



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA – UESB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
CIÊNCIA DE ALIMENTOS



Área de Concentração: Ciência de Alimentos

ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO USO DE EMULSIFICANTES NAS
PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS, TÉRMICAS E
ESPECTROSCÓPICAS NA MANUTENÇÃO DE FRESCOR DE
PÃES

Autor (a): Eliza Caldas Soares Azevedo

Orientador: Prof. DSc. Leandro Soares Santos

ITAPETINGA - BA

2025

ELIZA CALDAS SOARES AZEVEDO

**ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO USO DE EMULSIFICANTES NAS
PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS, TÉRMICAS E
ESPECTROSCÓPICAS NA MANUTENÇÃO DE FRESCOR DE
PÃES**

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia.

Orientador: Prof. DSc. Leandro Soares Santos.

Coorientadoras: Profa. DSc. Renata Cristina Ferreira Bonomo.

Profa. DSc. Daniela Oliveira dos Santos.

ITAPETINGA - BA

2025

664.7523 Azevedo, Eliza Caldas Soares.
A986e Estudo da influência do uso de emulsificantes nas Propriedades químicas, físicas, térmicas e Espectroscópicas na manutenção de frescor de Pães. / Eliza Caldas Soares Azevedo. – Itapetinga-BA: UESB, 2025.

127f.

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de Doutora em Engenharia e Ciência de Alimentos, no Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Sob a orientação do Prof. D. Sc. Leandro Soares Santos e coorientação da Prof.^a D. Sc. Renata Cristina Ferreira Bonomo e Prof.^a D. Sc. Daniela Oliveira dos Santos.

1. Pão – Emulsificantes - Propriedades. 2. Pão – Análise químico-física. 3. Pão – Parâmetros - Envelhecimento. I. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - Programa de Pós-Graduação de Doutorado em Engenharia e Ciências de Alimentos, *Campus* de Itapetinga. II. Soares, Leandro Soares. III. Bonomo, Renata Cristina Ferreira. III. Santos, Daniela Oliveira dos. IV. Título.

CDD (21): 664.7523

Catálogo na Fonte:

Adalice Gustavo da Silva – CRB 535-5ª Região
Bibliotecária – UESB – Campus de Itapetinga-BA

Índice Sistemático para desdobramentos por Assunto:

1. Pão – Envelhecimento – Monitoramento e quimiometria

DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO

Título: “ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO USO DE EMULSIFICANTES NAS PROPRIEDADES QUÍMICAS, FÍSICAS, TÉRMICAS E ESPECTROSCÓPICAS NA MANUTENÇÃO DE FRESCOR DE PÃES.”

Autor (a): ELIZA CALDAS SOARES AZEVEDO

Orientador (a): Prof. Dr. Leandro Soares Santos

Co-Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Renata Cristina Ferreira Bonomo

Prof.^a Dr.^a Daniela Oliveira dos Santos

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de **DOUTORA EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: CIÊNCIA DE ALIMENTOS**, pela Banca Examinadora.



Prof.^a Dr.^a Ana Paula da Fonseca Machado
(UESB)



Prof.^a Dr.^a Renata Cristina Ferreira Bonomo
(UESB)



Dr.^a Márcorie Castro Pinto Porfírio
(UESB)



Prof.^a Dr.^a Rosana Moura Oliveira
(IFBAIANO)



Prof. Dr. Leandro Soares Santos
Orientador - UESB
Presidente da Banca

*À Malu,
A Samuel,
Dedico!*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder saúde e força, guiando meus passos mesmo nos momentos mais desafiadores.

Ao meu esposo, Saulo, por todo amor, apoio, compreensão e incentivo constante, fundamentais desde o início dessa caminhada. Amo você!

Aos meus filhos, Malu e Samuel, minha maior motivação, pela paciência e compreensão diante das minhas ausências. Vocês dão sentido a cada conquista.

Aos meus pais, Geraldo e Dilce, por todo amor e apoio incondicional ao longo da minha formação pessoal e profissional. Nada seria possível sem vocês.

Aos meus sogros, Carlinhos e Luga, pelo carinho, disponibilidade e apoio ao longo dessa caminhada.

À Luiza, pelo cuidado e dedicação com meus filhos e com meu lar. Seu apoio foi essencial para que este trabalho se tornasse possível.

A toda minha família e amigos, que me acompanharam nessa jornada, torceram por mim e acreditaram no meu sucesso.

Ao meu amigo e orientador, Leandro, pelas orientações, confiança, paciência, acolhimento à minha família e pelos valiosos conhecimentos compartilhados. Foi uma honra retornar à UESB como sua orientada.

À professora e amiga Daniela, pelo apoio ao meu projeto, pelas contribuições científicas e pelo incentivo.

Aos amigos do LIAA, pela convivência, apoio, parceria e colaboração, pelas trocas de experiência, pelos momentos de aprendizado e também de descontração e acolhimento. Vocês tornaram essa jornada mais leve.

Aos colegas do programa, pela convivência e pelas trocas de experiência ao longo do curso.

À Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, ao Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciências de Alimentos e aos seus professores, pela oportunidade de crescimento acadêmico e formação científica.

Ao IFBaiano – campus Uruçuca, pelo incentivo à qualificação e compreensão durante o período de realização deste doutorado.

Aos amigos Jacke, Osmar e Felipe, por nos acolherem com tanto carinho e generosidade, tornando-se uma verdadeira família para mim e para minha família.

Às amigas que ultrapassaram os portões da UESB, Jéssica, Ana Priscila e Thinara, por todos momentos que passamos juntas.

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

Muito obrigada!

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE FIGURAS.....	12
LISTA DE ABREVIACÕES	14
RESUMO.....	15
ABSTRACT	17
CAPÍTULO I: Referencial Teórico	19
1 INTRODUÇÃO GERAL	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	22
2.1 Pão	22
2.2 Processamento do pão de forma	22
2.3 Envelhecimento de pães.....	25
2.4 Principais fatores envolvidos na perda de frescor do pão de forma	27
2.4.1 Retrogradação do amido	27
2.4.2 Redistribuição da água.....	29
2.4.3 Modificações estruturais das proteínas do glúten.....	31
2.4.4 Temperatura de transição vítrea - T_g	32
2.5 Agentes antienvelhecimento do pão.....	35
2.5.1 Emulsificantes.....	35
2.6 Técnicas para determinação/monitoramento da perda de frescor de pães.....	41
2.6.1 Análise de Umidade e Atividade de água	41
2.6.2 Análise de Textura.....	43
2.6.3 Análise térmica - Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	45
2.6.4 Análise espectroscópica vibracional.....	47
REFERÊNCIAS	51
CAPÍTULO II: Objetivos	61
1 OBJETIVOS	62
1.1 Objetivo geral	62
1.2 Objetivos específicos	62
CAPÍTULO III: Artigo 1 - Ação de emulsificantes na modulação do envelhecimento e preservação do frescor do pão de forma durante o armazenamento.....	63
RESUMO.....	64
1 Introdução.....	64
2 Materiais e métodos.....	66

2.1	Produção dos pães.....	66
2.2	Armazenamento dos pães	67
2.3	Preparo das amostras	68
2.4	Volume específico	68
2.5	Teor de umidade	68
2.6	Atividade de água – A_w	68
2.7	Análise de perfil de textura – TPA	68
2.8	Análise térmica (calorimetria diferencial de varredura – DSC)	69
2.9	Análise estatística	69
3	Resultados e discussões	70
3.1	Volume específico	70
3.2	Teor de umidade e atividade de água (A_w)	72
3.3	Análise do Perfil de Textura – TPA.....	76
3.4	Análise térmica	79
3.5	Análise de Componentes Principais - ACP	83
3.6	Análise de Agrupamento – HCA	85
4	Conclusões.....	89
	REFERÊNCIA.....	90
	CAPÍTULO IV: Artigo 2 – Predição do frescor em pães de forma por espectroscopia no infravermelho: uma abordagem quimiométrica para monitoramento durante o armazenamento.....	97
	RESUMO.....	98
1	Introdução.....	98
2	Materiais e métodos.....	100
2.1	Materiais utilizados.....	100
2.2	Produção dos pães.....	100
2.3	Análises de referência	102
2.3.1	Volume específico	102
2.3.2	Teor de umidade	102
2.3.3	Atividade de água (A_w).....	102
2.3.4	Perfil de textura (TPA)	102
2.3.5	Temperatura de transição vítrea - T_g	102
2.4	Análises espectroscópicas	103
2.4.1	Espectroscopia de infravermelho próximo – NIR	103

2.4.2	Espectroscopia de infravermelho médio – MIR	103
2.5	Análise multivariadas	104
2.5.1	Análise de componentes principais – ACP	104
2.5.2	Análise de agrupamento hierárquico – HCA.....	104
2.5.3	Regressão de mínimos quadrados parciais – PLS	105
3	Resultado e discussão	106
3.1	Parâmetros de referência do envelhecimento de pães.....	106
3.2	Análise espectral de infravermelho.....	107
3.3	Análise de Componentes Principais - ACP	109
3.4	Análise de agrupamento hierárquico – HCA.....	111
3.5	Regressão de mínimos quadrados parciais – PLS.....	114
4	Conclusões.....	120
	REFERÊNCIAS	122
	CAPÍTULO V: Considerações Finais.....	125
	Considerações Finais	126

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Funções dos emulsificantes nas etapas de panificação	37
Tabela 2. Classificação, estruturas químicas simplificadas e principais ações dos emulsificantes utilizados em panificação.	40

CAPÍTULO III

Tabela 1. Formulação de pães de forma	68
Tabela 2. Parâmetros térmicos obtidos por DSC para os pães de forma com diferentes emulsificantes ao longo do armazenamento.....	82
Tabela 3. Médias das variáveis físico-mecânicas (volume específico, teor de umidade, atividade de água, dureza e elasticidade) correspondentes aos grupos formados pela análise de agrupamento hierárquico das amostras de pães com e sem emulsificantes.....	87
Tabela 4. Médias das variáveis térmicas (T_g , ΔH_2 e FW) correspondentes aos grupos formados pela análise de agrupamento hierárquico das amostras de pães com e sem emulsificantes.....	89

CAPÍTULO IV

Tabela 1. Dados médios de volume específico, teor de umidade, A_w , dureza, elasticidade e T_g de pães de forma em diferentes dias de armazenamento.....	107
Tabela 2. Médias dos picos NIR (absorbância) para os agrupamentos formados através da análise de agrupamento hierárquico.....	113
Tabela 3. Médias dos picos MIR (absorbância) para os agrupamentos formados através da análise de agrupamento hierárquico.....	115
Tabela 4. Figuras de métricas de calibração e validação dos modelos multivariados construídos com espectros NIR e MIR para predição dos parâmetros indicadores de envelhecimento de pão utilizando o algoritmo iSPA-PLS.....	117

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Principais etapas para produção de pão de forma.....	26
Figura 2. Representação esquemática do grânulo de amido.....	28
Figura 3. Alterações da amilose e amilopectina durante o processamento, armazenamento e envelhecimento do pão.	30
Figura 4. Esquema do desenvolvimento da rede de glúten.....	32
Figura 5. Modelo do complexo emulsificante-amilose	39
Figura 6. Curva típica de perfil de textura	44
Figura 7. Principais eventos térmicos associados ao amido detectados por DSC.....	47

CAPÍTULO III

Figura 1. Volume específico médio dos pães elaborados com diferentes emulsificante (SSL, CSL, DMG, DATEM) e controle (CTR).	72
Figura 2. Efeito do tempo de armazenamento e curvas de regressão ajustadas ao teor de umidade (%) dos pães controle (CTR), e com os emulsificantes SSL, CSL, DMG e DATEM.....	74
Figura 3. Efeito do tempo de armazenamento e curvas de regressão ajustadas a atividade de água (A_w) dos pães controle (CTR), e com os emulsificantes SSL, CSL, DMG e DATEM.....	76
Figura 4. Evolução da dureza (A) e elasticidade (B) dos pães controle (CTR) e dos pães controle (CTR), e com os emulsificantes SSL, CSL, DMG e DATEM.	78
Figura 5. Termograma DSC representativo do pão controle no 10º dia de armazenamento.	80
Figura 6. Análise de componentes principais (ACP) obtida a partir das variáveis de qualidade dos pães (teor de umidade, atividade de água, volume específico, dureza e elasticidade) durante 30 dias de armazenamento.....	85
Figura 7. Dendogramas das amostras de pães controle e com os diferentes emulsificantes ao longo do tempo de armazenamento, obtido a partir dos parâmetros de umidade, atividade de água, volume específico, dureza e elasticidade.....	87

CAPÍTULO IV

Figura 1. Formulação (A) e fluxograma do processamento (B) dos pães de forma produzidos no estudo.....	102
Figura 2. Espectros das amostras de pães forma, nos diferentes tempos de armazenamento. Espectro NIR (A) e espectro MIR (B).....	108
Figura 3. Diagrama de dispersão dos componentes principais 1 e 2 das amostras de pão nos diferentes tempos de armazenamento, utilizando as principais bandas espectrais do NIR (A) e MIR (B).....	111
Figura 4. Dendrogramas das amostras de pães de forma nos picos espectrais selecionados do NIR (A) e MIR (B).....	112
Figura 5. Gráficos de dispersão entre os valores de referência (●) e os valores preditos (●), obtidos pelos modelos baseados nos espectros NIR para diferentes variáveis de qualidade do pão: (A) umidade, (B) dureza, (C) atividade de água (A_w), (D) volume específico e (E) elasticidade.....	119
Figura 6. Gráficos de dispersão entre os valores de referência (●) e os valores preditos (●), obtidos pelos modelos baseados nos espectros MIR para diferentes variáveis de qualidade do pão: (A) umidade, (B) dureza, (C) atividade de água (A_w), (D) volume específico e (E) elasticidade.....	120

LISTA DE ABREVIACÕES

SSL – estearoil-lactilato de sódio

CSL – estearoil-lactilato de cálcio

DMG – monoglicerídeo destilado

DATM – ésteres de ácido diacetil tartárico e mono e diglicerídeos e carbonato de cálcio

RDC – resolução da diretoria colegiada

INS – sistema internacional de numeração

DSC – calorimetria exploratória diferencial

T_g – transição vítrea

ΔH – variação de entalpia

T_p – temperatura de pico

TPA – análise de perfil de textura

ACP – análise de componentes principais

CP – componente principal

HCA – análise de agrupamento hierárquico

FTIR – espectroscopia no infravermelho médio com transformada de Fourier

FTIR-ATR – espectroscopia no infravermelho médio com transformada de Fourier e reflectância total atenuada

MIR – espectroscopia no infravermelho médio

NIR – espectroscopia no infravermelho próximo

PLS – regressão por mínimos quadrados parciais

iSPA-PLS – seleção de Intervalos com Base na Capacidade Preditiva - Mínimos Quadrados Parciais

R – coeficiente de correlação

RER – erro quadrático médio

RMSE – raiz quadrada do erro médio

RPD – relação entre desempenho e desvio

AZEVEDO, E. C. S. **Estudo da influência do uso de emulsificantes nas propriedades químicas, físicas, térmicas e espectroscópicas na manutenção de frescor de pães.** Itapetinga – BA: UESB, 2025. 92 p. (Tese – Doutorado em Engenharia e Ciências de Alimentos). *

RESUMO

O envelhecimento do pão inicia-se logo após o assamento e se intensifica durante o armazenamento, provocando perda de frescor e redução da aceitabilidade. Esse processo está relacionado principalmente com a retrogradação do amido, à redistribuição da umidade, às alterações estruturais no glúten, além das interações entre lipídios, enzimas, aditivos e outros componentes da matriz do pão. Diante disso, torna-se essencial desenvolver estratégias tecnológicas com ingredientes antienvelhecimento, bem como de métodos eficazes de monitoramento baseado em modelos preditivos dos parâmetros indicadores de envelhecimento. Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo investigar a ação dos emulsificantes estearoil lactilato de sódio (SSL), estearoil lactilato de cálcio (CSL), monoglicerídeo destilado (DMG) e ésteres de ácido diacetil tartárico e mono e diglicerídeos (DATEM) na manutenção do frescor de pães de forma durante 30 dias de armazenamento, bem como desenvolver modelos espectroscópicos de calibração para a predição da perda frescor. Para isso, foram realizadas análises térmicas, de volume específico, teor de umidade, atividade de água (A_w), dureza, elasticidade, e espectroscópica nas regiões do infravermelho próximo (NIR) e médio (MIR), associadas a análises de variância (ANOVA) e análises multivariadas. Os resultados demonstraram que os emulsificantes DATEM e DMG apresentaram maior influência na preservação das propriedades relacionadas ao frescor, promovendo maior retenção de umidade, maior volume específico e retardando significativamente o aumento da dureza ao longo do armazenamento, enquanto o SSL e o CSL apresentaram efeito mais limitado, principalmente nas etapas iniciais do processo. Do ponto de vista térmico, a T_g do miolo apresentou tendência de redução ao longo do tempo, variando de $-7,3 \pm 1,4$ °C (dia 0) para $-9,5 \pm 1,5$ °C (dia 10) e atingindo $-10,1 \pm 1,0$ °C (dia 30), sugerindo influência do efeito combinado do teor/estado da água e de constituintes com caráter plastificante na matriz. A análise de agrupamento hierárquico (HCA) evidenciou a formação de três grupos distintos de amostras ao longo do tempo de armazenamento, correspondentes a diferentes estágios de envelhecimento. Os dados espectrais, correlacionados com os parâmetros indicadores de envelhecimento por meio da técnica de regressão por mínimos quadrados parciais com intervalo e algoritmo de projeções sucessivas (iSPA-PLS), resultaram em modelos preditivos com desempenho satisfatório para as variáveis avaliadas. A seleção de intervalos espectrais relevantes possibilitou reduzir o número de variáveis, originando modelos mais simples, robustos e interpretáveis, cujas regiões espectrais estavam majoritariamente associadas a grupos funcionais da água, do amido e das proteínas, demonstrando a eficácia da abordagem na identificação de marcadores espectrais do envelhecimento do pão. Em síntese, os resultados confirmam que o envelhecimento do pão é um processo multifatorial, envolvendo interações entre amido,

glúten e água, e é influenciado pelos emulsificantes. A integração de análises térmicas, físico-químicas, mecânicas, espectroscópicas (NIR e MIR) e quimiométricas permitiu descrever e modelar o processo de envelhecimento de forma abrangente, evidenciando o potencial dessas abordagens como ferramentas eficientes para o monitoramento da estabilidade e vida útil dos pães de forma.

PALAVRAS CHAVE: envelhecimento; agente antienvelhecimento; monitoramento e quimiometria

*Orientador: DSc. UESB Leandro Soares Santos; Co-orientadores: DSc. UESB Renata Cristina Ferreira Bonomo; DSc. UESB Daniela Oliveira dos Santos.

AZEVEDO, E. C. S **Study of the influence of emulsifier use on the chemical, physical, thermal, and spectroscopic properties in maintaining the freshness of bread.** Itapetinga – BA: UESB, 2025. 92 p. (Thesis – Doctorate in Engineering and Food Science). *

ABSTRACT

Bread aging begins shortly after baking and intensifies during storage, leading to loss of freshness and reduced acceptability. This process is mainly related to starch retrogradation, moisture redistribution, structural changes in gluten, and interactions between lipids, enzymes, additives, and other components of the bread matrix. Therefore, it is essential to develop technological strategies with anti-aging ingredients, as well as effective monitoring methods based on predictive models of aging indicator parameters. Thus, this study aimed to investigate the action of the emulsifiers sodium stearyl lactylate (SSL), calcium stearyl lactylate (CSL), distilled monoglyceride (DMG), and diacetyl tartaric acid esters of mono- and diglycerides (DATEM) in maintaining the freshness of sliced bread during 30 days of storage, as well as to develop spectroscopic calibration models for predicting freshness loss. To this end, thermal, specific volume, moisture content, water activity (A_w), hardness, elasticity, and spectroscopic analyses in the near-infrared (NIR) and mid-infrared (MIR) regions were performed, associated with analysis of variance (ANOVA) and multivariate analyses. The results demonstrated that the emulsifiers DATEM and DMG had a greater influence on preserving properties related to freshness, promoting greater moisture retention, greater specific volume, and significantly delaying the increase in hardness during storage, while SSL and CSL had a more limited effect, mainly in the initial stages of the process. From a thermal point of view, the T_g of the crumb showed a tendency to decrease over time, varying from -7.3 ± 1.4 °C (day 0) to -9.5 ± 1.5 °C (day 10) and reaching -10.1 ± 1.0 °C (day 30), suggesting the influence of the combined effect of water content/state and constituents with plasticizing character in the matrix. Hierarchical cluster analysis (HCA) revealed the formation of three distinct groups of samples over the storage period, corresponding to different stages of aging. Spectral data, correlated with aging indicator parameters using interval partial least squares regression and successive projections algorithm (iSPA-PLS), resulted in predictive models with satisfactory performance for the evaluated variables. The selection of relevant spectral intervals made it possible to reduce the number of variables, resulting in simpler, more robust, and interpretable models, whose spectral regions were mainly associated with functional groups of water, starch, and proteins, demonstrating the effectiveness of the approach in identifying spectral markers of bread aging. In summary, the results confirm that bread aging is a multifactorial process, involving interactions between starch, gluten, and water, and is influenced by emulsifiers. The integration of thermal, physicochemical, mechanical, spectroscopic (NIR and MIR), and chemometric analyses allowed for a comprehensive description and modeling of the aging process, highlighting the potential of these approaches as efficient tools for monitoring the stability and shelf life of sliced bread.

KEYWORDS: aging; anti-aging agent; monitoring and chemometrics

*Advisor: DSc. UESB Leandro Soares Santos; Co-advisors: DSc. UESB Renata Cristina Ferreira Bonomo; DSc. UESB Daniela Oliveira dos Santos.

CAPÍTULO I: Referencial Teórico

1 INTRODUÇÃO GERAL

O pão, em suas diversas formas, é um dos alimentos mais consumidos no mundo, tradicionalmente produzido a partir da farinha de trigo, embora outras fontes, como cereais, leguminosas e hortaliças, também possam ser utilizadas (Cauvain & Young, 2009). Além de sua ampla aceitação, constitui importante fonte de carboidratos, gorduras, proteínas e vitaminas, sendo responsável por cerca de 30% da ingestão nutricional humana (Rudnev et al., 2021).

Sua produção envolve etapas como mistura, fermentação, moldagem, forneamento e armazenamento, durante as quais ocorrem transformações físicas e químicas que definem sua qualidade (Hadiyanto et al., 2007). Contudo, logo após o forneamento, inicia-se o processo de envelhecimento, caracterizado por retrogradação do amido, redistribuição de umidade e alterações nas interações entre glúten, lipídios e aditivos (Taglieri et al., 2021). Esses fenômenos promovem alterações físico-químicas, como a redistribuição e a perda de umidade, e sensoriais, como a redução da maciez, levando à diminuição do frescor, da aceitabilidade e do prazo de validade, o que representa uma das principais limitações tecnológicas e comerciais da panificação industrial.

Portanto, diante dessa multiplicidade de mecanismos e interações, o processo de envelhecimento do pão é complexo e ainda não totalmente compreendido. Além de comprometer a qualidade sensorial, ele gera perdas financeiras significativas para consumidores e fabricantes, sendo uma das principais causas de desperdício de alimentos.

De acordo com o Índice de Desperdício de Alimentos (2021), o desperdício global anual de alimentos foi estimado em 931 milhões de toneladas, sendo o pão um dos principais contribuintes significativos para esse desperdício. Estima-se que mais de 100 milhões de toneladas de pão são fabricadas anualmente, com perdas de aproximadamente 10% ao longo das etapas de produção, desde a fabricação até consumo (Pilafidis, 2025; Ananda et al., 2024; Brancoli et al., 2019).

Os resíduos de panificação geram impactos ambientais, tanto pela perda de recursos naturais utilizados em toda a cadeia produtiva, quanto pela emissão de gases de efeito estufa durante a decomposição em aterros sanitários (Eriksson et al., 2015). Além disso, o desperdício de pães acarreta prejuízos econômicos e perdas de biorrecursos notáveis (Guo et al., 2025). Um dos fatores que agravam esse cenário é a preferência dos

consumidores por alimentos frescos, o que contribui para o descarte prematuro de pães que ainda estariam aptos para o consumo (Ananda et al., 2024).

Considerando que a perda do frescor representa um dos principais entraves à conservação e comercialização de pães, a indústria de panificação tem recorrido ao uso de ingredientes funcionais, como aditivos ou componentes tecnológicos capazes de retardar o processo de envelhecimento ou minimizar seus efeitos sensoriais.

Dentre esses, destacam-se os emulsificantes, compostos com capacidade de interagir com os principais componentes estruturais do pão, como amilose, amilopectina e proteínas. Essas interações influenciam diretamente nas propriedades de retenção de umidade, inchaço dos grânulos de amido e a estrutura da matriz amilácea, promovendo modificações na organização molecular do amido e retardando sua retrogradação. Consequentemente, os emulsificantes contribuem para a modulação da textura do miolo, manutenção da maciez e prolongamento da sensação de frescor ao longo do armazenamento (Gray & Bemiller, 2003; Purhagen et al., 2011).

As propriedades físicas, como volume e textura (dureza, elasticidade, coesividade e resiliência); físico-químicas, como teor de umidade, atividade de água; e térmicas, como gelatinização e retrogradação do amido, além de temperatura de transição vítrea, são fundamentais para compreender como os emulsificantes interagem com a matriz do pão ao longo do tempo. Ademais, as análises espectroscópicas de infravermelhos próximo e médio (NIR e MIR) fornecem informações moleculares relacionadas à estrutura e composição dos constituintes como amido, água e proteínas. Assim, investigar e monitorar esses aspectos de forma integrada é fundamental para compreender os efeitos reais dos emulsificantes na manutenção do frescor durante o armazenamento, permitindo avanços tanto no desenvolvimento de formulações mais eficientes, quanto na redução do desperdício associado à perda de qualidade sensorial.

Diante disso, esta tese foi estruturada em dois eixos principais. O primeiro aborda o estudo do efeito de diferentes emulsificantes na manutenção do frescor de pães de forma durante o armazenamento, por meio da avaliação de propriedades físicas, físico-químicas e térmicas. O segundo explora a predição do frescor utilizando espectroscopia no infravermelho (NIR e MIR) associada a técnicas quimiométricas, visando desenvolver modelos capazes de monitorar e prever o envelhecimento de pães de forma. Em conjunto, esses estudos buscam ampliar a compreensão sobre os mecanismos de ação dos emulsificantes e contribuir para estratégias de redução do desperdício e aprimoramento da qualidade na indústria de panificação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Pão

A história do pão acompanha a própria história da humanidade, sendo considerado um dos alimentos mais antigos, democráticos e populares, fazendo parte da rotina da humanidade de maneira expressiva. Produzido a partir da cocção de uma massa elaborada com farinha de trigo ou de outras fontes e água, o pão pode incluir diversos ingredientes e passar ou não por um processo de fermentação, dependendo da formulação. Pode ser considerado uma matriz sólida, elástica, instável e complexa que sofre diversas transformações no decorrer do seu processamento e durante o armazenamento (Cauvain & Young, 2009)

No relatório de mercado “Bread Market Size - Industry Report on Share, Growth Trends & Forecasts Analysis (2025 - 2030)” (Custom Market Insights, 2023) recentemente publicado, estimou-se que o mercado global de pães projeta uma taxa de crescimento anual de 3,55% durante o período de 2025 - 2030, e apesar de estar havendo uma crescente demanda por maiores variedades de pães o mesmo continua sendo item essencial nos lares, com vendas impulsionadas por sua praticidade e papel fundamental na alimentação de consumidores com rotinas agitadas, independentemente de sua renda.

A diversidade de pães disponíveis no mercado reflete diferenças em formulação, processamento e características tecnológicas, abrangendo desde pães frescos e artesanais até produtos industrializados com maior vida útil. Nesse contexto, o pão de forma destaca-se como um dos principais produtos da panificação industrial, em função de sua produção padronizada, facilidade de armazenamento e consumo, além de ampla aceitação pelo consumidor.

De acordo com a Federation of Bakers Ltd (2021), o pão de forma foi desenvolvido em 1912, quando o norte-americano Otto Rohwedder criou a primeira máquina de fatiar pães. Mais de um século após sua introdução no mercado, esse tipo de pão mantém relevância na panificação industrial devido à sua padronização, facilidade de distribuição, maior vida útil e adequação às demandas de consumo contemporâneas (Borges et al., 2013).

2.2 Processamento do pão de forma

Os principais ingredientes utilizados na produção de pães são a farinha e água, além de menores proporções de gordura, sal, fermento e melhorados (Cauvain & Young,

2009). O pão pode ser descrito como uma espuma sólida, elástica e instável (Lagrain et al., 2012), já que suas propriedades físicas, química e sensoriais se alteram continuamente após o processamento. Sua estrutura é composta por uma fase contínua, formada por uma rede elástica de moléculas de glúten interligadas e por moléculas de amido lixiviado, principalmente amilose, que pode estar livre quanto complexada com lipídios polares. Há ainda uma fase descontínua, formada por grânulos de amido aprisionados, que sofrem gelatinização, inchamento e deformação durante o assamento (Gray & Bemiller, 2003).

O pão de forma é produzido por etapas semelhantes a diversos outros tipos de pães como pesagem dos ingredientes, mistura e desenvolvimento da massa, divisão, modelagem, fermentação, crescimento, assamento/cozimento, resfriamento e armazenamento. Cada uma dessas etapas desempenha papel essencial na transformação física e química dos ingredientes, resultando em pães com qualidade tecnológica, sensorial e estrutural adequadas (Owens, 2011).

O desenvolvimento da massa é uma etapa fundamental na panificação, caracterizada por complexas transformações físico-químicas decorrentes da dispersão, dissolução, hidratação e mistura dos ingredientes, resultando na formação e no desenvolvimento da rede glúten (Cauvain & Young, 2009).

Durante a hidratação e a mistura, ocorre o amolecimento da rede proteica da farinha, fazendo com que os grânulos de amido fiquem menos firmemente presos à matriz de proteínas (Cauvain & Young, 2009). A aplicação de energia mecânica (amassamento) possibilita que as proteínas do glúten (gliadina e glutenina) absorvam água, sendo parcialmente desdobradas, facilitando as interações hidrofóbicas e as reações de sulfidril-dissulfeto. Como resultado, forma-se polímeros lineares interligados por pontes de hidrogênio e ligação cruzada de dissulfeto, formando uma estrutura de filme contínuo e viscoelástico capaz de reter o gás produzido durante a fermentação (Damodaran & Parkin, 2018).

À medida que a massa adquire resistência ao processo de mistura, inicia-se a retenção do ar incorporado na fase inicial do batimento. O oxigênio presente nessa fase participa da oxidação de grupos sulfidril (-SH) das proteínas do glúten, formando pontes dissulfeto (-S-S-) que fortalecem a rede proteica e aumentam sua capacidade de retenção de gás (Cauvain & Young, 2009; Damodaran & Parkin, 2018). Essa incorporação de ar proporciona a formação de núcleos gasosos que favorecem a retenção do dióxido de carbono (CO₂) gerado da atividade da levedura, a qual também é responsável pela

produção de compostos voláteis que conferem aroma e sabor característico do pão (Cauvain & Young, 2009) .

A fermentação, o assamento e o resfriamento são as etapas da panificação que transformam uma massa fermentada em um produto pronto para o consumo.

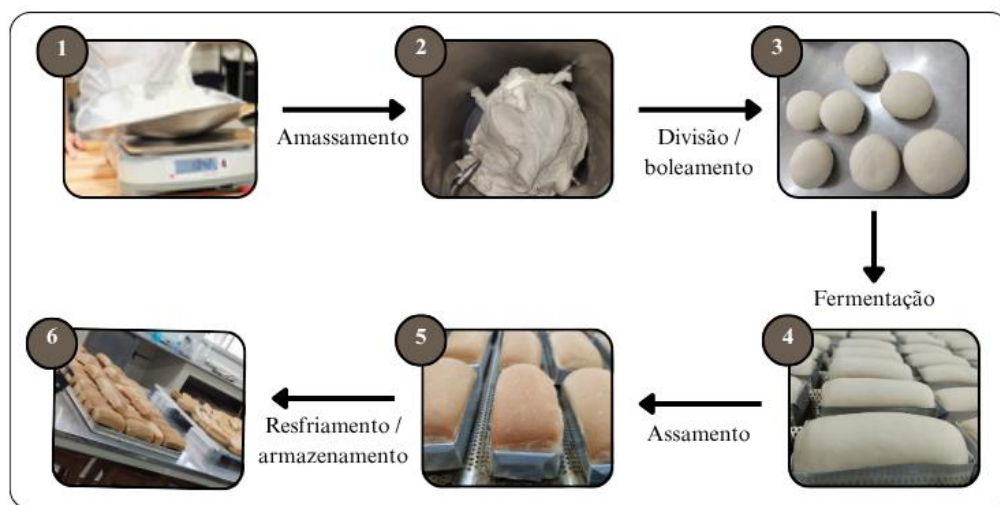
Durante a fermentação, ocorrem reações bioquímicas, que degradam açúcares fermentáveis, como glicose e maltose, gerando dióxido de carbono (CO_2), etanol e compostos voláteis. O gás liberado expande os núcleos formados na etapa de mistura, promovendo o aumento do volume da massa e o desenvolvimento de uma estrutura alveolar característica (Cauvain & Young, 2009).

Na etapa de assamento, a exposição da massa ao calor provoca mudanças estruturais irreversíveis. Inicialmente, a expansão dos gases (CO_2 , vapor de água e ar) causa um aumento de volume conhecido como *oven spring*. A partir de aproximadamente 60 °C, ocorre a gelatinização do amido, formando um gel que contribui para a estrutura do miolo, ao mesmo tempo que ocorre a desnaturação das proteínas do glúten, que estabilizam a matriz proteica (Mondal & Datta, 2008). Com a elevação da temperatura, a superfície da massa perde umidade rapidamente, favorecendo a formação da crosta. A partir de 140 °C, reações de escurecimento não enzimático, como a reação de Maillard e a caramelização, conferem cor, crocância e aroma à crosta (Purlis, 2010).

Por fim, durante o resfriamento, a estrutura do pão se estabiliza. O miolo se consolida pelas interações entre amido gelatinizado e as proteínas desnaturadas, enquanto inicia-se a retrogradação do amido, especialmente da amilose, fenômeno associado ao endurecimento do miolo e ao processo de envelhecimento do pão (Gray & Bemiller, 2003).

Sendo assim, o desenvolvimento adequado da massa assegura a distribuição homogênea dos ingredientes, influencia a estrutura de alvéolos e contribui para a estabilidade da massa durante o assamento, momento em que a rede de glúten se desnatura e consolida a estrutura final do produto assado (Cauvain & Young, 2009). Após essa etapa, a massa pode ser considerada uma rede de glúten amorfa e plastificada com grânulos de amido dispersos dentro de uma fase aquosa contendo componentes de farinha dissolvidos e solutos adicionados, como sais e açúcares (Wang & Zhou, 2017). A Figura 1 ilustra as etapas de processamento utilizados para a produção de pães de forma.

Figura 1. Principais etapas para produção de pão de forma: Formulação e pesagem dos ingredientes; mistura e amassamento; divisão, boleamento e modelagem da massa; fermentação; assamento; resfriamento e armazenamento dos pães produzidos.



Fonte: Elaboração própria.

