de intenção de consumo (Tabela 2) e por isso foram selecionadas para avaliação de sua vida de prateleira. A Figura 3 mostra os valores de umidade, de atividade de água, de pH e de textura instrumental das barras durante os 180 dias de armazenamento.

Observou-se que a barra de banana apresentou maior teor de umidade durante todo o período. Esta formulação apresentava maior quantidade de fruta (17,84% de banana passa) que a elaborada com castanha do Pará e uva passa (8% de uva passa). Já a barra no sabor de coco foi preparada com coco desidratado que apresenta menor teor de umidade que a uva e a banana passa; por isso esta formulação apresentou menores valores de umidade durante todo o período (Figura 3). Os teores de umidade das barras se mantiveram estáveis durante os 180 dias de armazenamento, devido à barreira ao vapor de água atribuída à folha de alumínio presente na embalagem utilizada (FREITAS e MORETTI, 2005).

Apesar da manutenção dos teores de umidade, houve redução dos valores de atividade de água das três formulações durante o período de estocagem (Figura 3). Pode ter ocorrido transferência de umidade das frutas para os demais ingredientes,

como as fibras solúveis inulina e oligofrutose, que apresentam alta capacidade de retenção de água o que ajuda a manter a umidade das barras de cereais durante o armazenamento (NINESS, 1999; IZZO e NINESS, 2001). Ou seja, parte da água passou a ficar ligada a estes ingredientes, diminuindo a quantidade de água disponível para reações (atividade de água).

De forma geral, os valores de umidade das barras de amaranto variaram de 11 a 18% e os de atividade de água de 0,46 a 0,56, valores considerados microbiologicamente seguros (EVANGELISTA, 2003). Os valores observados para as barras de amaranto são próximos aos reportados para outras formulações de barras de cereais, para as quais os valores de umidade variaram de 10 a 14% e os de atividade de água de 0,60 a 0,70 durante os 180 dias de armazenamento (FREITAS e MORETTI, 2005; GUTKOSKI et al., 2007).

Observa-se na Figura 3 que as frutas e a castanha do Pará incorporadas às formulações influenciaram o valor de pH das barras. A barra no sabor coco apresentou o maior valor de pH durante o ensaio de vida de prateleira. Houve redução do pH das barras com os sabores banana e coco durante os primeiros 90 dias de armazenamento, e então os valores se mantiveram estáveis após este período. Já para a barra no sabor de castanha do Pará e uva passa houve pequeno aumento do pH durante os primeiros 90 dias de armazenamento, e estabilidade dos valores após este período. Os valores de pH variaram de 5,7 a 6,2 mostrando a baixa acidez dos produtos elaborados.

A baixa variação dos valores de atividade de água e pH indicou a estabilidade química e microbiológica das barras de amaranto. FREITAS e MORETTI (2005) também observaram um pequeno aumento dos valores de pH de 4,8 a 5,2 durante os 180 dias de armazenamento de barras de cereais elaboradas com proteína de soja e gérmen de trigo.

A Figura 3 mostra o aumento da resistência ao corte da barra no sabor de banana durante o período de estocagem. Não foram observadas alterações significativas na resistência ao corte das demais formulações. O aumento nos valores de resistência ao corte foi atribuído a possível cristalização do xarope de aglutinação das barras (FREITAS e MORETTI, 2005); o que deve ter ocorrido em menor extensão na barra sabor coco e na barra sabor castanha do Pará e uva passa devido

aos seus maiores teores de lipídeos (Tabela 4), já que estes podem se complexar aos açúcares impedindo a sua cristalização.

Figura 3 – Efeito do tempo de armazenamento nas propriedades físicas das barras de amaranth. Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa da amostra em função do tempo de armazenamento ($p \leq 0,05$). Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as amostras ($p \leq 0,05$) em cada período de armazenamento.

A Tabela 7 apresenta os parâmetros de cor das barras durante o período de armazenamento. As frutas e a castanha adicionadas às formulações ocasionaram diferenças nos parâmetros de cor, avaliados pelo sistema CIE Lab. A barra no sabor coco foi a mais clara, como indica o maior valor de L^* em relação às demais

formulações. Quanto à cromaticidade, todas as barras apresentaram valores positivos de a^* e b^* .

Tabela 7 – Parâmetros de cor das barras de amarantho durante o período de armazenamento.

Tipo de barra	Dia	Parâmetros de cor			
		L	a	b	ΔE
Banana	1	59,30 ^{Cd} $\pm 2,05$	4,11 ^{Ca} $\pm 0,13$	18,03 ^{Db} $\pm 0,58$	0,00
	45	65,26 ^{Cc} $\pm 0,24$	4,41 ^{BCb} $\pm 0,06$	19,17 ^{Cb} $\pm 0,07$	6,08
	90	69,89 ^{Bab} $\pm 0,23$	4,71 ^{ABb} $\pm 0,19$	20,32 ^{Bb} $\pm 0,45$	10,86
	135	69,42 ^{Bb} $\pm 0,24$	4,74 ^{Ab} $\pm 0,07$	20,52 ^{ABc} $\pm 0,26$	10,44
	180	72,17 ^{Aa} $\pm 0,11$	4,61 ^{ABb} $\pm 0,07$	21,29 ^{Ab} $\pm 0,13$	13,28
Castanha do Pará e uva passa	1	64,81 ^{Bb} $\pm 0,44$	3,59 ^{Cb} $\pm 0,08$	19,20 ^{Bb} $\pm 0,68$	0,00
	45	67,38 ^{Bb} $\pm 0,17$	4,73 ^{Ba} $\pm 0,11$	21,14 ^{Aa} $\pm 0,11$	3,42
	90	69,95 ^{Ab} $\pm 0,73$	5,12 ^{Aa} $\pm 0,15$	21,02 ^{Ab} $\pm 0,18$	5,66
	135	70,17 ^{Ab} $\pm 0,23$	5,02 ^{ABa} $\pm 0,11$	21,45 ^{Ab} $\pm 0,21$	5,99
	180	69,71 ^{Ac} $\pm 0,42$	5,00 ^{ABa} $\pm 0,07$	21,47 ^{Ab} $\pm 0,06$	5,58
Coco	1	70,56 ^{Aa} $\pm 0,96$	3,72 ^{Cb} $\pm 0,07$	20,82 ^{Ca} $\pm 0,08$	0,00
	45	72,33 ^{Aa} $\pm 0,06$	4,50 ^{Bb} $\pm 0,08$	21,14 ^{Ca} $\pm 0,11$	1,96
	90	72,40 ^{Aa} $\pm 0,15$	5,09 ^{Aa} $\pm 0,05$	22,81 ^{ABa} $\pm 0,12$	3,04
	135	73,17 ^{Aa} $\pm 0,12$	5,06 ^{Aa} $\pm 0,11$	23,15 ^{Aa} $\pm 0,29$	3,75
	180	73,53 ^{Aa} $\pm 0,31$	4,70 ^{Bb} $\pm 0,08$	22,42 ^{Ba} $\pm 0,07$	3,51

Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa da amostra em função do tempo de armazenamento ($p \leq 0,05$). Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as amostras ($p \leq 0,05$) em cada período de armazenamento.

Observa-se aumento dos valores de L^* , a^* e b^* das amostras ao longo do tempo; conseqüentemente, maior diferença total de cor (ΔE) da barra estocada em relação à barra fresca. Após 90 dias de armazenamento, a diferença total de cor das barras ($\Delta E > 3$) poderia ser percebida pelo olho humano (FRANCIS e CLYDESDALE, 1981), o que pode impactar na aceitabilidade dos produtos.

As barras de amaranto mantiveram a alta aceitabilidade pelos consumidores, com valores superiores a aceitabilidade mínima tolerável (S) e ao valor 6 da escala hedônica, podendo ser consideradas comercialmente viáveis durante os 180 dias de armazenamento (Tabela 8).

Tabela 8 – Aceitabilidade das barras de amaranto durante o período de armazenamento.

Tipo de barra		Atributos de aceitação			
barra	dia	Aparência	Textura	Sabor	Global
Banana	1	7,33 ^{Aa} ±1,29	7,57 ^{Aa} ±1,27	7,67 ^{Aa} ±1,29	7,64 ^{Aa} ±1,11
	45	6,80 ^{Aa} ±1,26	6,86 ^{Aba} ±1,46	6,80 ^{ABab} ±1,26	6,72 ^{Ba} ±1,30
	90	7,06 ^{Aa} ±1,37	7,20 ^{ABa} ±1,30	6,91 ^{ABa} ±1,38	7,06 ^{ABa} ±1,33
	135	6,61 ^{Aa} ±1,39	6,30 ^{Ba} ±1,49	6,61 ^{Ba} ±1,57	6,55 ^{Ba} ±1,46
	180	7,39 ^{Aa} ±1,05	7,19 ^{ABa} ±1,37	7,19 ^{ABa} ±1,58	7,08 ^{ABa} ±1,54
	S	6,56	6,48	6,74	6,69
Castanha do Pará e uva passa	1	7,18 ^{Aa} ±1,24	7,24 ^{Aa} ±1,29	7,09 ^{Aa} ±1,66	7,12 ^{Aa} ±1,43
	45	6,78 ^{Aa} ±1,29	6,25 ^{Bab} ±1,48	6,08 ^{Ab} ±1,63	6,19 ^{Ba} ±1,51
	90	7,09 ^{Aa} ±1,09	6,71 ^{ABa} ±1,52	6,74 ^{Aa} ±1,58	6,80 ^{ABa} ±1,35
	135	7,00 ^{Aa} ±1,15	6,61 ^{ABa} ±1,29	7,03 ^{Aa} ±1,44	6,92 ^{ABa} ±1,25
	180	7,44 ^{Aa} ±1,44	6,97 ^{ABa} ±1,66	7,05 ^{Aa} ±1,43	7,17 ^{Aa} ±1,21
	S	6,61	6,38	6,11	6,22
Coco	1	7,09 ^{Aa} ±1,40	6,82 ^{Aa} ±1,79	7,39 ^{Aa} ±1,14	7,21 ^{Aa} ±1,24
	45	6,42 ^{Aa} ±1,48	5,75 ^{Ab} ±1,83	7,11 ^{Aa} ±1,26	6,78 ^{Aa} ±1,27
	90	7,00 ^{Aa} ±1,33	6,63 ^{Aa} ±1,75	7,34 ^{Aa} ±1,28	7,00 ^{Aa} ±1,37
	135	6,44 ^{Aa} ±1,40	6,11 ^{Aa} ±1,77	7,11 ^{Aa} ±1,63	6,61 ^{Aa} ±1,63
	180	6,92 ^{Aa} ±1,54	6,61 ^{Aa} ±1,50	7,31 ^{Aa} ±1,33	7,00 ^{Aa} ±1,31
	S	6,35	5,80	7,09	6,68

Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa da amostra em função do tempo de armazenamento ($p \leq 0,05$).

Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as amostras ($p \leq 0,05$) em cada período de armazenamento.

S - aceitabilidade mínima tolerável para a amostra em armazenamento

CONCLUSÕES

Foi possível obter barras à base de amaranto integral, em seis diferentes sabores, com alta aceitabilidade pelo consumidor. Essas barras apresentaram vantagens nutricionais em relação as disponíveis no mercado (redução calórica e maior teor de fibras).

A formulação, o processamento, a embalagem e o armazenamento utilizado permitiram a manutenção dos valores de atividade de água (0,46 - 0,56) em uma zona estável quimicamente e microbiologicamente, desta forma não houve alterações no grau de aceitação dos atributos sensoriais das barras durante os seis meses de estocagem.

A formulação, o processo de fabricação e o tipo de armazenamento empregado possibilitaram a obtenção de barras isentas de glúten, de elevado valor nutritivo e com vida de prateleira relativamente longa. Estas características mostram o elevado potencial destes novos produtos como alternativas aos produtos atualmente disponíveis no mercado. As barras de amaranto enriquecidas com frutanos podem contribuir para uma maior adesão dos celíacos ao seu tratamento e também para auxiliar no aumento da absorção de cálcio, que está frequentemente prejudicada nesta população.

REFERÊNCIAS

- ABRAMS, S. *et al.* A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *Am J Clin Nutr*, v. 82, n. 2, p. 471-476, 2005.
- ATKINSON, F. *et al.* International tables of glycemic index and glycemic load values: 2008. *Diabetes Care*, v. 31, n. 12, p. 2281-2283, 2008.
- BOUSTANI, P.; MITCHELL, V. W. Cereal bars: a perceptual, chemical and sensory analysis. *Br Food J*, v. 92, n. 5, p. 17-22, 1990.
- BOWER, J.; WHITTEN, R. Sensory characteristics and consumer liking for cereal bar snack foods. *J Sensory Stud*, v. 15, n. 3, p. 327-345, 2000.
- BRAND-MILLER, J. *et al.* Glycemic index, postprandial glycemia, and the shape of the curve in healthy subjects: analysis of a database of more than 1000 foods. *Am J Clin Nutr*, v. 89, n. 1, p. 97-105, 2009.
- BRASIL. Portaria n. 29, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 20 mar. 1998.

- BRASIL. Resolução n. 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 26 dez. 2003.
- BRASIL. Lista das alegações aprovadas para Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Publicado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm Acesso em: 8 mar. 2009.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. *J Food Sci*, v. 73, n. 7, p. H160-4, 2008.
- COELHO, K. D. Desenvolvimento e avaliação da aceitação de cereais matinais e barras de cereais à base de amaranto (*Amaranthus cruentus* L). (Mestrado) - PRONUT (FCF/FEA/FSP). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.
- ESCOBAR, B. *et al.* Cereal bars with peanut and puffed amaranthus: chemical composition and stability in accelerated storage. *Arch Latin Nutri*, v. 44, n. 1, p. 36-40, 1994.
- ESCOBAR, B. *et al.* Nutritional characteristics of cereal and peanut bars. *Arch Latin Nutri*, v. 48, n. 2, p. 156-159, 1998.
- EVANGELISTA, J. *Tecnologia de Alimentos*. São Paulo: Editora Atheneu, 2003.
- FRANCIS, F. J.; CLYDESDALE, F. M. Food Colorimetry: Theory and Applications. In: FERREIRA, V. L. P. (Coord). *Princípios e aplicações da colorimetria em alimentos*. Campinas: ITAL, 1981.
- FAO/ WHO – Food and Agriculture Organization/ World Health Organization. Carbohydrates in human nutrition. Report of a join FAO/ WHO expert consultation. 66. Rome 1998.
- FREITAS, D; MORETTI, R. H. Cereal bars with soy protein and wheat germ, physicochemical characteristics and texture during the storage. *Arch Latin Nutri*, v. 55, n. 3, p. 299-304, 2005.
- GUTKOSKI, L. *et al.* Development of oat based cereal bars with high dietary fiber content. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 2, p. 355-363, 2007.
- HOUGH, G. *et al.* Survival analysis applied to sensory shelf life of foods. *J Food Sci*, v. 68, n. 1, p. 359-362, 2003.
- IZZO, M.; NINESS, K. Formulating nutrition bars with inulin and oligofructose. *Cereal Foods World*, v. 46, n. 3, p. 102-106, 2001.
- KUPPER, C. Dietary guidelines and implementation for celiac disease. *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S121-7, 2005.
- MATSUURA, F. C. A. U. *Estudo do albebo de maracujá e de seu aproveitamento em barras de cereais*. (Doutorado) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- MERRILL, A. L.; WATT, B. K. *Energy value of foods: basis and derivation*, revised. US Department of Agriculture, Agriculture Handbook 74; 1973. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/Classics/index.html> Acesso em: 9 ago. 2009.

- MURPHY, P. Countlines and cereal bar. In: Jackson, E. B. (Coord). *Sugar confectionery manufacture*. London: Blackie Academic & Professional, 1995. p. 287-297.
- NINESS, K. Breakfast foods and the health benefits of inulin and oligofructose. *Cereal Foods World*, v. 44, n. 2, p. 79-81, 1999.
- PALAZZOLO, G. Cereal bars: They're not just for breakfast anymore. *Cereal Foods World*, v. 48, n. 2, p. 70-72, 2003.
- RAO, V. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. *Nutr Res*, v. 21, n. 6, p. 843-848, 2001.
- ROBERFROID, M. Concepts in functional foods: The case of inulin and oligofructose. *J Nutr*, v. 129, n. 7, p. 1398S-1401S, 1999a.
- ROBERFROID, M. Caloric value of inulin and oligofructose. *J Nutr*, v. 129, n. 7 Suppl, p. 1436S-7S, 1999b.
- TOSI, E. *et al.* Desarrollo de una golosina de alto valor proteico a partir de amaranto, otros cereales y oleaginosas. *Alimentaria*, n. 366, p. 75-81, 2005.

CAPÍTULO 5. Frutanos como melhorador tecnológico e nutricional do pão sem glúten

RESUMO

Frequentemente observa-se baixa densidade mineral óssea em celíacos, fazendo com que o risco de fraturas seja maior que o restante da população. Os celíacos têm dificuldade em dar sequência ao tratamento dietético devido a escassez de produtos isentos de glúten. Assim, o desenvolvimento de produtos para esta população é fundamental, e estes podem ser formulados com ingredientes que contribuem para o aumento da absorção de cálcio, como os frutanos inulina e oligofrutose. Avaliou-se o efeito da adição de diferentes níveis da mistura desses frutanos (4-12%) nas características tecnológicas e nutricionais do pão sem glúten. Ocorreu perda de 32% dos frutanos adicionados durante o processamento, sendo necessária a adição de 12% a formulação para se obter um produto enriquecido com 4g de frutanos/ porção (50g), níveis compatíveis com suas propriedades funcionais. A adição de 12% de frutanos é viável, pois melhorou a expansão, a textura, a cor e aumentou a aceitabilidade do pão sem glúten. Também foram observados aumento do teor de fibra alimentar e a redução da resposta glicêmica do produto. É possível incorporar ingredientes funcionais a um pão sem glúten, melhorando suas características sensoriais e valor nutritivo. Os pães desenvolvidos podem contribuir para uma variação da dieta dos celíacos.

INTRODUÇÃO

A doença celíaca afeta aproximadamente 1% da população ocidental, não tem cura e apresenta como único tratamento a dieta isenta de glúten que deve ser seguida por toda a vida, prevenindo uma série de complicações, como os prejuízos nutricionais e os cânceres do tubo digestivo (KAGNOFF, 2005; REWERS, 2005).

Frequentemente observa-se reduzida densidade mineral óssea em crianças, adolescentes e adultos celíacos (CAPRILES et al., 2009). Por isso, intervenções com a suplementação de cálcio e vitamina D já foram realizadas (CARACENI et al., 1988; MAUTALEN et al., 1997; MUZZO et al., 2000); no entanto, sem benefício considerável, possivelmente devido aos menores níveis de transportadores de cálcio (proteína calbindina-D9k) no enterócito desses indivíduos (COLSTON et al., 1994). Assim novas abordagens terapêuticas devem ser testadas nesta população. Dentre elas, a ingestão de compostos com potencial de aumentar a absorção de cálcio e a densidade mineral óssea, como a mistura de frutanos inulina e oligofrutose

(GRIFFIN et al., 2002, 2003; ABRAMS et al., 2005, 2007a; HOLLOWAY et al., 2007). Estes frutanos são fibras alimentares solúveis, que podem contribuir com o aumento da absorção de cálcio através da absorção colônica (ABRAMS et al., 2007b); efeito que pode ser especialmente importante para os celíacos, uma vez que a absorção de cálcio no intestino delgado está prejudicada nestes indivíduos.

Os celíacos têm dificuldades em dar sequência ao tratamento dietético devido à escassez de produtos isentos de glúten e os impactos negativos desta restrição alimentar na qualidade de vida dos indivíduos (LEE e NEWMAN, 2003). Desta forma, o desenvolvimento de novos produtos para esta população é fundamental. Pães sem glúten geralmente são elaborados com farinhas ou amidos refinados, e por isso apresentam baixos teores de fibra alimentar; assim, o enriquecimento destes produtos vem sendo recomendado (GALLAGHER et al., 2004; KUPPER, 2005)

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar o efeito da adição de diferentes níveis de frutanos nas características físicas, na aceitabilidade, na composição centesimal e na resposta glicêmica do pão sem glúten.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ingredientes

Farinha de arroz, fécula de batata, leite em pó integral, açúcar refinado, sal refinado, fermento biológico seco, óleo de soja, ovo e água foram adquiridos no mercado local. Foram cedidas amostras de goma xantana - F200 DEOSEN e carboximetilcelulose - CMC 30000 CPKELCO (Vogler Ingredients Ltda, São Paulo, Brasil) e da mistura de inulina e oligofrutose (Raftilose® Synergy1, Orafiti NV, Tienen, Bélgica).

