



**6º Simpósio  
de Segurança  
Alimentar**

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018

FAURGS • Gramado • RS

## **PRODUÇÃO E AVALIAÇÃO DE PÃES COM BAIXO TEOR DE FENILALANINA**

M. L. Scortegagna<sup>1</sup>, V. R. Oliveira<sup>2</sup>, I. S. Pasini<sup>3</sup>, M. M. da Silva<sup>4</sup>, A. de O. Rios<sup>5</sup>, D. Doneda<sup>6</sup>

1- Bolsista PROBIC PROPESQ/FAPERGS. Aluna de Graduação em Nutrição – Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – CEP: 90035-002 – Porto Alegre – RS – Brasil, Telefone: 55 (51) 3308-5610 – e-mail: [scortegagnamariana@gmail.com](mailto:scortegagnamariana@gmail.com)

2- Docente do Departamento de Nutrição e do Programa de Pós-graduação em Alimentação, Nutrição e Saúde – Faculdade de Medicina – UFRGS – CEP: 90035-002 – Porto Alegre – RS – Brasil, Telefone: 55 (51) 3308-5610 – e-mail: [viviani.ruffo@ufrgs.br](mailto:viviani.ruffo@ufrgs.br)

3- Aluna de Graduação em Nutrição – UFRGS – CEP: 90035-002 – Porto Alegre – RS – Brasil, Telefone: 55 (51) 3308-5610 – e-mail: [isadorapasini2803@gmail.com](mailto:isadorapasini2803@gmail.com)

4- Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) – CEP: 95690-000 – Rolante – RS – Brasil, Telefone: 55 (51) 3547-9635 – e-mail: [medelin.silva@rolante.ifrs.edu.br](mailto:medelin.silva@rolante.ifrs.edu.br)

5- Docente do Departamento de Ciências de Alimentos e do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos (ICTA), UFRGS – CEP: 91501-970 – Porto Alegre – RS – Brasil, Telefone: 55 (51) 3308-7093 – e-mail: [alessandro.rios@ufrgs.br](mailto:alessandro.rios@ufrgs.br)

6- Nutricionista Doutora Laboratório de Técnica Dietética Faculdade de Medicina – UFRGS – CEP: 90035-002 – Porto Alegre – RS – Brasil, Telefone: 55 (51) 3308-5610 – e-mail: [divair@gmail.com](mailto:divair@gmail.com)

**RESUMO** – Os pacientes com fenilcetonúria (PKU) necessitam de uma dieta restrita em fenilalanina (Phe), pois esta causa toxicidade. Considerando a baixa oferta de alimentos específicos para esses pacientes, o trabalho teve como objetivo produzir pães com baixo teor Phe, além de realizar análise química e sensorial dos mesmos. Foram elaboradas cinco formulações de pães com uma base comum na qual foi adicionada mandioca, batata baroa, batata doce, batata inglesa ou batata yacon. Todas as amostras ficaram com baixo teor de Phe, sendo consideradas seguras para pacientes com PKU, além disso, apresentaram qualidades sensoriais desejáveis para o consumo.

**ABSTRACT** – Patients with phenylketonuria (PKU) requires a phenylalanine (Phe) restricted diet as it causes toxicity. Considering the low supply of specific foods for these patients, this work had as objective to produce breads with low Phe content, besides conducting chemical and sensorial analysis of the same ones. Five formulations of bread with a common base were prepared in which manioc, baroa potato, sweet potato, potato and yacon were added. All the samples were low in Phe, being safe for patients with PKU, besides they presented desirable sensory qualities for consumption.

**PALAVRAS-CHAVE:** PKU, alimentos, dieta.

**KEYWORDS:** PKU, food, diet.

### **1. INTRODUÇÃO**

A fenilcetonúria (PKU) é um erro inato do metabolismo (EIM) dos aminoácidos. Uma das suas causas está relacionada com a deficiência da enzima fenilalanina hidroxilase. Como consequência, há um aumento constante da concentração plasmática do aminoácido fenilalanina (Phe) e uma baixa concentração do seu produto, o aminoácido tirosina. É considerada uma doença rara,



# 6º Simpósio de Segurança Alimentar

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018

FAURGS • Gramado • RS

porém a mais comum quando se trata de EIM. No Brasil, dados referentes a 2002 mostraram que 1,382 milhões de crianças foram triadas e 56 tiveram o diagnóstico positivo para a doença, tendo uma prevalência de 1:24,780 nascidos vivos (Monteiro, Cândido, 2006).