2.3 Envelhecimento de pães

Em 1953, Bechtel et al. definiram envelhecimento como um termo que indica a decrescente aceitação dos produtos de panificação pelos consumidores, causada por alterações no miolo e na casca, que não sejam resultantes da ação de deterioração microbiana. A Associação Americana do Método Aprovado por Químicos de Cereais (Método AACC 74-30; AACC 2000) também quantifica o envelhecimento pelas características sensoriais, podendo ser detectada pelas alterações da textura, além do sabor e do aroma. Embora o envelhecimento do pão continue sendo estudado há muitos anos e ainda não seja totalmente compreendido, sabe-se que se trata de um fenômeno complexo que começa imediatamente após o assamento e continua durante o armazenamento (Gray & Bemiller, 2003). Nesse sentido, a taxa de envelhecimento do pão durante o armazenamento é determinada por um conjunto de fatores físico-químicos inter-relacionados, resultantes de sucessivas transformações estruturais e moleculares na matriz do produto, cujo o conjunto de efeitos é comumente denominado “envelhecimento” ou “perda do frescor”.

O envelhecimento do pão pode ser definido como um processo composto principalmente por dois subprocessos distintos: o aumento de firmeza causado pela transferência de umidade do miolo para a crosta, e a firmeza intrínseca da matriz do miolo, associada à recristalização do amido durante o armazenamento. Portanto, as causas mais

plausíveis do envelhecimento estão relacionadas retrogradação e reorganização molecular do amido, as interações amido-glúten, que resultam no desenvolvimento de redes de glúten fracas, e a redistribuição de umidade (Fadda et al., 2014; Hong et al., 2023).

Diversos estudos têm sido conduzidos para aprofundar a compreensão dos fatores responsáveis pelos mecanismos do processo de envelhecimento do pão e propor estratégias tecnológicas eficazes para prolongar sua vida útil. Essas estratégias variam desde abordagens voltadas à redução do uso de aditivos artificiais, com foco em formulações mais naturais (Chen et al., 2023; Wang, et al., 2023a), fermentações alternativas (Li et al., 2024a; Ronda et al., 2014), até o uso direcionado de emulsificantes (Cao et al., 2021; Purhagen et al., 2011; Rajkumar & Pandiyan, 2023), enzimas (Amigo et al., 2016) e outros aditivos capazes de preservar a textura e as propriedades sensoriais do produto durante o armazenamento.

Curti et al. (2014) investigaram o efeito de diferentes níveis de glúten no envelhecimento do pão durante sete dias de armazenamento. Verificaram que a adição de glúten resultou em pães com maior volume, miolo mais homogêneo e melhor preservação da textura, mesmo com maior retrogradação da amilopectina nas amostras frescas. Segundo os autores, esse efeito pode estar relacionado a dois fatores: a menor associação da água com o amido na presença de mais glúten, tornando a fase amorfa menos estável e mais propensa à recristalização; e a maior massa molecular do glúten, que diminui a interação água-sólidos, aumentando a mobilidade molecular e favorecendo a reorganização das cadeias de amido. Monteau et al. (2017) analisaram a transferência de água durante o envelhecimento do pão. Os resultados mostraram que, ao longo de dez dias, a maior parte da água perdida pelo miolo foi absorvida pela crosta, enquanto o restante evaporou para o ambiente.

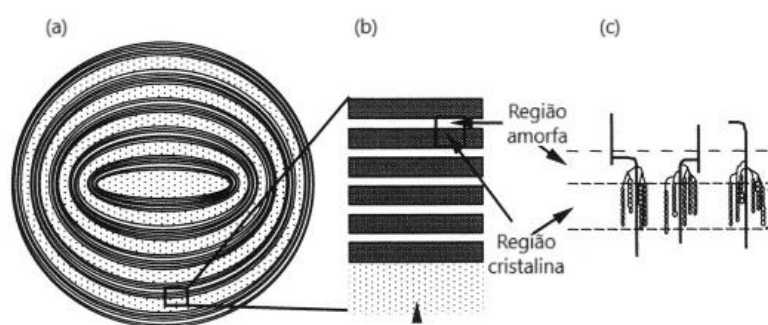
Arp et al. (2020) estudaram o envelhecimento do miolo do pão com amido resistente, num período de onze dias, destacando os efeitos da perda de umidade, retrogradação da amilopectina e endurecimento ao longo do tempo de armazenamento. Liu et al. (2024) avaliaram os efeitos de produtos de reação de Maillard (MRPs) no envelhecimento do pão durante cinco dias de armazenamento. Os MRPs melhoraram a textura, a qualidade sensorial e reduziram a retrogradação do amido por aumentarem a retenção de umidade e estabilizarem a rede de glúten.

2.4 Principais fatores envolvidos na perda de frescor do pão de forma

2.4.1 Retrogradação do amido

O grânulo de amido é composto por dois polissacarídeos distintos: a amilose, que é um polímero essencialmente linear, aparentemente amorfo e que contém em torno de 4 mil unidades de glicose; e a amilopectina, que é um polissacarídeo multirramificado, parcialmente cristalino, contendo em torno de 100 mil unidades de glicose (Cauvain & Young, 2009). O grânulo de amido apresenta, de modo geral, um núcleo central de natureza amorfa, circundado por anéis de crescimento formados por regiões cristalinas altamente ramificadas que se alternam com regiões amorfas menos ramificadas, sendo o centro do grânulo constituído pelas extremidades redutoras da amilopectina (Pérez & Bertoft, 2010; Wang et al., 2015) (Figura 2).

Figura 2. Representação esquemática do grânulo de amido: (a) anéis de crescimento amorfos e semicristalinos em um grânulo de amido, (b) regiões amorfas e cristalinas em uma pilha, e parte de um anel de crescimento amorfo, (c) hélices duplas alinhadas (de cadeias laterais de amilopectina) dentro de uma região cristalina e pontos de ramificação de amilopectina dentro de uma região amorfa.



Fonte: Adaptado de Vandeputte & Delcour, (2004).

Em suas publicações, Cauvain e Young (2009) relataram que, com base nos estudos pioneiros de Katz (1928), realizados por meio da técnica de difração de raios X, demonstrou-se que a água desempenha papel fundamental no aumento da cristalinidade do amido, sendo esse processo considerado o principal responsável pela perda de frescor do miolo, expressa pelo aumento da firmeza.

A grande maioria dos estudos sobre o envelhecimento do pão ainda está concentrado no fenômeno da retrogradação do amido (Chen et al., 2021; Curti et al., 2015;

Ding et al., 2019; Li et al., 2024a; Ma et al., 2022; Mygdalia et al., 2022; Tian et al., 2009; Wang et al., 2023a; Wang et al., 2023b). Durante o assamento, os grânulos do amido, na presença de água, sofrem intumescimento e expansão, culminando no processo de gelatinização, no qual as ligações de hidrogênio das regiões amorfas e cristalinas são rompidas. Essa etapa resulta na perda da estrutura cristalina e no colapso irreversível do grânulo de amido, com expulsão parcial de amilose para o meio circundante (Scott & Awika, 2023; Zhu & Liu, 2020).

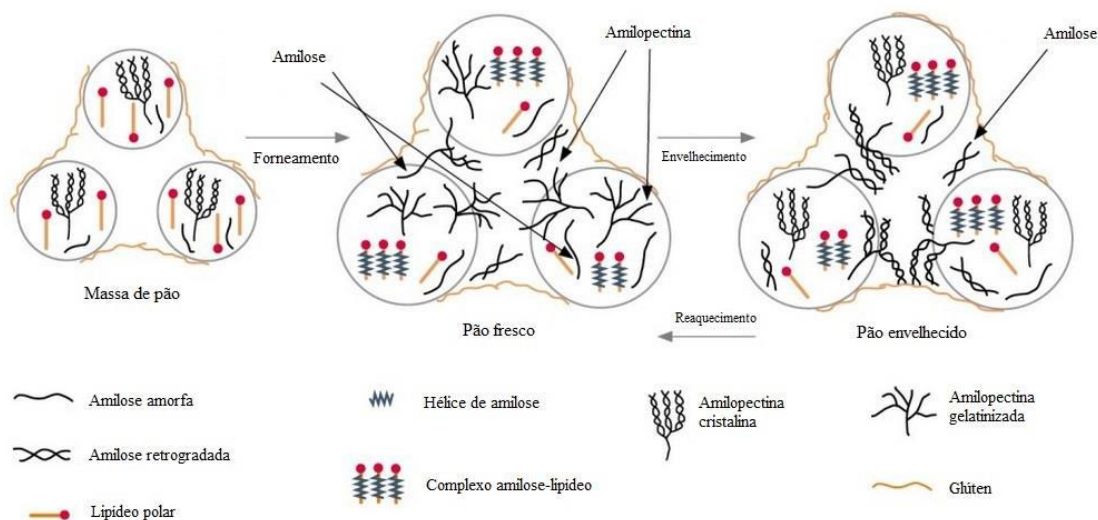
Nas etapas seguintes, de resfriamento e armazenamento, a redução gradual de temperatura promove a retrogradação do amido, o qual é conhecido por resultar em implicações nos produtos alimentícios, como envelhecimento e sinérese durante o armazenamento. Nessa fase, as moléculas do amido perdem, gradualmente, energia, fortalecendo as ligações de hidrogênio. Como resultado, as cadeias começam a se reassociar de forma mais ordenada, levando à formação de simples e duplas hélices. Esse processo gera enredamento molecular e cria zonas específicas de interação entre as moléculas, resultando na formação de áreas cristalinas (Denardin & Silva, 2009). Normalmente, a amilose passa por retrogradação com muito mais rapidez, de minutos ou horas, enquanto a amilopectina retrograda de dias a semanas ou meses (Damodaran & Parkin, 2018). Por isso, a amilose contribui principalmente para a estrutura inicial do miolo, já a amilopectina está mais relacionada ao envelhecimento e ao aumento de firmeza durante o armazenamento (Gray & Bemiller, 2003).

Portanto, o termo retrogradação é utilizado para descrever as mudanças que ocorrem durante o resfriamento e o armazenamento do amido gelatinizado (Sehn, 2015), sendo uma mudança gradual nos componentes do amido de formas amorfas para cristalinas (Gray & Bemiller, 2003). No pão fresco, as cadeias ramificadas de amilopectina se desdobram e se espalham dentro dos limites da quantidade de água disponível, que tem um papel significativo no processo de retrogradação, atuando como plastificante (Hong et al., 2023). Essas cadeias de polímeros de amilopectina, aos poucos durante o resfriamento se agregam, alinhando-se umas às outras por diversos tipos de ligação intramolecular, principalmente, de ligações de hidrogênio, além de interações dipolo-dipolo e forças de van der Waals, perdendo a mobilidade e resultando na crescente rigidez da estrutura interna dos grânulos de amido inchado, que causa o endurecimento do miolo (Cauvain & Young, 2009).

Na Figura 3, Zobel & Kulp (1996) demonstraram as alterações estruturais da amilose e da amilopectina durante o processamento do pão, desde a formação da massa

até o assamento. Nessa etapa inicial, a amilopectina está na forma cristalina, perdendo a cristalinidade durante o assamento em decorrência do processo de gelatinização. Ainda conforme ilustrado na Figura 3, após o assamento, é demonstrado a formação de complexos amilose-lipídios polares atuando como zonas de junção e de amilose cristalina lixiviada. A rede de amilose lixiviada é um elemento estrutural essencial no miolo de pão macio e fresco e é responsável pela capacidade de fatiar o pão ainda quente. A rede de amilose formada durante o resfriamento, juntamente com a rede de glúten termofixa formada durante o cozimento, determina a resiliência do pão recém assado (Goesaert et al., 2009).

Figura 3. Alterações da amilose e amilopectina durante o processamento, armazenamento e envelhecimento do pão.



Fonte: Sehn, (2015) adaptado de Zobel & Kulp, (1996)

Outros fatores, como a redistribuição da água entre os componentes da matriz e as modificações estruturais das proteínas do glúten, também exercem influência decisiva nesse processo e serão discutidos nos itens subsequentes (Gray & Bemiller, 2003).

2.4.2 Redistribuição da água

A água atua como o principal solvente, meio de dispersão e plastificante em sistemas biológicos e alimentares. Como proteínas e polissacarídeos constituem os principais componentes estruturais dos alimentos, suas interações com a água e entre si

em meio aquoso, determinam as relações entre estrutura e propriedades nesses sistemas (Matveev et al., 2000).

O teor de umidade em alimentos está intimamente relacionado a dois parâmetros fundamentais: a atividade de água (A_w) e a temperatura de transição vítrea (T_g). A A_w indica a disponibilidade e a mobilidade da água livre, refletindo sua capacidade de participar de reações químicas e físicas, enquanto a T_g representa o limite de temperatura entre os estados vítreos e borrachoso da matriz alimentar, estando fortemente correlacionada à percepção de textura e frescor nos alimentos (Chen et al., 2021). A água atua como plastificante da matriz, de modo que o aumento do teor de umidade promove a redução da T_g , elevando a mobilidade molecular dos constituintes do alimento e tornando a matriz mais suscetível a rearranjos estruturais..

Nesse contexto, a distribuição e a mobilidade da água no pão exercem papel fundamental na manutenção da textura e no processo de perda de frescor do pão, impactando diretamente vários aspectos da qualidade e da vida útil do produto (Kang et al., 2018). A água está envolvida na secagem, no equilíbrio de umidade entre o miolo e a crosta e na redistribuição de umidade entre os diferentes componentes do pão (Gray & Bemiller, 2003). Durante o resfriamento e armazenamento, a migração de água tende a provocar o ressecamento gradual do miolo, que se torna mais seco, quebradiço e duro, e a crosta tende a ficar mole e coriácea (Cauvain & Young, 2009).

De acordo com Gray & Bemiller (2003), a redistribuição da umidade envolvida na perda de frescor do pão acontece com a água livre atuando como plastificante, aumentando a mobilidade das moléculas de amido e favorecendo sua reorganização. Esse processo leva à formação de novas estruturas cristalinas associadas à retrogradação da amilopectina. Curti et al. (2014) observaram a migração macroscópica de água do interior para a superfície durante o armazenamento do pão, enquanto Wang et al. (2023b) demonstraram que, em nível molecular, a água altera sua localização e estado físico, redistribuída entre os diferentes domínios da matriz do pão. Parte dessa água, antes presentes nas regiões amorfas do amido, é removida, reduzindo seu efeito plastificante e contribuindo para o endurecimento progressivo do miolo. Além disso, a difusão da água do glúten para o amido ocorre devido à sua imiscibilidade termodinâmica, ou seja, à baixa afinidade entre essas duas fases, o que leva a uma redistribuição de água em direção ao amido, fase energeticamente mais favorável (Bosmans et al., 2013)

Portanto, a migração e redistribuição de água ocorrem tanto entre o miolo e a crosta quanto entre o glúten e o amido (Hong et al., 2023), concluindo que a redistribuição

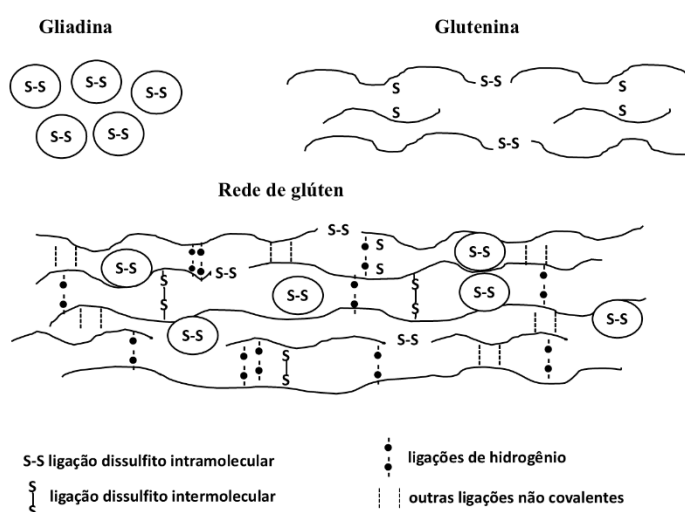
de água em nível tanto macro como microscópico afeta profundamente o envelhecimento do pão.

2.4.3 Modificações estruturais das proteínas do glúten

A proteína é outro componente que tem sido bastante estudado por seu papel no envelhecimento do pão (Curti et al., 2014; Franco et al., 2024; Li et al., 2024a; Liu et al., 2024; Ottenhof & Farhat 2004; Xie et al., 2004). As proteínas do glúten do trigo são essenciais na produção de produtos como pão, pastelaria, biscoitos e massas, pois conferem capacidade de absorção de água, coesividade, viscosidade e elasticidade à massa (Wieser, 2007). A farinha de trigo tem processabilidade única e pode formar massa com uma estrutura viscoelástica tridimensional, na qual as proteínas do glúten se interligam para formar um esqueleto reticular contínuo e os grânulos de amido atuam como partículas de enchimento (Hu et al., 2023).

A rede proteica do glúten é formada por dois principais grupos de proteínas: gliadinas e gluteninas. As gliadinas são proteínas monoméricas, caracterizadas pela presença de ligações dissulfeto intramoleculares (S-S), enquanto as gluteninas apresentam natureza polimérica, sendo estabilizadas por ligações S-S intra e intermoleculares, que contribuem para formação de grandes agregados proteicos (Figura 4) (Wieser, 2007).

Figura 4. Esquema do desenvolvimento da rede de glúten.



Fonte: Ortolan & Steel (2017).

Durante a hidratação e a mistura da massa, diversos tipos de reações e interações químicas são cruciais para a formação da rede de glúten (Figura 4). Além das ligações de dissulfeto intermoleculares, os elevados níveis de glutamina permitem a formação de ligações de hidrogênio intermoleculares e intramoleculares (Ortolan & Steel, 2017). Outras ligações não covalentes, como ligações iônicas e ligações hidrofóbicas, também contribuem para a formação da estrutura dessa rede proteica (Ortolan & Steel, 2017; Damodaran & Parkin, 2018).

Na massa hidratada, as gliadinas são responsáveis pela extensibilidade e viscosidade, enquanto as gluteninas proporcionam coesão e elasticidade, características essenciais para a estrutura tridimensional do glúten (Wieser, 2007).

Segundo Ottenhof & Farhat (2004), a rede recém formada após o assamento apresenta comportamento flexível e elástico, devido à presença de água plastificante e à mobilidade molecular das proteínas. Durante o armazenamento, no entanto, ocorrem mudanças estruturais indesejáveis, como perda de umidade, intensificação das ligações intermoleculares e interação com o amido retrogradado, resultando em uma rede mais rígida, menos plástica e menos elástica.

Durante o armazenamento, proteínas do glúten e grânulos de amido podem formar ligações cruzadas. Essas ligações resultam de fortes interações intermoleculares entre polímeros de amido e proteínas, o que reduz a mobilidade molecular e, conseqüentemente, a energia cinética do sistema. Durante o armazenamento, essas ligações cruzadas se tornam mais numerosas e mais fortes, promovendo a rigidez progressiva da matriz estrutural e contribuindo para o processo de envelhecimento do pão (Chen et al., 2021). Além disso, a migração de água do miolo para crosta reduz o teor de umidade da rede de glúten, podendo levá-la a níveis inferiores ao necessário para a plastificação completa. Essa desidratação adicional intensifica a rigidez da rede de glúten, resultando em aumento da firmeza do miolo, principalmente após alguns dias de armazenamento (Bosmans et al., 2013).

2.4.4 Temperatura de transição vítrea - T_g

A transição vítrea (T_g) em alimentos foi mencionada pela primeira vez na literatura na década de 1960 (Champion et al., 2000), no entanto, apenas na década de 1980, os cientistas de alimentos reconheceram sua importância e passaram a utilizá-la para prever as propriedades, a qualidade e a estabilidade dos produtos (Cauvain & Young, 2009). Transição vítrea pode ser definida como uma faixa de temperatura na qual uma

molécula amorfa muda de um estado altamente imobilizado e quebradiço (vítreo) para um estado relativamente móvel e emborrachado. Temperatura de transição vítrea é uma propriedade do material e o processo é considerado uma transição termodinâmica de segunda ordem na qual o material sofre uma mudança de estado, rígido para flexível, mas não de fase (Rahman, 2006). Em produtos de panificação, refere-se a mudanças no estado físico dos materiais entre o estado vítreo sólido amorfo e o estado emborrachado semelhante a um líquido viscoso e vice versa (Wang & Zhou, 2017).

O conceito de transição vítrea pareceu ser uma ferramenta poderosa para entender os mecanismos de processos em produtos alimentícios e para controlar sua vida útil (Champion et al., 2000). A temperatura de transição vítrea serve como um parâmetro vital para avaliar a estabilidade dos alimentos, sendo considerada uma temperatura de referência, que sofre a influência de fatores como teor de água, flexibilidade da cadeia, massa molecular e interações entre cadeias (Li, et al., 2024b).

Em temperaturas de armazenamento abaixo de T_g espera-se que o alimento se mantenha estável, pois a matriz se encontra em estado vítreo (duro e quebradiço), no qual a mobilidade é limitada. Já acima dessa temperatura, a diferença entre temperatura de armazenamento e a T_g ($T - T_g$) é admitida como um indicador da taxa de mudanças físicas, químicas e biológicas que podem ocorrer no material (Champion et al., 2000). À proporção que essa diferença aumenta, o alimento atinge a forma de estado emborrachado, caracterizado por maior mobilidade molecular e, conseqüentemente, maiores taxas de deterioração e menor estabilidade (Cauvain & Young, 2009; Rahman, 2010).

Os fenômenos de transição vítrea dos produtos de panificação são fortemente dependentes de sua composição, especialmente do teor de água e de outras moléculas pequenas que alteram significativamente a atividade da água (Wang & Zhou, 2017). Uma vez no estado vítreo, os polímeros, como o amido, tornam-se imobilizados, e as reações químicas e movimentos dos solutos, como o açúcar, e dos plastificantes, como a água, dentro da sua matriz, ocorrem de forma extremamente lenta, conferindo maior estabilidade física e química ao alimento, retardando fenômenos como cristalização, oxidação, escurecimento e envelhecimento estrutural (Cauvain & Young, 2009).

O processo de retrogradação do amido no pão está associado à sua temperatura de T_g . Em temperaturas acima de T_g e abaixo da temperatura de fusão do cristal do amido, o mesmo se move de tal maneira que possibilita a cristalização (Wang & Zhou, 2017). Portanto, ocorrerá retardo nos processos de cristalização e retrogradação quando o pão

for armazenado em temperaturas iguais ou inferiores à sua T_g , devido à diminuição dessa mobilidade (Li et al., 2024a). Nessas condições, o envelhecimento do pão é significativamente reduzido ou até mesmo interrompido.

A temperatura de T_g associada à textura macia e emborrachada do pão recém assado situa-se em valores inferiores a 0 °C (Slade et al., 1991), variando entre -7 e -9 °C (Cauvain & Young, 2009), sendo que, à medida que o envelhecimento avança, essa temperatura aumenta progressivamente, podendo atingir valores bem acima da temperatura ambiente (Slade et al., 1991).

Além dos principais componentes como amido e glúten, ambos comumente encontrados em estado amorfo no pão, e a água, vários outros componentes também podem alterar a transição vítrea, incluindo, óleo, açúcar, sal e outros aditivos (Li et al., 2024b). De acordo com Matveev et al. (2000), a água, como um forte plastificante de polímeros amorfos, é particularmente importante e tem sido amplamente estudada para a transição vítrea em estado líquido e congelado. A água reduz a temperatura de T_g devido à redução das forças inter e intramacromoleculares presentes entre os principais constituintes do pão (amilose e amilopectina e proteínas do glúten). Cauvain & Young (2009) afirmaram que pães com quantidade de umidade de cerca de 40% depois do assamento apresentam o seu amido e suas proteínas no estado elástico acima de T_g e em temperatura ambiente. Por isso, há mais de 3 décadas tem-se estudado como os componentes do pão influenciam na sua temperatura de T_g , assim como a T_g influencia no envelhecimento de pães, buscando estratégias para manutenção do frescor dos pães (Bhatt & Nagaraju, 2009; Buera et al., 1998; Chen et al., 2021; Cuq et al., 2003; Hallberg & Chinachoti, 1992; Huang et al., 1996; Jagannath et al., 1999; Li et al., 2024c; Slade et al., 1991; Ronda et al., 2014; Ronda & Roos, 2011; Roudaut et al., 1999; Xie et al., 2004; Zhao et al., 2025).

Jagannath et al. (1999) determinaram a temperatura de T_g do pão com diferentes agentes antienvelhecimento e conseguiram correlacionar o aumento da temperatura de T_g com a firmeza do pão durante o armazenamento, prevendo quantitativamente a taxa de envelhecimento e identificando quais agentes apresentaram menor aumento na temperatura de T_g (propilenoglicol, glicerol e maltodextrina). Li et al. (2024b) com base na T_g , avaliaram como a massa molecular da dextrana afeta as propriedades tecnológicas e morfológicas do pão chinês cozido no vapor durante o armazenamento. Eles verificaram que tanto a massa molecular quanto a concentração da dextrana influenciam no retardo do endurecimento e na desaceleração da retrogradação do amido. Os resultados sugerem

que dextranas de alto massa molecular podem atrasar a transição de borracha para vidro e, assim, reduzir o envelhecimento do amido no pão chinês.

Diversos estudos têm investigado o papel da água na transição vítrea da crosta do pão e sua relação com a perda de qualidade sensorial durante o armazenamento. Van Nieuwenhuijzen et al. (2010) analisaram a transição vítrea por diferentes métodos e a correlacionaram com dados sensoriais. Embora os resultados não tenham sido totalmente concordantes entre os métodos, os autores identificaram um ponto crítico associado ao aumento da mobilidade da água, o qual coincidiu com a perda da crocância sensorial. Esse comportamento foi atribuído à maior mobilidade de macromoléculas estruturais, especialmente da rede de glúten. De forma complementar, Chen et al. (2021) observaram que durante o armazenamento em temperatura ambiente, a migração de água na estrutura do pão influencia diretamente a temperatura de transição vítrea (T_g), contribuindo para a perda de volume e aumento da deformabilidade estrutural do pão. Bhatt & Nagaraju (2009) também destacaram a influência da umidade sobre a T_g . À medida que o teor de umidade aumenta, a T_g da crosta diminui, podendo atingir valores abaixo da temperatura ambiente quando o teor de umidade ultrapassa 17,6%. Nesse contexto, concluiu-se que, após cerca de 100 horas de armazenamento, a crosta passa do estado vítreo para o estado de borracha, comprometendo sua textura crocante.

Em conjunto, esses estudos evidenciam que a temperatura de transição vítrea constitui um parâmetro físico-químico determinante na estabilidade estrutural e sensorial do pão durante o armazenamento, por controlar a mobilidade molecular da água e das macromoléculas da matriz. Dessa forma, estratégias tecnológicas capazes de modular a distribuição de água, a mobilidade molecular e, conseqüentemente, a T_g do sistema tornam-se fundamentais para o retardamento da perda de frescor.

2.5 Agentes antienvelhecimento do pão

2.5.1 Emulsificantes

Vários agentes antienvelhecimento, como enzimas, emulsificantes e hidrocolóides, têm sido usados com sucesso na panificação (Ai et al., 2018; Purhagen et al., 2011). Eles possuem diferentes mecanismos de ação, podendo influenciar direta ou indiretamente na retrogradação do amido, através da degradação das moléculas de amilose e/ou amilopectina, da formação de complexos de inclusão com amilose ou com

os ramos externos da molécula de amilopectina, e do atraso no inchaço e ruptura dos grânulos de amido. (Purhagen et al., 2011).

Os emulsificantes, também conhecidos como agentes tensoativos ou surfactantes, são substâncias anfifílicas que possuem grupos com propriedades hidrofílicas e lipofílicas que permitem a redução da tensão superficial entre duas fases normalmente imiscíveis contribuindo para o aumento da estabilidade de um sistema termodinamicamente instável formando uma emulsão (Kohajdová et al., 2009; Stampfli & Nersten, 1995). São aditivos funcionais extensivamente utilizados pela indústria de alimentos para melhorar a textura, a estabilidade, o volume, a maciez, a aeração e a homogeneidade, agregando qualidade aos produtos alimentícios (Radujko et al., 2011).

Segundo o estudo de revisão de Purhagen et al. (2011), diferentes características são esperadas no uso de emulsificantes pela indústria de panificação, sendo que nenhum emulsificante possui todas essas características, e a eficiência dos emulsificantes está intimamente relacionada à sua estrutura química. A Tabela 1 apresenta essas características.

Tabela 1. Funções dos emulsificantes nas etapas de panificação

Etapa de processamento	Principais funções
Mistura	Melhor dispersão dos ingredientes
	Estabilização da rede de glúten
	Melhor taxa de hidratação e absorção de água
	Melhor manuseio e resistência da massa
	Emulsificação de gorduras e redução de gordura vegetal
Fermentação	Retenção de gás aprimorada
	Maior tolerância à variação de tempos e temperatura
	Estabilidade estrutural da massa
Assamento	Melhor resistência ao forno
	Maior expansão (oven spring), maior volume
	Melhor estrutura do miolo, maior uniformidade no tamanho das células
	Melhoria na simetria da crosta
Armazenamento	Retardo do envelhecimento do pão (retrogradação do amido)
	Manutenção da maciez
	Menor esfarelamento ao fatiar

Fonte: Purhagen et al. (2011)

Os emulsificantes são utilizados no pão para manter a maciez do miolo por mais tempo, retardando o processo de envelhecimento (Cauvain & Young, 2009). Gray &

Bemiller (2003) revisaram diversos estudos que investigaram os mecanismos pelos quais os emulsificantes contribuem para a redução da taxa de envelhecimento do pão. Esses trabalhos abordaram principalmente as interações dos emulsificantes com componentes como amilose, amilopectina e proteínas, além de seu efeito sobre o inchaço dos grânulos de amido. Segundo os autores, embora a formação de complexos tipo hélice simples (tipo V) entre emulsificantes e amilose não influencie significativamente a firmeza inicial do pão, ela desempenha um papel importante na redução da taxa de endurecimento durante o armazenamento. Isso se deve, em parte, à menor lixiviação de amilose dos grânulos na presença de emulsificantes. Em relação às proteínas, as interações entre emulsificantes e glúten mostraram impacto na estabilidade do pão ao longo do tempo. Além disso, alguns estudos relataram que os emulsificantes podem limitar o inchaço dos grânulos de amido durante o assamento, ao formar complexos com amilose na periferia dos grânulos, o que contribui para a diminuição do aumento de firmeza durante o armazenamento.

Os emulsificantes também exercem influência sobre a distribuição da umidade entre as frações proteica e amilácea do pão. Ao modular a retenção de água pelo amido, esses ingredientes favorecem maior disponibilidade de água para a hidratação da rede de glúten, contribuindo para a manutenção da estrutura do miolo e para o retardamento do processo de envelhecimento (Kohajdová et al., 2009).

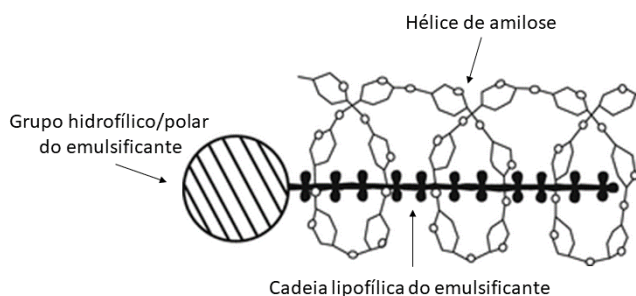
Em um estudo conduzido por Gómez et al., (2004) foi investigada a influência de emulsificantes com diferentes funcionalidades sobre o comportamento do pão durante o envelhecimento. Os autores observaram um aumento na dureza do miolo ao longo do tempo de armazenamento, efeito típico do processo de envelhecimento. No entanto, a intensidade desse aumento variou significativamente de acordo com a duração da fermentação antes do assamento. Essa variação foi atribuída, provavelmente, ao tempo necessário para que ocorra o equilíbrio das interações entre os emulsificantes e os constituintes da massa, como amido e proteínas.

Já Gomes-Ruffi et al. (2012) e Tebben et al. (2022) investigaram o efeito de emulsificantes na qualidade do pão de forma elaborados com farinha branca e farinha integral, respectivamente, durante o armazenamento. Em ambos os trabalhos, os emulsificantes demonstraram eficácia na redução da taxa de envelhecimento, evidenciada pelo menor aumento da firmeza do miolo ao longo do tempo. Os autores ressaltaram, entretanto, a necessidade de estudos adicionais para aprofundar a compreensão dos mecanismos antienvelhecimento desses ingredientes, especialmente no que se refere às

interações entre emulsificantes, amido e glúten e à sua influência sobre a textura e o endurecimento do pão durante o armazenamento.

A formação de complexos entre emulsificantes e amilose pode ser representada pelo modelo ilustrado da Figura 5, no qual a complexação ocorre pela inserção de ligantes lipofílicos nas cavidades helicoidais da amilose, estabilizadas por forças hidrofóbicas. Nessa estrutura, a cadeia de hidrocarbonetos do emulsificante é envolvida pelas espirais da hélice do amido, enquanto o grupo polar permanece voltado para o meio aquoso, em decorrência da repulsão eletrostática entre as cargas (Gaupp & Adams, 2014; Oyeyinka et al., 2021). Os complexos amilose-emulsificante podem se formar em duas estruturas distintas, denominadas tipo I e tipo II, cuja formação depende fortemente da temperatura do processo de complexação (Gu et al., 2025). Em temperaturas mais baixas ($\leq 60\text{ }^{\circ}\text{C}$), ocorre nucleação rápida, originando estruturas menos ordenadas e amorfas (tipo I). Já em temperaturas mais elevadas ($\geq 90\text{ }^{\circ}\text{C}$), a nucleação é mais lenta, favorecendo a formação de estruturas semicristalinas mais estáveis (tipo II) (Gu et al., 2025; Zhou et al., 2025).

Figura 5. Modelo do complexo emulsificante-amilose



Fonte: Adaptação de Gaupp & Adams, (2014)

Os emulsificantes interagem com os sistemas amiláceos de três formas principais: (1) interferindo nos eventos associados à gelatinização do amido e à formação de pastas, como perda de birrefringência, inchaço dos grânulos, lixiviação de amilose, fusão das regiões cristalinas dos grânulos de amido e aumento de viscosidade durante o cozimento; (2) modificando o comportamento reológico das massas formadas; e (3) inibindo a recristalização das cadeias de amido durante o processo de retrogradação (Damodaran et al., 2018).

No Brasil o uso dos emulsificantes em pães é regulamentado por meio da Resolução 383/1999 e das RDC 45/2010 e RDC 46/2010, sendo os mais utilizados o estearoil-2-lactilato de sódio (INS 481i); estearoil-2-lactilato de cálcio (INS 482); mono

e diglicerídeos de ácidos graxos (INS 471); ésteres de ácido diacetil tartárico de mono e diglicerídeos (INS 472e); lecitina (INS 322) e polisorbato 80 (INS 433) cuja concentração de uso recomendada é de 0,5%, exceto o polisorbato 80 que é de 0,3%.

As principais razões para uma redução na firmeza do pão fresco são o aumento do volume do pão e uma estrutura de miolo mais fina. Além disso, os emulsificantes interagem com o amido e, portanto, retardam a absorção de água e o inchaço do amido, o que produz uma textura inicial mais macia (Tebben et al., 2022).

Considerando as diferentes naturezas químicas e mecanismos de ação dos emulsificantes utilizados neste estudo, a Tabela 2 apresenta um resumo comparativo de suas principais características. Nela estão indicadas as respectivas estruturas químicas simplificadas, cargas iônicas, que influenciam diretamente a interação com os componentes estruturais do pão, bem como as principais funções tecnológicas associadas a cada composto.

Tabela 2. Classificação, estruturas químicas simplificadas e principais ações dos emulsificantes utilizados em panificação.

