



**CATOLICA**  
**ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA**

PORTO

**O POTENCIAL DA ÁGUA MINERAL NATURAL TERMAL E  
ENGARRAFADA NO DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS DE  
PANIFICAÇÃO DE VALOR ACRESCENTADO**

Fernanda Maria Costa Ferreira

**Janeiro**

2023





**CATOLICA**  
**ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA**

PORTO

**O POTENCIAL DA ÁGUA MINERAL NATURAL TERMAL E  
ENGARRAFADA NO DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS DE  
PANIFICAÇÃO DE VALOR ACRESCENTADO**

*Tese apresentada à Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica  
Portuguesa para obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia e Inovação*

Por

Fernanda Maria Costa Ferreira

**Orientadora: Doutora Maria José Alves**

**Coorientadora: Doutora Manuela Pintado**

**Coorientadora: Doutora Lillian Bouçada de Barros**

**Janeiro  
2023**

Este trabalho foi financiado pela FCT e pela Fundação “la Caixa” através do projeto “AquaVitae - Água Termal Como Fonte de Vida e Saúde” - “PROMOVE – O futuro do Interior -2020”.



## RESUMO

A indústria alimentar, é um dos setores de atividade económica mais importante a nível mundial, sendo responsável pelo desenvolvimento de produtos alimentares que tem impacto direto na qualidade da saúde dos consumidores. As crescentes preocupações por parte da sociedade na procura de um estilo de vida mais saudável, o qual está intimamente ligado a uma alimentação saudável, tem direcionado a indústria alimentar para o desenvolvimento de alimentos nutricionalmente mais equilibrados, sendo necessário para isso o recurso a novos ingredientes alimentares e/ou formulações. Além disso, a ameaça à sustentabilidade, tem levado ao reaproveitamento dos recursos naturais para gerar produtos de valor acrescentado.

Esta dissertação de mestrado teve como objetivo principal desenvolver novas formulações de produtos de panificação utilizando água mineral natural termal (AMN termal) e engarrafada (AMN engarrafada) em alternativa à água de consumo humano (ACH), procurando-se desta forma avaliar o potencial das diferentes águas nas propriedades nutricionais e físico-químicas do pão.

Para isso, foram avaliados o perfil nutricional, pH, atividade de água, perfil de ácidos gordos, composição em minerais e textura das formulações de pão, além do estudo de viabilidade da levedura *Sacharomyces cerevisiae* na massa após o processo fermentativo. A utilização das AMN termal e engarrafada como ingrediente alimentar permitiu desenvolver formulações de pão com características nutricionais e físico-químicas relevantes, destacando-se sobretudo o aumento no teor total de minerais e dos parâmetros de textura como elasticidade, coesividade e resiliência. Além disso, as AMN termal e engarrafada não tiveram influência na viabilidade da levedura *Sacharomyces cerevisiae*. O desenvolvimento de produtos inovadores e de valor acrescentado como o pão, pode ser alcançado recorrendo a um simples recurso natural como as AMN termal e engarrafada provenientes da região do Alto Tâmega.

**Palavras-Chave:** Água mineral natural; pão; composição nutricional, minerais, inovação de produto



## ABSTRACT

The food industry, one of the most important sectors of economic activity worldwide, is responsible for the development of food products that have a direct impact on the quality of consumers' health. The growing concerns of society in the search for a healthier lifestyle, which is closely linked to healthy eating, has directed the food industry to the development of more nutritionally balanced foods, requiring the use of new food ingredients and/or formulations. In addition, the threat to sustainability has led to the reuse of natural resources to generate value-added products.

The main objective of this dissertation was to develop new formulations of bakery products using thermal natural mineral water (thermal AMN) and bottled natural mineral water (bottled AMN) as an alternative to drinking water (drinking water), in order to evaluate the potential of different waters in the nutritional and physicochemical properties of bread.

To this, the nutritional profile, pH, water activity, fatty acid profile, mineral composition and texture of the bread formulations were evaluated, as well as the viability study of the yeast *Sacharomyces cerevisiae* in the dough after the fermentation process.

The use of thermal and bottled AMN as food ingredient allowed the development of bread formulations with relevant nutritional and physicochemical characteristics, especially the increase in total mineral content and texture parameters such as elasticity, cohesiveness and resilience. Furthermore, thermal and bottled AMN had no influence on the viability of the yeast *Sacharomyces cerevisiae*.

The development of added value and innovative products as the bread can be reached through a simple natural resource as the thermal and bottled AMN proceeding from Alto Tâmega region.

Keywords: natural mineral waters; bread; centesimal composition; minerals; development of new products



*À memória dos meus pais...*



## AGRADECIMENTOS

A presente tese de Mestrado representa a concretização de um desejo, querendo manifestar o meu profundo agradecimento a todos os que direta ou indiretamente contribuíram para a sua realização.

À Professora Doutora Maria José Alves, Diretora Executiva da AquaValor, minha orientadora, pelas pertinentes sugestões durante a coordenação das atividades de desenvolvimento e inovação, e por toda a disponibilidade e apoio na elaboração deste trabalho.

À AquaValor, pela confiança que depositou no meu trabalho e por permitir que durante nove meses integrasse a sua equipa de Investigação & Desenvolvimento, com carinho especial à Doutora Rafaela Guimarães, ao Doutor André Lemos e à Doutora Catarina Milho, pelo empenho e dedicação demonstrados.

À padaria Mister Doce que gentilmente cedeu todas as amostras para a realização deste projeto, em especial ao Sr. Tó Zé.

À Escola Superior de Biotecnologia - UCP, pela oportunidade de realizar este mestrado que tanto desejava, em especial, aos Professores Doutor José Couto e Doutora Paula Teixeira, por todo o apoio e aconselhamento.

À Professora Doutora Manuela Pintado, por ter aceite ser minha coorientadora e pela dedicação, dentro do seu escasso tempo, ao meu projeto.

Ao grupo de investigação do Centro de Investigação de Montanha (CIMO – IPB), nomeadamente, à Doutora Lilian Barros e Doutora Sandrina Heleno, por todo o apoio prestado ao longo deste projeto.

Aos colegas da Super Bock Group, por acreditarem neste projeto, pela oportunidade concedida e por todo o apoio prestado.

À minha amiga Alexandra, pelo incentivo e apoio constantes, e por ter estado “*sempre lá*” nos momentos mais difíceis.

Por fim, mas não por último, estou grata à minha Família, ao João e à minha filha Catarina, pelo carinho e imensa compreensão.



# Índice

RESUMO.....	5
ABSTRACT .....	7
AGRADECIMENTOS .....	11
Índice de Figuras .....	15
Índice de Tabelas .....	16
Lista de Abreviaturas.....	18
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
1.1. CLASSIFICAÇÃO DAS ÁGUAS MINERAIS NATURAIS .....	21
1.2. BENEFÍCIOS DAS ÁGUAS MINERAIS NATURAIS.....	23
1.3. CARACTERÍSTICAS DA ÁGUA DAS TERMAS DE CHAVES E DA ÁGUA DAS PEDRAS SALGADAS .....	25
1.4. O VALOR NUTRITIVO DO PÃO .....	26
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>31</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>33</b>
3.1. TIPO DE ESTUDO .....	33
3.2. PREPARAÇÃO DO PÃO COM ACH E AMN TERMAL E ENGARRAFADA .....	33
3.3. AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DA LEVEDURA <i>S. CEREVISIAE</i> NA MASSA DO PÃO POR CITOMETRIA DE FLUXO NAS DIFERENTES FORMULAÇÕES .....	34
3.4. CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL E FÍSICO-QUÍMICA DAS DIFERENTES FORMULAÇÕES .....	35
3.4.1. PERFIL NUTRICIONAL .....	35
3.4.2. DETERMINAÇÃO DE SAL (NaCl) .....	35
3.4.3. ANÁLISE DE AÇÚCARES LIVRES .....	36
3.4.4. ANÁLISE INDIVIDUAL DE ÁCIDOS GORDOS.....	36
3.4.5. pH.....	37
3.4.6. ATIVIDADE DA ÁGUA.....	37
3.4.7. PERFIL EM MINERAIS E METAIS .....	37
3.5. ANÁLISE DE PARÂMETROS FÍSICOS.....	38
3.5.1. TEXTURA .....	38
3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	38
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>39</b>
4.1. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS DIFERENTES ÁGUAS UTILIZADAS NO FABRICO DO PÃO .....	39
4.2 FORMULAÇÕES COM SAL.....	41

4.2.1 PERFIL NUTRICIONAL .....	41
4.2.2. pH E ATIVIDADE DA ÁGUA ( $a_w$ ).....	44
4.2.3. ÁCIDOS GORDOS.....	45
4.2.4. MINERAIS.....	46
4.2.5. TEXTURA .....	53
4.3. RELAÇÃO DAS FORMULAÇÕES DE PÃO COM E SEM SAL.....	56
4.3.1. PERFIL NUTRICIONAL .....	57
4.3.2. pH E ATIVIDADE DE ÁGUA ( $a_w$ ).....	58
4.3.3. ÁCIDOS GORDOS.....	58
4.3.4. MINERAIS.....	59
4.3.5. TEXTURA .....	61
4.4. AVALIAÇÃO DO EFEITO DAS AMN (TERMAL E ENGARRAFADA) NA VIABILIDADE DA LEVEDURA <i>S. CEREVISIAE</i> POR CITOMETRIA DE FLUXO .....	62
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>67</b>
<b>6. PUBLICAÇÕES .....</b>	<b>69</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>71</b>

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.1.1.</b> Leveduras de <i>S. cerevisiae</i> em suspensão (Ampliação 400x; fonte: Rodrigues, 2019) .....	28
<b>Figura 4.4.1.</b> Resultados de citometria de fluxo obtidos para a análise da viabilidade de <i>S. cerevisiae</i> após o processo de fermentação em A) Massa de pão com ACH; B) Massa de pão com AMN Termal; C) Massa de pão com AMN Engarrafada. As células de <i>S. cerevisiae</i> mortas .....	54
<b>Figura 4.4.2.</b> Efeito das AMN gasocarbônicas (termal e engarrafada), na viabilidade de <i>S. cerevisiae</i> durante o processo de fermentação de diferentes massas de pão. Legenda: A - massa de pão com água de consumo humano; B - massa de pão com água termal; C - massa de pão com água engarrafada.....	64

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1.3.1.</b> Características das águas minerais naturais das Termas de Chaves e das Pedras Salgadas (Termas de Portugal, 2022).....	19
<b>Tabela 4.1.1.</b> Composição química da água de consumo humano (ACH) e da água mineral natural (AMN) Termal e Engarrafada (mg/L).....	32
<b>Tabela 4.2.1.</b> Perfil nutricional das diferentes formulações de pão desenvolvidos (g/100 g PF).....	34
<b>Tabela 4.2.2.</b> pH e atividade de água ( $a_w$ ) das diferentes formulações de pão desenvolvidos.....	36
<b>Tabela 4.2.3.</b> Perfil individual de ácidos gordos e total em ácidos gordos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e polinsaturados (AGPI) das diferentes formulações de pão desenvolvidas (g/100 g PF).....	37
<b>Tabela 4.2.4.</b> Composição em microminerais (Fe, Zn, Cu, Mn e Se), em macrominerais (K, Na e Mg) e metais (Al, Cd, Ni, Cr e Pb) presentes nas diferentes formulações de pão desenvolvidas (mg/100g PF).....	39
<b>Tabela 4.2.5.</b> Parâmetros de textura das diferentes formulações de pão desenvolvidas.....	46
<b>Tabela 4.3.1.</b> Composição nutricional das diferentes formulações de pão desenvolvidas com e sem sal (g/100 g PF).....	49
<b>Tabela 4.3.2.</b> pH e atividade de água ( $a_w$ ) das diferentes formulações desenvolvidas com e sem sal.....	50
<b>Tabela 4.3.3.</b> Perfil individual de ácidos gordos e total de ácidos gordos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e polinsaturados (AGPI) das diferentes formulações de pão desenvolvidas com e sem sal (g/100 g PF).....	51

**Tabela 4.3.4.** Composição em microminerais (Fe, Zn, Cu, Mn e Se), em macrominerais (K, Na e Mg) e metais (Al, Cd, Ni, Cr e Pb) presentes nas diferentes formulações de pão desenvolvidas com e sem sal (mg/100 g PF).....52

**Tabela 4.3.5.** Parâmetros de textura das diferentes formulações de pão desenvolvidas com e sem sal.....53

## Lista de Abreviaturas

$a_w$	Atividade da água
ACH	Água Consumo Humano
ACINAM	Associação Catarinense das Indústrias de Água Mineral
AMN	Água Mineral Natural
AGMI	Ácidos Gordos Mono-insaturados
AGPI	Ácidos Gordos Poli-insaturados
AGS	Ácidos Gordos Saturados
ANOVA	Análise de Variância
APIAM	Associação Portuguesa dos Industriais de Águas Minerais Naturais
AOAC	Associação Oficial de Químicos Analistas
BAC	Biju Controlo
BAE	Biju Água das Pedras
BAT	Biju Termal
BAE-ss	Biju Água das Pedras sem sal
BAT-ss	Biju Termal sem sal
DRI	Dietary Reference Intakes
DGEG	Direção-Geral de Energia e Geologia
EAA	Espectrometria de Absorção Atómica
EFSA	Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos
FAME	Mistura de Ésteres Metílicos de Ácidos Gordos
FID	Detetor de Ionização de Chama
GC	Cromatografia Gasosa
CIMO	Centro de Investigação de Montanha
HPLC-RI	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência por índice de Refração
IPB	Instituto Politécnico de Bragança
INSA	Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge
LQ	Limite de Quantificação
rpm	Rotações por minuto
<i>S. Cerevisiae</i>	<i>Sacharomyces cerevisiae</i>
TWI	<i>Tolerable Weekly Intake</i> (dose semanal tolerável)
VP	Valor Paramétrico

VDR	Valor Diário Recomendado
VMR	Valor Máximo Recomendado
UL	Tolerable Upper Intake Level (Nível Superior de Ingestão Tolerável)



## **1. INTRODUÇÃO**

Atualmente muitos estudos têm vindo a ser desenvolvidos na área da biotecnologia alimentar, com o objetivo de encontrar novas fontes de alimentos, ou enriquecer produtos já existentes. O setor alimentar exerce um grande impacto na economia a nível mundial. Segundo Data e Trends (2021) a indústria de alimentos e de bebidas na União Europeia emprega cerca de 4,5 milhões de pessoas, gerando um volume de negócios de aproximadamente 1,1 triliões de euros e 222 mil milhões de euros em valor acrescentado, sendo considerada a indústria que mais contribui para a economia europeia. O desenvolvimento de novos produtos na indústria alimentar nos últimos anos tornou-se um foco na maioria das empresas como consequência das constantes mudanças do mercado, do aumento da concorrência entre as empresas e da crescente necessidade de disponibilizar produtos com melhor qualidade a baixo custo. Para além destes fatores, cada vez mais, a indústria alimentar sofre pressão para fornecer alimentos saudáveis e que sejam capazes de atender às necessidades nutricionais diárias dos consumidores. Consequentemente, verifica-se o surgimento de novos produtos e/ou ingredientes alimentares, que melhorem as características nutricionais, funcionais e organolépticas dos mais diversos produtos (Dyshlyuk *et al.*, 2017; Mirhosseini *et al.*, 2015). As águas minerais naturais (AMN) termais e engarrafadas, são águas ricas em oligoelementos possuindo grande potencial para o desenvolvimento de novos produtos alimentares. Para compreender o valor que estas águas podem agregar no desenvolvimento de novos produtos, e uma vez que possuem na sua composição os oligoelementos essenciais na formulação de pão, foi objetivo deste trabalho desenvolver formulações de pão biju utilizando as AMN (termal e engarrafada) enquanto produto enriquecedor nutritivo e saudável.

### **1.1. CLASSIFICAÇÃO DAS ÁGUAS MINERAIS NATURAIS**

Segundo o Decreto-Lei nº 236/98 e a OEC021 (2017), existem vários tipos de água, as quais se denominam por: águas de consumo humano, águas minerais naturais, de nascente e termais, águas naturais doces, águas naturais salinas, águas de processo e águas de piscina. Define-se como água mineral natural (AMN), denominada também por “água termal” ou “mineromedicinal”, uma água bacteriologicamente pura, de origem

subterrânea, proveniente de uma nascente explorada através de uma ou várias emergências naturais ou perfuradas, com particularidades físico-químicas estáveis e com quantidade de minerais constante. As AMN não podem ser sujeitas a qualquer tipo de tratamento que altere as suas propriedades físico-químicas e o seu hidrogenoma (Diretiva 2009/54/CE, 2009). O critério de classificação das AMN baseia-se em parâmetros organoléticos (cheiro, sabor, cor e turvação) e parâmetros físico-químicos (pH, temperatura, dureza, concentração molecular, radioatividade e mineralização total). Relativamente ao grau de mineralização das AMN, estas apresentam uma grande amplitude de valores de mineralização totais (soma dos aniões, catiões e sílica) variando entre valores inferiores a 50 mg/L e superiores a 1500 mg/L (Teixeira, 2007). Tendo em conta os sais minerais dissolvidos (aniões e catiões) as AMN podem ser classificadas em:

- Bicarbonatadas - presença de bicarbonato superior a 600 mg/L;
- Cálcidas - presença de cálcio superior a 150 mg/L;
- Cloretadas - presença de cloreto superior a 200 mg/L;
- Ferruginosas - presença de ferro igual ou superior a 1 mg/L;
- Fluoretadas - presença de fluoreto igual ou superior a 1 mg/L;
- Gasocarbónicas – presença de anidrido carbónico superior a 250 mg/L;
- Hipossódicas - presença de sódio inferior a 20 mg/L;
- Magnesianas - presença de magnésio superior a 50 mg/L;
- Silicatadas - presença de sílica livre igual ou superior a 10 mg/L;
- Sódicas - quantidade de sódio é superior a 200 mg/L;
- Sulfatadas - quantidade de sulfato é superior a 200 mg/L;
- Sulfúreas - quantidade de enxofre é igual ou superior a 1 mg/L. (APIAM, 2017; Teixeira, 2007).

Após serem analisadas, estudadas, filtradas, protegidas e submetidas a processos de engarrafamento junto das nascentes, em unidades industriais praticantes de elevados princípios higiénicos, as AMN revelaram inúmeras vantagens e um crescente interesse para adequá-las ao consumo humano (APIAM, 2017).