Quando não é realizado o diagnóstico precoce com tratamento adequado, as primeiras manifestações da doença ocorrem a partir do 1º mês de vida. O quadro clínico caracteriza-se por atraso no desenvolvimento neuropsicomotor, hiperatividade, convulsões, comportamento agressivo, odor característico na urina e suor e deficiência intelectual, sendo que esta se relaciona diretamente aos níveis de Phe e a idade de início de tratamento (Scriver, Kauffman, 2001). O principal tratamento é uma dieta com redução do aporte de alimentos que contenham Phe, sendo assim, a dieta é específica para cada paciente, respeitando suas características individuais, como idade, sexo e tolerância. O tratamento deve ser mantido por toda a vida, a fim de evitar complicações (MacLeod, Ney, 2010).

Os alimentos proibidos na PKU são os que têm alto teor de Phe, os permitidos são os que contêm baixos teores de Phe (zero a 20mg Phe/100g de alimento); alimentos com médio teor de Phe (10 – 200mg Phe/100g do alimento) podem ser fornecidos na dieta, porém devem ser de acordo com os níveis de tolerância de cada paciente. Além disso, a suplementação com uma fórmula metabólica, de alto valor protéico e restrito em Phe, deve fazer parte da dieta diariamente, para suprir as necessidades protéicas e garantir a homeostase do paciente (Monteiro, Cândido, 2006; MacLeod, Ney, 2010). Para auxiliar os pacientes de PKU a ter um melhor controle da quantidade de Phe que está presente na sua dieta, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) desenvolveu tabelas contendo os valores em gramas de Phe em produtos industrializados e em alimentos *in natura* (Araújo et al., 2017). Considerando que a dieta dos pacientes com PKU é extremamente limitada e que a oferta de produtos específicos para esse público é inexistente nos supermercados brasileiros, esse trabalho se propôs a elaborar pães com teor reduzido de Phe, além de realizar avaliação química e sensorial de cada preparação.

## 2. MÉTODOS

As preparações foram realizadas no Laboratório de Técnica Dietética (LTD), nas dependências da Faculdade de Medicina (FAMED) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Testes laboratoriais preliminares foram realizados até a obtenção das cinco formulações finais. Foram utilizados ingredientes com baixo teor de Phe nas preparações os quais foram pesados em uma balança digital centesimal (0,01g) UNIBLOC - MARCA SHIMADZU® - modelo UX-6200H. Todos os pães tiveram uma base comum, tendo os seguintes ingredientes: amido de milho (100g), polvilho doce (50g), farinha de mandioca (50g), óleo (12g), açúcar refinado (5g) e sal (5g). A esta base foram adicionadas 200g de: a) mandioca – *Manihot esculenta* (T1); b) batata baroa – *Arracacia xanthorrhiza* (T2); c) batata doce - *Ipomoea batatas* (T3); d) batata inglesa – *Solanum tuberosum* (T4); e, por fim, e) batata yacon – *Smallanthus sonchifolius* (T5). As preparações foram homogêneas e a massa dos pães acondicionada em formas retangulares de alumínio untada com 1mL de óleo vegetal e levado ao forno, pré-aquecido por 10 minutos, a 180°C por aproximadamente 35 minutos. Foram elaboradas as respectivas fichas técnicas com o detalhamento da formulação.

