

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS

**EFEITO DA ADIÇÃO DE L-CISTEÍNA NAS PROTEÍNAS DO
GLÚTEN: ANÁLISES REOLÓGICA, TÉRMICA E MICROSCÓPICA.**

JOSIANE CALLEGARO RAGUZZONI

Florianópolis, 2007.

JOSIANE CALLEGARO RAGUZZONI

**EFEITO DA ADIÇÃO DE L-CISTEÍNA NAS PROTEÍNAS DO
GLÚTEN: ANÁLISES REOLÓGICA, TÉRMICA E MICROSCÓPICA.**

**Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em
Ciência dos Alimentos, Departamento de Ciência e
Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias,
Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito
parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciência dos
Alimentos.**

Orientadora: Prof (a). Dra. Alicia de Francisco

Florianópolis, SC – 2007.

EFEITO DA ADIÇÃO DE L-CISTEÍNA NAS PROTEÍNAS DO GLÚTEN: ANÁLISES REOLÓGICA, TÉRMICA E MICROSCÓPICA.

Por

Josiane Callegaro Raguzzoni

Dissertação aprovada como requisito final para a obtenção do
título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Ciência
dos Alimentos, pela comissão formada por:

Presidente: _____

Prof. Dra. Alicia de Francisco (Orientadora)

Membro: _____

Prof. Dra. Maria Victoria Eiras Grossmann

Membro: _____

Prof. Dra. Cristiane Vieira Helm

Membro: _____

Prof. Dr. Pedro Munique Barreto

*Às oportunidades e às realizações,
que elas façam-se sempre presentes...
Aos meus pais e ao meu amor...*

“Observa o que fazeis do tempo e vale-te dele para instalar bondade e compreensão, discernimento e equilíbrio em ti mesmo, porque o dia que deixas passar vazio e inútil é, realmente, um tesouro perdido que não mais voltará ...”

Emmanuel "Chico Xavier"

AGRADECIMENTOS

- À professora Dra. Alicia de Francisco, que abriu as portas para a minha iniciação científica, por estes quase seis anos de convivência e amizade e por todas as oportunidades oferecidas;
- À Professora Dra. Patricia Rayas Duarte e sua equipe, pela inesquecível experiência profissional e de vida, pelo suporte financeiro e acolhimento, e aos amigos deixados em Oklahoma que por tantas vezes me acompanharam durante a madrugada até o laboratório;
- À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e a Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), por todo suporte financeiro;
- Aos professores, alunos e funcionários do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos (CAL), por todos estes anos de convívio, amizade e aprendizado;
- Aos vários colegas que passaram pelo laboratório CERES e as colegas que atualmente fazem parte do grupo, pelo convívio, colaboração e amizade de sempre;
- À companheira e amiga Rosane Costa Beber, por todo incentivo e ajuda que foram fundamentais para o término deste trabalho. Muito obrigada!
- Às minhas queridas amigas, Nádia, Rosane e Cris que não preciso nem dizer o quanto são importantes pra mim...
- Aos colegas da turma de mestrado...
- Ao Professor Dr. Valdir Soldi, pela disponibilização do DSC para as análises térmicas;

- Ao professor Pedro Barreto, pela colaboração e companheirismo;
- À minha família que é fundamental na minha vida e que apesar da distância sempre esteve presente no coração...
- À Vanda, Fernando e Felipe, que sempre me acolheram e são minha nova família...
- Ao Danilo, meu companheiro, amigo e amante... Por toda paciência nos momentos difíceis, pelo amor incondicional, pelo incentivo e força para vencer meus desafios...
- A todos que de alguma forma participaram desta etapa da minha vida...

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xi

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1	INTRODUÇÃO.....	20
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
2.1	Trigo.....	23
2.1.1	Qualidade do trigo e influência na panificação.....	26
2.1.2	Proteínas do trigo.....	28
2.1.2.1	Gliadinas e gluteninas.....	31
2.1.2.2	Glúten.....	34
2.1.3	Aditivos em panificação e a utilização da L-cisteína.....	37
2.2	Reologia e sua importância.....	42
2.3	Comportamento reológico.....	44
2.3.1	Fluidos Newtonianos e não-Newtonianos.....	45
2.3.1.1	Fluidos Newtonianos.....	46
2.3.1.2	Fluidos não-Newtonianos.....	47
2.3.1.2.1	Fluidos não-Newtonianos independentes do tempo.....	48
2.3.1.2.1.1	Fluidos pseudoplásticos (“shear- thinning”).....	48
2.3.1.2.1.2	Fluidos dilatantes (“shear- thickening”).....	49

2.3.1.2.1.3 Fluidos plásticos ou de Bingham.....	49
2.3.1.2.2 Fluidos não-Newtonianos dependentes do tempo.....	50
2.3.1.2.2.1 Fluidos tixotrópicos.....	50
2.3.1.2.2.2 Fluidos reopéticos.....	50
2.3.1.2.3 Propriedades de viscoelasticidade.....	51
2.4 Métodos dinâmicos viscoelásticos.....	52
2.5 Reologia do trigo.....	59
2.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	60
2.7 Análise térmica - calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	61
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

CAPÍTULO 2 – EFEITO DA ADIÇÃO DE L-CISTEÍNA NAS PROPRIEDADES REOLÓGICAS E NO “CROSS-LINK” DAS PROTEÍNAS FORMADORAS DO GLÚTEN

1	INTRODUÇÃO.....	80
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	82
2.1	Material.....	82
2.2	Métodos.....	83
2.2.1	Umidade.....	83
2.2.2	Reologia.....	83
2.2.3	Determinação do número de cross-link ou ligações cruzadas.....	83
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	85
3.1	Reologia.....	85
3.1.1	Determinação do número de cross-link ou ligações cruzadas.....	94
4	CONCLUSÃO.....	96
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	98

CAPÍTULO 3 - EFEITO DA ADIÇÃO DE L-CISTEÍNA NAS PROTEÍNAS FORMADORAS DO GLÚTEN: ANÁLISES MICROSCÓPICA E TÉRMICA

1	INTRODUÇÃO.....	105
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	108
2.1	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	108
2.2	Análise Térmica - Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	108
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	109
3.1	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	109
3.2	Análise Térmica - Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	114
4	CONCLUSÃO.....	120
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	122
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	125

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

- Figura 1** Secções longitudinal e transversal do grão de trigo
- Figura 2** Secção longitudinal do grão de trigo
- Figura 3** Fluxograma da classificação das proteínas do trigo
- Figura 4** Representação esquemática da gliadina, glutenina e glúten
- Figura 5** Gliadina, glutenina e glúten
- Figura 6** Estrutura linear da cisteína
- Figura 7** Fluxograma da classificação do comportamento reológico
- Figura 8** Curvas de escoamento para fluidos Newtonianos
- Figura 9** Curvas de escoamento pseudoplástico, Bingham, dilatante e Newtoniano
- Figura 10** Comportamento tixotrópico e reopético
- Figura 11** Espectro mecânico típico de sistemas poliméricos
- Figura 12** Elemento de Maxwell
- Figura 13** Diagrama esquemático de reômetro de cilindros concêntricos
- Figura 14** Diagrama esquemático de reômetro de placas paralelas
- Figura 15** Diagrama esquemático de reômetro de cone e placa

CAPÍTULO 2

- Figura 1** Amostras gliadina e glutenina da *MGP Ingredients*
- Figura 2** Reômetro (Modelo AR1000-N, TA Instruments, EUA)
- Figura 3** Gliadina e glutenina após mistura em farinógrafo e a L-cisteína e análise no reômetro
- Figura 4** Principais características do comportamento elástico (G') e viscoso (G'') para polímeros através de ampla variação da frequência
- Figura 5** Módulo elástico (G') e módulo viscoso (G'') em função da frequência para a gliadina
- Figura 6** Módulo elástico (G') e módulo viscoso (G'') em função da frequência para a glutenina
- Figura 7** Módulo elástico (G') em função da frequência para diferentes concentrações de L-cisteína na amostra glutenina a 25° C

Figura 8 Módulo viscoso (G'') em função da frequência para diferentes concentrações de L-cisteína na amostra glutenina a 25° C

Figura 9 Módulo elástico (G') em função da frequência para diferentes concentrações de L-cisteína na amostra gliadina a 25° C

Figura 10 Módulo viscoso (G'') em função da frequência para diferentes concentrações de L-cisteína na amostra gliadina a 25° C

CAPÍTULO 3

Figura 1 Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Glutenina sem adição de L-cisteína com aumento de 250 e 1000X.

Figura 2 Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Glutenina com adição de L-cisteína 100 ppm com aumento de 250 e 1000X.

Figura 3 Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Glutenina com adição de L-cisteína 250 ppm com aumento de 250 e 1000X.

Figura 4 Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Gliadina sem adição de L-cisteína com aumento de 250 e 1000X.

Figura 5 Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Gliadina com adição de L-cisteína 100 ppm com aumento de 250 e 1000X.

Figura 6 Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Gliadina com adição de L-cisteína 250 ppm com aumento de 250 e 1000X.

Figura 7 Termograma obtido através do DSC: gliadina sem adição de L-cisteína com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Figura 8 Termograma obtido através do DSC: gliadina com adição de 100 ppm de L-cisteína com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Figura 9 Termograma obtido através do DSC: gliadina com adição de 250 ppm de L-cisteína com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Figura 10 Termograma obtido através do DSC: glutenina sem adição de L-cisteína com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Figura 11 Termograma obtido através do DSC: glutenina com adição de 100 ppm de L-cisteína com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Figura 12 Termograma obtido através do DSC: glutenina com adição de 250 ppm de L-cisteína com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 Perfil de aminoácidos do trigo, farinha e das frações protéicas da farinha em 100g de proteína (NT x 6,25).

CAPÍTULO 2

Tabela 1 Intersecção (K' , K'') e inclinação (n' , n'') da regressão linear de $\log \omega$ pelo \log de G' e G'' (Pa) das diferentes concentrações de L-cisteína para a glutenina e gliadina.

Tabela 2 Média dos valores máximos de G' (Pa) para a gliadina e glutenina nas diferentes concentrações de L-cisteína a 25° C.

Tabela 3 Média dos valores de M_c e N_c para a glutenina e gliadina.

CAPÍTULO 3

Tabela 1 Propriedades térmicas da gliadina e glutenina com e sem adição de L-cisteína.