Produção dos pães

A formulação do pão sem glúten foi definida após trinta e três testes preliminares. À formulação padrão foi adicionada a mistura de inulina e oligofrutose visando obter 4, 8, 10 e 12% destes compostos no produto final (Tabela 1); para isso, considerou-se o peso da massa de cada formulação e a perda de 12% de peso durante o forneamento.

Tabela 1 – Formulação dos pães sem glúten (base farinha).

Ingredientes	Tratamento				
	0%	4%	8%	10%	12%
Farinha de arroz	50	50	50	50	50
Fécula de batata	50	50	50	50	50
Leite em pó integral	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5
Açúcar	6	6	6	6	6
Sal	2	2	2	2	2
Fermento biológico seco	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8
Goma xantana	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Carboximetilcelulose	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Óleo de soja	6	6	6	6	6
Ovo	25	25	25	25	25
Água	85	85	85	85	85
Inulina e oligofrutose	0	8,6	17,9	22,7	28

Para a produção dos pães, os ingredientes foram misturados por 4 min na velocidade 3 (velocidade média) de uma batedeira planetária doméstica, com cinco graduações de velocidade. Cerca de 220g de massa foram colocadas em formas pré-untadas (dimensões da forma: 16 x 7 cm na base e altura de 5 cm), fermentadas a 40 °C por 45 min e assadas a 180 °C por 50 min. Os pães foram retirados da forma e resfriados por uma hora e meia, até atingirem a temperatura ambiente, e então embalados em sacos de polipropileno e armazenados a temperatura ambiente até as análises.

Planejamento experimental

Foram preparados 18 pães de cada tratamento, em duas bateladas. Três unidades aleatórias foram utilizadas para a determinação do volume específico e para as análises de cor. Seis unidades aleatórias foram utilizadas para a avaliação sensorial. Nove pães foram utilizados para as análises de umidade e dureza durante o armazenamento, sendo avaliadas três unidades em cada período. Destes, três pães foram utilizados para as determinações de composição centesimal e de digestibilidade do amido *in vitro*.

Propriedades físicas

Após o resfriamento, os pães foram pesados em balança semi-analítica, e o volume foi avaliado com deslocamento de sementes (painço). A partir destes valores o volume específico (cm^3/g) foi calculado. Também foi avaliada a perda de peso durante o forneamento por meio da relação entre o peso da massa e o do pão.

A cor da crosta foi avaliada em duas posições do topo de cada pão. Para a análise do miolo, os pães foram fatiados transversalmente, obtendo-se fatias uniformes de 25 mm de espessura. A cor do miolo foi avaliada no centro dos dois lados das duas fatias centrais de três pães de cada tratamento. A cor foi avaliada no aparelho Color Quest XE (Hunter Lab, Estados Unidos da América) seguindo o sistema CIE-Lab, com ângulo de observação de 10° e iluminante padrão D65, que corresponde a luz natural do dia. Foram medidos os valores de L^* ou luminosidade (preto 0/ branco 100), a^* (verde -/ vermelho +) e b^* (azul -/ amarelo +). Foi calculada a diferença total de cor (ΔE^*_{ab}) entre a formulação padrão e as demais, de acordo com a seguinte fórmula: $\Delta E^*_{ab} = [(L^*_1 - L^*_2)^2 + (a^*_1 - a^*_2)^2 + (b^*_1 - b^*_2)^2]^{1/2}$.

Avaliação sensorial

A aceitabilidade dos pães foi avaliada um dia após a produção. Sessenta provadores não treinados recrutados entre funcionários e estudantes da FSP/ USP (57 mulheres e 3 homens com idade entre 19 e 54 anos) avaliaram a aceitação da aparência, da cor, da textura, do sabor e a aceitação global dos pães em uma escala hedônica estruturada de nove pontos, 1 – desgostei muitíssimo, 5 – não gostei/ nem desgostei, 9 – gostei muitíssimo (STONE e SIDEL, 1985).

Trinta e seis fatias centrais (25 mm de espessura cada) obtidas de seis pães aleatórios de cada tratamento foram utilizadas na avaliação sensorial. As amostras embaladas em sacos de polipropileno codificados com três números aleatórios foram entregues aos provadores, juntamente com a ficha de avaliação (ANEXO 9) e um copo de água para a neutralização entre as amostras. Cada provador avaliou três produtos, que foram apresentados de forma monádica e sequencial, utilizando blocos incompletos balanceados.

Umidade e firmeza dos pães no período de estocagem

Com base na literatura, e considerando que não foram utilizados conservantes na formulação, o período de armazenamento foi estabelecido em 48 horas evitando-se o aparecimento de bolores e leveduras. As avaliações foram realizadas após 2, 24 e 48 horas da produção dos pães. O teor de umidade foi determinado no centro do miolo de cada pão por dessecação em estufa a 130 °C, de acordo com o método 44-15A (AACC, 2000).

As amostras foram fatiadas transversalmente de forma a obter três fatias uniformes com 25 mm de espessura. Duas fatias centrais de cada pão foram utilizadas para a análise, os resultados apresentados são a média de seis repetições. A firmeza do miolo foi avaliada de acordo com o método 74-09 (AACC, 2000) em um texturomêtro (TA-XT2i, Stable Micro Systems, Surrey, UK). As amostras foram comprimidas até 40% (10 mm) da altura original, com um probe de alumínio cilíndrico de 25 mm de diâmetro e velocidade de 1,7 mm/s. A firmeza corresponde à força necessária para comprimir a amostra em 25% (6,25 mm) da altura original.

A composição centesimal, a cinética da digestão do amido *in vitro* e a resposta glicêmica em humanos foram determinadas por meio das metodologias apresentadas nos CAPÍTULOS 1 e 2.

Análise de dados

Os resultados referentes a composição centesimal, as propriedades físicas e a aceitabilidade foram expressos como média e desvio padrão. Os resultados da resposta glicêmica *in vivo* foram apresentados como média e erro padrão. Para comparação de médias, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey. Foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson e a significância da correlação foi avaliada através do teste t de Student bicaudal. A análise estatística foi realizada com o auxílio do software MINITAB 15.0 (Minitab Inc., Pensilvânia, Estados Unidos da América, 2006), adotando-se nível de significância de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Propriedades físicas

A Tabela 2 apresenta os efeitos dos diferentes níveis da mistura de inulina e oligofrutose em alguns parâmetros de qualidade dos pães sem glúten.

Tabela 2 – Propriedades físicas dos pães sem glúten enriquecidos com diferentes níveis de frutanos.

	Tratamento				
	0%	4%	8%	10%	12%
Perda no forneamento (%)	10,75 ^a ±0,69	11,67 ^a ±0,08	11,32 ^a ±0,56	11,94 ^a ±0,69	11,39 ^a ±0,46
Umidade da massa (%)	50,00 ^a ±0,06	48,52 ^b ±0,15	46,90 ^c ±0,10	46,14 ^d ±0,27	45,32 ^e ±0,26
Umidade do miolo (%)	49,62 ^a ±0,25	47,47 ^b ±0,01	45,78 ^c ±0,02	45,29 ^c ±0,25	43,86 ^d ±0,19
Peso dos pães (g)	200,09 ^a ±8,88	201,63 ^a ±1,49	200,92 ^a ±2,19	196,91 ^a ±2,58	199,94 ^a ±1,96
Volume dos pães (cm ³)	360,00 ^b ±22,91	393,33 ^b ±16,07	466,67 ^a ±2,89	488,33 ^a ±2,89	463,33 ^a ±5,77
Volume específico (cm ³ /g)	1,79 ^d ±0,04	1,95 ^c ±0,06	2,32 ^b ±0,01	2,48 ^a ±0,03	2,36 ^b ±0,02
Cor da crosta <i>L</i>	79,45 ^a ±1,33	67,76 ^b ±1,64	70,08 ^b ±2,24	64,54 ^c ±1,19	67,47 ^b ±1,23
<i>a</i>	6,66 ^d ±0,95	13,66 ^a ±0,57	10,27 ^c ±0,98	13,72 ^a ±0,61	12,15 ^b ±1,06
<i>b</i>	31,40 ^a ±1,96	33,89 ^{ab} ±3,05	34,09 ^{ab} ±1,47	35,92 ^b ±2,37	34,53 ^{ab} ±2,15
ΔE	-	13,85	10,39	17,10	13,54
Cor do miolo <i>L</i>	81,45 ^a ±0,64	80,92 ^{ab} ±0,42	80,37 ^b ±0,59	78,76 ^c ±0,58	79,08 ^c ±0,59
<i>a</i>	0,22 ^a ±0,02	0,10 ^b ±0,01	0,26 ^a ±0,03	0,16 ^c ±0,03	0,22 ^a ±0,03
<i>b</i>	22,65 ^a ±0,45	22,32 ^a ±0,50	20,32 ^c ±0,18	19,77 ^d ±0,15	20,84 ^b ±0,33
ΔE	-	0,70	2,57	3,95	3,02

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

A adição de frutanos à formulação ocasionou aumento da quantidade de ingredientes secos e com isso a redução proporcional do teor de umidade da massa (Tabela 2). Observa-se que não houve diferença de perda de peso entre as formulações durante o forneamento, em média a perda foi de 11,4%.

O volume específico dos produtos desenvolvidos ($1,8 - 2,5 \text{ cm}^3/\text{g}$, Tabela 2) foi comparável a outras formulações de pães sem glúten, como as obtidas com farinha de arroz integral [$1,9 \text{ cm}^3/\text{g}$, KADAN et al. (2001)], farinha de sorgo [$(1,8 \text{ cm}^3/\text{g}$, SCHOBER et al. (2005)], farinha de arroz e amido de milho adicionados de diferentes hidrocolóides [$2 - 2,7 \text{ cm}^3/\text{g}$, LAZARIDOU et al. (2007)].

O volume específico é uma importante propriedade física dos pães, uma vez que exerce forte influência na preferência do consumidor. Os pães enriquecidos com a mistura de frutanos apresentaram maior volume específico que a formulação padrão. Observa-se na Tabela 2 que houve padronização do peso dos pães. Desta forma a propriedade volume específico revelou o efeito dos níveis de frutanos na expansão dos pães sem glúten.

Os pães enriquecidos com frutanos também apresentaram melhor aparência interna, ou seja, miolos com alvéolos menores e distribuídos de forma homogênea (Figura 1).

Figura 1 – Miolo dos pães sem glúten enriquecidos com diferentes níveis de frutanos.

Estes efeitos ocorreram porque a inulina e a oligofrutose, assim como os hidrocolóides, apresentam capacidade de formação de gel. Este gel aumenta a viscosidade da massa, e com isso a capacidade de retenção de gás durante o forneamento, gerando produtos com maior volume e miolos com melhores características estruturais e de textura (GALLAGHER et al., 2004). Possivelmente a adição de 10% de frutanos resultou na massa com a viscosidade mais adequada, possibilitando a maior expansão durante o processamento.

Os resultados do presente estudo concordaram com os relatados por KORUS et al. (2006) que realizaram a substituição de 3, 5 e 8% da quantidade de amido na formulação de pães sem glúten por inulina. Considerando-se a composição da formulação e a perda de peso durante o forneamento, estimou-se que os pães prontos para o consumo apresentaram cerca de 1,4%; 2,2% e 3,5% de frutanos. KORUS et al. (2006) observaram o aumento progressivo do volume, em até 9%, em função dos níveis de inulina na formulação; estes efeitos foram parecidos com os do presente estudo, uma vez que a adição de 4 a 12% de frutanos na formulação ocasionou aumento de 8,2 a 38% do volume específico do pão.

Não houve efeito significativo dos níveis de frutanos nos parâmetros de cor da crosta dos pães (Tabela 2). De forma geral, observa-se que pães com adição de frutanos apresentaram crostas com menores valores de L^* e maiores valores de a^* que o controle. Observou-se que quanto maior o nível de frutanos, menor os valores de L^* do miolo dos pães ($r = -0,926$, $p = 0,024$), ocasionando maior diferença total de cor (ΔE) em relação a formulação padrão ($r = 0,929$, $p = 0,023$). Estes resultados indicam que a presença de frutanos na formulação favoreceu a reação de Maillard, levando ao maior escurecimento da crosta e do miolo destes pães em relação ao padrão.

A mistura de inulina e oligofrutose (1:1) contém 92% de frutanos e 8% de açúcares (glicose, frutose e sacarose). A glicose e a frutose são açúcares redutores que podem participar da reação de Maillard. Além disso, pode ter ocorrido hidrólise dos frutanos de baixo peso molecular durante o processo de panificação, aumentando a quantidade de açúcares livres (especialmente frutose), favorecendo a reação de Maillard. Isso porque a levedura *Saccharomyces cerevisiae* (fermento biológico) produz uma enzima, a invertase, que é capaz de hidrolisar os frutanos de baixo peso molecular; que também são susceptíveis a hidrólise durante o forneamento (PRAZNIK et al., 2002)

Algumas variações nos parâmetros de cor podem também estar relacionadas com o teor de umidade e o volume do produto, e consequentemente com as mudanças na reflexão da luz que incidiu no material durante a análise de cor.

Avaliação sensorial

Observa-se na Tabela 3 que as médias dos valores hedônicos atribuídos ao pão padrão variaram de 5,0 a 6,1, ou seja, valores que indicam “nem gostei/nem desgostei” e “gostei moderadamente”. Para os pães enriquecidos com frutanos os valores variaram entre 6- “gostei ligeiramente” e 7-“gostei muito”.

A análise instrumental revelou que a adição de frutanos ocasionou aumento do volume específico e escurecimento da crosta e do miolo dos pães, características que resultaram em aumento da aceitação da aparência, da cor, da textura e da aceitação global dos pães sem glúten. Não foram observados diferenças de grau de aceitação entre as formulações enriquecidas com frutanos.

Tabela 3 – Aceitabilidade dos pães sem glúten enriquecidos com diferentes níveis de frutanos.

	Tratamento				
	0%	4%	8%	10%	12%
Aparência	5,11 ^b ±1,60	7,08 ^a ±1,60	7,28 ^a ±1,26	6,97 ^a ±1,34	7,03 ^a ±1,48
Cor	5,94 ^b ±1,91	7,36 ^a ±1,62	7,14 ^a ±1,31	7,17 ^a ±1,36	7,14 ^a ±1,38
Textura	4,97 ^b ±1,95	6,67 ^a ±1,84	6,19 ^a ±1,75	6,42 ^a ±1,63	6,61 ^a ±1,61
Sabor	6,06 ^a ±1,88	6,92 ^a ±1,64	6,72 ^a ±1,58	7,03 ^a ±1,18	6,97 ^a ±1,56
Global	5,44 ^b ±1,80	7,00 ^a ±1,51	6,75 ^a ±1,44	6,86 ^a ±1,24	7,03 ^a ±1,28

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Umidade e firmeza do miolo durante o armazenamento

A Figura 2 mostra as alterações de umidade e de firmeza do miolo dos pães durante as 48 horas de armazenamento.

Figura 2 – Efeito dos níveis de frutanos no teor de umidade e na firmeza do miolo do pão sem glúten durante o armazenamento. Diferentes letras maiúsculas indicam diferença significativa da amostra em função do tempo de armazenamento ($p \leq 0,05$). Diferentes letras minúsculas indicam diferença significativa entre as amostras ($p \leq 0,05$) em cada período de armazenamento.

Observou-se redução do teor de umidade do miolo de todos os pães durante o armazenamento (Figura 2). Quanto maior o nível de frutanos na formulação menor o teor de umidade do pão durante todo período de armazenamento.

Após a produção não foram observadas diferenças de firmeza entre as formulações com 4 a 10% de frutanos. O pão com 12% de frutanos apresentou miolo mais macio (Figura 2). Após 24 horas da produção a formulação padrão apresentou miolo mais firme e teve a textura rejeitada sensorialmente, enquanto que as formulações adicionadas de frutanos apresentaram miolo mais macio e tiveram a textura aceita (Tabela 3). A adição de frutanos ocasionou redução da firmeza do miolo dos pães, possivelmente porque estes compostos têm a capacidade de se hidratar, restringindo assim, a quantidade de água disponível para a gelatinização do amido. Esta influência no fenômeno de gelatinização pode ter afetado também a retrogradação do amido, gerando pães com miolo mais macio.

Houve aumento da firmeza do miolo de todas as formulações durante as 48 horas de estocagem. Mudanças na textura do miolo de pães durante o armazenamento estão relacionadas à migração de umidade do miolo para crosta e a retrogradação do amido, resultando em redução da maciez do miolo e aumento na

força de compressão com o decorrer do tempo (GRAY e BEMILLER, 2003). Pães sem glúten envelhecem mais rápido porque na ausência de glúten a migração da água do miolo para a crosta é facilitada, assim, a perda de umidade é mais rápida (OSELLA et al., 2005).

Apesar dos produtos apresentarem a mesma taxa de ressecamento (1%/ 48 horas), a taxa de endurecimento variou em função dos níveis de frutanos na formulação, sendo de 27%, 36%, 33%, 62% e 109% para os produtos com adição de 0 a 12% de frutanos respectivamente. As taxas de endurecimento observadas por KORUS et al (2006) foram maiores, sendo de 43% para a formulação padrão e 108% para o pão com 4% de inulina, provavelmente devido às diferenças de composição e de processamento entre as formulações desenvolvidas.

No presente estudo o teor de água das formulações não foi ajustado em função dos níveis de frutanos adicionados e das características da massa. Futuras investigações podem ser realizadas com o ajuste de umidade para avaliar um possível efeito dos frutanos na retenção de umidade e retardo do envelhecimento de pães sem glúten. E também para verificar se as alterações de umidade e textura observadas instrumentalmente são perceptíveis sensorialmente e se podem impactar na vida de prateleira dos produtos.

Composição centesimal

A Tabela 4 apresenta a composição centesimal e os teores de amido resistente e disponível dos pães sem glúten. Os níveis de frutanos adicionados à formulação ocasionaram aumento do teor de fibra alimentar e consequente redução dos teores de cinzas, lipídeos, proteína e amido.

Tabela 4 – Composição centesimal e frações do amido dos pães sem glúten enriquecidos com diferentes níveis de frutanos.

	Tratamento				
	0%	4%	8%	10%	12%
Cinzas	2,41 ^a ±0,02	2,30 ^b ±0,01	1,97 ^c ±0,06	1,97 ^c ±0,03	1,86 ^d ±0,15
Lipídeos	7,93 ^a ±0,03	7,56 ^b ±0,01	7,23 ^c ±0,02	7,07 ^d ±0,03	6,50 ^e ±0,01
Proteína	7,84 ^a ±0,19	7,87 ^a ±0,07	6,68 ^b ±0,25	6,50 ^b ±0,05	6,33 ^b ±0,16
Amido total	73,57 ^a ±1,83	68,15 ^b ±1,23	66,82 ^{bc} ±1,25	64,80 ^{bc} ±2,29	62,96 ^c ±1,75
Amido resistente	3,03 ^a ±0,14	2,81 ^b ±0,03	2,68 ^b ±0,04	2,65 ^b ±0,02	2,46 ^c ±0,02
Amido disponível	70,54	65,34	64,15	62,14	60,49
Fibra alimentar	7,03	11,35	16,22	18,37	20,14
Fibra insolúvel	4,54 ^a ±0,09	4,39 ^{ab} ±0,20	4,21 ^{ab} ±0,07	4,04 ^b ±0,13	4,11 ^b ±0,16
Fibra solúvel	2,49	6,96	12,01	14,33	16,03
Frutanos	0,74 ^e ±0,01	5,18 ^d ±0,05	10,24 ^c ±0,07	12,50 ^b ±0,04	14,12 ^a ±0,16
Outros compostos	1,75 ^a ±0,08	1,78 ^a ±0,13	1,77 ^a ±0,08	1,83 ^a ±0,05	1,91 ^a ±0,10

Resultados expressos em base seca (g/ 100g).