## 1.2. BENEFÍCIOS DAS ÁGUAS MINERAIS NATURAIS

Pela grande diversidade em sais minerais que apresentam na sua composição, as AMN assumem um papel fundamental no organismo pela sua capacidade em mediar reações bioquímicas tanto no interior quanto entre as células do organismo. Dependendo dos sais minerais mais abundantes que apresentem na sua composição, as AMN vão apresentar diferentes propriedades biológicas. As águas oligominerais ou pouco mineralizadas (valores de mineralização total entre 50 e 500 mg/L) são reconhecidas pelo seu efeito diurético, sendo indicadas na litíase urinária e na gota, uma vez que provocam um aumento do diâmetro das vias urinárias facilitando a libertação do ácido úrico (Petraccia *et al.*, 2006; Benessere, 2022). As águas sulfúreas são muito utilizadas no tratamento de patologias dermatológicas, músculo-esqueléticas e respiratórias (El-Seweidy *et al.*, 2011). Apresentam propriedades anti-seborreicas, queratoplásticas e antisséticas (Ghersetich, 2001; Salami, 2008; Constantino, 2006). As águas sulfatadas são utilizadas principalmente em doenças urinárias, gastrointestinais e endócrino-metabólicas (Petraccia, 2006; ATP, 2021). Apresentam potencial na estimulação da motilidade intestinal, têm um efeito osmótico e facilitam a libertação de colecistocinina, devido à ação do sulfato nas células endócrinas do intestino proximal (Petraccia *et al.*, 2006; Benessere, 2016). Relativamente às águas gasocarbónicas, são usadas principalmente em banhos e em hidropinia, exercendo a sua ação nos sistemas cardiovascular, respiratório e digestivo (Petraccia *et al.*, 2006). Os banhos em águas gasocarbónicas diminuem a resistência vascular periférica pois provocam a vasodilatação do leito capilar e são úteis no tratamento de vasculopatias periféricas. São ainda usadas frequentemente em técnicas de inalação uma vez que o dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) presente nestas águas provoca acidose e consequentemente estimulação do centro respiratório, levando a que haja um aumento da amplitude dos movimentos respiratórios, permitindo obter uma melhoria das trocas gasosas e um aumento da oxigenação (Petraccia *et al.*, 2006; Benessere, 2022). Em hidropinia são usadas no tratamento de patologias gastrointestinais, uma vez que estimulam a secreção e a motilidade do sistema digestivo (Petraccia *et al.*, 2006; Schoppen *et al.*, 2004). As águas bicarbonatadas são utilizadas em patologias do foro gástrico, hepatobiliar e urinário (Petraccia *et al.*, 2006; Benessere, 2022). São conhecidas por melhorarem as funções motoras e secretoras gástricas, favorecem a secreção e ação das enzimas pancreáticas e do suco biliar (Bertoni *et al.*,

2002; Albertini *et al.*,2007). Estas águas possuem também propriedades diuréticas, reduzindo a uricemia, sendo frequentemente usadas durante o exercício físico, uma vez que repõem fluidos e eletrólitos (Petraccia *et al.*, 2006). As águas cloretadas sódicas são indicadas na terapia de doenças do aparelho gastrointestinal, como cólicas, obstipação e doença do cólon irritável. A sua ação colerética, aumenta secreção do suco biliar para o duodeno (Petraccia *et al.*, 2006; ATP, 2021). As águas ricas em cálcio são indicadas quando as necessidades neste mineral aumentam (crianças, gravidez, menopausa, envelhecimento, osteoporose), enquanto as águas magnesianas são indicadas em patologias ginecológicas, como por exemplo na síndrome pré-menstrual, climatério e osteoporose pós-menopausa (Petraccia *et al.*, 2006).

Os sais minerais presentes nas AMN assumem um papel importante na manutenção do bom funcionamento do organismo. Da diversidade de minerais presentes nestas águas o cálcio assume um papel importante no desenvolvimento ósseo, na regulação da contração muscular e atividade do miocárdio, coagulação do sangue, transmissão de impulsos nervosos e na regulação da permeabilidade celular. O sódio auxilia a absorção de glicose, atua no sistema cardiorrespiratório e na regulação dos fluidos corporais, além de ser fundamental para o funcionamento do sistema nervoso. O potássio tem um papel essencial nas atividades musculares e miocárdicas, excitabilidade neuromuscular, equilíbrio ácido-base, retenção de água e pressão osmótica. O silício é importante na formação dos ossos e na saúde das articulações, aumenta a quantidade de colagénio no corpo, auxilia o sistema imunitário, acelera o processo de cicatrização e restauração das mucosas, inibe a ação tóxica do alumínio e combate a aterosclerose. O magnésio é fundamental nos batimentos cardíacos, protegendo o coração do stress cardíaco, ajuda a controlar a pressão arterial, auxilia na absorção dos nutrientes, regula os níveis de açúcar no sangue, previne doenças mentais e melhora a produção de colágeno. O zinco é conhecido por melhorar a atividade cerebral e cardiovascular, combate o envelhecimento, previne o surgimento de doenças degenerativas e doenças crónicas, aumenta a imunidade, auxilia na recuperação das fibras musculares facilitando o ganho de massa muscular, ativa o metabolismo e previne o cancro da próstata (ACINAM, 2016). O iodo participa na formação das hormonas da tiroide, além de prevenir problemas como cancro, diabetes, infertilidade e aumento da pressão arterial. O selénio tem um grande poder antioxidante e previne doenças como o cancro, Alzheimer e doenças cardiovasculares, melhora o funcionamento da tiroide e ajuda na perda de peso. O flúor evita a perda de minerais nos

dentos e impede o seu desgaste causado pelas bactérias formadoras de cáries. O manganês é responsável no organismo humano por ativar diversas enzimas presentes em vários processos fisiológicos (Carvalho, 2013). O fósforo fornece de energia ao corpo, fazendo parte das membranas celulares e do DNA. Por último o ferro, um mineral de extrema importância uma vez que participa no transporte de oxigénio para o sangue e na respiração celular (Cozzolino, 1997).

### **1.3. CARACTERÍSTICAS DA ÁGUA DAS TERMAS DE CHAVES E DA ÁGUA DAS PEDRAS SALGADAS**

As Termas de Chaves têm uma tradição milenar e a sua fundação remonta à época romana, quando o Imperador *Titus Flavius Vespasianus* fundou a cidade de *Aquae Flaviae*, devido à existência de água quente que brotava de forma natural e espontânea. Integradas no centro urbano da cidade, nas margens do rio Tâmega, as Termas de Chaves apresentam um variado conjunto de respostas médico-termais, assim como de tratamentos Spa, que têm por base a água termal de Chaves, aproveitando as suas propriedades terapêuticas (Pereira, 2021; DGEG, 2019). A água das Termas de Chaves tem uma composição única na Península Ibérica, sendo caracterizada como bicarbonatada sódica, mesomineralizada e gasocarbónica. Naturalmente quente, com uma temperatura de emergência de cerca de 76 °C (**Tabela 1.3.1.**), é considerada uma água hipertermal e rica em minerais, sobretudo em sódio, sílica, fluoreto e hidrogenocarbonato. De acordo com o Despacho conjunto, publicado no Diário da República, 2.<sup>a</sup> série, de 23 de maio de 1989, e o Diário da República, 2.<sup>a</sup> série, N.º 56, de 19 de março de 2008, estas águas estão indicadas no tratamento de doenças reumáticas, músculo-esqueléticas, do aparelho digestivo e doenças do aparelho respiratório.

Por outro lado, numa pequena vila, localizada no concelho de Vila Pouca de Aguiar, na região norte de Portugal, conhecida por Pedras Salgadas, as características ímpares das águas lá existentes foram cedo descobertas pelos seus habitantes que as utilizavam constantemente no alívio de patologias que surgiam no dia a dia. No séc. XIX, a água das Pedras Salgadas ultrapassava fronteiras das suas fontes começando a despertar interesse de todos aqueles que sofriam de distúrbios do aparelho digestivo. Para além do seu uso no termalismo, é um ícone e um símbolo de água mineral natural gasocarbónica, com gás 100% natural e fresca, integrando um grupo muito restrito já que apenas 0,5% das AMN

no mundo partilham esta característica. A água é parcialmente captada no Parque de Pedras Salgadas, um dos parques termais mais emblemáticos de Portugal (Acciaiuoli, 1941). Na **Tabela 1.3.1.** está representada a composição química da água das Termas de Chaves e das Pedras Salgadas.

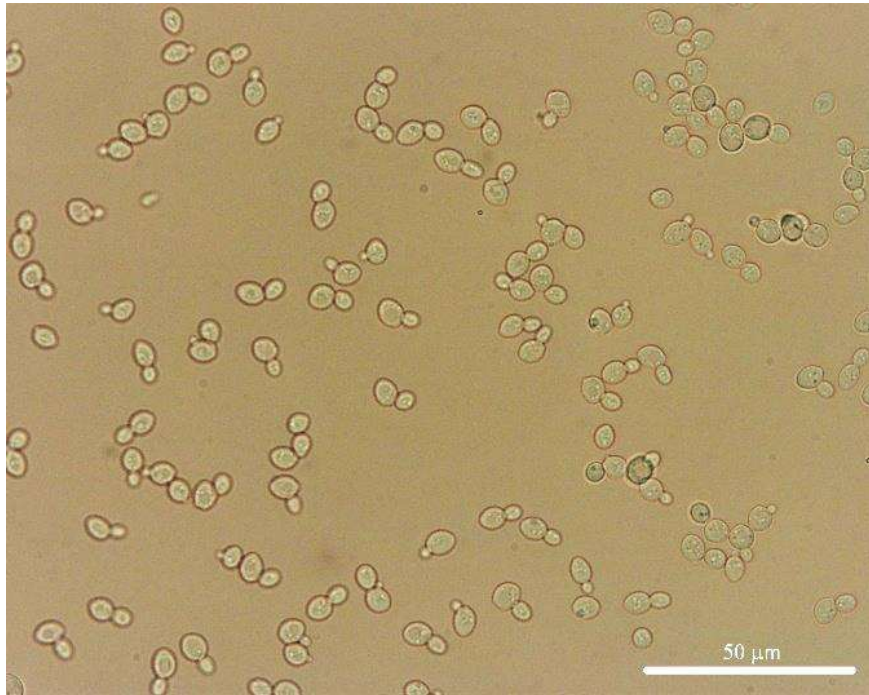
**Tabela 1.3.1.** Características das águas minerais naturais das Termas de Chaves e das Pedras Salgadas (Termas de Portugal, 2022).

	AMN Termas de Chaves	AMN Pedras Salgadas
<b>Temperatura</b>	76 °C	18 °C
<b>pH (a 20°C)</b>	6,80	6,10
<b>Condutividade Elétrica (a 20°C)</b>	2320 µS/cm	2601 µS/cm
<b>Alcalinidade (em mg/L CaCO<sub>3</sub>)</b>	1161,0	1897,1
<b>Mineralização Total</b>	2174 mg/L	2807 mg/L
<b>Bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>)</b>	1415 mg/L	1983 mg/L
<b>Cloreto (Cl)</b>	35 mg/L	30 mg/L

#### 1.4. O VALOR NUTRITIVO DO PÃO

O pão é dos alimentos mais antigos na história da humanidade mesmo não se conhecendo qual o período exato da história em que surgiu. Apesar da sua antiguidade, foi no século XIX que Pasteur desvendou os fenómenos da fermentação e até aos dias de hoje o pão ocupa uma posição incontornável na maioria das culturas do planeta (Offrede, 2015; Jacob *et al.*, 2007; Kourkouta, 2017). A Portaria nº 52/2015 define pão como “*o produto obtido da amassadura, fermentação e cozedura, em condições adequadas, das farinhas de trigo, centeio, triticale ou milho, estremes ou de mistura, de acordo com os tipos legalmente estabelecidos, água potável e fermento ou levedura, sendo ainda possível a utilização de sal e de outros ingredientes, incluindo aditivos, bem como auxiliares tecnológicos, nas condições legalmente fixadas*”. Os ingredientes básicos no fabrico de pão são a farinha de cereais, a água, a levedura e o sal (Martim, 2004; Sluimer, 2005), apresentando cada uma delas características específicas na panificação. Relativamente às farinhas, podem ser utilizados diferentes tipos (centeio, milho, etc.), porém, a farinha de

trigo apresenta vantagens em relação às outras quando se trata da produção de pão, uma vez que a sua composição em proteínas faz com que se forme uma rede capaz de reter os gases que se formam durante o processo de fermentação (Atwell e Finnie, 2016). Por outro lado, a água é um ingrediente fundamental na formação da massa, uma vez que hidrata as proteínas da farinha fazendo com que ocorra a formação do glúten, que por sua vez é responsável por fornecer um meio adequado para que ocorra a fermentação (Martinbianco, 2013). A quantidade de água utilizada na formulação contribui para a consistência da massa, sendo que uma baixa quantidade de água produz uma massa mais seca e um miolo mais macio, enquanto água em excesso garante uma massa mais extensível, um pão com alvéolos irregulares e com uma textura mais semelhante a borracha (DiMuzio, 2010; Cauvian, 2003; Calvel *et al.*, 2001). O sal é um dos ingredientes básicos no fabrico de pão. O sal é adicionado para conferir sabor, desempenhando por outro lado funções bactericidas, diminuindo a atividade da água e promovendo a sua conservação (Stear, 1990; Belz *et al.*, 2012). Sendo um agente oxidante, o sal oxida os carotenóides presentes na farinha, tornando o miolo do pão mais branco (Ponte, 1971). Pela sua ação no potencial de oxidação-redução interfere diretamente na força do glúten, melhorando as características de viscoelasticidade da massa. O sal aumenta igualmente a força iónica, reagindo com as cargas expostas do glúten e diminuindo a repulsão eletrónica, o que favorece a interação entre cadeias, fazendo com que o glúten precipite. As fibras de glúten ficam menos extensíveis devido às forças de atração electrostáticas que ocorrem na rede desenvolvida com sal, proporcionando uma rede mais rígida e resistente à fermentação (Kasard *et al.*, 1971). Normalmente, a percentagem de sal utilizada no fabrico de pão varia entre 1,5% a 2,0% (base 100% farinha) (Ponte, 1971). Por último, mas não menos importante, a levedura é o agente na formulação do pão responsável pela fermentação, etapa determinante na textura e características organolépticas do pão. No setor de panificação, a levedura mais usada é a *Sacharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*), um microrganismo unicelular que se reproduz de forma assexuada por gemulação **Figura 1.1.1.**



**Figura 1.1.1.** Leveduras de *S. cerevisiae* em suspensão (Ampliação 400x; fonte: Rodrigues, 2019)

A *S. cerevisiae* é responsável pela metabolização dos açúcares presentes na massa para obtenção de energia produzindo CO<sub>2</sub> e etanol (DiMuzio, 2010). O CO<sub>2</sub> produzido contribui para a expansão da massa (Piekarski, 2009) conferindo ao pão uma estrutura porosa, leve e volumosa (Cauvain e Young, 2007), e por sua vez, o etanol produzido é eliminado durante a cozedura.

Do ponto de vista cultural o pão integra-se nos hábitos alimentares da população em geral e da portuguesa em particular (Cipriano, 2009). A nível nutricional, a qualidade do pão depende da taxa de extração da farinha, dos cereais escolhidos e do tipo de processamento utilizado. Há evidências científicas que sugerem que o pão é um alimento funcional uma vez que pode atuar nos lípidos sanguíneos, na pressão arterial, no índice glicémico, no metabolismo da glicose e na sensibilidade à insulina (Sancho, 2005). Além disso, é considerado um alimento saciante e com baixos teores de gordura. O pão de trigo é o mais consumido pela população portuguesa e é vulgarmente conhecido por “pão branco”. Este tipo de pão, segundo os dados disponíveis no Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), por cada 100 g fornece 289 Kcal, 57,3 g de hidratos de carbono (dos quais 55,2 g se encontram sob a forma de amido), 8,4 g de proteínas e 3,8 g de fibra alimentar (INSA, 2006). A indústria de panificação possui um papel fundamental no

desenvolvimento das condições económicas de um país, assim como na saúde da população (Macrae *et al.*, 2016). Além de ser um excelente fornecedor de energia para o desempenho das tarefas diárias, o pão, pela sua versatilidade e multiplicidade de variedades e formatos, pode ser incluído nas refeições do dia de diversas maneiras. Apesar da grande e diversificada oferta de pão, este setor continua a ter espaço para inovar e apresentar variedades que correspondem às expectativas do consumidor tanto em sabor como no seu valor nutricional.



## **2. OBJETIVOS**

O presente trabalho teve como principais objetivos:

- 1.** Desenvolver novas formulações de produtos de panificação através do uso de AMN termal e engarrafada;
- 2.** Avaliar a composição nutricional e físico-química das novas formulações desenvolvidas comparativamente à formulação tradicional;
- 3.** Avaliar os efeitos da AMN termal e engarrafada na viabilidade da levedura *S. cerevisiae* usada no processo de fermentação da massa do pão.



### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. TIPO DE ESTUDO**

Realizou-se um estudo experimental, no qual foram desenvolvidas e analisadas diferentes formulações de pão biju: pão biju usando ACH, pão biju com AMN termal e pão biju com AMN engarrafada. Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório Colaborativo AquaValor, em Chaves, em colaboração com Centro de Investigação de Montanha (CIMO) do Instituto Politécnico de Bragança, em Bragança. As amostras de água foram fornecidas pelas empresas Termas de Chaves e VMPS - Águas e Turismo, S.A., e a confeção do pão foi efetuada na empresa Mister Doce, Lda.

#### **3.2. PREPARAÇÃO DO PÃO COM ACH E AMN TERMAL E ENGARRAFADA**

A produção de pão baseia-se na mistura da farinha com água, sal e levedura (Belitz et al., 2009). O processo de produção de pão passa por várias fases, nomeadamente: pesagem e mistura dos ingredientes, modelagem, fermentação e cozimento. Neste trabalho, todos os ingredientes, incluindo a água, foram pesados. Para fazer 2,5 kg de massa pesaram-se 2,250 kg de farinha Tipo 45, 250 g de farinha Tipo 70, 125 g de Baviera, 25 g Grampan especial, 2 kg de água, 45 g de sal (NaCl), 75 g de fermento (*S. cerevisiae*) e 75 g de azeite. Inicialmente, numa amassadeira em espiral (modelo AEF012, Fernet) misturaram-se o sal e as farinhas durante 3 minutos (min) na rotação I. Após este tempo adicionaram-se 1,5 kg de água por mais 3 min. Aos 6 min, a rotação foi alterada para a posição II durante 6 min. 2 min após mudar para a rotação II adicionou-se lentamente o azeite, e 6 min depois, adicionou-se lentamente a restante água, deixando a bater durante mais 6 min. Aos 12 min foi adicionado o fermento e deixou-se durante mais 6 min a bater na rotação II. Após terminar este tempo, a massa ficou a repousar para levedar durante aproximadamente 40 min. Terminado este passo, a massa foi dividida em 2 partes de aproximadamente 2,750 Kg, em que cada uma originou 30 pães de aproximadamente 90g. Após este passo, as massas foram moduladas ficando em repouso a uma temperatura de  $\pm 30$  °C durante 30 min. No final deste tempo os pães foram colocados numa estufa durante 10 min a uma temperatura de 41 °C e 77% de humidade. Finalmente, o pão foi

colocado a cozer, durante 13 min, onde a temperatura de cima foi de  $\pm 233$  °C e a de baixo  $\pm 212$  °C. Neste estudo, foram desenvolvidos três tipos de formulações de pão: 1) pão com água de consumo humano, 2) pão com água mineral natural termal (termas de Chaves) e 3) pão com água mineral natural engarrafada (Pedras Salgadas). Assim, foram objeto de estudo os seguintes pães: biju com água de consumo humano (BAC), biju com água mineral natural termal (BAT), biju com água mineral natural termal sem adição de sal (BAT-ss), biju com água mineral natural engarrafada (BAE) e biju com água mineral natural engarrafada sem adição de sal (BAE-ss). Todos os pães foram feitos nas instalações da padaria Mister Doce, em Chaves, Vila Real, Portugal, tendo sido apenas feita um único ensaio para cada formulação. Todas as amostras foram analisadas em triplicado.