LISTA DE ABREVIATURAS

DSC	Calorimetria exploratória diferencial
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
SEM	Scanning Electron Microscope
MO	Microscópio ótico
MET	Microscópio eletrônico de transmissão
g	Gramas
pH	Potencial hidrogeniônico
LMW	Baixa massa molar
HMW	Alta massa molar
SDS	Dodecil sulfato de sódio
ppm	Partes por milhão
SH	Grupos sulfidrilas
SS	Ligações dissulfeto
C	Carbono
O	Oxigênio
H	Hidrogênio
S	Enxofre
N	Nitrogênio
Pa	Pascal
$\dot{\gamma}$ (s ⁻¹)	Taxa de cisalhamento
μ	Coefficiente de viscosidade
η	Viscosidade aparente
γ	Taxa de deformação
σ	Tensão de cisalhamento
σ_0	Tensão de cisalhamento inicial
t_0	Tempo inicial
σ	Tensão
γ	Deformação oscilatória senoidal
ω	Frequência
G'	Módulo elástico
G''	Módulo viscoso
Tan δ	Fator de perda

rad/s	Radianos por segundo
Hz	Hertz
F	Força
G	Rigidez (mola)
LVR	Região viscoelástica linear
° C	Graus Celsius
mm	Milímetros
AACC	Associação Americana de Químicos de Cereais
M_c	Massa molar entre os cross-links
N_c	Cálculo do número de cross-link
MM	Massa molar média
ρ	Densidade do material
R	Constante dos gases
T	Temperatura absoluta
g/cm³	Gramas por centímetros cúbicos
K	Intersecção
n	Inclinação
mL	Mililitros
T_i	Temperatura inicial
T_p	Temperatura de pico
T_f	Temperatura final
ΔH	Entalpia
μm	Micrômetros
T_g	Temperatura de transição vítrea
cal/g	Caloria por grama
KPa	Kilopascal

RESUMO

O pão está entre os alimentos mais consumidos mundialmente e a panificação provavelmente é uma das técnicas mais antigas conhecidas. A farinha é um dos ingredientes principais para a formulação do pão de trigo e são as proteínas presentes neste cereal, a gliadina e a glutenina, as responsáveis pelas propriedades de viscoelasticidade da massa através da formação do glúten, dando ao produto final as características de volume e textura desejadas. Uma farinha que não apresenta bons resultados no produto final pode ser suplementada com aditivos capazes de corrigir suas características. Em panificação, quando se pretende enfraquecer a massa, pode-se fazer uso dos agentes redutores, como a L-cisteína, que, através de modificações nas ligações químicas das proteínas, altera o resultado do produto final. As características reológicas da massa assim como as propriedades térmicas e a estrutura podem ser influenciadas pelo uso de aditivos. O objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações causadas pela adição de L-cisteína sobre o comportamento das proteínas do trigo, gliadina e glutenina, de forma isolada. O trabalho foi dividido em três capítulos: no primeiro está a revisão da bibliografia e nos capítulos seguintes a parte experimental. No capítulo dois, constam os experimentos que relacionam os efeitos da adição de L-cisteína (100, 200 e 250 ppm) com as propriedades reológicas (reologia dinâmica em função da frequência de oscilação) e com a formação de ligações dissulfeto (SS) na gliadina e na glutenina. O capítulo três trata das análises térmica (DSC) e microscópica (MEV) verificando as modificações ocasionadas pela L-cisteína (100 e 250 ppm).

Palavras-chave: gliadina, glutenina, L-cisteína, propriedades reológicas, propriedades térmicas, microscopia, panificação, trigo.

ABSTRACT

Bread is among the most consumed food items worldwide and bread making is one of the oldest processes known. Flour is one of the essential ingredients in the wheat bread formulation and the proteins found in this cereal, gliadin and glutenin, are the ones responsible for the viscoelastic properties of the dough. This is possible through gluten formation, which gives the final product, the volume and texture desired. A flour that does not perform well, can be supplemented with additives capable of correct its characteristics. In bread making, when a dough need to be weakened, a reducing agent such as L-cysteine can be used. By modification of the proteins' chemical links, it alters the final product. The rheologic characteristics of the dough as well as the thermal properties and structure can be influenced by using additives. The objective of this study was to follow the modifications caused by addition of L-cysteine on the behavior of the isolated wheat proteins: gliadin and glutenin. The work was divided in three chapters: first, a literature review; second, the experimental work relating the effects of L-cysteine (100, 200 e 250 ppm) addition on the rheologic properties (Dynamic rheology as a function of oscillation) and on the disulfite (SS) bond formation in the gliadin and glutenin; and the third chapter covers the thermal analysis (DSC) and Scanning electron microscopy (SEM) to follow the modifications caused by L-cistein (100 e 250 ppm).addition.

Key words: gliadin, glutenin, L-cysteine, rheologic properties, thermal properties, scanning electron microscopy, bakery, wheat.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO

Os cereais são grãos nutritivos, pertencentes à família das gramíneas (*Gramineae*). São classificados como estruturas bioquímicas complexas sendo que sua composição e propriedades dependem de fatores genéticos, ambientais e da variedade. Seus principais constituintes são: amido, proteínas, lipídios, fibras e algumas vitaminas, além de outros componentes minoritários (DELCOUR, 1998; HOSENEY, 1998).

Dentre os cereais, apenas o trigo tem a habilidade de formar uma massa viscoelástica capaz de reter o gás carbônico que é produzido durante a fermentação e também nos primeiros estágios de cozimento do pão, fazendo com que a massa resulte em um produto leve. As proteínas, mais especificamente as proteínas de reserva - formadoras do glúten, são as principais responsáveis por esta característica específica do trigo (TEDRUS et al., 2001).

Nenhum outro cereal, dentre os estudados até os dias atuais, apresenta proteínas com a capacidade para a formação de massa viscoelástica, como as que encontramos no trigo. Cereais como o centeio e o triticale, um híbrido de centeio com trigo, são os que mais se aproximam dessas características, porém suas massas são bem mais fracas quando comparadas as do trigo (HOSENEY, 1998).

A composição protéica do trigo influencia as propriedades da farinha, que por sua vez influencia a qualidade do pão. O trigo com alto teor em proteínas resulta numa massa de pão muito elástica, que facilmente pode levedar e chegar a um tamanho grande e manter essa forma após a cocção. Ao contrário, a presença de baixos teores em proteína ou de outro tipo de proteínas resulta em uma massa frágil, que não se sustenta facilmente quando se tenta produzir pão a partir dela, contudo é a mais indicada quando se pretende produzir biscoitos crocantes (CAMARGO; FRANCISCHI; CAMPAGNOLLI, 1997).

O volume final do pão é determinado por dois fatores: a quantidade de gás carbônico produzido durante a fermentação e a capacidade de retenção do gás pela massa. Alguns estudos foram conduzidos a respeito do uso de farinhas de centeio, milho e arroz na produção de pão. Estes estudos concluíram que a capacidade de retenção de gás é o principal fator para a obtenção de pães com volume adequado, visto que durante a fermentação, a

perda de gás nas massas desses cereais foi de 3 a 5 vezes superior à da massa de farinha de trigo, embora a produção inicial de gás tenha sido semelhante. Durante o cozimento, ao contrário da massa de farinha de trigo, as massas de farinha de milho, arroz e centeio perderam gás antes que suas estruturas estivessem consolidadas pelo calor, apresentando como resultado final pães com baixo volume (HE; HOSENEY, 1991).

A composição do glúten envolve duas frações protéicas: gliadina e glutenina. As gliadinas consistem em um conjunto de unidades monoméricas polipeptídicas, com cadeias simples, apresentam-se extremamente gomosas quando hidratadas e contribuem principalmente para a viscosidade da massa. Por outro lado, as gluteninas são polímeros formados por várias cadeias ligadas entre si, são elásticas, mas não coesivas e fornecem à massa a propriedade de elasticidade (WIESER, 2007).

Para a obtenção de uma farinha que apresente boas características de panificação pode-se fazer o uso de aditivos, que irão proporcionar o equilíbrio necessário, corrigindo as deficiências desta farinha, deixando-a apta para obter um produto final atrativo (INDRANI; RAO, 2006). Para atingir esse equilíbrio, podem-se utilizar agentes redutores que enfraquecem a massa ou agentes oxidantes que a fortificam. Assim, os aditivos são capazes de alterar o comportamento das massas (ROSELL; ROJAS; BARBER, 2001; QUEIJI; SCHEMIN; TRINDADE, 2006).

Neste contexto, a L-cisteína é utilizada como agente redutor, ou seja, atua enfraquecendo a rede de glúten. O mecanismo da L-cisteína envolve as ligações dissulfeto tanto intramoleculares como intermoleculares (HAYTA; SCHOFIELD, 2004; INDRANI; RAO, 2006).

A avaliação do potencial de panificação de uma farinha é feita através de análises físicas e químicas, destacando-se, com grande importância, as análises reológicas (QUEIJI; SCHEMIN; TRINDADE, 2006).

Em virtude do acima exposto, este trabalho tem como objetivos verificar os efeitos da adição de L-cisteína nas proteínas isoladas do glúten (gliadina e glutenina) através de experimentos reológicos de oscilação, efeito nas ligações cruzadas ou “cross-link”, análise

térmica (DSC – calorimetria exploratória diferencial) e microscopia (MEV – microscopia eletrônica de varredura).

No glúten, os efeitos de agentes redutores e oxidantes além de outros aditivos utilizados em panificação têm sido amplamente pesquisados, porém, fazem-se necessários mais estudos nas frações protéicas que compõem o glúten, de forma isolada.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Trigo

O trigo é uma gramínea que apresenta ciclo anual, cultivado durante o inverno, podendo ser irrigado ou não. O consumo pode ser de diferentes formas como pães, massas alimentícias, bolos, biscoitos, além de outras e ainda a utilização como ração animal quando não atinge a qualidade exigida pela indústria (EMBRAPA, 2003).

O surgimento do trigo é relatado historicamente há mais de 10 mil anos na região da Mesopotâmia. De acordo com estudos arqueológicos o trigo foi o segundo grão cultivado, após a cevada. O cultivo do trigo foi fundamental para o desenvolvimento da civilização ocidental, da mesma forma como o milho foi para a América. Seu cultivo permitiu o progresso da espécie humana através do desenvolvimento de civilizações e fixação destas para o armazenamento das sementes. A evolução do trigo iniciou-se entre espécies ancestrais e com a modificação genética, foi tornando-se mais produtivo (SCADE, 1975; HOWTHORN, 1983).

