

Oxidação funcional em panificação



Este artigo discute o efeito da glucose oxidase nas propriedades da massa na panificação industrial. Pela ação da glucose oxidase na glicose presente na massa, é produzido o peróxido de hidrogênio que induz ligações cruzadas entre cadeias de proteína, por meio de pontes dissulfeto, e ligações cruzadas entre arabinosilanas, por meio de pontes de ácido ferúlico. A extensão das ligações cruzadas na massa depende da taxa de produção e da concentração do peróxido de hidrogênio. Uma nova glucose oxidase de *Penicillium chrysogenum* mostra um mecanismo autorregulado que impede que níveis elevados de peróxido de hidrogênio indesejáveis sejam produzidos. Isto criará novas oportunidades para o uso da glucose oxidase como uma ferramenta para substituir os oxidantes químicos (como ADA ou bromato) ou em aplicações tais como massas congeladas.

Maior necessidade de oxidação funcional

Os consumidores estão mais exigentes com a sua alimentação. A busca por um estilo de vida saudável continua sendo primordial, e exigimos maior diversidade em nossa alimentação, mas também queremos que ela seja autêntica e natural. O impacto do crescimento da população e as mudanças climáticas também nos leva a buscar nossos alimentos em formas mais sustentáveis e a distribuí-los com eficiência em cidades cada vez maiores. Na indústria de panificação, isto levou a um aumento da industrialização e da escala das operações, normalmente acoplados a um declínio dos pequenos fabricantes artesanais. No entanto, ainda exigimos os mesmos padrões de frescor e autenticidade das grandes panificadoras industriais.

Para controlar a variabilidade natural da farinha de trigo, os panificadores introduziram o uso de agentes oxidantes químicos para reforçar as proteínas do glúten. As panificadoras com processos rápidos de produção, as formulações enxutas e as alterações da qualidade da farinha de trigo conduziram ao aumento do uso de produtos químicos tais como azodicarbonamida, bromato de potássio e ácido ascórbico. Esses oxidantes químicos têm sido altamente eficazes para maximizar a qualidade da proteína do trigo disponível.

Devido às exigências dos consumidores pela redução de aditivos químicos e às restrições legais sobre sua utilização, a glucose oxidase foi introduzida no final da década de 1980 e a oxidação enzimática tornou-se comum, ofereceu novos benefícios e adequou-se bem à demanda dos consumidores por produtos saudáveis com listas de ingredientes naturais e fáceis de entender.

Os desafios para o panificador continuam até os dias atuais, particularmente com a urbanização global em ascensão. Compramos nossas mercadorias em canais de varejo cada vez mais consolidados. Além disso, viajamos muito mais e compramos nossos produtos de panificação no caminho do trabalho e esperamos poder comprá-los também quando viajamos; desejamos um produto de padaria familiar, saudável, saboroso e de alta qualidade onde quer que estejamos. As grandes padarias industriais precisam produzir com a mesma qualidade, se não melhor, que uma padaria artesanal local costumava oferecer.

Os panificadores continuam sua busca para aumentar a consistência, o frescor e a naturalidade, independentemente da qualidade e disponibilidade do trigo. Isso requer maneiras cada vez mais flexíveis e adaptáveis para fortalecer o trigo e para modificá-lo a fim de maximizar o potencial da farinha, enquanto oferecem a tolerância de processo exigida pela indústria panificadora. Consequentemente, há uma demanda crescente por oxidação funcional – sistemas de oxidantes que possam ser adaptados para enfrentar os desafios da qualidade variável do trigo e que padronizem a qualidade do produto, independentemente da localização geográfica.

A rede de glúten como chave para o desempenho da massa

É geralmente reconhecido que a qualidade de panificação da farinha de trigo está relacionada com a quantidade e as propriedades das proteínas do glúten. As proteínas formadoras de glúten podem ser divididas em dois grupos: as gliadinas (monoméricas) e as gluteninas (poliméricas), das quais há quantidades aproximadamente iguais. As gliadinas