### **3.3. AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE DA LEVEDURA *S. CEREVISIAE* NA MASSA DO PÃO POR CITOMETRIA DE FLUXO NAS DIFERENTES FORMULAÇÕES**

Para avaliar o efeito das AMN termal e engarrafada na viabilidade de *S. cerevisiae* durante o processo de fermentação da massa através de citometria de fluxo, foram pesadas 15 g de cada tipo de massa após a fermentação mas antes da cozedura (BAC - massa com água de consumo humano; BAT - massa com AMN termal; BAE - massa com AMN engarrafada; BAT-ss - massa com AMN termal sem adição de sal; BAE-ss - massa com AMN engarrafada sem adição de sal) num saco BagFilter (Interscience), sendo feita uma diluição 1/10 com água peptonada tamponada. Cada saco com a respetiva amostra de massa diluída foi colocado no BagMixer (Interscience), sendo selecionada a velocidade máxima (nível 4) durante 3 min para processar a amostra. De seguida, recolheu-se 1 mL de amostra processada para um tubo Eppendorf de 1,5 mL e centrifugou-se a 3000 g durante 1 min, para sedimentar detritos de massa eventualmente recolhidos. Após a centrifugação, pipetaram-se 200  $\mu$ L do sobrenadante obtido para um novo tubo Eppendorf de 1,5 mL, voltou a centrifugar-se a 3000 g durante 1 min, sendo o *pellet* ressuscitado em 500  $\mu$ L de solução de TWEEN 20 a 0.01% (v/v)/PBS 1x. Por fim, foram adicionados 5  $\mu$ L de Laranja de Tiazole (TO) e 5  $\mu$ L de Iodeto de Propídio (PI) ao conteúdo de cada tubo, sendo de seguida incubados à temperatura ambiente durante 5 min no escuro. Após a incubação, o conteúdo dos tubos foi analisado por citometria de fluxo. De modo a obter

resultados uniformes e de fácil comparação, foram adquiridos 10 µL do conteúdo total de cada tubo, previamente homogeneizado.

### **3.4. CARACTERIZAÇÃO NUTRICIONAL E FÍSICO-QUÍMICA DAS DIFERENTES FORMULAÇÕES**

#### **3.4.1. PERFIL NUTRICIONAL**

O perfil nutricional (proteínas, gorduras, humidade e cinzas) foi determinado de acordo com a metodologia oficial da AOAC, 17ª Ed. (AOAC, 2016). O teor de humidade foi determinado seguindo o método AOAC 925.09, no qual 2 g de amostra foram colocadas num forno durante 5 h até se obter um peso constante a 100 °C. O cálculo da humidade foi efetuado pela diferença entre a massa inicial e final. O teor de proteínas (N x 5,8) foi calculado com base no método Macro-Kjedahl, seguindo o método AOAC 920.87, usando um fator de conversão de 5,8. Cerca de 0,5 g de amostra foram digeridas em K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/CuSO<sub>4</sub> (catalisador) e ácido sulfúrico a 150 °C durante 3 h. De seguida, realizou-se uma destilação e titulação alcalina integrada constante num destilador Kjeldahl (modelo Pro-Nitro-A, JP Selecta, Barcelona). As proteínas brutas foram expressas em g/100 g de peso fresco (PF). O teor em gorduras foi determinado pelo método AOAC 920.85 através de uma extração em Soxhlet de um peso conhecido de amostras em pó (2 g) com éter de petróleo. O teor em gorduras foi expresso em g/100 g de PF. O teor de cinzas foi determinado pelo método AOAC 923.03, que consiste na queima da matéria orgânica a altas temperaturas. O teor de cinzas foi determinado por incineração de 0,5 g de amostra na mufla a uma temperatura de 550 ± 15 °C, e o teor foi expresso em g/100 g de PF. Os hidratos de carbono foram calculados por diferença, enquanto que a energia total foi determinada com base no Regulamento (UE) n. 1169/2011 do Parlamento Europeu e do Conselho:

$$\text{Energia (Kcal)} = 4 \times [\text{proteína (g)} + \text{hidratos de carbono (g)}] + 9 \times [\text{gordura (g)}]$$

#### **3.4.2. DETERMINAÇÃO DE SAL (NaCl)**

A concentração de NaCl foi determinada através da multiplicação da concentração do cátion Na<sup>+</sup>, obtida por espectrometria de absorção atómica por chama, por um fator de 2,542.

### 3.4.3. ANÁLISE DE AÇÚCARES LIVRES

Os açúcares livres foram determinados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) acoplada a um detetor de índice de refração (RI). O procedimento seguido foi previamente descrito por Carochio *et al.*, (2015), utilizando a melezitose como padrão interno. O equipamento é composto por uma bomba (Knauer, Smartline system 1000, Berlim, Alemanha), um sistema desgaseificador (Smartline manager 5000) e um amostrador automático (AS-2057 Jasco, Easton, MD, EUA), acoplado a um detetor de índice de refração (RI) (Knauer Smartline 2300, Berlim, Alemanha). 1 g de amostra foi misturada com melezitose (utilizada como padrão interno, 25mg/mL) e extraída com 40 mL de etanol:água (80/20 v/v) num banho a 80 °C (Julabo, SW22; Seelbach, Alemanha), durante 1,5 h, com agitação de 15 em 15 min. Subsequentemente, o sobrenadante obtido foi centrifugado (K24OR, Centurion, West Sussex, UK) a 400 rpm durante 10 min e transferido para um balão de vidro para evaporar a fração de etanol utilizando o evaporador rotativo (Büchi R-210, Flawil, Suíça) (60 °C, pressão reduzida). A fase aquosa foi lavada 3 vezes com éter dietílico (10 mL) e posteriormente evaporada. Ao resíduo seco obtido adicionou-se água até perfazer um volume final de 5 mL e filtrado 1,5 mL através de um filtro de nylon de poro 0,2 µm (Whatman) para um vial, para posterior análise do perfil de açúcar no sistema HPLC. Os açúcares foram identificados comparando os tempos de retenção dos picos com os padrões comerciais e os dados foram analisados através do software Clarity 2.4 (DataApex, Praga, República Checa). A quantificação foi baseada na resposta do sinal RI de cada padrão, baseando-se no método do padrão interno (melezitose) e utilizando as curvas de calibração dos padrões. Os resultados foram expressos em g/100 g peso fresco.

### 3.4.4. ANÁLISE INDIVIDUAL DE ÁCIDOS GORDOS

Os ácidos gordos foram determinados por cromatografia gasosa. O equipamento consiste num cromatógrafo de gás (GC) (DANI 1000, Contone, Suíça) acoplado a um injetor de gás *split/splitless* e um detetor de ionização de chama (FID) (Barros *et al.*, 2010). A identificação foi feita comparando os tempos relativos de retenção dos ésteres metílicos de ácidos gordos das amostras (FAME) com os padrões comerciais. A quantificação foi obtida através do CSW 1.7 (DataApex 1.7, Praga, República Checa). Os ácidos gordos

foram determinados por cromatografia gasosa com detecção de ionização por chama (GC-FID)/coluna capilar como previamente descrito por Barros *et al.*, 2008, e após o seguinte procedimento de transesterificação: os ácidos gordos (obtidos após extração de Soxhlet) foram metilados com 5 ml de metanol:ácido sulfúrico:tolueno 2:1:1 (v:v), durante pelo menos 12 h num banho a 50 °C e 160 rpm; depois, foram adicionados 3 ml de água desionizada para obter a separação de fases. As FAMEs foram recuperadas com 3 ml de éter dietílico por agitação num vórtex, e a fase superior foi passada por uma microcoluna de sulfato de sódio anidro, a fim de eliminar a água; a amostra foi recuperada num frasco de Teflon, e antes da injeção a amostra foi filtrada com um filtro de nylon de 0,2 µm (Millipore).

#### **3.4.5. pH**

O pH foi medido usando um medidor digital de pH calibrado (HI 99161, Hanna Instruments, Woonsocket, RI, EUA). A medição do pH foi realizada em três pontos diferentes para cada pão fresco.

#### **3.4.6. ATIVIDADE DA ÁGUA**

A atividade da água ( $a_w$ ) indica o estado da energia da água num sistema, o qual é a fração do teor de humidade total que é livre e, portanto, está disponível para o crescimento de microrganismos e para várias reações químicas que afetam a estabilidade de um alimento. O valor da atividade da água permite medir a qualidade do produto com rapidez, facilidade e precisão. A determinação deste parâmetro foi feita usando o equipamento AquaLab S4TE (Lab-Ferrer).

#### **3.4.7. PERFIL EM MINERAIS E METAIS**

Os minerais e metais foram determinados por Espectrometria de Absorção Atômica (EAA) usando o espectrómetro Série iCE™ 3000 da Thermo Scientific™. O potássio (K), sódio (Na), zinco (Zn), magnésio (Mg) e lítio (Li) foram determinados por EAA usando atomização por chama, enquanto o alumínio (Al), arsénio (As), cádmio (Cd), cobre (Cu), crómio (Cr), chumbo (Pb), ferro (Fe), manganês (Mn), níquel (Ni) e selénio (Se) foram detetados por EAA através da atomização eletrotérmica em forno de grafite.

Para determinação dos minerais e metais, 500mg de amostra foram pesadas e digeridas em 9 mL de ácido nítrico:ácido clorídrico (1:3) durante 4h a 105°C num digestor Kjeldahl com bloco de aquecimento da VELP Scientifica DKL12. Após o arrefecimento, as amostras foram filtradas e o volume aferido com água ultra pura para um volume final de 50 mL. Para os diferentes elementos foi feita uma curva de calibração, e a concentração de cada elemento nas amostras foi feita em triplicado e determinada através da respetiva curva de calibração. Os resultados foram expressos em g/100g de PF.

### **3.5. ANÁLISE DE PARÂMETROS FÍSICOS**

#### **3.5.1. TEXTURA**

Para compreender os efeitos que as diferentes matrizes usadas na produção de pão podem ter na textura apresentada pelo alimento procedeu-se à análise deste parâmetro utilizando um texturómetro *TA.XT* Plus (Stable Micro Systems, Vienna Court, Godalming, UK) com uma célula de carga de 30 Kg. Foi usada uma "*Análise de perfil de textura*", isto é, uma análise que imita a mastigação humana fazendo duas compressões no mesmo alimento, conseguindo extrair vários parâmetros através do uso de macros em parâmetros fundamentais. Desta forma, foi possível analisar a dureza, coesividade, resiliência, elasticidade, gomosidade e mastigabilidade. Usando um cilindro metálico de 35 mm (P/35) como sonda, realizaram-se alguns testes de velocidade, 5 mm/s, 3 mm/s e 10 mm/s, e uma tensão de deformação do pão com uma força de 25% em 10 g para a análise. Na análise destes parâmetros, as amostras de pão foram colocadas inteiras no equipamento e o processo foi feito repetindo 3 vezes para cada amostra. Os resultados foram analisados usando o programa *Exponent*.

### **3.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Neste estudo todos os ensaios realizados foram lidos em triplicado e todos os dados estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Todos os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e a um teste de gama múltipla (teste de Tukey), utilizando o software IBM SPSS 27.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EUA). As diferenças entre os valores médios foram consideradas significativamente diferentes para  $p < 0,05$ .

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Os cereais fazem parte de uma dieta equilibrada, fornecem nutrientes de todos os grupos da roda dos alimentos, contém proteínas e elevados teores de amido que são os principais responsáveis pelo fornecimento de energia (Gellynck *et al.*, 2009). Além disso, o pão é uma fonte de outros nutrientes importantes, como fibras, vitaminas do complexo B e minerais (Isserliyska *et al.*, 2001). A composição nutricional do pão depende, entre outros fatores, do tipo de farinha e da água usada no seu fabrico.

### **4.1. CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DAS DIFERENTES ÁGUAS UTILIZADAS NO FABRICO DO PÃO**

Na **Tabela 4.1.1.** é apresentada a composição química da água de consumo humano (ACH), da água mineral natural termal (AMN termal) e da água mineral natural engarrafada (AMN engarrafada) que foi utilizada no desenvolvimento das diferentes formulações de pão.

**Tabela 4.1.1.** Composição química da água de consumo humano (ACH) e da água mineral natural (AMN) Termal e Engarrafada (mg/L).

COMPOSIÇÃO QUÍMICA	ACH	AMN Termal	AMN Engarrafada
<b>Cálcio (Ca<sup>2+</sup>)</b>	9,8	23	102
<b>Magnésio (Mg<sup>2+</sup>)</b>	< 1,0	5,0	24
<b>Sílica (SiO<sub>2</sub>)</b>	-	70	62
<b>Nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)</b>	< 2,0	< 0,30	< 0,25
<b>Sódio (Na<sup>+</sup>)</b>	2,8	511	577
<b>Potássio (K<sup>+</sup>)</b>	-	56	28
<b>Lítio (Li<sup>+</sup>)</b>	-	2,3	1,9
<b>Ferro (Fe<sup>2+</sup>)</b>	< 0,05	0,23	< 0,01
<b>Manganês (Mn)</b>	< 0,015	0,05	0,20
<b>Chumbo (Pb)</b>	< 0,003	< 0,003	< 0,003
<b>Cádmio (Cd)</b>	< 0,0005	< 0,0004	< 0,0004
<b>Alumínio (Al)</b>	0,032	< 0,003	0,021
<b>Cobre (Cu)</b>	< 0,020	< 0,002	< 0,002
<b>Crómio (Cr)</b>	< 0,002	< 0,001	0,0022
<b>Níquel (Ni)</b>	< 0,005	< 0,005	< 0,005
<b>Selénio (Se)</b>	< 0,0005	< 0,0004	< 0,0004
<b>Arsénio (As)</b>	< 0,00059	0,119	0,0011
<b>Zinco (Zn)</b>	-	< 0,05	0,0028

De uma forma geral, a composição química variou de acordo com as diferentes matrizes de água, verificando-se que a AMN termal e AMN engarrafada apresentaram os teores mais altos para a maioria dos minerais estudados.

O teor em cálcio variou entre 9,8 e 102 mg/L, para a ACH e AMN engarrafada, respetivamente. A AMN engarrafada apresentou igualmente teores superiores de magnésio (24 mg/L), sódio (577 mg/L), manganês (0,20 mg/L), crómio (0,0022 mg/L) e zinco (0,0028 mg/L) comparativamente à ACH e AMN termal.

Por outro lado, a AMN termal apresentou comparativamente à ACH e AMN engarrafada, maiores teores em sílica (70 mg/L), potássio (56 mg/L), lítio (2,3 mg/L), ferro (0,23 mg/L) e arsénio (0,119 mg/L). Do ponto de vista da segurança para a saúde do consumidor é

fundamental que as diferentes matrizes de águas sejam seguras para serem consumidas, podendo desta forma serem passíveis de serem utilizadas como ingrediente em formulações alimentares, como as apresentadas neste estudo.

Relativamente à ACH, os valores de concentração para os parâmetros descritos na **Tabela 4.1.1.** encontram-se de acordo com a legislação aplicável em vigor, isto é, de acordo com o Decreto-Lei n.º 152/2017 de 7 de dezembro, o qual estabelece o Valor Paramétrico (VP) ou Valor Máximo Recomendado (VMR) para os parâmetros referidos. No caso das AMN, a legislação aplicável em vigor é o Despacho n.º 14413/2016, no qual apenas constam os limites de quantificação (LQ), não sendo feita nenhuma referência ao VP ou VMR. No entanto, de acordo com o âmbito do Codex Alimentarius, “*Standard for Natural Mineral Waters, CXS 108-1981, Adopted in 1981. Revised in 1997, 2008. Amended in 2001, 2011, 2019*”, o qual se aplica a todas as águas minerais naturais engarrafadas disponíveis à venda para consumo, mas não se aplicando às águas minerais naturais vendidas ou utilizadas para outros fins, as AMN engarrafadas não devem conter mais do que as seguintes quantidades: nitrato (50 mg/L), manganês (0,4 mg/L), chumbo (0,01 mg/L), cádmio (0,003 mg/L), cobre (1 mg/L), cromo (0,05 mg/L), níquel (0,02 mg/L), selênio (0,01 mg/L), arsénio (0,01 mg/L).

## **4.2 FORMULAÇÕES COM SAL**

### **4.2.1 PERFIL NUTRICIONAL**

Na **Tabela 4.2.1.** encontram-se representados os resultados obtidos referentes ao perfil nutricional das diferentes formulações de pão produzidos neste trabalho, nomeadamente BAC, BAE e BAT.

**Tabela 4.2.1.** Perfil nutricional das diferentes formulações de pão desenvolvidos (g/100 g PF).

	<b>BAC</b>	<b>BAE</b>	<b>BAT</b>
<b>Humidade</b>	26,51 ± 1,54 <sup>a</sup>	30,64 ± 2,26 <sup>a</sup>	29,07 ± 2,66 <sup>a</sup>
<b>Sal</b>	1,028 ± 0,004 <sup>a</sup>	1,155 ± 0,004 <sup>c</sup>	1,123 ± 0,001 <sup>b</sup>
<b>Proteínas</b>	7,74 ± 0,14 <sup>a</sup>	6,96 ± 0,18 <sup>a</sup>	7,60 ± 0,50 <sup>a</sup>
<b>Lípidos</b>	1,51 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,44 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,90 ± 0,08 <sup>b</sup>
<b>Cinzas</b>	1,97 ± 0,16 <sup>ab</sup>	1,80 ± 0,11 <sup>a</sup>	2,10 ± 0,04 <sup>c</sup>
<b>Hidratos de carbono*</b>	62,27 ± 1,57 <sup>a</sup>	59,17 ± 2,00 <sup>a</sup>	59,33 ± 2,23 <sup>a</sup>
<b>Açúcares (maltose)</b>	5,08 ± 0,39 <sup>a</sup>	5,37 ± 0,27 <sup>a</sup>	6,22 ± 0,13 <sup>b</sup>
<b>Valor energético**</b>	293,64 ± 6,55 <sup>a</sup>	277,44 ± 9,12 <sup>a</sup>	284,80 ± 10,38 <sup>a</sup>

Os valores estão representados por média ± desvio padrão em triplicado. PF: Peso fresco. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam amostras com diferenças estatisticamente significativas num nível de confiança de 95 % (p<0.05). \* Calculado por diferença. \*\* Kcal/100 g PF. BAC: biju água consumo; BAE: Biju água engarrafada; BAT: biju água termal.

Relativamente ao valor energético os valores obtidos nas diferentes formulações de pão desenvolvidas variaram entre 277,44 e 293,64 Kcal/100g PF, resultados estes que corroboraram os dados da tabela da composição dos alimentos do INSA (2006), onde pão de trigo apresenta um valor calórico de 289 Kcal/100g. Num trabalho realizado por Carochó e pelos seus colaboradores (2020), foram avaliados os parâmetros físico-químicos de diferentes tipos de pão (pão multicereais, pão de trigo Baviera, pão integral, pão centeio e pão de aveia) verificando-se que os perfis de cada formulação foram bastante distintos. No presente estudo também foi possível verificar que os resultados dos parâmetros físico-químicos das diferentes formulações variaram entre si, onde o pão confeccionado com AMN engarrafada (BAE) foi o que apresentou menor valor energético (277,44 Kcal/100g), apesar de não se ter verificado diferenças estatisticamente significativas.

Relativamente ao teor de sal, foi possível verificar diferenças estatisticamente significativas nas formulações de BAT (1,123 g/100g PF) e de BAE (1,155 g/100g PF) com aumento significativo relativamente ao BAC (1,028 g/100g PF). Este aumento verificado está diretamente relacionado com a maior quantidade do ião de sódio (Na<sup>+</sup>) presente em ambas as AMN (termal e engarrafada). Apesar do aumento observado, os

valores de NaCl para as formulações de BAT e BAE encontram-se dentro dos limites estipulados pela Lei n.º 75/2009, que estabelece como teor máximo permitido para o conteúdo de sal no pão, após confeccionado, 1,4 g de NaCl por 100 g de pão.