O gênero do trigo é o “*Triticum*”, que apresenta em torno de 30 espécies de trigos os quais possuem suficientes diferenças genéticas para serem considerados espécies distintas ou subespécies. Aproximadamente metade delas são cultivadas e as restantes crescem de forma silvestre (ABITRIGO, 2005). Atualmente, a espécie de trigo mais cultivada mundialmente é o *Triticum aestivum L.* e comercialmente as espécies de trigo de maior relevância são a *Triticum vulgare* utilizado para a produção de farinha e a *Triticum durum* utilizado para a fabricação de massas alimentícias – sêmola (QUAGLIA, 1991).

As variedades podem ser distinguidas através da altura das plantas, produtividade, conteúdo de farinha presente no grão, proporção e qualidade das proteínas na farinha, resistência às doenças, adaptação a solos ácidos, clima mais adequado entre outras características (ABITRIGO, 2005).

O grão de trigo, ou cariopse como também é chamado, pode ser dividido em duas partes: o pericarpo e a semente (trigo beneficiado – sem casca) (HOSENEY, 1991).

O pericarpo é a parte mais externa e recobre toda a semente. Ele representa aproximadamente 5% do grão e é composto por seis camadas: epiderme, hipoderme, remanescentes da parede celular ou células finas, células intermediárias, células cruzadas e células tubulares (Figura 1 e Figura 2). A constituição da semente é feita pelo endosperma e gérmen, os quais são recobertos por três camadas: testa (onde estão os pigmentos que dão cor ao grão), camada hialina e aleurona (Figura 1 e Figura 2) (HOSENEY, 1991; QUAGLIA, 1991).

O endosperma, destinado à alimentação, representa a parte mais importante. É composto pelo endosperma amiláceo (70 – 80% do grão) e pela camada de aleurona. Esta camada é a parte mais externa do endosperma, rica em proteínas e contém grandes quantidades de lipídios, enzimas e vitaminas. Porém, a camada de aleurona é eliminada durante a moagem e passa a fazer parte do farelo (HOSENEY, 1991; QUAGLIA, 1991; BELITZ; GROSCHE, 1997).

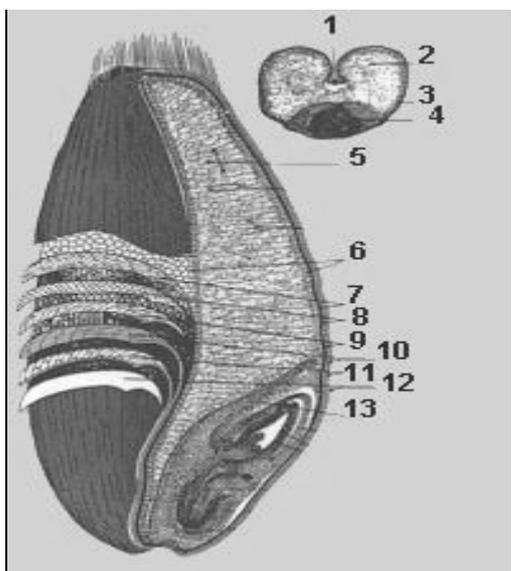
O preenchimento das células do endosperma é feito através de grânulos de amido embebidos em uma matriz protéica. A força da união entre o amido e a proteína do endosperma determina a dureza do grão. Grande parte destas proteínas são formadoras do glúten – proteínas de reserva do trigo. O conteúdo e paredes celulares da célula do endosperma constituem a farinha (HOSENEY, 1991).

O trigo pode ser classificado com relação ao seu teor protéico como trigo duro ou forte (quando há forte adesão, a proteína cobre e fica bem aderida à superfície do amido) e trigo macio ou fraco (quando há fraca adesão, a união proteína e amido se rompe facilmente) (HOSENEY, 1998).

Parâmetros como textura (dureza) e aparência (qualidade de vítreo) variam no endosperma do trigo. Os trigos duros que apresentam alto valor protéico tendem a ser vítreos e trigos moles com baixo valor protéico tendem a ser opacos. A dureza é causada pela força das ligações entre proteína e amido, a qual é controlada geneticamente e o mecanismo de controle envolve a quantidade de proteína na amostra (HOSENEY, 1998).

O embrião ou gérmen, por sua vez, é responsável pela parte germinativa do grão. Pode ser considerado uma planta em miniatura pronta para desenvolver-se em condições adequadas. É composto pelo eixo embrionário e pelo revestimento externo, o escutelo. O

embrião se une ao endosperma pelo escutelo e contém substâncias nutritivas armazenadas durante o período de amadurecimento (rico em enzimas e lipídios). Para a fabricação da farinha retira-se o embrião devido à presença dos lipídios que limitam a conservação da mesma (HOSENEY, 1991; QUAGLIA, 1991; BELITZ; GROSCH, 1997).



- 1 Crease ou Sulco
- 2 Endosperma
- 3 Farelo
- 4 Gérmen (Embrião)
- 5 Endosperma
- 6 Aleurona
- 7 Hialina
- 8 Testa
- 9 Células Tubulares
- 10 Células Cruzadas
- 11 Hipoderme
- 12 Epiderme
- 13 Gérmen (Embrião)

Figura 1 - Secções longitudinal e transversal de um grão de trigo.

Fonte: HOSENEY, 1991.

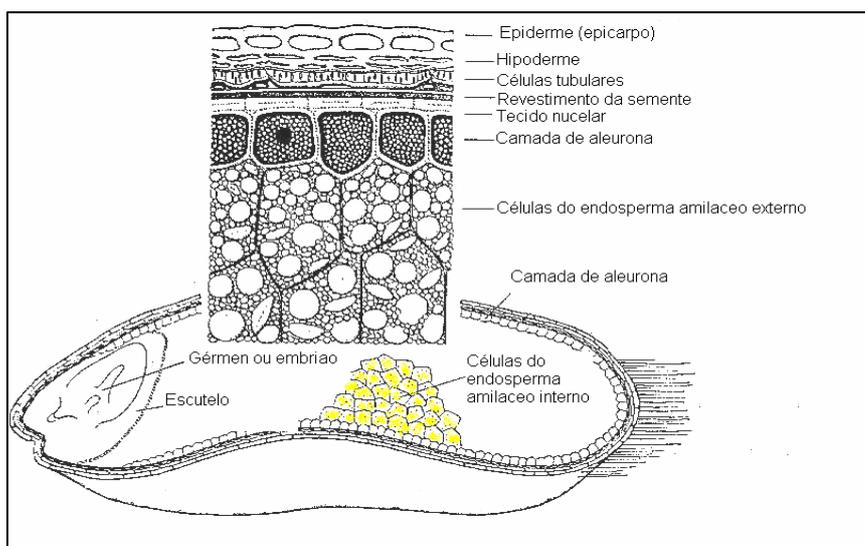


Figura 2 - Secção longitudinal do grão de trigo.

Fonte: BELITZ; GROSCH, 1997.

Com relação aos constituintes químicos estes não se distribuem uniformemente pelo grão. O pericarpo é rico em pentosanas, celulose, minerais e proteínas. A camada de aleurona é rica em minerais (fósforo, fitato), proteínas, lipídios, vitaminas (niacina, tiamina, riboflavina) e enzimas. O endosperma é composto basicamente de amido, mas sua parte mais externa (subaleurona) contém mais proteína que a porção interna. O gérmen tem alto conteúdo de proteínas, lipídios, açúcares redutores e minerais (HOSENEY, 1991; QUAGLIA, 1991; BELITZ; GROSCH, 1997).

2.1.1 Qualidade do trigo e influência na panificação

Os fatores de qualidade da farinha de trigo podem ser divididos em dois grupos básicos: os inerentes ao trigo, resultantes da composição genética e das condições de crescimento da planta e os que dependem do processo de armazenamento e moagem do trigo em farinha (QUEIJI; SCHEMIN; TRINDADE, 2006). A qualidade pode ser determinada através de uma série de características que apresentam significados diversos de acordo com a designação de uso ou tipo de produto. É possível dividir estas características em físicas, químicas, enzimáticas e reológicas (RASPER, 1991; RAO; RAO, 1993, SMANHOTTO et al., 2006).

O trigo é o cereal que apresenta melhor característica para panificação, conseqüentemente a qualidade industrial tem sido um dos mais importantes alvos do melhoramento genético de trigo. Esta qualidade depende, principalmente, das proteínas que estão intimamente ligadas ao patrimônio genético de uma variedade, as quais sofrem alterações causadas pelos fatores ambientais. Com relação às características de qualidade, há cultivares que interagem melhor com o ambiente em comparação a outros. Os experimentos de avaliação de cultivares em diferentes locais, com técnicas de cultivo definidas, fornecem informações importantes nesse aspecto (MANDARINO, 1993; CAMARGO; FRANCISLI; CAMPAGNOLLI, 1997).

O teor e a qualidade das proteínas formadoras de glúten (gliadina e glutenina) da farinha de trigo são os principais fatores responsáveis pelo seu potencial de panificação e a relação de proporção entre essas frações determina as diferentes características do glúten dos

diversos tipos de trigo. Além disto, o amido, lipídeos e outros componentes hidrossolúveis da farinha são também necessários para garantir o potencial de panificação com características adequadas como volume e textura, dependendo do teor e qualidade destes na farinha (TOUFEILI et al., 1999; BORLA et al., 2004; SILVA et al., 2004; QUEIJI; SCHEMIN; TRINDADE, 2006). A determinação do conteúdo protéico não é suficiente para definir a adequada classificação da qualidade industrial da farinha. Desse modo, existe a possibilidade de farinhas que apresentam o mesmo conteúdo protéico, diferirem na qualidade de panificação, em função da proporção dos grupos de proteínas do glúten (glutenina/gliadina) os quais, estão sujeitos a variações genéticas e ambientais (TOUFEILI et al., 1999).

A qualidade e propriedades reológicas do glúten são diretamente influenciadas pela qualidade e quantidade das gliadinas e gluteninas. A fração de gliadina confere ao glúten a viscosidade necessária para o desenvolvimento da massa, enquanto as gluteninas conferem a elasticidade necessária para a formação de uma massa com boa capacidade para suportar o stress que ocorre durante a fermentação e o amassamento (XU; BIETZ; CRAIG, 2007). O balanço entre estas duas frações de proteínas apresenta relação direta com a qualidade de panificação (TOUFEILI et al., 1999; WIESER, 2007). Assim, para uma qualidade ser representativa, deve haver combinação ideal entre quantidade e qualidade de proteínas presentes no trigo (SILVA et al., 2004).