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Convertendo os níveis de frutanos dos pães (Tabela 4) para base úmida, observa-se que os pães que tiveram 0, 4, 8, 10 e 12% de frutanos adicionados à formulação, apresentaram 0,4; 2,7; 5,5; 6,8 e 7,9% de frutanos totais no produto final. Estes resultados mostram que cerca de 32% dos frutanos foram hidrolisados durante os processos de fermentação e forneamento. A perda de frutanos foi calculada com base na diferença entre o valor esperado, considerando o teor adicionado nas massas e o determinado nos pães. Os níveis de frutanos totais nos produtos pães desenvolvidos são superiores aos obtidos por KORUS et al (2006), que variaram de 0,7 a 3,3%.

São poucas as informações publicadas sobre a estabilidade dos frutanos durante o processamento térmico. De acordo BOHM et al. (2005) há perda de 40% da inulina durante o aquecimento a 180 °C durante 60 min, valores compatíveis com os observados no presente estudo. Pães de trigo e centeio enriquecidos com frutanos sofreram perda de 35% de inulina e de 47% de oligofrutose durante o processamento

(PRAZNIK et al., 2002). KORUS et al (2006) observaram perda de 59 a 78% do teor de inulina incorporado a formulação de pão sem glúten.

A formulação enriquecida com 12% de frutanos apresenta em uma porção (50g) 4g da mistura de inulina e oligofrutose; ou seja, uma porção deste pão apresenta quantidade equivalente a dose diária para a qual foi observado o efeito prebiótico (ROBERFROID, 1999; RAO, 2001) e metade da quantidade consumida diariamente que foi responsável pelo aumento da absorção de cálcio e da densidade mineral óssea de adolescentes saudáveis (ABRAMS et al., 2005).

A Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998, estabelece o teor mínimo de 6% para o uso da alegação “alto teor de fibra”. Assim, os pães enriquecidos com 4 a 12% de frutanos podem utilizar a alegação “alto teor de fibra”, uma vez que apresentam 6; 9; 10 e 11% de fibra alimentar (base úmida).

As formulações adicionadas de 10 e 12% de frutanos podem utilizar a alegação de funcionalidade relacionada à inulina e oligofrutose: “A inulina e os frutooligossacarídeos – FOS contribuem para o equilíbrio da flora intestinal. Seu consumo deve estar associado a uma dieta equilibrada e hábitos de vida saudáveis”, uma vez que cumprem a exigência da porção diária do produto pronto para consumo apresentar mais de 3g destas fibras (BRASIL, 2009). Estas formulações apresentam 3,4g e 4g de frutanos na porção (50g), respectivamente.

Vários pesquisadores vêm estudando o enriquecimento de pães sem glúten com fibra alimentar, por meio do uso de grãos integrais ou de fibras isoladas. Entretanto, são poucos os relatos dos teores obtidos: 4,0% (GAMBUS et al., 2002), 4,5% (KORUS e ACHREMOWICZ, 2004), 4% (GAMBUS, 2005), e 5% (KORUS et al., 2009). Observa-se que os produtos desenvolvidos neste estudo apresentaram teores de fibra alimentar expressivamente maiores, variando de 11 a 20% em base seca.

Cinética de digestão do amido *in vitro*

Considerando a associação entre a doença celíaca e o diabetes insulino-dependente (MURRAY, 2005), torna-se relevante conhecer a resposta glicêmica de produtos sem glúten visando um bom controle glicêmico por estes pacientes.

Como uma primeira etapa foi avaliada a digestibilidade do amido *in vitro* dos vários produtos desenvolvidos. A partir das áreas sob a curva de hidrólise do amido foi calculado o índice de hidrólise (IH), que foi utilizado para estimar o índice glicêmico (IG) e a carga glicêmica (CG) das amostras (Tabela 5), de acordo com os cálculos apresentados no CAPÍTULO 2.

Tabela 5 – Resposta glicêmica estimada dos pães sem glúten enriquecidos com diferentes níveis de frutanos.

	Pão branco	Tratamento				
		0%	4%	8%	10%	12%
IH	100 ^a	97,30 ^{ab}	89,98 ^{bc}	84,88 ^{cd}	82,43 ^{cd}	80,86 ^d
	±0,00	±0,79	±1,77	±2,13	±4,53	±0,25
IG _(pão)	94,61 ^a	93,13 ^{ab}	89,11 ^{bc}	86,31 ^{cd}	84,97 ^{cd}	84,10 ^d
	±0,00	±0,44	±0,98	±1,17	±2,49	±0,61
IG _(glicose)	66,23 ^a	65,19 ^{ab}	62,38 ^{bc}	60,42 ^{cd}	59,48 ^{cd}	58,87 ^d
	±0,00	±0,31	±0,68	±0,82	±1,74	±0,43
CG	19,85 ^a	11,58 ^b	10,66 ^c	10,43 ^{cd}	10,30 ^{cd}	9,93 ^d
	±0,00	±0,05	±0,12	±0,14	±0,30	±0,07

IH = índice de hidrólise, IG = índice glicêmico, CG = carga glicêmica.

Valores obtidos pelas equações: $IG_{(pão)} = 39,71 + 0,549(IH)$; $IG_{(glicose)} = IG_{(pão)} * 0,7$;

$CG = [(IG_{(glicose)} * \text{teor de carboidratos disponíveis na porção}) / 100]$.

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Os resultados indicam que os frutanos ocasionaram diminuição da digestibilidade do amido *in vitro*; e que a adição de 12% de frutanos na formulação pode resultar em redução do IG em 10% e da CG em 14%.

Resposta glicêmica aos pães sem glúten

Foi avaliada a resposta glicêmica dos pães sem glúten padrão e o enriquecido com 12% de frutanos, porque este apresentou os menores valores estimados de IG e CG. Participaram deste estudo dez voluntários (9 mulheres e 1 homem) com $26,1 \pm 3,1$ anos de idade e $22,3 \pm 1,8$ kg/m² de índice de massa corporal – IMC (média $\pm$ desvio padrão). Cada voluntário participou de quatro sessões, sendo duas para avaliar o alimento controle (pão branco) e as outras para avaliar o pão sem glúten com e sem frutanos, que foram apresentados de forma aleatorizada.

Os pães sem glúten foram produzidos com 16 horas de antecedência ao teste (na tarde anterior). Tanto para o alimento controle como para os alimentos testes, foram utilizadas porções que apresentavam 25g de carboidratos disponíveis, correspondendo a 41,7g do pão branco (pão), 70,3 g do pão sem glúten padrão (psg0%) e 74,1g do pão sem glúten enriquecido com 12% de frutanos (psg12%).

A Figura 3 mostra o efeito dos frutanos na resposta glicêmica do pão sem glúten.

Figura 3 – Curvas de resposta glicêmica aos pães sem glúten padrão (psg0%) e com adição de frutanos (psg12%), em comparação ao pão branco. Cada alimento foi testado no mesmo grupo de 10 indivíduos saudáveis. Os dados representam a média, e as barras o erro padrão.

Os frutanos inulina e oligofrutose são fibras alimentares solúveis que apresentam propriedade viscosa. Assim, acredita-se que esta quantidade de frutanos (5,3g na porção consumida) teve a capacidade de aumentar a viscosidade do meio, ocasionando atenuação da velocidade de esvaziamento gástrico, e dificultando o acesso das enzimas intestinais ao alimento e consequentemente diminuindo a taxa de digestão do mesmo, além de atuar como uma barreira física reduzindo a taxa de absorção pela mucosa intestinal (JENKINS et al., 2002, 2008).

Os valores de IG e CG dos produtos são apresentados na Tabela 6. Esses valores são comparáveis aos descritos na Tabela Internacional de IG e CG (ATKINSON et al., 2008). Para o pão branco, a média de dezesseis estudos revelou $IG_{(p\tilde{a}o)} = 108$, $IG_{(glicose)} =$, $CG = 18,3$ para uma porção de 50g.

Tabela 6 – Resposta glicêmica do pão sem glúten antes e após a adição de frutanos à formulação.

	Pão branco	Pão sem glúten	
		0% frutanos	12% frutanos
ARG (mmol.min.L ⁻¹)	88,81 ^a ±5,97	88,32 ^a ±4,77	60,26 ^b ±4,06
IG (pão)	100 ^a ±0,00	100,89 ^a ±4,06	68,46 ^b ±3,58
IG (glicose)	70 ^a ±0,00	70,62 ^a ±2,84	47,92 ^b ±2,51
CD – porção de 50g	29,98	17,77	16,87
CG – porção de 50g	20,99 ^a ±0,00	12,55 ^b ±0,50	8,08 ^c ±0,42

ARG – área de resposta glicêmica, IG – índice glicêmico, CD – carboidratos disponíveis, CG – carga glicêmica. As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$)

Assim como PACKER et al. (2000), também foi observado que o pão sem glúten convencional ocasiona elevada resposta glicêmica, e que não há diferença de IG entre pães brancos com e sem glúten.

O psg0% apresentou IG alto e CG moderada. A adição de 12% frutanos ocasionou diminuição da resposta glicêmica do pão sem glúten, que passou a apresentar baixo IG e baixa CG. No geral, alimentos amiláceos que apresentam baixo IG também apresentam baixo índice insulinêmico (BJORCK et al., 2000). Assim, o novo produto se apresenta como uma alternativa aos pães sem glúten convencionais, podendo contribuir para um melhor controle glicêmico e insulinêmico dos celíacos diabéticos.

As observações relacionadas a Figura 3 estão de acordo com BRAND-MILLER et al. (2009) que avaliaram a resposta glicêmica de mais de mil alimentos, e relataram que os alimentos de alto IG e de baixo IG apresentam formato da curva de resposta glicêmica parecidos, e que diferem apenas quanto aos valores de glicemia em alguns pontos da curva.

Observa-se na Figura 4 que os valores de IG e CG obtidos no ensaio com seres humanos foram próximos aos estimados *in vitro*.

Figura 4 – Comparação da resposta glicêmica *in vivo* e *in vitro* dos pães sem glúten em função dos níveis de frutanos na formulação.

A adição de 12% de frutanos ocasionou redução de 32% do IG e de 36% da CG, efeito superior ao estimado *in vitro*, que era de 10% do IG e 14% da CG; revelando assim o efeito dos frutanos em reduzirem a velocidade de esvaziamento gástrico e de absorção intestinal dos carboidratos disponíveis presentes no pão sem glúten.

CONCLUSÃO

Para se obter um pão sem glúten enriquecido com 4g de inulina e oligofrutose/ porção (50g), níveis compatíveis com suas propriedades funcionais, é necessário adicionar 12% desses frutanos a formulação devido às perdas (32%) durante o processamento. A adição de 12% de frutanos à formulação ocasionou melhora da cor e da textura e aumento do teor de fibra alimentar e da aceitabilidade do pão sem glúten.

Pães sem glúten são elaborados com farinhas e amidos refinados, apresentando elevada quantidade de carboidratos disponíveis, e por isso, ocasionam elevada resposta glicêmica. Foi possível reduzir em 30% a resposta glicêmica desse produto por meio da adição de 12% de frutanos a formulação.

Estes resultados mostram que é possível incorporar ingredientes funcionais a um pão sem glúten, melhorando suas características sensoriais e seu valor nutritivo. Os pães desenvolvidos podem contribuir para uma maior variação e adequação da dieta dos celíacos, bem como para um melhor controle glicêmico dos celíacos diabéticos.

REFERÊNCIAS

- American Association of Cereal Chemists - AACC. *Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists*, 10th ed. MN, USA: AACC, 2000.
- ABRAMS, S. *et al.* A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *Am J Clin Nutr*, v. 82, n. 2, p. 471-476, 2005.
- ABRAMS, S. *et al.* Young adolescents who respond to an inulin-type fructan substantially increase total absorbed calcium and daily calcium accretion to the skeleton. *J Nutr*, v. 137, n. 11 Suppl, p. 2524S-2526S, 2007a.
- ABRAMS, S. *et al.* An inulin-type fructan enhances calcium absorption primarily via an effect on colonic absorption in humans. *J Nutr*, v. 137, n. 10, p. 2208-2212, 2007b.
- ATKINSON, F. *et al.* International tables of glycemic index and glycemic load values: 2008. *Diabetes Care*, v. 31, n. 12, p. 2281-2283, 2008.
- BJORCK, I. *et al.* Low glycaemic-index foods. *Br J Nutr*, v. 83, p. S149-S155, 2000.
- BOHM, A. *et al.* Heat-induced degradation of inulin. *Eur Food Res Technol*, v. 220, n. 5-6, p. 466-471, 2005.

- BRAND-MILLER, J. *et al.* Glycemic index, postprandial glycemia, and the shape of the curve in healthy subjects: analysis of a database of more than 1000 foods. *Am J Clin Nutr*, v. 89, n. 1, p. 97-105, 2009.
- BRASIL. Portaria n. 27, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 16 jan. 1998.
- BRASIL. Lista das alegações aprovadas para Alimentos com Alegações de Propriedades Funcionais e ou de Saúde, Novos Alimentos/Ingredientes, Substâncias Bioativas e Probióticos. Publicado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno_lista_alega.htm Acesso em: 8 mar. 2009.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Metabolic osteopathy in celiac disease: importance of a gluten-free diet. *Nutr Rev*, v. 67, n. 10, p. 599-606, 2009.
- CARACENI, M. *et al.* Bone and mineral metabolism in adult celiac disease. *Am J Gastroenterol*, v. 83, n. 3, p. 274-277, 1988.
- COLSTON, K. *et al.* Localisation of vitamin D receptor in normal human duodenum and in patients with coeliac disease. *Gut*, v. 35, n. 9, p. 1219-1225, 1994.
- GALLAGHER, E. *et al.* Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends Food Sci Tech*, v. 15, n. 3-4, p. 143-152, 2004.
- GAMBUS, H. *et al.* The research on quality improvement of gluten-free bread by amaranthus flour addition. *Zywnosc*, v.9, p.99-112, 2002.
- GAMBUS, H. Linseed (Linum usitatissimum L) as a source of nutrients in gluten-free bread. *Zywnosc*, v. 45, p. 61-74, 2005.
- GRAY, J. A.; BEMILLER, J. N. Bread staling: molecular basis and control. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, v. 2, p. 1-21, 2003.
- GRIFFIN, I. *et al.* Non-digestible oligosaccharides and calcium absorption in girls with adequate calcium intakes. *Br J Nutr*, v. 87, p. S187-S191, 2002.
- GRIFFIN, I. *et al.* Enriched chicory inulin increases calcium absorption mainly in girls with lower calcium absorption. *Nutr Res*, v. 23, n. 7, p. 901-909, 2003.
- HOLLOWAY, L. *et al.* Effects of oligofructose-enriched inulin on intestinal absorption of calcium and magnesium and bone turnover markers in postmenopausal women. *Br J Nutr*, v. 97, n. 2, p. 365-372, 2007.
- JENKINS, A. *et al.* Comparable Postprandial Glucose Reductions with Viscous Fiber Blend Enriched Biscuits in Healthy Subjects and Patients with Diabetes Mellitus: Acute Randomized Controlled Clinical Trial. *Croatian Medical Journal*, v. 49, n. 6, p. 772-782, 2008.
- JENKINS, A. *et al.* Depression of the glycemic index by high levels of beta-glucan fiber in two functional foods tested in type 2 diabetes. *Eur J Clin Nutr*, v. 56, n. 7, p. 622-628, 2002.
- KADAN, R. *et al.* Texture and other physicochemical properties of whole rice bread. *J Food Sci*, v. 66, n. 7, p. 940-944, 2001.
- KAGNOFF, M. Overview and pathogenesis of celiac disease. *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S10-8, 2005.
- KORUS, J.; ACHREMOWICZ, B. Fiber preparations of different origin used as additives in baking gluten-free breads. *Zywnosc*, v. 38, p. 65-73, 2004.

- KORUS, J. *et al.* Influence of prebiotic additions on the quality of gluten-free bread and on the content of inulin and fructooligosaccharides. *Food Sci Tech Int*, v. 12, n. 6, p. 489-495, 2006.
- KORUS, J. *et al.* The impact of resistant starch on characteristics of gluten-free dough and bread. *Food Hydrocolloids*, v. 23, n. 3, p. 988-995, 2009.
- KUPPER, C. Dietary guidelines and implementation for celiac disease. *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S121-7, 2005.
- LAZARIDOU, A. *et al.* Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *J Food Eng*, v. 79, n. 3, p. 1033-1047, 2007.
- LEE, A.; NEWMAN, J. Celiac diet: its impact on quality of life. *J Am Diet Assoc*, v. 103, n. 11, p. 1533-5, 2003.
- MAUTALEN, C. *et al.* Effect of treatment on bone mass, mineral metabolism, and body composition in untreated celiac disease patients. *Am J Gastroenterol*, v. 92, n. 2, p. 313-318, 1997.
- MURRAY, J. Celiac disease in patients with an affected member, type 1 diabetes, iron-deficiency, or osteoporosis? *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S52-56, 2005.
- MUZZO, S. *et al.* Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone mineral density of celiac children. *Nutr Res*, v. 20, n. 9, p. 1241-1247, 2000.
- OSELLA, C. *et al.* Water redistribution and structural changes of starch during storage of a gluten-free bread. *Starch*, v. 57, n. 5, p. 208-216, 2005.
- PACKER, S. *et al.* The glycaemic index of a range of gluten-free foods. *Diabet Med*, v. 17, n. 9, p. 657-660, 2000.
- PRAZNIK, W. *et al.* Soluble dietary fibres in Jerusalem artichoke powders: Composition and application in bread. *Nahrung-Food*, v. 46, n. 3, p. 151-157, 2002.
- RAO, V. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. *Nutr Res*, v. 21, n. 6, p. 843-848, 2001.
- REWERS, M. Epidemiology of celiac disease: what are the prevalence, incidence, and progression of celiac disease? *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S47-51, 2005.
- ROBERFROID, M. Concepts in functional foods: The case of inulin and oligofructose. *J Nutr*, v. 129, n. 7, p. 1398S-1401S, 1999.
- SCHOBBER, T. *et al.* Gluten-free bread from sorghum: Quality differences among hybrids. *Cereal Chem*, v. 82, n. 4, p. 394-404, 2005.
- STONE, H.; SIDEL, J.L. *Sensory Evaluation Practices*. London: Academic Press, 1985.

CAPÍTULO 6. Efeito da farinha de amaranto integral nas propriedades físicas e nutricionais do pão sem glúten

RESUMO

Um planejamento experimental para misturas ternárias foi utilizado para avaliar as interações entre farinha de arroz, fécula de batata e farinha de amaranto e identificar as proporções entre os três componentes que possibilitem maximizar o valor nutritivo, as propriedades físico-químicas e a aceitabilidade do pão sem glúten. A farinha de amaranto ocasionou aumento dos teores de cinzas, de lipídeos, de proteínas e de fibra alimentar; e a redução da expansão e da maciez do miolo e o escurecimento dos pães. A farinha de arroz e a fécula de batata melhoraram a expansão e a textura do miolo, gerando produtos com cor mais clara. Misturas dos três componentes são viáveis para elaboração de pães sem glúten enriquecidos com frutanos (8g/ 100g), resultando em produtos com melhores propriedades físicas do que aqueles obtidos com os componentes isolados. O planejamento experimental possibilitou a obtenção de pães sem glúten com 33 e 45% de farinha de amaranto integral, que apresentaram destacado valor nutritivo e aceitação sensorial. A adição de frutanos e de amaranto ocasionou redução da resposta glicêmica do produto. É possível utilizar a farinha de amaranto integral para elaborar um pão sem glúten com melhor valor nutritivo e alta aceitabilidade pelo consumidor.

INTRODUÇÃO

A doença celíaca não tem cura e apresenta como único tratamento a dieta isenta de glúten que deve ser seguida por toda a vida de forma a prevenir uma série de complicações, tais como prejuízos nutricionais, osteoporose e cânceres. São frequentes as dificuldades para a sequência do tratamento, devido à escassez de produtos isentos de glúten e o impacto negativo desta restrição alimentar no convívio social, comprometendo a qualidade de vida dos indivíduos (LEE e NEWMAN, 2003).

O glúten é responsável pelas propriedades de extensibilidade, elasticidade, viscosidade e capacidade de retenção de gás de massas, contribuindo para aparência e estrutura do miolo de vários produtos de panificação. Devido a essa importância, a obtenção de pães sem glúten é um desafio tecnológico, sendo muitas vezes necessária a combinação de diversos ingredientes e alterações dos processos tradicionais (GALLAGHER et al., 2004). Pães isentos de glúten geralmente são elaborados com farinhas e amidos refinados, e por isso apresentam baixos teores de

fibra alimentar e de micronutrientes; sendo um dos fatores responsáveis pelo consumo inadequado destes nutrientes pelos celíacos (THOMPSON et al., 2005).