Emulsificante	Fórmula química	Carga iônica	Ação principal	Referências
Estearoil-2-lactilato de sódio (SSL)	$C_{17}H_{35}COO-$ $CH(CH_3)-COO-$ $CH(CH_3)-COO^- Na^+$	Aniônico	Forma complexos com amilose, reduz retrogradação e firmeza, prolonga a maciez.	Gomes-Ruffi et al. (2012); Tebben et al. (2022); Pareyt et al. (2011)
Estearoil-2-lactilato de cálcio (CSL)	$C_{17}H_{35}COO-$ $CH(CH_3)-COO-$ $CH(CH_3)-COO^- Ca^{2+}$	Aniônico	Melhora volume e textura; reforça estrutura e retarda envelhecimento.	Cauvain & Young (2009); Pareyt et al. (2011)
Ésteres de ácido diacetil tartárico de mono e diglicerídeos (DATEM)	$C_nH_{2n+1}COO-CH_2-$ $CH(OH)-CH_2-O-$ $CO-CH(OCOCH_3)-$ $CH(OCOCH_3)-COO^-$	Aniônico	Fortalece a rede de glúten e aumenta o volume; mantém a maciez sem reduzir diretamente a retrogradação.	Kohajdová et al. (2009); Moayedallaie et al. (2010); Tebben et al. (2022); Cauvain & Young (2009)

Mono e diglicerídeos de ácidos graxos (DMG)	$C_3H_5(OH)_2(OOCR)$	Não iônico	Atua por interações hidrofóbicas; forma complexos com amilose e melhora a incorporação de ar.	Gray & Bemiller (2003); Cauvain & Young (2009); Pareyt et al. (2011)
---	----------------------	------------	---	--

O estearoil-2-lactilato de sódio (SSL) é um emulsificante aniônico de tipo óleo em água usado para melhorar a qualidade de pães (Kohajdová et al., 2009), podendo ser substituído pela forma em cálcio, o estearoil-2-lactilato de cálcio (CSL), que apresenta efeitos semelhantes ao SSL (Cauvain & Young, 2009). Embora o SSL contribua para a melhora da retenção de gás na massa, ele não é considerado o emulsificante mais eficiente nesse aspecto. Em contrapartida, destaca-se por promover aumento efetivo da vida de prateleira da maciez, efeito atribuído principalmente à sua capacidade de interagir com a amilose, retardando a retrogradação do amido e favorecendo o amaciamento do miolo. (Cauvain & Young, 2009). O SSL tem capacidade de interagir com a amilose, formando complexos com moléculas de amido. Essa interação reduz a formação de cristais de amido durante o armazenamento, diminuindo a retrogradação e, conseqüentemente, a quantidade de amilopectina recristalizada. Como resultado, o pão apresenta menor firmeza e maior maciez ao longo do tempo de estocagem. Esses efeitos foram observados por análise de textura (Gomes-Ruffi et al., 2012) e de análises térmicas por DSC (Tebben et al., 2022), que confirmaram o papel do SSL como um agente antienvelhecimento. De acordo com Pareyt et al. (2011), essa prevenção da retrogradação está diretamente relacionada à capacidade do emulsificante de formar complexos com o amido. Esse resultado também foi encontrado para o CSL se comportando como um agente antienvelhecimento eficiente, além de favorecer o aumento do volume do pão (Rajkumar & Pandiyan, 2023). Como o CSL e SSL são ambos emulsificantes aniônicos, eles afetam diretamente os grânulos de amido e glúten, melhorando as propriedades dos pães armazenados (Morita et al., 1996).

Os monos e diglicerídeos de ácido graxos ou mono diacilgliceróis são os emulsionantes à base de gordura mais amplamente utilizados em pães e outros alimentos (Kohajdová et al., 2009), e são utilizados como amaciador do miolo, se ligando à fração de amilose do amido em temperaturas elevadas, típicas do assamento, conseqüentemente desacelerando a retrogradação do amido durante o resfriamento e armazenamento,

retardando de fato o envelhecimento do produto final (Cauvain & Young, 2009). A amilose complexada com os monoglicerídeos, não gelifica durante o cozimento e, portanto, não pode recristalizar, reduzindo assim a firmeza do pão fresco, uma vez que a recristalização da amilose ocorre nas primeiras 24 horas de armazenamento (Stampfli & Nersten, 1995). A capacidade dos monoglicerídeos atuarem como agentes antienvelhecimento foram confirmadas por Azizi et al. (2003), Grausgruber et al. (2008) e Manzocco et al. (2012) afirmando que esse efeito é atribuído à interação complexa entre os ingredientes na estrutura do pão branco.

Os ésteres de ácido diacetil tartárico de mono e diglicerídeos (DATEM) são emulsionantes aniônicos de tipo óleo em água, amplamente utilizados como fortalecedores de massa (Kohajdová et al., 2009). Diferentemente de outros emulsificantes, o DATEM não afeta diretamente as interações entre amido e água, e, portanto, não reduz de forma significativa a taxa de envelhecimento. Seu principal efeito está associado à manutenção da maciez durante o armazenamento, resultado de sua capacidade de aumentar o volume do produto final e favorecer a formação de uma estrutura celular fina, uniforme e delgada (Cauvain & Young, 2009). Esses efeitos tecnológicos foram confirmados por Moayedallaie et al. (2010) e Tebben et al. (2022), que observaram a contribuição DATEM para a melhora da estrutura e textura do miolo ao longo do tempo de prateleira.

2.6 Técnicas para determinação/monitoramento da perda de frescor de pães

O envelhecimento do pão é um fenômeno de grande relevância, caracterizado, ao longo do tempo de armazenamento, por redução do teor de umidade, aumento da firmeza e consequentemente diminuição da aceitação sensorial pelos consumidores. Existem vários métodos para medir o envelhecimento do pão e explicar o fenômeno de acordo com as preferências do consumidor (Fadda et al., 2014).

2.6.1 Análise de Umidade e Atividade de água

Alimentos ricos em amido e com elevado teor de umidade, tipicamente acima de 35%, ou com atividade de água superior a 0,90, estão sujeitos a processos intensos de envelhecimento durante o armazenamento, os quais resultam em aumento da firmeza da textura e no desenvolvimento de sabores indesejáveis, limitando significativamente a vida útil do produto (Ai et al., 2018).

A umidade constitui um dos principais atributos de qualidade do pão durante o armazenamento, uma vez que atua como plastificante, proporcionando maior flexibilidade e maciez à estrutura do pão (Chen et al., 2021). Por outro lado, a diminuição do teor de água favorece o estabelecimento de ligações de hidrogênio entre os polímeros de amido e entre amido e proteínas, resultando em aumento da rigidez estrutural e, consequentemente, da firmeza do miolo (Giannone et al., 2016).

A medição da perda desses parâmetros assim como a correlação com características mecânicas (dureza e elasticidade), térmicas (T_g e entalpia de retrogradação) e sensoriais (maciez e aceitação), tem sido amplamente utilizada para determinação/monitoramento da perda de frescor em pães durante o armazenamento (Abu-Ghoush et al., 2008; Arp et al., 2020; Curti et al., 2015; Kotsiou et al., 2022; Ma et al., 2022; Santos, et al., 2021; Wang et al., 2023a; Wang et al., 2023b).

Kotsiou et al. (2023) ao investigarem os aspectos físico-químicos e funcionais de farinhas compostas de trigo e grão-de-bico torrado observaram que o teor de umidade do miolo apresentou correlação direta com a maciez e elasticidade da massa, indicando que a retenção de água foi determinante para retardar o endurecimento durante o armazenamento. Resultados semelhantes foram observados por Ma et al. (2022), que avaliaram pães à base de batata cozida no vapor adicionados de enzimas e hidrocoloides. Os autores relatando que formulações com maior capacidade de retenção de umidade e A_w mais estáveis apresentaram menores valores de dureza e maior tempo de manutenção da maciez, evidenciando o papel da água como plastificante da matriz amido-glúten e sua importância na estabilidade física e sensorial do produto.

Outros trabalhos têm relacionado as mudanças em umidade e A_w com propriedades térmicas e estruturais associadas ao envelhecimento. Em estudos sobre pães sem glúten, foi demonstrado que a redução gradual da umidade e a diminuição da A_w acompanharam o aumento da entalpia de retrogradação (ΔH), confirmando a relação entre perda de água livre e recristalização do amido (Santos et al., 2021). De forma complementar, Arp et al. (2020) observaram que em pães com amido resistente de alta amilose, a redução da umidade ao longo do tempo de armazenamento está diretamente associada ao aumento da firmeza e à intensificação da retrogradação, reforçando que o controle da umidade e da A_w é essencial para a predição da taxa de envelhecimento e a manutenção do frescor em produtos de panificação.

Em estudo mais recentes, Wang et al. (2023a) investigaram o efeito do tamanho de partícula da casca de trigo-sarraceno e observaram que formulações contendo

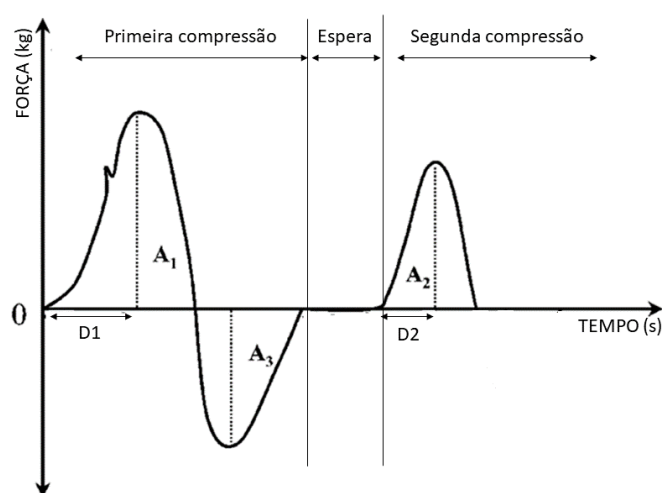
partículas mais finas apresentaram maior retenção de umidade e menor taxa de endurecimento, sugerindo que o controle da distribuição de água influencia diretamente a textura e a estabilidade durante o armazenamento. De forma semelhante, Wang et al. (2023b), ao avaliarem os efeitos do pó de castanha chinesa na digestão do amido e nas propriedades de textura e envelhecimento do pão, verificaram que o ingrediente contribuiu para reduzir a retrogradação e preservar a umidade, resultando em melhor manutenção da maciez e menor firmeza após o armazenamento.

2.6.2 Análise de Textura

A maioria dos pesquisadores acredita que a melhor maneira de reconhecer o envelhecimento do pão é através da análise da textura, uma vez que uma boa textura tem um impacto direto na aceitação global do pão (Fadda et al., 2014). Como o aumento da firmeza do pão está positivamente relacionado com a perda de frescor de pães, ela se torna um item importante para a avaliação e monitoramento do envelhecimento de pães.

A análise do perfil de textura instrumental (Texture Profile Analysis – TPA) é realizado por texturômetro que comprime uma amostra de tamanho e forma padronizados, em dois ciclos que simulam a ação da mandíbula durante a mastigação, representados por meio de um gráfico de força x tempo (Figura 6), resultando em alguns parâmetros texturais que se correlacionam com a avaliação sensorial (Bourne, 2002).

Figura 6. Curva típica de perfil de textura



Fonte: Adaptado de Friedman et al. (1963)

Os parâmetros mais relevantes calculados a partir do gráfico obtido da análise de perfil de textura de pães são dureza, elasticidade, coesividade e resiliência (Lira, 2017; Lassoued et al., 2008).

- Dureza (*Hardness*) – força máxima necessária para produzir certa deformação na amostra, representada pela altura do pico de força no primeiro ciclo de compressão (primeira mordida).
- Elasticidade (*Springiness*) – velocidade com a qual o material deformado volta ao seu estado inicial após remoção da força. Distância que os alimentos recuperaram sua altura durante o tempo entre o final da primeira mordida e o início da segunda mordida ($\text{distância 2 (D}_2\text{)} / \text{distância 1 (D}_1\text{)}$).
- Coesividade (*Cohesiveness*) – grau no qual um alimento pode ser deformado antes de se romper. Proporção das áreas de força positiva sob as primeiras e segundas compressões (A_2/A_1).
- Resiliência (*Resilience*) – quanto um produto luta para recuperar sua forma e tamanho originais. É a área sob a curva após o pico de força ser atingido dividida pela área sob a curva antes do pico de força ser atingido.

A análise e modelagem da alteração da textura do miolo durante o armazenamento permite uma melhor compreensão dos mecanismos de endurecimento do miolo. A equação não linear pode ser utilizada como uma descrição da transformação de uma fase (estado da matéria) para outra e, consequentemente, para descrever o aumento da firmeza durante o armazenamento (Jekle & Becker, 2012). A taxa de envelhecimento é determinada dividindo-se os aumentos na dureza do miolo pelo seu tempo de armazenamento (Zhang et al., 2019).

No modelo proposto por Amigo et al. (2016) o processo de envelhecimento do pão é tratado como uma mudança de fase estrutural, em que o amido passa de um estado amorfo, característico do pão fresco, para um estado semicristalino, associado à retrogradação das cadeias de amilose e amilopectina. Para descrever essa transformação, os autores ajustaram os dados de dureza à equação de Avrami, considerando que o envelhecimento pode ser modelado como uma transição de ordem estrutural semelhante a um processo de cristalização.

2.6.3 Análise térmica - Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A retrogradação da amilopectina é conhecida por ser um grande contribuidor do mecanismo de envelhecimento de pães durante o armazenamento/comercialização (Gray & Bemiller, 2003; Fadda et al., 2014). Esse processo envolve associações intermoleculares que levam à formação de agregados cristalinos, alterando a estrutura e a dureza do miolo ao longo do tempo (Ribotta et al., 2004). Além disso, a temperatura de transição vítrea (T_g) exerce influência significativa sobre esse fenômeno, pois está diretamente relacionada à mobilidade molecular dos componentes da matriz. Abaixo da T_g , o sistema se encontra em um estado vítreo, com baixa mobilidade molecular. Já acima da T_g a mobilidade aumenta, favorecendo a reorganização das cadeias de amido, a perda de maciez e, conseqüentemente, a aceleração do envelhecimento do pão.

Tanto a retrogradação como a temperatura de T_g podem ser determinadas por diferentes métodos, como: métodos térmicos; reológicos; espectroscópicos, técnicas cromatográficas; difração de raios X, espalhamento de luz; métodos mecânicos e análises de imagens microscópicas (Wang et al., 2015). Os métodos térmicos têm sido amplamente usados para estudar e monitorar o envelhecimento de pães (Bhatt & Nagaraju, 2009; Chen et al., 2021; Ding et al., 2019; Fearn & Russell, 1982; Jekle et al., 2018; Li et al., 2024a; Li et al., 2024c; Ribotta & Le Bail, 2007; Xie et al., 2004; Zhang et al., 2019).

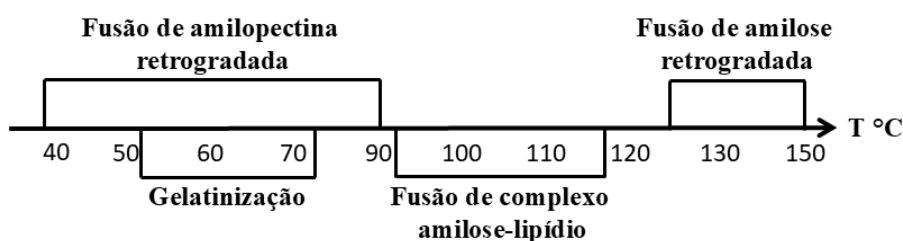
A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica termoanalítica amplamente empregada para investigar as transições associadas ao envelhecimento do pão. Durante o aquecimento, após o congelamento, amostras com elevado teor de umidade podem apresentar um pico endotérmico inicial correspondente à fusão da água congelável, cuja posição pode se sobrepor à T_g em sistemas ricos em água (Zhao et al., 2020). Em seguida, são observadas as transições relacionadas à gelatinização, fusão e recristalização de amido, além de interações com outros componentes da matriz, como proteínas e lipídios (Schiraldi et al., 2009).

Outro fenômeno importante que pode ser detectado por DSC é a formação de complexos amilose-emulsificante (ou amilose-lipídio). Esses complexos são estruturas helicoidais estáveis formadas por interações hidrofóbicas entre a cavidade da hélice da amilose e a porção apolar do emulsificante (Collar et al., 2015; Gu et al., 2025). A formação de complexos amido-lipídios pode reduzir o poder de intumescimento e a solubilidade do amido, retardar a retrogradação do amido (Zhou et al., 2025). Dessa forma, a análise térmica permite identificar, em uma única curva, múltiplos eventos

associados à água, ao amido e às interações amido-emulsificante, fornecendo uma visão abrangente dos mecanismos físico-químicos do envelhecimento.

Nos termogramas as transições de fase de primeira ordem são observadas na forma de picos, associados a entalpias endotérmicas ou exotérmicas. Em contraste, a temperatura de transição vítrea (T_g), por se tratar de uma transição de segunda ordem, é identificada como uma mudança na linha de base do termograma, relacionada à variação da capacidade calorífica do sistema. Gelatinização, desnaturação, fusão e evaporação estão associadas a picos endotérmicos, enquanto picos exotérmicos são observados em processos de oxidação, cristalização e congelamento (Dehghannya & Ngadi, 2024). A Figura 7 apresenta as faixas de temperatura em que ocorrem os principais eventos térmicos associados ao amido identificados na análise de DSC.

Figura 7. Principais eventos térmicos associados ao amido detectados por DSC.



Fonte: Elaborado pela autora com base em Matuda (2004) e Schiraldi et al. (2009).

A técnica consiste em medir as variações de energia associadas a transições físicas ou químicas de uma amostra quando ela é submetida a um aquecimento ou resfriamento programado. Nessa técnica, registra-se a diferença na absorção de energia entre a amostra e um material de referência em função da temperatura, sob um regime controlado de aquecimento (Wang et al., 2015; Ma et al., 1999). A análise DSC permite determinar com precisão as temperaturas e as entalpias associadas a mudanças de estado dos componentes do pão como amido, proteínas, lipídios e água, medindo a energia absorvida ou liberada durante as transformações térmicas (Homer et al., 2014).

As vantagens desta técnica na avaliação de qualidade de pães são: possibilidade de análises para diferentes conteúdos de água; determinação direta da energia requerida para fusão e retrogradação de amido, sendo um método rápido que não necessita de preparação especial e requer pequena quantidade de amostra. O conteúdo de água na

amostra, assim como a razão de aquecimento modifica o perfil das curvas geradas pelo DSC (Matuda, 2004).

Para análise de retrogradação o DSC determina a energia necessária para derreter a amilopectina recristalizada após o armazenamento (Zhang et al., 2019). Em geral, a temperatura de fusão da amilopectina recristalizada é de 40 - 65 °C (Li et al., 2024b). Parâmetros térmicos como temperatura de início (T_o), temperatura de conclusão (T_c), temperatura de pico (T_p) e entalpia de fusão (ΔH_g e ΔH_f) são analisados a partir de termogramas (Li, et al., 2024c).

Li et al. (2024a), utilizaram calorimetria diferencial de varredura (DSC) para avaliar a retrogradação da amilopectina em pães com fermentação natural. Após sete dias de armazenamento, observou-se aumento nas entalpias de fusão da amilopectina, indicando recristalização. No entanto, os pães fermentados naturalmente apresentaram menores valores de entalpia em comparação ao controle, evidenciando uma retrogradação reduzida e taxas de envelhecimento mais lentas. Ding et al. (2019), também utilizaram DSC para avaliar a influência do maltitol, um poliol derivado da maltose, nas propriedades térmicas do amido e no envelhecimento de pães. Segundo os autores quanto maior a quantidade de maltitol adicionada, menor a entalpia (ΔH) observada, indicando que a matriz se torna termicamente menos estável e menos propensa à recristalização após a adição de maltitol, contribuindo para o retardamento do envelhecimento do pão. Já Li et al. (2024b) utilizaram DSC para investigar a transição vítrea (T_g) da massa do pão contendo dextrana com diferentes massas moleculares e sua relação com as propriedades macroscópicas da massa. Foram identificados dois comportamentos distintos de T_g , atribuídos ao relaxamento de duas fases amorfas, associadas a interações estruturais entre glúten e amido. Essas transições ocorreram devido à formação de ligações físicas intra e intercadeia, além de emaranhamentos moleculares, refletindo a complexidade da matriz da massa.

2.6.4 Análise espectroscópica vibracional

A espectroscopia vibracional permite a caracterização molecular com base nas vibrações de átomos e moléculas, sendo que as modalidades espectroscópicas vibracionais mais utilizadas são espectroscopia infravermelha e Raman. Quando a radiação infravermelha incide sobre uma amostra, as ligações entre os átomos vibram devido à absorção de energia. Cada molécula e grupo funcional apresenta picos de absorção característicos, correspondentes às frequências específicas de suas vibrações

moleculares. Esses picos permitem a identificação e caracterização das substâncias analisadas (Mukherjee & Gowen, 2015).

A espectroscopia infravermelha é subdividida em três categorias (Mukherjee & Gowen, 2015):

- Infravermelho próximo (NIR - Near Infrared Spectroscopy) – região dentro da faixa de frequência de 780 – 2500 nm ou 12.800 – 4000 cm^{-1} , que é sensível a sobretons e combinações de vibrações de bandas fundamentais de vibração molecular;
- Infravermelho médio (MIR - Mid Infrared Spectroscopy) - região dentro da faixa de frequência de 2500 – 25000 nm ou 4000 – 400 cm^{-1} ;
- Infravermelho distante (FIR - Far Infrared Spectroscopy) - abrangendo 25000 – 1000.000 nm ou 400 – 10 cm^{-1} , empregado para estudar rotações.

Embora os métodos de detecção de envelhecimento de pães tradicionais possam ser confiáveis, eles são limitados por pré-tratamento de amostra complicado e processos de análise demorados. O método espectroscópico vibracional é o mais conveniente, provavelmente devido à sua rápida velocidade de medição, pouca ou nenhuma preparação de amostra e pode medir vários parâmetros de qualidade simultaneamente (Ringsted et al., 2017).

Segundo Xie et al. (2003) a espectroscopia NIR começou a ser aplicada em 1986 para o estudo dos constituintes e parâmetros de qualidade do pão. Posteriormente, em 1991, foi usada pela primeira vez para investigar o processo de envelhecimento do pão. Em 1996, a técnica passou a ser empregada para avaliar as interações entre amido e água na matriz do pão, e, em 1998, para examinar a cristalinidade do amido em amostras de miolo armazenadas, consolidando o uso da espectroscopia NIR como uma ferramenta eficaz para o monitoramento não destrutivo do frescor e da estabilidade estrutural do produto.

A perda de frescor dos pães é avaliada pela espectroscopia NIR através de três alterações físico-químicas que ocorrem no miolo do pão durante o armazenamento: a dispersão de luz do miolo; alterações na umidade e distribuição de umidade, e alterações estruturais do componente amilopectina do amido de trigo (Xie et al., 2003; Xie et al., 2004). Essas alterações estão relacionadas principalmente à retrogradação progressiva da amilopectina durante o armazenamento, que provoca modificações estruturais na matriz do miolo e, conseqüentemente, mudanças nas propriedades de espalhamento da luz, observadas nos espectros NIR (Amigo et al., 2019)

A espectroscopia MIR tem sido amplamente utilizada para investigar as mudanças estruturais de amido predominantemente amorfa, característica de pão fresco, para uma estrutura mais organizada e cristalina, típica de pão envelhecido. Essa transformação está associada ao aumento do conteúdo de dupla hélice e do alinhamento molecular do amido, fenômeno conhecido como ordem de curto alcance (Ringsted et al., 2017; Sevenou et al., 2002; Wilson et al., 1991).

No entanto, a espectroscopia MIR é normalmente aplicada na configuração de reflexão total atenuada (ATR), que fornece uma área de amostragem reduzida, podendo gerar resultados não representativos de amostras de pão. Embora existam cristais ATR de múltiplas reflexões, a presença de vazios e irregularidades na estrutura do miolo dificulta o contato adequado e reproduzível com o elemento de reflexão (Ringsted et al., 2017). Nesse sentido, a espectroscopia NIR surge como uma alternativa vantajosa, pois aumenta a área efetiva de amostragem e penetra mais profundamente na matriz do pão, fornecendo informações mais representativas sobre o material (Engelsen, 2016).

Quando as informações físicas nos espectros são minimizadas, tanto o NIR quanto o MIR fornecem informações químicas complementares, com base nas vibrações moleculares de grupos funcionais como O-H, C-H, e C-O. Contudo, essas bandas podem ser influenciadas de maneiras ligeiramente diferentes pelas interações intermoleculares (Engelsen, 2016). Alguns estudos usaram espectroscopia NIR e/ou MIR para compreender, verificar e monitorar a perda de frescor em pão durante o tempo de armazenamento (Al-Mahsaneh et al., 2018; Amigo et al., 2019; An et al., 2023; Neves et al., 2023; Ringsted et al., 2017; Wilson et al., 1991; Xie et al., 2003; Xie et al., 2004).

Amigo et al. (2019) monitoraram o envelhecimento do pão tratado com α -amilases por meio de espectroscopia NIR, correlacionando os dados espectrais com a análise do perfil de textura espacial em termos de dureza, utilizando ferramentas quimiométricas. A análise permitiu distinguir claramente os espectros das três zonas do miolo (superior, intermediária e inferior), refletindo diferentes reações químicas ao longo do armazenamento. Também foram observadas distinções espectrais entre os diferentes tratamentos com enzimas. No pão controle, bandas específicas em 974 nm e 1412 nm estiveram associadas ao endurecimento. No entanto, essa correlação foi rompida nas amostras tratadas com enzimas, que apresentaram estabilidade tanto espectral quanto de textura durante todo o período de armazenamento. Neves et al. (2023) usaram a espectroscopia NIR portátil para investigar, em tempo real, o envelhecimento do pão branco, com os dados divididos em dois intervalos (0 – 6 h e 6 – 48 h). Os principais

eventos estruturais analisados foram a cristalização da amilopectina e a perda de água do miolo para a crosta. A análise permitiu identificar a ordem dos processos envolvidos no envelhecimento, incluindo a cristalização da amilopectina, a evaporação e redistribuição de diferentes estados físico-químicos da água (livre e ligada) e a subsequente reorganização das funcionalidades do amido.

An et al. 2023 combinaram a espectroscopia NIR, MIR e Raman por meio de estratégia de fusão de dados e modelagem de regressão de mínimos quadrados parciais (PLS), para prever o grau de envelhecimento do pão chinês cozido (CSB) armazenado por 16 dias, de acordo com três indicadores de envelhecimento: fração de amilose de amido solúvel, cristalinidade relativa e dureza. Os resultados mostraram que é possível prever o envelhecimento do pão através das análises espectroscópicas, porém o modelo Raman isolado teve melhor desempenho que os modelos NIR e MIR individuais. Ringsted et al. (2017) abordaram o uso da espectroscopia de correlação bidimensional aplicada aos espectros NIR e MIR do pão de trigo durante o envelhecimento. A pesquisa identificou regiões específicas do NIR altamente correlacionadas com as bandas do MIR associadas à retrogradação da amilopectina, bem como com o aumento da dureza do pão durante o armazenamento. Esses resultados demonstram que tanto a retrogradação da amilopectina quanto a perda de água podem ser monitoradas eficientemente por meio das espectroscopias NIR e MIR, demonstrando o potencial dessas técnicas como ferramentas para o acompanhamento do envelhecimento do pão, além da contribuição para o desenvolvimento de estratégias de controle de qualidade e para a redução de desperdícios na indústria de panificação.

REFERÊNCIAS

- ABU-GHOUSH, M. *et al.* Effect of preservatives addition on the shelf-life extensions and quality of flat bread as determined by near-infrared spectroscopy and texture analysis. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, n. 2, p. 357–364, 2008.
- AI, J. *et al.* Anti-staling of high-moisture starchy food: Effect of hydrocolloids, emulsifiers and enzymes on mechanics of steamed-rice cakes. **Food Hydrocolloids**, v. 83, p. 454–464, 2018.
- AL-MAHSANEH, M. *et al.* Using MR-FTIR and Texture Profile to Track the Effect of Storage Time and Temperature on Pita Bread Staling. **Journal of Food Quality**, v. 2018, 2018.
- AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods**. 9th ed. Saint Paul, 1995. methods.
- AMIGO, J. M. *et al.* Staling of white wheat bread crumb and effect of maltogenic α -amylases. Part 1: Spatial distribution and kinetic modeling of hardness and resilience. **Food Chemistry**, v. 208, p. 318–325, 2016.
- AMIGO, J. M. *et al.* Staling of white wheat bread crumb and effect of maltogenic α -amylases. Part 2: Monitoring the staling process by using near infrared spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 297, 2019.
- AN, H. *et al.* Quantitative analysis of Chinese steamed bread staling using NIR, MIR, and Raman spectral data fusion. **Food Chemistry**, v. 405, 2023.
- ANANDA, J.; PEARSON, D.; OAKDEN, S. Breaking bread: Assessment of household bread waste incidence and behavioural drivers. **Journal of Cleaner Production**, v. 471, p. 143377, 2024.
- ARP, C. G.; CORREA, M. J.; FERRERO, C. Kinetic study of staling in breads with high-amylose resistant starch. **Food Hydrocolloids**, v. 106, p. 105879, 2020.
- AZIZI, M. H.; RAJABZADEH, N.; RIAHI, E. Effect of mono-diglyceride and lecithin on dough rheological characteristics and quality of flat bread. **LWT - Food Science and Technology**, v. 36, n. 2, p. 189–193, 2003.
- BECHTEL, W. G.; MEISNER, D. F.; BRADLEY, W. B. The effect of crust on the staling of bread. **Cereal Chemistry**, v. 39, 1953.
- BHATT, C. M.; NAGARAJU, J. Studies on glass transition and starch re-crystallization in wheat bread during staling using electrical impedance spectroscopy. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 10, n. 2, p. 241–245, 2009.

BORGES, J. T. S. *et al.* Caracterização físico-química e sensorial de pão de forma contendo farinha mista de trigo e quinoa. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 15, 2013.

BOSMANS, G. M. *et al.* Impact of amylases on biopolymer dynamics during storage of straight-dough wheat bread. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 26, p. 6525–6532, 2013.

BOURNE, M. **Food texture and viscosity: concept and measurement**. Elsevier ed. 2002

BRANCOLI, P. *et al.* Bread loss rates at the supplier-retailer interface – Analysis of risk factors to support waste prevention measures. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 147, p. 128–136, 2019.

BRANCOLI, P.; ROUSTA, K.; BOLTON, K. Life cycle assessment of supermarket food waste. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 118, p. 39–46, 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 383, de 05 de agosto de 1999. **Regulamento técnico que aprova o uso de aditivos alimentares estabelecendo suas funções e seus limites máximos para a categoria de alimentos – produtos de panificação e biscoitos**. Diário Oficial da União: Poder Executivo, Brasília, DF, 1999.

BUERA, M. P. *et al.* Differential scanning calorimetry glass transition temperatures of white bread and mold growth in the putative glassy state. **Cereal Chemistry**, v. 75, n. 1, p. 64–69, 1998.

CAO, Y. *et al.* Influence of emulsifiers and enzymes on dough rheological properties and quality characteristics of steamed bread enriched with potato pulp. **Food Chemistry**, v. 360, 2021.

CAUVAIN, S. P.; YOUNG, L. S. **Tecnologia da panificação**. 2ª ed. Editora Americana, 2009.

CHAMPION, D.; LE MESTE, M.; SIMATOS, D. Towards an improved understanding of glass transition and relaxations in foods: molecular mobility in the glass transition range. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, n. 2, p. 41–55, 2000.

CHEN, X. *et al.* Effect of fish skin gelatin on characteristics and staling properties of bread made from pre-baked frozen dough. **Food Bioscience**, v. 55, p. 103070, 2023.

CHEN, Y. *et al.* Influence of Amylase Addition on Bread Quality and Bread Staling. **ACS Food Science and Technology**, v. 1, n. 6, p. 1143–1150, 2021.

CUQ, B.; ABECASSIS, J.; GUILBERT, S. State diagrams to help describe wheat bread processing. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 38, n. 7, p. 759–766, 2003.

CURTI, E. *et al.* Bread staling: Effect of gluten on physico-chemical properties and molecular mobility. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 418–425, 2014.

CURTI, E. *et al.* Effect of bran on bread staling: Physico-chemical characterization and molecular mobility. **Journal of Cereal Science**, v. 65, p. 25–30, 2015.

CUSTOM MARKET INSIGHTS. **Bread Market Size, Trends and Insights by Product Type (Bread & Buns, Cakes & Pastries), by Category (Conventional, Gluten-free), by Distributional Channel (Supermarket & Hypermarket, Bakery, Online), and by Region - Global Industry Overview, Statistical Data, Competitive Analysis, Share, Outlook, and Forecast 2023–2030**. 2023.

COLLAR, C. *et al.* Significance of thermal transitions on starch digestibility and firming kinetics of restricted water mixed flour bread matrices. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 169–179, 20 maio 2015.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de alimentos de Fennema**. Artmed Editora. 2018

DEHGHANNYA, J.; NGADI, M. **The Application of Glass Transition Temperature in the Frying of Starchy Foods: A Review**. **Food Reviews International** Taylor and Francis Ltd. 2024.

DENARDIN, C. C.; SILVA, L. P. DA. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v. 39, n. 3, p. 945–954, 2009.

DING, S. *et al.* Evaluation of specific volume, texture, thermal features, water mobility, and inhibitory effect of staling in wheat bread affected by maltitol. **Food Chemistry**, v. 283, p. 123–130, 2019.

ENGELSEN, S. B. Near Infrared Spectroscopy—A Unique Window of Opportunities. **NIR news**, v. 27, n. 5, p. 14–17, 2016.

ERIKSSON, M.; STRID, I.; HANSSON, P. A. Carbon footprint of food waste management options in the waste hierarchy – a Swedish case study. **Journal of Cleaner Production**, v. 93, p. 115–125, 2015.

FADDA, C. *et al.* Bread staling: Updating the view. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** Blackwell Publishing Inc., 2014.

FARDET, A. New hypotheses for the health-protective mechanisms of whole grain cereals: what is beyond fibre. **Nutrition research reviews**, v. 23, p. 65–134, 2010.

FEARN, T.; RUSSELL, P. L. A kinetic study of bread staling by differential scanning calorimetry. The effect of loaf specific volume. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 33, n. 6, p. 537–548, 1982.

FRANCO, M. *et al.* Understanding the influence of the arabinoxylan-rich psyllium (*Plantago ovata*) husk on dough elasticity and bread staling: Interplay between biopolymer and water dynamics. **Food Hydrocolloids**, v. 154, p. 110099, 2024.

FRIEDMAN, H. H.; WHITNEY, J. E.; SZCZEZNAK, A. S. The texturometer – a new instrument for objective texture measurement. **Journal of Food Science**, v. 28, p. 390–396, 1963.

GAUPP, R.; ADAMS, W. Diacetyl tartaric esters of monoglycerides (DATEM) and associated emulsifiers in bread making. **Emulsifiers in food technology**, p. 121–146, 2014.

GIANNONE, V. *et al.* A novel α -amylase-lipase formulation as anti-staling agent in durum wheat bread. **LWT**, v. 65, p. 381–389, 2016.

GOESAERT, H. *et al.* Amylases and bread firming – an integrated view. **Journal of Cereal Science**, v. 50, n. 3, p. 345–352, 2009.

GOMES-RUFFI, C. R. *et al.* Effect of the emulsifier sodium stearyl lactylate and of the enzyme maltogenic amylase on the quality of pan bread during storage. **LWT**, v. 49, n. 1, p. 96–101, 2012.

GÓMEZ, M. *et al.* Functionality of different emulsifiers on the performance of breadmaking and wheat bread quality. **European Food Research and Technology**, v. 219, n. 2, p. 145–150, 2004.

GU, M. *et al.* Efficient preparation of starch-lipid complexes: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 302, p. 140544, 1 abr. 2025.