A quantidade de glúten é facilmente determinada, porém não é suficiente para explicar as diferenças na farinha e nas propriedades de massa. A qualidade é mais complexa de ser determinada. Vários estudos tentam relacionar a qualidade com a presença ou ausência de frações específicas de proteínas do glúten, mas as diferenças estruturais das proteínas em diferentes genótipos de trigo são pequenas e muitas vezes restritas a poucos resíduos de aminoácidos da estrutura primária (WIESER; KIEFER, 2001).

2.1.2 Proteínas do trigo

As proteínas de reserva do trigo conferem a este cereal propriedades únicas, sendo a principal delas, a habilidade para formar uma massa resistente, com boas características para panificação. (HOSENEY, 1994).

O conteúdo protéico do grão oscila entre 7 e 18% com valores médios entre 10 e 13% (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989). De acordo com Osborne, as proteínas do trigo podem ser classificadas conforme sua solubilidade em água, sendo as albuminas solúveis em água, as globulinas solúveis em solução salina diluída, as prolaminas solúveis em solução alcoólica a 70-80% e as glutelinas solúveis em soluções ácidas ou alcalinas diluídas (HOSENEY, 1990; SGARBIERI, 1996).

Dentre os componentes protéicos do trigo, as frações insolúveis em água têm uma grande importância tecnológica. Em contato com a água estas frações unem-se através de ligações intermoleculares, formando o glúten, que confere resistência e elasticidade a massa obtida a partir da mistura de farinha e água (SGARBIERI, 1996).

É importante estabelecer a composição de aminoácidos da fração protéica antes mencionada (Tabela 1), com a finalidade de se colocar em evidência suas possíveis correlações com as características tecnológicas da farinha, mas também para determinar o valor biológico da mesma. A composição em aminoácidos da fração protéica determina o índice de aminoácidos essenciais que é responsável pelo valor biológico das mesmas, com maior proporção nas frações da albumina e da globulina e menor na glutenina e na gliadina. Isto indica que as proteínas presentes no trigo em maior quantidade são as que têm um menor valor biológico (SGARBIERI, 1996).

Tabela 1 – Perfil de aminoácidos do trigo, farinha e das frações protéicas da farinha em 100g de proteína (NT x 6,25).

Aminoácidos	Trigo	Farinha	Albumina	Globulina	Gliadina	Glutenina
Triptofano	1,5	1,5	1,1	1,1	0,7	2,2
Lisina	2,3	1,9	3,2	5,9	0,5	1,5
Histidina	2,0	1,9	2,0	2,6	1,6	1,7
Amônia	3,5	3,9	2,5	1,9	4,7	3,8
Arginina	4,0	3,1	5,1	8,3	1,9	3,0
Ácido aspártico	4,7	3,7	5,8	7,0	1,9	3,0
Treonina	2,4	2,4	3,1	3,3	1,5	2,4
Serina	4,2	4,4	4,5	4,8	3,8	4,7
Ácido glutâmico	30,3	34,7	22,6	15,5	41,4	34,2
Prolina	10,1	11,8	8,9	5,0	14,3	10,7
Glicina	3,8	3,4	3,6	4,9	1,5	4,2
Alanina	3,1	2,6	4,3	4,9	1,5	2,3
Cistina	2,8	2,8	6,2	5,4	2,7	2,2
Valina	3,6	3,4	4,7	4,6	2,7	3,2
Metionina	1,2	1,3	1,8	1,7	1,0	1,3
Isoleucina	3,0	3,1	3,0	3,2	3,2	2,7
Leucina	6,3	6,6	6,8	6,8	6,1	6,2
Tirosina	2,7	2,8	3,4	2,9	2,2	3,4
Fenilalanina	4,6	4,8	4,0	3,5	6,0	4,1

Fonte: SGARBIERI, 1996.

As proteínas do trigo podem ser classificadas quanto a suas funções, em metabólicas e estruturais, ou de reserva (Figura 3). As proteínas metabólicas, albuminas e globulinas, atuam no desenvolvimento do grão e no início da germinação. Sua principal função é nutricional, especialmente por apresentar composição em aminoácidos razoavelmente bem balanceada. As proteínas estruturais ou de reserva, gliadinas (classe das prolaminas) e gluteninas (classe das glutelinas), são a principal fonte de aminoácidos para o desenvolvimento do embrião durante a germinação. Essas proteínas são as mais importantes do ponto de vista tecnológico, pois desempenham papel fundamental na produção do pão (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989; SGARBIERI, 1996).

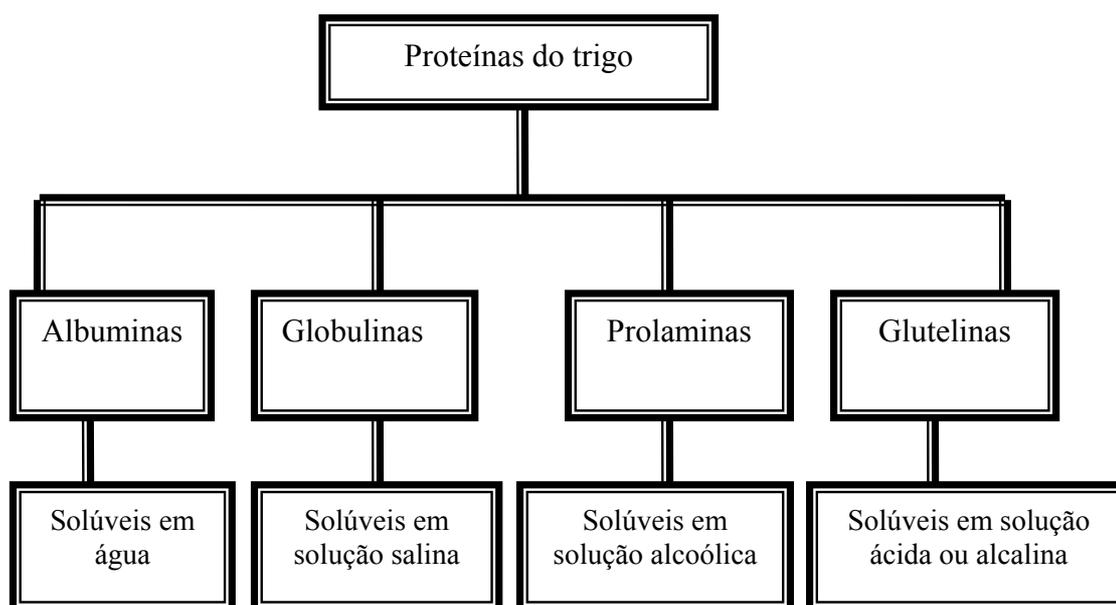


Figura 3 – Fluxograma da classificação das proteínas do trigo.

Fonte: SGARBIERI, 1996.

As albuminas e globulinas representam cerca de 10 a 15% do conteúdo de proteína total da farinha de trigo (endosperma) e ocorrem em estruturas dobradas compactamente. Elas contêm altos índices de lisina, arginina e outros aminoácidos, assim como grupos sulfidrilas livres ou tióis. Análises de massa molar indicaram que as albuminas representam os menores componentes da proteína da farinha de trigo com valores de massa molar na faixa de 12000 a 26250 g/mol. Quanto às globulinas do trigo, estima-se que tenham massas molares na faixa de 25000 a 100000 g/mol, que é comparável às das gliadinas. As albuminas e globulinas também são referidas como proteínas solúveis, pois são facilmente solubilizadas em água ou soluções salinas neutras diluídas (globulinas). Quando as globulinas e/ou albuminas foram excluídas da farinha, as características dos pães, avaliadas por teste de panificação, foram comparáveis àquelas obtidas com a farinha original, o que levou a conclusão de que as proteínas solúveis não desempenham papel essencial na panificação. Portanto na determinação de diferenças de qualidade entre amostras, as frações albumina e globulina, são de menor importância (FENNEMA, 1996; SGARBIERI, 1996).

2.1.2.1 Gliadinas e gluteninas

As gliadinas assim como as gluteninas desempenham papel importante com relação às propriedades reológicas da massa, porém suas funções são divergentes (WIESER, 2007).

As gliadinas hidratadas (com baixo teor em cisteína) apresentam pouca elasticidade e são menos coesivas do que as gluteninas. Estão relacionadas com a viscosidade do sistema da massa do pão. As gluteninas hidratadas (polímeros estabilizados pelas pontes dissulfeto, resultantes da ligação dos resíduos de cisteína) são coesivas e elásticas responsáveis pela elasticidade da massa (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989; JEREZ et al., 2005; WIESER, 2007; XU; BEITZ; CARRIERI, 2007). As gliadinas e gluteninas representam cerca de 80-90% das proteínas totais da farinha de trigo (SONG; ZHENG, 2007), sendo necessário um balanço entre estas frações para obter-se um produto de qualidade (TOUFEILI et al., 1999; SILVA et al., 2004; WIESER, 2007).

As gliadinas e gluteninas em seu estado nativo são compactadas em uma típica estrutura globular. As altas proporções de prolina, glutamina e outros aminoácidos tais como fenilalanina e glicina, resultam da presença nestas proteínas, de seqüências repetidas (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989).

O conhecimento sobre o conteúdo e seqüência de aminoácidos nas principais proteínas do grão do trigo, possibilitado pela biologia molecular, é fundamental para o entendimento de suas propriedades funcionais. Dentre os aminoácidos presentes nas proteínas de reserva predominam os apolares, sendo que os resíduos de aminoácidos polares ocorrem em quantidades ligeiramente menores e os resíduos com cargas elétricas compreendem somente cerca de 10%. Esse perfil de composição de aminoácidos produz proteínas dobradas compactamente de forma a minimizar a exposição de resíduos hidrofóbicos em meio aquoso (SGARBIERI, 1996).

Em função da relativa ausência de grupos com cargas de superfície, combinada com a presença de áreas hidrofóbicas e de resíduos capazes de formar pontes de hidrogênio, as proteínas de reserva são altamente sensíveis à concentração de sal. Baixos níveis deste são suficientes para ocultar as forças de repulsão das proteínas com cargas parecidas, permitindo-lhes interagir entre elas e com ácidos orgânicos e lipídios (SGARBIERI, 1996).