### 2.1 Análise química

Após o preparo de cada tratamento, as amostras foram embaladas a vácuo e armazenadas em um freezer. Para a realização das análises, cada preparação foi avaliada em triplicata no Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos no Laboratório de Compostos Bioativos. Foram avaliados cinco parâmetros, sendo eles: a) umidade por perda por dessecação em estufa a 105°C durante 4 horas; b)



# 6º Simpósio de Segurança Alimentar

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018

FAURGS • Gramado • RS

cinzas por incineração em mufla; c) proteínas pelo método Kjeldahl no qual o teor de nitrogênio é determinado e o resultado multiplicado pelo fator de conversão ( $F_c=5,75$ ) estabelecido para proteínas de origem vegetal; d) lipídeos pela extração contínua em aparelho de Soxhlet e, por fim, e) carboidratos por diferença, isto é, a quantidade de proteínas, lipídeos, cinzas e umidade subtraída de 100. Os métodos de análise foram determinados de acordo com o método padrão AOAC (2005). A composição de proteína e de Phe também foi calculada a partir da ficha técnica com os valores disponíveis na tabela da ANVISA (2010).

## 2.2 Análise sensorial

Os testes foram realizados no LTD da FAMED/UFRGS. Cada avaliador recebeu uma amostra aleatória de aproximadamente 7g de cada pão, codificadas com um número de três dígitos, um copo de água mineral e uma ficha de avaliação sensorial das preparações. Essa ficha de avaliação compreende o Teste de Aceitação (Jones, Peryam, Thurstone, 1955), com escala hedônica de 9 pontos (1= desgostei muitíssimo a 9= gostei muitíssimo) a qual avaliou os atributos: aparência, cor, sabor, textura, impressão global, e Intenção de Compra, com uma escala de 5 pontos (1= certamente não compraria a 5= certamente compraria) com a finalidade de analisar cada uma das amostras (Meilgaard, Civille, Carr, 1999).

## 2.3 Aspectos éticos

O projeto foi submetido e aprovado pela Comissão de Pesquisa e de ética - CEP/UFRGS, CAAE: 42973415.1.0000.5347 e a análise sensorial teve um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado pelos participantes.

## 2.4 Análise estatística

Foram calculadas as médias e desvio-padrão dos dados obtidos na análise química e no teste de aceitação. Para os dados obtidos, realizou-se a Análise de Variância (ANOVA) e Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro ( $p \leq 0,05$ ), utilizando o programa ASSISTAT, versão 7.7 beta (2016).

## 3. RESULTADOS

Após preparar diferentes opções de pães utilizando ingredientes com reduzido teor do aminoácido Phe, foram selecionadas as cinco preparações que apresentaram melhores atributos tecnológicos e, posteriormente, realizou-se a análise química e sensorial.

### 3.1 Análise química

Resultados referentes à análise química encontram-se na tabela 1. A partir da ficha técnica, calculou-se o teor de proteína e de Phe por porção de 100g de cada preparação com os dados disponíveis nas tabelas da ANVISA (2010): 1,02; 26mg em T1, 0,94; 27mg em T2, 1,2; 31mg em T3, 1,4; 31mg em T4, e 0,7; 13mg em T5, respectivamente.



**Tabela 1 - Análise química dos pães com baixo teor de fenilalanina.**

Atributos	T1	T2	T3	T4	T5
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Carboidratos	60,31 ± 0,68 <sup>ab</sup>	57,76 ± 0,48 <sup>bc</sup>	57,53 ± 0,17 <sup>bc</sup>	53,35 ± 3,90 <sup>c</sup>	65,28 ± 1,20 <sup>a</sup>
Proteínas	1,42 ± 0,008 <sup>a</sup>	1,41 ± 0,005 <sup>a</sup>	1,40 ± 0,013 <sup>a</sup>	1,43 ± 0,004 <sup>a</sup>	1,41 ± 0,028 <sup>a</sup>
Lipídeos	0,95 ± 0,065 <sup>a</sup>	0,57 ± 0,006 <sup>a</sup>	0,08 ± 0,008 <sup>a</sup>	0,23 ± 0,019 <sup>a</sup>	1,34 ± 0,144 <sup>a</sup>
Umidade	34,92 ± 0,001 <sup>c</sup>	37,86 ± 0,159 <sup>b</sup>	39,15 ± 0,015 <sup>b</sup>	40,27 ± 0,629 <sup>a</sup>	29,21 ± 0,072 <sup>d</sup>
Cinzas	2,33 ± 0,025 <sup>ab</sup>	2,13 ± 0,065 <sup>ab</sup>	2,04 ± 0,171 <sup>b</sup>	2,74 ± 0,023 <sup>a</sup>	2,78 ± 0,062 <sup>a</sup>

T1 = mandioca; T2 = batata baroa; T3 = batata doce; T4 = batata inglesa; T5 = batata yacon.