GRAUSGRUBER, H. *et al.* Influence of dough improvers on whole-grain bread quality of einkorn wheat. **Acta Alimentaria**, v. 37, n. 3, p. 379–390, 2008.

GRAY, J. A.; BEMILLER, J. N. Bread Staling: Molecular Basis and Control **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. v. 2, p. 1-23, 2003.

GUO, W.; BUDTOVA, T.; MARTINEZ, M. M. Upcycling stale bread into (meso)porous materials: Xerogels and aerogels. **Food Hydrocolloids**, v. 160, p. 110807, 2025.

HADIYANTO *et al.* Quality prediction of bakery products in the initial phase of process design. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 8, n. 2, p. 285–298, 2007.

- HALLBERG, L. M.; CHINACHOTI, P. Dynamic Mechanical Analysis for Glass Transitions in Long Shelf-Life Bread. **Journal of Food Science**, v. 57, n. 5, p. 1201–1229, 1992.
- HOMER, S.; KELLY, M.; DAY, L. Determination of the thermo-mechanical properties in starch and starch/gluten systems at low moisture content – A comparison of DSC and TMA. **Carbohydrate Polymers**, v. 108, n. 1, p. 1–9, 2014.
- HONG, T. *et al.* Comparative study of soluble soybean polysaccharides on bread staling under acidic conditions. **Food Chemistry**, v. 400, 2023.
- HU, X. *et al.* An extensive review: How starch and gluten impact dough machinability and resultant bread qualities. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. Taylor and Francis Ltd., v. 63, p. 1930-1941, 2023.
- HUANG, V. T. *et al.* Glass transitions in starch, gluten and bread as measured. Dielectric spectroscopy and TMA methods. **Journal of Thermal Analysis**. 1996.
- JAGANNATH, J. H.; JAYARAMAN, K. S.; ARYA, S. S. Studies on Glass Transition Temperature during Staling of Bread Containing Different Monomeric and Polymeric Additives. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 71, n. 7, p. 1147–1152, 1999.
- JEKLE, M.; FUCHS, A.; BECKER, T. A normalized texture profile analysis approach to evaluate firming kinetics of bread crumbs independent from its initial texture. **Journal of Cereal Science**, v. 81, p. 147–152, 2018.
- KANG, N. *et al.* Antistaling effects of hydrocolloids and modified starch on bread during cold storage. **LWT**, v. 96, p. 13–18, 2018.
- KATZ, J. R. Gelatinization and retrogradation of starch in relation to the problem of bread staling. **Comprehensive Survey of Starch Chemistry**, v. 1, 1928.
- KOHAJDOVÁ, Z.; KAROVIČOVÁ, J.; SCHMIDT, Š. Significance of Emulsifiers and Hydrocolloids in Bakery Industry. **Acta Chimica Slovaca**. v. 2, n. 1, p. 46-61, 2009.
- KOTSIU, K. *et al.* Physicochemical and functional aspects of composite wheat-roasted chickpea flours in relation to dough rheology, bread quality and staling phenomena. **Food Hydrocolloids**, v. 124, 2022.
- LAGRAIN, B. *et al.* Importance of Gluten and Starch for Structural and Textural Properties of Crumb from Fresh and Stored Bread. **Food Biophysics**, v. 7, n. 2, p. 173–181, 2012.
- LASSOUED, N. *et al.* Baked product texture: Correlations between instrumental and sensory characterization using Flash Profile. **Journal of Cereal Science**, v. 48, n. 1, p. 133–143, 1 jul. 2008.

LI, M. *et al.* Effects of sourdough on bread staling rate: From the perspective of starch retrogradation and gluten depolymerization. **Food Bioscience**, v. 59, 2024a.

LI, S. *et al.* Correlation of glass transition features and macroscopic, mesoscopic properties of dough regulated by molecular weight of dextran. **Food Hydrocolloids**, v. 151, p. 109844, 2024b.

LI, S. *et al.* Effects of dextran molecular weight on starch retrogradation and technological properties of Chinese steamed bread: Based on the rubber/glass transition. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 270, p. 131887, 2024c.

LIRA, A. P. **APLICAÇÃO DE FARINHAS DE COGUMELOS NA PRODUÇÃO DE PÃO E AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS E SENSORIAIS**. Orientadora: Silmara Almeida de Carvalho. Dissertação Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga. 2017.

LIU, S. *et al.* Enhancing bread anti-staling with glucose-derived Maillard reaction products: In-depth analysis of starches, gluten networks, and moisture status. **Food Chemistry**, v. 455, p. 139760, 2024.

MA, C. Y.; HARWALHAR, V. R.; MAURICE, T. J. Instrumentation and techniques of thermal analysis in food research. **Thermal Analysis of Foods**, p. 1–15, 1999.

MA, M. *et al.* Evaluation of texture, retrogradation enthalpy, water mobility, and anti-staling effects of enzymes and hydrocolloids in potato steamed bread. **Food Chemistry**, v. 368, 2022.

MANZOCCO, L. *et al.* Effect of monoglyceride-oil–water gels on white bread properties. **Food Research International**, v. 49, n. 2, p. 778–782, 2012.

MATUDA, T. G. **ANÁLISE TÉRMICA DA MASSA DE PÃO FRANCÊS DURANTE OS PROCESSOS DE CONGELAMENTO E DESCONGELAMENTO: OTIMIZAÇÃO DO USO DE ADITIVOS**. Orientadora: Carmem Cecília Tadini. Dissertação mestrado em Engenharia química - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo. 2004.

MATVEEV, Y. I.; GRINBERG, V. Y.; TOLSTOGUZOV, V. B. The plasticizing effect of water on proteins, polysaccharides and their mixtures. Glassy state of biopolymers, food and seeds. **Food Hydrocolloids**, v. 14, n. 5, p. 425–437, 2000.

MOAYEDALLAIE, S.; MIRZAEI, M.; PATERSON, J. Bread improvers: Comparison of a range of lipases with a traditional emulsifier. **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 495–499, 2010.

MONDAL, A.; DATTA, A. K. Bread baking – A review. **Journal of Food Engineering**, v. 86, n. 4, p. 465–474, 2008.

MONTEAU, J. Y. et al. Water transfer in bread during staling: Physical phenomena and modelling. **Journal of Food Engineering**, v. 211, p. 95–103, 2017.

MORITA, N.; NISHIURA, Y.; HAMAIZUMI, Z. Effects of Calcium Gluconate and Stearoyl-2-Lactylate on Physical Properties of Wheat Flour Dough Baked in Home Breadmaking Apparatus. **J. Appl. Glycosci.** v. 43, n. 4, p. 507-516. 1996.

MUKHERJEE, S.; GOWEN, A. A review of recent trends in polymer characterization using non-destructive vibrational spectroscopic modalities and chemical imaging. **Analytica Chimica Acta**, v. 895, p. 12–34, 2015.

MYGDALIA, A. S. *et al.* A sourdough process based on fermented chickpea extract as leavening and anti-staling agent for improving the quality of gluten-free breads. **Food Research International**, v. 159, 2022.

NEVES, G. M.; NODA, I.; SIESLER, H. W. Investigation of bread staling by handheld NIR spectroscopy in tandem with 2D-COS and MCR-ALS analysis. **Microchemical Journal**, v. 190, 2023.

ORTOLAN, F.; STEEL, C. J. Protein characteristics that affect the quality of vital wheat gluten to used in baking: a review. **Comprehensive reviews in Food Science and Food Safety**. v. 16, n. 3, p. 369-381, 2017.

OTTENHOF, M. A.; FARHAT, I. A. The effect of gluten on the retrogradation of wheat starch. **Journal of Cereal Science**, v. 40, n. 3, p. 269–274, 2004.

OWENS, GAVIN. **Cereals processing technology**. Woodhead Publishing, 2011.

OYEYINKA, S. A.; SINGH, S.; AMONSOU, E. O. A review on structural, digestibility and physicochemical properties of legume starch-lipid complexes. **Food Chemistry**, v. 349, p. 129165, 2021.

PAREYT, B. *et al.* Lipids in bread making: Sources, interactions, and impact on bread quality. **Journal of Cereal Science**, v. 54, n. 3, p. 266–279, 2011.

PÉREZ, S.; BERTOFT, E. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review. **Starch/Staerke**, v. 62, p. 389-420, 2010.

PILAFIDIS, S. *et al.* From bread waste to bacterial cellulose nanostructures: Development of a novel rotating disk bioreactor. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 314, p. 144374, 2025.

PURHAGEN, J. K.; SJÖÖ, M. E.; ELIASSON, A. C. Starch affecting anti-staling agents and their function in freestanding and pan-baked bread. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 7, p. 1656–1666, 2011.

PURLIS, E. Browning development in bakery products – A review. **Journal of Food Engineering**, v. 99, n. 3, p. 239–249, 2010.

RADUJKO, I. *et al.* The influence of combined emulsifier 2 in 1 on physical and crystallization characteristics of edible fats. **European Food Research and Technology**, v. 232, p. 899–904, 2011.

RAHMAN, M. S. State diagram of foods: Its potential use in food processing and product stability. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, n. 3, p. 129–141, 2006.

RAJKUMAR. D; PANDIYAN. J. Effect of emulsifier calcium stearoyl lactate on characteristics of bread. **J. Soils and Crops**, v. 33, p. 132–137, 2023.

RIBOTTA, P. D. *et al.* Effect of emulsifier and guar gum on micro structural, rheological and baking performance of frozen bread dough. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 305–313, 2004.

RIBOTTA, P. D.; LE BAIL, A. Thermo-physical assessment of bread during staling. **LWT - Food Science and Technology**, v. 40, n. 5, p. 879–884, 2007.

RINGSTED, T.; SIESLER, H. W.; ENGELSEN, S. B. Monitoring the staling of wheat bread using 2D MIR-NIR correlation spectroscopy. **Journal of Cereal Science**, v. 75, p. 92–99, 2017.

RONDA, F. *et al.* Fermentation time and fiber effects on recrystallization of starch components and staling of bread from frozen part-baked bread. **Journal of Food Engineering**, v. 131, p. 116–123, 2014.

RONDA, F.; ROOS, Y. H. Staling of fresh and frozen gluten-free bread. **Journal of Cereal Science**, v. 53, n. 3, p. 340–346, 2011.

ROUDAUT, G.; MAGLIONE, M.; LE MESTE, M. Relaxations below glass transition temperature in bread and its components. **Cereal Chemistry**, v. 76, n. 1, p. 78–81, 1999.

RUDNEV, S. D. *et al.* Technology and theory of mechanically activated water in bakery industry. 2021.

SANTOS, F. G.; CAPRILES, V. D. Relationships between dough thermomechanical parameters and physical and sensory properties of gluten-free bread texture during storage. **LWT**, v. 139, 2021.

SCHIRALDI, A.; FESSAS D.; SIGNORELLI, M. Use of thermal analysis to design and monitor cereal processing. In: KALETUNÇ G. Calorimetry in food processing: Analysis and design of food systems. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell/IFT Press, 2009. p. 275 - 287

SCOTT, G.; AWIKA, J. M. Effect of protein–starch interactions on starch retrogradation and implications for food product quality. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety John Wiley and Sons Inc**, v. 22, p. 2081-2111, 2023.

SEHN, G. A. R. **DESENVOLVIMENTO DE PADRÕES REOLÓGICOS PARA FARINHAS DE TRIGO E ESTUDO DO ENVELHECIMENTO DE PÃES DE FORMA INTEGRAIS**. Orientadora: Caroline Joy Steel. Tese de doutorado em Tecnologia de Alimentos – Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 2015.

SEVENOU, O. *et al.* Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 31, n. 1–3, p. 79–85, 2002.

SLADE, L.; LEVINE, R.; REID, D. S. Beyond Water Activity: Recent Advances Based on an Alternative Approach to the Assessment of Food Quality and Safety. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 30, n. 2–3, p. 115–360, 1991.

STAMPFLI, L.; NERSTEN, B. Emulsifiers in bread making. **Food Chemistry**. 1995

TAGLIERI, I. *et al.* Overcoming bread quality decay concerns: main issues for bread shelf life as a function of biological leavening agents and different extra ingredients used in formulation. A review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 101, p. 1732-1743, 2021.

TEBBEN, L. *et al.* Improvement of whole wheat dough and bread properties by emulsifiers. **Grain & Oil Science and Technology**, v. 5, n. 2, p. 59–69, 2022.

TIAN, Y. Q. *et al.* β -Cyclodextrin (β -CD): A new approach in bread staling. **Thermochimica Acta**, v. 489, n. 1–2, p. 22–26, 2009.

VAN NIEUWENHUIJZEN, N. H. *et al.* Relations between sensorial crispness and molecular mobility of model bread crust and its main components as measured by PTA, DSC and NMR. **Food Research International**, v. 43, n. 1, p. 342–349, 2010.

VANDEPUTTE, G. E.; DELCOUR, J. A. From sucrose to starch granule to starch physical behaviour: a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, n. 3, p. 245–266, 2004.

WANG, L. *et al.* Effect of buckwheat hull particle-size on bread staling quality. **Food Chemistry**, v. 405, 2023a.

- WANG, L. *et al.* Effects of Chinese chestnut powder on starch digestion, texture properties, and staling characteristics of bread. **Grain and Oil Science and Technology**, v. 6, n. 2, p. 82–90, 2023b.
- |WANG, S. *et al.* Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 5, p. 568–585, 2015.
- WANG, Y.; ZHOU, W. Non-Equilibrium States and Glass Transitions in Bakery Products. **Non-Equilibrium States and Glass Transitions in Foods: Processing Effects and Product-Specific Implications**, p. 63–87, 2017.
- WIESER, H. Chemistry of gluten proteins. **Food Microbiology**, v. 24, n. 2, p. 115–119, 2007.
- WILSON, R. H. *et al.* Comparison of fourier transform mid infrared spectroscopy and near infrared reflectance spectroscopy with differential scanning calorimetry for the study of the staling of bread. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 54, n. 3, p. 471–483, 1991.
- XIE, F.; DOWELL, F. E.; SUN, X. S. Comparison of near-infrared reflectance spectroscopy and texture analyzer for measuring wheat bread changes in storage. **Cereal Chemistry**, v. 80, n. 1, p. 25–29, 2003.
- XIE, F.; DOWELL, F. E.; SUN, X. S. Using Visible and Near-Infrared Reflectance Spectroscopy and Differential Scanning Calorimetry to Study Starch, Protein, and Temperature Effects on Bread Staling. **Cereal Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 249–254, 2004.
- ZHANG, Y. *et al.* Roles of dextran, weak acidification and their combination in the quality of wheat bread. **Food Chemistry**, v. 286, p. 197–203, 2019.
- ZHAO, J. H. *et al.* New insight into quality changes in bread dough under different state/phase transitions during frozen storage. **Food Hydrocolloids**, v. 166, p. 111319, 2025.
- ZHOU, B. *et al.* Starch-lipid complexes and their application: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 310, p. 142928, 1 maio 2025.
- ZHU, F.; LIU, P. Starch gelatinization, retrogradation, and enzyme susceptibility of retrograded starch: Effect of amylopectin internal molecular structure. **Food Chemistry**, v. 316, p. 126036, 2020.
- ZOBEL, H. F.; KULP, K. The staling mechanism. **Food Science and Technology - New York - Marcel Dekker.**, p. 1 – 64, 1996.

CAPÍTULO II: Objetivos

1 OBJETIVOS

1.1 Objetivo geral

Avaliar os efeitos de diferentes emulsificantes nas propriedades químicas, físicas, térmicas e espectroscópicas do pão de forma utilizando ferramentas quimiométricas como abordagem integradora para a análise e compreensão do processo de envelhecimento durante o armazenamento.

1.2 Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos de emulsificantes SSL, CSL, DATEM e DMG, no envelhecimento do pão de forma, por meio de parâmetros químicos (umidade e atividade de água), físico (volume específico), de textura (dureza e elasticidade) e térmicos, durante 30 dias de armazenamento;
- Relacionar as mudanças na temperatura de transição vítrea (T_g) com as propriedades de textura e umidade do pão de forma adicionado de emulsificantes durante o seu armazenamento;
- Identificar o emulsificante com maior influência na manutenção do frescor do pão de forma ao longo dos 30 dias de estocagem;
- Utilizar a espectroscopia de infravermelho próximo (NIR) e médio (MIR) para monitoramento do envelhecimento de pães de forma durante o armazenamento;
- Aplicar análise de componentes principais (ACP) e agrupamento hierárquico para identificar padrões e tendências associadas ao envelhecimento ao longo do tempo;
- Ajustar modelos de calibração multivariada com base nos espectros NIR/MIR para prever o grau de envelhecimento do pão de forma, utilizando as variáveis relacionadas ao frescor;
- Empregar análises discriminantes para classificar os pães de forma segundo o grau de envelhecimento.

**CAPÍTULO III: Artigo 1 - Ação de
emulsificantes na modulação do envelhecimento e
preservação do frescor do pão de forma durante
o armazenamento**

Ação de emulsificantes na modulação do envelhecimento e preservação do frescor do pão de forma durante o armazenamento

RESUMO

O envelhecimento do pão de forma durante o armazenamento compromete sua qualidade sensorial e aceitação pelo consumidor, principalmente devido à perda de umidade, aumento da dureza e redução da maciez. Diante desse contexto, este estudo teve como objetivo avaliar a influência de diferentes emulsificantes comerciais na modulação das características associadas ao frescor do pão durante o armazenamento. Foram utilizados os emulsificantes estearoil lactilato de sódio (SSL), estearoil lactilato de cálcio (CSL), monoglicerídeo destilado (DMG) e ésteres de ácido diacetil tartárico e mono e diglicerídeos (DATEM), sendo as amostras analisadas nos tempos de 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias. As propriedades físico-estruturais avaliadas incluíram volume específico, teor de umidade, atividade de água, dureza e elasticidade, e parâmetros térmicos obtidos por calorimetria diferencial de varredura, incluindo fração de água congelável (FW), entalpia de dissociação dos complexos amilose-emulsificante (ΔH_2) e temperatura de transição vítrea (T_g). Os resultados indicaram que DATEM E DMG apresentaram maior eficácia na preservação do frescor, promovendo maior volume específico superiores (2,3 - 2,5 mL/g), maior retenção de umidade ao longo do armazenamento (34 - 36%), maiores valores de fração de água congelável e entalpia de dissociação dos complexos amilose-emulsificante, além de retardarem o aumento da dureza em comparação ao pão controle e aos tratamentos com SSL e CSL. As análises multivariadas permitiram diferenciar três estágios distintos de envelhecimento: fresco; intermediário e envelhecido, sendo a separação das amostras fortemente influenciada pelo teor de umidade, atividade de água e dureza. Conclui-se que a utilização adequada de emulsificantes, especialmente DATEM e DMG, constitui uma estratégia tecnológica eficaz para prolongar a qualidade e a vida útil do pão de forma durante o armazenamento.

Palavras Chave: panificação; agente antienvelhecimento; propriedades físico-químicas; textura, DSC.

1 Introdução

O pão é uma das mais antigas tecnologias alimentares e permanece entre os produtos mais consumidos mundialmente, com o pão de forma destacando-se como o tipo mais popular (Sarica, 2021; D'Alessandro et al., 2024). Entretanto, sua vida útil limitada,

sobretudo em função da perda do frescor durante o armazenamento, contribui significativamente para o desperdício de alimentos, que atinge cerca de um terço da produção mundial, sendo o pão um dos principais produtos descartados (Giordano & Franco, 2021; Ananda et al., 2024; Guo et al., 2025).

O processo de envelhecimento envolve alterações físico-químicas e estruturais que ocorrem responsáveis pela deterioração progressiva das propriedades sensoriais, como aumento da dureza do miolo, a redução da capacidade de retenção de água e a perda do aroma característico de "pão fresco" (Amigo et al., 2016). Essas transformações resultam, principalmente, da retrogradação do amido, das interações entre amido e glúten e da redistribuição de umidade (Fadda et al., 2014; Gray & Bemiller, 2003; Monteau et al., 2017; Hong et al., 2023). A retrogradação consiste na reorganização das cadeias de amido em estruturas ordenadas e cristalinas (Chen et al., 2021a), fenômeno favorecido pela água, que atua como plastificante e influencia a mobilidade molecular. Mudanças na temperatura de transição vítrea e na plasticidade da rede de glúten também contribuem para o endurecimento progressivo do pão (Monteau et al., 2017).

Considerando que o envelhecimento do pão é um processo intrínseco ao armazenamento, o uso de estratégias tecnológicas tem se mostrado essencial para prolongar sua maciez e aceitação comercial. Entre eles destacam-se o uso de enzimas, emulsificantes e hidrocoloides (Ai et al., 2018; Purhagen et al., 2011). Os emulsificantes, são aditivos funcionais amplamente empregados na panificação por sua capacidade de manter a maciez do miolo e prolongar a vida útil do pão (Cauvain & Young, 2009). Esses compostos atuam por diferentes mecanismos físico-químicos, incluindo a interação com as proteínas do glúten, a redução da tensão superficial da massa, a formação de complexos com a amilose e o controle do inchaço dos grânulos de amido, promovendo melhor formação da estrutura do miolo, aumento do volume e interação com o amido, o que reduz o inchaço e retarda no endurecimento (Tebben et al., 2022).

Diante da ampla variedade de emulsificantes e de seus distintos modos de ação, torna-se essencial avaliar individualmente seus efeitos sobre a qualidade do pão durante o armazenamento. Entre os agentes mais estudados, os estearoil lactilatos, como o estearoil lactilato de sódio (SSL) e o estearoil lactilato de cálcio (CSL), destacam-se por sua eficácia na redução da retrogradação do amido, particularmente da amilopectina, contribuindo para a manutenção da maciez do miolo e, no caso do CSL, também para o aumento do volume do pão (Gomes-Ruffi et al., 2012; Tebben et al., 2022; Rajkumar & Pandiyan, 2023). Os mono e diglicerídeos de ácidos graxos (DMG), amplamente

utilizados na panificação, atuam principalmente por meio da formação de complexos com a amilose, o que limita sua gelificação e recristalização nas etapas iniciais do armazenamento, reduzindo a firmeza do pão nas primeiras 24 horas (Stampfli & Nersten, 1995; Azizi et al., 2003; Grausgruber et al., 2008; Manzocco et al., 2012). Em contraste, os ésteres de ácido diacetil tartárico de mono e diglicerídeos (DATEM) não exercem efeito direto sobre a retrogradação do amido, mas promovem maior maciez e volume ao favorecer a formação de uma estrutura celular mais fina, uniforme e estável na matriz do pão (Cauvain & Young, 2009; Moayedallaie et al., 2010; Tebben et al., 2022).

Embora diversos estudos tenham investigado a ação de emulsificantes no envelhecimento do pão, ainda persistem lacunas na compreensão das alterações estruturais e físico-químicas que ocorrem ao longo do armazenamento. Diante da ampla aceitação do pão de forma pelo mercado consumidor e da necessidade de reduzir perdas e desperdícios, o presente estudo realiza uma avaliação comparativa do efeito individual de emulsificantes comerciais em pães de forma, combinando análises físico-químicas, texturais e térmicas. O objetivo foi avaliar a influência desses aditivos na modulação das propriedades associadas ao envelhecimento durante o armazenamento, bem como aprofundar o entendimento de seus mecanismos de ação no prolongamento do frescor, contribuindo para o desenvolvimento de estratégias tecnológicas voltadas ao aumento da vida útil do produto.

2 Materiais e métodos

2.1 Produção dos pães

Os pães foram elaborados a partir de uma formulação básica de pão de forma desenvolvida e ajustada a partir de teste preliminares, com base em formulações previamente descritas na literatura. Todos ingredientes foram expressas em porcentagem sobre o peso da farinha de trigo (100%), como exibido na Tabela 1. Utilizou-se farinha de trigo tipo 1, fermento biológico seco instantâneo, açúcar cristal, sal e o óleo de soja, adquiridos em supermercados da região (Itapetinga, BA, Brasil). Os emulsificantes usados como agentes antienvelhecimento foram doados pela Prozyn (São Paulo, SP, Brasil): estearoil lactilato de sódio (SSL), estearoil lactilato de cálcio (CSL), monoglicerídeo destilado (DMG) e ésteres de ácido diacetil tartárico e mono e diglicerídeos (DATEM). Os antimofos utilizados, proprianato de cálcio e sorbato de potássio granulado, foram da marca Adicel (São Paulo, SP, Brasil).

A quantidade de água adicionada foi determinada com base no valor de absorção de água (%) obtido pelo teste de farinografia da farinha, fornecido pelo moinho da farinha produtor. Os ingredientes foram pesados e misturados na masseira (G.Paniz, AR-15, Brasil) por 15 minutos, até a obtenção do ponto de véu. Em seguida, a massa foi dividida em porções de 110 g, arredondadas manualmente, laminadas em cilindro manual de bancada e modeladas no formato de pão de forma. As massas modeladas foram depositadas em assadeiras (12 x 6 cm) e fermentadas por 2 horas a 30 °C. Após fermentação, foram assadas em forno (Perfecta, turbo, Brasil) a 180 °C por 18 minutos. Os pães assados foram desinformados, resfriados à temperatura ambiente por 2 horas e, em seguida, embalados individualmente em sacos plásticos de polietileno (PE) de qualidade alimentar. Cada formulação (controle, SSL, CSL, DMG e DATEM) foi produzida em três repetições realizadas em dias diferentes, a fim de garantir a reprodutividade dos resultados.

Tabela 1. Formulação de pães de forma

Ingredientes	CTR (%)	SSL (%)	CSL (%)	DMG (%)	DATEM (%)
Farinha de trigo	100	100	100	100	100
Água gelada	56	56	56	56	56
Açúcar	5	5	5	5	5
Óleo	4	4	4	4	4
Sal	1	1	1	1	1
Fermento biológico	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3
Proprianato de cálcio	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Sorbato de potássio	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Estearoil lactilato de sódio	-	0,3	-	-	-
Estearoil lactilato de cálcio	-	-	0,3	-	-
Monoglicerídeo destilado	-	-	-	0,3	-
Ésteres de ácido diacetil tartárico	-	-	-	-	0,3

CTR - controle, SSL - estearoil lactilato de sódio, CSL - estearoil lactilato de cálcio, DMG- monoglicerídeo destilado e DATEM - ésteres de ácido diacetil tartárico e mono e diglicerídeos

2.2 Armazenamento dos pães

Para cada formulação foram preparados sete lotes de pães, cada um contendo sete unidades. Cada lote foi destinado a um tempo específico de armazenamento: 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias, totalizando sete tempos distintos de análises. Após o resfriamento, os pães foram armazenados a 23 °C em câmara B.O.D. (LUCA, 161/01, Brasil) até atingirem o respectivo tempo de armazenamento. Em seguida, as amostras foram congeladas a -18

°C (Electrolux, freezer horizontal, Brasil) e mantidas nessa condição até o momento das análises.

2.3 Preparo das amostras

Antes da realização de cada análise, os pães foram descongelados à temperatura ambiente por 2 horas e preparados de acordo a exigência de cada análise. Para as análises de umidade, atividade de água (A_w) e análises térmicas, as amostras descongeladas foram separadas em miolo e crosta, moídas em multiprocessador (Britânia, BMP950 Plus, Brasil) e peneiradas manualmente em peneira de malha média (aberturas estimadas entre 0,4 e 0,6 mm), a fim de uniformizar o tamanho das partículas. Para a análise de textura, os pães foram fatiados em fatiador mecânico (Braesi, MR, Brasil).

2.4 Volume específico

Para determinação do volume específico os pães foram pesados e o volume foi determinado através do método de deslocamento de sementes de painço segundo o método 10-05.01 da AACC (AACC, 2010) nos diferentes tempos de armazenamento. O volume específico (mL/g) foi calculado como a razão entre volume e a massa do pão.

2.5 Teor de umidade

O teor de umidade das amostras moídas foi determinado em duplicata para cada tipo de pão em cada tempo de armazenamento, pelo método de secagem em estufa até peso constante a 105 °C (AOAC, 1997). Foi determinada a porcentagem da perda de umidade entre o primeiro e último dia de armazenamento.

2.6 Atividade de água – A_w

As amostras moídas foram utilizadas para medida da atividade de água em um AquaLab Series 3 TE. As medições foram feitas em triplicata para cada amostra.

2.7 Análise de perfil de textura – TPA

As propriedades de textura das amostras das diferentes formulações e tempo de armazenamento foram medidas usando um analisador de textura TA.HD Plus (Stable Micro Systems Ltd., Goldalming, Reino Unido) equipado com célula de carga de 750 kg e uma sonda cilíndrica P/36 mm. O protocolo de análise foi realizado de acordo com Purhagen et al. (2011), com modificações no tempo de espera. Duas fatias (aproximadamente 25 mm de espessura) foram comprimidas no centro do miolo, com profundidade de penetração de 40%. As condições do teste foram: velocidade pré-teste

de 1,00 mm/s, velocidade de teste de 1,70 mm/s, velocidade pós-teste de 10,00 mm/s, força de gatilho de 5,0 g e o tempo de espera entre um ciclo e outro de 5 s. Os parâmetros de textura obtidos foram a dureza e elasticidade. Considerando a variabilidade inerente à análise de textura, foram realizadas sete réplicas para cada amostra.

2.8 Análise térmica (calorimetria diferencial de varredura – DSC)

As propriedades térmicas dos pães foram analisadas por meio de um calorímetro diferencial de varredura (TA Instruments, DSC250, EUA), previamente calibrado com índio padrão, sendo a linha de base ajustada com dois discos de safira. Aproximadamente 5,0 mg de miolo moído foram pesados e selados em cápsulas de alumínio.

As amostras foram resfriadas até -30 °C, mantidos por 5 min e posteriormente aquecidos a uma taxa de 10 °C/min até 180 °C, conforme método adaptado de Gigliotti et al. (2025) com modificações na faixa de temperatura da corrida e na taxa de aquecimento. As análises foram realizadas em quatro tempos de armazenamento (0, 10, 20 e 30 dias), com duas repetições por tratamento.

Os termogramas DSC obtidos foram analisados no software TRIOS v5.8.1.14 (TA Instruments, EUA). Para os eventos térmicos associados a mudança de fase os valores de temperatura de pico (T_{p1} e T_{p2}) e entalpias (ΔH_1 , ΔH_2) foram extraídos diretamente das curvas de DSC. O teor de água congelada foi calculado a partir de variação de entalpia associada ao pico de fusão de gelo (pico 1), seguindo a equação (Eq. 1) sugerida por Gigliotti et al. (2025):

$$FW = \left(\frac{\text{entalpia de fusão de gelo}}{\text{calor latente de fusão de gelo} \cdot MC} \right) * 100 \quad \text{Eq. 1}$$

Onde: FW é o teor de água congelada nas condições experimentais (%); entalpia de fusão do gelo (J/g de produto) corresponde à variação de entalpia associada ao pico de fusão do gelo; calor latente de fusão do gelo é igual a 334 J/g e MC é o teor de umidade da amostra (g de água/100 g de amostra).

A temperatura de transição vítrea foi determinada a partir das curvas derivadas de DSC, nas quais o evento apresenta-se mais evidente.

2.9 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi conduzida por meio da análise de variância (ANOVA) em esquema fatorial 5 x 7, considerando dois fatores: tipo de emulsificante (5

níveis) e tempo de armazenamento (7 níveis). Foram avaliados os efeitos principais e a interação entre os fatores para cada variável resposta. Quando a interação não foi significativa, as médias dos fatores qualitativos foram comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Para a variável tempo, foram ajustados modelos de regressão linear e quadrático, sendo selecionado aquele com parâmetros significativos, maior coeficiente de determinação (R^2) e menor erro quadrático médio (RMSE). As análises foram conduzidas no software SAS[®] OnDemand for Academics.

Além disso, foi realizada a Análise de Componentes Principais (ACP), no mesmo software, com o objetivo de identificar relações entre as amostras e as variáveis respostas. Os componentes principais (CPs) foram selecionados considerando o acúmulo de variância superior a 70% (Jolliffe, 2002).

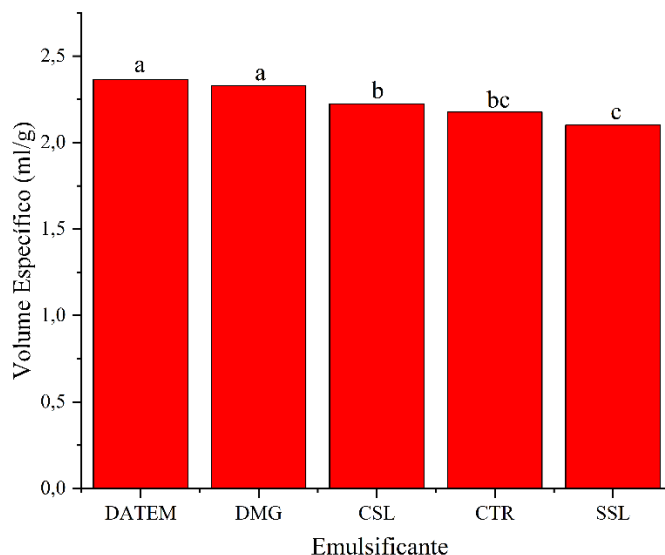
Para avaliar padrões de envelhecimento, aplicou-se também a Análise de Agrupamento Hierárquica (HCA), utilizando o método hierárquico aglomerativo de Ward e a distância euclidiana como medida de dissimilaridade. As variáveis que contribuíram significativamente para a separação dos grupos foram identificadas por testes de médias (Tukey, $p < 0,05$). A análise de agrupamento foi conduzida no software RStudio[®], enquanto os testes de médias entre os grupos foram realizados no SAS[®].

3 Resultados e discussões

3.1 Volume específico

Para o volume específico, não foram observados efeitos significativos do tempo de armazenamento, tampouco interação com o tipo de emulsificante ($p > 0,05$). Isso sugere que o volume dos pães se manteve estável durante os 30 dias de armazenamento, sendo pouco sensível às variações provocadas pelo envelhecimento. A Figura 1 apresenta o efeito dos diferentes emulsificantes sobre o volume específico dos pães. A média do volume específico variou entre $2,11 \pm 0,03$ a $2,38 \text{ mL/g} \pm 0,03$ para os emulsificantes SSL e DATEM, respectivamente. Os emulsificantes DATEM e DMG melhoraram o volume específico em relação ao pão controle (CTR). Essa melhoria está geralmente relacionada à capacidade desses compostos de fortalecer a estrutura da massa, promovendo maior retenção de gás e salto de forno, em decorrência da formação de uma rede de glúten mais estável e menos permeável (Cauvain & Young, 2009; Zhou et al., 2018).

Figura 1. Volume específico médio dos pães elaborados com diferentes emulsificantes SSL (estearoil lactilato de sódio), CSL (estearoil lactilato de cálcio), DATEM (ésteres de ácido diacetil tartárico e de mono e diglicerídeos), DMG (monoglicerídeo destilado) e controle (CTR).



Barras com letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p > 0,05$).

Emulsificantes fortalecedores de massa são capazes de formar estrutura laminar no miolo do pão, caracterizada por camadas finas e paralelas de massa expandida, desenvolvidas durante a fermentação e estabilizadas no forneamento (Cauvain & Young, 2009). Esses agentes atuam na interface entre o glúten e o amido, melhorando a capacidade da rede de glúten de reter os gases produzidos pela levedura e aumentando a elasticidade durante o assamento, o que resulta em pães com maior volume específico (Gomes-Ruffi et al., 2012). Além disso, esses emulsificantes potencializam a ação da gordura vegetal ao promover sua dispersão mais eficiente na massa (Tebben et al., 2022).