Apesar de a cisteína ser um aminoácido presente em menor quantidade nas proteínas do glúten (aproximadamente 2%), é extremamente importante para a estrutura e funcionalidade do mesmo. A maioria da cisteína está presente no estado oxidado e pode formar ligações dissulfeto intramoleculares em uma proteína, ou intermoleculares entre as proteínas. Estas ligações são alvos principais para a maioria de reações que ocorrem durante a maturação do grão, moagem, preparação da massa e cozimento (WIESER, 2007).

Ligações covalentes adicionais formadas durante a panificação são ligações cruzadas tirosina – tirosina entre as proteínas do glúten (TILLEY et al., 2001). A estrutura covalente da rede do glúten é sobreposta por ligações não covalentes (pontes de hidrogênio, ligações iônicas, ligações hidrofóbicas). Apesar de esta classe de ligações químicas ter menos energia que as covalentes, estão claramente implicadas na agregação da proteína do glúten e na estrutura e propriedades da massa (FALCÃO-RODRIGUES; MOLDÃO-MARTINS; BEIRÃO-DA-COSTA, 2005). A estrutura de rede do glúten é estabilizada através de ligações dissulfeto, interações hidrofóbicas e pontes de hidrogênio (CHIANG; CHEN; CHANG, 2006). A evidência da presença das pontes de hidrogênio nas proteínas do glúten está no enfraquecimento da massa por agentes que quebram estas pontes, por exemplo, a uréia. A importância das ligações iônicas pode ser demonstrada pelo efeito reforçador do NaCl. Ligações hidrofílicas contribuem consideravelmente à estabilização da estrutura do glúten. Estas são diferentes de outras ligações porque a sua energia aumenta com aumento de temperatura, o que pode dar estabilidade adicional durante o processo de panificação (WIESER, 2007).

A gliadina, que constitui aproximadamente 30 a 45% do glúten purificado, é uma mistura altamente heterogênea de proteínas solúveis em etanol 70%. É formada por cadeias simples e torna-se extremamente viscosa quando hidratada. Apresenta pequena ou nenhuma resistência à extensão (HOSENEY, 1998). As unidades estruturais da gliadina apresentam ligações dissulfeto intramoleculares (RAKSZEGI et al., 2005), poucos grupos sulfidrilas livres e formam, naturalmente, polímeros filamentosos através de ligações não covalentes como pontes de hidrogênio, Van der Waals, interações eletrostáticas e hidrofóbicas (SGARBIERI, 1996).

A maioria das gliadinas apresentam-se como monômeros (RAKSZEGI et al., 2005; SONG; ZHENG, 2007) e são classificadas em quatro grupos de acordo com sua mobilidade

a baixo pH em gel de eletroforese sendo eles as alfas (rápidas), betas (médias), gamas (médias) e ôegas gliadinas (lentas) (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989; WIESER, 2007). São formadas por pelo menos 46 subunidades e devido à alta complexidade e também a sua heterogeneidade, é muito difícil conseguir separar todos estes componentes (ROCHER et al., 1995). A alfa, beta e gama gliadinas têm massa molar variando de 30.000 a 40.000 g/mol e as ômega-gliadinas entre 60.000 a 80.000 g/mol (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989).

Em geral, as gliadinas apresentam cerca de 20% da estrutura em alfa-hélice e pouca ou nenhuma beta-estrutura. A estrutura terciária globular compactamente dobrada possibilita o aumento da solubilidade pela elevação da temperatura e o aumento da viscosidade pela completa destruição da estrutura terciária. Estudos eletroforéticos têm demonstrado que os padrões da banda gliadina variam levemente entre as variedades do trigo (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989).

As gluteninas são polímeros (OVIDIO; MASCI, 2004) e também pertencem a um grupo heterogêneo de proteínas, com cadeias ramificadas e massa molar variável de 100.000 a vários milhões g/mol (HOSENEY, 1998). Fisicamente são elásticas, e resistentes à ruptura, devido à sua estrutura e massa molar (SGARBIERI, 1996). Elas contribuem para a elasticidade da massa (SHEWRY; TATHAM, 1997; WIESER, 2007). As gluteninas apresentam um polimorfismo mais acentuado do que as gliadinas (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989). Apresentam ligações dissulfeto intramoleculares e também grupos sulfidrila livres que, por oxidação, formam ligações dissulfeto intermoleculares (SGARBIERI, 1996; SHEWRY; TATHAM, 1997; RAKSZEGI et al., 2005).

As seguintes observações levam a conclusão de que as subunidades de glutenina são unidas através de ligações dissulfeto intermoleculares: nenhum solvente capaz de dissolver a glutenina promove a dissociação completa do complexo; a clivagem das ligações dissulfeto produz uma rápida dissociação do complexo. A rápida diminuição da viscosidade da glutenina mediante clivagem das ligações dissulfeto e a sensibilidade da massa panificável a reagentes que atacam estas ligações, são evidências de que as ligações dissulfeto são importantes na determinação das propriedades da glutenina (SGARBIERI, 1996).

Após a redução das ligações dissulfeto, as subunidades resultantes da glutenina apresentam solubilidade em solução alcoólica semelhante à gliadina (WIESER, 2007). A glutenina pode ser dividida em glutenina de baixa massa molar (LMW) e glutenina de alta massa molar (HMW) (PEÑA et al., 2006; WIESER, 2007). A proporção das subunidades de LMW em relação a HMW é de aproximadamente 3 para 1, dependendo das variações entre diferentes cultivares (KOVACS et al., 2004).

A importância dos polímeros de glutenina no processo de panificação tem sido reconhecida por muitos anos (DOBRSZCZYK, 2004). Mais precisamente, a glutenina compreende vários agregados protéicos compostos de subunidades unidas por ligações dissulfeto. A farinha de trigo contém grande quantidade de gluteninas de alta massa molar insolúveis em ácido acético, que foram encontradas em quantidades muito menores na cevada e no centeio, não ocorrendo no arroz, milho ou sorgo. Na presença de ácido fenol acético, duodecil sulfato de sódio (SDS) ou 2-cloroetano 70%, essas gluteninas formam um gel e por esta razão frequentemente são chamadas gel de proteínas (FENNEMA, 1996). Sabe-se que as gluteninas de alta massa molar desempenham uma função importante nas características da massa, porém o mecanismo ainda não está bem elucidado (DOBRSZCZYK, 2004).

2.1.2.2 Glúten

A gliadina e glutenina combinadas possuem a propriedade de formar com água e energia mecânica uma rede tridimensional viscoelástica extremamente importante devido a sua capacidade de influenciar na qualidade final dos produtos (Figura 4). Uma série de fatores contribui para as características da massa, contudo as grandes responsáveis pelas propriedades funcionais são as proteínas do glúten (BOBBIO; BOBBIO, 1992).

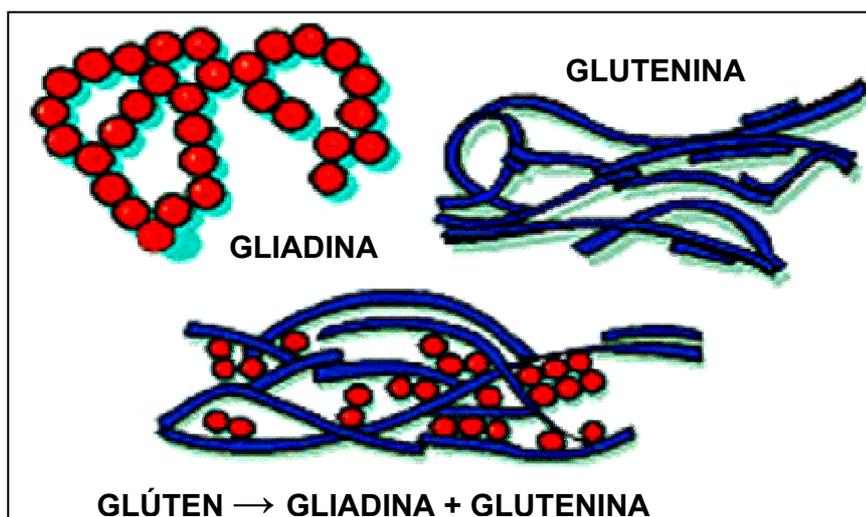


Figura 4 – Representação esquemática da gliadina, glutenina e glúten.

Fonte: QUAGLIA, 1991.

Na prática o termo glúten se refere às proteínas, devido ao fato de elas determinarem à qualidade de panificação. O glúten contém centenas de componentes protéicos os quais estão presentes como monômeros ou unidos através de ligações dissulfeto como polímeros (WIESER, 2007).

Segundo SGARBIERI (1996), o glúten é um complexo de proteína-lipídio-carboidrato que apresenta a seguinte composição: proteína (75%); carboidrato (15%); lipídio (6%) e minerais (0,8%). As proteínas do glúten representam cerca de 80 a 90% das proteínas totais dos grãos e como mencionados anteriormente pertencem a duas classes, ou seja, as gliadinas, que pertencem à classe das prolaminas, e as gluteninas, da classe das glutelinas (Figura 5) (SONG; ZHENG, 2007).

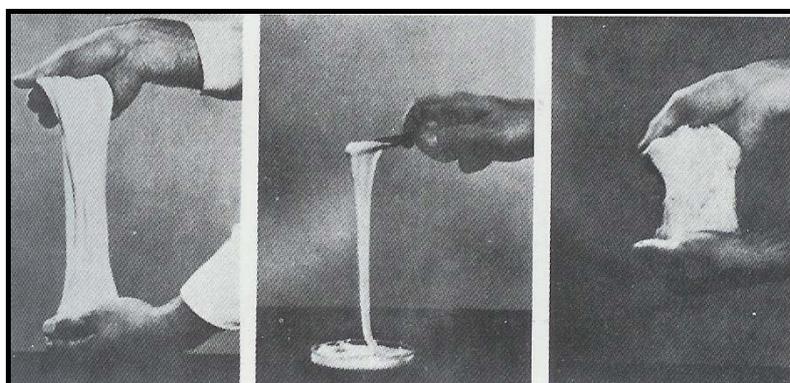


Figura 5 – Glutenina, gliadina e glúten.

Fonte: FENNEMA, 1996.

O glúten foi isolado pela primeira vez há quase 300 anos pelo italiano Beccari, que conduziu uma experiência simples de “enxaguar” a farinha de trigo com água. Esta experiência que pode ser facilmente reproduzida transformou-se na base para a indústria, a qual utiliza toneladas de trigo anualmente. O processo comercial atual é basicamente uma repetição eficiente da experiência de Beccari (DAY et al., 2006).