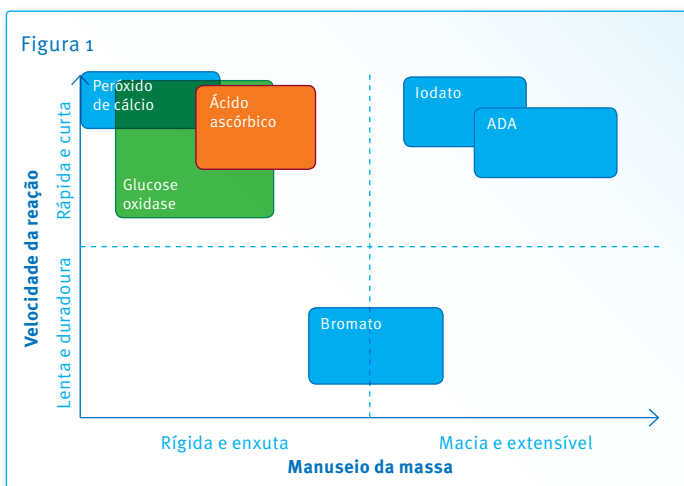
podem formar somente pontes dissulfeto intramolecular, enquanto as gluteninas contêm resíduos de cisteína que também podem formar pontes intermoleculares, criando uma estrutura polimérica de glutenina (Lindsay & Skerritt 1999).

As interações entre as diferentes gluteninas e entre as gluteninas e as gliadinas são críticas no comportamento da massa, mas elas ainda não são claramente entendidas a nível molecular. O que está claro, no entanto, é o importante papel desempenhado pelas pontes dissulfeto formadas entre as proteínas do glúten, especialmente as subunidades de glutenina. A presença e as propriedades dos grandes agregados de glutenina, conhecidos como macropolímeros de glutenina (GMP), são importantes para as propriedades de panificação e para a qualidade da farinha (Don et al. 2003).

Além do glúten, as arabinoxilanas também influenciam a qualidade da massa e do pão. As moléculas de arabinoxilana que absorvem água (WE-AX) aumentam a viscosidade da fase líquida de massa, estabilizando os filmes líquidos que circundam as células de gás. Além disso, as ligações cruzadas das arabinoxilanas podem fortalecer a rede de glúten (Decamps et al. 2013). Alguns autores têm descrito a formação de ligações cruzadas entre os resíduos de tirosina da proteína do glúten e os resíduos de ácido ferúlico das arabinoxilanas – embora em níveis baixos (Wang et al. 2002) – enquanto outros não observaram essas ligações cruzadas e sugerem que as proteínas do glúten e as arabinoxilanas formam redes separadas (Labat et al. 2001).

Diferentes sistemas de oxidação

As pontes dissulfeto entre as proteínas do glúten são essenciais para a formação da rede de glúten e para as propriedades viscoelásticas da massa. Um nível adequado de oxidação dos grupos sulfidríla é crucial para otimizar as propriedades da massa (Bonet et al. 2006; Lagrain et al. 2006).



A funcionalidade das proteínas do glúten durante a produção de pão pode ser alterada pela incorporação de agentes redox. Esses agentes redox podem ser divididos em aditivos químicos e enzimas (Joye et al. 2009). Uma massa fraca pode ser reforçada pela adição de agentes oxidantes, enquanto uma massa de pão feita com, por exemplo, farinha italiana ou australiana, pode tornar-se mais extensível por meio da

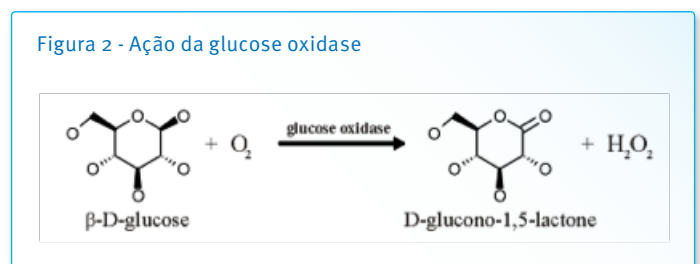
adição de agentes redutores, tais como a glutatona. Exemplos de oxidantes químicos incluem, entre outros, o bromato de potássio, o ácido ascórbico e a azodicarbonamida (ADA). Eles diferem em velocidade de ação: a ADA é um oxidante de ação rápida, o bromato é um oxidante de ação lenta e o ácido ascórbico apresenta uma velocidade intermediária de oxidação.

Outro aspecto de diferenciação dos oxidantes é o efeito que eles têm sobre as propriedades de manuseio da massa. Por exemplo, o ácido ascórbico e, em maior extensão, o peróxido de cálcio permitirão que a massa absorva mais água sem produzir uma superfície pegajosa. O iodato ou ADA podem criar um efeito ligeiramente oposto, deixando a massa mais maleável e macia. Cada um desses oxidantes tem o seu próprio efeito e não são facilmente intercambiáveis.