No entanto, embora o emulsificante SSL, de natureza aniônica, apresente propriedades de fortalecimento da massa semelhantes às do DATEM, não foi observado aumento no volume específico em relação ao pão controle. Essa ausência pode estar associada à menor eficiência de interação do SSL com as proteínas do glúten, uma vez que o DATEM apresenta maior densidade e acessibilidade de grupos carboxílicos aniônicos, capazes de estabelecer interações eletrostáticas mais intensas com regiões catiônicas dessas proteínas, promovendo maior reforço da rede proteica e melhor retenção de gases durante o assamento (Pareyt et al., 2011).

Em contraste, DMG, um emulsificante não iônico, apresentou efeito distinto, promovendo aumento de volume. Embora este atue predominantemente sobre os componentes amiláceos, formando complexos de inclusão com a amilose e retardando o envelhecimento (Gray & Bemiller, 2003; Tebben et al., 2022), sua capacidade de melhorar a dispersão da gordura na massa pode ter favorecido uma expansão mais uniforme das células de gás durante o assamento, resultando em pães com maior volume específico.

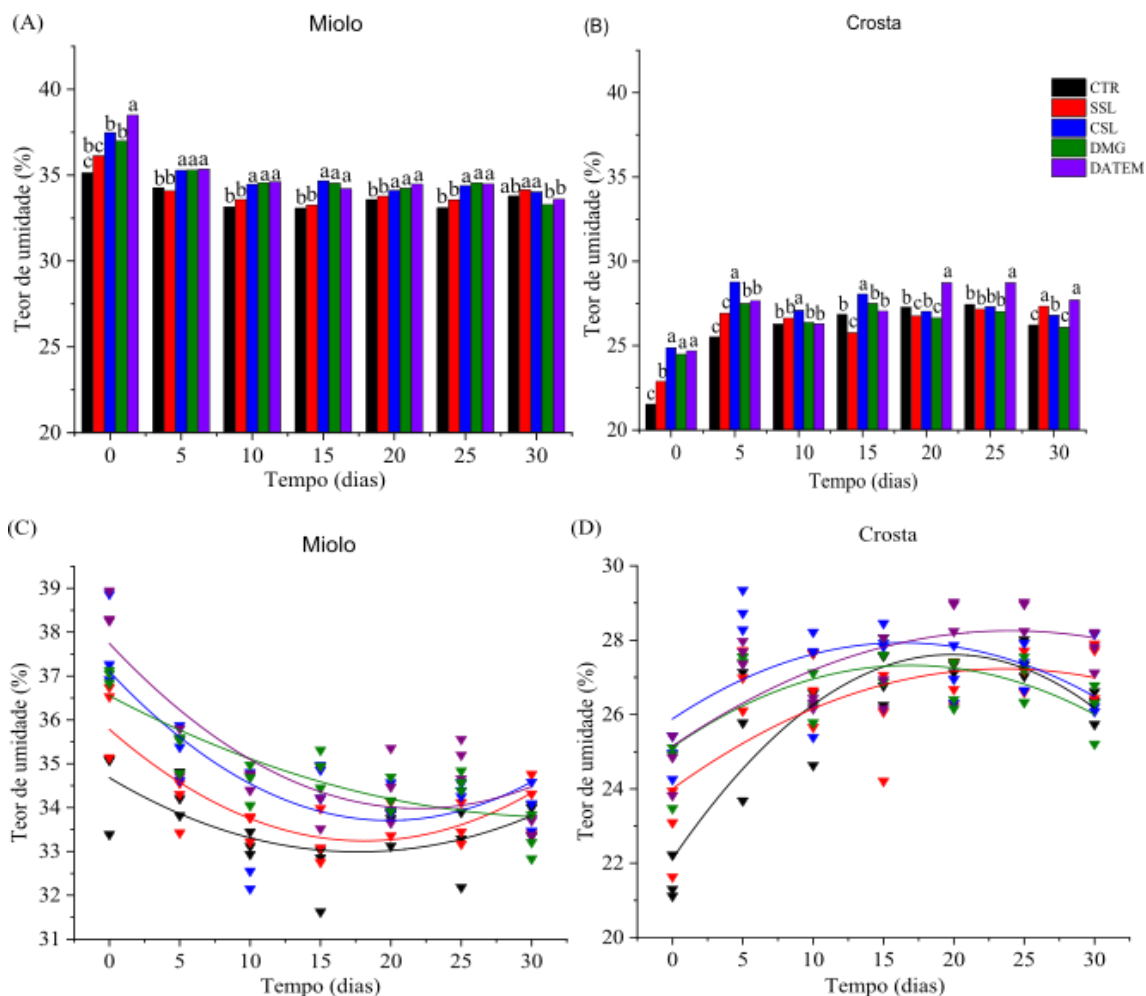
3.2 Teor de umidade e atividade de água (A_w)

Para os teores de umidade e atividade de água (A_w) do miolo e da crosta dos pães, a partir da análise estatística verificou-se que há interação significativa entre os fatores emulsificante e tempo de armazenamento ($p < 0,05$), indicando que o comportamento da umidade e A_w depende do tipo de emulsificante utilizado e do período de armazenamento. Essa interação reforça a importância de considerar ambos os fatores de forma conjunta na formulação e conservação dos pães.

Para o teor de umidade do miolo (Figura 2A), observou-se que no tempo 0 (pão fresco) os pães com adição de emulsificantes apresentaram maior retenção de umidade em comparação ao tratamento controle ($34,5 \pm 0,42\%$). Dentre os emulsificantes estudados, o DATEM apresentou o maior teor de umidade, com $38,50 \pm 0,38\%$. Em seguida, observou-se os valores de $37,49 \pm 0,40\%$ para o CSL, $37,01 \pm 0,15\%$ para o DMG e $36,13 \pm 0,87\%$ para o SSL. Esses resultados indicam que os emulsificantes, em especial o DATEM, reduziram a perda de umidade por evaporação durante as etapas de assamento e resfriamento, conferindo maior retenção de água na matriz do miolo.

Esse comportamento se deve, provavelmente, conforme discutido na sessão anterior, à forte interação do DATEM com as proteínas do glúten, resultando na formação uma estrutura mais coesa e elástica, capaz de reter maior quantidade de água. Além disso, como os demais emulsificantes utilizados, o DATEM apresenta natureza anfifílica, contendo regiões hidrofílicas e lipofílicas, que conferem capacidade de interagir tanto com a fase aquosa quanto com a fase lipídica da massa, formando emulsões mais estável (Gaupp & Adams, 2014). Essa característica, associada à sua capacidade de aumentar a absorção e retenção de água durante o processamento, conforme relatado por Tebben et al. (2022), resulta na maior retenção de umidade e desenvolvimento mais uniforme da estrutura de miolo.

Figura 2. Efeito do tempo de armazenamento sobre o teor de umidade (%) dos pães controle (CTR), e com os emulsificantes SSL (estearoil lactilato de sódio), CSL (estearoil lactilato de cálcio), DATEM (ésteres de ácido diacetil tartárico e de mono e diglicerídeos), DMG (monoglicerídeo destilado) para o miolo e crosta. Os painéis (A) e (B) mostram os valores médios experimentais, enquanto os painéis (C) e (D) apresentam as curvas de regressão ajustadas ao teor de umidade.



Barras com letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p > 0,05$). Os símbolos representam os dados experimentais e as linhas contínuas correspondem aos modelos de regressão ajustados para cada tratamento.

Ao longo do armazenamento, observou-se uma redução progressiva do teor de umidade no miolo e, simultaneamente, um aumento na umidade da crosta dos pães (Figura 2B). Essa tendência indica a migração de água do miolo para a crosta ao longo do armazenamento, decorrente do gradiente de umidade estabelecido entre essas regiões, até o alcance do equilíbrio hídrico. Ao final dos 30 dias de armazenamento, os teores

médios de umidade para os pães controle, SSL, CSL, DMG e DATEM foram de $33,80 \pm 0,39\%$, $34,16 \pm 0,67\%$, $34,04 \pm 0,56\%$, $33,29 \pm 0,51\%$ e $33,61 \pm 0,21\%$ respectivamente.

Com a redução da umidade no miolo, as moléculas de amido e de proteínas tornam-se mais próximas, favorecendo a formação de novas ligações de hidrogênio entre os polímeros. Esse arranjo estrutural reduz a mobilidade dos componentes da matriz e torna o miolo mais rígido e menos elástico, resultando no endurecimento característico do pão envelhecido (Giannone et al., 2016).

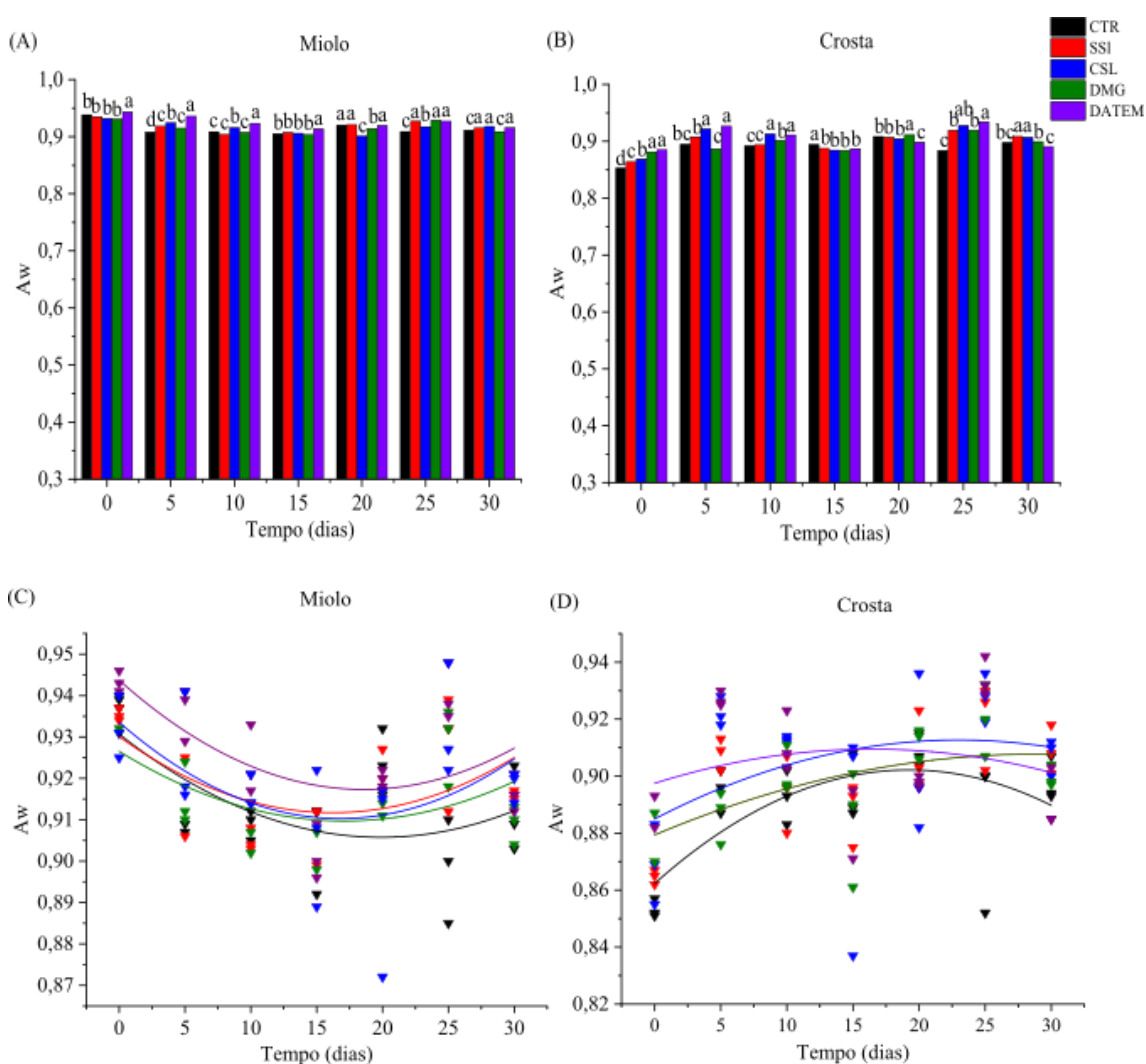
As curvas de regressão ajustadas para os teores de umidade do miolo e da crosta (Figura 2C e D), obtidas por regressão polinomial de segunda ordem, apresentaram comportamentos semelhantes entre os diferentes tratamentos, com coeficientes de determinação (R^2) apresentados na Tabela S1. Observou-se que a perda de umidade no miolo e o ganho na crosta foram mais acentuados até aproximadamente o 15º dia de armazenamento, seguido de uma desaceleração do processo, indicando tendência de redistribuição interna da água no sistema.

Os resultados obtidos confirmam o comportamento previamente discutido para o DATEM, que apresentou o maior teor de umidade inicial no miolo. No entanto, observou-se que esse mesmo emulsificante apresentou a maior taxa de perda de umidade ao longo do armazenamento, com redução de cerca de 12,68%, enquanto o pão controle apresentou perda de 3,85%. Esse resultado reforça a hipótese de que a adsorção dos emulsificantes na superfície dos grânulos de amido reduz a capacidade do amido de reter a água liberada pela rede de glúten, mantendo essa água mais disponível para a migração do miolo para a crosta (Stampfli & Nersten, 1995). Assim, embora o DATEM promova maior retenção inicial de umidade, a reorganização estrutural ao longo do tempo favorece redistribuição e perda de água mais acentuada, especialmente nas fases finais do armazenamento.

Para a A_w , o emulsificante DATEM também apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) no miolo no tempo 0 em comparação com os demais tratamentos (Figura 3A), embora essa diferença tenha se reduzido nos tempos 20 e 25 dias. As curvas de regressão para o miolo (Figura 3C) indicaram uma redução inicial de A_w em todos os tratamentos, mais acentuada até aproximadamente 15 dias, seguida por discreta recuperação. Os parâmetros dos modelos de regressão, bem como os coeficientes de determinação (R^2), encontram-se apresentados na Tabela S1. Os pães com CSL e DATEM destacaram-se por manter os maiores valores de A_w ao longo do armazenamento, embora o DATEM tenha apresentado a maior perda percentual total entre o primeiro e o último dia, enquanto o CSL manteve a A_w mais estável. Os pães formulados com DMG também demonstraram

estabilidade na A_w , enquanto que o controle e SSL mostraram as maiores reduções nos tempos iniciais de armazenamento.

Figura 3. Efeito do tempo de armazenamento sobre a atividade de água (A_w) dos pães controle (CTR), e com os emulsificantes SSL (estearoil lactilato de sódio), CSL (estearoil lactilato de cálcio), DATEM (ésteres de ácido diacetil tartárico e de mono e diglicerídeos), DMG (monoglicerídeo destilado) para o miolo e crosta. Os painéis (A) e (B) mostram os valores médios experimentais, enquanto os painéis (C) e (D) apresentam as curvas de regressão ajustadas a A_w .



Barras com letras iguais não diferem significativamente entre si pelo teste Tukey ($p > 0,05$). Os símbolos representam os dados experimentais e as linhas contínuas correspondem aos modelos de regressão ajustados para cada tratamento.

Para a crosta (Figura 3B), observou-se comportamento semelhante ao do miolo, com redução inicial da A_w até cerca de 15 dias e leve aumento subsequente. Os valores

de A_w da crosta foram, em geral, ligeiramente superiores aos do miolo, o que evidencia a migração de umidade do miolo para a crosta ao longo do armazenamento. Nos tempos iniciais (0 e 5 dias), os pães com CSL e DATEM apresentaram os maiores valores de A_w , diferindo significativamente ($p < 0,05$) do controle e do SSL, porém, essa diferença tendeu a diminuir a partir do 20º dia.

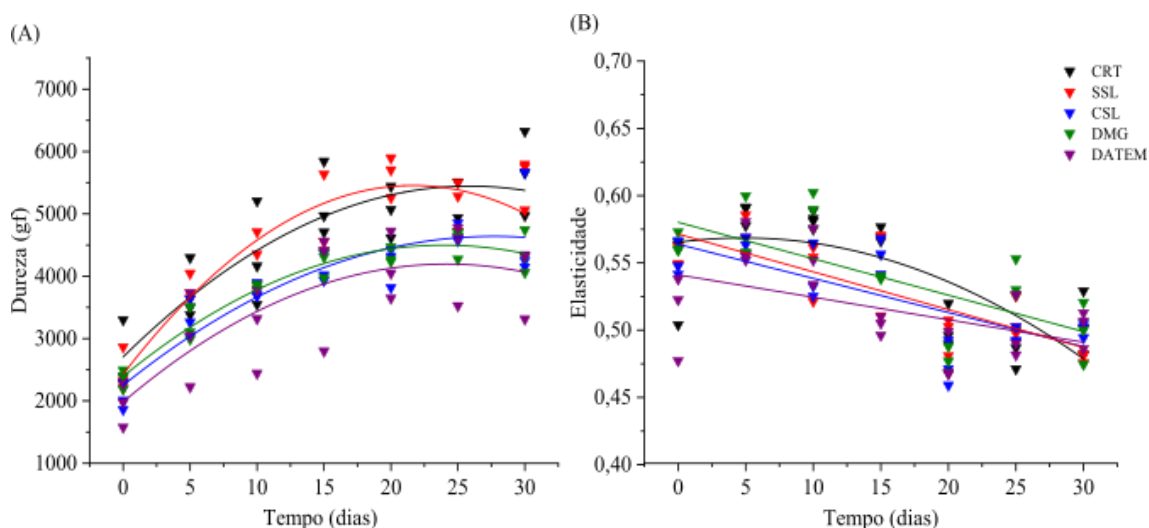
A atividade de água exerce influência determinante no envelhecimento dos pães, uma vez que controla a mobilidade da água livre dentro do miolo, afetando diretamente a retrogradação do amido (especialmente da amilopectina) e a firmeza do pão. Estudos recentes demonstram que baixos valores de A_w intensificam a cristalização do amido e promovem a migração de água entre miolo e crosta, resultando em dureza aumentada e perda de maciez (Franco et al., 2024).

3.3 Análise do Perfil de Textura – TPA

A dureza e a elasticidade dos pães estão apresentadas na Figura 4. Para ambos os parâmetros a interação entre o tempo de armazenamento e o tipo de emulsificante foi não significativa ($p > 0,05$), portanto os emulsificantes apresentaram comportamento semelhante ao longo do tempo de armazenamento.

Observou-se aumento significativo da dureza ao longo do armazenamento para todos os tratamentos (Figura 4A), especialmente até aproximadamente o 20º dia, seguido por uma tendência de estabilização nos períodos subsequentes. Esse padrão foi adequadamente descrito pelos modelos de regressão ajustados, cujos parâmetros e coeficientes de determinação (R^2) estão apresentados na Tabela S2. Tal comportamento está associado aos resultados de umidade e A_w do miolo, que apresentaram redução até cerca de 15 e 20 dias de armazenamento. A diminuição do teor de umidade e da A_w contribui para a formação de uma matriz interna mais rígida e menos elástica, em decorrência da redução da água livre e do aumento das interações entre os componentes da rede amido-glúten.

Figura 4. Evolução da dureza (A) e elasticidade (B) dos pães controle (CRT) e dos pães controle (CTR), e com os emulsificantes SSL (estearoil lactilato de sódio), CSL (estearoil lactilato de cálcio), DATEM (ésteres de ácido diacetil tartárico e de mono e diglicerídeos), DMG (monoglicerídeo destilado).



Os símbolos representam os dados experimentais e as linhas contínuas correspondem aos modelos de regressão ajustados para cada tratamento.

No pão fresco, logo após o assamento, forma-se uma estrutura gelatinizada do amido, na qual a água exerce papel plastificante, reduzindo as interações entre as cadeias de amido e contribuindo para a maciez do miolo. No entanto, durante o armazenamento, ocorre sinérese, resultando na perda de água do gel e na diminuição da plasticidade da matriz (Gray & Bemiller, 2003). Com isso, as moléculas de amilopectina passam a se reorganizar de maneira mais ordenada, intensificando as interações amido-amido e favorecendo a formação de regiões cristalinas. Esse processo de retrogradação do amido, associado à redistribuição de umidade evidenciada pela migração de água do miolo para a crosta, está diretamente relacionado ao aumento da dureza do miolo e à consequente perda de frescor do pão ao longo do tempo (Baik & Chinachoti, 2001; Gray & Bemiller, 2003; Fadda et al., 2014).

O pão controle (CRT) e o adicionado de SSL apresentaram os maiores valores de dureza em todos os tempos de armazenamento. Em contrapartida, a adição dos outros emulsificantes reduziu significativamente a dureza em relação ao controle, com destaque para o DMG e o DATEM, cujos valores de dureza se estabilizaram após 15 dias de armazenamento, enquanto o controle atingiu níveis semelhante já no 5º dia. Os pães com CSL também demonstraram efeito antienvelhecimento, embora com menor intensidade.

Fatores como o volume específico, o teor de umidade e atividade de água estão proporcionalmente relacionados à redução da dureza do miolo. Um aumento no volume resulta em uma estrutura interna menos densa e mais porosa, o que facilita a compressão e contribui para uma textura mais macia (Tebben et al., 2022). Da mesma forma, pães com maior teor de umidade tendem a endurecer mais lentamente e apresentar menor firmeza final, uma vez que há mais água disponível para manter a hidratação da rede de glúten, assim como das interações amido-amido e amido-glúten, permitindo que essas redes permaneçam mais flexíveis (Shaikh et al., 2008; Stampfli & Nersten, 1995).

A diminuição do teor de umidade reduz a plasticidade da matriz, aumentando a resistência à deformação do miolo, enquanto a queda a A_w reflete a menor disponibilidade de água para interações moleculares, favorecendo processos como a retrogradação da amilopectina, um dos principais responsáveis pelo enrijecimento da estrutura e pela consequente perda de frescor (Gray & Bemiller, 2003).

A presença de emulsificantes favorece tanto o aumento do volume quanto a retenção da umidade no sistema. Nesse contexto, os emulsificantes DATEM e DMG foram os que mais contribuíram para a obtenção de pães com maiores volumes específicos e teores de umidade mais elevados, o que se refletiu nos menores valores de dureza ao longo de todo o período avaliado. Embora a adição de emulsificantes como SSL e CSL também apresente potencial para reduzir a firmeza do miolo, esse efeito não foi observado de forma significativa neste estudo, possivelmente em razão de menor afinidade de interação com o amido, resultando em menor capacidade de retenção de água e estabilização da estrutura durante o envelhecimento (Ribotta et al., 2004).

Para elasticidade (Figura 4B), não houve diferença significativa ($p > 0,05$) entre os tratamentos. Os valores oscilaram levemente ao longo do armazenamento, apresentando uma tendência geral de leve declínio, especialmente nos pães contendo SSL e CSL. Embora os pães formulados com DMG e DATEM tenham apresentado valores médios ligeiramente superiores e menores flutuações ao longo do tempo, essas diferenças não foram estatisticamente significativas. As tendências observadas foram descritas pelos modelos de regressão ajustados, cujos parâmetros e coeficientes de determinação (R^2) estão apresentados na Tabela S2.

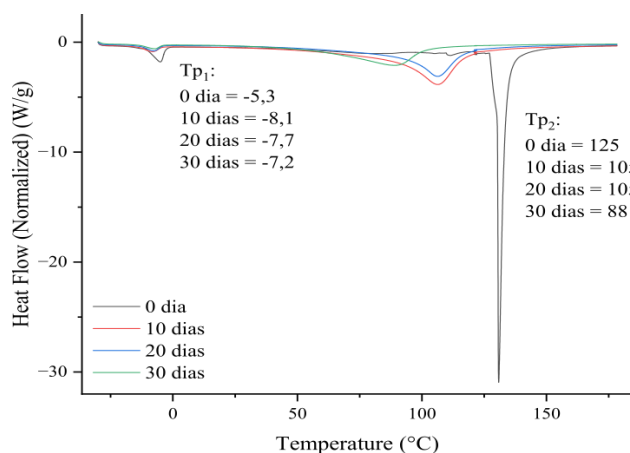
Esse comportamento indica que esses aditivos não apenas retardam o aumento da dureza, como também preservam a capacidade de deformação elástica do miolo, possivelmente devido à interação com os grânulos de amido e o glúten, mantendo a integridade da rede proteica e a distribuição de umidade no interior do pão (Gray &

Bemiller, 2003). A elasticidade do pão representa sua capacidade de recuperação após a compressão e está diretamente ligada à formação de redes viscoelásticas de glúten, resultantes da hidratação e reorganização das proteínas farinha de trigo (Liu et al., 2024).

3.4 Análise térmica

Os termogramas de calorimetria diferencial de varredura (DSC) do miolo do pão apresentaram dois eventos endotérmicos distintos, com picos em torno de -5°C e entre 100 e 118°C (Figura 5). O primeiro evento foi atribuído à fusão do gelo, correspondente à fração de água livre cristalizável presente na matriz do miolo (Baik & Chinachoti, 2001; Gigliotti et al., 2025). O segundo evento endotérmico, observado em temperaturas mais elevadas, foi associado predominantemente à dissociação de estruturas cristalinas relacionadas aos complexos amilose–emulsificante, bem como à reorganização do amido retrogradado, caracterizando um processo endotérmico de primeira ordem (Schiraldi et al., 2009; Collar et al., 2015; Gu et al., 2025).

Figura 5. Termograma DSC representativo do pão controle nos dias 0, 10, 20 e 30 de armazenamento.



Para calcular o teor de água congelada (FW%) das amostras de pães controle e com emulsificantes, avaliadas nos quatro tempos de armazenamento (0, 10, 20 e 30 dias), foi utilizada a variação de entalpia associada a esse evento. Esse parâmetro é relevante, pois reflete a distribuição da água entre as frações livres e ligadas, permitindo inferir a sua relação com a mobilidade molecular e a estabilidade física do produto (Baik & Chinachoti, 2001; Fadda et al., 2014).

A análise de variância não evidenciou efeito significativo ($p > 0,05$) dos fatores tipo de emulsificante, tempo de armazenamento ou da interação entre eles sobre a fração

de água congelável (FW). Ainda assim, a avaliação descritiva dos dados sugere uma tendência de diminuição da FW com o avanço do armazenamento, particularmente para o pão controle e aqueles contendo CSL e DMG (Tabela 2). Esse comportamento indica que, durante o envelhecimento, parte da água livre inicialmente associada ao amido gelatinizado passa a participar de interações mais fortes com os componentes da matriz amido-glúten, em função da retrogradação do amido e da reorganização estrutural do sistema. Esse processo reduz a mobilidade da água, tornando-a não congelável e, consequentemente, não detectável como fração de água congelável por DSC (Curti et al., 2014; Gigliotti et al., 2025).

Nota-se também, que as formulações com emulsificantes apresentaram valores de FW% geralmente inferiores aos do controle, especialmente nos tempos iniciais, sugerindo maior interação entre o emulsificante e o amido, o que restringe a mobilidade da água e reduz a fração passível de cristalização (Ribotta et al., 2004).

A diminuição do FW também está de acordo com os resultados de umidade e atividade de água (A_w), que apresentaram redução progressiva com o tempo, e com o aumento da firmeza do miolo, sugerindo que a água remanescente se tornou menos disponível para atuar como plastificante na matriz amilácea-proteica (Fadda et al., 2014; Ronda et al., 2014; Santos et al., 2021).

Tabela 2. Parâmetros térmicos obtidos por DSC para os pães de forma com diferentes emulsificantes ao longo do armazenamento.

Emulsificantes	Tempo de armazenamento	T _g °C	Tp ₁ °C	ΔH ₁ (J/g)	FW (%)	Tp ₂ °C	ΔH ₂ (J/g)
CTR	0	-6,7	-5,5	49,7	0,42	116	531
		± 0,3	± 0,3	± 11	± 0,09	± 11	± 100
	10	-10,8	-7,8	27,7	0,25	106	635
		± 0,6	± 0,7	± 11	± 0,09	± 1	± 33
	*20	-10,0	-7,7	19,7	0,17	103	399
						± 2	± 14
	30	-10,8	-7,2	19,5	0,17	96	422
		± 0,1	± 0,1	± 5	± 0,05	± 11	± 104
SSL	0	-7,5	-5,9	28,4	0,23	113	396
		± 0,3	± 0,2	± 9	± 0,07	± 10	± 241
	*10	-11,0	-7,8	23,6	0,21	93	435
						± 10	± 150
	20	-9,3	-6,9	35,4	0,31	104	711
		± 1,4	± 0,5	± 14	± 0,09	± 1	± 325
	*30	-10,8	-7,4	24,8	0,21	100	345
						± 3	± 183

CSL	0	-7,7 ± 0,9	-5,1 ± 0,4	43,8 ± 0,1	0,340 ± 0,005	104 ± 0,2	732 ± 65
	10	-8,2 ± 0,8	-6,3 ± 0,5	60,3 ± 54	0,5 ± 0,4	105 ± 0,0	427 ± 274
	20	-9,4 ± 0,8	-6,9 ± 0,3	31 ± 5	0,27 ± 0,03	102 ± 5	583 ± 60
	30	-9,4 ± 1,6	-6,8 ± 0,5	25,1 ± 0,3	0,220 ± 0,001	103 ± 2	398 ± 124
DMG	0	-8,5 ± 3,0	-5,9 ± 1,1	38,3 ± 1,8	0,32 ± 0,13	112 ± 15	523 ± 44
	*10	-9,2	-6,8	36,5	0,32	105 ± 1	481 ± 247
	*20	-8,1	-6,2	37,7	0,32	96 ± 12	475 ± 215
	30	-10,9 ± 0,1	-7,9 ± 0,3	19,6 ± 3	0,14 ± 0,02	103 ± 3	445 ± 72
DATEM	0	-6,2 ± 0,2	-4,6 ± 0,2	43 ± 6	0,33 ± 0,04	118 ± 6	489 ± 67
	10	-8,5 (n = 1)	-6,1 (n = 1)	25,5 (n = 1)	0,22 (n = 1)	102 (n = 1)	532 (n = 1)
	20	-9,1 ± 0,5	-6,5 ± 0,4	36,6 ± 2	0,32 ± 0,02	106 ± 0,9	731 ± 0,8
	30	-9,1 ± 0,6	-6, ± 0,1	30,6 ± 2	0,27 ± 0,01	104 ± 3	636 ± 62

T_g – temperatura de transição vítrea; Tp₁ – temperatura de fusão de gelo (água congelável); ΔH₁ – entalpia de fusão de gelo; Tp₁ = temperatura de fusão/dissociação de complexos amilose-emulsificante/lipídio; ΔH₁ – entalpia associada à fusão desses complexos e FW – fração de água congelada. * amostras não apresentaram pico de fusão de gelo. Valores indicados como n = 1 correspondem a medições únicas.

O segundo evento endotérmico, observado em torno de 100 e 118 °C (Figura 5), foi associado, principalmente, à dissociação dos complexos amilose-emulsificante (Collar et al., 2015; Gu et al., 2025; Schiraldi et al, 2009). Esses complexos podem ocorrer naturalmente no amido ou se formar durante o processo de gelatinização, quando as cadeias lineares de amilose interagem com moléculas lipídicas ou com emulsificantes, que atuam como lipídios tensoativos na matriz do pão (Collar et al., 2015; Gray & Bemiller, 2003).

Para os parâmetros desse evento térmico também não foi observada interação significativa entre os fatores tipo de emulsificante e tempo de armazenamento (p > 0,05), nem efeito significativo para o fator tipo de emulsificante. No entanto, apenas para a temperatura máxima de dissociação (Tp₂), o efeito do tempo foi significativo para os pães controle, SSL e DATEM. Ao longo do armazenamento, os valores de Tp₂ apresentaram um comportamento caracterizado por um aumento inicial, seguido de um leve declínio em períodos mais avançados. Esse padrão pode estar associado à formação inicial e

posterior reorganização parcial dos complexos amilose-emulsificante, refletindo modificações estruturais progressivas na matriz amilácea durante o envelhecimento do pão. Tendência semelhante foi observada para os valores de ΔH_2 (Tabela 2).

Essa interpretação é sustentada pelos resultados de textura que revelaram aumento de firmeza menos acentuado nos pães com emulsificantes em relação ao controle, indicando retrogradação limitada da amilopectina. Além disso, as amostras contendo DATEM, DMG e SSL apresentaram picos endotérmicos mais definidos e, de modo geral, deslocados para temperaturas mais elevadas em comparação ao controle, associados a maiores valores de ΔH_2 (Tabela 2). Esse comportamento evidencia a formação de estruturas termicamente mais estáveis, atribuídas à inclusão das cadeias lipofílicas dos emulsificantes nas hélices simples de amilose, resultando em complexos amilose-emulsificante mais organizados, conforme ilustrado nos termogramas apresentados na Figura S1 (Tebben et al., 2022).

De modo geral, a formação de complexos amilose-emulsificante tem sido associada à maior maciez do miolo e à redução da retrogradação da amilopectina, uma vez que a amilose complexada não participa da co-cristalização com essa fração, contribuindo para a manutenção da estrutura e do frescor do pão durante o armazenamento (Tebben et al., 2022).

Após os eventos de fusão e dissociação observados no DSC, outro parâmetro relevante para compreender o processo de envelhecimento dos pães é a temperatura de transição vítrea (T_g), associada às mudanças no estado físico da fase amorfa da matriz do miolo. Para a T_g dos pães avaliados, não foi observada interação significativa entre o tipo de emulsificante e o tempo de armazenamento ($p > 0,05$), assim como não houve diferenças significativas entre os tratamentos. Por outro lado, o fator tempo apresentou efeito significativo, indicando que a T_g variou ao longo do período de armazenamento. Os valores médios de T_g situaram-se entre -6 e -11 °C, apresentando tendência de redução com o avanço do tempo.

Embora a T_g seja fortemente influenciada pelo teor de umidade, apresentando normalmente aumento com a redução da água livre devido à diminuição do efeito plastificante (Bhatt & Nagaraju, 2009; Gray & Bemiller, 2003), no presente estudo foi observada uma tendência inversa, com redução da T_g ao longo do armazenamento. Esse comportamento não está de acordo com o relatado em outros trabalhos, segundo a qual a perda de umidade e de água congelável deveria elevar a T_g do sistema, uma vez que a

matriz se tornaria mais rígida e menos móvel (Bhatt & Nagaraju, 2009; Fadda et al., 2014; Li et al, 2024).

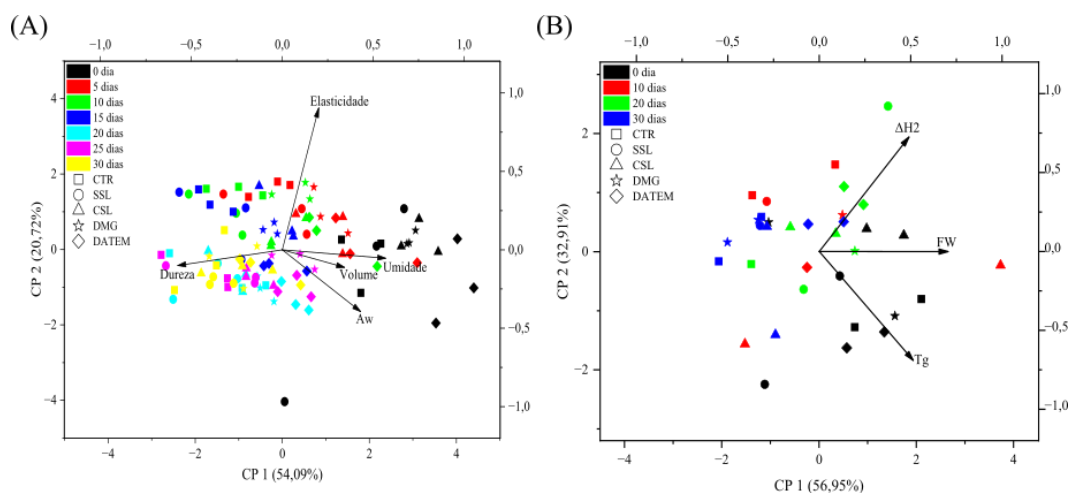
Além dos principais componentes, amido e glúten, que compõem a matriz estrutural do pão e se encontram em estado amorfo, outros componentes da formulação também podem alterar a T_g , como água, óleo, açúcar, sal e outros aditivos (Wang & Zhou, 2017). Assim, a T_g observada neste estudo pode ser interpretada considerando o efeito combinado desses componentes, uma vez que substâncias com caráter plastificante, como açúcares e lipídios, reduzem a T_g ao aumentar a mobilidade molecular da fase amorfa. Dessa forma, mesmo com o aumento da firmeza durante o armazenamento, essa variação não caracterizou um pão duro, provavelmente devido a matriz parcialmente plasticizada pelos demais constituintes da formulação.