Durante a fabricação do pão, mais especificamente durante a mistura dos ingredientes, a formação do glúten acontece em diferentes estágios: no primeiro, as moléculas de proteína são hidratadas e as suas fibrilas se aderem umas as outras formando uma rede desorganizada de fios espessos. A ação mecânica torna os fios mais finos e os orienta na direção em que foram submetidos à força, permitindo a interação entre eles. No último estágio aparece o pico de consistência, no qual as fibrilas de proteína têm seu diâmetro reduzido significativamente e interagem mais bidimensionalmente do que em um único eixo. Neste estágio a massa pode ser estendida em forma de filme contínuo (STAUFFER, 1998).

Em panificação, o glúten, é o componente que retém o gás carbônico produzido durante o processo de fermentação e faz com que o pão aumente de volume. Pães feitos com glúten têm maior concentração de proteínas e menor teor de amido do que outros pães. Quando uma farinha apresenta maior capacidade de reter o gás carbônico, ela é classificada como uma farinha de trigo forte. Uma farinha fraca, não apresenta tal característica. A expressão "força de uma farinha" é utilizada para designar a maior ou menor capacidade de uma farinha de sofrer um tratamento mecânico quando misturada à água, associada à maior ou menor capacidade de absorção pelas proteínas formadoras do glúten e combinadas com a capacidade de retenção do gás carbônico, o que resultará em um produto de panificação com características desejáveis (WILLIAN, 1986; CURTIS et al., 2002).

A palavra glúten também é usada (erroneamente), no comércio, para referir-se ao resíduo de proteína do milho após isolamento do amido. Entretanto, este “glúten de milho” é funcionalmente muito diferente do glúten do trigo (PATIL, 2004). Uma outra conotação do termo glúten relaciona-se à família das proteínas que causam problemas dietéticos o que chamamos de doença celíaca. Neste caso, o termo glúten inclui as proteínas de reserva dos grãos de trigo, centeio, triticale, cevada e possivelmente aveia (KASARDA, 2001). Assim, os alimentos livres de glúten são os isentos das proteínas destes cereais, ou àqueles em que o

índice de proteína no cereal é menor do que uma quantidade definida em abaixo de 200 ppm (DAY et al., 2006).

A doença celíaca é uma enfermidade digestiva que ocorre devido ao efeito tóxico da fração protéica do glúten. É caracterizada por uma inflamação no intestino delgado (diminuição das vilosidades do intestino) afetando a absorção de água e nutrientes, causando em alguns casos desnutrição (DAY et al., 2006). A doença afeta indivíduos com predisposição genética e geralmente manifesta-se na infância, entre o primeiro e o terceiro ano de vida, podendo surgir em qualquer idade, inclusive no adulto (ACELBRA, 2006). As prolaminas representam a fração tóxica e variam de acordo com o tipo de cereal sendo a gliadina no trigo, secalina no centeio, hordeína na cevada e a avenina na aveia (WIESER, 1996; THOMPSON, 1997). A orientação para os celíacos é a retirada total de produtos que contenham glúten da sua dieta (DAY et al., 2006).

Na avaliação dos produtos de panificação a análise do glúten é importante para o conhecimento de características reológicas da massa como elasticidade, extensibilidade, resistência ao estiramento, tolerância à mistura e habilidade em reter gás. Técnicas reológicas, como a oscilação, têm sido usadas em muitos estudos com relação às propriedades mecânicas do glúten e massas de trigo bem como a relação entre estas propriedades e os atributos de qualidades dos produtos finais (LAZARIDOU et al., 2006).

2.1.3 Aditivos em panificação e a utilização da L-cisteína

Para uma farinha de trigo apresentar potencial de panificação tem que ser capaz de produzir, uniformemente, um produto final atrativo com custo competitivo. Se a farinha não apresentar bons resultados no produto final, poderá ser suplementada com aditivos, que farão o seu tratamento, visando corrigir características funcionais (QUEIJI; SCHEMIN; TRINDADE, 2006). Os aditivos são substâncias capazes de inibir, enaltecer, complementar, otimizar ou alterar os componentes ou as características da farinha de trigo (CARVALHO, 1999).

Os aditivos são adicionados em pequenas quantidades para melhorar as características de processamento ou qualidade final dos produtos (INDRANI; RAO, 2006).

Durante a panificação, diferentes ingredientes como agentes oxidantes, emulsionantes, entre outros, são utilizados para melhorar a qualidade da panificação. A ação destes ingredientes pode ser controlada se as mudanças químicas e físicas ocorridas forem bem compreendidas (SINGH, 2005). O uso de aditivos não ajuda somente a melhorar qualidades como a textura, cor, volume e outros atributos sensoriais, mas também auxilia na consistência de alguns produtos (INDRANI; RAO, 2006).

Em se tratando de tecnologia de panificação, os aditivos constituem um grupo de produtos de grande importância (ROSELL; ROJAS; BARBER, 2001). Os processos atuais de fabricação dos produtos de panificação, e a grande escala de produção exigida pelo mercado foram os principais responsáveis pela utilização de aditivos. Embora eles não sejam considerados matérias-primas essenciais, a sua presença auxilia na obtenção de produtos de qualidade, principalmente, aqueles aditivos que atuam na correção de possíveis deficiências na qualidade da farinha de trigo.

A ANVISA define aditivo alimentar como “qualquer ingrediente adicionado intencionalmente aos alimentos, sem propósito de nutrir, com o objetivo de modificar as características físicas, químicas, biológicas ou sensoriais, durante a fabricação, processamento, preparação, tratamento, embalagem, acondicionamento, armazenagem, transporte ou manipulação de um alimento”. Esse agregamento poderá resultar em que o próprio aditivo ou seus derivados se convertam em um componente de tal alimento. Essa definição não inclui os contaminantes ou substâncias nutritivas que sejam incorporadas ao alimento para manter ou melhorar suas propriedades nutricionais. No Brasil os aditivos alimentares estão classificados de acordo com a função que possuem no alimento, seguindo a Portaria nº 540 - SVS/MS, de 27 de outubro de 1997 (ANVISA, 2007).

De acordo com Pavanelli (2000), existem três possíveis vias de incorporação de aditivos em produtos de panificação. A primeira forma de incorporação é a utilização dos aditivos isoladamente. Isso se aplica principalmente às indústrias de panificação, que definem quais são os aditivos que necessitam utilizar para cada tipo de produto, e os adicionam separadamente à massa, conforme suas necessidades. Uma segunda forma de agregação de aditivos aos produtos de panificação é através dos produtos denominados “condicionadores de panificação”, “melhoradores de panificação” ou ainda “unificados”. Estes produtos são constituídos por uma mistura dos principais aditivos para panificação, em

quantidades fixas e ajustadas para o tipo de pão que se deseja fabricar. Podemos ter os veiculados em amido, “condicionadores em pó” ou veiculados em gordura, “condicionadores em pasta”. Este tipo de produto é ideal para ser utilizado pelas padarias e supermercados, porque facilita o trabalho do padeiro, já que dificilmente ele poderia utilizar os aditivos separadamente, uma vez que as quantidades necessárias são muito pequenas. A terceira forma de incorporação dos aditivos é através das “misturas industriais” para panificação. Essas misturas são produzidas pelos moinhos de trigo, e são constituídas por todos os ingredientes necessários à fabricação de um determinado tipo de pão como, por exemplo, farinha, sal, açúcar, gordura, e também por todos os aditivos, nas quantidades exigidas pelo tipo de farinha que foi utilizado na mistura. A mistura, então, é destinada às padarias e supermercados, e o padeiro, para fabricação do pão, necessita adicionar apenas a água e o fermento biológico.

Os aditivos atuam, de maneira geral, corrigindo ou neutralizando deficiências da farinha de trigo, o que facilita a padronização da qualidade dos produtos finais. Eles também podem alterar o comportamento reológico das massas, melhorando características de extensibilidade e elasticidade das massas. Outra função extremamente importante dos aditivos é o prolongamento da vida-de-prateleira, o que reduz as perdas do fabricante por retorno de produto (ROSELL; ROJAS; BARBER, 2001).

Os aditivos ainda proporcionam maior segurança contra falhas no processo, como por exemplo, períodos prolongados de amassamento mecânico ou fermentações mais longas. Todos estes efeitos dos aditivos resultam em melhor qualidade do produto final (ROSELL et al., 2001). No entanto, é importante salientar que a obtenção destes benefícios só é possível com a utilização correta dos aditivos, ou seja, sua dosagem deve ser sempre adequada ao tipo de farinha, ao produto final desejado e ao processo de panificação que se está utilizando (PAVANELLI, 2000).

Dentre as substâncias utilizadas no tratamento da farinha de trigo com a finalidade de torná-la potencialmente panificável destacam-se como categorias mais importantes a dos emulsificantes, dos melhoradores de farinha e dos conservantes. A categoria de melhoradores de farinha engloba aditivos que atuam como agentes oxidantes, agentes redutores, agentes branqueadores de farinha e também algumas enzimas como amilases e proteases (EL-DASH, 1990; PAVANELLI, 2000).

O melhorador de farinha é uma mistura de enzimas e/ou produtos químicos e naturais que é agregada à massa do pão para conferir à farinha o comportamento mecânico necessário ao processo de panificação e/ou conferir aumento da vida útil de produtos de panificação. Teoricamente, todas as farinhas teriam que fornecer, de maneira ideal, uma capacidade de deformação elástica e viscosa à massa do pão, de forma a que o produto final apresentasse o volume, a resistência e a textura desejáveis pelos consumidores. Ocorre, no entanto, que devido a diversas variedades de grãos, no processo de cultivo do trigo no campo e variações climáticas em seu processo de moagem, muitas vezes originam farinhas que não se comportam como o esperado. O melhorador, assim, é usado para garantir à farinha a forma adequada (os requisitos de capacidade de deformação elástica e viscosidade à massa do pão) para que ela se comporte de maneira mais próxima ao ideal, minimizando perdas e variações de processo, assim como de qualidade dos pães (MINISTÉRIO DA FAZENDA, 2004).

Neste contexto, a L-cisteína encaixa-se na descrição de melhorador, sendo utilizada quando é necessário enfraquecer uma farinha que é muito forte para a fabricação de determinado produto. Atua como um agente redutor, diminuindo o tamanho das proteínas, por promover a formação de grupos sulfidrilas livres (SH) apresentando influência na reologia do glúten. O aumento da concentração de L-cisteína reduz, gradualmente, o grau de ligações cruzadas ou “cross-link” no glúten (SONG; ZHENG, 2007).