O uso de enzimas como agentes oxidantes é uma alternativa atraente por causa das restrições regulatórias, e também considerando-se a tendência atual por ingredientes mais naturais e fáceis de entender nos rótulos. Exemplos de tais enzimas na produção de pão incluem a lacase, tirosinase, hexose oxidase e glucose oxidase, das quais a glucose oxidase é a mais comumente usada. É geralmente reconhecido na indústria de panificação que a glucose oxidase melhora a estabilidade e as propriedades de manuseio da massa durante a fabricação do pão. As glucose oxidases atualmente disponíveis no mercado são parte de um sistema para substituir os oxidantes químicos, como o ácido ascórbico, devido à sua capacidade de agir rápido, permitindo que a massa absorva água e crie uma superfície livre de pegajosidade.

Glucose oxidase: mecanismo de ação

Na presença do oxigênio molecular, a glucose oxidase catalisa a oxidação da β -D-glucose, produzindo peróxido de hidrogênio e D-glucono- δ -lactona, que, por sua vez, hidrolisa-se espontaneamente formando ácido glucônico, quando houver água disponível. O efeito da glucose oxidase nas propriedades da massa pode ser atribuído ao peróxido de hidrogênio formado. O peróxido de hidrogênio provoca a oxidação dos grupos sulfidríla livres nas proteínas do glúten, formando ligações dissulfeto.



Além do efeito da glucose oxidase sobre a formação de pontes dissulfeto entre as proteínas do glúten, o peróxido de hidrogênio pode também afetar as arabinoxilanas, um fenômeno conhecido como gelificação oxidativa (Carmem et al. 1998; Miller & Hosney, 1999). A gelificação oxidativa é o acoplamento de dois resíduos de ácido ferúlico de arabinoxilanas adjacentes iniciada pela produção de peróxido de hidrogênio a partir da glucose pela glucose oxidase. O peróxido de hidrogênio e a peroxidase presente na farinha de trigo produzem um radical de ácido ferúlico. Dois destes radicais de ácido ferúlico podem ser ligados. Con-

sequentemente, as cadeias de arabinoxilanas são ligadas, levando ao aumento da capacidade de ligação de água. O resultado é uma massa menos pegajosa.

Considerando-se que o peróxido de hidrogênio seja responsável pelo efeito na reologia da massa, a quantidade e a taxa de produção de peróxido de hidrogênio determinam a extensão das ligações cruzadas. Altos níveis de peróxido de hidrogênio, especialmente durante a fase de mistura, poderiam levar a uma diminuição no tamanho dos agregados de glúten formados, em vez de formarem uma rede de glúten extensa. A ação mecânica durante a mistura da massa quebrará poucas das pontes dissulfeto recém-formadas, deixando menos grupos SH para formar ligações em uma fase posterior, criando uma rede de glúten menos extensa. Esses agregados menores serão menos eficazes na estabilização da estrutura da massa em comparação aos agregados de glúten formados quando estão presentes níveis mais baixos de peróxido de hidrogênio (Decamps et al. 2014).

Introdução de uma nova glucose oxidase

O uso de glucose oxidase no processo de produção da massa é bem conhecido na indústria de panificação. As glucose oxidases mais comuns no mercado são provenientes de *Aspergillus* sp. Recentemente, a DSM desenvolveu uma nova glucose oxidase, a BakeZyme® Go Pure, proveniente do *Penicillium chrysogenum*. As análises bioquímicas da BakeZyme® Go Pure têm mostrado que esta enzima apresenta um mecanismo de autorregulação, ao contrário da glucose oxidase proveniente de *Aspergillus niger*. A produção de peróxido de hidrogênio ocorre de forma controlada, evitando o excesso de oxidação da rede de glúten. Uma rede de glúten possivelmente maior, mais extensível e mais forte é formada. Além disso, a massa se torna mais elástica, mantendo sua capacidade de extensão.

A Figura 3 mostra os resultados das análises bioquímicas. Durante a mistura da massa e, posteriormente, durante a fermentação, foram analisadas amostras para medir o teor de ácido glucônico. A quantidade de ácido glucônico medido é uma indicação direta da quantidade de peróxido de hidrogênio formado, induzido pela reação da glucose oxidase enzimática. No início do processo de produção da massa, a glucose oxidase de *Penicillium* (PenGox) e de *Aspergillus* (AspGox), mostram um perfil similar na formação do peróxido de hidrogênio. As diferenças são visíveis no final da fase de mistura onde a massa que contém PenGox mostra níveis mais baixos de produção de peróxido de hidrogênio em comparação com a massa que contém AspGox. Isso evitará a oxidação excessiva da rede de glúten que pode resultar na formação de agregados menores, ao invés da formação de uma rede de glúten extensa.