3.5 Análise de Componentes Principais - ACP

A análise de componentes principais (ACP) foi realizada para visualizar o efeito dos emulsificantes nas características de frescor do pão durante o armazenamento, através dos parâmetros medidos de teor de umidade, atividade de água (A_w), volume específico, dureza e elasticidade. O resultado está apresentado na Figura 6A e permitiu visualizar a influência tanto dos emulsificantes quanto do tempo de armazenamento sobre as características físico-químicas do miolo do pão.

O componente principal 1 (CP1), que explicou 54,09% da variância total, representou o contraste entre características associadas à frescura do pão (volume específico, elasticidade e umidade) e a dureza, típica do envelhecimento. Assim, pães com maiores escores de CP1 apresentaram maior volume, umidade e elasticidade, e menor dureza, sendo, portanto, considerados mais frescos. Dessa forma, o CP1 pode ser interpretado como um índice de frescor, em que valores mais elevados indicam amostras mais frescas, enquanto valores menores (negativos) estão associados ao processo de envelhecimento.

Figura 6. Análise de componentes principais (ACP) obtida a partir das variáveis de qualidade dos pães - teor de umidade, atividade de água, volume específico, dureza e elasticidade - (A) e obtida a partir dos parâmetros de térmicas dos pães - temperatura de transição vítrea, fração de água congelável e entalpia de dissociação dos complexos amilose-emulsificante - (B), durante 30 dias de armazenamento. As cores representam os tempos e os símbolos os tipos de emulsificantes.



As cores representam os tempos e os símbolos os tipos de emulsificantes.

Observou-se uma tendência clara de agrupamento das amostras em função do tempo de armazenamento, em que os pães mais frescos se encontram mais à direita do gráfico, enquanto, com o avanço do tempo, as amostras tendem a se deslocar para esquerda, em direção à variável dureza, refletindo o processo de envelhecimento do pão. Dessa forma, o CP1 pode ser interpretado como o principal eixo descritivo do processo de envelhecimento, representando o gradiente de transição entre as características de frescor e de endurecimento ao longo do armazenamento.

As amostras contendo os emulsificantes DATEM e DMG também apresentaram deslocamento no sentido do envelhecimento (direção negativa no CP1) ao longo do tempo, porém de maneira menos acentuada em relação aos demais emulsificantes. Esse comportamento está em conformidade com os resultados apresentados nesse trabalho, indicando que esses emulsificantes contribuíram para retardar as alterações relacionadas ao envelhecimento, mantendo os pães mais próximo das características de frescor durante o armazenamento.

A ACP também foi aplicada aos parâmetros térmicos obtidos por DSC – temperatura de transição vítrea (T_g), fração de água congelável (FW) e entalpia de

dissociação dos complexos amilose-emulsificante (ΔH_2) – com o objetivo de identificar a relação entre as transformações estruturais e o processo de envelhecimento dos pães (Figura 6B). Os dois primeiros componentes principais explicaram 89,86% da variância total, sendo 56,95% atribuídos ao CP1 e 32,91% ao CP2.

O CP1 reuniu, no lado positivo, amostras com maiores valores de T_g , FW e ΔH_2 , agrupando principalmente os pães mais frescos (0 e 10 dias). Já os valores negativos de CP1 corresponderam a menores T_g , FW e ΔH_2 , predominantes nos tempos mais longos de armazenamento (20 e 30 dias). Assim, neste conjunto de dados, maior T_g esteve associada ao frescor, enquanto menor T_g indicou avanço do envelhecimento. O CP2 diferenciou sobretudo ΔH_2 e T_g , em que escores positivos refletiram maiores valores de ΔH_2 , correspondentes a complexos amilose-emulsificante mais estáveis, enquanto escores negativos estiveram mais ligados à T_g .

3.6 Análise de Agrupamento – HCA

A análise de agrupamento hierárquico foi aplicada com o objetivo de identificar padrões de similaridade entre as amostras de pães com diferentes emulsificantes (SSL, CSL, DMG e DATEM) e armazenadas em diferentes dias, bem como determinar quais variáveis contribuíram para a diferenciação dos grupos formados.

A Figura 7 apresenta dois dendrogramas distintos: o primeiro (A), construído a partir dos parâmetros de qualidade, teor de umidade, atividade de água (A_w), volume específico, dureza e elasticidade e o segundo (B), obtido a partir dos parâmetros térmicos dos pães.

No dendrograma baseado nos parâmetros de qualidade (Figura 7A), observou-se a formação de quatro grupos de amostras, cuja separação está associada ao tempo de armazenamento. O primeiro grupo contém 25,72% das amostras, o segundo 37,15%, o terceiro grupo contém 10,47% e o quarto grupo contém 26,66% das amostras.

A análise de agrupamento foi complementada com a comparação das médias das variáveis estudadas (volume, teor de umidade, A_w , dureza e elasticidade) por meio de teste de Tukey ($p < 0,05$), conforme apresentado na Tabela 3. Essa comparação permitiu caracterizar de maneira mais precisa cada grupo e identificar quais variáveis foram responsáveis pela separação observada no dendrograma.

Figura 7. Dendrograma das amostras de pães controle e com os diferentes emulsificantes ao longo do tempo de armazenamento, obtido a partir dos parâmetros de umidade, atividade de água, volume específico, dureza e elasticidade (A) e obtidos a partir dos parâmetros térmicos (B).

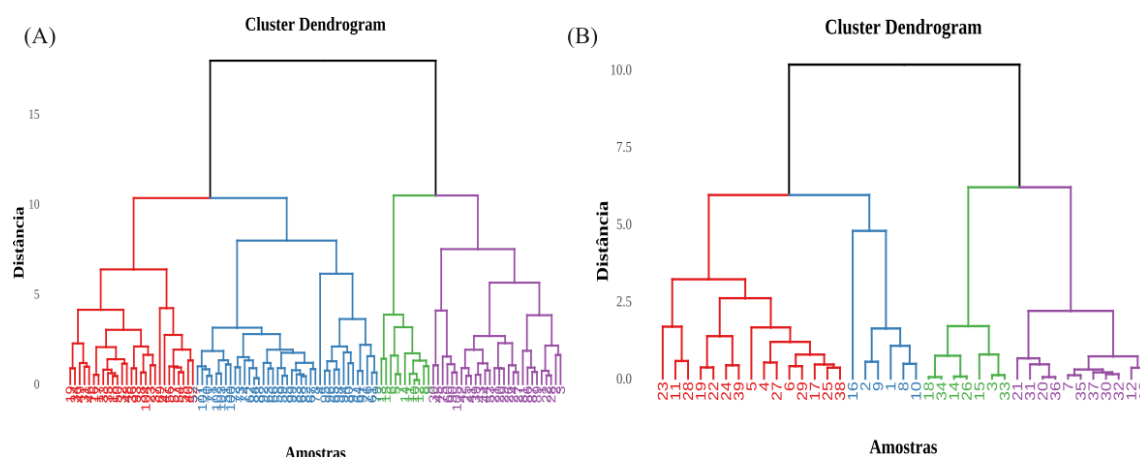


Tabela 3. Médias das variáveis físico-mecânicas (volume específico, teor de umidade, atividade de água, dureza e elasticidade) correspondentes aos grupos formados pela análise de agrupamento hierárquico das amostras de pães com e sem emulsificantes.

Grupo	Número de amostras	Volume específico (ml/g)	Teor de Umidade (%)	Aw	Dureza (gf)	Elasticidade
1	27	2,17 ^b ±0,11	33,92 ^c ±0,68	0,905 ^d ±0,010	4255 ^b ± 642	0,55 ^a ±0,03
2	39	2,19 ^b ±0,13	33,94 ^c ±0,68	0,916 ^c ±0,006	4827 ^a ± 763	0,49 ^b ±0,02
3	11	2,30 ^a ±0,09	37,48 ^a ±0,76	0,935 ^a ±0,006	2147 ^d ± 267	0,55 ^a ±0,03
4	28	2,33 ^a ±0,12	34,73 ^b ±0,66	0,925 ^b ±0,010	3506 ^c ± 743	0,54 ^a ±0,03

Valores em uma mesma coluna, seguidos por letras minúsculas idênticas não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Observa-se na Tabela 3 que a formação dos grupos foi fortemente influenciada pelas variáveis teor de umidade, A_w e dureza, que apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p < 0,05$).

O grupo 3, composto por 11 amostras, destacou-se por apresentar os maiores valores de umidade e A_w , aliados à menor dureza e maior elasticidade, indicando que este grupo corresponde aos pães mais frescos. As amostras pertencentes a este grupo são correspondem exclusivamente ao tempo inicial do armazenamento (0 dias) contendo emulsificantes (SSL, CSL, DMG e DATEM), evidenciando uma separação clara entre

pães frescos formulados com e sem emulsificantes. Esses resultados estão em concordância com o papel funcional dos emulsificantes na estabilização das interfaces proteína-amido, na formação de complexos com amilose e na redução da mobilidade da água livre, mecanismos que contribuem para retardar o início do processo de envelhecimento (Cauvain & Young, 2006; Gray & Bemiller, 2003).

O grupo 4, formado por 28 amostras, apresentou valores intermediários de umidade e A_w , além de dureza moderada, podendo ser caracterizado como um conjunto de amostras em estágio inicial de transição de envelhecimento. Nesse grupo estão presentes as amostras controle no tempo 0 e amostras em tempos iniciais de armazenamento (principalmente 5 e 10 dias), incluindo amostras tratadas com SSL, CSL, DMG e DATEM. Observa-se ainda a presença de amostras formuladas com DATEM e DMG em tempos intermediários e finais de armazenamentos, o que sugere uma tendência de características próximas ao frescor nesses tratamentos, evidenciando o efeito prolongador do frescor.

O grupo 1, composto por 27 amostras, apresentou menores valores de volume específico, umidade e A_w , associados ao aumento significativo da dureza, caracterizando um estágio intermediário de envelhecimento. Esse grupo é constituído principalmente por amostras controle quanto por pães com emulsificantes, principalmente SSL e CSL e DMG, armazenados entre 5 e 20 dias. Por sua vez, o grupo 2, que reuniu 39 amostras, apresentou os maiores valores de dureza e os menores valores de elasticidade, além de baixos teores de umidade e A_w , caracterizando o estágio mais avançado de envelhecimento. Esse grupo é composto majoritariamente por amostras armazenadas entre 20 e 30 dias, tanto pães controle quanto com emulsificantes. Tal comportamento indica uma similaridade no padrão de envelhecimento entre as amostras, independentemente do tipo de emulsificante usado.

A análise dos escores do CP1 permitiu confirmar que a formação dos quatro grupos observados no dendrograma é compatível com os resultados da análise de componentes principais. As amostras agrupadas no grupo 3 apresentaram maiores escores positivos no CP1, sendo associados aos pães frescos. O grupo 4 reuniu amostras com escores intermediário, representando um estado de envelhecimento moderado, enquanto os grupos 1 e 2 concentraram amostras com escores negativos, correspondendo aos pães mais envelhecidos.

Para os parâmetros térmicos identificados neste estudo, a análise de agrupamento resultou em um dendrograma com a formação de quatro grupos distintos de amostras,

conforme apresentado na Figura 7B. O primeiro grupo reuniu 15,38% das amostras, o segundo grupo representou 17,94%, o terceiro grupo compreendeu 38,46% e o quarto grupo 28,21% das amostras. A formação dos grupos baseou-se principalmente nos parâmetros de temperatura de transição vítrea (T_g), fração de água congelável (FW) e entalpia de dissociação dos complexos amilose-emulsificante (ΔH_2), os quais expressam a intensidade e a natureza das transições térmicas associadas ao processo de envelhecimento do pão.

A Tabela 4 apresenta os resultados do teste de médias dos parâmetros térmicos (T_g , ΔH_2 e FW) entre os grupos formados pela análise de agrupamento.

Tabela 4. Médias das variáveis térmicas (T_g , ΔH_2 e FW) correspondentes aos grupos formados pela análise de agrupamento hierárquico das amostras de pães com e sem emulsificantes.

Grupo	Número de amostras	T_g °C	ΔH_2 (J/g)	FW (%)
1	15	$-8,91^b \pm 0,95$	$660^a \pm 115$	$0,29^b \pm 0,04$
2	6	$-6,66^a \pm 0,57$	$535^b \pm 73$	$0,45^a \pm 0,19$
3	7	$-7,88^b \pm 0,84$	$277^b \pm 50$	$0,19^b \pm 0,02$
4	11	$-10,81^c \pm 0,33$	$461^c \pm 65$	$0,18^b \pm 0,03$

T_g = transição vítrea; FW = fração de água congelável, ΔH_2 = entalpia de dissociação dos complexos amilose-emulsificante. Valores em uma mesma coluna, seguidos por letras minúsculas idênticas não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

O grupo 2, composto por 6 amostras, apresentou os maiores valores de transição vítrea (T_g), a maior fração de água congelável (FW) e valores elevados de entalpia de dissociação (ΔH_2), caracterizando um conjunto de amostras com maior mobilidade da fase amorfa e maior proporção de água disponível. Esse comportamento térmico está associado a uma matriz menos rígida e provavelmente com menor avanço do processo de retrogradação do amido. As amostras deste grupo são formadas por pães controle e por pães com emulsificantes (CSL, DMG e DATEM), indicando um estágio de características térmicas compatíveis com pães frescos.

O grupo 1, formado por 15 amostras, apresentou os maiores valores de ΔH_2 , diferindo significativamente dos demais grupos ($p < 0,05$), além de valores intermediários de FW e T_g . Esse resultado indica maior quantidade de complexos amilose-emulsificante

termicamente estáveis, refletindo a maior interação entre o amido e emulsificante na matriz do pão, podendo-se interpretar como um estágio inicial de envelhecimento.

O grupo 3, composto por 7 amostras, apresentou de entalpia de dissociação dos complexos e valores reduzidos de FW, não diferindo estatisticamente do grupo 1 quanto à T_g . Esse conjunto é formado predominantemente por amostras com emulsificantes (SSL, CSL e DMG). A redução de ΔH_2 indica menor quantidade de complexos amilose-emulsificante, enquanto a menor fração de água congelável sugere maior proporção de água fortemente ligada à matriz, refletindo avanço do processo de envelhecimento.

Já o grupo 4, formado por 11 amostras, apresentou menores valores de T_g e de FW, associados a valores intermediários de ΔH_2 , caracterizando o conjunto com menor mobilidade molecular e menor disponibilidade de água livre. Esse comportamento é típico de pães em estágio mais avançado de envelhecimento, nos quais o pão se encontra mais rígido em função da intensificação da retrogradação do amido e da maior associação da água às estruturas reorganizadas.

4 Conclusões

Com base nos resultados obtidos, verificou-se que o tipo de emulsificante exerce influência significativa na modulação das propriedades relacionadas ao frescor do pão de forma, atuando de maneira efetiva na redução da taxa de envelhecimento durante o armazenamento. Entre os emulsificantes avaliados, DATEM e DMG demonstraram maior eficácia na preservação do frescor, refletida em maior volume específico, menor aumento da dureza e maior estabilidade das propriedades ao longo do tempo de armazenamento. Por outro lado, os emulsificantes SSL e CSL apresentaram menor eficiência na manutenção dessas características, indicando que seu efeito sobre a estrutura do pão é mais restrito às etapas iniciais de panificação.

Os resultados indicam que esses efeitos estão relacionados à atuação dos emulsificantes na matriz amido-glúten, por meio do fortalecimento estrutural, da formação de complexos amilose-emulsificante e da modulação da distribuição e mobilidade da água. As análises térmicas corroboraram essas interpretações ao evidenciarem estruturas mais estáveis termicamente nos pães contendo DATEM e DMG, sugerindo menor intensidade da retrogradação do amido.

A abordagem integrada de análises físico-químicas, texturais, térmicas e multivariadas permitiu uma compreensão mais abrangente do envelhecimento do pão,

evidenciando que a perda de frescor resulta da interação conjunta de múltiplos parâmetros. Apesar das limitações inerentes às condições experimentais adotadas, os resultados obtidos contribuem para o avanço do conhecimento sobre o papel dos emulsificantes e fornecem subsídios técnicos relevantes para o desenvolvimento de estratégias voltadas ao aumento da vida útil e à redução do desperdício de pães.

REFERÊNCIA

- AI, J. *et al.* Anti-staling of high-moisture starchy food: Effect of hydrocolloids, emulsifiers and enzymes on mechanics of steamed-rice cakes. **Food Hydrocolloids**, v. 83, p. 454–464, 2018.
- AMIGO, J. M. *et al.* Staling of white wheat bread crumb and effect of maltogenic α -amylases. Part 1: Spatial distribution and kinetic modeling of hardness and resilience. **Food Chemistry**, v. 208, p. 318–325, 2016.
- ANANDA, J.; PEARSON, D.; OAKDEN, S. Breaking bread: Assessment of household bread waste incidence and behavioural drivers. **Journal of Cleaner Production**, v. 471, p. 143377, 2024.
- AZIZI, M. H.; RAJABZADEH, N.; RIAHI, E. Effect of mono-diglyceride and lecithin on dough rheological characteristics and quality of flat bread. **LWT - Food Science and Technology**, v. 36, n. 2, p. 189–193, 2003.
- BAIK, M. Y.; CHINACHOTI, P. Effects of glycerol and moisture gradient on thermomechanical properties of white bread. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, n. 8, p. 4031–4038, 2001.
- BRANCOLI, P. *et al.* Bread loss rates at the supplier-retailer interface – Analysis of risk factors to support waste prevention measures. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 147, p. 128–136, 2019.
- BRANCOLI, P.; ROUSTA, K.; BOLTON, K. Life cycle assessment of supermarket food waste. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 118, p. 39–46, 2017.
- CAUVAIN, S. P.; YOUNG, L. S. **Tecnologia da panificação**. 2^a ed. Editora Americana, 2009.
- CHEN, Y. *et al.* Influence of Amylase Addition on Bread Quality and Bread Staling. **ACS Food Science and Technology**, v. 1, n. 6, p. 1143–1150, 2021.
- COLLAR, C. *et al.* Significance of thermal transitions on starch digestibility and firming kinetics of restricted water mixed flour bread matrices. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 169 - 179, 20 maio 2015.

CUSTOM MARKET INSIGHTS. **Bread Market Size, Trends and Insights by Product Type (Bread & Buns, Cakes & Pastries), by Category (Conventional, Gluten-free), by Distributional Channel (Supermarket & Hypermarket, Bakery, Online), and by Region - Global Industry Overview, Statistical Data, Competitive Analysis, Share, Outlook, and Forecast 2023 - 2030.** 2023.

CURTI, E. *et al.* Bread staling: Effect of gluten on physico-chemical properties and molecular mobility. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 418–425, 2014.

D’ALESSANDRO, M. *et al.* Technological and microbiological characterization of an industrial soft-sliced bread enriched with chitosan and its prebiotic activity. **Current Research in Food Science**, v. 9, p. 100935, 1 jan. 2024.

ERIKSSON, M.; STRID, I.; HANSSON, P. A. Carbon footprint of food waste management options in the waste hierarchy – a Swedish case study. **Journal of Cleaner Production**, v. 93, p. 115 - 125, 2015.

FADDA, C. *et al.* Bread staling: Updating the view. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety** Blackwell Publishing Inc 2014.

FRANCO, M. *et al.* Understanding the influence of the arabinoxylan-rich psyllium (*Plantago ovata*) husk on dough elasticity and bread staling: Interplay between biopolymer and water dynamics. **Food Hydrocolloids**, v. 154, p. 110099, 2024.

GAUPP, R.; ADAMS, W. Diacetyl tartaric esters of monoglycerides (DATEM) and associated emulsifiers in bread making. **Emulsifiers in food technology**, p. 121 - 146, 2014.

GIANNONE, V. *et al.* A novel α -amylase-lipase formulation as anti-staling agent in durum wheat bread. **LWT**, v. 65, p. 381–389, 2016.

GIGLIOTTI, M.; CHIODETTI, M.; CARINI, E. Multi-structural characterization of sorghum flour addition on bread staling dynamics: texture, thermal properties and molecular mobility. **Food Structure**, v. 44, p. 100427, 1 abr. 2025.

GIORDANO, C.; FRANCO, S. Household food waste from an international perspective. **Sustainability (Switzerland)**, v. 13, n. 9, 2021.

GOMES-RUFFI, C. R. *et al.* Effect of the emulsifier sodium stearoyl lactylate and of the enzyme maltogenic amylase on the quality of pan bread during storage. **LWT**, v. 49, n. 1, p. 96–101, 2012.

GRAUSGRUBER, H. *et al.* Influence of dough improvers on whole-grain bread quality of einkorn wheat. **Acta Alimentaria**, v. 37, n. 3, p. 379–390, 2008.

GU, M. et al. Efficient preparation of starch-lipid complexes: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 302, p. 140544, 1 abr. 2025.

GUO, W.; BUDTOVA, T.; MARTINEZ, M. M. Upcycling stale bread into (meso)porous materials: Xerogels and aerogels. **Food Hydrocolloids**, v. 160, p. 110807, 2025.

GUSTAVSSON, J. *et al.* Global Food Losses and Food Waste: Extent, Causes and Prevention. **Food and Agriculture Organisation of the United Nations (FAO)**. Rome, Italy. 2011

HONG, T. *et al.* Comparative study of soluble soybean polysaccharides on bread staling under acidic conditions. **Food Chemistry**, v. 400, 30 jan. 2023.

JOLLIFFE, I. T. J. **Principal Component Analysis**. 2^a ed. New York: Springer-Verlag, 2002.

KOHAJDOVÁ, Z.; KAROVIČOVÁ, J.; SCHMIDT, Š. Significance of Emulsifiers and Hydrocolloids in Bakery Industry. **Acta Chimica Slovaca**. v. 2, p. 46 – 61, 2009.

LI, S. et al. Effects of dextran molecular weight on starch retrogradation and technological properties of Chinese steamed bread: Based on the rubber/glass transition. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 270, p. 131887, 1 jun. 2024.

LIU, S. *et al.* Enhancing bread anti-staling with glucose-derived Maillard reaction products: In-depth analysis of starches, gluten networks, and moisture status. **Food Chemistry**, v. 455, p. 139760, 2024.

MANZOCCO, L. *et al.* Effect of monoglyceride-oil–water gels on white bread properties. **Food Research International**, v. 49, n. 2, p. 778–782, 2012.

MOAYEDALLAIE, S.; MIRZAEI, M.; PATERSON, J. Bread improvers: Comparison of a range of lipases with a traditional emulsifier. **Food Chemistry**, v. 122, n. 3, p. 495–499, 2010.

MONTEAU, J. Y. *et al.* Water transfer in bread during staling: Physical phenomena and modelling. **Journal of Food Engineering**, v. 211, p. 95–103, 2017.

PAREYT, B. *et al.* Lipids in bread making: Sources, interactions, and impact on bread quality. **Journal of Cereal Science**, v. 54, n. 3, p. 266–279, 2011.

PURHAGEN, J. K.; SJÖÖ, M. E.; ELIASSON, A. C. Starch affecting anti-staling agents and their function in freestanding and pan-baked bread. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 7, p. 1656–1666, 2011.

RAJKUMAR. D; PANDIYAN. JANAKI. Effect of emulsifier calcium stearoyl lactate on characteristics of bread. **J. Soils and Crops**, v. 33, p. 132–137, 2023.

- RIBOTTA, P. D. *et al.* Effect of emulsifier and guar gum on micro structural, rheological and baking performance of frozen bread dough. **Food Hydrocolloids**, v. 18, n. 2, p. 305–313, 2004.
- RONDA, F. *et al.* Fermentation time and fiber effects on recrystallization of starch components and staling of bread from frozen part-baked bread. **Journal of Food Engineering**, v. 131, p. 116–123, 1 jun. 2014.
- SANTOS, F. G.; CAPRILES, V. D. Relationships between dough thermomechanical parameters and physical and sensory properties of gluten-free bread texture during storage. **LWT**, v. 139, 1 mar. 2021.
- SARICA, D. *et al.* An econometric analysis of the factors affecting consumers' bread waste and consumption behaviour: a case study of Isparta province, Turkey. **British Food Journal**, v. 123, p. 1449–1464, 2021.
- SCHIRALDI, A.; FESSAS D.; SIGNORELLI, M. Use of termal analysis to design and monitor ceral processing. In: KALETUNÇ G. Calorimetry in food processing: Analysis and desing of food systems. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell/IFT Press, 2009. p. 275 - 287
- SHAIKH, I. M.; GHODKE, S. K.; ANANTHANARAYAN, L. Inhibition of staling in chapati (Indian unleavened flat bread). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 32, n. 3, p. 378–403, 2008.
- STAMPFLI, L.; NERSTEN, B. **Emulsifiers in bread makingFood Chemistry**. [s.l: s.n.].
- TEBBEN, L. *et al.* Improvement of whole wheat dough and bread properties by emulsifiers. **Grain & Oil Science and Technology**, v. 5, n. 2, p. 59–69, 1 jun. 2022.
- WANG, Y.; ZHOU, W. Non-Equilibrium States and Glass Transitions in Bakery Products. **Non-Equilibrium States and Glass Transitions in Foods: Processing Effects and Product-Specific Implications**, p. 63–87, 1 jan. 2017.
- ZHAO, J. H. *et al.* New insight into quality changes in bread dough under different state/phase transitions during frozen storage. **Food Hydrocolloids**, v. 166, p. 111319, 2025.
- ZHOU, B. *et al.* Starch-lipid complexes and their application: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 310, p. 142928, 1 maio 2025.
- ZHOU, Q. *et al.* Spatial distribution patterns of protein and starch in wheat grain affect baking quality of bread and biscuit. **Journal of Cereal Science**, v. 79, p. 362–369, 1 jan. 2018.

ZHONG, Z.; SUN, X. S. Thermal characterization and phase behavior of cornstarch studied by differential scanning calorimetry. **Journal of Food Engineering**, v. 69, n. 4, p. 453–459, 1 ago. 2005.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1. Equação de regressão e valores de métrica dos parâmetros de teor de umidade e A_w para pães controle (CTR), e com os emulsificantes SSL (estearoil lactilato de sódio), CSL (estearoil lactilato de cálcio), DATEM (ésteres de ácido diacetil tartárico e de mono e diglicerídeos), DMG (monoglicerídeo destilado), nos diferentes tempos de armazenamento.

Parâmetros	Parte	Emulsificante	Modelo ajustado	R ²
Teor de umidade	Miolo	CTR	$\hat{y} = 35,10 - 0,21x + 0,005x^2$	0,64
		SSL	$\hat{y} = 35,78 - 0,28x + 0,007x^2$	0,67
		CSL	$\hat{y} = 37,1 - 0,37x + 0,008x^2$	0,79
		DMG	$\hat{y} = 36,58 - 0,19x + 0,003x^2$	0,76
		DATEM	$\hat{y} = 37,7 - 0,35x + 0,007x^2$	0,77
	Crosta	CTR	$\hat{y} = 22,11 + 0,55x - 0,0013x^2$	0,79
		SSL	$\hat{y} = 24 + 0,27x - 0,005x^2$	0,46
		CSL	$\hat{y} = 25,87 + 0,25x - 0,007x^2$	Ns*
		DMG	$\hat{y} = 25,12 + 0,26x - 0,007x^2$	0,43
		DATEM	$\hat{y} = 25,14 + 0,25x - 0,005x^2$	0,58
A_w	Miolo	CTR	$\hat{y} = 0,930 - 0,002x + 0,00006x^2$	0,39
		SSL	$\hat{y} = 0,930 - 0,002x + 0,00007x^2$	0,29
		CSL	$\hat{y} = 0,934 - 0,003x + 0,00008x^2$	0,36
		DMG	$\hat{y} = 0,926 - 0,001x + 0,00005x^2$	Ns*
		DATEM	$\hat{y} = 0,943 - 0,002x + 0,00005x^2$	0,63
	Crosta	CTR	$\hat{y} = 0,862 + 0,004x - 0,0001x^2$	0,45
		SSL	$\hat{y} = 0,862 + 0,004x - 0,00004x^2$	0,43
		CSL	$\hat{y} = 0,884 + 0,002x - 0,00005x^2$	Ns*
		DMG	$\hat{y} = 0,879 + 0,001x - 0,00003x^2$	0,36
		DATEM	$\hat{y} = 0,897 + 0,001x - 0,00004x^2$	Ns*

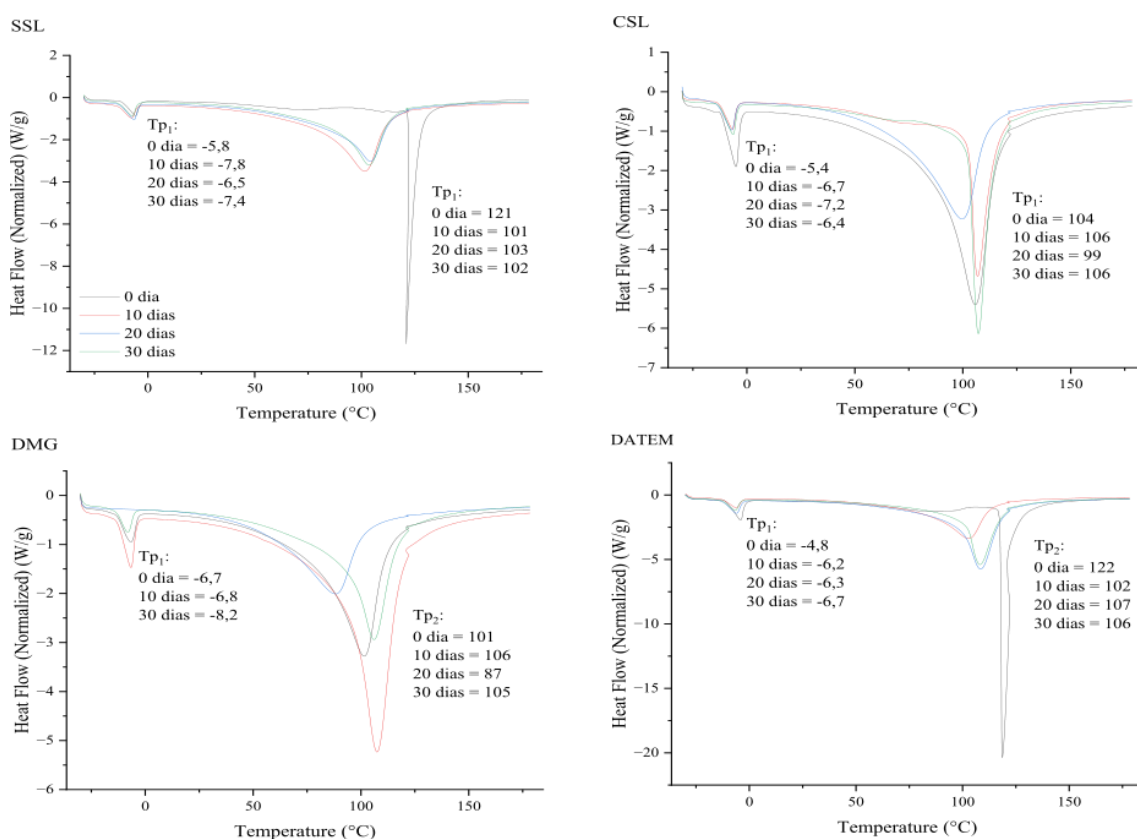
Tabela S2. Equação de regressão e valores de métrica dos parâmetros de textura para os pães controle (CTR), e com os emulsificantes SSL (estearoil lactilato de sódio), CSL (estearoil lactilato de cálcio), DATEM (ésteres de ácido diacetil tartárico e de mono e diglicerídeos), DMG (monoglicerídeo destilado), nos diferentes tempos de armazenamento.

Parâmetros	Emulsificante	Equação de regressão	R ²
Dureza	CTR	$\hat{y} = 2762 + 191x - 3,422x^2$	0,75
	SSL	$\hat{y} = 2570 + 226x - 4,39x^2$	0,86
	CSL	$\hat{y} = 2251 + 172x - 3,11x^2$	0,84
	DMG	$\hat{y} = 2393 + 175x - 3,78x^2$	0,94
	DATEM	$\hat{y} = 1982 + 183x - 3,78x^2$	0,64

Elasticidade	CTR	$\hat{y} = 0,58 - 0,0028x$	0,46
	SSL	$\hat{y} = 54 - 0,0016x$	Ns*
	CSL	$\hat{y} = 0,56 - 0,0027x$	0,57
	DMG	$\hat{y} = 0,58 - 0,0027x$	0,48
	DATEM	$\hat{y} = 0,54 - 0,0019x$	0,31

Ns* modelo não significativo

Figura S1. Termogramas DSC representativo dos pães com os emulsificantes SSL (estearoil lactilato de sódio), CSL (estearoil lactilato de cálcio), DATEM (ésteres de ácido diacetil tartárico e de mono e diglicerídeos), DMG (monoglicerídeo destilado), nos diferentes tempos de armazenamento.



**CAPÍTULO IV: Artigo 2 – Predição do frescor
em pães de forma por espectroscopia no
infravermelho: uma abordagem quimiométrica
para monitoramento durante o armazenamento**

Predição do frescor em pães de forma por espectroscopia no infravermelho: uma abordagem quimiométrica para monitoramento durante o armazenamento

RESUMO

O monitoramento do envelhecimento do pão de forma é fundamental para o controle de sua qualidade ao longo da vida útil. Neste estudo, avaliou-se a aplicação das espectroscopias no infravermelho próximo (NIR) e médio (MIR), associadas à quimiometria, para o acompanhamento do envelhecimento de pães durante o armazenamento. As análises exploratórias (ACP e HCA) permitiram identificar padrões espectrais associados a diferentes estágios de envelhecimento, distinguindo amostras frescas, intermediárias e envelhecidas, principalmente em função das alterações na umidade e da reorganização da matriz amido-proteica. Modelos preditivos baseados em regressão por mínimos quadrados parciais com seleção de variáveis pelo algoritmo iSPA-PLS foram desenvolvidos para estimar parâmetros indicativos de envelhecimento, incluindo teor de umidade, volume específico, atividade de água (A_w), dureza, elasticidade e temperatura de transição vítrea (T_g), apresentando desempenho preditivo satisfatório. De modo geral, os modelos construídos a partir dos espectros MIR apresentaram melhor desempenho, especialmente para umidade e dureza, enquanto os modelos NIR mostraram-se eficientes para variáveis relacionadas ao estado da água e à T_g . Os resultados confirmam a espectroscopia no infravermelho como uma ferramenta rápida, não destrutiva e promissora do frescor e da vida útil de pães de forma.

Palavras Chave: Envelhecimento do pão, predição, modelagem multivariada.