No que respeita à composição nutricional, a formulação BAT apresentou diferenças estatisticamente significativas relativamente ao BAC no teor de lípidos, cinzas e açúcares. As diferenças observadas para o teor de lípidos (1,51 g/100g PF (BAC), 1,90 g/100g (BAT)), podem estar relacionadas com as reações de hidrólise que ocorrem durante o processo de panificação ou até mesmo pela atividade das lipases naturalmente presentes na farinha (Miguel *et al.*, 2013). Por outro lado, o aumento significativo verificado no que respeita ao teor de cinzas no BAT (2,10 g/100g PF) está diretamente relacionado com a maior quantidade de minerais presentes neste tipo de água. Relativamente aos teores de açúcares, o aumento significativo observado no BAT (6,22 g/100g PF) e uma vez que não é adicionado qualquer tipo de açúcar nestas formulações, pode estar relacionado com a atividade da enzima amilase presente na farinha de trigo, uma vez que na presença de água estas enzimas são responsáveis por converter o amido do trigo em outro açúcar fermentável, como a maltose (Vitti, 2001).

No que respeita ao teor de proteínas, os valores obtidos neste estudo situaram-se entre os 6,96 e 7,74 g/100g PF, resultados que corroboram os valores obtidos por Carochó *et al.*, (2020), onde o conteúdo proteico quantificado foi de 7,28 g/100g. Relativamente ao teor em cinzas Carochó e os seus colaboradores (2020) obtiveram valores de 0,97 g/100g, porém os resultados obtidos neste estudo revelaram teores de cinzas mais elevados situando-se entre valores de 1,80 e 2,10 g/100g PF.

Em relação aos hidratos de carbono os resultados obtidos neste trabalho situaram-se entre os 59,17 e os 62,27 g/100g PF, enquanto que, no estudo realizado por Carochó *et al.*, (2020), o valor obtido foi de 50,0 g/100g PF (pão Bavaria).

Por outro lado, Altamirano-Fortoul e Rosell (2011), estudaram as alterações físico-químicas de diferentes pães cozidos após o armazenamento e congelação da massa. Os resultados obtidos pelos autores em relação ao valor proteico e aos hidratos de carbono foi muito próximo dos resultados obtidos neste estudo, com valores de 7,05 g/100g e 62,5 g/100g, respetivamente.

#### 4.2.2. pH E ATIVIDADE DA ÁGUA ( $a_w$ )

Os valores de pH obtidos nas diferentes formulações de pão desenvolvidas estão representados na **Tabela 4.2.2.** os quais se situaram entre 5,69 e 6,18.

**Tabela 4.2.2.** pH e atividade de água ( $a_w$ ) das diferentes formulações de pão desenvolvidos.

Amostra	BAC	BAE	BAT
<b>pH</b>	5,69 ± 0,05 <sup>a</sup>	6,12 ± 0,14 <sup>b</sup>	6,18 ± 0,02 <sup>b</sup>
<b><math>a_w</math></b>	0,88 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,90 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,87 ± 0,01 <sup>a</sup>

Os valores representam média ± desvio padrão em triplicado. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam amostras com diferenças estatisticamente significativas num nível de confiança de 95 % ( $p < 0.05$ ). BAC: biju água consumo; BAE: Biju água engarrafada; BAT: biju água termal.

Segundo Calaveras (2004), os valores de pH que se encontrem compreendidos entre 5 e 6, são valores que promovem no pão um ótimo desempenho da fermentação e uma produção máxima de  $CO_2$ . Apesar das variações entre as diferentes formulações, com um aumento de pH nas duas formulações com AMN, foi possível constatar que os valores de pH obtidos neste estudo para todas as formulações estão dentro do intervalo que promove no pão um ótimo desempenho da fermentação e produção de  $CO_2$ . No estudo realizado por Ferreira (2019), o valor de pH obtido foi de pH de 5,38, um valor mais baixo comparativamente a este estudo. A água nos alimentos pode encontrar-se sob a forma de ligações de moléculas ou sob a forma livre (Ferreira, 2019). A água que se encontra livre nos alimentos é determinada e representa a atividade da água ( $a_w$ ). A  $a_w$  é medida numa escala entre 0 e 1, sendo que 0 é inexistente e 1 significa água pura, e está diretamente relacionada com o desenvolvimento microbiano nos alimentos. Segundo Carrascosa e Cornejo (1989), a maioria dos microrganismos, incluindo as bactérias patogénicas, desenvolvem-se rapidamente a níveis de  $a_w$  entre 0,98 e 0,99. Observando os resultados obtidos para as três formulações desenvolvidas os valores de  $a_w$  situaram-se entre 0,87 e 0,90. Ferreira (2019), no seu estudo obteve um valor de  $a_w$  de apenas 0,85, estando o seu resultado de acordo com os valores obtidos neste trabalho. Apesar da inexistência de diferenças estatisticamente significativas entre a quantidade de água livre nos alimentos e as diferentes formulações, pode constatar-se que o pão com menor quantidade de água livre no alimento foi o biju feito com AMN termal, com um valor de  $a_w$  igual a 0,87.

### 4.2.3. ÁCIDOS GORDOS

Na **Tabela 4.2.3.** está representado o perfil individual de ácidos gordos analisados nas diferentes formulações de pão desenvolvidas, estando expressos em g/100g PF.

**Tabela 4.2.3.** Perfil individual de ácidos gordos e total em ácidos gordos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e polinsaturados (AGPI) das diferentes formulações de pão desenvolvidas (g/100 g PF).

<b>Amostra</b>	<b>BAC</b>	<b>BAE</b>	<b>BAT</b>
C14:0	0,0016 ± 0,0001 <sup>a</sup>	0,0019 ± 0,0002 <sup>a</sup>	0,0026 ± 0,0003 <sup>b</sup>
C16:0	0,2065 ± 0,0101 <sup>a</sup>	0,2105 ± 0,0024 <sup>a</sup>	0,2905 ± 0,0225 <sup>b</sup>
C16:1	0,0050 ± 0,0002 <sup>a</sup>	0,0057 ± 0,0005 <sup>a</sup>	0,0068 ± 0,0004 <sup>b</sup>
C18:0	0,0660 ± 0,0009 <sup>b</sup>	0,0626 ± 0,0014 <sup>a</sup>	0,0797 ± 0,0016 <sup>c</sup>
C18:1n9c	0,4161 ± 0,0139 <sup>b</sup>	0,3743 ± 0,0055 <sup>a</sup>	0,5055 ± 0,0024 <sup>c</sup>
C18:2n6c	0,7159 ± 0,0055 <sup>b</sup>	0,6915 ± 0,0058 <sup>a</sup>	0,8979 ± 0,0139 <sup>c</sup>
C18:3n3	0,0756 ± 0,0008 <sup>b</sup>	0,0692 ± 0,0029 <sup>a</sup>	0,0933 ± 0,0031 <sup>c</sup>
C20:0	0,0067 ± 0,0008 <sup>ab</sup>	0,0059 ± 0,0001 <sup>a</sup>	0,0077 ± 0,0001 <sup>b</sup>
C20:1	0,0062 ± 0,0007 <sup>a</sup>	0,0055 ± 0,0005 <sup>a</sup>	0,0069 ± 0,0008 <sup>a</sup>
C22:0	0,0116 ± 0,0007 <sup>c</sup>	0,0079 ± 0,0002 <sup>a</sup>	0,0095 ± 0,0006 <sup>b</sup>
<b>AGS</b>	<b>0,2925 ± 0,0091<sup>a</sup></b>	<b>0,2888 ± 0,0025<sup>a</sup></b>	<b>0,3901 ± 0,0208<sup>b</sup></b>
<b>AGMI</b>	<b>0,4274 ± 0,0145<sup>b</sup></b>	<b>0,3856 ± 0,0057<sup>a</sup></b>	<b>0,5192 ± 0,0028<sup>c</sup></b>
<b>AGPI</b>	<b>0,7915 ± 0,0062<sup>b</sup></b>	<b>0,7607 ± 0,0073<sup>a</sup></b>	<b>0,9912 ± 0,0163<sup>c</sup></b>

Os valores representam média ± desvio padrão em triplicado. PF: Peso Fresco. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam amostras com diferenças estatisticamente significativas num nível de confiança de 95 % ( $p < 0.05$ ). BAC: biju água consumo; BAE: Biju água engarrafada; BAT: biju água termal.

Relativamente aos ácidos gordos individuais, apenas os mais abundantes foram considerados. Embora se tenha verificado um maior número no global de ácidos gordos saturados (AGS) em todas as formulações de pão, curiosamente os ácidos gordos polinsaturados (AGPI) foram aqueles que apresentaram quantidades mais elevadas, podendo afirmar-se que estes pães podem ser uma opção saudável em termos de consumo AGPI. Individualmente, o ácido linoleico (C18:2n6c) foi o AGPI que revelou o maior teor em todas as formulações desenvolvidas, enquanto o maior teor de AGS identificado foi o ácido palmítico (C16:0). No geral, a formulação que apresentou as diferenças estatisticamente significativas mais elevadas em relação ao BAC (SFA: 0,2925 g/100g

PF; AGMI: 0,4274 g/100g PF; AGPI: 0,7915 g/100g PF) foi o BAT com valores de SFA: 0,3901g/100g PF, AGMI: 0,5192 g/100g PF e AGPI: 0,9912 g/100g PF), que por sua vez foi também a formulação que apresentou no seu perfil individual de ácidos gordos os maiores teores.

No estudo realizado por Carochó *et al.*, (2020), os autores avaliaram o perfil em ácidos gordos de diferentes pães (pão multicereais, pão de trigo Baviera, pão integral, pão centeio e pão de aveia). No seu estudo Carochó *et al.*, (2020), identificou e comparou diferentes AGS, AGMI e AGPIs e os seus resultados corroboram os obtidos neste estudo, uma vez que foi possível evidenciar que o ácido linoleico foi o AGPI mais abundante em todas as formulações de pão desenvolvidas, enquanto o AGS mais abundante foi o ácido palmítico. Devido à dificuldade de encontrar trabalhos de investigação com água termal na área da panificação os dados deste estudo não são passíveis de comparação com os da literatura, o que justifica a relevância dos dados aqui obtidos.

#### 4.2.4. MINERAIS

Considerando o pão como alimento básico para milhões de pessoas, a ingestão diária de muitos nutrientes como os minerais depende do consumo de pão, tornando importante conhecer a quantidade de cada elemento presente neste alimento. Na **Tabela 4.2.4.** encontram-se representados os valores da concentração obtidos nas diferentes formulações de pão desenvolvidas neste trabalho.

**Tabela 4.2.4.** Composição em microminerais (Fe, Zn, Cu, Mn e Se), em macrominerais (K, Na e Mg) e metais (Al, Cd, Ni, Cr e Pb) presentes nas diferentes formulações de pão desenvolvidas (mg/100g PF).

	BAC	BAE	BAT
[K]	104,8243 ± 0,0755 <sup>a</sup>	128,1134 ± 0,5628 <sup>c</sup>	117,2335 ± 0,9644 <sup>b</sup>
[Na]	404,4938 ± 1,7082 <sup>a</sup>	454,4748 ± 1,7389 <sup>c</sup>	441,6273 ± 0,4821 <sup>b</sup>
[Mg]	26,0882 ± 0,1755 <sup>a</sup>	30,8296 ± 0,0298 <sup>b</sup>	31,2446 ± 0,1262 <sup>c</sup>
[Fe]	5,6779 ± 0,0581 <sup>a</sup>	5,8061 ± 0,2196 <sup>ab</sup>	6,1239 ± 0,0442 <sup>b</sup>
[Zn]	0,7048 ± 0,0065 <sup>b</sup>	0,6739 ± 0,0027 <sup>a</sup>	0,7838 ± 0,0020 <sup>c</sup>
[As]	0,0021 ± 0,0001 <sup>a</sup>	0,0026 ± 0,0002 <sup>b</sup>	0,0058 ± 0,0002 <sup>c</sup>
[Cr]	0,0129 ± 0,0004 <sup>b</sup>	0,0102 ± 0,0008 <sup>a</sup>	0,0348 ± 0,0005 <sup>c</sup>
[Cu]	0,0769 ± 0,0013 <sup>a</sup>	0,1655 ± 0,0024 <sup>c</sup>	0,1544 ± 0,0015 <sup>b</sup>
[Mn]	0,1571 ± 0,0140 <sup>a</sup>	0,4664 ± 0,0283 <sup>b</sup>	0,4616 ± 0,0070 <sup>b</sup>
[Ni]	0,0543 ± 0,0024 <sup>a</sup>	0,1181 ± 0,0013 <sup>b</sup>	0,2001 ± 0,0026 <sup>c</sup>
[Al]	0,2651 ± 0,0163 <sup>b</sup>	0,2349 ± 0,0023 <sup>a</sup>	0,3104 ± 0,0006 <sup>c</sup>
[Pb]	ND	0,0011 ± 0,0000 <sup>a</sup>	0,0125 ± 0,0005 <sup>b</sup>
[Cd]	ND	ND	ND
[Se]	ND	ND	ND
<b>Total</b>	543,1658 ± 1,6057 <sup>a</sup>	621,4393 ± 1,2142 <sup>c</sup>	599,4273 ± 0,6431 <sup>b</sup>

Os valores representam média ± desvio padrão em triplicado. PF: Peso Fresco. ND.: não detetado. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam amostras com diferenças estatisticamente significativas num nível de confiança de 95 % ( $p < 0.05$ ). BAC: biju água consumo; BAE: Biju água engarrafada; BAT: biju água termal.

Pela análise da tabela os minerais mais abundantes como esperado foram os macrominerais, sendo o potássio (K), o sódio (Na) e o magnésio (Mg) em todas as formulações desenvolvidas. O K é um mineral essencial no corpo humano, sendo a sua ingestão necessária para assegurar as funções celulares normais. É um eletrólito importante e o seu consumo reduz a pressão arterial. O valor diário recomendado de ingestão (VDR) de K é de 3500 mg/dia, sendo que a ingestão de K abaixo deste nível está relacionada com maior risco de ocorrência de acidentes vasculares cerebrais (EFSA, 2016). Em termos de concentração de K, os resultados obtidos nas diferentes formulações demonstraram um aumento significativo deste mineral no BAE (128.1134 mg/100g PF) e no BAT (117.2335 mg/100g PF) comparativamente com o BAC (104,8243 mg/100g

PF). Num trabalho desenvolvido por Ozbeck e Aakman (2016) os valores de K determinados para diferentes tipos de pão situaram-se entre valores 176 e 353 mg/100g, valores que se revelaram superiores aos obtidos neste estudo. Por outro lado, no estudo desenvolvido por Carocho et al., 2020 o teor de K determinado para o pão de trigo Baviera foi de 25 mg/100g, um valor 5 vezes inferior ao obtido neste estudo. Em outro trabalho, Filha *et al.*, (2015), avaliou as concentrações de macrominerais e microminerais em vegetais e pães, determinando concentrações de K no pão de sal, pão de centeio e pão integral de 651, 260 e 301,4 g/100g, respetivamente, concentrações superiores às obtidas neste estudo. Outro estudo publicado baseado na avaliação de elementos minerais em pães frescos e em pães pré-cozidos, obteve valores de concentração de K que se situaram entre 184 e 475 mg/100g, sendo igualmente valores de concentração mais elevadas que neste estudo (Zioła-Frankowska *et al.*, 2021).

O sódio tem uma importância muito grande na saúde humana. O seu consumo em excesso está diretamente relacionado com hipertensão arterial, problemas coronários e doenças cardiovasculares. Considerando as necessidades diárias e os perigos do consumo excessivo de sal, a Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) estabeleceu uma ingestão adequada de 2,3 g/dia de Na (Alderman, 2000; EFSA, 2006). Considerando os pães analisados neste trabalho, os teores de Na obtidos situaram-se entre os 404,4938 e 454,4748 mg/100g de PF, valores que se encontram dentro da gama estipulada no VDR. No estudo realizado por Zioła-Frankowska *et al.*, (2021) o teor de Na nas amostras de pão analisadas foi determinado na faixa de 457 a 877 mg/100g, sendo valores superiores aos obtidos neste estudo. Considerando o estudo desenvolvido por Carocho *et al.*, (2020), os autores verificaram que nenhuma das formulações continha mais de 40 mg Na/100g, teores muito inferiores aos obtidos neste estudo.

O magnésio é outro mineral importante para o corpo humano, sendo um cofator de mais de 600 enzimas, além de desempenhar um papel importante na estabilização de nucleotídeos. A ingestão adequada de Mg foi definida pela EFSA em 350 mg/dia para homens e 300 mg/dia para mulheres (Curry e Yu, 2018, EFSA, 2015, Sun *et al.*, 2019). Relativamente aos pães desenvolvidos neste trabalho, os teores de magnésio obtidos para as diferentes formulações foram de 26,0882 mg/100g (BAC), 30,8296 mg/100g (BAE) e 31,2446 mg/100g (BAT), verificando-se que BAT revelou um aumento significativo da quantidade de Mg relativamente ao BAC. Em estudos realizados por Carocho *et al.*, (2020) e Zioła-Frankowska *et al.*, (2021) o teor de Mg presente nas

amostras de pão avaliadas variou entre 24 e 142 mg/100g e 28 e 56 g/100g, respectivamente, valores que compreendem os obtidos neste estudo, no entanto o valor obtido no trabalho de Carochó *et al.*, (2020) o pão de trigo Bavaria foi superior ao obtido neste estudo, com um valor de 32 mg Mg/100g.

O teor em microminerais, nomeadamente ferro (F), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn) e selênio (Se), foi determinado. O Fe é um mineral de extrema importância uma vez que ele participa na síntese de hemoglobina, transporte de oxigênio para o sangue e é um cofator enzimático (Abbaspour *et al.*, 2014). A ingestão diária recomendada de ferro é de 8 a 10 mg/dia, de acordo com a EFSA (2006), porém de acordo com a *Dietary Reference Intakes* (DRI) apresenta um valor máximo de ingestão (UL) para o ferro de 45 mg (Padovani *et al.*, 2006). Os teores de ferro presentes nas formulações desenvolvidas neste trabalho variaram entre 5,6779 mg/100g (BAC), 5,8061 mg/100g (BAE) e 6,1239 mg/100g (BAT). No trabalho desenvolvido por Ziola-Frankowska *et al.*, (2021) o teor de Fe nas amostras testadas variou entre 0,742 e 3,92 mg/100g, enquanto que Carochó *et al.*, (2020) doseou teores de Fe que variaram entre 1,25 e 1,7 mg/100g, valores muito inferiores aos obtidos neste estudo. Por outro lado, no trabalho desenvolvido por Filha *et al.* (2015), os valores de concentração de Fe para todos os pães foram muito próximos dos obtidos neste estudo, variando entre 6,05 e 6,75 mg/100g de Fe.

O zinco é um oligoelemento essencial para o ser humano. É vital para muitas funções biológicas e desempenha um papel importante no funcionamento normal de mais de 300 enzimas no corpo humano Nriagu, (2018). É especialmente importante durante a gravidez, nos cuidados de pele e na resistência imunitária. Porém, níveis elevados de Zn estão associados a distúrbios gastrointestinais. O Zn tem um VDR diferenciado, estando dividido entre os gêneros; os homens têm um valor de ingestão de 9,5 mg/dia, enquanto as mulheres não devem consumir acima de 7 mg/dia. Os teores de Zn obtidos neste estudo variaram entre 0,7048 e 0,7838 mg/100g PF, sendo o BAT a formulação que apresentou maiores teores neste elemento, com um valor de 0,7838 mg/100g PF. No estudo desenvolvido por Carochó *et al.*, (2020), os teores de Zn obtidos para as diferentes formulações variaram entre 1,08 e 2,0 mg/100g, valores que se revelaram superiores aos obtidos neste estudo. Ziola-Frankowska *et al.*, (2021) obtiveram teores de Zn nas suas amostras de pão que variaram entre 0,594 e 1,512 mg/100g. Magomya *et al.*, (2013) e Dawood Al-Kamil, (2011) também estudaram os teores de Zn em formulações de pão e

obtiveram teores compreendidos entre 0,024 e 0,211 mg/100g e 0,296 e 0,460 mg/100g, respetivamente, valores inferiores aos aqui obtidos.