Desta forma, o desenvolvimento de novos produtos por meio da utilização de matérias primas com valor nutritivo agregado é fundamental. Por apresentar elevado valor nutritivo e não conter glúten, o grão de amaranto é uma matéria prima atraente para a elaboração de produtos para celíacos. O grão de *Amaranthus cruentus* apresenta cerca de 60% de amido, 15% de proteína, 13% de fibra, 8% de lipídeos e 4% de cinzas (CAPRILES et al., 2008).

Planejamentos experimentais para o estudo de misturas podem ser bastante úteis para o desenvolvimento de novos produtos, uma vez que possibilitam avaliar como a modificação da composição da mistura afeta as propriedades do produto final (BARROS NETO et al., 2007). O objetivo deste trabalho foi avaliar as interações entre misturas de farinha de arroz, fécula de batata e farinha de amaranto integral e identificar as proporções entre os três componentes que possibilitem maximizar o valor nutritivo, as propriedades físico-químicas e a aceitabilidade do pão sem glúten.

MATERIAIS E MÉTODOS

Ingredientes

Considerando que os adultos celíacos apresentam risco de fraturas 27% maior que o restante da população (OLMOS et al., 2008), foi desenvolvido um pão sem glúten enriquecido com inulina e oligofrutose (CAPÍTULO 5), ingredientes que podem contribuir para o aumento da absorção de cálcio (ABRAMS et al., 2005; HOLLOWAY et al., 2007). A formulação previamente desenvolvida enriquecida com 12% de frutanos (CAPÍTULO 5) foi adaptada para o presente estudo.

O grão de amaranto (*A. cruentus* L. BRS-Alegria), cultivado em Brasília – DF, Brasil, foi moído (moinho de rolos Bühler MLU-202) para obtenção da farinha de amaranto integral (granulometria < 0,85mm).

Planejamento experimental

Foi utilizado o planejamento experimental centróide simplex para misturas ternárias com o objetivo de avaliar os efeitos da interação entre os componentes nas propriedades físicas e na composição centesimal dos pães. Foi adotado o modelo cúbico especial, que contém além dos termos do modelo aditivo, termos cruzados que descrevem a interação entre dois e três componentes. Foram realizadas duas repetições do ponto central e a inclusão de três pontos axiais, totalizando doze formulações (Tabela 1). As variáveis investigadas foram às proporções de farinha de arroz (x_1), fécula de batata (x_2) e farinha de amaranto integral (x_3). O maior nível de cada componente (proporção de 100% na mistura) representava 35,8% da massa e 41% do pão pronto para o consumo.

Tabela 1 – Composição das misturas utilizadas para a produção de pães sem glúten.

Ensaio	Proporção de cada componente na mistura			Quantidade de cada componente na formulação (g/ 100g de massa)		
	x_1	x_2	x_3	farinha de arroz	fécula de batata	farinha de amaranto
1	1,00	0,00	0,00	35,8	0,00	0,00
2	0,00	1,00	0,00	0,00	35,8	0,00
3	0,00	0,00	1,00	0,00	0,00	35,8
4	0,50	0,50	0,00	17,9	17,9	0,00
5	0,50	0,00	0,50	17,9	0,00	17,9
6	0,00	0,50	0,50	0,00	17,9	17,9
7	0,33	0,33	0,33	11,9	11,9	11,9
8	0,33	0,33	0,33	11,9	11,9	11,9
9	0,33	0,33	0,33	11,9	11,9	11,9
10	0,66	0,17	0,17	23,6	6,1	6,1
11	0,17	0,66	0,17	6,1	23,6	6,1
12	0,17	0,17	0,66	6,1	6,1	23,6

Foram preparados seis pães de cada tratamento em uma única batelada. Três unidades aleatórias foram utilizadas para as análises de umidade e de textura instrumental. Outras três unidades foram utilizadas para a determinação do volume específico e para as análises de cor, de composição centesimal e de digestibilidade do amido *in vitro*.

Para a avaliação sensorial foram preparadas cinco unidades de cada tratamento selecionado, em uma única batelada. Nove pães das formulações selecionadas foram preparados (em duas bateladas) para as análises de umidade e dureza durante o armazenamento, sendo avaliadas três unidades aleatórias após 2, 24 e 48 horas da produção.

Formulação e produção dos pães

Os pães foram formulados com farinha de arroz, fécula de batata ou farinha de amaranto de acordo com o planejamento mostrado na Tabela 1. A proporção dos demais ingredientes foi mantida igual para todas as formulações, e estes foram produzidos de acordo com os procedimentos apresentados no CAPÍTULO 5.

Os pães foram desinformados e resfriados por uma hora e meia, até atingirem a temperatura ambiente, e então embalados em sacos de polipropileno e armazenados a temperatura ambiente até as análises.

Análise dos pães

A **composição centesimal**, a **cinética da digestão do amido *in vitro*** e a **resposta glicêmica em humanos** foram determinadas por meio das metodologias apresentadas nos CAPÍTULOS 1 e 2.

As propriedades físicas dos pães foram avaliadas de acordo com os métodos apresentados no CAPÍTULO 5.

Avaliação sensorial

Foram selecionadas para a avaliação sensorial as formulações que apresentaram propriedades físicas adequadas e o maior teor possível de amaranto. A aceitabilidade dos pães foi avaliada um dia após a produção. Trinta e seis provadores

não treinados recrutados entre funcionários e estudantes da FSP/ USP (30 mulheres e 6 homens com idade entre 18 e 42 anos) avaliaram a aceitação da aparência, da cor, da textura, do sabor e a aceitação global dos pães em uma escala hedônica estruturada de nove pontos, 1 – desgostei muitíssimo, 5 – não gostei/ nem desgostei, 9 – gostei muitíssimo (STONE e SIDEL, 1985).

Trinta e seis fatias obtidas de cinco pães aleatórios de cada tratamento foram utilizadas na avaliação sensorial. As amostras embaladas em sacos de polipropileno codificados com três números aleatórios foram entregues aos provadores, juntamente com a ficha de avaliação (ANEXO 9) e um copo de água para a neutralização entre as amostras. Cada provador avaliou quatro produtos, que foram apresentados de forma monádica e sequencial, utilizando blocos completos balanceados.

Análise de dados

Os resultados foram expressos como média e desvio padrão. Para comparação de médias, os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey. Foram calculados os coeficientes de correlação de Pearson e a significância da correlação foi avaliada através do teste t de Student bicaudal.

Aplicou-se um modelo de regressão múltipla, do tipo cúbico especial para as misturas de farinha de arroz (x_1), fécula de batata (x_2) e farinha de amaranto (x_3), representado pela seguinte equação: $Y = b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{123}x_1x_2x_3$; onde Y é a resposta estudada, b são os coeficientes da regressão e x_1 , x_2 e x_3 são os níveis de cada componente na mistura (BARROS NETO et al., 2007). Foram calculados os coeficientes para os modelos e seus respectivos erros padrão e níveis de significância. A qualidade dos modelos foi avaliada por meio da análise de variância, do coeficiente de determinação, e análise visual do gráfico de resíduos contra as respostas previstas e do gráfico de probabilidade normal (ANEXO 10). Foram gerados os diagramas triangulares com as curvas de contorno para os modelos ajustados as propriedades dos pães sem glúten.

O software MINITAB 15.0 (Minitab Inc., Pensilvânia, Estados Unidos da América, 2006) foi utilizado para análise estatística adotando-se nível de significância de $p \leq 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Composição dos pães sem glúten

Observou-se que a farinha de amaranto integral apresenta valor nutritivo superior ao da farinha de arroz e ao da fécula de batata. A fécula de batata é composta quase que totalmente por amido (98%). A farinha de amaranto apresenta 6 vezes mais cinzas, 12 vezes mais lipídeos e mais que o dobro das quantidades de proteína e de fibra alimentar encontradas na farinha de arroz (Tabela 2).

Tabela 2 – Composição centesimal das matérias primas utilizadas na formulação dos pães.

	umidade	cinzas	proteína	lipídeos	fibra alimentar				amido total
					total	insolúvel	solúvel*	frutanos	
Farinha de arroz	10,22 ^b ±0,15	0,52 ^b ±0,02	7,67 ^b ±0,09	0,61 ^b ±0,05	5,4 1	4,59 ^b ±0,18	0,55 ^b ±0,04	0,27 ^c ±0,03	85,55 ^b ±3,79
Fécula de batata	13,02 ^a ±0,07	0,09 ^c ±0,01	0,00 ^c ±0,00	0,24 ^c ±0,01	0,8 0	0,23 ^c ±0,03	0,00 ^c ±0,00	0,57 ^b ±0,00	98,06 ^a ±1,09
Farinha de amaranto	9,07 ^c ±0,07	3,39 ^a ±0,01	16,21 ^a ±0,45	7,57 ^a ±0,01	14, 8	12,64 ^a ±0,84	1,21 ^a ±0,06	0,95 ^a ±0,00	58,00 ^c ±0,29

Resultados expressos em base seca (g/ 100g).

*Fibra solúvel determinada com remoção dos frutanos.

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Quanto maior a proporção de farinha de amaranto na mistura, maiores foram os teores de cinzas, de lipídeos, de proteína e de fibra alimentar dos pães sem glúten (Tabela 3).

Tabela 3 – Composição dos pães sem glúten segundo os níveis de farinha de arroz (x_1), fécula de batata (x_2) e farinha de amaranto (x_3) na mistura.

Ensaio	Proporção de cada componente na mistura			cinzas	proteína	lipídeos	fibra alimentar				amido total
	x_1	x_2	x_3				total	insolúvel	solúvel*	frutanos	
1	1,00	0,00	0,00	1,94 ^f ±0,02	8,54 ^d ±0,03	6,78 ^g ±0,02	22,83	5,66 ^g ±0,08	2,20 ^c ±0,06	14,97 ^{ab} ±0,48	59,37 ^c ±1,74
2	0,00	1,00	0,00	1,96 ^f ±0,03	3,56 ⁱ ±0,15	5,46 ^j ±0,07	17,91	2,00 ⁱ ±0,11	1,45 ^e ±0,02	14,46 ^{ab} ±0,33	71,83 ^a ±1,65
3	0,00	0,00	1,00	3,24 ^a ±0,13	12,35 ^a ±0,17	9,30 ^a ±0,08	28,89	11,07 ^a ±0,06	2,93 ^a ±0,08	14,89 ^{ab} ±0,20	45,69 ^e ±2,67
4	0,50	0,50	0,00	1,86 ^f ±0,01	6,33 ^g ±0,16	6,50 ^h ±0,01	20,13	4,11 ^h ±0,16	1,90 ^d ±0,10	14,12 ^b ±0,16	65,96 ^b ±0,99
5	0,50	0,00	0,50	2,65 ^c ±0,03	10,50 ^b ±0,03	8,01 ^c ±0,06	25,75	8,36 ^c ±0,08	2,56 ^b ±0,03	14,83 ^{ab} ±0,58	52,53 ^d ±0,98
6	0,00	0,50	0,50	2,65 ^c ±0,05	7,89 ^f ±0,12	7,40 ^d ±0,03	24,03	6,53 ^d ±0,07	2,21 ^c ±0,06	15,29 ^a ±0,17	58,76 ^c ±2,13
7	0,33	0,33	0,33	2,43 ^d ±0,03	8,11 ^{ef} ±0,10	7,13 ^e ±0,04	23,52	6,19 ^e ±0,02	2,20 ^c ±0,07	15,13 ^{ab} ±0,38	58,62 ^c ±0,09
8	0,33	0,33	0,33	2,39 ^d ±0,03	8,15 ^{ef} ±0,01	7,12 ^e ±0,02	23,18	6,21 ^e ±0,03	2,23 ^c ±0,04	14,74 ^{ab} ±0,08	58,46 ^c ±1,42
9	0,33	0,33	0,33	2,41 ^d ±0,03	8,12 ^{ef} ±0,06	7,12 ^e ±0,03	23,44	6,22 ^e ±0,14	2,18 ^c ±0,03	15,04 ^{ab} ±0,41	58,02 ^c ±0,24
10	0,66	0,17	0,17	2,22 ^e ±0,01	8,31 ^{de} ±0,20	7,00 ^f ±0,16	23,28	5,91 ^f ±0,09	2,20 ^c ±0,03	15,17 ^{ab} ±0,18	59,99 ^c ±1,00
11	0,17	0,66	0,17	2,20 ^e ±0,01	5,82 ^h ±0,14	6,35 ⁱ ±0,13	20,96	4,14 ^h ±0,01	1,93 ^d ±0,03	14,89 ^{ab} ±0,54	64,33 ^b ±1,60
12	0,17	0,17	0,66	2,87 ^b ±0,01	10,20 ^c ±0,06	8,23 ^b ±0,03	26,13	8,61 ^b ±0,04	2,19 ^c ±0,04	15,33 ^a ±0,35	51,83 ^d ±0,63

Resultados expressos em base seca (g/ 100g). *Fibra solúvel determinada com remoção dos frutanos.

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Vários pesquisadores vêm estudando o enriquecimento de pães sem glúten com fibra alimentar, por meio do uso de grãos integrais ou de fibras isoladas. Entretanto, são poucos os relatos dos teores obtidos: 4,0% (GAMBUS et al., 2002), 4,5% (KORUS e ACHREMOWICZ, 2004), 4% (GAMBUS, 2005), 3,3% (KORUS et al., 2006) e 5% (KORUS et al., 2009). GAMBUS et al. (2002) incorporaram 10% de farinha de amaranto na formulação de pão sem glúten e obtiveram 4,0% de fibra alimentar no produto final.

Em relação aos trabalhos publicados, observa-se que os produtos desenvolvidos neste estudo apresentam teores de fibra alimentar expressivamente maiores, variando de 18 a 29%, sendo destas em média 15% de frutanos. Esta quantidade equivale a 8% de frutanos no produto pronto para o consumo (base úmida), ou seja, 4g por porção de pão (50g), de acordo com o planejado (CAPÍTULO 5). Desta forma uma porção deste pão apresenta quantidade equivalente a dose diária para a qual foi observado o efeito prebiótico (ROBERFROID, 1999; RAO, 2001) e metade da quantidade consumida diariamente que foi responsável pelo aumento da absorção de cálcio e da densidade mineral óssea de adolescentes saudáveis (ABRAMS et al., 2005).

A quantidade de frutanos presente nas formulações deve-se a mistura de inulina e oligofrutose incorporada às formulações, uma vez que as matérias primas utilizadas apresentam menos de 1% de frutanos totais em sua composição (Tabela 2).

Estimativa da resposta glicêmica dos pães sem glúten

Considerando a associação entre a doença celíaca e o diabetes insulino-dependente (MURRAY, 2005), torna-se relevante conhecer a resposta glicêmica de produtos sem glúten visando um bom controle glicêmico por estes pacientes.

Devido à dificuldade e os custos da realização de ensaios para determinação do índice glicêmico em humanos, a avaliação da digestibilidade do amido *in vitro* se apresenta como uma importante ferramenta para prever a resposta glicêmica que os alimentos irão produzir *in vivo* (CAPRILES et al., 2009a). Assim, neste estudo, como uma primeira etapa foi avaliado a digestibilidade do amido *in vitro* dos vários produtos desenvolvidos, de acordo com os cálculos apresentados no CAPÍTULO 2.

Tabela 4 – Marcador *in vitro* da digestibilidade do amido e resposta glicêmica estimada para os pães sem glúten segundo os níveis de farinha de arroz (x_1), fécula de batata (x_2) e farinha de amaranto (x_3) na mistura.

Ensaio	Proporção de cada componente na mistura			amido total	amido resistente	amido disponível	Índice de hidrólise (IH)	IG _(pão)	IG _(glicose)	CG
	x_1	x_2	x_3							
1	1,00	0,00	0,00	59,37 ^d ±1,74	1,54 ^f ±0,06	57,83	83,59 ^a ±1,24	85,60 ^b ±0,67	59,92 ^b ±0,48	8,19 ^d ±0,06
2	0,00	1,00	0,00	71,83 ^b ±1,65	3,27 ^a ±0,09	68,57	80,01 ^a ±2,33	83,63 ^b ±1,28	58,54 ^b ±0,90	9,72 ^b ±0,15
3	0,00	0,00	1,00	45,69 ^f ±2,67	0,55 ⁱ ±0,03	45,14	82,80 ^a ±0,25	85,17 ^b ±0,14	59,62 ^b ±0,10	6,47 ^f ±0,07
4	0,50	0,50	0,00	65,96 ^c ±0,99	2,46 ^c ±0,02	60,49	80,87 ^a ±1,11	84,10 ^b ±0,61	58,87 ^b ±0,43	8,48 ^d ±0,06
5	0,50	0,00	0,50	52,53 ^e ±0,98	1,04 ^g ±0,03	51,48	83,45 ^a ±1,87	85,52 ^b ±1,03	59,86 ^b ±0,71	7,33 ^e ±0,08
6	0,00	0,50	0,50	58,76 ^d ±2,13	1,91 ^d ±0,05	56,85	83,65 ^a ±1,97	85,63 ^b ±1,08	59,94 ^b ±0,76	8,19 ^d ±0,11
7	0,33	0,33	0,33	58,62 ^d ±0,09	1,79 ^{de} ±0,02	56,83	84,12 ^a ±0,67	85,89 ^b ±0,37	60,12 ^b ±0,25	8,19 ^d ±0,03
8	0,33	0,33	0,33	58,46 ^d ±1,42	1,75 ^e ±0,03	56,70	83,98 ^a ±1,78	85,81 ^b ±0,98	60,07 ^b ±0,68	8,16 ^d ±0,09
9	0,33	0,33	0,33	58,03 ^d ±0,24	1,78 ^{de} ±0,02	56,25	84,44 ^a ±1,13	86,07 ^b ±0,62	60,24 ^b ±0,43	8,11 ^d ±0,06
10	0,66	0,17	0,17	59,99 ^d ±1,00	2,66 ^b ±0,07	57,33	82,99 ^a ±1,20	85,27 ^b ±0,66	59,69 ^b ±0,47	8,07 ^d ±0,06
11	0,17	0,66	0,17	64,33 ^c ±1,60	1,86 ^{de} ±0,04	62,47	84,14 ^a ±5,35	85,90 ^b ±2,94	60,13 ^b ±2,05	9,07 ^c ±0,31
12	0,17	0,17	0,66	51,83 ^e ±0,63	1,84 ^{de} ±0,05	50,02	82,68 ^a ±3,35	85,10 ^b ±1,84	59,57 ^b ±1,29	7,25 ^e ±0,15
Pão branco	-	-	-	83,39 ^a ±0,56	0,68 ^h ±0,01	82,72	100 ^a ±0,00	94,61 ^a ±0,00	66,23 ^a ±0,00	19,85 ^a ±0,00

IH = índice de hidrólise, IG = índice glicêmico, CG = carga glicêmica.

Valores obtidos pelas equações: $IG_{(pão)} = 39,71 + 0,549(IH)$; $IG_{(glicose)} = IG_{(pão)} * 0,7$; $CG = [(IG_{(glicose)} * \text{teor de carboidratos disponíveis na porção}) / 100]$.

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Não houve diferenças de IH entre os produtos, possivelmente devido aos teores similares de frutanos totais na formulação. Os frutanos são fibras alimentares solúveis, que formam soluções viscosas em água, atuando desta forma, como uma barreira física que dificulta a ação enzimática (FAO/ WHO 1998; CAPRILES et al., 2009b). As fibras insolúveis parecem não ter influência nesta propriedade.

Observa-se que o pão branco ($IG = 66,2$) e os pães sem glúten ($58,5 \leq IG \leq 60,2$) apresentaram valores estimados que indicam IG intermediário. O pão branco apresenta CG alta ($CG = 20$) e os pães sem glúten CG baixa ($6,5 \leq IG \leq 9,7$), sendo necessário ainda confirmar estes resultados em ensaios com seres humanos.

Observou-se que os valores de CG estimada foram influenciados pela composição da mistura utilizada na formulação, como mostra o modelo linear ajustados aos dados (Figura 1). No nível de 95% de confiança o modelo linear foi significativo ($p = 0,00$) e não apresentou falta de ajuste ($p = 0,053$) e explicou 96,24% da variação observada (ANEXO 10).