1 Introdução

O pão é uma matriz complexa que passa por transformações químicas e físicas ao longo do processamento e armazenamento, as quais determinam atributos sensoriais como textura, sabor e aparência (Cauvain & Young, 2009). Entre os principais fenômenos envolvidos destacam-se a gelatinização e retrogradação do amido, a formação e degradação da rede de glúten, a redistribuição de água e a formação de complexos entre lipídios, amido e proteínas (Curti et al., 2015; Monteau et al., 2017; Damodaran & Parkin, 2018; Hong et al., 2023). Durante o armazenamento, esses fenômenos se intensificam e resultam no envelhecimento do pão, caracterizado pela perda de maciez, ressecamento e endurecimento do miolo, o que compromete a qualidade sensorial e contribui para o desperdício de alimentos (Ananda et al., 2024; Brancoli et al., 2019; Guo et al., 2025).

O monitoramento do envelhecimento do pão é fundamental para o controle da qualidade e para reduzir perdas ao longo da vida útil. A detecção antecipada das alterações associadas à perda de frescor permite otimizar formulações, condições de processamento e estratégias de armazenamento e distribuição, contribuindo para a diminuição do desperdício alimentar. Métodos convencionais, como determinação de umidade (Curti et al., 2015; Kotsiou et al., 2022; Monteau et al., 2017), perfil de textura (Amigo et al., 2016; Jekle & Becker, 2012; Zhang et al., 2019), propriedades térmicas (Chen et al., 2021a; Li et al., 2024a; Xie et al., 2004) e sensoriais (Chen et al., 2021b; Gomes-Ruffi et al., 2012), embora confiáveis, apresentam limitações por demandarem preparo destrutivo de amostras, alto custo e tempo de execução. Além disso, o uso isolado de cada técnica pode ser insuficiente para captar a complexidade do processo de envelhecimento.

Nesse contexto, técnicas espectroscópicas surgem como alternativas promissoras para o monitoramento do envelhecimento de pães, por requererem pouca ou nenhuma preparação de amostra, permitirem análises rápidas e fornecerem informações físico-químicas em tempo quase real (An et al., 2023; Ringsted et al., 2017). A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) é amplamente aplicada em análises quantitativas e permite monitorar vibrações harmônica e combinações associadas a grupos químicos ligados à água e amido (Pasquini, 2018). Já a espectroscopia no infravermelho médio (MIR) fornece informações mais específicas sobre vibrações fundamentais dos grupos funcionais, sendo útil para caracterização estrutural e identificação de compostos em matrizes complexas (Aït Kaddour et al., 2008; Coqueiro et al., 2024).

Estudos recentes demonstram que regiões específicas do espectro NIR e MIR estão diretamente associadas ao envelhecimento do pão, especialmente às alterações na umidade, na estrutura do amido e no aumento da dureza. Bandas relacionadas à água e à retrogradação do amido tem sido consistentemente apontadas como marcadores do avanço do envelhecimento (Amigo et al., 2019; Neves et al., 2023). Além disso, correlações entre regiões NIR associadas a vibrações de grupos O-H e C-H e bandas MIR atribuídas à reorganização da amilopectina reforçam o potencial dessas técnicas para o monitoramento da perda do frescor (Ringsted et al., 2017). Abordagens integradas, incluindo a fusão de dados espectrais, confirmam ainda a relevância de bandas associadas a grupos hidroxila, cadeia hidrocarbonadas e estruturas glicosídicas como indicadores robustos do envelhecimento do pão (An et al., 2023).

Considerando que os fenômenos associados ao envelhecimento são interdependentes, a integração de dados espectrais com parâmetros físico-químicos

(umidade, A_w), mecânicos (dureza, elasticidade) e térmicos (temperatura de transição vítrea - T_g) permite uma compreensão mais abrangente da evolução da qualidade durante o armazenamento. Nesse contexto, o uso de análises quimiométricas é fundamental pois possibilita extrair informações relevantes de grandes conjuntos de dados multivariados, reduzir a complexidade espectral e identificar padrões ocultos que não seriam evidentes por métodos convencionais.

Assim, este estudo tem como objetivo explorar o uso das espectroscopias NIR e MIR como ferramentas rápidas e não destrutivas para o monitoramento do envelhecimento do pão de forma, por meio da predição e classificação do tempo de armazenamento com base em indicadores de perda de frescor. Para isso, foram desenvolvidos modelos quimiométricos iSPA-PLS visando à predição quantitativa dos parâmetros de qualidade (volume específico, umidade, atividade de água, dureza, elasticidade, T_g).

2 Materiais e métodos

2.1 Materiais utilizados

A farinha de trigo tipo 1, fermento biológico seco instantâneo, açúcar cristal, sal e o óleo foram comprados em supermercado de Itapetinga, Bahia (Brasil), os emulsificantes foram doados pela Prozyn (São Paulo, SP, Brasil) e os antimofos adquiridos da marca Adicel (São Paulo, SP, Brasil).

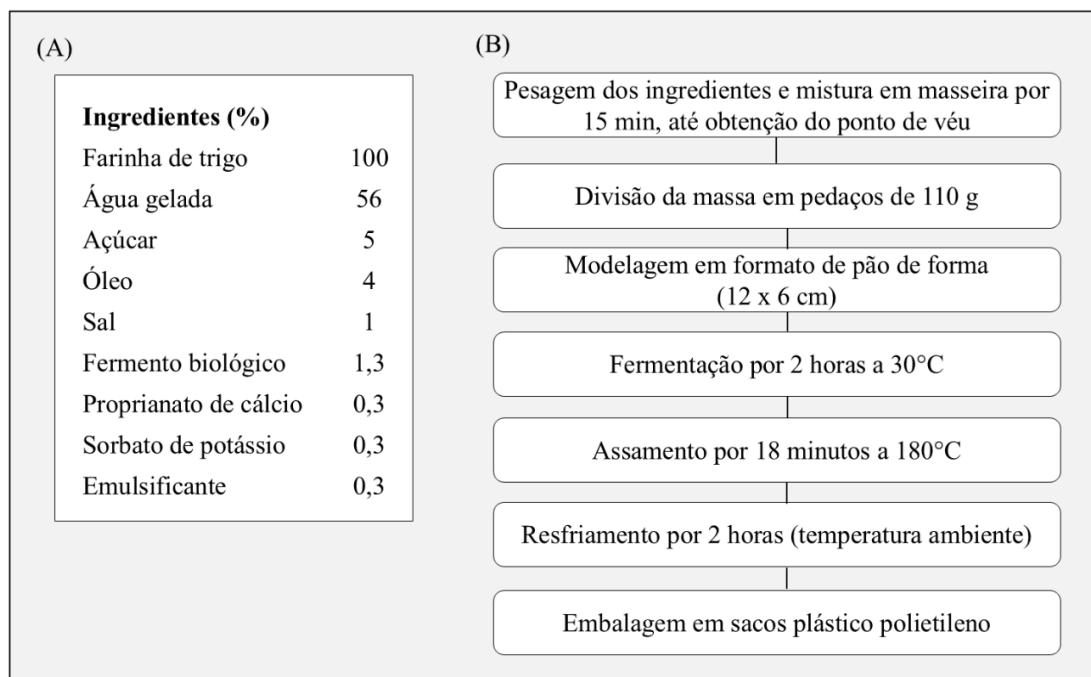
2.2 Produção dos pães

Para o processamento dos pães de forma utilizou-se uma formulação básica, em que todos os ingredientes foram expressos em porcentagem relativa ao peso da farinha de trigo (100%), variando somente o tipo de emulsificante usado (estearoil lactilato de sódio - SSL, estearoil lactilato de cálcio - CSL, monoglicerídeo destilado - DMG e ésteres de ácido diacetil tartárico e mono e diglicerídeos de cálcio - DATEM). A Figura 1 apresenta o esquema de processamento dos pães de forma, assim como a formulação utilizada.

A quantidade de água adicionada foi ajustada com base no teste de farinografia de absorção de água (%), conforme especificação do moinho fornecedor da farinha utilizada. Ao todo, foram produzidos 735 pães de forma, correspondentes a 49 unidades por tratamento (tipo de emulsificante), com três repetições independentes realizadas em dias distintos. Os pães foram distribuídos em sete lotes, de acordo com os tempos de armazenamento estabelecidos (0, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 dias). Após o resfriamento, as

amostras foram armazenadas em câmara B.O.D. a 23 °C até o tempo estabelecido para cada análise e, posteriormente, submetidas ao congelamento a -18 °C, permanecendo nesta condição até o momento das determinações analíticas.

Figura 1. Formulação (A) e fluxograma do processamento (B) dos pães de forma produzidos no estudo.



Fonte: Elaboração própria

Antes da realização de cada análise os pães foram descongelados à temperatura ambiente, por 2 horas e preparados de acordo as exigências metodológicas. Para as análises de umidade, atividade de água (A_w), espectroscopia no infravermelho próximo e médio, e eventos térmicos, as amostras de miolo foram separadas e moídas em multiprocessador (Britânia BMP950 Plus) e submetidas a peneiramento manual com peneira de malha média, com aberturas estimadas entre 0,4 e 0,6 mm, visando à uniformização do tamanho de partícula. Já para análise de textura, os pães foram fatiados em uma fatiadora mecânica de MR Braesi, com aproximadamente 12,5 mm de espessura cada fatia.

2.3 Análises de referência

2.3.1 Volume específico

O volume específico dos pães foi obtido pela razão entre o volume deslocado (método do deslocamento de sementes de painço) e a massa correspondente (mL/g). A determinação seguiu o método 10-05.01 da AACC (2010), sendo realizada em todos os tempos de armazenamento estabelecidos.

2.3.2 Teor de umidade

A umidade do miolo previamente moído foi avaliada em duplicata para cada formulação e período de armazenamento, utilizando o método gravimétrico de secagem em estufa a 105 °C até peso constante, durante 24 h (AOAC, 1997). A variação de umidade entre o início e o final do armazenamento foi expressa em termos percentuais.

2.3.3 Atividade de água (A_w)

As determinações de atividade de água foram realizadas em amostras do miolo triturado, utilizando um equipamento AquaLab Series 3 TE (Decagon Devices, Pullman, WA, EUA). As leituras foram feitas em triplicata para cada lote analisado.

2.3.4 Perfil de textura (TPA)

A textura foi avaliada por meio de ensaios de dupla compressão (TPA) em um analisador de textura TA.HD Plus (Stable Micro Systems, Godalming, Reino Unido), equipado com célula de carga de 750 kg e sonda cilíndrica P/36 mm, conforme metodologia descrita por Purhagen et al. (2011), com ajustes em relação ao tempo de espera. Duas fatias de aproximadamente 25 mm de espessura foram comprimidas no centro do miolo até 40% da altura inicial. As condições de ensaio foram: velocidade pré-teste de 1,0 mm/s, velocidade de teste de 1,7 mm/s, velocidade pós-teste de 10 mm/s, força de gatilho de 5 g e intervalo de 5 s entre os dois ciclos de compressão. Foram obtidos os parâmetros dureza (g) e elasticidade, sendo realizadas sete repetições por conjunto de amostras.

2.3.5 Temperatura de transição vítrea - T_g

A determinação da temperatura de transição vítrea (T_g) do miolo dos pães foi conduzida em um calorímetro diferencial de varredura (DSC 250, TA Instruments, New

Castle, DE, EUA). O equipamento foi calibrado utilizando índio como padrão, e a linha de base foi ajustada com auxílio de dois discos de safira. Porções de aproximadamente 5,0 mg de miolo previamente moído foram acondicionadas e seladas em cápsulas de alumínio. As amostras foram submetidas a resfriamento até -30 °C, mantidas nesta temperatura por 5 min, e em seguida aquecidas a 10 °C/min até atingir 180 °C, seguindo protocolo adaptado de Gigliotti et al. (2025). As análises foram realizadas em quatro tempos de armazenamento (0, 10, 20 e 30 dias), com duas repetições por tratamento. Para a determinação da T_g , os termogramas obtidos foram processados por meio da derivação das curvas software OriginPro 2025 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA).

2.4 Análises espectroscópicas

2.4.1 Espectroscopia de infravermelho próximo – NIR

Para as análises do NIR os espectros do miolo moído foram coletados através de espectrômetro NIR (SpectraStar 2500XL, Unity Scientific, Brookfield, CT, EUA) como medida de reflectância e convertidos em absorbância utilizando $\log 1/R$, operando na faixa de comprimento de onda de 1100–2000 nm, com resolução dos dados de 1 nm segundo a metodologia descrita por Coqueiro et al. (2024). Os espectros foram obtidos como resultado médio de 64 varreduras com 1400 pontos, sendo as absorbâncias associadas aos comprimentos de onda que formaram picos, considerados como as variáveis. A temperatura ambiente foi mantida em torno de 20 °C e o tempo para obtenção de cada espectro foi de 30 s.

2.4.2 Espectroscopia de infravermelho médio – MIR

Para a obtenção dos espectros do MIR do miolo moído foi utilizado a espectroscopia de infravermelho médio de reflexão total atenuada por transformada de Fourier MIR-ATR (Cary 630 FTIR, Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, EUA) no modo absorbância, usando uma faixa espectral de 4000 a 500 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 64 varreduras. As amostras foram colocadas sobre a superfície do cristal de diamante ATR onde cada espectro foi obtido em aproximadamente 30 s. Entre cada coleta, o cristal foi limpo com álcool isopropílico. E a cada 5 min de análise, os espectros de fundo foram lidos (Coqueiro et al., 2024). Durante a coleta, a temperatura ambiente permaneceu em torno de 21°C.

2.5 Análise multivariadas

2.5.1 Análise de componentes principais – ACP

A análise de componentes principais (ACP) foi obtida para visualizar a dispersão das amostras e explorar a relação entre a evolução do processo de envelhecimento do pão e as variáveis selecionadas dos espectros NIR e MIR. Os CPs foram selecionados com base no acúmulo da porcentagem de variância, contendo valores superiores a 70% (Jolliffe, 2002). A análise foi realizada utilizando as bandas previamente selecionadas dos espectros NIR (seis bandas entre 1100 – 2500 nm) e MIR (doze bandas entre 4000 – 500 cm^{-1}), identificadas como relevantes para a diferenciação das amostras durante o processo de envelhecimento, através do software Statistical Analysis System (SAS)[®] OnDemand for Academics.

Os resultados da análise de componentes principais foram representados por meio de biplots, elaborados a partir dos escores e cargas dos dois primeiros componentes principais no software OriginPro 2025 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA).

2.5.2 Análise de agrupamento hierárquico – HCA

A Análise de Agrupamento Hierárquica (HCA) foi conduzida com base nos picos selecionados dos espectros de NIR e MIR. O agrupamento das amostras foi realizado por meio do método hierárquico aglomerativo de Ward, utilizando a distância euclidiana como medida de dissimilaridade. Esse procedimento permitiu a construção de dendrogramas, possibilitando a visualização de padrões de similaridade entre as amostras nos diferentes tempos de armazenamento.

Com o objetivo de verificar quais picos espectrais contribuíram significativamente para a separação entre os grupos identificados, foram aplicados testes estatísticos univariados. Inicialmente, realizou-se análise de variância (ANOVA) para cada variável, seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey ($p < 0,05$).

Todas as análises estatísticas foram conduzidas no ambiente RStudio (versão 4.4.2, 2024), utilizando pacotes específicos para análise multivariada e construção de dendrogramas.

2.5.3 Regressão de mínimos quadrados parciais – PLS

A regressão por mínimos quadrados parciais (PLS) foi aplicada para o desenvolvimento de modelos preditivos a partir dos espectros NIR e MIR, visando à estimativa quantitativa dos indicadores de envelhecimento do pão de forma. Adicionalmente, os dados espectrais foram utilizados para modelar o tempo de armazenamento dos pães de forma.

Para isso, utilizou-se a matriz completa de espectros MIR e NIR (variáveis independentes - matriz X) e os valores de volume, umidade, A_w , dureza, elasticidade e T_g como vetor de resposta (variáveis dependentes - Y). Considerando que o o modelo PLS é aplicado a todo o conjunto espectral, o número de variáveis pode ser muito grande, e nem todas as informações contribuem de forma relevante para a predição dos parâmetros de interesse, além de introduzir ruídos no modelo, comprometendo sua capacidade preditiva. Por isso, utilizou-se a técnica de regressão por mínimos quadrados parciais com intervalo e algoritmo de projeções sucessivas (iSPA-PLS), desenvolvida por Gomes et al., (2013). Essa técnica permite a seleção de variáveis e intervalos espectrais mais significativos, aprimorando a qualidade dos modelos gerados, eliminando as regiões redundantes ou ruidosas e com baixo poder preditivo do espectro completo.

Cada conjunto de dados foi dividido em dois conjuntos: de calibração (conjunto de treinamento), compreendendo 70% dos dados, e de validação (conjunto de teste), contendo os 30% restantes. A divisão foi obtida usando o algoritmo SPXY, que considera a variabilidade dos conjuntos preditor e preditivo para cada variável (Galvão, et al, 2005).

Para a modelagem do iSPA-PLS usou-se o software RStudio, avaliando intervalos de 5 a 10 variáveis para dados NIR e de 30 a 60 variáveis para os dados MIR. A seleção do melhor modelo foi baseada na combinação do erro quadrático médio ($RMSE_v$) reduzido e um coeficiente de determinação (R_v) elevado, para o conjunto de validação. A qualidade preditiva dos modelos foi avaliada de acordo com as figuras de mérito: $RMSE$, R , RPD (razão entre desempenho e desvio) e RER (razão de erro de intervalo) para os conjuntos de calibração e validação. Modelos com valores maiores de R_v e menores de $RMSE_v$, indicam melhor previsibilidade e valores de RPD maior que 2,5 e RER maior que 10, são indicativos de um modelo de calibração mais confiável (An et al., 2023, Chang et al., 2001, Rahman, et al, 2016).

3 Resultado e discussão

3.1 Parâmetros de referência do envelhecimento de pães

Os valores de volume específico, teor de umidade, atividade de água (A_w), dureza, elasticidade foram utilizados como parâmetros de referência para indicar o envelhecimento dos pães ao longo do tempo de armazenamento. Esses parâmetros foram selecionados por refletirem diretamente as alterações físico-estruturais associadas à perda de frescor e qualidade do produto, à redistribuição de umidade entre os componentes e partes do pão, e à reorganização da matriz amido-glúten, resultando no aumento da firmeza do miolo e consequentemente na redução da elasticidade do pão.

A Tabela 1 apresenta os valores médios obtidos para cada uma dessas variáveis, nos diferentes tempos de armazenamento, considerando pães de forma com e sem adição de emulsificante.

Tabela 1. Dados médios de volume específico, teor de umidade, A_w , dureza, elasticidade e T_g de pães de forma, com e sem adição de emulsificantes, em diferentes dias de armazenamento.

Tempo (dias)	Volume (mL/g)	Teor de umidade (%)	A_w	Dureza (g)	Elasticidade	T_g (°C)
0	$2,27 \pm 0,11$	$36,86 \pm 1,24$	$0,936 \pm 0,005$	2297 ± 405	$0,53 \pm 0,06$	$-7,3 \pm 1,4$
5	$2,22 \pm 0,12$	$34,86 \pm 0,74$	$0,920 \pm 0,012$	3408 ± 499	$0,57 \pm 0,01$	
10	$2,22 \pm 0,15$	$34,08 \pm 0,68$	$0,912 \pm 0,008$	3878 ± 617	$0,56 \pm 0,02$	$-9,5 \pm 1,5$
15	$2,28 \pm 0,12$	$33,96 \pm 0,83$	$0,907 \pm 0,009$	4457 ± 714	$0,54 \pm 0,02$	
20	$2,26 \pm 0,16$	$34,04 \pm 0,55$	$0,915 \pm 0,012$	4795 ± 931	$0,48 \pm 0,01$	$-9,2 \pm 1,5$
25	$2,23 \pm 0,12$	$34,03 \pm 0,71$	$0,922 \pm 0,010$	4796 ± 585	$0,50 \pm 0,02$	
30	$2,16 \pm 0,15$	$33,78 \pm 0,52$	$0,914 \pm 0,005$	4699 ± 750	$0,49 \pm 0,01$	$-10,1 \pm 1,0$

Observando-se os dados ao longo do tempo de armazenamento, independentemente do tipo de emulsificante utilizado, é possível identificar características típicas do envelhecimento dos pães (Tabela 1). O teor de umidade apresentou uma redução progressiva, indicando perda e redistribuição da água na matriz do pão, possivelmente entre o miolo e a crosta ou entre os constituintes macromoleculares. Simultaneamente, a atividade de água (A_w) também apresentou tendência de diminuição, sugerindo a redução da fração de água livre disponível à medida que esta se torna cada vez mais associada as estruturas recristalizadas do amido (An et al., 2023).

Paralelamente, observa-se um aumento na dureza do miolo, especialmente até 15 dias de armazenamento, o que reflete diretamente a retrogradação da amilopectina,

processo no qual as moléculas de amido passam de uma forma amorfa para uma estrutura mais cristalina, promovendo a firmeza da textura (Gray & Bemiller, 2003). A elasticidade, por sua vez, tende a apresentar redução ao longo do tempo, evidenciando a perda da capacidade do miolo de se recuperar após deformações mecânicas, característica marcante do pão envelhecido (Amigo et al., 2016).

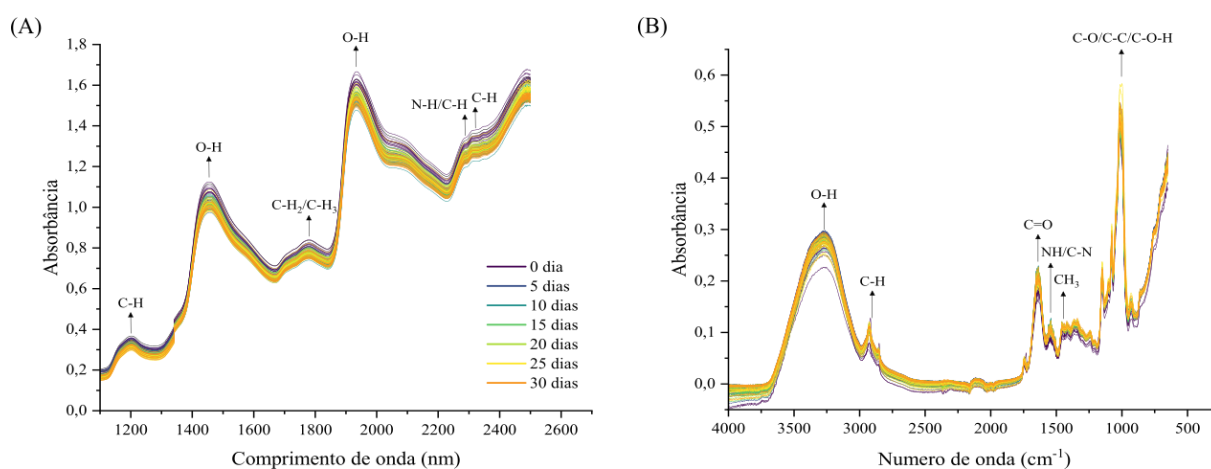
Apesar do aumento da dureza ao longo do armazenamento, a temperatura de transição vítrea - T_g apresentou valores com tendência de redução ao longo do tempo. Embora a T_g seja normalmente influenciada pelo teor de umidade, o comportamento observado sugere que sua evolução foi determinada pelo efeito combinado dos constituintes da formulação, incluindo lipídios, açúcares e outros componentes com caráter plastificante.

Em conjunto, a redução do teor de umidade e da A_w , o aumento de dureza, a diminuição da elasticidade e a variação da T_g , configuram um quadro consistente de perda de frescor, indicando o avanço do envelhecimento dos pães durante o armazenamento.

3.2 Análise espectral de infravermelho

A análise dos espectros nas regiões do infravermelho próximo (NIR) e médio (MIR) foram empregadas com o intuito de explorar possíveis alterações estruturais nos pães ao longo do tempo de armazenamento. Os espectros brutos de NIR e MIR estão apresentados na Figura 2.

Figura 2. Espectros das amostras de pães forma, nos diferentes tempos de armazenamento. Espectro NIR (A) e espectro MIR (B).



A identificação e atribuição química das diferentes bandas de absorção NIR para o pão já foram propostas (Aït Kaddour et al., 2008; Amigo et al., 2019; Cevoli et al., 2015; España-Fariñas et al., 2025; Ringsted et al., 2017), sendo as principais registradas em torno de 1200 nm, 1450 nm, 1780 nm, 1940 nm e 2330 nm. Essas regiões espectrais estão frequentemente associadas às vibrações dos grupos funcionais C-H, O-H e N-H, que são indicativos da presença de constituintes como água, amido, proteína e compostos lipídicos, refletindo a composição geral da matriz do pão.

Nos espectros NIR (Figura 2A) observou-se uma tendência decrescente da intensidade de absorbância ao longo do tempo de armazenamento em todo comprimento de onda. Essa diminuição foi perceptível especialmente nas regiões entre 1420-1457 nm, 1900-1940 nm e 2170-2280 nm, que, segundo Aït Kaddour et al. (2008), Cevoli et al. (2015) e Ringsted et al. (2017), estão relacionadas às vibrações de ligações O-H, C-H e N-H presentes em moléculas de água, amido e proteínas do glúten.

Esse comportamento está associado à perda gradual de umidade do pão e à diminuição da mobilidade da água, que se torna mais fortemente ligada à matriz de amido e glúten. Durante o armazenamento, ocorre migração de água entre miolo e casca e, simultaneamente, intensificação do processo de retrogradação do amido (Gray & Bemiller, 2003). Dessa forma, a diminuição da intensidade de absorbância ao longo do armazenamento reflete as transformações moleculares típicas do envelhecimento do pão, caracterizadas pela redistribuição da umidade, cristalização da amilopectina e redução da flexibilidade da rede de glúten.

Nos espectros do infravermelho médio (MIR), Figura 2B, não se observou um comportamento uniforme de redução da absorbância ao longo de todo o espectro com o tempo de armazenamento. Destacaram-se bandas em $3400\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$ e em 2920 cm^{-1} , atribuídas às vibrações de estiramento das ligações O-H e C-H (An et al., 2023). Embora se esperasse uma redução sistemática na intensidade na região de 3274 ao longo do armazenamento, indicando perda de umidade, os resultados obtidos não mostraram uma tendência regular. Essa variação sugere que o comportamento espectral da água no pão não depende apenas da sua quantidade total, mas também do seu estado de ligação e das interações moleculares estabelecidas com os componentes da matriz, especialmente amido e proteínas.

Por outro lado, em todas as amostras, observou-se um aumento da absorbância nas bandas entre $1700\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$, $1550\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ e $1200\text{-}900\text{ cm}^{-1}$. Essas regiões são atribuídas, respectivamente, às vibrações das amidas I, II, associadas às proteínas do

glúten, e às vibrações C-O e C-O-C, relacionadas à estrutura dos carboidratos (Aït Kaddour et al., 2008; Sivam et al., 2013). O aumento da intensidade nessas bandas pode indicar reorganizações estruturais na matriz amido-glúten e retrogradação do amido, características típicas do processo de envelhecimento do pão (Ringsted et al., 2017).

Em especial, a região de 850 a 1100 cm^{-1} , destacada por Ringsted et al. (2017), é sensível às vibrações C-O-C das ligações glicosídicas e reflete o equilíbrio entre estados amorfos e cristalinos do amido. A alta absorbância em 1049 cm^{-1} tem sido associada a estruturas mais cristalinas, típicas de pães envelhecidos, enquanto valores mais elevados em 1024 cm^{-1} estão relacionados a estados mais amorfos, característicos de pães frescos. Nesse contexto, essa região destacada pelos autores pode ser considerada marcadores importantes do processo de envelhecimento de pães.

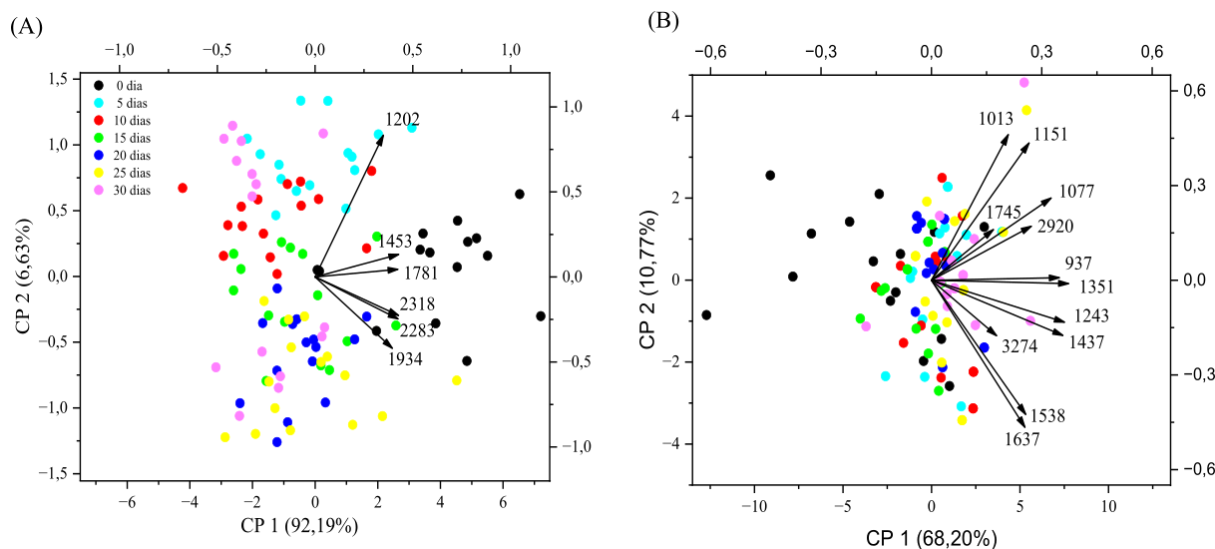
A razão 1047/1022 cm^{-1} é frequentemente utilizada como um índice de cristalinidade, sendo seu aumento associado ao processo de retrogradação, resultando em uma matriz mais rígida e menos flexível. Já a razão 1022/995 cm^{-1} está associada ao grau de organização da fase amorfa, podendo indicar mudanças iniciais na estrutura do amido após o armazenamento (Nhouchi et al., 2018).

3.3 Análise de Componentes Principais - ACP

A ACP foi realizada para visualizar o efeito do tempo de armazenamento dos pães e explorar a relação entre a evolução do envelhecimento e os espectros NIR e MIR selecionados.

O resultado da análise de componentes principais aplicada aos picos do espectro NIR e as amostras estão apresentado na Figura 3A. A variância explicada para os dois primeiros CPs foi de 92,19 e 6,67%, respectivamente. Observou-se que o tempo de armazenamento foi a principal fonte de variação entre as amostras, promovendo uma separação ao longo do eixo CP1. As amostras correspondentes ao tempo 0 localizaram-se na região positiva do eixo, à direita do gráfico, sugerindo características espectrais distintas, associadas ao maior frescor do pão. Por outro lado, os demais tempos de armazenamento (5 a 30 dias) agruparam-se nas regiões central e negativa de CP1, indicando comportamento semelhante relacionado as transformações típicas do envelhecimento como migração e perda de água, retrogradação do amido e reorganização da matriz amido-glúten.

Figura 3. Diagrama de dispersão dos componentes principais 1 e 2 das amostras de pão nos diferentes tempos de armazenamento, utilizando as principais bandas espectrais do NIR (A) e MIR (B).



A CP1 correlacionou positivo e significativa ($p < 0,05$) com todas variáveis selecionadas: 1202, 1781, 2283 e 2318 nm, atribuídos principalmente a vibrações de ligações C-H e N-H de estruturas amido-glúten, e 1453 e 1934 nm, diretamente associados às vibrações O-H da água. Esses resultados sugerem que CP1 pode ser interpretado como um indicador do grau de frescor do pão, uma vez que representa as variações ligadas ao frescor e ao processo de envelhecimento do pão. Nesse contexto, deslocamentos ao longo do CP1 refletem a transição entre o estado fresco e o envelhecido.

Para os espectros do MIR submetidos a ACP (Figura 2B), os dois primeiros componentes principais explicaram 79% da variância total com 68,2 e 10,77% para CP1 e CP2 respectivamente. Assim como observado nos espectros NIR, o CP1 pode ser interpretado como um eixo relacionado ao envelhecimento, em que valores negativos estão associados ao frescor e valores positivos ao envelhecimento do pão. Esse comportamento evidencia que, à medida que o tempo de armazenamento aumenta ocorre um deslocamento das amostras em direção a região positiva de CP1, indicando mudanças progressivas associadas ao envelhecimento.

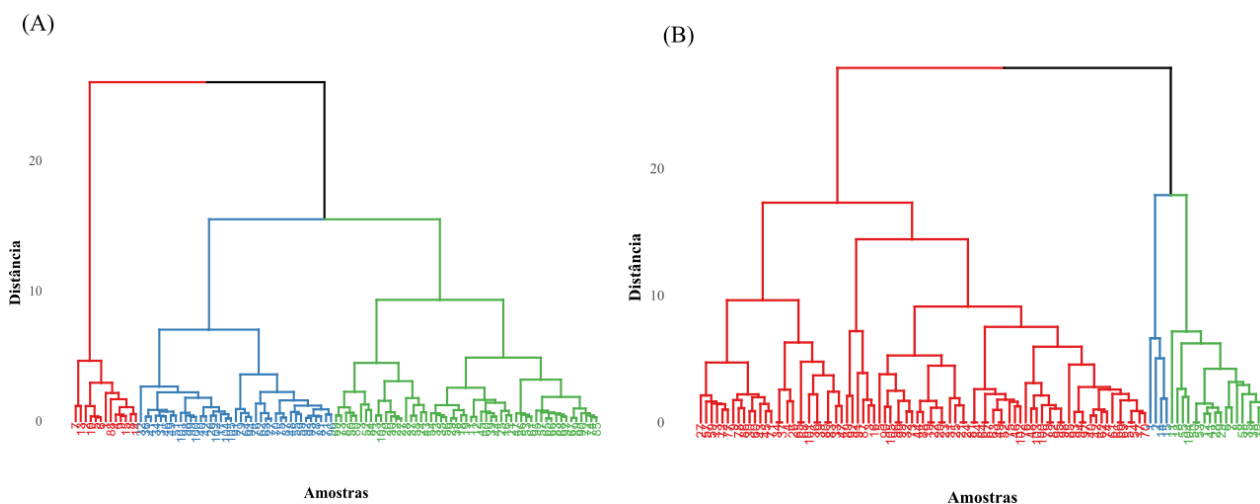
Todas as variáveis selecionadas apresentaram correlação significativamente positiva ($p < 0,05$) com CP1, sendo, portanto, associada ao frescor dos pães, incluindo a banda em 3274 cm^{-1} , atribuída ao estiramento O-H, que indica a participação da água nas mudanças estruturais durante o armazenamento. As variáveis associadas ao envelhecimento estão ligadas às modificações na estrutura do amido, relacionadas com vibrações de C-N, C-O,

C-H e C-O-H (1151 cm^{-1} , 1077 cm^{-1} , 1013 cm^{-1} e 937 cm^{-1}) e à rede proteica do glúten, relacionadas com vibrações de C=O, C=C e N-H (1745 cm^{-1} , 1637 cm^{-1} , 1538 cm^{-1} e 1437 cm^{-1}). O aumento da intensidade nessas regiões está relacionado à retrogradação do amido e à reorganização da matriz amido-glúten, reforçando o papel de CP1 como marcador espectral do envelhecimento do pão.

3.4 Análise de agrupamento hierárquico – HCA

Os picos selecionados dos espectros NIR e MIR foram utilizados na análise de agrupamento hierárquico (HCA) como uma etapa exploratória, com objetivo de observar a proximidade espectral entre as amostras de pão de forma ao longo dos diferentes tempos de armazenamento. Essa abordagem visa avaliar a formação de classes associadas aos estágios de envelhecimento e verificar a existência de padrões naturais de agrupamento entre as amostras. Os resultados da HCA são apresentados na forma de dendrogramas (Figura 4).

Figura 4. Dendrogramas das amostras de pães de forma nos picos espectrais selecionados do NIR (A) e MIR (B).