O arsénio é extremamente tóxico. A ingestão de grandes quantidades de As leva a sintomas gastrointestinais, perturbações graves do sistema cardiovascular e do sistema nervoso central (Feysi *et al.*, 2017) . Segundo a FAO/WHO (1999) o nível máximo admissível de As nos alimentos é de 100 µg/kg, correspondendo a 0,010 mg/100g. O teor de As permitido no pão é de 0,02 mg/Kg (Zioła-Frankowska *et al.*, 2021). Os resultados obtidos mostraram que a concentração de As encontrada nos pães foi de 0,0021 mg/100g (BAC), 0,0026 mg/100g (BAE) e 0,0058 mg/100g (BAT), revelando que os níveis de As detetados nas diferentes formulações se encontra dentro dos níveis admissíveis. Um estudo efetuado por Feyzi *et al.*, (2017) revelou teores baixos de As nas amostras de pão analisadas com valores 0,00125 mg/100g em todas as amostras. Por outro lado, Zioła-Frankowska *et al.*, (2021) determinou teores de As nas suas amostras compreendidos entre 0,00029 e 0,001622 mg/100g, sendo que o valor mais elevado de As foi detetado num pão sem glúten embalado hermeticamente.

A ingestão adequada de crómio varia entre homens e mulheres, sendo recomendada uma dose de 35 µg/dia e 25 µg/dia, respetivamente (Padovani *et al.*, 2006). Concentrações de 0,0129 mg/100g, 0,0102 mg/100g e 0,0348 mg/100g, foram os resultados obtidas neste estudo para as formulações de BAC, BAE e BAT, respetivamente. Os teores de Cr determinados nos estudos feitos por Zioła-Frankowska *et al.*, (2021) e Woldetsadik *et al.*, (2020), foram superiores aos obtidos neste estudo com valores compreendidos entre 0,377 e 2,661 mg/100g e 0,037 e 0,051 mg/100g, respetivamente.

O cobre está presente em vários alimentos e desempenha funções importantes na manutenção de um corpo saudável. O Cu também é conhecido por desempenhar um papel na síntese da hemoglobina e nas reações redox (Abbaspour *et al.*, 2014 , Askwith e Kaplan, 1998). Possui ações anti-inflamatórias ajudando a reduzir os sintomas da artrite, e é um elemento essencial para o crescimento (Feyzi *et al.*, 2017). Para este mineral, os teores obtidos neste estudo foram de 0,0769 mg/100g (BAC), 0,1655 mg/100g (BAE) e 0,1544 mg/100g (BAT), estando estes resultados dentro dos limites, uma vez que a UL recomendada é de 10 mg/dia de Cu (Padovani *et al.*, 2006). Os resultados obtidos da concentração de Cu nos estudos realizados por Carochi *et al.*, (2020), Feysi *et al.*, (2017), Magomya *et al.*, (2013) e Zioła-Frankowska *et al.*, (2021) variaram entre 0,38 e 0,67

mg/100g, 0,1975 e 0,3250 mg/100g, 0,013 e 0,066 mg/100g e 0,093 e 0,385 mg/100g, respectivamente, sendo no geral valores mais elevados comparativamente a este estudo.

O manganês é um micronutriente essencial em diversas funções metabólicas do organismo, nomeadamente das metaloenzimas, embora o consumo excessivo cause toxicidade, especialmente neurotoxicidade. O limite superior não foi definido pela EFSA, embora o valor estabelecido de ingestão adequada seja de 3 mg/dia para adultos. O grão é conhecido por possuir grandes quantidades de Mn, chegando, em alguns casos, a atingir teores de 10 mg/kg, sendo desta forma importante produzir pães com baixos teores de Mn (EFSA, 2006; EFSA, 2013; Röllin, 2011). A concentração de Mn presente nas formulações desenvolvidas neste trabalho foram de 0,1571 mg/100g no BAC, de 0,4664 mg/100g no BAE e de 0,4616 mg/100g no BAT. Comparando estes resultados com os obtidos no trabalho desenvolvido por Carocho *et al.*, (2020), verificou-se que o pão de trigo Bavaria apresentou um valor muito semelhante para o teor de Mn (490 g/100g), enquanto que Zioła-Frankowska *et al.*, (2021) e Ozbek e Akman, (2016), obtiveram valores mais elevados na análise das suas amostras, com valores compreendidos entre 0,280 e 1,583 mg/100g e 0,493 e 3,28 mg/100g, respectivamente.

O níquel é um elemento que pode ser útil como ativador de alguns sistemas enzimáticos (Underwood, 1977). No entanto, se as concentrações de Ni excederem os limites admissíveis, podem criar efeitos tóxicos no ser humano. O valor de UL para o Ni é de 1 mg/dia (Padovani *et al.*, 2006). Os teores de Ni obtidos neste estudo foram de 0,0543 mg/100g no BAC, 0,1181 mg/100g no BAE e 0,2001 mg/100g no BAT, verificando-se que estes valores estão dentro dos limites recomendados. Feysi *et al.*, (2017) e Zioła-Frankowska *et al.*, (2021) determinaram no seu estudo um intervalo para a concentração de Ni compreendido entre 0,000625 e 0,002125 mg/100g e 0,001 e 0,041 mg/100g respectivamente, evidenciando valores inferiores da concentração de Ni aos obtidos neste estudo.

Dada a persistência do alumínio no corpo, o painel da EFSA considerou apropriado estabelecer uma dose semanal tolerável (TWI – *tolerable weekly intake*) em vez de uma dose diária tolerável, estabelecendo um valor de 1 mg/kg de peso corporal/semana (EFSA, 2008). Os teores de Al obtidos foram de 0,2651 mg/100g (BAC), 0,2349 mg/100g (BAE) e 0,3104 mg/100g (BAT). Zioła-Frankowska *et al.*, (2021) quantificou no intervalo de 0,206 e 0,656 mg/100g os teores de Al presentes nas suas amostras de pão, sendo o valor mais baixo quantificado no pão de trigo fresco. Teores mais elevados de Al

em relação a este estudo foram determinados por Woldetsadik *et al.*, (2020), com concentrações compreendidas entre 24,9 e 34,4 mg/100g.

A exposição a curto prazo a níveis elevados de chumbo pode causar danos cerebrais, paralisia, anemia e sintomas gastrointestinais. Por outro lado, a exposição a longo prazo a este metal pode causar danos nos rins, sistemas reprodutivo e imunitário, além de causar efeitos negativos no sistema nervoso (FSAI, 2009). O teor de chumbo nos alimentos corresponde ao intervalo de 0,02 a 0,25 mg/100g (FAO/WHO, 2007; CAC, 2003). Neste trabalho, apenas as formulações de BAE e BAT apresentaram teores de Pb, com valores de 0,0011 e 0,0125 mg/100g, respetivamente. Os resultados obtidos demonstraram teores de Pb inferiores ao valor mais baixo recomendado de ingestão de Pb, resultados que não colocam de nenhuma forma a saúde do consumidor. Ziola-Frankowska *et al.*, (2021), Magomya *et al.*, (2013) e Feysi *et al.*, (2017), reportaram níveis de Pb nos intervalos de 2,951 a 9,862 mg/100g, 0,034 a 0,313 mg/100g e 0,04719 a 0,1025 mg/100g respetivamente, sendo que estes autores obtiveram teores de Pb mais elevados que os obtidos neste estudo.

O principal efeito tóxico do cádmio é a sua toxicidade para o rim, embora se tenha constatado que está associado a tumores pulmonares e alterações do esqueleto (Martin e Griswold, 2009; Alimentarius, 1994). Limite admissível para Cd nos alimentos é de 50 µg/kg (FSAI, 2009). Neste estudo não foi detetada presença de Cd nas formulações desenvolvidas neste estudo. No entanto, Feysi *et al.*, (2017) detetaram teores médios de Cd nas amostras de pão que variaram entre de 6,25 a 19 µg/Kg, revelando concentrações de Cd inferiores ao limite admissível. Magomya *et al.*, (2013), relataram que o nível de Cd nas amostras de pão analisadas variou entre 130 e 980 µg/Kg, porém constataram que 8 das 15 amostras analisadas no seu estudo tinham concentração de Cd superior ao máximo admissível.

O selénio apresenta um UL de 400 µg/dia (Padovani *et al.*, 2006). Neste estudo, não foi detetada a presença de Se nas formulações de pão desenvolvidas. No entanto no estudo efetuado por Ziola-Frankowska *et al.*, (2021), os autores detetaram em todas as amostras analisadas teores de Se que variaram entre 4,83 e 53,08 µg/kg.

O Pb só foi detetado nas formulações de BAE e BAT, e, não foi possível detetar os elementos de Cd e Se para nenhuma das formulações. Em relação às maiores diferenças estatisticamente significativas para todos os elementos analisados em relação ao controlo, verificou-se que a formulação BAT foi aquela que demonstrou os maiores teores para

todos os minerais, facto este explicado pela matriz de água utilizada nesta formulação ser aquela que apresenta os maiores teores em minerais na sua composição

Uma vez que o pão é um dos alimentos mais consumidos e que a ingestão diária de muitos nutrientes e minerais dependem deste, transformar-lo num produto nutricionalmente mais rico recorrendo a um produto natural, disponível e endógeno como a AMN termal e engarrafada e acrescenta valor.

Fazendo uma análise à tabela “*Tolerable Upper Intake Level*” que indica o maior nível de ingestão continuado de um nutriente que não coloque em risco a saúde do consumidor, das duas formulações de pão desenvolvidas neste trabalho com AMN termal e engarrafada concluímos que tendo em conta que cada biju contém 50 g, podem ser consumidos até oito unidades (aproximadamente 350 g) sem que as formulações ultrapassem os VDR e não coloquem em perigo a saúde do consumidor.

#### **4.2.5. TEXTURA**

A textura está relacionada com uma série de propriedades físicas presentes nos elementos estruturais dos alimentos, que são quantificadas por meio de análises sensoriais ou instrumentais. Na **Tabela 4.2.5.** são apresentados os resultados para a análise de textura (dureza, a elasticidade, coesividade, gomosidade, mastigabilidade e resiliência) obtidos das diferentes formulações de pão desenvolvidas.

**Tabela 4.2.5.** Parâmetros de textura das diferentes formulações de pão desenvolvidas.

	BAC	BAE	BAT
<b>Dureza (g)</b>	11701,2 ± 171,4 <sup>b</sup>	8068,3 ± 822,3 <sup>a</sup>	11624,3 ± 1187,8 <sup>b</sup>
<b>Elasticidade (%)</b>	0,592 ± 0,012 <sup>a</sup>	0,712 ± 0,062 <sup>b</sup>	0,788 ± 0,044 <sup>b</sup>
<b>Coesividade (%)</b>	0,386 ± 0,016 <sup>a</sup>	0,518 ± 0,056 <sup>b</sup>	0,654 ± 0,014 <sup>c</sup>
<b>Gomosidade (%)</b>	4522,9 ± 252,3 <sup>a</sup>	4273,0 ± 52,6 <sup>a</sup>	6475,3 ± 210,3 <sup>b</sup>
<b>Mastigabilidade (%)</b>	2706,1 ± 161,1 <sup>a</sup>	3084,4 ± 185,0 <sup>a</sup>	4386,6 ± 589,6 <sup>b</sup>
<b>Resiliência (%)</b>	0,138 ± 0,009 <sup>a</sup>	0,171 ± 0,004 <sup>b</sup>	0,235 ± 0,006 <sup>c</sup>

Os valores representam média ± desvio padrão em triplicado. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam amostras com diferenças estatisticamente significativas num nível de confiança de 95 % ( $p < 0.05$ ). BAC: biju água consumo; BAE: Biju água engarrafada; BAT: biju água termal.

Pela análise dos resultados obtidos foi possível verificar que a utilização de diferentes matrizes de água influenciou as propriedades texturais do produto final. A dureza é o atributo mais importante para determinar a aceitabilidade do consumidor de produtos alimentares (Li, *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2016; Tao *et al.*, 2019, 2020), sendo definida como a força que os dentes exercem sobre o alimento e é medida em gramas (Di Monaco *et al.*, 2008).

Analisando a tabela, verificou-se que os valores do parâmetro dureza obtidos para a formulação de BAT (11624,3 g) não apresentou diferenças estatisticamente significativas do BAC (11701,2 g), enquanto que a formulação de BAE apresentou um valor para o parâmetro da dureza muito inferior ao BAC, com um valor de 8068,3 g. O facto do BAE apresentar esta diferença na dureza pode estar relacionado com o aumento significativo da capacidade de retenção de ar (Wang *et al.*, 2021), uma vez que se trata de uma água gasocarbónica. Para além disso e segundo Young (2012), a dureza pode estar relacionada com a humidade apresentada pelo alimento, ou seja, quanto mais alta for a sua humidade, menor será a sua dureza, o que está em concordância com o resultado obtido na formulação BAE, uma vez que das três formulações desenvolvidas foi aquela que apresentou maior teor de humidade (30,64 g/100g de PF) (Young, 2012). No estudo desenvolvido por Carochó *et al.*, (2020), dos cinco pães desenvolvidos utilizando os diferentes tipos de farinha, os autores concluíram que o pão centeio era mais duro, com

uma dureza calculada de 2594 g, seguido do trigo Bavaria (1952 g) e do multicereal (1247 g), enquanto o pão de aveia e o pão integral apresentaram valores de dureza muito semelhantes, com valores de 633 e 513 g, respetivamente. Os valores de dureza obtidos por estes autores foram muito inferiores aos obtidos neste estudo.

Outro parâmetro da textura importante, e que revelou diferenças estatisticamente significativas entre as formulações BAE e BAT relativamente à formulação BAC foi o parâmetro de elasticidade. A elasticidade é definida como a velocidade com a qual o material deformado volta ao seu estado inicial após remoção da força (Faber *et al.*, 2017). Neste estudo o valor obtido para este parâmetro foi de 0,712 % para a formulação BAE e 0,788 % para formulação BAT valores que foram superiores ao BAC (0,592 %). Outros estudos (Carocho *et al.*, 2020; Bawa *et al.*, 2020) apresentaram valores de elasticidade semelhantes ao obtido neste estudo (0,976 % e 0,750 %). Os valores da elasticidade obtidos por Bawa *et al.*, (2020), foram valores muito próximos aos obtidos neste estudo para a formulação de BAE e BAT.

A coesividade é considerada como o grau de resistência de um alimento ao sofrer uma segunda deformação em relação à resistência na primeira deformação, sendo expressa em percentagem. Neste parâmetro todas as formulações apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si, com valores de 0,386% (BAC), 0,518% (BAE), 0,654% (BAT), sendo o BAT o que apresentou maior percentagem de coesão relacionando-se com a dureza apresentada nesta formulação. Os resultados obtidos por Bawa *et al.*, (2020), para este parâmetro corroboram os resultados obtidos neste trabalho, com um valor de coesividade para o pão controlo de 0,34%. Por outro lado, os valores obtidos por Carocho *et al.*, (2020) para o pão de trigo Baviera foram mais elevados, apresentando um valor de coesividade de 0,84%, aproximando-se mais do valor obtido neste estudo para o BAT.

A gomosidade é a força necessária para realizar a mastigação de um alimento semissólido até ao ponto de deglutição. Por outro lado, a mastigabilidade é geralmente definida como a energia necessária para mastigar os alimentos sólidos até à deglutição. Tanto a gomosidade como a mastigabilidade são parâmetros secundários resultantes da dureza, coesividade e elasticidade (Chandra e Shamasundar, 2015). No que respeita aos parâmetros gomosidade e mastigabilidade, a formulação BAT apresentou valores significativamente superiores ao BAC com percentagens de 6475,3%; 4522,9% e 4386,6%; 2706,1%, respetivamente. Estes valores são superiores aos valores obtidos no

estudo realizado por Carocho *et al.*, (2020) no qual obteve uma percentagem de 1640% para este parâmetro.

A resiliência é semelhante à elasticidade, embora meça tanto a velocidade quanto as forças envolvidas na recuperação de um alimento quando uma força deformante é removida, sendo também medida em percentagem (Chandra e Shamasundar, 2015). Para este parâmetro, todas as formulações apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre si, com valores entre 0,138% (BAC), 0,171% (BAE) e 0,235% (BAT). A resiliência que simula como uma fatia de pão mantém a sua altura inicial foi significativamente maior na formulação de BAT (0,235%), ou seja, no pão desenvolvido com AMN termal. Os resultados obtidos no estudo desenvolvido por Bawa *et al.*, (2020), estão de acordo com o resultado obtido para o BAC (0,138%), com um valor de 0,120% no pão desenvolvido com 0% de pó de grilo, ou seja, o controlo. Por outro lado, os valores obtidos para este parâmetro no pão de trigo Bavaria no estudo desenvolvido por Carocho *et al.*, (2020), revelaram ser muito superiores ao BAC, uma vez que o valor obtido pelos autores correspondeu a 0,374%. Os resultados deste estudo evidenciaram que alto valor no parâmetro dureza está intimamente ligado a altos valores de textura para resiliência, mastigabilidade, elasticidade e coesividade.

### **4.3. RELAÇÃO DAS FORMULAÇÕES DE PÃO COM E SEM SAL**

O sal é um ingrediente muito usado na indústria dos alimentos processados, importante para o sabor e qualidade dos mesmos. No entanto, as crescentes preocupações a nível mundial com a saúde dos consumidores, dado que a ingestão excessiva de sal se encontra associado a doenças cardiovasculares, tem sensibilizado e desafiado a indústria para o desenvolvimento de produtos alimentares com baixo teor em sal (Sun *et al.*, 2021). Neste sentido, vários produtos têm sido lançados no mercado com diferentes alegações nutricionais que vão desde «baixo teor de sódio/sal», «muito baixo teor de sódio/sal», «sem sódio ou sem sal», «sem adição de sódio/sal», os quais aportam, deste modo, benefícios para a saúde do consumidor (Regulamento (EU) nº 1047/2012 e Regulamento (CE) nº 1924/2006). Uma vez que nos primeiros ensaios realizados se verificou um aumento significativo do teor de sal nas formulações desenvolvidas com as AMN, foi, desta forma, objetivo deste estudo desenvolver novamente as formulações iniciais mas sem que se adicionasse sal, ou seja, à receita tradicional retirou-se o sal, com a finalidade

de perceber o comportamento das características destas formulações em que não houve qualquer adição de sal.

#### 4.3.1. PERFIL NUTRICIONAL

Na **Tabela 4.3.1.** encontram-se representados os valores médios da composição nutricional obtidos para as diferentes formulações de pão desenvolvidas com água de consumo humano (BAC), com água mineral natural engarrafada (BAE) e com água mineral natural termal (BAT) com e sem adição de sal.