Figura 1 – Gráfico de contornos para a carga glicêmica estimada dos pães sem glúten.

Os pães obtidos com as maiores proporções de farinha de amaranto apresentaram os menores valores de CG estimada, enquanto que os obtidos com os maiores níveis de fécula de batata apresentaram os maiores valores, isto se deve as

diferenças nos teores de amido disponível presentes nestas matérias primas e consequentemente nos pães obtidos a partir delas (Tabela 4). Foram encontrados os seguintes teores de amido resistente (AR) e amido disponível (AD) nas matérias primas: farinha de arroz AR = 1,4% e AD = 84,1%, fécula de batata AR = 7,5% e AD = 90,5% e farinha de amaranto AR = 0,5% e AD = 57,5% (base seca).

Propriedades físicas dos pães sem glúten

Observa-se na Figura 2 que as formulações obtidas com os maiores níveis de farinha de arroz (ensaios 1, 4, 5 e 10) apresentaram formato mais próximo ao de fatias de pães de forma convencionais (obtidos com farinha de trigo); enquanto que os produtos elaborados com os maiores teores de farinha de amaranto (ensaios 3 e 12) tiveram aspecto de fatia de bolo, ou seja, com menor expansão.

Figura 2 – Miolo dos pães sem glúten obtidos com o planejamento experimental para misturas ternárias de farinha de arroz, fécula de batata e farinha de amaranto.

Observa-se na Tabela 5 que houve padronização do peso da massa a ser forneada. O processamento dos pães também foi padronizado e estes foram produzidos em ordem aleatória; desta forma as diferenças entre as propriedades físicas devem-se a composição das formulações. As Tabelas 5 e 6 apresentam as propriedades físicas dos pães sem glúten.

Tabela 5 – Propriedades físicas dos pães sem glúten segundo os níveis de farinha de arroz (x_1), fécula de batata (x_2) e farinha de amaranto (x_3) na mistura.

Ensaio	Proporção de cada componente na mistura			massa (g)	pão (g)	perda (%)	volume (cm ³)	volume específico (cm ³ /g)	umidade (%)	firmeza (N)
	x_1	x_2	x_3							
1	1,00	0,00	0,00	223,22 ^a ±0,92	195,96 ^c ±0,87	12,21 ^{ab} ±0,13	528,33 ^a ±2,89	2,70 ^a ±0,01	47,30 ^g ±0,06	8,92 ^a ±0,18
2	0,00	1,00	0,00	226,48 ^a ±1,09	204,80 ^{ab} ±0,69	9,57 ^e ±0,14	468,33 ^{cd} ±7,64	2,29 ^c ±0,05	48,47 ^{bc} ±0,10	5,10 ^e ±0,37
3	0,00	0,00	1,00	226,27 ^a ±0,86	200,16 ^{bc} ±1,12	11,54 ^b ±0,21	385,00 ^f ±0,00	1,92 ^e ±0,01	48,13 ^{cd} ±0,06	3,63 ^g ±0,31
4	0,50	0,50	0,00	224,04 ^a ±2,45	196,28 ^c ±1,36	12,38 ^{ab} ±0,78	463,33 ^{cd} ±5,77	2,36 ^c ±0,02	47,62 ^{efg} ±0,03	7,24 ^b ±0,16
5	0,50	0,00	0,50	224,97 ^a ±1,75	197,54 ^c ±1,39	12,19 ^{ab} ±0,14	446,67 ^{de} ±5,77	2,26 ^{cd} ±0,04	47,57 ^{fg} ±0,19	5,96 ^c ±0,08
6	0,00	0,50	0,50	224,49 ^a ±0,79	196,16 ^c ±1,07	12,62 ^a ±0,17	425,00 ^e ±15,00	2,17 ^d ±0,08	48,09 ^d ±0,06	4,00 ^{fg} ±0,15
7	0,33	0,33	0,33	224,54 ^a ±0,99	205,73 ^{ab} ±1,05	8,38 ^d ±0,07	476,67 ^c ±5,77	2,32 ^c ±0,03	48,00 ^{de} ±0,08	5,70 ^{cd} ±0,30
8	0,33	0,33	0,33	226,25 ^a ±1,73	207,35 ^a ±1,34	8,35 ^d ±0,15	483,33 ^c ±5,77	2,33 ^c ±0,02	47,94 ^{def} ±0,07	5,77 ^{cd} ±0,05
9	0,33	0,33	0,33	226,42 ^a ±4,36	207,52 ^a ±4,48	8,35 ^d ±0,22	486,67 ^{bc} ±15,27	2,34 ^c ±0,02	47,94 ^{def} ±0,03	5,72 ^{cd} ±0,20
10	0,66	0,17	0,17	222,17 ^a ±0,92	203,37 ^{ab} ±0,22	8,46 ^d ±0,48	513,33 ^{ab} ±5,77	2,53 ^b ±0,03	48,91 ^a ±0,20	7,44 ^b ±0,32
11	0,17	0,66	0,17	227,48 ^a ±2,76	204,12 ^{ab} ±2,83	10,27 ^c ±0,20	473,33 ^{cd} ±5,77	2,32 ^c ±0,03	49,02 ^a ±0,32	5,42 ^e ±0,44
12	0,17	0,17	0,66	224,58 ^a ±2,06	195,46 ^c ±2,50	12,97 ^a ±0,34	420,00 ^e ±20,00	2,15 ^d ±0,07	48,67 ^{ab} ±0,02	4,46 ^f ±0,12

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Tabela 6 – Cor da crosta e do miolo dos pães sem glúten segundo os níveis de farinha de arroz (x_1), fécula de batata (x_2) e farinha de amaranto (x_3) na mistura.

Ensaio	Proporção de cada componente na mistura			Cor da crosta					Cor do miolo				
	x_1	x_2	x_3	L	a	b	C	h	L	a	b	C	h
1	1,00	0,00	0,00	78,48 ^a ±2,35	1,31 ^f ±0,06	28,22 ^b ±0,50	27,91 ^b ±1,74	82,08 ^a ±4,31	79,54 ^a ±0,38	0,07 ^h ±0,01	17,17 ^g ±0,12	17,17 ^g ±0,12	90,13 ^a ±0,21
2	0,00	1,00	0,00	80,13 ^a ±0,54	0,76 ^f ±0,06	18,71 ^g ±0,93	18,73 ^f ±0,94	87,21 ^a ±0,76	78,33 ^b ±0,42	0,20 ^h ±0,03	17,30 ^g ±1,04	17,30 ^{fg} ±1,04	90,30 ^a ±0,70
3	0,00	0,00	1,00	57,72 ^d ±1,17	8,60 ^c ±0,62	20,02 ^{tg} ±0,57	22,02 ^e ±0,69	65,52 ^{cde} ±2,59	59,25 ^h ±0,54	5,76 ^a ±0,10	18,69 ^{cd} ±0,32	19,55 ^{bc} ±0,32	72,86 ⁱ ±0,28
4	0,50	0,50	0,00	67,47 ^b ±1,23	12,15 ^a ±1,06	34,54 ^a ±2,15	36,63 ^a ±2,12	70,59 ^{bc} ±1,78	79,08 ^{ab} ±0,59	0,22 ^h ±0,03	20,84 ^a ±0,33	20,84 ^a ±0,33	89,37 ^b ±0,20
5	0,50	0,00	0,50	58,36 ^d ±2,75	12,06 ^a ±0,80	21,55 ^{ef} ±1,33	24,15 ^{de} ±1,52	59,75 ^e ±4,09	66,26 ^f ±0,65	4,34 ^c ±0,21	19,56 ^b ±0,36	20,03 ^b ±0,35	77,50 ^f ±0,65
6	0,00	0,50	0,50	51,35 ^e ±1,30	11,82 ^{ab} ±0,36	15,88 ^h ±0,69	19,47 ^f ±1,31	52,46 ^f ±2,54	62,84 ^g ±0,73	4,47 ^c ±0,24	18,62 ^{cd} ±0,45	19,15 ^c ±0,46	76,51 ^g ±0,65
7	0,33	0,33	0,33	53,44 ^e ±1,29	10,83 ^b ±0,34	15,98 ^h ±0,49	26,75 ^{bc} ±0,48	62,26 ^{de} ±1,35	69,65 ^d ±0,41	3,30 ^d ±0,09	18,71 ^{cd} ±0,27	19,01 ^{cd} ±0,27	80,00 ^e ±0,22
8	0,33	0,33	0,33	63,33 ^c ±3,00	11,65 ^{ab} ±0,51	24,25 ^{cd} ±0,78	26,48 ^{bcd} ±0,82	66,68 ^{cd} ±4,56	69,24 ^d ±0,39	3,27 ^d ±0,14	19,14 ^{bc} ±0,27	19,42 ^{bc} ±0,29	80,32 ^e ±0,32
9	0,33	0,33	0,33	68,50 ^b ±2,14	7,42 ^d ±0,32	23,51 ^{de} ±0,79	24,51 ^{cde} ±1,09	73,89 ^b ±3,15	67,43 ^e ±0,47	3,04 ^e ±0,09	17,97 ^{ef} ±0,21	18,22 ^e ±0,21	80,38 ^e ±0,27
10	0,66	0,17	0,17	69,46 ^b ±2,83	5,96 ^e ±0,04	25,59 ^c ±1,40	26,61 ^{bcd} ±1,57	74,40 ^b ±3,32	72,35 ^c ±0,41	2,08 ^g ±0,07	18,37 ^{de} ±0,22	18,49 ^{de} ±0,22	83,55 ^c ±0,19
11	0,17	0,66	0,17	65,94 ^{bc} ±2,18	7,44 ^d ±0,37	24,55 ^{cd} ±0,76	26,07 ^{bcd} ±0,97	72,04 ^{bc} ±4,62	69,53 ^d ±0,62	2,31 ^f ±0,19	17,75 ^{efg} ±0,42	17,90 ^{ef} ±0,44	82,58 ^d ±0,45
12	0,17	0,17	0,66	50,06 ^e ±2,16	10,87 ^b ±0,65	12,35 ⁱ ±1,00	17,61 ^f ±1,27	51,42 ^f ±4,08	59,52 ^h ±1,14	4,95 ^b ±0,32	17,59 ^{tg} ±0,67	18,27 ^e ±0,70	74,28 ^h ±0,77

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si ($p \leq 0,05$).

Não foram observados efeitos significativos dos componentes da mistura na perda de peso durante o forneamento e nem no teor de umidade do miolo dos pães. A perda variou de 8,35 a 12,97% (Tabela 5). As formulações apresentaram teores de umidade próximos, variando de 47,3% a 49,0%. Estes resultados são comparáveis a outras formulações de pães sem glúten, que sofreram perdas de peso de 9 a 16% em função do forneamento (GAMBUS et al., 2002; KORUS e ACHREMOWICZ, 2004; GAMBUS, 2005; SCHOBBER et al., 2005; KORUS et al., 2006; MOORE et al., 2006; RENZETTI et al., 2008) e apresentaram de 43 a 53% de umidade do miolo (GAMBUS et al., 2002; LOPEZ et al., 2004; GAMBUS, 2005).

A Tabela 7 apresenta os modelos ajustados às propriedades físicas dos pães sem glúten. Os modelos foram significativos ($p < 0,03$) e não apresentaram falta de ajuste. Os coeficientes de determinação ajustados explicaram mais de 90% da variação observada, com exceção dos parâmetros de cor da crosta, cujos modelos explicaram de 77 a 79% da variação observada. Os diagramas triangulares são apresentados nas Figuras 3 a 6.

Os resultados da análise de regressão, da análise de variância, bem como o exame dos resíduos deixados pelos modelos são apresentados em Anexo 10.

Tabela 7 – Modelos ajustados às propriedades físicas dos pães sem glúten.

Parâmetro	Equação	$R^2_{(aj)} \%$	p	Falta de ajuste (p)
Volume específico	$Y_2 = 2,71x_1 + 2,29x_2 + 1,92x_3 - 0,52x_1x_2 + 2,22x_1x_2x_3$ ($\pm 0,02$) ($\pm 0,02$) ($\pm 0,02$) ($\pm 0,11$) ($\pm 0,61$)	98,53	0,00	0,11
Firmeza	$Y_3 = 8,94x_1 + 5,09x_2 + 3,62x_3 + 1,07x_1x_2 - 1,16x_1x_3 - 1,37x_2x_3$ ($\pm 0,05$) ($\pm 0,05$) ($\pm 0,05$) ($\pm 0,22$) ($\pm 0,22$) ($\pm 0,22$)	99,89	0,00	0,31
a* crosta	$Y_4 = 8,7x_3 + 43,1x_1x_2 + 27,5x_1x_3 + 28,6x_2x_3 - 134,5x_1x_2x_3$ ($\pm 1,82$) ($\pm 9,15$) ($\pm 9,15$) ($\pm 9,15$) ($\pm 49,79$)	78,14	0,02	0,72
C* crosta	$Y_5 = 27,64x_1 + 19,58x_2 + 21,39x_3 + 48,00x_1x_2$ ($\pm 2,23$) ($\pm 2,23$) ($\pm 2,23$) ($\pm 9,99$)	79,19	0,01	0,18
h* crosta	$Y_6 = 83,12x_1 + 87,80x_2 + 63,45x_3 - 98,57x_2x_3 + 333,69x_1x_2x_3$ ($\pm 5,01$) ($\pm 5,01$) ($\pm 5,01$) ($\pm 25,22$) ($\pm 137,17$)	77,09	0,02	0,66
L* miolo	$Y_7 = 79,40x_1 + 77,84x_2 + 58,93x_3 - 24,91x_2x_3$ ($\pm 1,59$) ($\pm 1,59$) ($\pm 1,59$) ($\pm 7,10$)	94,45	0,00	0,31
a* miolo	$Y_8 = 5,70x_3 + 5,36x_1x_3 + 5,69x_2x_3$ ($\pm 0,20$) ($\pm 0,92$) ($\pm 0,92$)	98,76	0,00	0,27

x_1 = farinha de arroz, x_2 = fécula de batata, x_3 = farinha de amaranto

O volume específico é uma importante propriedade física dos pães, pois exerce forte influência na preferência do consumidor. O volume específico de todos os produtos desenvolvidos ($1,9 - 2,7 \text{ cm}^3/\text{g}$) foi comparável a de outras formulações de pães sem glúten, cujos valores variaram de $1,8$ a $2,7 \text{ cm}^3/\text{g}$ (KADAN et al. 2001; GAMBUS et al. 2002; LOPEZ et al., 2004; SCHOBER et al., 2005; LAZARIDOU et al. 2007; MARCINIAK-LUKASIAK e SKRZYPACZ 2008).

A farinha de arroz contribuiu para a maior expansão dos pães, enquanto que a farinha de amaranto ocasionou a menor expansão (Tabela 7 e Figura 3). O coeficiente negativo indica interação antagônica entre a farinha de arroz e fécula de batata, gerando pães com menor volume específico do que os obtidos com os componentes isolados. A mistura dos três componentes apresentou efeito sinérgico, potencializando a expansão dos produtos. As diferenças de volume específico entre os produtos podem ser visualizadas nas Figuras 2 e 3.

Figura 3 – Gráfico de contornos para o volume específico (cm^3/g) dos pães sem glúten.

A farinha de arroz foi o componente que exerceu o maior efeito na firmeza do miolo dos pães desenvolvidos (Tabela 7 e Figura 4). Os pães elaborados com as maiores proporções de fécula de batata apresentaram miolo mais macio que os

obtidos com as maiores quantidades de farinha de arroz. No entanto, a textura destes produtos não se assemelhava ao que se espera de pães de forma; uma vez que apresentavam textura muito elástica, parecida com a de pães de queijo (observações obtidas com os membros do grupo de pesquisa). A mistura da farinha de arroz com a fécula de batata apresenta interação sinérgica, gerando pães com miolo mais firmes.

Observa-se na Tabela 7 e na Figura 4 que as misturas binárias de farinha de amaranto com a farinha de arroz ou com a fécula de batata apresentam efeito antagônico na firmeza dos produtos, devido à propriedade da farinha de amaranto em reduzir a firmeza do miolo dos pães sem glúten. Os pães elaborados com os maiores níveis de farinha de amaranto apresentaram os menores valores de volume específico e consequentemente de firmeza do miolo ($r = -0,932$, $p = 0,000$). Observou-se que estes pães (ensaios 3 e 12) não apresentaram miolo bem formado (Figura 2) e tiveram a textura desagradável sensorialmente (observação obtida com os membros do grupo de pesquisa).

Figura 4 – Gráfico de contornos para a firmeza (N) do miolo dos pães sem glúten.

Os efeitos negativos da farinha de amaranto nas características volume específico e firmeza do miolo dos pães se devem provavelmente ao aumento dos

teores de proteína e de fibra alimentar do produto, e a proporcional diluição do teor de amido, o que ocasionou a diluição do gel formado entre o amido e os hidrocolóides (SANCHEZ et al., 2004) e pela interferência das proteínas e das fibras na formação deste gel devido a competição por água e também prejudicando a uniformidade do mesmo (SCHOBER et al., 2005).

A adição de farelo usualmente enfraquece a estrutura da massa de pães à base de farinha de trigo, prejudicando o volume e as características do miolo do pão (GAN et al., 1989, 1995). Por analogia, acreditou-se que a farinha de amaranto integral exerceu efeito negativo no volume e textura dos pães devido a sua alta concentração de fibra alimentar insolúvel. Desta forma, interferiu na uniformidade do gel formado entre o amido e os hidrocolóides, enfraquecendo a tensão dentro das paredes das células de gás, consequentemente reduzindo a capacidade de retenção de gás, gerando pães com menor volume. A combinação da farinha de amaranto com farinha de arroz e fécula de batata ocasiona diluição da fibra e aumento do teor de amido (Tabela 3) resultando em efeitos positivos sobre o volume e a textura do miolo (Figuras 3 e 4).

Possivelmente a estrutura dos pães com maiores níveis de amaranto possa ser melhorada por meio da formação de redes protéicas mediante a adição de enzimas como a transglutaminase que catalisa a formação de ligações cruzadas entre as cadeias protéicas. MOORE et al. (2006) e RENZETTI et al. (2008) observaram que o efeito da transglutaminase nas propriedades do pão sem glúten é dependente dos níveis de enzima adicionados e também da fonte protéica presente na formulação. Ainda não há estudos deste tipo com a proteína do grão de amaranto.

As matérias primas apresentam diferenças de cor. A farinha de amaranto é a mais escura e apresenta cor bege ($L = 80$, $a = 3$, $b = 15$, $C = 15$, $h = 79$). A fécula de batata é a mais clara e apresenta cor branca ($L = 96$, $a = 0$, $b = 2$, $C = 2$, $h = 88$). A farinha de arroz apresentou cor mais próxima a da fécula de batata ($L = 93$, $a = 0$, $b = 6$, $C = 6$, $h = 92$).

Os resultados indicam que embora a cor original dos ingredientes tenha influenciado a coloração da crosta do pão (Tabela 6), ela também foi influenciada por outros fatores que não são explicados pelos modelos. Os modelos de regressão linear ajustados aos valores de L^* e b^* da crosta dos pães foram significativos e não

apresentavam falta de ajuste, no entanto estes modelos explicavam menos de 50% da variação observada. E os modelos ajustados a^* , C^* e h^* explicam menos de 80% da variação observada (Tabela 8) por isso, optou-se por não apresentar os gráficos de contorno para os parâmetros de cor da crosta dos pães.

Já a cor do miolo dos pães sofreu maior influência da coloração dos ingredientes. A farinha de arroz e a fécula de batata apresentam efeitos maiores e similares no valor de L^* , indicando que os produtos elaborados com as maiores proporções destes ingredientes apresentaram miolos mais claros (maiores valores de L^*) que os produzidos com maiores níveis de farinha de amaranto (Tabela 7, Figuras 2 e 5). Observa-se interação antagonônica entre fécula de batata e farinha de amaranto, indicando o escurecimento (redução de L^*) do miolo dos pães. O modelo de regressão ajustado aos resultados experimentais mostraram que apenas o termo linear e os termos quadráticos contendo a variável farinha de amaranto exercem efeito significativo na coordenada a^* do miolo dos produtos (Tabela 7, Figura 5).

Figura 5 – Gráfico de contornos para os parâmetros de cor do miolo dos pães sem glúten.