A análise de agrupamento hierárquico (HCA) aplicada aos picos selecionados dos espectros NIR (Figura 4A) resultou na formação de três agrupamentos distintos, que refletiram diferentes estágios de envelhecimento do pão de forma. O grupo localizado à esquerda do dendrograma foi composto predominantemente por amostras correspondentes ao tempo 0 de armazenamento, indicando um perfil espectral característico de pães frescos (grupo1). O agrupamento central reuniu amostras dos tempos mais longos de armazenamento (principalmente 30 dias), associando a um estado

avanzado de envelhecimento (grupo 2). Já o agrupamento à direita concentrou o maior número de amostras, representando um grupo heterogêneo, formado por amostras de tempos intermediários (5 a 25 dias), refletindo a transição entre o estado fresco e o envelhecido (grupo 3)

Através da comparação das médias dos picos selecionados (1202, 1453, 1781, 1934, 2283 e 2318 nm) por meio de teste de Tukey ($p < 0,05$), observou-se que todos os picos apresentaram diferença estatística significativa entre todos os agrupamentos (Tabela 2).

Tabela 2. Médias dos picos NIR (absorbância) para os agrupamentos formados através da análise de agrupamento hierárquico.

Picos (nm)	Grupo 1 (n=13)	Grupo 2 (n=39)	Grupo 3 (n=53)
1202	0,352 ^a ± 0,007	0,313 ^c ± 0,008	0,327 ^b ± 0,010
1453	1,090 ^a ± 0,016	0,997 ^c ± 0,009	1,029 ^b ± 0,015
1781	0,816 ^a ± 0,012	0,757 ^c ± 0,007	0,780 ^b ± 0,011
1934	1,621 ^a ± 0,018	1,519 ^c ± 0,021	1,546 ^b ± 0,019
2283	1,303 ^a ± 0,014	1,225 ^c ± 0,012	1,252 ^b ± 0,014
2318	1,344 ^a ± 0,014	1,261 ^c ± 0,012	1,288 ^b ± 0,014

Valores em uma mesma linha seguidos por letras minúsculas idênticas não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

As amostras do grupo 1 apresentaram maiores valores de absorbância nas bandas 1453 e 1934 nm, relacionados às vibrações de estiramento O-H da água, bem como nas bandas 1202, 1781, 2283 e 2318 nm, atribuídas às vibrações C-H e N-H de carboidratos e proteínas. Esse perfil espectral indica maior conteúdo de água e menor compactação da matriz amido-proteica, correspondendo às amostras com maior teor de umidade e menor valor de dureza, características típicas de pães frescos.

Em contraste, as amostras do grupo 2 exibiram menores valores de absorbância nessas regiões, indicando alterações estruturais associadas à perda e redistribuição de umidade, à retrogradação do amido e à reorganização da matriz proteica durante o armazenamento. Esses fenômenos são característicos dos pães envelhecidos, que tendem a apresentar menor mobilidade molecular, estrutura mais rígida e aumento progressivo da dureza (Amigo et. al., 2019). Assim, as amostras desse grupo apresentaram menor teor

de umidade e aumento na dureza, refletindo o avanço do processo de envelhecimento dos pães de forma.

Já para os espectros MIR, a análise dos picos selecionados evidenciou a formação de quatro agrupamentos distintos, apresentados no dendrograma da Figura 4B. O agrupamento 3 reuniu somente quatro amostras correspondentes ao tempo 0, representando o conjunto mais homogêneo e característico de pães frescos. Em contraste, o agrupamento com maior número de amostras (56), grupo 2, foi composto por amostras distribuídas entre praticamente todos os tempos de armazenamento, com predominância dos tempos mais avançados (20, 25 e 30 dias). Caracterizando o grupo associado aos estágios mais avançados de envelhecimento. Os demais agrupamentos, grupo 1 e 4, com 27 e 18 componentes respectivamente, concentraram amostras provenientes principalmente de tempos intermediários de armazenamento.

Ao comparar as médias de absorvância dos picos selecionados (3274 2920, 1745, 1637, 1538, 1437, 1351, 1243, 1151, 1077, 1013 e 937 cm^{-1}), apresentados na Tabela 3, observou-se que, de modo geral, o grupo 2 apresentou as maiores intensidades de absorvância, enquanto o grupo 3, correspondente às amostras de pães frescos, apresentou as menores intensidades. Os grupos 1 e 4 exibiram valores intermediários, com diferenças estatísticas significativas em diversas bandas. Esse comportamento indica que o agrupamento obtido reflete um gradiente crescente de absorvância global associado ao avanço do envelhecimento, resultado de modificações estruturais e interações moleculares progressivas entre os constituintes da matriz amido-proteica.

Tabela 3. Médias dos picos MIR (absorvância) para os agrupamentos formados através da análise de agrupamento hierárquico.

Picos (cm^{-1})	Grupo 1 (n=27)	Grupo 2 (n=56)	Grupo 3 (n=4)	Grupo 4 (n=18)
3274	0,284 ^a $\pm$ 0,007	0,280 ^a $\pm$ 0,009	0,251 ^b $\pm$ 0,018	0,277 ^a $\pm$ 0,010
2920	0,101 ^a $\pm$ 0,005	0,105 ^a $\pm$ 0,006	0,072 ^b $\pm$ 0,007	0,099 ^a $\pm$ 0,007
1745	0,043 ^a $\pm$ 0,003	0,044 ^a $\pm$ 0,003	0,034 ^b $\pm$ 0,003	0,042 ^a $\pm$ 0,002
1637	0,217 ^a $\pm$ 0,007	0,204 ^b $\pm$ 0,005	0,179 ^c $\pm$ 0,007	0,198 ^b $\pm$ 0,006
1538	0,107 ^a $\pm$ 0,005	0,100 ^b $\pm$ 0,004	0,084 ^c $\pm$ 0,003	0,095 ^b $\pm$ 0,004
1437	0,111 ^a $\pm$ 0,002	0,109 ^a $\pm$ 0,002	0,094 ^c $\pm$ 0,003	0,104 ^b $\pm$ 0,002
1351	0,111 ^a $\pm$ 0,002	0,116 ^a $\pm$ 0,002	0,099 ^c $\pm$ 0,003	0,109 ^b $\pm$ 0,002

1243	0,099 ^a ± 0,002	0,098 ^a ± 0,002	0,081 ^c ± 0,003	0,093 ^b ± 0,001
1151	0,211 ^b ± 0,002	0,220 ^a ± 0,004	0,202 ^c ± 0,009	0,212 ^b ± 0,003
1077	0,278 ^b ± 0,003	0,286 ^a ± 0,005	0,262 ^c ± 0,008	0,273 ^b ± 0,004
1013	0,501 ^b ± 0,007	0,527 ^a ± 0,013	0,497 ^b ± 0,016	0,501 ^b ± 0,011
937	0,151 ^a ± 0,004	0,150 ^a ± 0,005	0,131 ^c ± 0,006	0,142 ^b ± 0,001

Valores em uma mesma linha seguidos por letras minúsculas idênticas não diferem entre si ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

As maiores intensidades observadas para o grupo 2 indicam um maior grau de reorganização molecular e de ordenação estrutural na matriz do miolo, fenômenos característicos dos estágios mais avançados de envelhecimento. O aumento da absorvância nas regiões associadas às vibrações C-H, C=O, C-O e C-O-H (entre 2920 e 937 cm⁻¹) está relacionado à formação de novas ligações intermoleculares e à cristalização parcial do amido, resultantes do processo de retrogradação da amilopectina (Nhouchi et al., 2018; Tao et al., 2024).

De modo geral, a aplicação da análise de agrupamentos hierárquicos (HCA) aos espectros NIR e MIR permitiu identificar a formação de agrupamentos correspondentes aos diferentes estágios de envelhecimento do pão, evidenciando que as variações espectrais refletem tanto mudanças de umidade e redistribuição de água (NIR) quanto alterações estruturais da matriz amido-proteína (MIR). A distinção espectral entre amostras frescas, intermediárias e envelhecidas confirma a existência de padrões discriminantes consistentes, que podem ser explorados em análises supervisionadas para predição e monitoramento do processo de envelhecimento do pão de forma.

3.5 Regressão de mínimos quadrados parciais – PLS

Os resultados da calibração e validação dos modelos otimizados construídos a partir dos espectros NIR e MIR para a predição dos parâmetros indicativos do envelhecimento do pão, como volume, teor de umidade, atividade de água (A_w), dureza, elasticidade e temperatura de transição vítrea (T_g), estão apresentados na Tabela 4. A aplicação do algoritmo iSPA-PLS resultou uma redução expressiva no número de variáveis espectrais empregadas, contribuindo para a simplificação e robustez dos modelos preditivos. Os espectros foram divididos em intervalos contendo de 5 a 110 variáveis, dos quais 4 a 215 intervalos foram selecionados como estatisticamente relevantes pelos modelos de calibração. Essa estratégia permitiu o desenvolvimento de

modelos mais enxutos e eficientes, focados nas regiões espectrais de maior relevância química, promovendo melhor desempenho preditivo, maior interpretabilidade dos resultados e redução significativa do tempo computacional necessário para as análises.

Os valores de RMSE apresentados na Tabela 4 evidenciam variações relevantes entre as variáveis indicadoras de envelhecimento e entre os conjuntos de calibração e validação. Em todos os modelos avaliados, os valores de $RMSE_v$ foram inferiores aos de $RMSE_c$, indicando menor erro de predição e maior robustez dos modelos. Essa tendência reforça a eficiência da seleção de faixas espectrais específicas mais seletivas e informativas, obtidas pelo algoritmo iSPA-PLS.

A avaliação do desempenho e do potencial preditivo foi realizada com base nos parâmetros RMSE, R, RPD e RER. Um bom modelo de calibração deve apresentar coeficientes de determinação (R) próximos de 1, indicando forte associação entre valores observados e preditos, e valores de $RMSE_v$ baixos, próximo de zero. Além disso, valores de RPD superiores a 2,5 e RER acima de 10 são indicativos de modelos de calibração com desempenho preditivo satisfatório e aplicabilidade analítica (Rahman, et al, 2016; Chang et al., 2001).

Nos modelos baseados nos espectros MIR, observaram-se os melhores desempenhos preditivos, especialmente para as variáveis umidade e dureza, com valores de R_v acima de 0,93, RPD_v entre 2,82 e 3,68 e RER_v variando de 13,78 a 21,06. Para os modelos NIR, o desempenho também foi satisfatório, especialmente para umidade ($R_v = 0,92$; $RPD_v = 2,59$ e $RER_v = 13,16$) e elasticidade ($R_v = 0,92$ e $RPD_v = 2,65$), indicando que o NIR foi eficiente na captação das variações de água e textura do miolo. Já para volume específico, tanto o NIR quanto o MIR apresentaram RPD_v em torno de 1,7 a 2,1 e RER_v acima de 8, valores considerados aceitáveis para predições aproximadas ou aplicações exploratórias. Por outro lado, a variável A_w apresentou desempenho intermediário em ambas as regiões espectrais, com RPD_v entre 1,74 e 2,39 e RER_v de 6,73 e 10,57, o que indica boa tendência de correlação, porém menor precisão preditiva.

Tabela 4. Figuras de métricas de calibração e validação dos modelos multivariados construídos com espectros NIR e MIR para predição dos parâmetros indicadores de envelhecimento de pão utilizando o algoritmo iSPA–PLS.

Variáveis	Tratamento	VL	NIS	NVI	RMSE _c	RMSE _v	R _c	R _v	RPD _c	RPD _v	RER _c	RER _v
Volume												
NIR	Nenhum	12	5	110	0,077	0,068	0,85	0,79	1,97	1,71	9,76	7,68
MIR	2ª derivada	6	15	10	0,092	0,05	0,79	0,87	1,67	2,10	8,18	8,99
Umidade												
NIR	Nenhum	5	10	7	0,707	0,275	0,86	0,92	2,02	2,59	9,55	13,16
MIR	1ª derivada	9	8	9	0,449	0,259	0,94	0,93	3,19	2,82	15,05	13,78
Aw												
NIR	1ª derivada	5	15	80	0,007	0,005	0,83	0,81	1,84	1,74	9,68	6,73
MIR	1ª derivada	6	11	9	0,005	0,003	0,77	0,90	1,58	2,39	8,22	10,57
Dureza												
NIR	1ª derivada	5	215	60	743,2	271,5	0,78	0,93	1,61	2,81	7,15	12,37
MIR	Nenhum	5	7	9	593,1	182,3	0,87	0,96	2,05	3,68	8,96	21,06
Elasticidade												
NIR	Nenhum	13	11	70	0,016	0,014	0,89	0,92	2,30	2,65	8,54	7,93
MIR	Nenhum	7	4	8	0,023	0,014	0,81	0,90	1,74	2,60	6,11	7,47
T_g												
NIR	Nenhum	6	3	5	1,01	0,361	0,78	0,96	1,65	3,93	5,22	12,46
MIR	Nenhum	9	3	5	1,25	0,388	0,64	0,95	1,34	2,39	4,22	4,89

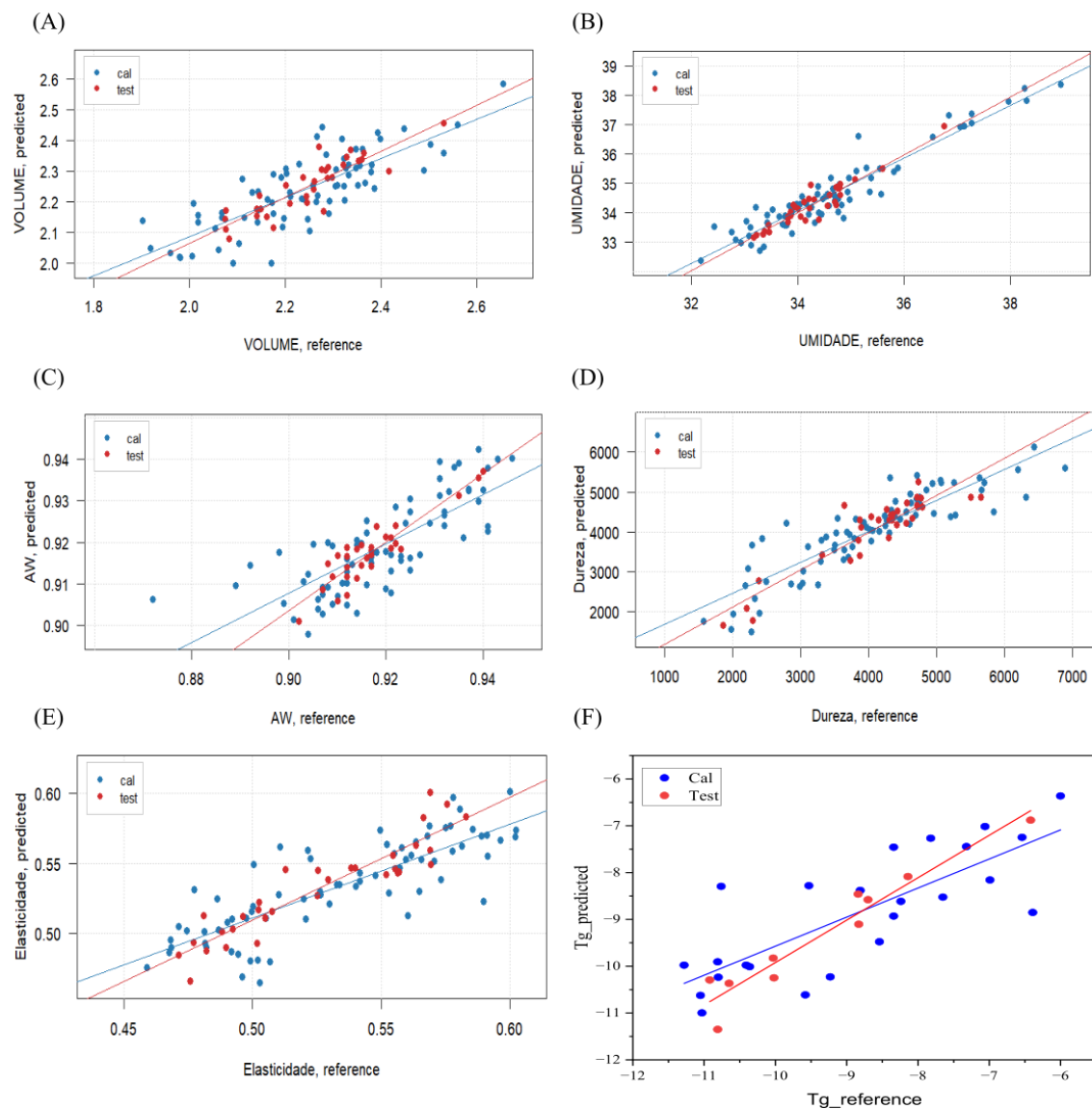
VL: Variável Latente; NIS: Número de Intervalos Seleccionados; NVI: Número de variáveis por Intervalo; RMSE: Erro Quadrático Médio; R: Coeficiente de Correlação; RPD: Razão entre Desempenho e Desvio, RER: Razão de Erro de intervalo

Para variável térmica T_g , o modelo NIR demonstrou melhor desempenho preditivo ($R_v = 0,96$; $RPD_v = 3,93$; $RER_v = 12,46$), sendo capaz de captar as variações associadas ao estado físico do miolo e ao teor de água, fatores que influenciam diretamente a T_g . Por outro lado, o modelo MIR apresentou desempenho intermediário ($R_v = 0,95$; $RPD_v = 2,39$; $RER_v = 4,89$), adequado para aplicações exploratórias, mas com menor precisão quantitativa.

De modo geral, os parâmetros de validação revelaram valores de correlação (R) superiores a 0,8, indicando forte associação entre os valores observados e os preditos. Essa relação pode ser visualizada nos gráficos de dispersão das Figuras 5 e 6, que apresentam os resultados obtidos para os espectros NIR e MIR, respectivamente. A distribuição dos pontos próximos à linha de tendência confirma o poder explicativo e a adequada capacidade preditiva dos modelos em ambos os conjuntos de calibração e validação.

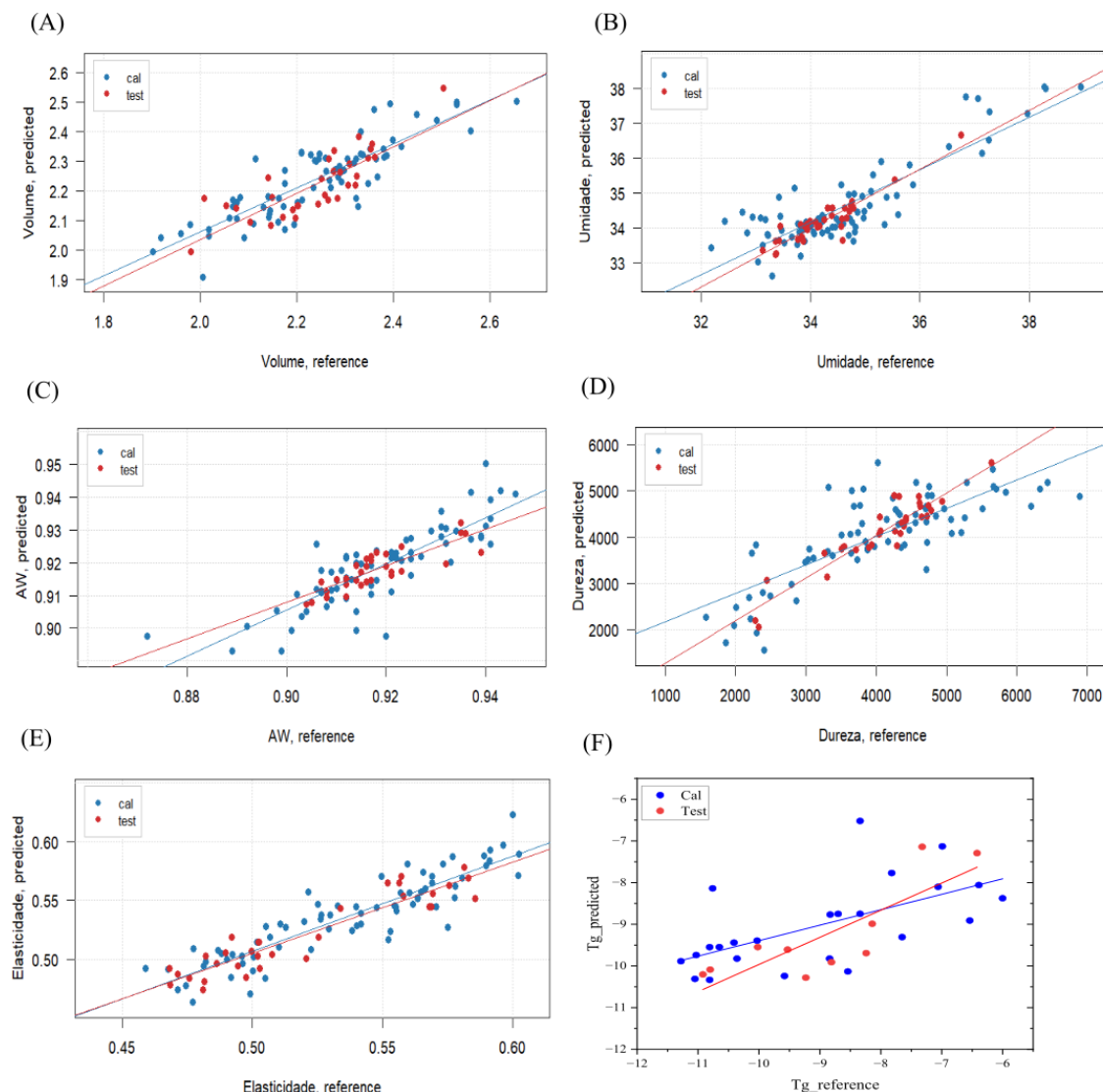
De modo geral, a concordância entre os resultados apresentados na Tabela 4 e os gráficos de dispersão reforça a eficiência do algoritmo iSPA-PLS na identificação de regiões espectrais mais relevantes para cada variável de resposta. Observou-se que os modelos otimizados selecionaram intervalos espectrais associados a grupos funcionais característicos dos parâmetros indicadores de envelhecimento do pão, especialmente aqueles relacionados à água (O-H), aos carboidratos e amido (C-O, C-C e C-H) e às proteínas (N-H e C=O). Essas regiões correspondem a transformações estruturais e físico-químicas que ocorrem ao longo do armazenamento, influenciando diretamente atributos como umidade, textura e a organização da matriz amilácea-proteica.

Figura 5. Gráficos de dispersão entre os valores de referência (●) e os valores preditos (●), obtidos pelos modelos baseados nos espectros NIR para diferentes variáveis de qualidade do pão: (A) umidade, (B) dureza, (C) atividade de água (A_w), (D) volume específico e (E) elasticidade.



A linha azul representa a linha ideal ($y = x$), enquanto a linha vermelha corresponde à regressão dos dados.

Figura 6. Gráficos de dispersão entre os valores de referência (●) e os valores preditos (●), obtidos pelos modelos baseados nos espectros MIR para diferentes variáveis de qualidade do pão: (A) umidade, (B) dureza, (C) atividade de água (A_w), (D) volume específico e (E) elasticidade.



A linha azul representa a linha ideal ($y = x$), enquanto a linha vermelha corresponde à regressão dos dados.

4 Conclusões

A utilização das espectroscopias NIR e MIR associadas à quimiometria demonstrou ser uma abordagem eficiente para o monitoramento do envelhecimento do pão de forma. As avaliações espectrais apresentaram forte correlação com parâmetros físico-químicos e mecânicos indicativos da perda de frescor, refletindo as transformações estruturais da matriz amido-proteica ao longo do armazenamento, especialmente nas

regiões associadas à água (O-H), aos carboidratos e ao amido (C-O, C-C e C-H) e às proteínas (N-H e C=O).

As análises exploratórias permitiram a identificação de padrões espectrais associados aos diferentes estágios de envelhecimento, enquanto os modelos preditivos iSPA-PLS apresentaram desempenho satisfatório para a maioria das variáveis avaliadas. De modo geral, os modelos baseados nos espectros MIR apresentaram melhor desempenho preditivo, especialmente para umidade e dureza, indicando maior sensibilidade às modificações estruturais do sistema amido-glúten. Já os modelos NIR mostraram eficientes para variáveis relacionadas ao estado da água e à T_g , além de apresentarem maior rapidez e simplicidade operacional.

Estudos futuros devem considerar a ampliação do banco de dados, a fusão de informações NIR-MIR e a validação dos modelos em ambiente industrial, visando ampliar a robustez e a aplicabilidade prática dessas técnicas. De forma geral, os resultados confirmam a espectroscopia no infravermelho, aliada à quimiometria, como uma ferramenta promissora, rápida e não destrutiva para o monitoramento da vida útil e do frescor de pães de forma.

REFERÊNCIAS

- AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Methods AACC 10-05.01 - Guidelines for Volume Measurement by Displacement of Canola Seed. Methods Approved by the American Cereal Chemists Association**, 2010.
- AÏT KADDOUR, A; MONDET, M.; CUQ, B. Application of two-dimensional cross-correlation spectroscopy to analyse infrared (MIR and NIR) spectra recorded during bread dough mixing. **Journal of Cereal Science**, v. 48, n. 3, p. 678-685, nov. 2008.
- AMIGO, J. M. et al. Staling of white wheat bread crumb and effect of maltogenic α -amylases. Part 1: Spatial distribution and kinetic modeling of hardness and resilience. **Food Chemistry**, v. 208, p. 318–325, 1 out. 2016.
- AMIGO, J. M. et al. Staling of white wheat bread crumb and effect of maltogenic α -amylases. Part 2: Monitoring the staling process by using near infrared spectroscopy and chemometrics. **Food Chemistry**, v. 297, 1 nov. 2019.
- AN, H. et al. Quantitative analysis of Chinese steamed bread staling using NIR, MIR, and Raman spectral data fusion. **Food Chemistry**, v. 405, 30 mar. 2023.
- ANANDA, J.; PEARSON, D.; OAKDEN, S. Breaking bread: Assessment of household bread waste incidence and behavioural drivers. **Journal of Cleaner Production**, v. 471, p. 143377, 15 set. 2024.
- AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official Methods of Analysis**. Washington, 1997.
- BRANCOLI, P. et al. Bread loss rates at the supplier-retailer interface – Analysis of risk factors to support waste prevention measures. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 147, p. 128–136, 1 ago. 2019.
- CAUVAIN, S. P.; YOUNG, L. S. **Tecnologia da panificação**. 2^a ed. [s.l: s.n.].
- CEVOLI, C. et al. Quality evaluation by physical tests of a traditional Italian flat bread Piadina during storage and shelf-life improvement with sourdough and enzymes. **European Food Research and Technology** Springer Verlag, 16 jun. 2015.
- CHANG, C.-W., et al. Near-Infrared Reflectance Spectroscopy–Principal Components Regression Analyses Analyses of Soil Properties. **Soil Science Society of America Journal**, p. 480–490, 01 mar 2001.
- CHEN, Y. et al. Micro-computed tomography study on bread dehydration and structural changes during ambient storage. **Journal of Food Engineering**, v. 296, p. 110462, 1 maio 2021a.

CHEN, Y. et al. Influence of Amylase Addition on Bread Quality and Bread Staling. **ACS Food Science and Technology**, v. 1, n. 6, p. 1143–1150, 16 jul. 2021b.

COQUEIRO, J. S. et al. Ensuring authenticity of cinnamon powder: Detection of adulteration with coffee husk and corn meal using NIR, MIR spectroscopy and chemometrics. **Food Control**, v. 166, p. 110681, 1 dez. 2024.

CURTI, E. et al. Effect of bran on bread staling: Physico-chemical characterization and molecular mobility. **Journal of Cereal Science**, v. 65, p. 25–30, 1 set. 2015.

DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de alimentos de Fennema**. [s.l: s.n.].

ESPAÑA-FARIÑAS, M. P. et al. Application of near infrared spectroscopy combined with chemometrics to authenticate local cultivar flour content in the production of protected geographical indication “Galician bread.” **Food Control**, v. 176, p. 111409, 1 out. 2025.

GALVÃO, Roberto Kawakami Harrop et al. A method for calibration and validation subset partitioning. **Talanta**, v. 67, n. 4, p. 736-740, 2005.

GIGLIOTTI, M.; CHIODETTI, M.; CARINI, E. Multi-structural characterization of sorghum flour addition on bread staling dynamics: texture, thermal properties and molecular mobility. **Food Structure**, v. 44, p. 100427, 1 abr. 2025.

GOMES, A. A., et al. The successive projections algorithm for interval selection in PLS. **Microchemical Journal**, v. 110, p. 202–208, 1 set. 2013.

GOMES-RUFFI, C. R. et al. Effect of the emulsifier sodium stearyl lactylate and of the enzyme maltogenic amylase on the quality of pan bread during storage. **LWT**, v. 49, n. 1, p. 96–101, 2012.

GRAY, J. A.; BEMILLER, J. N. Bread Staling: Molecular Basis and Control **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. [s.l: s.n.].

GUO, W.; BUDTOVA, T.; MARTINEZ, M. M. Upcycling stale bread into (meso)porous materials: Xerogels and aerogels. **Food Hydrocolloids**, v. 160, p. 110807, 1 mar. 2025.

HONG, T. et al. Comparative study of soluble soybean polysaccharides on bread staling under acidic conditions. **Food Chemistry**, v. 400, 30 jan. 2023.

JEKLE, M.; BECKER, T. Effects of Acidification, Sodium Chloride, and Moisture Levels on Wheat Dough: II. Modeling of Bread Texture and Staling Kinetics. **Food Biophysics**, v. 7, n. 3, p. 200–208, set. 2012.

JOLLIFFE, I. T. J. **Principal Component Analysis**. 2^a ed. New York: Springer-Verlag, 2002.

KOTSIU, K. et al. Physicochemical and functional aspects of composite wheat-roasted chickpea flours in relation to dough rheology, bread quality and staling phenomena. **Food Hydrocolloids**, v. 124, 1 mar. 2022.

LI, S. et al. Correlation of glass transition features and macroscopic, mesoscopic properties of dough regulated by molecular weight of dextran. **Food Hydrocolloids**, v. 151, p. 109844, 1 jun. 2024a.

MONTEAU, J. Y. et al. Water transfer in bread during staling: Physical phenomena and modelling. **Journal of Food Engineering**, v. 211, p. 95–103, 1 out. 2017.

NEVES, G. M.; NODA, I.; SIESLER, H. W. Investigation of bread staling by handheld NIR spectroscopy in tandem with 2D-COS and MCR-ALS analysis. **Microchemical Journal**, v. 190, 2023.

NHOUCI, Z.; BOTOSOA, E. P.; KAROUI, R. Critical assessment of formulation, processing and storage conditions on the quality of alveolar baked products determined by different analytical techniques: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 81, p. 159–171, 1 nov. 2018.

PASQUINI, C. Near infrared spectroscopy: A mature analytical technique with new perspectives – A review. **Analytica Chimica Acta**, v. 1026, p. 8–36, 5 out. 2018.

PURHAGEN, J. K.; SJÖÖ, M. E.; ELIASSON, A. C. Starch affecting anti-staling agents and their function in freestanding and pan-baked bread. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 7, p. 1656–1666, 1 out. 2011.

RAHMAN, A. et al. Determination of K value for fish flesh with ultraviolet–visible spectroscopy and interval partial least squares (iPLS) regression method. **Biosystems Engineering**, v. 141, p. 12–18, 1 jan. 2016.

RINGSTED, T.; SIESLER, H. W.; ENGELSEN, S. B. Monitoring the staling of wheat bread using 2D MIR-NIR correlation spectroscopy. **Journal of Cereal Science**, v. 75, p. 92–99, 1 maio 2017.

TAO H, et al. Retrogradation behaviors of damaged wheat starch with different water contents. **Food Chem X**. 28 fev. 2024.

XIE, F.; DOWELL, F. E.; SUN, X. S. Using Visible and Near-Infrared Reflectance Spectroscopy and Differential Scanning Calorimetry to Study Starch, Protein, and Temperature Effects on Bread Staling. **Cereal Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 249–254, 2004.

ZHANG, Y. et al. Roles of dextran, weak acidification and their combination in the quality of wheat bread. **Food Chemistry**, v. 286, p. 197–203, 15 jul. 2019.

CAPÍTULO V: Considerações Finais

Considerações Finais

Os resultados obtidos permitiram compreender, de forma integrada, os fenômenos físicos, químicos, térmicos e espectroscópicos associados ao envelhecimento do pão de forma, bem como o papel desempenhado pelos emulsificantes na modulação desse processo. A abordagem experimental adotada, baseada na avaliação de parâmetros de textura, umidade, atividade de água, volume específico e propriedades térmicas, aliada às técnicas espectroscópicas nas regiões do infravermelho próximo (NIR) e médio (MIR) e ao uso de ferramentas quimiométricas exploratórias e preditivas, possibilitou uma visão abrangente e multidimensional das transformações que ocorrem durante o armazenamento.

Verificou-se que os emulsificantes estudados influenciam significativamente o comportamento do pão durante o armazenamento, destacando-se o DATEM e DMG como os mais eficazes na preservação do frescor. Esses emulsificantes apresentaram efeitos positivos sobre o volume específico, a retenção de umidade e o retardo no aumento da dureza do miolo, enquanto o SSL e o CSL apresentaram atuação mais restrita às etapas iniciais do processamento. Tais resultados evidenciam que a eficácia dos emulsificantes está diretamente relacionada à sua capacidade de interagir com os componentes da matriz amido-glúten, promovendo a formação de complexos que limitam a retrogradação do amido e reduzem a migração de água entre miolo e crosta, contribuindo para maior estabilidade estrutural e prolongamento da vida útil dos pães.

As análises multivariadas, por sua vez, revelaram-se ferramentas poderosas para a interpretação integrada dos dados e para a modelagem do envelhecimento do pão. A análise de componentes principais (ACP) possibilitou definir um índice de frescor, associado principalmente à umidade, à atividade de água e à dureza, capaz de discriminar pães frescos, intermediários e envelhecidos. Esses resultados foram corroborados pela análise de agrupamentos hierárquicos (HCA), que evidenciou padrões de similaridade coerentes com os escores da ACP. Adicionalmente, os modelos de regressão multivariada com seleção de variáveis (iSPA-PLS) permitiram estabelecer relações quantitativas entre as informações espectrais e os parâmetros de qualidade, reforçando o potencial preditivo das abordagens quimiométricas empregadas.

A aplicação combinada das espectroscopias NIR e MIR demonstrou ser uma estratégia eficiente, rápida e não destrutiva para o monitoramento do envelhecimento de pães de forma, apresentando forte correlação com as propriedades físico-químicas,

mecânicas e térmicas avaliadas. As regiões espectrais associadas às vibrações de grupos funcionais característicos de água (O-H), do amido e dos carboidratos (C-O, C-C, C-H) e proteínas (N-H, C=O) mostraram-se particularmente sensíveis às alterações estruturais que ocorrem durante o armazenamento, destacando o potencial dessas técnicas tanto para o controle de qualidade quanto para o desenvolvimento de otimização de formulações panificadas.

Em síntese, os resultados obtidos nesta tese demonstram que o envelhecimento do pão é um processo multifatorial, resultante de interações complexas entre água, amido, rede de glúten e emulsificantes. A integração entre análises térmicas, físico-químicas, espectroscópicas e quimiométricas permitiu descrever e modelar esse processo de forma consistente, contribuindo para o avanço do conhecimento científico sobre os mecanismos de envelhecimento de produtos panificados. Além disso, os achados deste estudo fornecem subsídios relevantes para aplicação industrial e indicam perspectivas para estudos futuros, como a avaliação de diferentes formulações e a validação das metodologias em condições reais de processamento e armazenamento