**Tabela 4.3.1.** Composição nutricional das diferentes formulações de pão desenvolvidas com e sem sal (g/100 g PF).

	BAC	BAE-ss	BAE	BAT-ss	BAT
<b>Humidade</b>	26,51 ± 1,54 <sup>a</sup>	30,34 ± 2,85 <sup>a</sup>	30,64 ± 2,26 <sup>a</sup>	31,54 ± 0,68 <sup>a</sup>	29,07 ± 2,66 <sup>a</sup>
<b>Sal</b>	1,028 ± 0,004 <sup>c</sup>	0,194 ± 0,014 <sup>a</sup>	1,155 ± 0,004 <sup>c</sup>	0,246 ± 0,001 <sup>b</sup>	1,123 ± 0,001 <sup>d</sup>
<b>Proteínas</b>	7,74 ± 0,14 <sup>a</sup>	7,42 ± 0,37 <sup>a</sup>	6,96 ± 0,18 <sup>a</sup>	7,27 ± 0,26 <sup>a</sup>	7,60 ± 0,50 <sup>a</sup>
<b>Lípidos</b>	1,51 ± 0,04 <sup>a</sup>	1,47 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,44 ± 0,12 <sup>a</sup>	1,49 ± 0,10 <sup>a</sup>	1,90 ± 0,08 <sup>b</sup>
<b>Cinzas</b>	1,97 ± 0,16 <sup>cd</sup>	0,71 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,80 ± 0,11 <sup>c</sup>	1,07 ± 0,12 <sup>b</sup>	2,10 ± 0,04 <sup>d</sup>
<b>Hidratos de carbono*</b>	62,27 ± 1,57 <sup>a</sup>	60,08 ± 2,44 <sup>a</sup>	59,17 ± 2,00 <sup>a</sup>	58,63 ± 0,48 <sup>a</sup>	59,33 ± 2,23 <sup>a</sup>
<b>Açúcares (maltose)</b>	5,08 ± 0,39 <sup>b</sup>	2,25 ± 0,32 <sup>a</sup>	5,37 ± 0,27 <sup>b</sup>	5,17 ± 0,01 <sup>b</sup>	6,22 ± 0,13 <sup>c</sup>
<b>Valor energético**</b>	293,64 ± 6,55 <sup>a</sup>	283,15 ± 11,48 <sup>a</sup>	277,44 ± 9,12 <sup>a</sup>	277,00 ± 2,24 <sup>a</sup>	284,80 ± 10,38 <sup>a</sup>

Os valores representam média ± desvio padrão em triplicado. PF: Peso Fresco. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam amostras com diferença estatística significativa em um nível de confiança de 95 % ( $p < 0.05$ ). \* Calculado por diferença. \*\* Kcal/100 g peso fresco. BAC: biju água consumo; BAE-ss: Biju água engarrafada sem adição de sal; BAE: Biju água engarrafada; BAT-ss: biju água termal sem adição de sal; BAT: biju água termal.

Comparando as formulações BAT com BAT sem sal (BAT-ss) e BAE com BAE sem sal (BAE-ss), não foram observadas diferenças estatisticamente significativas em termos de humidade, teor de proteínas, hidratos de carbono e valor energético. Em sentido contrário, verificaram-se diferenças significativas entre as formulações acima referidas, no que diz

respeito aos teores de cinzas, maltose e sal, apresentando as formulações com sal os maiores teores.

#### 4.3.2. pH E ATIVIDADE DE ÁGUA ( $a_w$ )

Os valores de pH e atividade de água ( $a_w$ ) das formulações de pão desenvolvidas neste estudo BAC, BAE-ss, BAE, BAT-ss e BAT encontram-se representados na **Tabela 4.3.2.**

**Tabela 4.3.2.** pH e atividade de água ( $a_w$ ) das diferentes formulações desenvolvidas com e sem sal.

	BAC	BAE-ss	BAE	BAT-ss	BAT
<b>pH</b>	5,69 ± 0,05 <sup>a</sup>	6,45 ± 0,06 <sup>d</sup>	6,12 ± 0,14 <sup>b</sup>	6,34 ± 0,02 <sup>cd</sup>	6,18 ± 0,02 <sup>bc</sup>
<b>aw</b>	0,88 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,89 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,90 ± 0,03 <sup>a</sup>	0,89 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,87 ± 0,01 <sup>a</sup>

Os valores representam média ± desvio padrão em triplicado. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam amostras com diferença estatística significativa em um nível de confiança de 95 % ( $p < 0.05$ ). BAC: biju água consumo; BAE-ss: Biju água engarrafada sem adição de sal; BAE: Biju água engarrafada; BAT-ss: biju água termal sem adição de sal; BAT: biju água termal.

Pela análise da tabela, verificou-se que não houve diferenças estatisticamente significativas entre as formulações em termos de atividade de água, no entanto, as amostras sem sal (BAE-ss e BAT-ss) apresentaram valores de pH superiores às formulações BAE e BAT respectivamente, sendo que as diferenças apenas foram significativas entre as formulações BAE e BAE-ss.

#### 4.3.3. ÁCIDOS GORDOS

Na **Tabela 4.3.3.** estão representados os resultados obtidos para o perfil individual de ácidos gordos e total de ácidos gordos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e polinsaturados (AGPI) das formulações BAC, BAE-ss, BAE, BAT-ss e BAT.

**Tabela 4.3.3.** Perfil individual de ácidos gordos e total de ácidos gordos saturados (AGS), monoinsaturados (AGMI) e polinsaturados (AGPI) das diferentes formulações de pão desenvolvidas com e sem sal (g/100 g PF).

	BAC	BAE-ss	BAE	BAT-ss	BAT
C14:0	0,0016 ± 0,0001 <sup>ab</sup>	0,0020 ± 0,0001 <sup>b</sup>	0,0019 ± 0,0002 <sup>ab</sup>	0,0015 ± 0,0000 <sup>a</sup>	0,0026 ± 0,0003 <sup>c</sup>
C16:0	0,2065 ± 0,0101 <sup>a</sup>	0,2257 ± 0,0120 <sup>a</sup>	0,2105 ± 0,0024 <sup>a</sup>	0,1958 ± 0,0029 <sup>a</sup>	0,2905 ± 0,0225 <sup>b</sup>
C16:1	0,0050 ± 0,0002 <sup>a</sup>	0,0062 ± 0,0000 <sup>bc</sup>	0,0057 ± 0,0005 <sup>ab</sup>	0,0051 ± 0,0003 <sup>a</sup>	0,0068 ± 0,0004 <sup>c</sup>
C18:0	0,0660 ± 0,0009 <sup>ab</sup>	0,0623 ± 0,0023 <sup>a</sup>	0,0626 ± 0,0014 <sup>a</sup>	0,0673 ± 0,0012 <sup>b</sup>	0,0797 ± 0,0016 <sup>c</sup>
C18:1n9c	0,4161 ± 0,0139 <sup>b</sup>	0,3821 ± 0,0062 <sup>ab</sup>	0,3743 ± 0,0055 <sup>a</sup>	0,4015 ± 0,0237 <sup>ab</sup>	0,5055 ± 0,0024 <sup>c</sup>
C18:2n6c	0,7159 ± 0,0055 <sup>a</sup>	0,6974 ± 0,0069 <sup>a</sup>	0,6915 ± 0,0058 <sup>a</sup>	0,7172 ± 0,0177 <sup>a</sup>	0,8979 ± 0,0139 <sup>b</sup>
C18:3n3	0,0756 ± 0,0008 <sup>a</sup>	0,0707 ± 0,0024 <sup>a</sup>	0,0692 ± 0,0029 <sup>a</sup>	0,0755 ± 0,0023 <sup>a</sup>	0,0933 ± 0,0031 <sup>b</sup>
C20:0	0,0067 ± 0,0008 <sup>bc</sup>	0,0055 ± 0,0006 <sup>a</sup>	0,0059 ± 0,0001 <sup>ab</sup>	0,0076 ± 0,0001 <sup>c</sup>	0,0077 ± 0,0001 <sup>c</sup>
C20:1	0,0062 ± 0,0007 <sup>a</sup>	0,0055 ± 0,0004 <sup>a</sup>	0,0055 ± 0,0005 <sup>a</sup>	0,0067 ± 0,0003 <sup>a</sup>	0,0069 ± 0,0008 <sup>a</sup>
C22:0	0,0116 ± 0,0007 <sup>d</sup>	0,0076 ± 0,0009 <sup>a</sup>	0,0079 ± 0,0002 <sup>ab</sup>	0,0105 ± 0,0010 <sup>cd</sup>	0,0095 ± 0,0006 <sup>bc</sup>
<b>AGS</b>	0,2925 ± 0,0091 <sup>a</sup>	0,3031 ± 0,0096 <sup>a</sup>	0,2888 ± 0,0025 <sup>a</sup>	0,2827 ± 0,0048 <sup>a</sup>	0,3901 ± 0,0208 <sup>b</sup>
<b>AGMI</b>	0,4274 ± 0,0145 <sup>b</sup>	0,3939 ± 0,0065 <sup>ab</sup>	0,3856 ± 0,0057 <sup>a</sup>	0,4133 ± 0,0238 <sup>ab</sup>	0,5192 ± 0,0028 <sup>c</sup>
<b>AGPI</b>	0,7915 ± 0,0062 <sup>a</sup>	0,7680 ± 0,0077 <sup>a</sup>	0,7607 ± 0,0073 <sup>a</sup>	0,7927 ± 0,0199 <sup>a</sup>	0,9912 ± 0,0163 <sup>b</sup>

Os valores representam média ± desvio padrão em triplicado PF: Peso fresco. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam amostras com diferença estatística significativa em um nível de confiança de 95 % ( $p < 0.05$ ). BAC: biju água consumo; BAE-ss: Biju água engarrafada sem adição de sal; BAE: Biju água engarrafada; BAT-ss: biju água termal sem adição de sal; BAT: biju água termal.

Comparando as formulações BAE e BAE-ss, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas na concentração de ácidos gordos individuais nem nas concentrações totais de AGS, AGMI e AGPI. Em sentido aposto, as formulações BAT e BAT-ss apresentaram concentrações significativamente diferentes entre si, nos teores totais de AGS, AGMI e AGPI (0,3901 e 0,2827 g/100g, 0,5192 e 0,4133 g/100g, 0,9912 e 0,7927 g/100g, respetivamente), com a formulação sem adição de sal a apresentar os valores mais baixos.

#### 4.3.4. MINERAIS

A concentração total em minerais determinados nas diferentes nas formulações de pão desenvolvidas encontram-se representados na **Tabela 4.3.4.**

**Tabela 4.3.4.** Composição em microminerais (Fe, Zn, Cu, Mn e Se), em macrominerais (K, Na e Mg) e metais (Al, Cd, Ni, Cr e Pb) presentes nas diferentes formulações de pão desenvolvidas com e sem sal (mg/100 g PF).

	<b>BAC</b>	<b>BAE-ss</b>	<b>BAE</b>	<b>BAT-ss</b>	<b>BAT</b>
<b>[K]</b>	104,8243 ± 0,0755 <sup>a</sup>	115,9676 ± 0,9834 <sup>c</sup>	128,1134 ± 0,5628 <sup>d</sup>	112,2199 ± 0,4634 <sup>b</sup>	117,2335 ± 0,9644 <sup>c</sup>
<b>[Na]</b>	404,4938 ± 1,7082 <sup>c</sup>	76,2417 ± 5,3351 <sup>a</sup>	454,4748 ± 1,7389 <sup>e</sup>	96,8620 ± 0,2139 <sup>b</sup>	441,6273 ± 0,4821 <sup>d</sup>
<b>[Mg]</b>	26,0882 ± 0,1755 <sup>a</sup>	29,4796 ± 0,0385 <sup>b</sup>	30,8296 ± 0,0298 <sup>c</sup>	31,6088 ± 0,0694 <sup>e</sup>	31,2446 ± 0,1262 <sup>d</sup>
<b>[Fe]</b>	5,6779 ± 0,0581 <sup>c</sup>	3,5451 ± 0,1872 <sup>a</sup>	5,8061 ± 0,2196 <sup>cd</sup>	4,1309 ± 0,1090 <sup>b</sup>	6,1239 ± 0,0442 <sup>d</sup>
<b>[Zn]</b>	0,7048 ± 0,0065 <sup>b</sup>	0,6719 ± 0,0165 <sup>a</sup>	0,6739 ± 0,0027 <sup>a</sup>	1,2824 ± 0,0147 <sup>d</sup>	0,7838 ± 0,0020 <sup>c</sup>
<b>[As]</b>	0,0021 ± 0,0001 <sup>b</sup>	0,0018 ± 0,0001 <sup>ab</sup>	0,0026 ± 0,0002 <sup>c</sup>	0,0014 ± 0,0002 <sup>a</sup>	0,0058 ± 0,0002 <sup>d</sup>
<b>[Cr]</b>	0,0129 ± 0,0004 <sup>c</sup>	0,0199 ± 0,0006 <sup>d</sup>	0,0102 ± 0,0008 <sup>b</sup>	0,0078 ± 0,0015 <sup>a</sup>	0,0348 ± 0,0005 <sup>e</sup>
<b>[Cu]</b>	0,0769 ± 0,0013 <sup>a</sup>	0,0949 ± 0,0004 <sup>b</sup>	0,1655 ± 0,0024 <sup>c</sup>	0,0997 ± 0,0005 <sup>c</sup>	0,1544 ± 0,0015 <sup>d</sup>
<b>[Mn]</b>	0,1571 ± 0,0140 <sup>a</sup>	0,5495 ± 0,0010 <sup>c</sup>	0,4664 ± 0,0283 <sup>b</sup>	0,5348 ± 0,0077 <sup>c</sup>	0,4616 ± 0,0070 <sup>b</sup>
<b>[Ni]</b>	0,0543 ± 0,0024 <sup>a</sup>	0,2146 ± 0,0149 <sup>c</sup>	0,1181 ± 0,0013 <sup>b</sup>	0,1101 ± 0,0012 <sup>b</sup>	0,2001 ± 0,0026 <sup>c</sup>
<b>[Al]</b>	0,2651 ± 0,0163 <sup>a</sup>	0,2468 ± 0,0257 <sup>a</sup>	0,2349 ± 0,0023 <sup>a</sup>	0,3119 ± 0,0057 <sup>b</sup>	0,3104 ± 0,0006 <sup>b</sup>
<b>[Pb]</b>	ND	0,0263 ± 0,0001 <sup>d</sup>	0,0011 ± 0,0000 <sup>a</sup>	0,0047 ± 0,0005 <sup>b</sup>	0,0125 ± 0,0005 <sup>c</sup>
<b>[Cd]</b>	ND	ND	ND	ND	ND
<b>[Se]</b>	ND	ND	ND	ND	ND
<b>Total</b>	<b>543,1658 ± 1,6057 <sup>c</sup></b>	<b>227,9517 ± 4,4151 <sup>a</sup></b>	<b>621,4393 ± 1,2142 <sup>e</sup></b>	<b>248,1370 ± 0,6254 <sup>b</sup></b>	<b>599,4273 ± 0,6431 <sup>d</sup></b>

Os valores representam média ± desvio padrão em triplicado. PF: Peso Fresco. ND: não detetado. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam amostras com diferença estatística significativa em um nível de confiança de 95 % ( $p < 0.05$ ). BAC: biju água consumo; BAE-ss: Biju água engarrafada sem adição de sal; BAE: Biju água engarrafada; BAT-ss: biju água termal sem adição de sal; BAT: biju água termal.

Pela análise da tabela, foi possível observar as formulações de BAE e BAT apresentaram valores significativamente de minerais totais superiores quando comparadas com a BAE-ss e BAT-ss, respetivamente. O valor obtido para o BAE foi de 621,4393 mg/100 g e para o BAE-ss de 227,9517 mg/100 g, enquanto o BAT apresentou um teor de 599,4273 mg/100 g e o BAT-ss um teor de 248,1370 mg/100 g. Esta discrepância de concentrações no total de minerais entre as formulações com e sem adição de sal parece estar diretamente relacionada com os menores teores Na nas formulações sem adição de sal, pois a concentração de Na variou entre 76,2417 e 96,8620 mg/100 g (BAE-ss e BAT-ss, respetivamente), enquanto as formulações com sal BAE (454,4748 mg/100 g) e BAT (441,6273 mg/100 g) apresentaram valores significativamente superiores de Na.

Outro aspeto relevante neste estudo, é a possibilidade de utilizar a alegação nutricional «sem adição de sódio/sal» nas formulações sem sal, uma vez que esta é definida como: *o produto não contiver sódio/sal adicionado nem qualquer outro ingrediente que contenha sódio/sal adicionado e o produto não contiver mais de 0,12 g de sódio, ou o valor equivalente de sal, por 100 g ou por 100 ml* (Regulamento (EU) nº 1047/2012 e Regulamento (CE) nº 1924/2006). Neste sentido, atendendo ao facto de ambas as formulações sem adição de sal apresentarem valores de Na inferiores a 0,12 g/100g (BAE-ss: 0,076 g/100g e BAT-ss: 0,096 g/100g) esta premissa é cumprida.

#### 4.3.5. TEXTURA

Na **Tabela 4.3.5.** encontram-se os resultados obtidos relativamente aos parâmetros da textura diferentes nas formulações de pão desenvolvidas BAC, BAE-ss, BAE, BAT-ss e BAT.

**Tabela 4.3.5.** Parâmetros de textura das diferentes formulações de pão desenvolvidas com e sem sal.

	BAC	BAE-ss	BAE	BAT-ss	BAT
<b>Dureza (g)</b>	11701,2 ± 171,4 <sup>b</sup>	11847,9 <sub>b</sub> ± 299,1	8068,3 ± 822,3 <sup>a</sup>	8269,1 ± 1023,4 <sup>a</sup>	11624,3 ± 1187,8 <sup>b</sup>
<b>Elasticidade (%)</b>	0,592 ± 0,012 <sup>ab</sup>	0,549 ± 0,024 <sup>a</sup>	0,712 ± 0,062 <sup>cd</sup>	0,676 ± 0,036 <sup>bc</sup>	0,788 ± 0,044 <sup>d</sup>
<b>Coabilidade (%)</b>	0,386 ± 0,016 <sup>a</sup>	0,325 ± 0,011 <sup>a</sup>	0,518 ± 0,056 <sup>b</sup>	0,547 ± 0,029 <sup>b</sup>	0,654 ± 0,014 <sup>c</sup>
<b>Gomosidade (%)</b>	4522,9 ± 252,3 <sup>b</sup>	3957,4 ± 334,6 <sup>b</sup>	4273,0 ± 52,6 <sup>b</sup>	2480,6 ± 143,1 <sup>a</sup>	6475,3 ± 210,3 <sup>c</sup>
<b>Mastigabilidade (%)</b>	2706,1 ± 161,1 <sup>a</sup>	2889,9 ± 218,4 <sup>ab</sup>	3084,4 ± 185,0 <sup>ab</sup>	3577,5 ± 206,9 <sup>bc</sup>	4386,6 ± 589,6 <sup>c</sup>
<b>Resiliência (%)</b>	0,138 ± 0,009 <sup>a</sup>	0,165 ± 0,011 <sup>b</sup>	0,171 ± 0,004 <sup>b</sup>	0,163 ± 0,004 <sup>b</sup>	0,235 ± 0,006 <sup>c</sup>

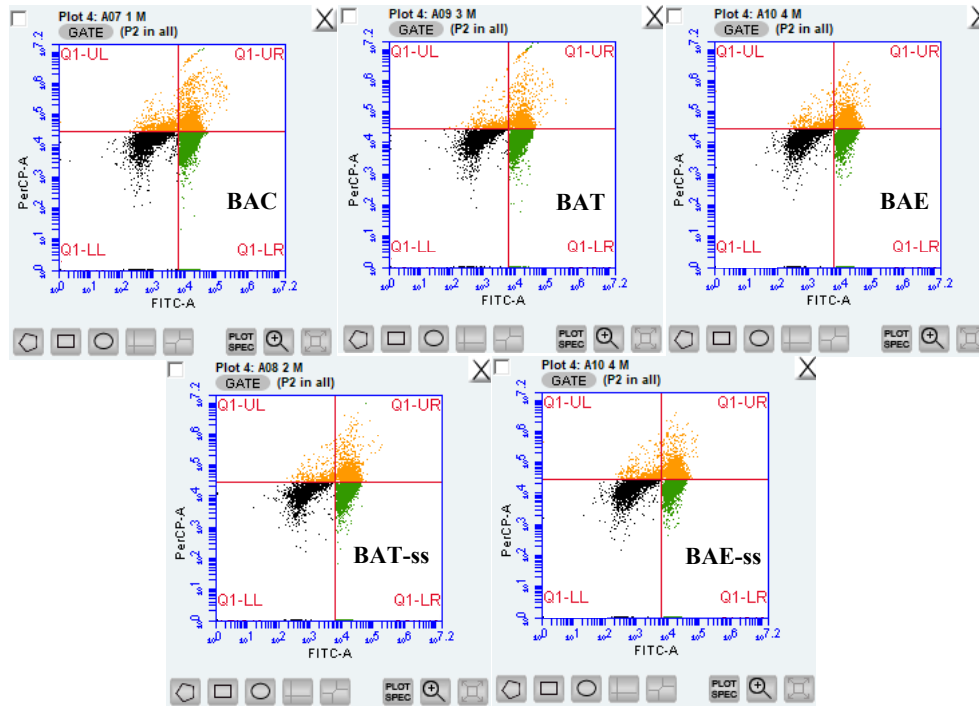
Os valores representam média ± desvio padrão em triplicado. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, indicam amostras com diferença estatística significativa em um nível de confiança de 95 % ( $p < 0.05$ ). BAC: biju água consumo; BAE-ss: Biju água engarrafada sem adição de sal; BAE: Biju água engarrafada; BAT-ss: biju água termal sem adição de sal; BAT: biju água termal.