Foram analisados os valores obtidos através da Análise de Variância (ANOVA) e do Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro ( $p \leq 0,05$ ) utilizando o programa ASSISTAT, versão 7.7 beta (2016). Médias seguidas de letras iguais na horizontal não diferem significativamente entre si ( $p \leq 0,05$ ).

### 3.2 Análise sensorial

As amostras T1, T2, T3, T4 e T5 foram submetidas à análise sensorial por 47 avaliadores sem PKU, de ambos os sexos, recrutados aleatoriamente e que concordaram em participar do estudo. Os resultados da análise sensorial das amostras de pães encontram-se na tabela 2.

**Tabela 2 – Análise sensorial dos pães com baixo teor de fenilalanina.**

Atributos	T1	T2	T3	T4	T5
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Aparência*	6,53 ± 1,84 <sup>b</sup>	6,70 ± 1,68 <sup>b</sup>	6,28 ± 1,62 <sup>bc</sup>	7,53 ± 1,30 <sup>a</sup>	5,83 ± 1,82 <sup>c</sup>
Cor*	6,65 ± 1,89 <sup>b</sup>	6,63 ± 1,76 <sup>b</sup>	6,68 ± 1,84 <sup>bc</sup>	7,13 ± 1,77 <sup>a</sup>	5,98 ± 1,98 <sup>c</sup>
Textura*	5,85 ± 1,90 <sup>c</sup>	6,60 ± 1,61 <sup>bc</sup>	6,50 ± 1,85 <sup>ab</sup>	7,25 ± 1,69 <sup>a</sup>	6,10 ± 1,91 <sup>bc</sup>
Sabor*	5,83 ± 2,01 <sup>b</sup>	5,83 ± 2,16 <sup>b</sup>	6,43 ± 2,04 <sup>ab</sup>	6,88 ± 2,04 <sup>a</sup>	6,38 ± 1,93 <sup>ab</sup>
Aceitação global*	6,0 ± 1,87 <sup>b</sup>	6,13 ± 1,80 <sup>b</sup>	6,48 ± 1,85 <sup>b</sup>	7,18 ± 1,82 <sup>a</sup>	6,05 ± 1,91 <sup>b</sup>
Intenção de compra**	2,95 ± 1,20 <sup>b</sup>	3,20 ± 1,29 <sup>b</sup>	3,45 ± 1,28 <sup>ab</sup>	3,90 ± 1,08 <sup>a</sup>	3,18 ± 1,26 <sup>b</sup>

T1 = mandioca; T2 = batata baroa; T3 = batata doce; T4 = batata inglesa; T5 = batata yacon.

\*Teste de aceitação com escala de 1 a 9. \*\*Teste com escala de 1 a 5. Foram analisados os valores obtidos através da Análise de Variância (ANOVA) e do Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro ( $p \leq 0,05$ ) utilizando o programa ASSISTAT, versão 7.7 beta (2016). Médias seguidas de letras iguais na horizontal não diferem significativamente entre si ( $p \leq 0,05$ ).

## 4. DISCUSSÃO

A elaboração de pães com baixo teor de Phe apresenta dificuldades em decorrência da impossibilidade de utilização das farinhas mais usuais na confecção de pães, como as provenientes de cereais (trigo, aveia, cevada, centeio e arroz), ou ainda de leguminosas (soja e grão de bico), pois essas farinhas possuem altos níveis de Phe. Na literatura foram identificados cinco artigos que produziram pães: Ribeiro, Araújo, Alves (2014) utilizaram creme de arroz, fécula de batata ou amido de milho; Yaseen, Shouk, Ashour (2012) e Yaseen e Shouk (2011) utilizaram amido de milho com adição de a carboximetilcelulose (CMC); Mohsen, Yaseen, Ammar, Mohammad (2010) realizaram quatro tipos de pães com uma farinha *gliadine free*, cada um contendo um tipo de hidrocoloide – pectina, goma arábica ou CMC; Özboy (2002) utilizou amido de milho e cinco tipos diferentes de gomas como aditivo. As preparações realizadas no âmbito desta pesquisa inovam, pois além do amido de milho utilizado por outros autores, utilizam derivados da mandioca na base comum as quais se adiciona outros alimentos não descritos nos trabalhos identificados.