Estes efeitos devem-se a cor mais escura da farinha de amaranto. O aumento dos níveis desta matéria prima ocasionou incremento do teor de proteína, o que também pode estar relacionado à redução do valor de L^* ($r = -0,697$ $p = 0,012$) e

aumento do valor de a^* ($r = 0,757$ $p = 0,004$) devido a um possível favorecimento da reação de Maillard e consequente formação de melanoidinas, compostos com tendência a cor marrom.

A coordenada b^* se ajustou a um modelo cúbico significativo e que não apresentou falta de ajuste, entretanto explicava apenas 52% da variação observada. Nem o modelo cúbico, nem o quadrático, nem o linear foram significativos para o croma do miolo dos pães. O tom se ajustou a um modelo quadrático significativo que explicava 98,33% da variação observada, porem apresentava falta de ajuste.

De forma geral, observou-se que quanto maior os níveis de farinha de amaranto na formulação, mais escura foi a cor externa e interna dos pães, devido à cor intrínseca desta matéria prima e também a um possível favorecimento da reação de Maillard com o aumento do teor de proteínas. Dentre as amostras formuladas com farinha de amaranto integral, as mais claras foram obtidas com até 33% deste ingrediente; como mostra os ensaios 7, 10 e 11 apresentados na Figura 2.

Avaliação sensorial das formulações selecionadas

Os resultados mostraram que a adição de farinha de amaranto integral aumenta os teores de cinzas, lipídeos e fibra alimentar. Entretanto, prejudica a expansão e a textura do produto e escurece o miolo dos mesmos. Não é possível obter um pão com a farinha de amaranto isoladamente, uma vez que esta não propicia a formação de miolo. Desta forma, é necessário combiná-la a outras farinhas.

Com base nos critérios de qualidade adotados para pães de forma, como alto volume, miolo macio e uniforme (MCCARTHY et al., 2005) e nos objetivos de incorporar o maior teor possível de amaranto na formulação e obter um produto aceito sensorialmente, considerou-se que os pães elaborados com a mistura ternária apresentariam os melhores resultados. De acordo com os modelos ajustados para o volume específico, firmeza e cor do miolo (modelos que explicaram mais de 90% da variação observada) foram selecionadas formulações com os três componentes considerando níveis de amaranto que variaram de 17 a 45% da mistura e que apresentassem o maior valor de volume específico, maior maciez (valores próximos

a 7N considerando a boa aceitação do ensaio 4 realizada anteriormente – CAPÍTULO 5) e maiores valores de L* e menores valores de a* do miolo. A Tabela 8 apresenta as características físicas das formulações selecionadas.

Tabela 8 – Respostas esperadas e obtidas experimentalmente para as propriedades físicas dos pães sem glúten.

Proporção na mistura				Respostas esperadas [#]				Respostas obtidas			
x ₁	x ₂	x ₃		volume específico	firmeza	L* miolo	a* miolo	volume específico	firmeza	L* miolo	a* miolo
1	0,66	0,17	0,17	2,48	7,36	73,73	1,88	2,53 ^a ±0,03	7,45 ^a ±0,33	72,35 ^a ±0,41	2,08 ^c ±0,07
2	0,33	0,33	0,33	2,34	5,74	67,91	3,21	2,34 ^b ±0,02	5,72 ^b ±0,21	69,65 ^b ±0,42	3,30 ^b ±0,09
3	0,29	0,26	0,45	2,29	5,33	66,16	4,10	2,22 ^c ±0,02	4,41 ^c ±0,38	66,01 ^c ±1,00	3,28 ^b ±0,32
4	0,40	0,15	0,45	2,31	5,75	67,19	4,01	2,29 ^b ±0,03	5,68 ^b ±0,26	64,28 ^d ±0,54	3,83 ^a ±0,11

x₁= farinha de arroz, x₂= fécula de batata, x₃= farinha de amaranto

[#]Respostas esperadas calculadas a partir dos modelos apresentados na Tabela 8.

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si (p ≤ 0,05).

A reprodução experimental das formulações selecionadas é importante para testar a qualidade do ajuste do modelo. Observa-se na Tabela 8 que os valores obtidos experimentalmente são próximos aos previstos pelos modelos ajustados. A Tabela 9 apresenta a aceitabilidade destas amostras.

Tabela 9 – Aceitabilidade dos pães sem glúten obtidos com as misturas selecionadas.

Proporção na mistura				Atributos de aceitação				
x ₁	x ₂	x ₃		Aparência	Cor	Textura	Sabor	Global
1	0,66	0,17	0,17	7,16 ^a ±1,40	7,21 ^a ±1,36	7,03 ^{ab} ±1,46	7,26 ^a ±1,60	6,97 ^{ab} ±1,55
2	0,33	0,33	0,33	7,60 ^a ±1,35	7,58 ^a ±1,22	7,34 ^a ±1,28	7,10 ^{ab} ±1,33	7,37 ^a ±1,24
3	0,29	0,26	0,45	7,30 ^a ±1,51	7,16 ^a ±1,62	6,43 ^b ±1,59	6,08 ^c ±1,67	6,27 ^b ±1,52
4	0,40	0,15	0,45	7,70 ^a ±1,08	7,65 ^a ±1,25	6,95 ^{ab} ±1,21	6,22 ^{bc} ±1,63	6,59 ^{ab} ±1,32

x₁= farinha de arroz, x₂= fécula de batata, x₃= farinha de amaranto

As médias seguidas por letras diferentes, na mesma coluna, diferem entre si (p ≤ 0,05).

Por meio da variação de 17 a 45% de farinha de amaranto na mistura obtiveram-se pães com aparência e cor aceitos sensorialmente. A manutenção de níveis superiores a 30% de farinha de arroz na mistura garantiu boa aceitação da textura (amostras 1, 2 e 4), do sabor e da aceitação global, mesmo na formulação com 45% de farinha de amaranto. As médias dos valores hedônicos atribuídos aos pães variaram entre 6- “gostei ligeiramente” e 7-“gostei muito”.

GAMBUS et al. (2002) mostraram que a incorporação de 10% de farinha de amaranto não prejudicava a aceitabilidade de pão sem glúten à base de amido de milho. Os resultados do presente estudo mostram que é possível utilizar maiores proporções de farinha de amaranto integral na formulação (45%), obtendo-se um produto de melhor valor nutritivo e aceito sensorialmente.

Resposta glicêmica aos pães sem glúten

Os pães com 33% e 45% de farinha de amaranto foram selecionados para a avaliação *in vivo* porque apresentaram os maiores teores de amaranto e foram aceitos sensorialmente.

Oito voluntários (8 mulheres) com $26,9 \pm 4,4$ anos de idade e $22,2 \pm 1,6$ kg/m² de índice de massa corporal – IMC (média $\pm$ desvio padrão) consumiram porções que apresentavam 25g de carboidratos disponíveis, correspondendo a 41,7g do pão branco (pão), 91,6g do pão sem glúten com 33% de amaranto (psg-33%) e 120,81g do pão sem glúten com 45% de amaranto (psg-45%).

A Figura 6 apresenta as curvas de resposta glicêmica aos pães sem glúten. Não foram observadas diferenças de resposta glicêmica entre os pães sem glúten com 33 e 45% de farinha de amaranto; possivelmente porque as pequenas diferenças de composição entre estes produtos não apresentam relevância fisiológica para a modulação da resposta glicêmica.

Figura 6 – Curvas de resposta glicêmica aos pães sem glúten enriquecidos com frutanos, em função dos níveis de amaranto na formulação.

Cada alimento foi testado no mesmo grupo de 8 indivíduos saudáveis. Os dados representam a média, e as barras o erro padrão.

A Tabela 10 apresenta os valores de IG e CG destes produtos.

Tabela 10 – Resposta glicêmica dos pães sem glúten enriquecidos com frutanos, em função dos níveis de amaranto na formulação.

	Pão sem glúten		
	Pão branco	33% amaranto	45% amaranto
ARG (mmol.min.L ⁻¹)	85,95 ^a ±7,01	58,23 ^b ±3,00	70,93 ^{ab} ±5,04
IG (pão)	100 ^a ±0,00	78,36 ^b ±2,45	81,72 ^b ±4,13
IG (glicose)	70 ^a ±0,00	54,85 ^b ±1,72	57,21 ^b ±2,89
CD (50g)	29,98	13,64	10,35
CG – porção de 50g	20,99 ^a ±0,00	7,48 ^b ±0,23	5,92 ^c ±0,30

ARG – área de resposta glicêmica, IG – índice glicêmico, CD – carboidratos disponíveis, CG – carga glicêmica. As médias seguidas por letras diferentes, na mesma linha, diferem entre si ($p \leq 0,05$)

Em relação ao pão sem glúten convencional (CAPÍTULO 5), observa-se que a adição de frutanos e a presença de 33 e 45% de amaranto na formulação (base farinha) ocasionou redução de ~20% do IG e de 40 e de 53% da CG,

respectivamente. A redução do IG ocorreu devido a presença de maiores quantidades de fibras solúveis (~9,0 versus 1,2%) que contribuíram para atenuação da resposta glicêmica do produto. Não houve efeito do amaranto no IG dos pães sem glúten enriquecidos com frutanos, uma vez que os três produtos apresentam teores similares destas fibras solúveis. O aumento do teor de amaranto na formulação ocasiona diminuição da CG devido a redução do teor de carboidratos disponíveis.

Os produtos elaborados com 33% e 45% de amaranto apresentaram IG moderado e CG baixa. Estes pães apresentaram maiores teores de fibras solúveis, e por isso, menor resposta glicêmica quando comparados a outros pães sem glúten enriquecidos com fibras; como por exemplo, o pão multigrãos ($IG_{(glicose)} = 79$ e $CG = 16$ na porção de 50g), o pão elaborado com farinhas de arroz e de trigo sarraceno ($IG_{(glicose)} = 72$, $CG = 13,3$ na porção de 50g) e o pão elaborado com amido de trigo e farelo de soja ($IG_{(glicose)} = 69$, $CG = 15$ na porção de 50g), de acordo com os dados publicados na Tabela Internacional de IG e CG (ATKINSON et al., 2008).

Observa-se na Figura 7 que os valores obtidos *in vivo* são muito próximos aos estimados *in vitro*.

Figura 7 – Comparação da resposta glicêmica *in vivo* e *in vitro* dos pães sem glúten enriquecidos com frutanos (8g/100g) em função dos níveis de amaranto na formulação.

Foi encontrada uma alta correlação entre os valores de CG estimados e os obtidos *in vivo* ($r = 0,998$, $p = 0,036$); não sendo observadas outras relações entre as variáveis.

CONCLUSÃO

Não foi possível obter um pão com a farinha de amaranto isoladamente, uma vez que esta farinha não possibilitou boa expansão e formação de miolo, sendo necessária a sua combinação com outras farinhas. A farinha de amaranto incrementa o valor nutritivo e escurece os produtos. A farinha de arroz e a fécula de batata contribuem com a expansão e textura do produto, gerando pães mais claros.

Misturas de farinha de amaranto, farinha de arroz e fécula de batata são viáveis para elaboração de pães sem glúten enriquecidos com frutanos. O planejamento experimental possibilitou a obtenção de pães sem glúten com 33 e 45% de farinha de amaranto, que apresentam destacado valor nutritivo, baixa resposta glicêmica e elevada aceitabilidade.

REFERÊNCIAS

- ABRAMS, S. *et al.* A combination of prebiotic short- and long-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents. *Am J Clin Nutr*, v. 82, n. 2, p. 471-476, 2005.
- ATKINSON, F. *et al.* International tables of glycemic index and glycemic load values: 2008. *Diabetes Care*, v. 31, n. 12, p. 2281-2283, 2008.
- BARROS NETO, B. D. *et al.* Como modelar misturas. In: BARROS NETO, B. D. *et al.* (Ed.). *Como fazer experimentos*. Campinas: Editora da Unicamp, 2007. p. 363-417.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. *J Food Sci*, v. 73, n. 7, p. H160-4, 2008.
- CAPRILES, V. D. *et al.* Marcador in vitro da resposta glicêmica dos alimentos como ferramenta de auxílio à prescrição e avaliação de dietas. *Rev Nutr*, v. 22, n. 4, p. 549-557, 2009a.
- CAPRILES, V.D. *et al.* Effect of fructans-based fat replacer on chemical composition, starch digestibility and sensory acceptability of corn snacks. *Int J Food Sci Tech*, v. 44, n. 10, p. 1895-1901, 2009b.
- FAO/ WHO – Food and Agriculture Organization/ World Health Organization. Carbohydrates in human nutrition. Report of a join FAO/ WHO expert consultation. 66. Rome 1998.
- GALLAGHER, E. *et al.* Recent advances in the formulation of gluten-free cereal-based products. *Trends Food Sci Tech*, v. 15, n. 3-4, p. 143-152, 2004.
- GAMBUS, H. *et al.* The research on quality improvement of gluten-free bread by amaranthus flour addition. *Zywnosc*. v.9, p.99-112, 2002.
- GAMBUS, H. Linseed (Linun usitatissimum L) as a source of nutrients in gluten-free bread. *Zywnosc*, v. 45, p. 61-74, 2005.

- GAN, Z. *et al.* Gas cell stabilization and gas retention in wheat bread dough. *J Cereal Sci*, v. 21, n. 3, p. 215-230, 1995.
- GAN, Z. *et al.* Some effects of non-endosperm components of wheat and of added gluten on wholemeal bread microstructure. *J Cereal Sci*, v. 10, n. 2, p. 81-91, 1989..
- HOLLOWAY, L. *et al.* Effects of oligofructose-enriched inulin on intestinal absorption of calcium and magnesium and bone turnover markers in postmenopausal women. *Br J Nutr*, v. 97, n. 2, p. 365-372, 2007.
- KADAN, R. *et al.* Texture and other physicochemical properties of whole rice bread. *J Food Sci*, v. 66, n. 7, p. 940-944, 2001.
- KORUS, J.; ACHREMOWICZ, B. Fiber preparations of different origin used as additives in baking gluten-free breads. *Zywnosc*, v. 38, p. 65-73, 2004.
- KORUS, J. *et al.* Influence of prebiotic additions on the quality of gluten-free bread and on the content of inulin and fructooligosaccharides. *Food Sci Tech Int*, v. 12, n. 6, p. 489-495, 2006.
- KORUS, J. *et al.* The impact of resistant starch on characteristics of gluten-free dough and bread. *Food Hydrocolloids*, v. 23, n. 3, p. 988-995, 2009.
- LAZARIDOU, A. *et al.* Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. *J Food Eng*, v. 79, n. 3, p. 1033-1047, 2007.
- LEE, A.; NEWMAN, J. Celiac diet: its impact on quality of life. *J Am Diet Assoc*, v. 103, n. 11, p. 1533-5, 2003.
- LOPEZ, A. *et al.* Flour mixture of rice flour, corn and cassava starch in the production of gluten-free white bread. *Braz Arch Biol Technol*, v. 47, n. 1, p. 63-70, 2004.
- MARCINIAK-LUKASIAK, K.; SKRZYPACZ, M. Gluten-free bread concentrate with addition of amaranthus flour. *Zywnosc*, v. 15, n. 4, p. 131-140, 2008.
- MCCARTHY, D. *et al.* Application of response surface methodology in the development of gluten-free bread. *Cereal Chem*, v. 82, n. 5, p. 609-615, 2005.
- MOORE, M. *et al.* Network formation in gluten-free bread with application of transglutaminase. *Cereal Chem*, v. 83, n. 1, p. 28-36, 2006.
- MURRAY, J. Celiac disease in patients with an affected member, type 1 diabetes, iron-deficiency, or osteoporosis? *Gastroenterology*, v. 128, n. 4 Suppl 1, p. S52-56, 2005.
- OLMOS, M. *et al.* Systematic review and meta-analysis of observational studies on the prevalence of fractures in coeliac disease. *Dig Liver Dis*, v. 40, n. 1, p. 46-53, 2008.
- RAO, V. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. *Nutr Res*, v. 21, n. 6, p. 843-848, 2001.
- RENZETTI, S. *et al.* Microstructure, fundamental rheology and baking characteristics of batters and breads from different gluten-free flours treated with a microbial transglutaminase. *J Cereal Sci*, v. 48, n. 1, p. 33-45, 2008.
- ROBERFROID, M. Concepts in functional foods: The case of inulin and oligofructose. *J Nutr*, v. 129, n. 7, p. 1398S-1401S, 1999.
- SANCHEZ, H. *et al.* Use of response surface methodology to optimize gluten-free bread fortified with soy flour and dry milk. *Food Sci Tech Int*, v. 10, n. 1, p. 5-9, 2004.

- SCHOBBER, T. *et al.* Gluten-free bread from sorghum: Quality differences among hybrids. *Cereal Chem*, v. 82, n. 4, p. 394-404, 2005.
- STONE, H.; SIDEL, J.L. *Sensory Evaluation Practices*. London: Academic Press, 1985.
- THOMPSON, T. *et al.* Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium and grain foods? *J Hum Nutr Diet*, v. 18, n. 3, p. 163-169, 2005.

6 CONCLUSÕES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

CONCLUSÃO GERAL

As abordagens adotadas possibilitaram desenvolver *snacks*, barras e pães sem glúten à base de amaranto enriquecidos com frutanos (4 gramas/ porção). Estes produtos apresentaram destacado valor nutritivo em relação aos produtos similares convencionais, atenuação da resposta glicêmica e alta aceitabilidade pelo consumidor. Por isso, acreditamos que estes podem contribuir para uma maior variação e adequação da dieta dos celíacos e também para auxiliar no aumento da absorção de cálcio, reduzindo o risco de osteopenia/ osteoporose observado nesta população.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando as limitações desta pesquisa, foi elaborada uma série de sugestões visando a continuidade deste trabalho no sentido de avaliar os efeitos potencialmente benéficos dos frutanos na absorção de cálcio dos celíacos, e também visando melhorias nos produtos desenvolvidos.

Para analisar o efeito dos frutanos na absorção de cálcio:

- Realizar um ensaio clínico de curta duração para avaliar o efeito potencial destes produtos na modulação da microbiota intestinal e no aumento da absorção de cálcio (teste em indivíduos saudáveis).
- Realizar um ensaio clínico de curta duração para avaliar o efeito potencial do consumo de frutanos em aumentar a absorção de cálcio de celíacos em tratamento.
- Realizar um ensaio clínico de longa duração para avaliar o efeito potencial do consumo de frutanos em aumentar a densidade mineral óssea dos celíacos.

Sugestões de novos testes com os produtos:

- Avaliar a aceitabilidade dos *snacks*, barras e pães sem glúten pelos celíacos.
- Avaliar outros parâmetros relacionados com a resposta glicêmica dos produtos, tais como a resposta insulinêmica, o índice de saciedade, efeito na quantidade de alimento ingerida na segunda refeição.

Snacks

- A aceitação do sabor e da cor dos *snacks* com 75 e 100% de amaranto pode ser melhorada se estes forem produzidos em uma extrusora com menor comprimento do canhão. Testes preliminares mostraram que redução da razão L/D resulta em *snacks* de amaranto com maior expansão, cor mais clara e maior aceitabilidade. Referência: Capriles, V.D., Soares, R.A.M., Arêas, J.A.G. Relação entre a razão comprimento/diâmetro do canhão da extrusora e a aceitabilidade de *snacks* a base de amaranto e milho. Anais do 7º Simpósio Latinoamericano de Ciência de Alimentos, 2007, Campinas - SP.
- Avaliar se a incorporação de maiores quantidades de frutanos ou de fibras que apresentam maior viscosidade poderia contribuir para uma atenuação considerável da resposta glicêmica dos extrusados. Outra possibilidade seria adicionar as fibras às matérias primas previamente ao processo de extrusão e avaliar se as interações que ocorrem entre os nutrientes durante o processo poderiam ocasionar redução da resposta glicêmica.
- Redução do teor de sódio dos *snacks*.

Barras

- Buscar alternativas para avaliar a resposta glicêmica das barras de amaranto. Por exemplo, a realização de testes com porções contendo menos de 25 gramas de carboidratos disponíveis.
- Para viabilizar as barras elaboradas com amaranto extrusado é necessário obter um extrusado mais compacto. Uma das opções seria extrudar a farinha de amaranto com maior teor de lipídeos, mas não a farinha de amaranto integral. Ou elaborar o produto sob diferentes condições de processo (variando a umidade da matéria prima, a temperatura, taxa de rotação da rosca, e utilizar uma trafilha com vários orifícios).