Nas formulações BAE e BAE-ss verificaram-se diferenças significativas nos parâmetros dureza, elasticidade e coabilidade, sendo que no caso da dureza o BAE apresentou um valor superior (11847,9 g). Em relação às formulações BAT e BAT-ss, esta última apresentou valores significativamente inferiores para os parâmetros dureza (8269,1 g),

elasticidade (0,676 %), coesividade (0,547 %), gomosidade (2480,6 %) e resiliência (0,163 %).

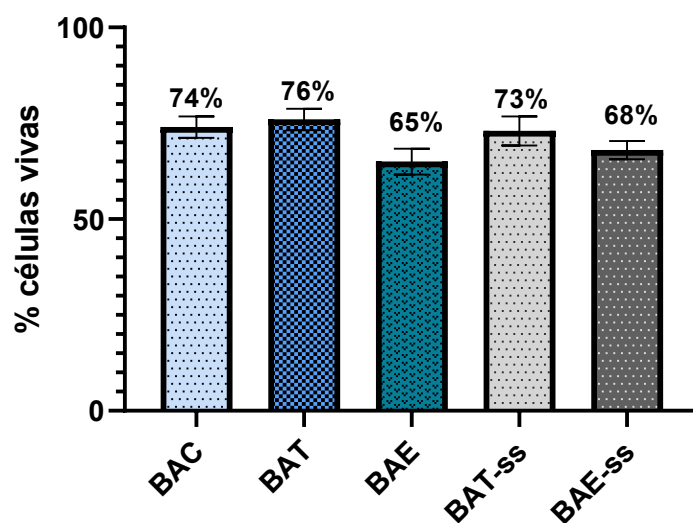
#### **4.4. AVALIAÇÃO DO EFEITO DAS AMN (TERMAL E ENGARRAFADA) NA VIABILIDADE DA LEVEDURA *S. CEREVISIAE* POR CITOMETRIA DE FLUXO**

O efeito das AMN (termal e engarrafada), na viabilidade da levedura *S. cerevisiae* foi avaliado através da técnica de citometria de fluxo. Neste estudo, diferentes tipos de massa de pão desenvolvidas com ACH, AMN termal ou AMN engarrafada, com ou sem adição de sal, foram analisadas. Tendo em conta as características físico-químicas próprias de cada água, especulou-se acerca da sua influência na capacidade de fermentação de *S. cerevisiae* aquando da levedação das massas de pão estudadas. Deste modo, e depois de terminado o processo de fermentação, uma porção de cada tipo de massa foi processada em água peptonada tamponada, sendo de seguida recolhida uma amostra da solução obtida para posterior análise no citómetro de fluxo. Para se proceder à análise da viabilidade de células de *S. cerevisiae* nos diferentes tipo de massa, aquelas foram marcadas com dois compostos que emitem fluorescência, nomeadamente o laranja de tiazole, que marca todas as células, e o iodeto de propídio, que marca apenas as células mortas ou danificadas.



**Figura 4.4.1.** Resultados de citometria de fluxo obtidos para a análise da viabilidade de *S. cerevisiae* após o processo de fermentação BAC - massa com água de consumo humano (ACH); BAT - massa com AMN termal; BAE - massa com AMN engarrafada; BAT-ss - massa com AMN termal sem adição de sal; BAE-ss - massa com AMN engarrafada sem adição de sal. As células de *S. cerevisiae* mortas ou danificadas estão marcadas a laranja e as células de *S. cerevisiae* viáveis estão marcadas a verde.

Depois de analisados os gráficos obtidos por citometria de fluxo, onde foram analisadas as amostras dos diferentes tipos de massas de pão, verificou-se que a viabilidade das células de *S. cerevisiae*, isto é, o número de células vivas, foi semelhante nos cinco tipos de massa de pão estudadas (**Fig. 4.4.1 e 4.4.2**). Na massa de pão produzida com ACH, 74% das células de *S. cerevisiae* encontravam-se viáveis (**Fig. 4.4.2**); já na massa de pão produzida com AMN termal e AMN termal sem adição de sal, 76% e 73% das células de *S. cerevisiae* estavam vivas, respectivamente (**Fig. 4.4.2**). Finalmente, na massa de pão produzida com AMN engarrafada com e sem adição de sal, observou-se que 65% e 68% das células de *S. cerevisiae* se encontravam vivas, respectivamente (**Fig. 4.4.2**).



**Figura 4.4.2.** Efeito das AMN termal e engarrafada, na viabilidade de *S. cerevisiae* durante o processo de fermentação de diferentes massas de pão. Legenda: BAC - massa com água de consumo humano (ACH); BAT - massa com AMN termal; BAE - massa com AMN engarrafada; BAT-ss - massa com AMN termal sem adição de sal; BAE-ss - massa com AMN engarrafada sem adição de sal.

Normalmente, a água usada na produção de pão é ACH. Neste estudo, a ACH usada para a produção de BAC é proveniente do sistema municipal de abastecimento de Chaves, apresentando algumas características semelhantes às AMN usadas para a produção de BAT e BAE. Por exemplo, os valores de pH determinados para as AMN termal e engarrafadas estudadas encontram-se entre valores de 6,80 e 6,10 (**Tabela 1.3.1.**). Já o valor de pH para a ACH usada foi de 6,92 (valor obtido no Laboratório de Caracterização de Águas – LCA, AquaValor, dados não apresentados). Segundo estudos realizados por Peña *et al.*, (2015), para *S. cerevisiae* atingir o seu crescimento ótimo, o pH do meio onde se encontra deverá estar entre 4 e 7, concluindo-se que neste caso o pH das diferentes águas usadas não terá influenciado o processo de fermentação *S. cerevisiae*, tendo em conta que não há diferenças significativas na viabilidade desta levedura nas diferentes formulações de pão desenvolvidas (**Fig. 4.4.2.**).

No que diz respeito à composição química das diferentes matrizes utilizadas neste estudo, a concentração de nitratos é bastante reduzida em todas elas, sendo inferior a 2,0 mg/L na ACH, inferior a 0,30 mg/L na AMN termal, e inferior a 0,25 mg/L na AMN engarrafada (**Tabela 4.1.1.**). Tendo em conta que a presença de nitratos como fonte de azoto é essencial para o crescimento de *S. cerevisiae*, Mendes-Ferreira *et al.*, (2004) estudaram o efeito de concentrações crescentes deste composto (16,5 a 805 mg/L) na multiplicação daquela levedura, concluindo que concentrações mais elevadas de azoto levam a produções mais

altas de biomassa. Contudo, o mesmo não se verificou neste estudo provavelmente devido às mínimas diferenças observadas entre as concentrações de nitratos presentes nas águas testadas, bem como aos reduzidos níveis das mesmas. Já as concentrações de K e Na presentes nas águas testadas apresentam algumas diferenças quando comparadas entre si. No caso do K, este está presente nas concentrações de 56 e 28 mg/L na AMN termal e engarrafada, respetivamente, sendo indetetável na ACH. Relativamente ao Na, a ACH apresenta uma concentração de 2,8 mg/L, a AMN termal de 511 mg/L, e a AMN engarrafada de 577 mg/L. Num estudo realizado por Casey *et al.*, (2013), verificou-se que a presença de K e Na no meio de cultura resultou na diminuição do crescimento de *S. cerevisiae*. No entanto, e no que diz respeito aos tipos de pão desenvolvidos neste trabalho, parece que as diferenças observadas nas composições químicas das águas usadas não tiveram efeito na viabilidade de *S. cerevisiae* (**Fig. 4.4.2**).



## 5. CONCLUSÃO

Esta dissertação de mestrado teve como objetivo principal desenvolver novas formulações de produtos de panificação utilizando água mineral natural termal (AMN termal) e engarrafada (AMN engarrafada) em alternativa à água de consumo humano (ACH), procurando-se desta forma avaliar o potencial das diferentes águas nas propriedades nutricionais e físico-químicas do pão.

A utilização das AMN termal e engarrafada como ingrediente alimentar permitiu desenvolver formulações de pão nutricionalmente equilibradas, mantendo intactas as propriedades texturais do mesmo. Neste sentido, destaca-se uma ligeira diminuição do valor energético do produto final nas formulações de pão biju com água mineral natural termal (BAT) e engarrafada (BAE) bem como um incremento significativo no que diz respeito ao teor total de minerais e parâmetros de textura (elasticidade, coesividade e resiliência) de ambas as formulações comparativamente à formulação tradicional (BAC). Além disso, as AMN termal e engarrafada, demonstraram não afetar a viabilidade de *S. cerevisiae* durante o processo fermentativo da massa de pão, sendo deste modo uma alternativa à ACH no que diz respeito à produção de pão, sem que o passo essencial de fermentação da massa seja afetado. No entanto, e uma vez que o estudo de viabilidade apenas foi efetuado no final do processo fermentativo, futuramente será pertinente para o setor da panificação, avaliar a influência das AMN termal e engarrafada nos vários estágios de desenvolvimento da *S. cerevisiae* durante todo período do processo fermentativo.

Outro aspeto igualmente relevante neste estudo, que resulta da não adição de sal durante o fabrico de pão (pão biju com água mineral natural termal e engarrafada sem adição de sal (BAT-ss e BAE-ss, respetivamente), é o facto de a retirada deste ingrediente não afetar a qualidade do produto final, sendo assim, uma opção mais saudável para o consumidor. Este é um ponto fulcral e que servirá certamente de base para novos estudos, que passarão pela retirada total ou parcial de sal, podendo este ser compensado pela natureza das AMN usadas neste estudo (sódicas), as quais dão a perceção de um sabor salgado ao produto final. Posteriormente, por forma a avaliar a aceitabilidade do produto por parte do consumidor será necessária uma avaliação sensorial das formulações desenvolvidas, recorrendo para isso a um painel de provadores devidamente treinado.

Por fim, podemos concluir que com a utilização de recursos endógenos como as AMN termal e engarrafada, que na atualidade tem grande relevância no mercado português e até mundial, podem ser a base para o desenvolvimento de produtos inovadores e de valor acrescentado como o pão.

## 6. PUBLICAÇÕES

### COMUNICAÇÃO ORAL

**FERREIRA, F.**, Ueda, J. M., Guimarães, R., Heleno, S. A., Carochó, M., Lemos, A., Pintado, M., Alves, M. J., & Barros, L. A breakthrough on Bread Formulation: Natural mineral Water as a Novel Functional Ingredient. **TRANSCOLAB SUMMIT: Trends in grain-based foods**. 23rd to the 25th of March **2022**. Sustainable ingredients, processes and products.



## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBASPOUR**, N., Hurrell, R., & Kelishadi, R. **2014**. Review on iron and its importance for human health. *Journal of Research in Medical Sciences*, 19 (2), pp. 164-174.
- ACCIAIUOLI**, L. M. **1941**. Esboço histórico das águas minerais de Portugal. Ministério da Economia. Direcção Geral de Minas e Serviços Geológicos, ed. lit. Lisboa.
- ACINAM** - Associação Catarinense das Indústrias de Água Mineral. **2016**. Quais os sais minerais presentes na água e quais os benefícios para a saúde. Disponível em <http://acinam.com.br/minerais-agua/>. Consultado a 5 de outubro de 2021.
- ALBERTINI**, M. C., Dachà, M., Teodori, L., & Conti, M. E. **2007**. Drinking mineral waters: Biochemical effects and health implications - the state-of-the-art. *International Journal of Environment and Health*, 1 (1), 153-169.
- ALDERMAN**, M. H. **2000**. Salt, blood pressure, and human health. *Hypertension*, 36 (5), pp. 890 - 893. doi: 10.1161/01.HYP.36.5.890.
- ALIMENTARIUS**, C. **(1994)**. Joint Fao/Who Food Standards Programme. Codex Committee On Methods Of Analysis And Sampling: 19th Session, Budapest, Hungary, Criteria For Evaluating Acceptable Methods For Codex Purposes.
- ALTAMIRANO-FORTOUL**, R., & Rosell, C. M. **2011**. Physico-chemical changes in reads from bake off technologies during storage. *LWT - Food Science and Technology*, 44, 3, 631-636, ISSN 0023-6438. doi: 10.1016/j.lwt.2010.04.018.
- AOAC**. **2016**. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemist International, 17<sup>a</sup> edição, Washington DC.
- APIAM**. **2017**. Águas Minerais Naturais e Águas de Nascente. *Livro Branco*.
- ASKWITH**, C., & Kaplan, J. **1998**. Iron and copper transport in yeast and its relevance to human disease. *Trends in Biochemical Sciences*, 23, pp. 135-138. doi: 10.1016/s0968-0004(98)01192-x.

- ATP - ASSOCIAÇÃO DAS TERMAS DE PORTUGAL.** Estâncias Termais. Consultado a 20 de outubro de 2021. Disponível em: <http://www.termasdeportugal.pt/estanciastermais/>
- ATWELL, W. A. & Finnie, S. 2016.** Chapter 5 - Wheat and Flour Testing. *Wheat Flour*. pp. 1-16. doi: [10.1016/B978-1-891127-90-8.50005-X](https://doi.org/10.1016/B978-1-891127-90-8.50005-X)
- BARROS, L., Oliveira, S., Carvalho, A. M., & Ferreira, I. C. F. R. 2010.** *In vitro* antioxidant properties and characterization in nutrients and phytochemicals of six medicinal plants from the portuguese folk medicine. *Industrial Crops Products*, 32, 572-579.
- BARROS, L., Venturini, B. A., Baptista, P., Estevinho, L. M., & Ferreira, I. C. F. R. 2008.** Chemical Composition and Biological Properties of Portuguese Wild Mushrooms: A Comprehensive Study. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 56, 10, 3856–3862. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf8003114>
- BAWA, M., Songsermpong, S., Kaewtapee, C., & Chanput, W. 2020.** Nutritional, sensory, and texture quality of bread and cookie enriched with house cricket (*Acheta domesticus*) powder. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(8), e14601.
- BELITZ, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. 2009.** Cereals and Cereal Products. *Food Chemistry*, pp. 673-746. DOI: [10.1007/978-3-540-69934-7\\_16](https://doi.org/10.1007/978-3-540-69934-7_16)
- BELZ, M. C. E., Ryen, L. A. M. K., & Arendt, E. K. 2012.** The Impact of Salt Reduction in Bread: A Review. *Food Science and Nutrition* 52, 514–524. DOI: [10.1080/10408398.2010.502265](https://doi.org/10.1080/10408398.2010.502265)
- BENESSERE.** Acqua minerali. Disponível em: [www.benessere.com/terme/acqua/index.html](http://www.benessere.com/terme/acqua/index.html). Consultado em maio de 2022.
- BERTONI, M., Olivieri, F., Manghetti, M., Boccolini, E., Bellomini, M. G., Blandizzi, C., Bonino, F., & Del Tacca, M. 2002.** Effects of a bicarbonate-alkaline mineral water on gastric functions and functional dyspepsia: a preclinical and clinical study.

*Pharmacology Research*. Dec; 46(6), 525-31. DOI: 10.1016/s1043661802002323.  
consultado a 20 de outubro de 2021.

**CALAVERAS, J. S. 2004.** Nuevo tratado de panificación y bollería. 2ª ed. A. Madrid Vicente: Mundi-Prensa. ISBN: 84-89922-91-8.

**CALVEL, R., Wirtz, R. L., & MacGuire, J. J. 2001.** The Taste of Bread: A translation of Le Goût du Pain, comment le préserver, comment le retrouver. Book, Springer Science. ISBN 13: 9780834216464.

**CAROCHO, M., Barreira, J. C. M., Barros, L., Bento, A., Câmara, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. F. R. 2015.** Traditional pastry with chestnut flowers as natural ingredients: An approach of the effects on nutritional value and chemical composition. *Journal of Food Composition and Analysis*, 44, pp. 93 - 101. DOI: 10.1016/j.jfca.2015.08.003

**CAROCHO, M., Morales, P. Ciudad-Mulero, M., Fernández-Ruiz, V., Ferreira, E., Heleno, S., Rodrigues, P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. 2020.** Comparison of different bread types: Chemical and physical parameters, *Food Chemistry*, 310, 125954, ISSN 0308-8146, DOI: [10.1016/j.foodchem.2019.125954](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125954).

**CARRASCOSA, A. V., & Cornejo, I. 1989.** Aspectos fisicoquímicos del curado de jamón serrano y su influencia sobre el desarrollo microbiano (Revisión). *Alimentaria*, 195, p. 27-33.

**CARVALHO, C. F. 2013.** Efeitos neuropsicológicos da exposição ao manganês em crianças. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal da Bahia, Instituto de Psicologia, Programa de pós-graduação em psicologia, Salvador.

**CASEY, E., Mosier, N.S., Adamec, J., Stockdale, Z., Ho, N., & Sedlak, M. 2013.** Effect of salts on the Co-fermentation of glucose and xylose by a genetically engineered strain of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnology Biofuels*, 6 (1), 83. DOI: 10.1186/1754-6834-6-83.

**CAUVAIN S. P., & Young L. S. 2007.** Technology of Breadmaking. *Technology of Breadmaking* (2ª ed.). USA, New York: Springer.