## 6º Simpósio de Segurança Alimentar

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018

FAURGS • Gramado • RS

### 4.1 Análise química

Não houve diferença significativa dos conteúdos de lipídeos e proteínas entre as preparações. Quanto ao parâmetro cinzas, a preparação T3 apresentou diferença significativa com relação às demais amostras. A determinação de umidade em produtos de panificação é importante, pois avalia a concentração de água presente na amostra. Quanto maior o teor de umidade na amostra maior será a sua atividade microbiana, o que pode diminuir o seu tempo de prateleira e alterar negativamente as suas características, como textura e maciez, prejudicando assim as qualidades esperadas para o consumo (Ijah et al, 2014). Em contrapartida, a preparação T4 obteve diferença significativa no parâmetro umidade em relação às outras amostras, tendo um alto teor. Já na análise sensorial, no atributo textura, a mesma amostra também teve diferença significativa, sendo a melhor avaliada.

Os valores encontrados na análise laboratorial para proteína diferiram dos calculados a partir da ficha técnica. A diferença dos valores para as amostras T1, T2, T3, T4 e T5 são, respectivamente: 39%, 50%, 16%, 2% e 101%. Essa discrepância entre os valores pode significar um risco para os pacientes que utilizam a tabela para o controle de proteína na dieta diariamente.

De acordo com a revisão sistemática de Pena et al. (2015) – na qual diversos estudos europeus foram analisados – constatou-se que há comercialização de produtos de panificação com teor reduzido de Phe no comércio europeu, como por exemplo o produto *Bread* (do inglês, “pão”) de 50g, em Portugal, e que esta porção possui 26mg de Phe. Apesar de este produto ser reduzido em Phe e de ser destinado aos pacientes com PKU, a quantidade do aminoácido neurotóxico desse pão representa quatro vezes mais quando comparado com os pães preparados pelo presente projeto, visto que 50g da amostra T5, por exemplo, apresentaria 6,5mg de Phe.

### 4.2 Análise sensorial

A preparação com batata inglesa destacou-se em todos os atributos, sendo que foi significativamente melhor avaliada na aparência e na cor ( $p \leq 0,05$ ); quanto à textura, a preparação de batata inglesa não diferiu significativamente da batata doce e quanto ao sabor, não diferiu das preparações de batata doce e de batata yacon. A intenção de compra revelou que a batata yacon foi similar entre a batata doce e inglesa.

Constatou-se que as preparações reduzidas em Phe de melhor aceitabilidade na análise sensorial foram as que apresentaram mais deste aminoácido em sua composição, com exceção da preparação de batata yacon, que foi satisfatória no atributo sabor e teve o menor teor desse aminoácido dentre as amostras.

Em um primeiro momento, devido à baixa concentração de proteínas dos ingredientes, a reação de Maillard não aconteceu, deixando os pães com uma aparência e cor mais branca. Esta característica também foi encontrada nos pães de Özboy (2002) e no estudo de Yaseen, Shouk (2011). No projeto, com a adição do açafrão nas preparações foi solucionado a questão dos atributos aparência e cor. Conforme a análise sensorial, as médias desses atributos foram satisfatórias, sendo a preparação T4 significativamente melhor avaliada.