Pães

- Avaliar a aceitabilidade de formulações de pães sem glúten com mais de 45% de farinha de amaranto integral.
- Avaliar a possibilidade de melhoria da estrutura dos pães com maiores níveis de amaranto através da adição de transglutaminase, ou ainda desenvolver pães sem glúten adicionados de isolado protéico de amaranto combinado a esta enzima.
- Avaliar os parâmetros farinográficos da farinha de amaranto e buscar melhorias nas características dos pães.
- Avaliar o efeito dos frutanos nas características farinográficas das massas, e avaliar se é necessário realizar ajustes no teor de água visando a melhoria das propriedades físicas dos pães.

ANEXOS

ANEXO 1. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa – COEP/FSP (protocolo 1404)

**Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública**

COMITÊ DE ÉTICA – COEP

Av. Dr. Arnaldo, 715 – Assessoria Acadêmica - CEP 01246-904 – São Paulo – Brasil
Telefones: (55-11) 3066-7779 – e-mail: coep@fsp.usp.br

Of.COEP/246/05

15 de dezembro de 2005

Pelo presente, informo que o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo-COEP, **analisou e aprovou** em sua 10.ª/05 Sessão Ordinária, realizada em 14.12.05, de acordo com os requisitos da Resolução CNS/196/96 e suas complementares, o Protocolo de Pesquisa n.º 1404 intitulado: “DESENVOLVIMENTO E ESTABILIDADE SENSORIAL DE PRODUTOS COM PROPRIEDADES FUNCIONAIS À BASE DE AMARANTO (*AMARANTUS CRUENTUS* L., *BR ALEGRIA*) E FIBRAS PREBIÓTICAS PARA CELÍACOS”, apresentado pela pesquisadora Vanessa Dias Capriles.

Atenciosamente,

Eunice Aparecida Bianchi Galati
Professora Doutora
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa da FSP-COEP

ANEXO 2. Termo de consentimento livre e esclarecido entregue aos participantes da avaliação sensorial dos produtos.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
Laboratório de Bioquímica e Propriedades Funcionais dos Alimentos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: Desenvolvimento e estabilidade sensorial de produtos com propriedades funcionais à base de amaranto (*Amaranthus cruentus* L. BRS Alegria) e fibras prebióticas para celíacos.

Investigadores: Vanessa Dias Capriles, Prof. Dr. José Alfredo Gomes Arêas. Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.

Objetivo desta pesquisa:

- 1) Desenvolver novos tipos de pães, biscoitos e barras a base de amaranto (grão que não contém glúten), para celíacos (intolerantes ao glúten). Enriquecer os novos produtos com ingredientes que auxiliam a absorção do cálcio pelo nosso organismo.
- 2) Avaliar a aceitabilidade sensorial destes produtos e a sua vida de prateleira.

Participação na pesquisa: Se eu concordar em participar deste estudo, irei provar e marcar o quanto gostei ou desgostei do produto em uma ficha padronizada.

Benefícios: Ao final da pesquisa tentaremos transferir a tecnologia que desenvolvemos para indústrias de alimentos.

Riscos: Os produtos a serem experimentados foram fabricados sobre rígidos controles de higiene.

- Os biscoitos do tipo snack apresentam em sua composição milho, amaranto, inulina e oligofrutose (fibra que pode auxiliar a absorção de cálcio), sal e aroma.
- As barras de cereais apresentam em sua composição amaranto, frutas (coco, maçã, uva passa), castanha do Pará, inulina e oligofrutose, colágeno, sorbitol, sucralose e lecitina de soja.
- Os pães de forma apresentam em sua composição farinha de arroz, fécula de batata, farinha de amaranto, leite de vaca integral, ovo, sal, açúcar, óleo vegetal, hidrocolóides, inulina e oligofrutose, fermento biológico e água.

Compensações: Receberei um brinde como forma de agradecimento pela participação nesta fase do estudo. Após a conclusão desta fase experimental serei informado a respeito dos principais resultados obtidos.

Confiabilidade: Será garantindo total sigilo a respeito da participação nesta pesquisa. Serão divulgados apenas os resultados do grupo como um todo. Os resultados desta pesquisa serão divulgados em eventos e periódicos científicos.

Direito de recusa ou desistência: Poderei desistir de participar desta pesquisa a qualquer momento, sem que isso ocasione quaisquer prejuízos. A desistência não acarretará qualquer problema no relacionamento com os pesquisadores e órgãos envolvidos no projeto.

Questões: Vanessa Dias Capriles, pesquisadora responsável por este estudo, discutiu estas informações comigo, oferecendo-se para responder minhas dúvidas. Caso tenha perguntas adicionais poderei contatá-la pelo telefone 3061-7765 ou e-mail: vancapri@usp.br.

Consentimento: Eu, _____, concordo em participar desta pesquisa, na qualidade de provador dos produtos. Recebi uma cópia do presente termo de consentimento e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer dúvidas.

São Paulo dia , mês, ano

Assinatura dos pesquisadores responsáveis: Vanessa Dias Capriles
 Prof. Dr. José Alfredo Gomes Arêas

ANEXO 3. Ficha de avaliação da aceitabilidade dos *snacks*.

Análise de biscoito do tipo *snack*

Nome: _____

Você está recebendo uma amostra codificada de snack (salgadinho). Por favor, avalie os atributos abaixo e marque (com um X) o quanto você gostou ou desgostou de cada um deles na correspondente escala.

⇒ Cor

- ☐ 9 - Gostei MUITÍSSIMO
- ☐ 8 - Gostei Muito
- ☐ 7 - Gostei Regularmente
- ☐ 6 - Gostei Ligeiramente
- ☐ 5 - Não gostei/ nem desgostei
- ☐ 4 - Desgostei Ligeiramente
- ☐ 3 - Desgostei Regularmente
- ☐ 2 - Desgostei Muito
- ☐ 1 - Desgostei MUITÍSSIMO

⇒ Crocância

- ☐ 9 - Gostei MUITÍSSIMO
- ☐ 8 - Gostei Muito
- ☐ 7 - Gostei Regularmente
- ☐ 6 - Gostei Ligeiramente
- ☐ 5 - Não gostei/ nem desgostei
- ☐ 4 - Desgostei Ligeiramente
- ☐ 3 - Desgostei Regularmente
- ☐ 2 - Desgostei Muito
- ☐ 1 - Desgostei MUITÍSSIMO

⇒ Sabor

- ☐ 9 - Gostei MUITÍSSIMO
- ☐ 8 - Gostei Muito
- ☐ 7 - Gostei Regularmente
- ☐ 6 - Gostei Ligeiramente
- ☐ 5 - Não gostei/ nem desgostei
- ☐ 4 - Desgostei Ligeiramente
- ☐ 3 - Desgostei Regularmente
- ☐ 2 - Desgostei Muito
- ☐ 1 - Desgostei MUITÍSSIMO

⇒ De forma global o quanto você gostou ou desgostou do snack

- ☐ 9 - Gostei MUITÍSSIMO
- ☐ 8 - Gostei Muito
- ☐ 7 - Gostei Regularmente
- ☐ 6 - Gostei Ligeiramente
- ☐ 5 - Não gostei/ nem desgostei
- ☐ 4 - Desgostei Ligeiramente
- ☐ 3 - Desgostei Regularmente
- ☐ 2 - Desgostei Muito
- ☐ 1 - Desgostei MUITÍSSIMO

Comentários (opcional):

OBRIGADA!!!

ANEXO 4. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa – COEP/FSP
(protocolo 1960)

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – COEP/FSP

Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

OF.COEP/111/09

PROTOCOLO	1960
PROJETO DE PESQUISA	DESENVOLVIMENTO E ESTABILIDADE SENSORIAL DE PRODUTOS DE PANIFICAÇÃO E DE EXTRUSÃO DE ISENTOS DE GLÚTEN, RISCOS EM CÁLCIO E FIBRA PREBIÓTICA, PARA INTERVENÇÃO DE PACIENTES CELÍACOS
PESQUISADOR(A)	Vanessa Dias Capriles
ÁREA TEMÁTICA	Grupo III

São Paulo, 24 Abril de 2009.

Prezado(a) Pesquisador(a)

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo – COEP **analisou**, em sua 3.^ª/09 Sessão Ordinária, realizada em 17/04/2009, de acordo com a Resolução N.º 196/96 do Conselho Nacional de Saúde – CNS e suas complementares, o protocolo de pesquisa acima intitulado e o considera **APROVADO**.

Cabe lembrar que conforme Resolução CN/196/96, são deveres do (a) pesquisador (a):

1. Comunicar, de imediato, qualquer alteração no projeto e aguardar manifestação deste CEP (Comitê de Ética em Pesquisa), para dar continuidade à pesquisa;
2. Manter sob sua guarda e em local seguro, pelo prazo de 5 (cinco) anos, os dados da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP, no caso eventual auditoria;
3. Comunicar, formalmente a este Comitê, quando do encerramento deste projeto;
4. Elaborar e apresentar relatórios parciais e finais;
5. Justificar, perante o CEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Atenciosamente,

Claudio Leone
Professor Associado

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa - COEP

Ilm.º Sr.
Prof. Titular José Alfredo Gomes Areas
Departamento de Nutrição
Faculdade de Saúde Pública

ANEXO 5. Termo de consentimento livre e esclarecido entregue aos participantes da avaliação da resposta glicêmica dos produtos.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE SAÚDE PÚBLICA
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO
Laboratório de Bioquímica e Propriedades Funcionais dos Alimentos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da Pesquisa: Desenvolvimento e estabilidade sensorial de produtos de panificação e de extrusão isentos de glúten, ricos em cálcio e fibra prebiótica, para intervenção em pacientes celíacos.

Investigadores: Vanessa Dias Capriles, Prof. Dr. José Alfredo Gomes Arêas. Laboratório de Bioquímica e Propriedades Funcionais dos Alimentos, Departamento de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Av. Dr. Arnaldo, 715. CEP: 01246-904. São Paulo, S.P. tel: (11) 3061-7765

Objetivo desta pesquisa:

- 1) Desenvolver novos tipos de produtos a base de amaranto (cereal que não contém glúten), para celíacos (intolerantes ao glúten).
- 2) Avaliar a resposta glicêmica dos produtos desenvolvidos. A resposta glicêmica mede o aumento de glicose no sangue após o consumo de um alimento.

Participação na pesquisa: A participação neste estudo implica nos seguintes procedimentos:

- Realizar em três dias diferentes (uma vez por semana) um exame denominado curva glicêmica, para o qual o voluntário ficará 10-12 horas em jejum (jejum noturno) a partir do dia anterior;
- Serão oferecidos os seguintes produtos: Pão branco (2 dias) e Alimento teste (1 dia);
- Será coletada uma amostra de sangue capilar da polpa digital (obtido por uma picada em um dos dedos da mão, com material limpo e descartável) em jejum, e após a ingestão do produto serão colhidas alíquotas aos 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos;
- O voluntário deverá permanecer em repouso durante o período do exame (2 horas).

Solicitamos a sua colaboração em várias sessões, uma vez que este teste baseia-se na comparação dos resultados dos nossos produtos com os resultados obtidos para o pão branco. Para podermos realizar comparações você deverá participar de pelo menos três sessões (duas para avaliarmos a resposta glicêmica do pão branco e uma para um dos produtos a serem testados).

Caso você tenha interesse poderá participar de outras sessões com intervalo de uma semana a cada teste.

Durante a execução do projeto todos os materiais utilizados serão descartáveis. Esta pesquisa não envolve risco a integridade física do voluntário

Benefícios: Os resultados deste estudo poderão ser úteis para o benefício de pessoas diabéticas e celíacas.

Riscos: Os produtos a serem consumidos foram fabricados sobre rígidos controles de higiene e foram fabricados com ingredientes do consumo habitual. A pesquisadora estará presente durante todo o teste e irá te informar a respeito da composição das amostras, para evitar que você consuma algo que não goste ou te cause alergia.

As picadas no dedo podem causar desconforto para algumas pessoas. Caso você sinta desconforto poderá parar o teste a qualquer tempo. E se ocorrer algum desconforto maior (machucado) a pesquisadora Vanessa levará você até atendimento especializado e os gastos decorrentes serão arcados pela pesquisadora.

Compensações: Receberei um lanche como forma de agradecimento pela participação nesta fase do estudo. Após a conclusão desta fase experimental serei informado a respeito dos principais resultados obtidos (resultados individuais e as médias do grupo bem como a interpretação dos mesmos) e caso tenha interesse, também serei esclarecido a respeito dos cálculos.

Confiabilidade: Será garantindo total sigilo a respeito da participação nesta pesquisa. Serão divulgados apenas os resultados do grupo como um todo. Os resultados desta pesquisa serão divulgados em eventos e periódicos científicos.

Direito de recusa ou desistência: Poderei desistir de participar desta pesquisa a qualquer momento, sem que isso ocasione quaisquer prejuízos. A desistência não acarretará qualquer problema no relacionamento com os pesquisadores e órgãos envolvidos no projeto.

Questões: Vanessa Dias Capriles, pesquisadora responsável por este estudo, discutiu estas informações comigo, oferecendo-se para responder minhas dúvidas. Caso tenha perguntas adicionais poderei contatá-la pelo telefone 3061-7765 ou e-mail: vancapri@usp.br.

Após ler e receber explicações sobre a pesquisa, e ter meus direitos de:

1. Receber resposta a qualquer pergunta e esclarecimento sobre os procedimentos, riscos, benefícios e outros relacionados à pesquisa;
2. Retirar o consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo;
3. Não ser identificado e ser mantido o caráter confidencial das informações relacionadas à privacidade.
4. Procurar esclarecimentos com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, no telefone 11 3061-7779 ou Av. Dr. Arnaldo, 715 – Cerqueira César, São Paulo - SP, em caso de dúvidas ou notificação de acontecimentos não previstos.

Eu, _____, declaro estar ciente do exposto e desejo participar do projeto.

Assinatura dos pesquisadores responsáveis:

Vanessa Dias Capriles

Prof. Dr. José Alfredo Gomes Arêas

São Paulo, ____ de ____ de 2009

ANEXO 6. Informações técnicas sobre sorbitol e sucralose.

Para a substituição do açúcar na formulação das barras de amaranto, foi elaborado um xarope de ligação constituído por inulina e oligofrutose, xarope de sorbitol, colágeno hidrolisado, sucralose e lecitina, que conferiram textura e sabor aos produtos. A mistura de inulina e oligofrutose, o colágeno hidrolisado e o sorbitol foram utilizados como agentes de corpo. Como os frutanos e o sorbitol apresentam menor dulçor que a sacarose, é necessária a sua combinação com edulcorante de alta intensidade (Murphy, 2001; Zumbé et al., 2001). A sucralose foi utilizada porque apresenta características tecnológicas e sensoriais vantajosas em relação a outros edulcorante de alta intensidade, como a estabilidade durante o processamento térmico (Brandt e Jackson, 1990) e sabor similar ao da sacarose, sem nenhum sabor residual (Wiet e Beyts, 1992).

A sucralose, também conhecida como triclorogalactosacarose (TGS) é um composto derivado da sacarose por meio da substituição seletiva de três grupos hidroxila, nas posições 4', 1' e 6', por átomos de cloro, o que aumentou substancialmente o dulçor. Em solução, a sucralose é lentamente hidrolisada a unidades monossacarídicas (4-clorogalactose e 1,6-diclorofrutose), em condições extremas de temperatura e pH (Baunwart e Toledo 2005). O sorbitol é um álcool monossacarídico, encontrado em pequenas quantidades em diversos frutos e produzido comercialmente pela hidrogenação catalítica de sacarídeos em altas pressões e temperaturas. Tais reações promovem a substituição de aldeídos e cetona (grupo carbonila) por grupos hidroxila (Zumbé et al., 2001). O sorbitol confere 2,5 kcal/g ou 10 kJ/g (Livesey, 2003) e a sucralose não apresenta valor calórico.

As barras de amaranto apresentavam 16g de xarope de sorbitol/ 100g e 0,01g de sucralose/ 100g. Estes valores estão de acordo com a Resolução n. 18 de 24 de março de 2008 que institui o Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos (BRASIL, 2008). Por ser um edulcorante natural, o sorbitol pode ser utilizado em quantidade suficiente para obter o efeito tecnológico desejado. E a sucralose pode ser utilizada em níveis máximos de 0,033g/ 100g em alimentos com reduzido teor de açúcares.

Tanto a sucralose como o sorbitol são obtidos a partir da sacarose, e por isso se ligaram ao reagente para a quantificação de glicose nas determinações de amido total e na avaliação da cinética de hidrólise do amido *in vitro*. Apesar do valor de leitura ser baixo representando 5% do teor de glicose determinado, optou-se por descontar estes valores evitando-se quantificação e interpretações enviesadas, uma vez que estes compostos ocasionam baixa resposta glicêmica.

O sorbitol apresenta digestão lenta e incompleta, cerca de 25% da quantidade ingerida é absorvida e 75% é fermentada pelas bactérias colônicas, e menos de 2% excretado na urina. Parte do sorbitol absorvido é convertido em glicose, causando pouca alteração glicêmica e insulinêmica. O sorbitol apresenta índice glicêmico (IG) de 9 e índice insulinêmico (II) de 11 (referência glicose IG=100 e II=100). A parte não absorvida é fermentada pelas bactérias colônicas a ácidos graxos de cadeia curta e gases (Livesey, 2003). Já a sucralose não é metabolizada pelo organismo humano e por isso não afeta a glicemia e nem a insulinemia (Roberts et al., 2000; Grotz, 2003).

REFERÊNCIAS

1. Baunwart GCMC, Toledo MCF. Edulcorantes para uso em alimentos: Revisão. *Food Ingredients* 2005; 39: 60-65.
2. Brandt RL, Jackson G. Stability of sucralose in baked goods. *Food Tech.* 1990;44:62-66.
3. BRASIL. Portaria n. 29, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 20 mar. 1998.
4. BRASIL. Resolução n. 18, de 24 de março de 2008. Regulamento Técnico que autoriza o uso de aditivos edulcorantes em alimentos, com seus respectivos limites máximos. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 25 mar. 2008.
5. Grotz VL, Henry RR, McGill JB, Prince MJ, Shamooh H, Trout JR, Pi-Sunyer FX. Lack of effect of sucralose on glucose homeostasis in subjects with type 2 diabetes. *JADA*. 2003; 103: 1607-1612
6. Livesey G. Health potential of polyols as sugar replacers, with emphasis on low glycaemic properties. *Nutrition Research Reviews* 2003; 16: 163-191.
7. Murphy O. Non-polyol low-digestible carbohydrates: food applications and functional benefits. *British Journal of Nutrition*. 2001; 85(Suppl. 1): S47–S53.
8. Roberts A, Renwick AG, Sims J, Snodin DJ. Sucralose metabolism and pharmacokinetics in man. *Food Chem Toxicol.* 2000;38(Suppl 2):S31-S41
9. Wiet SG, Beyts PK. Sensory characteristics of sucralose and other high intensity sweeteners. *J Food Sci.* 1992;57:1014-1019.
10. Zumbé A, Lee A, Storey D. Polyols in confectionery: the route to sugar-free, reduced sugar and reduced calorie confectionery. *Br J Nutr.* 2001; 85(Suppl.1): S31-S45.

ANEXO 7. Ficha de avaliação da aceitabilidade das barras.**Análise de barra de cereais**

Nome: _____

Você está recebendo uma amostra codificada de barra de cereais. Por favor, avalie os atributos abaixo e marque (com um X) o quanto você gostou ou desgostou de cada um deles na correspondente escala.