A formação de uma rede de glúten maior também permitirá um aumento na extensibilidade da massa. A massa pode ser estendida ainda mais, antes que ocorra uma ruptura. A Figura 4 mostra os resultados da extensibilidade da massa medida no extensôgrafo Brabender, um método reológico usado frequentemente na indústria de panificação. Nesse teste, BakeZyme® GO 10.000 (glucose oxidase de *Aspergillus*) foi comparada com BakeZyme® Go Pure (glucose oxidase de *Penicillium*). A adição de pequenas doses de BakeZyme® GO 10.000 já é suficiente para diminuir a extensibilidade, enquanto a massa contendo BakeZyme® Go Pure permanece extensível. Somente o aumento da dosagem de BakeZyme® Go Pure diminuirá gradualmente a extensibilidade da massa.

Figura 3: Conteúdo de ácido glucônico produzido durante a mistura da massa e a fermentação pela adição de diferentes níveis de dosagem de AspGox e PenGox

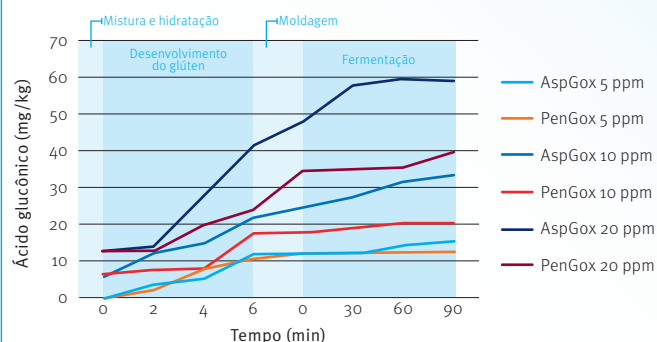


Figura 4

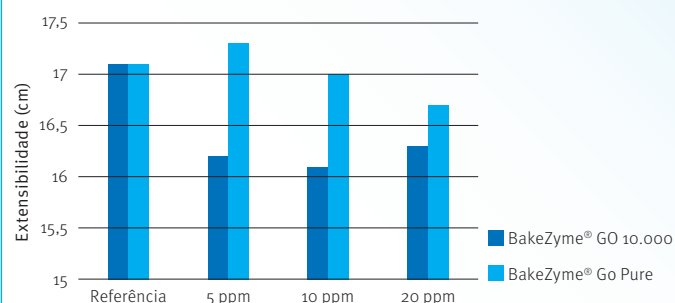
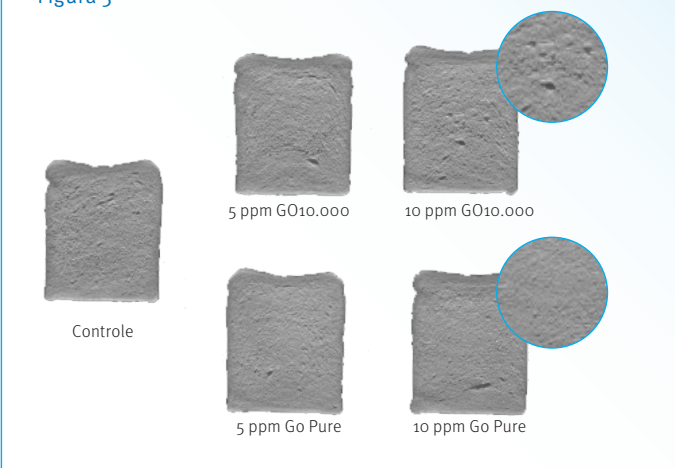


Figura 5



Devido à diferença na formação de peróxido de hidrogênio, que regula o poder de oxidação durante o processo de mistura, Bakezyme® Go Pure é adequada para processos como Chorleywood. As características típicas desse processo, como o curto tempo e a intensa ação mecânica na etapa de mistura, e o excesso de oxidação danificam facilmente a estrutura do glúten quando é utilizada a glucose oxidase proveniente de *Aspergillus*. Isso resulta em um pão com uma estrutura de miolo aberta e grosseira. Ao utilizar Bakezyme® Go Pure na massa, ela continuará macia e extensível, melhorando a estabilidade durante a fermentação. E o mais importante, o pão apresentará uma estrutura de miolo regular e fina. Os resultados desses testes são mostrados na Figura 5.