## 5. CONCLUSÃO

A preparação de pães com baixo teor de Phe é desafiador, pois necessitam excluir de sua formulação as farinhas com melhor desempenho tecnológico, contudo os resultados mostraram que é possível contornar as dificuldades e obter um produto viável, com ingredientes de fácil aquisição e de conhecimento popular. Conforme a análise sensorial, todas as preparações apresentaram características



## 6º Simpósio de Segurança Alimentar

Desvendando Mitos

15 a 18 de maio de 2018

FAURGS • Gramado • RS

satisfatórias para o consumo, principalmente a preparação com adição de batata inglesa (T4). Dados referentes à análise química mostraram que os pães possuem um baixo teor de Phe, sendo, então, consideradas preparações seguras para os pacientes com PKU.

A PKU interfere diretamente nas decisões de vida do paciente, desde o que se alimentar dentro da sua casa até onde comer em ambientes externos ao de sua vivência. Assim, os hábitos de vida que a doença exige que o paciente tenha são diariamente difíceis de dar seguimento e, por vezes, monótonos, visto que há escassez de alimentos com baixo teor de Phe no mercado brasileiro. Dessa forma, criar preparações com teor reduzido em Phe é um desafio que auxilia na adesão ao tratamento dietoterápico, pois fornece novas opções de cardápios para os pacientes.

Estudos adicionais estão sendo realizados e poderão contribuir para maiores informações sobre a qualidade nutricional das formulações e para quantificar o teor de aminoácidos presente nas preparações.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araújo, A. C. M. F., Araújo, W. M. C., Marquez, U. M. L., Akutsu, R., Nakano, E. Y. (2017). Table of phenylalanine content of foods: comparative analysis of data compiled in food composition tables. *JIMD Rep*, 34:87-96.
- Ijah, U. J. J., Auta, H. S., Aduloju, M. O., Aransiola, S. A. (2014). Microbiological, Nutritional, and Sensory Quality of Bread Produced from Wheat and Potato Flour Blends. *International Journal of Food Science*, Article ID 671701, 6 pages.
- Jones, L. V., Peryam, D. R., Thurstone, L. L. (1955). Development of a scale for measuring soldiers's food preferences. *Food Research*, v. 20, n. 5, p. 512-520.
- MacLeod, E. L., Ney, D. M. (2010). Nutritional management of phenylketonuria. *Annales Nestlé (English ed.)*, v. 68, n. 2, p. 58-69.
- Meilgaard, M. C., Civille, G. V., Carr, B. T. (1999). Sensory evaluation techniques. 3. ed. *New York: CRC*, 281 p.
- Mohsen, S. M., Yaseen, A. A., Ammar, A. M., Mohammad, A. A. (2010). Quality characteristics improvement of low-phenylalanine toast bread. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 2042–2051.
- Monteiro, L. T. B., Cândido L. M. B. (2006). Phenylketonuria in Brazil: evolution and cases. *Rev. Nutr.*, Campinas, 19(3):381-387, maio/jun.
- Özboy, Ö. (2002). Development of corn starch-gum bread for phenylketouria patients. *Nahrung/Food* 46, no. 2, pp. 87 ± 91.
- Pena, M. J., Almeida, M. F., van Dam, E., Ahring, K., Bélanger-Quintana, A., Dokoupil, K., Gokmen-Ozel, H., Lammardo, A. M., MacDonald, A., Robert, M., Rocha, J. C. (2015). Special low protein foods for phenylketonuria: availability in Europe and an examination of their nutritional profile. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 10:162
- Ribeiro, R. C., Araújo, M. N., Alves, M. R. A. (2014). Development of special recipes for phenylketonuria. *Nutrire*, Dec;39(3):306-318.
- Scriver, C. R., Kaufman, S. (2001). Hyperphenylalaninemia: phenylalanine hydroxylase deficiency. in: Scriver, C. R., Beaudet, A. R., Sly, W., Valle, D. (Eds.). *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. McGraw-Hill, New York, 1667–1724.
- Yaseen, A. A., Shouk, A. A. (2011). Low Phenylalanine Egyptian Shamy Bread. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, Vol. 61, No. 4, pp. 257-262.
- Yaseen, A. A., Shouk, A. A., Enssaf, M. A. El-Hamzy., Ashour, M. M. S. (2012). Production and evaluation of low phenylalanine pan bread. *J. Appl. Sci. Res.*, 8(12): 5799-5805.