Aparência

- ☐ 9 - Gostei MUITÍSSIMO
- ☐ 8 - Gostei Muito
- ☐ 7 - Gostei Regularmente
- ☐ 6 - Gostei Ligeiramente
- ☐ 5 - Não gostei/ nem desgostei
- ☐ 4 - Desgostei Ligeiramente
- ☐ 3 - Desgostei Regularmente
- ☐ 2 - Desgostei Muito
- ☐ 1 - Desgostei MUITÍSSIMO

Textura

- ☐ 9 - Gostei MUITÍSSIMO
- ☐ 8 - Gostei Muito
- ☐ 7 - Gostei Regularmente
- ☐ 6 - Gostei Ligeiramente
- ☐ 5 - Não gostei/ nem desgostei
- ☐ 4 - Desgostei Ligeiramente
- ☐ 3 - Desgostei Regularmente
- ☐ 2 - Desgostei Muito
- ☐ 1 - Desgostei MUITÍSSIMO

Sabor

- ☐ 9 - Gostei MUITÍSSIMO
- ☐ 8 - Gostei Muito
- ☐ 7 - Gostei Regularmente
- ☐ 6 - Gostei Ligeiramente
- ☐ 5 - Não gostei/ nem desgostei
- ☐ 4 - Desgostei Ligeiramente
- ☐ 3 - Desgostei Regularmente
- ☐ 2 - Desgostei Muito
- ☐ 1 - Desgostei MUITÍSSIMO

De forma global o quanto você gostou ou desgostou desta barra de cereais

- ☐ 9 - Gostei MUITÍSSIMO
- ☐ 8 - Gostei Muito
- ☐ 7 - Gostei Regularmente
- ☐ 6 - Gostei Ligeiramente
- ☐ 5 - Não gostei/ nem desgostei
- ☐ 4 - Desgostei Ligeiramente
- ☐ 3 - Desgostei Regularmente
- ☐ 2 - Desgostei Muito
- ☐ 1 - Desgostei MUITÍSSIMO

Você normalmente consumiria este produto? ☐ Sim ☐ Não

(Ou seja, se você comprasse esta barra de cereais ou se ela fosse servida em sua casa, você a consumiria: sim ou não?)

Comentários (opcional):

OBRIGADA!!!

ANEXO 8. Avaliação dos modelos de regressão ajustados as propriedades das barras de amaranço.

ACEITABILIDADE

• Aceitação da aparência

Tabela 1 – Coeficientes de regressão para a resposta aceitação da aparência.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	5,45	0,15		
b_2	6,25	0,15		
b_3	6,74	0,15		
b_{12}	-1,62	0,65	-2,48	0,048
b_{13}	-1,01	0,65	-1,54	0,173
b_{23}	2,89	0,65	4,43	0,004

Tabela 2 – Análise de variância para o ajuste do modelo quadrático a aceitação da aparência das barras.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	5	3,124	0,625	26,98	0,000
Resíduo	6	0,139	0,023		
Falta de ajuste	4	0,119	0,029	3,16	0,255
Erro puro	2	0,019	0,009		
Total corrigido	11				

$R=95,74\%$ $R(aj)=92,19\%$

Figura 1 – Resíduos deixados pelo modelo quadrático para a aceitação da aparência das barras avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas (a) e do gráfico de probabilidade normal (b).

- Aceitação da textura

Tabela 3 – Coeficientes de regressão para a resposta aceitação da textura.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	5,64	0,06		
b_2	5,84	0,06		
b_3	5,98	0,06		
b_{12}	-0,57	0,25	-2,25	0,065
b_{13}	-0,31	0,25	-1,21	0,272
b_{23}	2,54	0,25	9,99	0,000

Tabela 4 – Análise de variância para o ajuste do modelo quadrático para aceitação da textura das barras.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	5	0,746	0,149	42,66	0,000
Resíduo	6	0,021	0,003		
Falta de ajuste	4	0,015	0,004	1,41	0,456
Erro puro	2	0,005	0,003		
Total	11				

$R=97,26\%$ $R(aj)=94,98\%$

Figura 2 – Resíduos deixados pelo modelo quadrático para a aceitação da textura das barras avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas (a) e do gráfico de probabilidade normal (b).

• Aceitação global

Tabela 5 – Coeficientes de regressão para a resposta aceitação global.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	5,39	0,09		
b_2	6,06	0,09		
b_3	6,08	0,09		
b_{12}	2,30	0,46	5,04	0,004
b_{13}	0,40	0,46	0,87	0,424
b_{23}	2,94	0,46	6,46	0,001
b_{123}	-10,36	2,48	-4,18	0,009

Tabela 6 – Análise de variância para o ajuste do modelo cúbico para aceitação global das barras.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	6	1,269	0,211	24,10	0,002
Resíduo	5	0,044	0,009		
Falta de ajuste	3	0,025	0,008	0,88	0,572
Erro puro	2	0,019	0,009		
Total	11				

$R=96,66\%$ $R(aj)=92,65\%$

Figura 3 – Resíduos deixados pelo modelo cúbico para a aceitação global das barras avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas (a) e do gráfico de probabilidade normal (b)

PROPRIEDADES FÍSICAS

• Volume específico

Tabela 7 – Coeficientes de regressão para a resposta volume específico.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	5,47	0,16		
b_2	2,61	0,16		
b_3	0,99	0,16		

Tabela 8 – Análise de variância para o ajuste do modelo linear para o volume específico das barras.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	2	15,38	7,69	148,48	0,000
Resíduo	9	0,47	0,05		
Falta de ajuste	7	0,46	0,06	11,48	0,082
Erro puro	2	0,01	0,005		
Total	11				

$R=97,06\%$ $R(aj)=96,40\%$

Figura 4 – Resíduos deixados pelo modelo linear para o volume específico das barras avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas (a) e do gráfico de probabilidade normal (b).

• **Atividade de água**

Tabela 9 – Coeficientes de regressão para a resposta atividade de água.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	0,444	0,004		
b_2	0,450	0,004		
b_3	0,494	0,004		

Tabela 10 – Análise de variância para o ajuste do modelo linear para a atividade de água das barras.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	2	0,0022	0,00113	35,85	0,000
Resíduo	9	0,0003	0,00003		
Falta de ajuste	7	0,0002	0,00003	0,67	0,713
Erro puro	2	0,0001	0,00004		
Total	11	0,0025			

$R=88,85\%$ $R(aj)=86,37\%$

Figura 5 – Resíduos deixados pelo modelo linear para a atividade de água das barras avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas e do gráfico de probabilidade normal.

- Cor das barras: parâmetro a^*

Tabela 11 – Coeficientes de regressão para a resposta parâmetro a^* .

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	6,717	0,353		
b_2	4,443	0,353		
b_3	5,164	0,353		

Tabela 12 – Análise de variância para o ajuste do modelo linear para o parâmetro a^* das barras.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	2	4,049	2,024	8,58	0,008
Resíduo	9	2,123	0,236		
Falta de ajuste	7	1,745	0,249	1,32	0,496
Erro puro	2	0,378	0,189		
Total	11	6,1720			

$R=65,60\%$ $R(aj)=57,95\%$

Figura 5 – Resíduos deixados pelo modelo linear para a coordenada de cor a^* das barras avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas e do gráfico de probabilidade normal.

- Cor das barras: parâmetro b^*

Tabela 13 – Coeficientes de regressão para a resposta parâmetro b^* .

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	25,96	0,90		
b_2	20,60	0,90		
b_3	23,49	0,90		

Tabela 14 – Análise de variância para o ajuste do modelo linear para o parâmetro b^* das barras.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	2	21,643	10,821	7,00	0,015
Resíduo	9	13,920	1,547		
Falta de ajuste	7	12,295	1,756	2,16	0,352
Erro puro	2	1,625	0,812		
Total	11	35,563			

$R=60,80\%$ $R(aj)=52,16\%$

Figura 6 – Resíduos deixados pelo modelo linear para a coordenada de cor b^* das barras avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas e do gráfico de probabilidade normal.

ANEXO 9. Ficha de avaliação da aceitabilidade dos pães.**Análise de Pão de Forma**

Nome: _____

Você está recebendo uma amostra codificada de pão de forma. Por favor, confira o código da amostra e avalie os atributos abaixo e marque (com um X) o quanto você gostou ou desgostou de cada um deles na correspondente escala.

⇒ Aparência	⇒ Cor	Textura
☐ 9 - Gostei MUITÍSSIMO ☐ 8 - Gostei Muito ☐ 7 - Gostei Regularmente ☐ 6 - Gostei Ligeiramente ☐ 5 - Não gostei/ nem desgostei ☐ 4 - Desgostei Ligeiramente ☐ 3 - Desgostei Regularmente ☐ 2 - Desgostei Muito ☐ 1 - Desgostei MUITÍSSIMO	☐ 9 - Gostei MUITÍSSIMO ☐ 8 - Gostei Muito ☐ 7 - Gostei Regularmente ☐ 6 - Gostei Ligeiramente ☐ 5 - Não gostei/ nem desgostei ☐ 4 - Desgostei Ligeiramente ☐ 3 - Desgostei Regularmente ☐ 2 - Desgostei Muito ☐ 1 - Desgostei MUITÍSSIMO	☐ 9 - Gostei MUITÍSSIMO ☐ 8 - Gostei Muito ☐ 7 - Gostei Regularmente ☐ 6 - Gostei Ligeiramente ☐ 5 - Não gostei/ nem desgostei ☐ 4 - Desgostei Ligeiramente ☐ 3 - Desgostei Regularmente ☐ 2 - Desgostei Muito ☐ 1 - Desgostei MUITÍSSIMO
⇒ Sabor	⇒ De forma global o quanto você gostou ou desgostou deste pão de forma	Comentários (opcional):
☐ 9 - Gostei MUITÍSSIMO ☐ 8 - Gostei Muito ☐ 7 - Gostei Regularmente ☐ 6 - Gostei Ligeiramente ☐ 5 - Não gostei/ nem desgostei ☐ 4 - Desgostei Ligeiramente ☐ 3 - Desgostei Regularmente ☐ 2 - Desgostei Muito ☐ 1 - Desgostei MUITÍSSIMO	☐ 9 - Gostei MUITÍSSIMO ☐ 8 - Gostei Muito ☐ 7 - Gostei Regularmente ☐ 6 - Gostei Ligeiramente ☐ 5 - Não gostei/ nem desgostei ☐ 4 - Desgostei Ligeiramente ☐ 3 - Desgostei Regularmente ☐ 2 - Desgostei Muito ☐ 1 - Desgostei MUITÍSSIMO	

OBRIGADA!!!

ANEXO 10. Avaliação dos modelos de regressão ajustados as propriedades dos pães sem glúten.

• Carga glicêmica estimada

Tabela 1 – Coeficientes de regressão para a resposta carga glicêmica estimada.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	8,06	0,12		
b_2	9,71	0,12		
b_3	6,55	0,12		

Tabela 2 – Análise de variância para o ajuste do modelo linear a estimativa da carga glicêmica dos pães.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	2	7,484	3,742	141,77	0,000
Resíduo	9	0,238	0,026		
Falta de ajuste	7	0,234	0,033	18,33	0,053
Erro puro	2	0,004	0,002		
Total corrigido	11	7,721			

$R=96,92\%$ $R(aj)=96,24\%$

Figura 1 – Resíduos deixados pelo modelo linear para o parâmetro estimativa da carga glicêmica dos pães avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas e do gráfico de probabilidade normal.

PROPRIEDADES FÍSICAS

• Volume específico

Tabela 3 – Coeficientes de regressão para a resposta volume específico.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	2,71	0,02		
b_2	2,29	0,02		
b_3	1,92	0,02		
b_{12}	-0,52	0,11	-4,58	0,006
b_{13}	-0,18	0,11	-1,63	0,164
b_{23}	0,26	0,11	2,29	0,070
b_{123}	2,22	0,61	3,62	0,015

Tabela 4 – Análise de variância para o ajuste do modelo cúbico para o volume específico dos pães.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	6	0,397	0,066	123,56	0,00
Resíduo	5	0,003	0,0005		
Falta de ajuste	3	0,002	0,0008	8,27	0,11
Erro puro	2	0,0002	0,0001		
Total	11	0,4002			

$R=99,33\%$ $R(aj)=98,53\%$

Figura 2 – Resíduos deixados pelo modelo cúbico para o volume específico dos pães avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas e do gráfico de probabilidade normal.

- **Firmeza do miolo**

Tabela 5 – Coeficientes de regressão para a resposta firmeza.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	8,94	0,05		
b_2	5,09	0,05		
b_3	3,62	0,05		
b_{12}	1,07	0,22	4,90	0,003
b_{13}	-1,16	0,22	-5,29	0,002
b_{23}	-1,37	0,22	-6,29	0,001

Tabela 6 – Análise de variância para o ajuste do modelo quadrático a firmeza dos pães.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	5	24,854	4,9708	1920,98	0,00
Resíduo	6	0,0150	0,0026		
Falta de ajuste	4	0,0129	0,0032	2,49	0,307
Erro puro	2	0,0026	0,0013		
Total corrigido	11	24,869			

$R=99,94\%$ $R(aj)=99,89\%$

Figura 3 – Resíduos deixados pelo modelo quadrático para a firmeza do miolo dos pães avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas e do gráfico de probabilidade normal.

• **Cor da crosta dos pães: parâmetro a^***

Tabela 7 – Coeficientes de regressão para a resposta a^* da crosta dos pães.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	0,7	1,82		
b_2	0,7	1,82		
b_3	8,7	1,82		
b_{12}	43,1	9,15	4,71	0,005
b_{13}	27,5	9,15	3,01	0,030
b_{23}	28,6	9,15	3,13	0,026
b_{123}	-134,5	49,79	-2,70	0,043

Tabela 8 – Análise de variância para o ajuste do modelo cúbico para a^* da crosta dos pães.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	6	160,53	26,75	7,55	0,02
Resíduo	5	17,71	3,54		
Falta de ajuste	3	7,65	2,55	0,51	0,716
Erro puro	2	10,06	5,03		
Total	11	178,24			

$R=90,06\%$ $R(aj)=78,14\%$

Figura 4 – Resíduos deixados pelo modelo cúbico para a coordenada a^* da crosta dos pães avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas e do gráfico de probabilidade normal.

• **Cor da crosta dos pães: parâmetro C***

Tabela 9 – Coeficientes de regressão para a resposta cor da crosta.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	27,64	2,23		
b_2	19,58	2,23		
b_3	21,39	2,23		
b_{12}	48,00	9,99	4,81	0,003
b_{13}	-11,45	9,99	-1,15	0,296
b_{23}	-9,58	9,99	-0,96	0,375

Tabela 10 – Análise de variância para o ajuste do modelo quadrático a cor da crosta dos pães.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	5	253,79	50,758	9,37	0,008
Resíduo	6	32,49	5,415		
Falta de ajuste	4	29,50	7,375	4,93	0,176
Erro puro	2	2,99	1,495		
Total corrigido	11	286,28			

$R=88,65\%$ $R(aj)=79,19\%$

Figura 5 – Resíduos deixados pelo modelo quadrático para o croma da crosta dos pães avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas e do gráfico de probabilidade normal.

• **Cor da crosta dos pães: parâmetro h^***

Tabela 11 – Coeficientes de regressão para a resposta ângulo de tom da crosta dos pães.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	83,12	5,01		
b_2	87,80	5,01		
b_3	63,45	5,01		
b_{12}	-52,95	25,22	-2,10	0,09
b_{13}	-58,26	25,22	-2,31	0,07
b_{23}	-98,57	25,22	-3,91	0,01
b_{123}	333,69	137,17	2,43	0,05

Tabela 12 – Análise de variância para o ajuste do modelo cúbico para o ângulo de tom da crosta dos pães.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	6	1156,38	192,73	7,17	0,024
Resíduo	5	134,43	26,89		
Falta de ajuste	3	65,50	21,83	0,63	0,660
Erro puro	2	68,93	34,46		
Total	11				

$R=89,59\%$ $R(aj)=77,09\%$

Figura 6 – Resíduos deixados pelo modelo cúbico para o ângulo de tom da crosta dos pães avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas e do gráfico de probabilidade normal.

• **Cor do miolo dos pães: parâmetro L^***

Tabela 13 – Coeficientes de regressão para a resposta luminosidade do miolo.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	79,40	1,59		
b_2	77,84	1,59		
b_3	58,93	1,59		
b_{12}	-0,17	7,10	-0,02	0,981
b_{13}	-12,95	7,10	-1,82	0,118
b_{23}	-24,91	7,10	-3,51	0,013

Tabela 14 – Análise de variância para o ajuste do modelo quadrático a luminosidade do miolo dos pães.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	5	526,06	105,21	38,44	0,000
Resíduo	6	16,42	2,74		
Falta de ajuste	4	13,63	3,41	2,44	0,311
Erro puro	2	2,79	1,40		
Total corrigido	11	542,48			

$R=96,97\%$ $R(aj)=94,45\%$

Figura 7 – Resíduos deixados pelo modelo quadrático para a luminosidade do miolo dos pães avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas e do gráfico de probabilidade normal.

• **Cor do miolo dos pães: parâmetro a^***

Tabela 15 – Coeficientes de regressão para a resposta a^* do miolo.

	Coeficientes de regressão	Erro padrão	t	p - valor
b_1	0,13	0,20		
b_2	0,30	0,20		
b_3	5,70	0,20		
b_{12}	0,32	0,92	0,34	0,743
b_{13}	5,36	0,92	5,83	0,001
b_{23}	5,69	0,92	6,20	0,001

Tabela 16 – Análise de variância para o ajuste do modelo quadrático ao parâmetro a^* do miolo dos pães.

Fonte de variação	Graus de liberdade	Soma Quadrática	Média Quadrática	F calculado	p-valor
Regressão	5	40,41	8,08	176,34	0,000
Resíduo	6	0,27	0,04		
Falta de ajuste	4	0,23	0,06	2,90	0,273
Erro puro	2	0,04	0,02		
Total corrigido	11	40,69			

$R=99,32\%$ $R(aj)=98,76\%$

Figura 8 – Resíduos deixados pelo modelo quadrático para o parâmetro a^* do miolo dos pães avaliados através do gráfico de resíduos contra as respostas ajustadas (a) e do gráfico de probabilidade normal (b).

CURRÍCULO LATTES

Vanessa Dias Capriles

Possui graduação em Nutrição pela Universidade de São Paulo (2004). Está terminando o doutorado em Ciências pela Universidade de São Paulo. Experiência nas áreas de Ciência e Tecnologia de Alimentos e de Nutrição, atuando principalmente nos seguintes temas: desenvolvimento de novos alimentos, modelagem de mistura, avaliação das características nutricionais, físico-químicas e sensoriais de alimentos, estudo de compostos bioativos para uso em alimentos, desenvolvimento de alimentos funcionais, e aproveitamento de carboidratos alimentares.

(Texto informado pelo autor)

Última atualização do currículo em 27/11/2009

Endereço para acessar este CV:

<http://lattes.cnpq.br/2781360640415360>

**Certificado
pelo autor em
27/11/09**

Dados pessoais

Nome	Vanessa Dias Capriles
Nome em citações bibliográficas	CAPRILES, V. D.; Capriles, V.D.; Capriles, Vanessa Dias; Capriles, Vanessa D.
Sexo	Feminino
Endereço profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública. Av. Dr. Arnaldo 715 - Departamento de Nutrição, 2 andar, Laboratório de Bioquímica e Propriedades Funcionais dos Alimentos Cerqueira César 01246-904 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617765 Fax: (11) 30617701 URL da Homepage: http://www.nutricao.fsp.usp.br/funcionais

José Alfredo Gomes Arêas

Bolsista de Produtividade em Pesquisa do CNPq - Nível 1C

Graduação em Farmácia e Bioquímica pela Universidade de São Paulo (1973), Mestrado em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo (1979), Doutorado em Food Science, University of Nottingham, Inglaterra (1983). Pós-doutorado junto ao Biomembrane Unit, Dep. of Biochemistry, University of Oxford, Inglaterra (1990-1993). Vice-Presidente da SBCTA (2004-2005). Atualmente é Professor Titular da Universidade de São Paulo junto ao Dep. de Nutrição da Faculdade de Saúde Pública, Coordenador da área de Alimentos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) de 2001 a 2008. Tem experiência na área de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Nutrição e Saúde Pública, com ênfase em Alimentos e Saúde, Propriedades Funcionais de Alimentos e Alimentos Funcionais, atuando principalmente nos seguintes temas: alimentos funcionais, alimentos não convencionais, alimentos especiais, intervenções nutricionais, processamento de alimentos e valor nutritivo, ressonância magnética nuclear aplicada a alimentos, extrusão.

(Texto informado pelo autor)

Última atualização do currículo em 23/11/2009

Endereço para acessar este CV:

<http://lattes.cnpq.br/5885518243056121>

**Certificado
pelo autor em
23/11/09**

Dados pessoais

Nome	José Alfredo Gomes Arêas
Nome em citações bibliográficas	ARÊAS, J. A. G.
Sexo	Masculino
Endereço profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição. Av. Dr. Arnaldo, 715 Cerqueira César 01246-904 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617858 Fax: (11) 30617705 URL da Homepage: http://www.nutricao.fsp.usp.br/funcionais

*"Toda história tem um final,
e na vida, cada final é apenas um novo começo."*