- CAUVAIN, S. P., & Young, L. S. 2003.** Water control in baking. *Bread making: improving quality*, 447-466. DOI:10.1533/9781855737129.2.447.
- CHANDRA, M. V., & Shamasundar, B. A. 2015.** Texture Profile Analysis and Functional Properties of Gelatin from the Skin of Three Species of Fresh Water Fish. *International Journal of Food Properties*, 18, 572-584. DOI: 10.1080/10942912.2013.845787.
- CIPRIANO, I. V. 2009.** Pão: Hábitos de consumo e preferências. Trabalho de investigação apresentado à Faculdade de Ciências da Nutrição e alimentação da Universidade do Porto.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (CAC). 2003.** Evaluation of certain food additives and contaminants.FAO/WHO, Codex stan. 230- 2001, Rev, 1-2003, Rome.
- CODEX ALIMENTARIUS, “STANDARD FOR NATURAL MINERAL WATERS, CXS 108-1981** Adopted in 1981. Revised in 1997, 2008. Amended in **2001, 2011, 2019.**
- CONSTANTINO, M., Lampa, E., & Nappi, G. 2006.** Effectiveness of sulphur spa therapy with politzer in the treatment of rhinogenic deafness. *Acta Otorhinolaryngol Italica*, 26 (1): 7-13. PMID: 18383751; PMCID: PMC2639955.
- COZZOLINO, S. M. F. 1997.** Biodisponibilidade de minerais. *Revista de Nutrição*, 10(2), 87–98. DOI: 10.1590/S1415-52731997000200001
- CURRY, J. N., & Yu, A. S. L. 2018.** Magnesium Handling in the Kidney, *Advances in Chronic kidney disease*, 25, 3, 236-243, ISSN 1548-5595. DOI: 10.1053/j.ackd.2018.01.003.
- DATA & TRENDS, EU Food and Drink Industry, 2021.** PDF. Disponível em: <https://www.fooddrinkeurope.eu/wp-content/uploads/2021/11/FoodDrinkEurope-Data-Trends-2021-digital.pdf>

- DAWOOD, A, K. R. 2011.** Determination Of Trace Metals in Locally Bread Samples Collected From Bakeries In Basra City Basrah. *Journal Of Agricultural Sciences*, 24, 363-373. DOI: 10.33762/bagrs.2011.58692
- DECRETO-LEI N° 152/2017 de 7 de dezembro**, Diário da República n.º 235/2017, Série I de 2017-12-07, páginas 6555 - 6576.
- DECRETO-LEI N° 236/98. 1998.** Diário da República n.º 176/1998, Série I-A de 1998-08-01, páginas 3676 - 3722.
- DESPACHO N° 14413/2016 de 29 de novembro**, Diário da República n.º 229/2016, Série II de 2016-11-29, páginas 35409 – 35410.
- DGEG. 2019.** Direção-Geral de Energia e Geologia. Termas em Atividade (Atualizado a 2019- 09-27). Disponível em: <http://www.dgeg.gov.pt/>. Consultado a 5 de novembro de 2021.
- DI MONACO, R., Cavella, S., & Masi. P. 2008.** Predicting the sensory cohesiveness, hardness and springiness of solid foods from instrumental measurements. *Journal of Texture Studies*, 39 (2), 129-149. DOI: 10.1111/j.1745-4603.2008.00134.x
- DIÁRIO DA REPÚBLICA N° 118/1989. (1989).** Série II. <https://dre.pt/application/conteudo/698634>.
- DIÁRIO DA REPÚBLICA N° 56. (2008).** Série II. <https://dre.pt/application/conteudo/746501>.
- DIMUZIO, D.T. 2010.** Bread making: an Artisian’s Perspective. John Wiley & Sons Inc., 111 River Street, Hoboken, Estados Unidos da América, 19.
- DIRETIVA 2009/54/CE** do Parlamento e do Conselho Europeu. 2009 Natural mineral waters and spring water. 18 de junho de **2009**. Jornal oficial da União Europeia 2009. Disponível em: [https://ec.europa.eu/food/safety/labelling-and-nutrition/natural-mineral-waters-and-spring-water\\_pt](https://ec.europa.eu/food/safety/labelling-and-nutrition/natural-mineral-waters-and-spring-water_pt). Consultado a 20 de outubro de 2021.
- DYSHLYUK, L., Babich, O., Prosekov, A., Ivanova, S., Pavsky, V., & Yang, Y. 2017.** *In vivo* study of medical and biological properties of functional bakery products

with the addition of pumpkin flour. *Bioactive carbohydrates and dietary fibre*, 12, 20-24. DOI: 10.1016/j.bcdf.2017.09.001

**EFSA. 2006.** European Food Safety Authority. Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals. Scientific Committee on Food. Scientific Panel on Dietetic Products, *Nutrition and Allergies*. [https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/efsa\\_rep/blobserver\\_assets/ndatolerableuil.pdf](https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/efsa_rep/blobserver_assets/ndatolerableuil.pdf).

**EFSA. 2008.** <https://www.efsa.europa.eu/en/news/efsa-advises-safety-aluminium-food>

**EFSA. 2013.** Scientific opinion in dietary reference values for manganese. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies EFSA Journal, 11, p. 3419

**EFSA. 2015.** Scientific opinion in dietary reference values for magnesium. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. EFSA Journal, 13, 4186.

**EL-SEWEIDY, M. M., Sadik, N. A., & Shaker, O. G. 2011.** Role of sulfurous mineral water and sodium hydrosulfide as potent inhibitors of fibrosis in the heart of diabetic rats. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 506 (1), 48-57. DOI: 10.1016/j.abb.2010.10.014.

**FABER, T. J., Jaishankar, A., & McKinley, G. H. 2017.** Describing the firmness, springiness and rubberiness of food gels using fractional calculus. Part II: Measurements on semi-hard cheese. *Food Hydrocolloids*, 62, 325-339. ISSN 0268-005X. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.06.038.

**FAO/WHO. 1999.** Joint Fao/Who Food Standards Programme. Food And Agriculture Organization of The United Nations/ World Health Organization, 53.

**FAO/WHO. 2007.** Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants: Sixty-Eighth Report Of The Joint Fao/Who Expert Committee On Food Additives [Geneva From 19 To 28 June 2007], World Health Organization.

**FERREIRA, H. F. R. 2019.** Estudo do comportamento das propriedades da massa de pão tipo “Bijou” durante o tempo de armazenamento com diferentes métodos de conservação. Dissertação de Mestrado em Engenharia Alimentar. IPVC-ESTG.

- FEYZI, Y.,** Malekirad, A. A., Fazilati, M., Salavati, H., Habibollahi, S., & Rezaei, M. **2017.** Metals that are important for food safety control of bread product. *Toxicology Letters*, 258, S163-S164. DOI:10.1016/j.toxlet.2016.06.1618.
- FILHA, M. M. S.,** Matos, R.P., & Silva, S. S. **2015.** Macro and micronutrients in determining samples marketed vegetables and breads in Jequié, BA. 6, 68-76, ISSN 2178-0471.
- FSAI. 2009.** Mercury, Lead, Cadmium, Tin and Arsenic In Food. Food Safety Authority of Ireland. *Toxicology Factsheet Series*, 1, 1-13.
- GELLYNCK, X.,** Kühne, B., Bockstaele, F. V., Walle, D. V., & Dewettinck, K. **2009.** Consumer perception of bread quality. *Appetite*, 53: 16–23.
- GHERSETICH, I.,** Brazzini, B., Hercogova, J., & Lotti, T. M. **2001.** Mineral waters: instead of cosmetics or better than cosmetics? *Clinical Dermatology*, 19(4): 478-82. DOI: 10.1016/s0738-081x(01)00186-9.
- INSA - Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge - Centro de Segurança Alimentar e Nutrição. 2006.** Tabela da composição de alimentos. Lisboa. Disponível em: [www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/PesquisaOnline/Paginas/DetailAlimento.aspx?ID=IS429](http://www2.insa.pt/sites/INSA/Portugues/AreasCientificas/AlimentNutricao/AplicacoesOnline/TabelaAlimentos/PesquisaOnline/Paginas/DetailAlimento.aspx?ID=IS429). consultado a 27 de outubro de 2021.
- ISSERLIYSKA, D.,** Karadjov, G., & Angelov, A., **2001.** Mineral composition of Bulgarian wheat bread. *European Food Research and Technology*. 213, 244–245.
- JACOB, H. E. 2007.** Six Thousand Years of Bread: Its Holy and Unholy History. The Country Life Press.
- KASARDA, D. D,** Nimmo, C. C., & Kohler, G. O. **1971.** Proteins and the amino acid composition of wheat fractions. *Pomeranz, Y. Wheat; chemistry and technology*. Proteins and the amino acid composition of wheat fractions, 6, 227-299.

- KOURKOUTA, L., Koukourikos, K., Iliadis, C., Ouzounakis, P., Monios, A., & Tsaloglidou, A. 2017.** Bread and Health. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(11), 821-826.
- LI, C., Luo, J., Zhang, C., & Yu, W. 2020.** Causal relations among starch chain-length distributions, short-term retrogradation and cooked rice texture. *Food Hydrocolloids*, 108, Article 106064. DOI:10.1016/j.foodhyd.2020.106064
- LI, H., Prakash, S., Nicholson, T. M., Fitzgerald, M. A, & Gilbert, R. G. 2016.** Instrumental measurement of cooked rice texture by dynamic rheological testing and its relation to the fine structure of rice starch. *Carbohydrate Polymers*, 146, 253-263. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.03.045.
- MACRAE, R., Robinson, R. K., & Sadler, M. J. 2016.** *Encyclopaedia of food science, food technology and nutrition*. London: Academic Press.
- MAGOMYA, A. M., Yebpella, G. G., Udiba, U. U., Amos, H. S., & Latayo, M. S. 2013.** Potassium Bromate and Heavy Metal Content of Selected Bread Samples Produced in Zaria, Nigeria. *International Journal of Science and Technology*, 2, 232-237
- MARTIN, S., & Griswold, W. (2009).** *Human health effects of heavy metals*. *Environmental Science and Technology* briefs for citizens, 15, 1-6.
- MARTIN, P. 2004.** Controlling the breadmaking process: the role of bubbles in bread. *Cereal Foods World*, 49, 72-75.
- MARTINBIANCO, F., Martins, A. R., Rech, R. Flôres, S.H., & Ayub, M. A. Z. 2013.** Sensory evaluation of natural fermentation breads with innovative starter cultures. *Ciência Rural*, 43, 9, 1701-1706. ISSN 0103-8478. DOI: 10.1590/S0103-84782013000900026.
- MENDES-FERREIRA, A., Mendes-Faia, A., & Leão, C. 2004.** Growth and fermentation patterns of *Saccharomyces cerevisiae* under different ammonium concentrations and its implications in winemaking industry. *Journal of Applied Microbiology*. 97(3):540-5. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2004.02331.x.

- MIGUEL A. S. M.,** Martins-Meyer, T. S., Figueiredo, E. V. C., Lobo, B. W. P., & Dellamora-Ortiz, G. M. **2013.** Enzymes in Bakery: Current and Future Trends. *Food Industry* (Innocenzo Muzzalupo), InTech, 287-321.
- MIRHOSSEINI, H.,** Rashid, N. F. A., Amid, B. T., Cheong, K. W., Kazemi, M., & Zulkurnain, M. **2015.** Effect of partial replacement of corn flour with durian seed flour and pumpkin flour on cooking yield, texture properties, and sensory attributes of gluten free pasta. *LWT-Food science and Technology*, 63(1), 184-190. ISSN 0023-6438. DOI: 10.1016/j.lwt.2015.03.078.
- NRIAGU, J. 2018.** Zinc deficiency in human health. Reference Module in Earth. *Systems and Environmental Sciences*. Osborne, D.R., & Voogt, P. (1986).
- OEC021. 2017.** Laboratórios de águas, efluentes líquidos e amostras sólidas ambientais – âmbito de acreditação. Disponível em: [http://www.ipac.pt/docs/publicdocs/requisitos/OEC021\\_Aguas\\_v20170630.pdf](http://www.ipac.pt/docs/publicdocs/requisitos/OEC021_Aguas_v20170630.pdf), consultado a 5 de maio de 2022.
- OFFREDE, G. P. 2015.** Produção de pão com recurso a pré-fermentos. Desenvolvimento de produtos numa unidade de panificação. Dissertação para obtenção do grau de mestre em Ciências Gastronómicas. Instituto Superior de Gastronomia - Universidade Nova de Lisboa, pág 3-4.
- OZBEK, N., Akman, S. 2016.** Method development for the determination of calcium, copper, magnesium, manganese, iron, potassium, phosphorus and zinc in different types of breads by microwave induced plasma-atomic emission spectrometry. *Food Chemistry*, 200, 245-248. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.01.043
- PADOVANI, R. M., Amaya-Farfán, J., Colugnati, F. A. B., & Domene, S. M. A. 2006.** Dietary reference intakes: application of tables in nutritional studies. *Revista de Nutrição*, 19(6):741-760. DOI: 10.1590/S1415-52732006000600010
- PEÑA, A., Sánchez, N.S., Álvarez, H., Calahorra, & M., Ramírez, J. 2015.** Effects of high medium pH on growth, metabolism and transport in *Saccharomyces cerevisiae*. FEMS yeast research. DOI: 10.1093/femsyr/fou005.

**PEREIRA, S. C. S. 2021.** Gestão de balneários termais: qualidade de vida dos termalistas. Dissertação apresentada ao Instituto Politécnico de Bragança para obtenção do Grau de Mestre em Gestão das Organizações, Ramo de Gestão Pública, Bragança, janeiro de 2021.

**PETRACCIA, L., Liberati, G., Masciullo, S. G., Grassi, M., & Fraioli, A. 2006.** Water, mineral waters and health. *Clinical Nutrition*, 25 (3), 377-385. doi: 10.1016/j.clnu.2005.10.002.

**PIEKARSKI, F. V. B. W. 2009.** Folha de abóbora: Caracterização físicoquímica, mineral e efeito da adição na reologia da massa e na qualidade sensorial de pães contendo fibra alimentar. Retrieved from <http://www.posalim.ufpr.br/Pesquisa/pdf/DissertaFlaviaP.pdf>

**PONTE, J. G. 1971.** Bread. In Pomeranz, Y. Wheat. *Chemistry and Technology*. Vol 3. St. Paul, Minnesota: American Association of cereal Chemists. Cap.13.

**PORTARIA n.º 52/2015. 2015.** Diário da República. 1ª série, N.º 40, 26 de fevereiro de 2015, 1202-1204.

**REGULAMENTO (CE) N.º 1924/2006 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO** de 20 de Dezembro de 2006 relativo às alegações nutricionais e de saúde sobre os alimentos. Jornal Oficial da União Europeia, L. 404/09 – 404/25. <https://eur-lex.europa.eu/legalcontent/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1924&from=GA>. Acesso a 24 de setembro de 2022.

**REGULAMENTO (UE) N.º 1047/2012 DA COMISSÃO**, de 8 de novembro de 2012 que altera o Regulamento (CE) N.º 1924/2006 no que se refere à lista de alegações nutricionais. Jornal Oficial da União Europeia, L. 310/36 – 310/37. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32012R1047&from=DA>. Acesso a 24 de setembro de 2022.

**REGULAMENTO (UE) N.º 1169/2011 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO** de 25 de Outubro de 2011 relativo à prestação de informação aos consumidores sobre os géneros alimentícios, que altera os Regulamentos (CE) n.º 1924/2006 e (CE) n.º 1925/2006 do Parlamento Europeu e do Conselho e revoga

as Directivas 87/250/CEE da Comissão, 90/496/CEE do Conselho, 1999/10/CE da Comissão, 2000/13/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, 2002/67/CE e 2008/5/CE da Comissão e o Regulamento (CE) n.o 608/2004 da Comissão. Jornal Oficial da União Europeia, L. 304/18 – 204/62. <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:304:0018:0063:PT:PDF>

- RÖOLLIN, H. 2011.** Manganese: Environmental pollution and health effects. *Module in Earth Systems and Environmental Science*, 617-629.
- SALAMI, A., Dellepiane, M., Crippa, B., Mora, F., Guastini, L., Jankowska, B., & Mora, R. 2008.** Sulphurous water inhalations in the prophylaxis of recurrent upper respiratory tract infections. *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*, 72(11), 1717-22. DOI: 10.1016/j.ijporl.2008.08.014.
- SANCHO, T. S. 2005.** A propósito de pão. *Nutricias*, 5, 17-19.
- SCHOPPEN, S., Pérez-Granados, A. M., Carbajal, A., Oubiña, P., Sánchez-Muniz, F. J., Gómez-Gerique, J. A., & Vaquero, M. P. 2004.** A sodium-rich carbonated mineral water reduces cardiovascular risk in postmenopausal women. *Journal Nutritional*, 134 (5), 1058-63. DOI: 10.1093/jn/134.5.1058.
- SLUIMER, P. 2005.** Principles of Breadmaking – functionality of raw materials and process steps. *American Association of Cereal Chemists*, St. Paul, Minnesota, p.28-63.
- STEAR, C. A. 1990.** Handbook of breadmaking Technology. England: Elsevier applied Publishers.
- SUN, C., Wang, R., Li, Z., & Zhang, D. 2019.** Dietary magnesium intake and risk of depression. *Journal of Affective Disorders*, 246, 627-632. ISSN 0165-0327, DOI: 10.1016/j.jad.2018.12.114.
- SUN, C., Zhou, X., Hu, Z., Lu, W., Zhao, Y., & Fang, Y. 2021.** Food and salt structure design for salt reducing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, V. 67, 102570, ISSN 1466-8564. DOI: 10.1016/j.ifset.2020.102570.

- TAO, K., Yu, W., Prakash, S., & Gilbert, R. G. 2019.** High-amylose rice: Starch molecular structural features controlling cooked rice texture and preference. *Carbohydrate Polymers*, 219, 251-260. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.05.031
- TAO, K., Yu, W., Prakash, S., & Gilbert, R. G. 2020.** Investigating cooked rice textural properties by instrumental measurements. *Food Science and Human Wellness*, 9 (2),130-135. DOI: 10.1016/j.fshw.2020.02.001.
- TEIXEIRA, F. 2007.** Diaporama de Hidrologia Médica - Diapositivos da Pós-Graduação em Termalismo da Universidade da Beira Interior (UBI).
- TERMAS DE PORTUGAL. 2022.** Disponível em: <https://termasdeportugal.pt/rede-termas/termas-de-chaves>.
- UNDERWOOD, E. (1977).** Trace Elements in Human And Animal Nutrition, Access Online Via Elsevier.
- VITTI, P. 2001.** Pão. In: Biotecnologia industrial. São Paulo: Edgar Blücher, 4v.vol.4, 13, 365-386.
- WANG, X., Bao, Y., Guan, X., & Li, C. 2021.** Effect of whole quinoa flour substitution on the texture and in vitro starch digestibility of wheat bread. *Food Hydrocolloids*, 119, 106840,ISSN 0268-005X. DOI:10.1016/j.foodhyd.2021.106840.
- WOLDETSADIK, D., Llorent-Martínez, E. J., Ortega-Barrales, P. Haile, A., Hailu, H., Madani, N., Warner, N. S., & Fleming, D. E. B. 2020.** Contents of Metal(loid)s in a Traditional Ethiopian Flat Bread (Injera), Dietary Intake, and Health Risk Assessment in Addis Ababa, Ethiopia. *Biological Trace Element Research*, 198, 732–743. Doi: <https://doi.org/10.1007/s12011-020-02099-7>
- YOUNG, L. S. 2012.** Applications of texture analysis to dough and bread. Cauvain, S. P. (Ed.), *Breadmaking: improving quality* (2.ed.) Woodhead Publishing.
- ZIOLA-FRANKOWSKA, A., Karaś, K., Mikołajczak, K., Kurzyca, I., Kowalski, A., & Frankowski, M. 2021.** Identification of metal(loid)s compounds in fresh and pre-

baked bread with evaluation of risk health assessment. *Journal of Cereal Science*,  
97, 103164. ISSN 0733-5210. DOI: 10.1016/j.jcs.2021.103164