Conclusões: fechando a lacuna

O efeito da glucose oxidase nas propriedades da massa é devido à produção de peróxido de hidrogênio que induz as ligações cruzadas das proteínas do glúten por meio de pontes dissulfeto, bem como ligações cruzadas das arabinoxilanas por meio do ácido ferúlico. A extensão das ligações cruzadas na massa depende da taxa de produção e de concentração do peróxido de hidrogênio. Uma nova glucose oxidase permite um mecanismo diferente de funcionamento; em particular, ela mostra um mecanismo autorregulado, evitando a produção de altos níveis de peróxido de hidrogênio.

Isso criará oportunidades para o uso da glucose oxidase como uma fermenta para substituir os oxidantes químicos (como ADA ou bromato) ou em aplicações tais como massas congeladas.

Referências

- Bonet, A., Rosell, C. M., Caballero, P. A., Gómez, M., Pérez-Munuera, I., & Lluch, M. A. (2006). *Glucose oxidase effect on dough rheology and bread quality: A study from macroscopic to molecular level*. *Food Chem.*, 99, 408-415.
- Decamps, K., Joye, I. J., Rakotozafy, L., Nicolas, J., Courtin, C. M., & Delcour, J. A. (2013). *The bread dough stability improving effect of pyranose oxidase from *Trametes multicolor* and glucose oxidase from *Aspergillus niger*: Unraveling the molecular mechanism*. *J. Agric. Food Chem.*, 61(32), 7848-7854.
- Decamps, K., Gryp, G., Joye, I. J., Courtin, C. M., & Delcour, J. A. (2014). *Impact of pyranose oxidase from *Trametes multicolor*, glucose oxidase from *Aspergillus niger* and hydrogen peroxide on protein agglomeration in wheat flour gluten–starch separation*. *Food Chem.*, 148, 235-239.
- Don, C., Lichtendonk, W., Plijter, J. J., & Hamer, R. J. (2003). *Glutenin macropolymer: a gel formed by glutenin particles*. *J. Cereal Sci.*, 37, 1-7.
- Joye, I. J., Lagrain, B., & Delcour, J. A. (2009). *Use of chemical redox agents and exogenous enzymes to modify the protein network during breadmaking—a review*. *J. Cereal Sci.*, 50, 11-21.
- Labat, E., Morel, M. H., & Rouau, X. (2001). *Effect of laccase and manganese peroxidase on wheat gluten and pentosans during mixing*. *Food Hydrocolloids*, 15, 47-52.
- Lagrain, B., Brijs, K., & Delcour, J. A. (2006). *Impact of redox agents on the physico-chemistry of wheat gluten proteins during hydrothermal treatment*. *J. Cereal Sci.*, 44, 49-53.
- Lindsay, M.P. & Skerritt, J.H. (1999) *The glutenin macropolymer of wheat flour doughs: structure–function perspectives*, *Trends Food Sci. Tech.* 10: 247-253
- Miller, K. A. & Hosney, R. C. (1999). *Effect of Oxidation on the Dynamic Rheological Properties of Wheat Flour-Water Doughs 1*. *Cereal Chem.*, 76, 100-104.
- Vemulapalli, V., Miller, K. A., & Hosney, R. C. (1998). *Glucose oxidase in breadmaking systems 1*. *Cereal Chem.*, 75(4), 439-442.
- Wang, M., Hamer, R. J., van Vliet, T., & Oudgenoeg, G. (2002). *Interaction of water extractable pentosans with gluten protein: effect on dough properties and gluten quality*. *J. Cereal Sci.*, 36, 25-37.

For more information: info.food@dsm.com | www.dsm.com/food

DSM – Bright Science. Brighter Living.™

Although diligent care has been used to ensure that the information provided herein is accurate, nothing contained herein can be construed to imply any representation or warranty for which we assume legal responsibility, including without limitation any warranties as to the accuracy, currency or completeness of this information or of non-infringement of third party intellectual property rights. The content of this document is subject to change without further notice. Please contact us for the latest version of this document or for further information. Since the user's product formulations, specific use applications and conditions of use are beyond our control, we make no warranty or representation regarding the results which may be obtained by the user. It shall be the responsibility of the user to determine the suitability of our products for the user's specific purposes and the legal status for the user's intended use of our products.

The General Terms of Conditions of Sale of DSM Food Specialties B.V. apply to and are part of all our offers, agreements, sales, deliveries and all other dealings. The applicability of any other terms and conditions is explicitly rejected and superseded by our General Terms and Conditions of Sale. The current version of our General Terms and Conditions of Sale can be found at www.dsm.com, a hard copy will be forwarded upon your request.