Na produção do pão, é importante a existência de certa quantidade de grupos sulfidrilas livres (SH). No glúten estes grupos tendem a se oxidar durante a batida da massa, transformando-se em ligações dissulfeto (SS) (LI et al., 2004). Efeito semelhante se obtém com a adição de agentes oxidantes à farinha, assim como o envelhecimento das farinhas, melhorando as propriedades reológicas do glúten (SGARBIERI, 1996).

As ligações dissulfeto ocorrem com muita frequência na estruturação das proteínas (SGARBIERI, 1996) e são formadas através de resíduos de cisteína (SHEWRY; TATHAM, 1997) e possuem grande importância no desenvolvimento de uma massa panificável (SONG; ZHENG, 2007; WIESER, 2007). Como os grupos sulfidrilas formados apresentam uma forte tendência em se reoxidar e reformar as ligações dissulfeto, os grupos sulfidrilas deverão ser protegidos ou bloqueados por reagentes específicos que impeçam a sua oxidação (SGARBIERI, 1996).

Os agentes redutores, como a L-cisteína, agem de modo oposto aos oxidantes, ou seja, eles atuam sobre as ligações dissulfeto, bloqueando-as ou rompendo-as e assim modificam a estrutura e as propriedades funcionais das proteínas do trigo formadoras do glúten. Dessa maneira, enfraquecem o glúten proporcionando mais extensibilidade e diminuindo o tempo de desenvolvimento da massa. Estes agentes atuam na quebra das bandas SS resultando na diminuição da massa molar e aumento da extração das proteínas (HAYTA; SCHOFIELD, 2004; INDRANI; RAO, 2006).

A cisteína (Figura 6) é um aminoácido não-essencial sendo a China seu maior produtor. Embora muitos aminoácidos estejam disponíveis já há bastante tempo através da fermentação só em 2001 uma companhia alemã apresentou uma via fermentativa para a produção de L-cisteína, sem o recurso a produtos animais ou humanos. A L-cisteína é o enantiômero naturalmente abundante da cisteína. Pelo fato da L-cisteína livre ser instável à oxidação, normalmente é encontrada na forma de cloridrato, que é relativamente mais estável (WIKIPÉDIA, 2007).

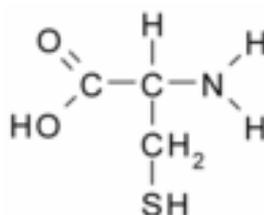


Figura 6 - Estrutura linear da cisteína.

Alimentos ricos em cisteína incluem pigmentos vermelhos, alho, cebola, brócolis, aveia e gérmen de trigo. Uma das maiores aplicações da cisteína, particularmente a L-cisteína, é a produção de aromas. Por exemplo, a reação da cisteína com açúcares, pela reação de Maillard, resulta num produto com gosto de carne. É bastante usada industrialmente em pastelaria e padaria, em doses que não excedem as dezenas de ppm, para amaciar a massa, reduzindo o seu tempo de processamento e substitui a incorporação de energia mecânica por energia química (WIKIPÉDIA, 2007).

As farinhas de trigo, que são destinadas à panificação no Brasil, podem conter uma quantidade de cloridrato de L-cisteína de 0,009 ppm de acordo com a Resolução nº383 de 05 de agosto de 1999 da ANVISA.

Na prática, é possível verificar, indiretamente, o potencial de panificação de uma farinha de trigo através de um conjunto de análises físicas e químicas. Dentre estas análises, de grande importância, estão as relacionadas ao comportamento reológico da massa (QUEIJI; SCHEMIN; TRINDADE, 2006).

2.2 Reologia e sua importância

A reologia pode ser descrita como o estudo da deformação e fluxo da matéria. É a análise comportamental de como os materiais respondem à aplicação de uma força ou à deformação (SOLUTIONS, 1996; STEFFE, 1996; HOSENEY, 1998; RAO, 1999). Esta definição do termo reologia foi oficialmente aceita com a fundação da Sociedade Americana de Reologia em 1929 (SOLUTIONS, 1996). A relevância do estudo desta relação é justificada pelo fato de que diferentes materiais respondem de forma diferente às forças externas a que são submetidos.

Em outras palavras, a reologia estuda o modo de como os materiais se deformam ao longo do tempo quando são submetidos a tensões. Esta definição envolve tensão, deformação e tempo. Para a determinação das propriedades reológicas de um material, deve-se medir a deformação provocada por uma dada tensão ou medir-se a tensão requerida com a finalidade de se produzir certa deformação em um tempo determinado. Existem dois desafios principais na reologia: o primeiro é o estabelecimento de uma relação quantitativa entre deformação e tensão ao longo do tempo para o material estudado. O segundo é o desenvolvimento de relações entre o comportamento reológico de um material e sua estrutura, composição e condições ambientais como a temperatura e a pressão (DEALY; WISSBRUM, 1990).

A deformação ocorre no caso da matéria estar em estado sólido, e o escoamento, quando a matéria está no estado líquido. Pode-se dizer que uma das diferenças básicas entre sólidos e líquidos sob tensão de cisalhamento é que em sólidos ela causa a deformação enquanto em líquidos ela causa uma taxa de deformação, ou simplesmente, que os sólidos

são elasticamente deformados, enquanto que os líquidos fluem (SCHRAMM, 2006). Em materiais sólidos, a propriedade de maior interesse é a elasticidade e, em líquidos, a viscosidade. No entanto, os materiais não podem ser diferenciados em sólidos ou líquidos com clareza, de modo que a propriedade reológica de interesse nestes casos é a viscoelasticidade (PASQUEL, 1999; RAO, 1999; PARK; LEITE, 2001).

Todos os materiais apresentam propriedades reológicas (STEFFE, 1996). A reologia estuda parâmetros como a viscosidade, plasticidade, elasticidade e o escoamento da matéria, ou seja, é um estudo sobre as mudanças na forma e no fluxo de um material. Estas características são indispensáveis para o projeto, avaliação e operação dos equipamentos de processos industriais e como medida de qualidade de produtos (WANG et al., 2000; PELEGRINE; VIDAL; GASPARETTO, 2003).

As propriedades reológicas dos materiais são de grande valor para a indústria alimentícia, pois através delas é possível otimizar matérias-primas e diferentes processos utilizados pela indústria, a qual busca cada vez mais por produtos com boas características nutricionais, tecnológicas e sensoriais (RAO, 1986; WANG et al., 2000).

Para o controle de qualidade é de grande relevância saber onde e como os materiais são usados ou processados e sob quais condições de teste, para assim obter a resposta se é mais viscoso do que elástico e vice-versa (SCHRAMM, 2006). Para o consumidor, as características reológicas são percebidas principalmente pelo tato e, em menor extensão, pela visão (CAMPOS, 1989).

Como exemplos de áreas, nas quais os dados reológicos podem ser aplicados, é possível citar (STEFFE, 1996; MANOHAR; MANOHAR; HARIDAS, 1998; DOBRASZCZYK; MORGENSTERN, 2003):

- Teste de vida de prateleira;
- Avaliação da textura dos alimentos com relação aos dados sensoriais;
- Determinar a funcionalidade de ingredientes no desenvolvimento de produtos;
- Controle da qualidade final do produto;

- Cálculos de processos de engenharia para o desenvolvimento de tubulações, bombas, extrusadores, mixadores, homogenizadores, entre outros equipamentos.

2.3 Comportamento reológico

O comportamento reológico dos materiais pode ser classificado através de dois extremos idealizados: sólidos ideais (Lei de Hooke – hookeanos) e fluidos ideais (Lei de Newton – newtonianos). Se um material é um sólido hookeano, uma dada tensão aplicada corresponde a uma deformação, independente do tempo, e a energia aplicada é recuperada com o corpo voltando à sua forma original. Para um fluido perfeitamente viscoso, não há recuperação de energia, sendo esta dissipada com a deformação permanente do material (STEFFE, 1996). Então, os sólidos ideais deformam-se elasticamente e a energia de deformação é totalmente recuperada quando termina o estado de tensão. Já os fluidos ideais escoam, ou seja, deformam-se de forma irreversível e a energia de deformação é dissipada na forma de calor. Assim, em fluidos, a energia de deformação não é recuperada após a retirada da tensão (GUNASEKARAN, 2000; SCHRAMM, 2006).

Somente alguns líquidos de importância técnica ou prática aproximam-se dos líquidos com comportamento ideal. O comportamento reológico da maioria dos líquidos os classifica entre os líquidos e os sólidos, sendo elásticos e viscosos e portanto são chamados de viscoelásticos. Os sólidos podem sofrer tensão como, por exemplo, a cisalhante, enquanto a água pode ser somente cisalhada. Esta classificação do comportamento reológico relacionado com os resultados a certa tensão aplicada sobre o material deve ser posteriormente estendida para a escala de tempo do processo de deformação. Esta teoria consta até mesmo em textos bíblicos: “tudo flui, até as montanhas, se você esperar o tempo suficiente” (SCHRAMM, 2006).

A elasticidade é a característica de materiais que retornam ao seu formato de origem assim que a carga é removida e cessam as tensões no material. Esta deformação é diretamente proporcional a esta tensão associada e independente da taxa de deformação. Em um material que apresenta comportamento puramente elástico, todo trabalho realizado para deformá-lo é armazenado como energia elástica, a qual será devolvida quando lhe for permitido retornar a sua forma original. Para a viscosidade, diferentemente do que ocorre

em sólidos elásticos, a tensão não se relaciona com a quantidade de deformação e sim com a taxa de deformação, estes são conhecidos como fluidos newtonianos (DEALY; WISSBRUM, 1990; WARD; HADLEY; 1993). A figura 7 demonstra a classificação do comportamento reológico.

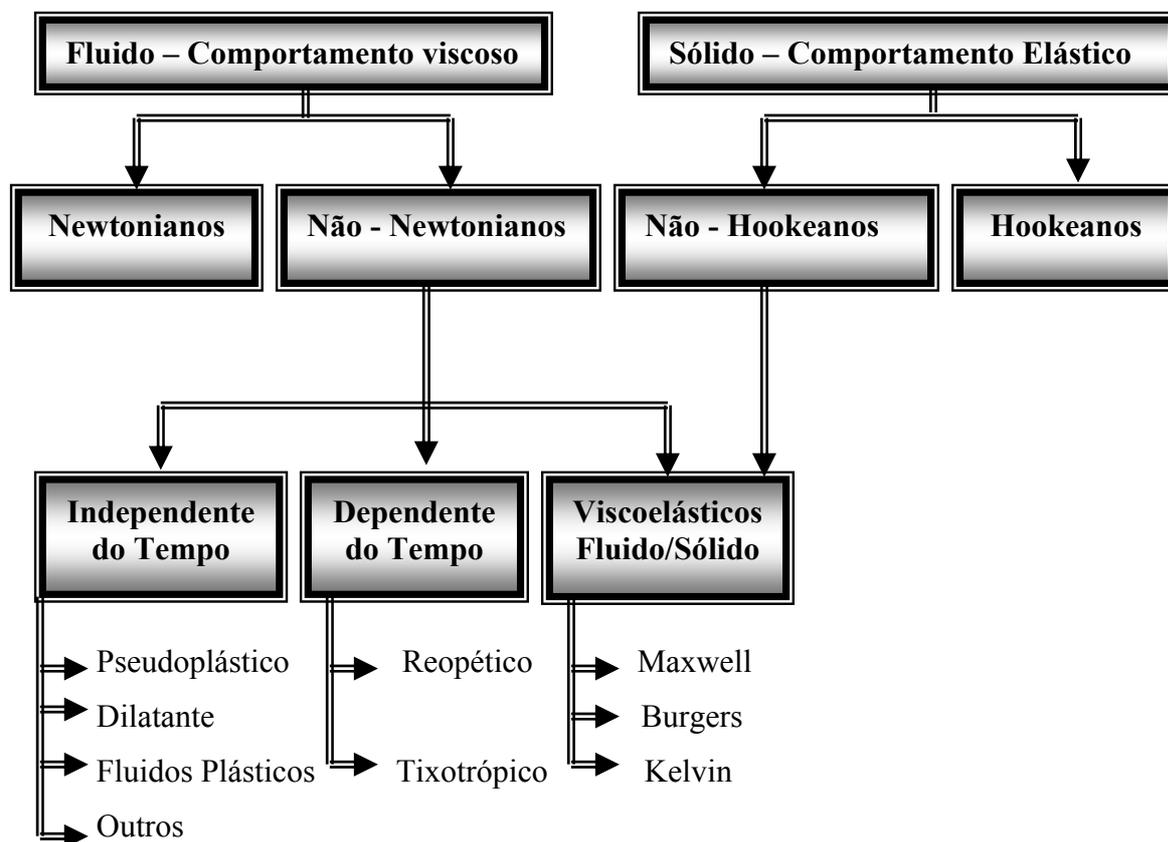


Figura 7 – Fluxograma da classificação do comportamento reológico.

2.3.1 Fluidos Newtonianos e não-Newtonianos

O comportamento reológico dos fluidos divide-se em Newtonianos e não-Newtonianos, sendo os Newtonianos caracterizados por uma relação linear entre tensão de cisalhamento e a taxa de deformação aplicada, dependendo apenas da temperatura e da composição do fluido, enquanto os não-Newtonianos são os fluidos inelásticos, dependentes ou independentes do tempo de aplicação da tensão de cisalhamento (GOMES et al.; 2001).

2.3.1.1 Fluidos Newtonianos

A classificação dos fluidos em relação ao comportamento reológico envolve a determinação e análise da relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação para uma determinada condição de pressão e temperatura (STEFFE, 1996).

Os fluidos Newtonianos ou líquidos ideais são aqueles que obedecem à lei de Newton, onde a tensão de cisalhamento é diretamente proporcional ao gradiente de velocidade e a viscosidade é constante, para certas condições de temperatura e pressão. Em um gráfico de tensão de cisalhamento *versus* taxa de deformação, comportam-se segundo uma reta passando pela origem (Figura 8). O escoamento inicia-se assim que a tensão é aplicada (LEWIS, 1993; SCHRAMM, 2006). Mudanças ocorridas na taxa de cisalhamento não são capazes de afetar a viscosidade (SCHRAMM, 2006). A viscosidade não depende da taxa ou da quantidade de deformação, mas é uma constante de proporcionalidade entre tensão e a taxa de deformação, característica de cada material (DEALY; WISSBRUM, 1990). Nos alimentos Newtonianos a viscosidade é influenciada somente pela temperatura e composição (PENNA, 1997). Como exemplo de fluidos Newtonianos é possível citar: água, óleo mineral, melado, entre outros (SCHRAMM, 2006).

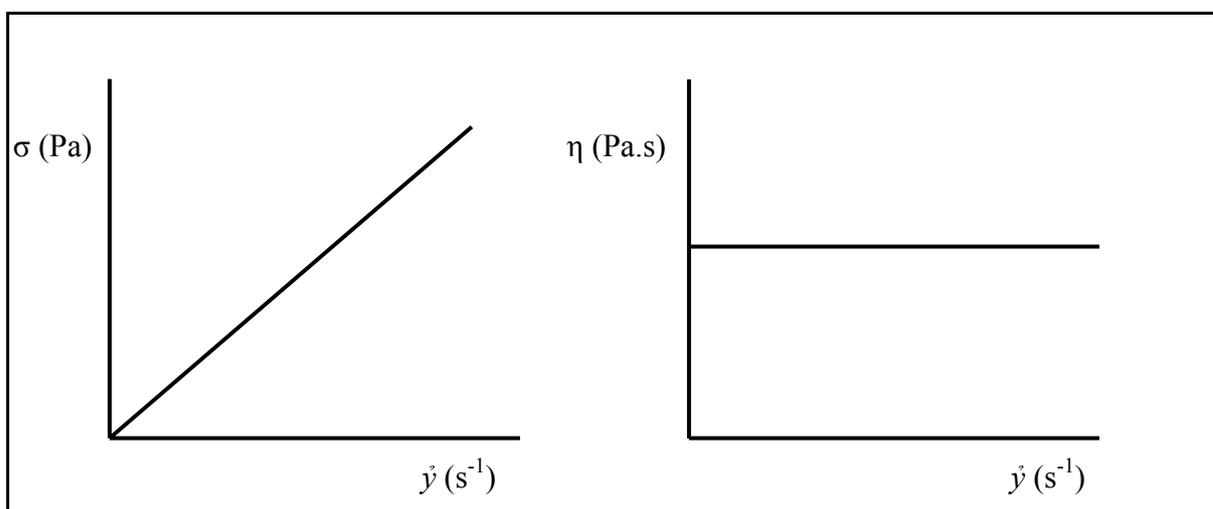


Figura 8 - Curvas de escoamento para fluidos Newtonianos.

Fonte: GOMES, 2004.

2.3.1.2 Fluidos não-Newtonianos

No conjunto de fluidos que não seguem a Lei de Newton estão os chamados fluidos não-Newtonianos, ou seja, a tensão de cisalhamento não é, em dadas condições, proporcional ao gradiente de velocidade (PENNA, 1997). São todos os outros líquidos que não exibem o comportamento de fluxo “ideal”. Enquanto os fluidos Newtonianos, em um gráfico de tensão de cisalhamento *versus* taxa de deformação, comportam-se segundo uma reta passando pela origem, os fluidos não-Newtonianos comportam-se de forma diferente, eles não são lineares ou não passam pela origem (SCHRAMM, 2006).

Os fluidos não-Newtonianos podem ser divididos em dois tipos distintos: dependentes e independentes do tempo de aplicação da tensão de cisalhamento. Além destes existem ainda os viscoelásticos, os quais apresentam tanto características de sólido como de líquido. O coeficiente de viscosidade (μ) para estes fluidos não ideais perde seu sentido, a menos que seja especificada a tensão de cisalhamento ou o gradiente de velocidade, por isto, nestes casos é denominada de viscosidade aparente (η). Define-se a viscosidade aparente (η) como a viscosidade dependente da taxa de deformação, como demonstra a equação (2) (RAO; RIZVI, 1986; STEFFE, 1996).

$$\eta_a = \sigma / (\dot{\gamma}) \quad (2)$$

onde: η_a = viscosidade aparente (Pa.s)

$\dot{\gamma}$ = taxa de deformação

σ = tensão de cisalhamento (Pa)

De acordo com Steffe (1996), a viscosidade aparente pode ser utilizada como parâmetro reológico de comparação entre diferentes comportamentos, podendo ser separada em duas categorias: fluidos que precisam de uma tensão de cisalhamento inicial para escoar e fluidos que não precisam de uma tensão de cisalhamento inicial para escoar. A tensão de cisalhamento inicial (σ_0) pode ser definida como a tensão de cisalhamento mínima necessária para que o fluido escoar. Os fluidos que não necessitam de (σ_0) obedecem à lei da potência, sendo definidos como pseudoplásticos ou dilatantes.

Nos fluidos não-Newtonianos que apresentam comportamento reológico independente do tempo, sob condições de temperatura e composição constantes, a viscosidade aparente é dependente somente da taxa de deformação ou da tensão de cisalhamento. Já no caso dos fluidos com comportamento dependente do tempo, a viscosidade aparente também depende da duração desta taxa de deformação (STEFFE, 1996).

2.3.1.2.1 Fluidos não-Newtonianos independentes do tempo

Quando as propriedades reológicas não dependem do tempo de aplicação da tensão de cisalhamento (STEFFE, 1996).

2.3.1.2.1.1 Fluidos pseudoplásticos (“shear- thinning”)

Os fluidos pseudoplásticos (Figura 9) apresentam o comportamento reológico independente do tempo e sua curva não é linear e passa pela origem. Representam a maior parte dos fluidos que possuem comportamento não-Newtoniano. Nestes casos, com o aumento da taxa de deformação a viscosidade aparente decresce. O comportamento dos fluidos pseudoplásticos pode ser explicado através da modificação da estrutura de cadeias longas de moléculas com o aumento do gradiente de velocidade. Estas cadeias tendem a alinharem-se paralelamente as linhas de corrente, diminuindo a resistência ao escoamento. Os produtos que se comportam como fluidos pseudoplásticos tendem a apresentar um comportamento Newtoniano a grandes gradientes de velocidade, provocado pelo total alinhamento molecular. Por outro lado, baixas taxas de deformação e a distribuição completamente casual das partículas também induzem a esse tipo de comportamento (VIDAL-BEZERRA, 2000). Muitos fluidos alimentares apresentam este tipo de comportamento, entre eles estão os sucos concentrados e purês de frutas (VASQUES, 2003).

2.3.1.2.1.2 Fluidos dilatantes (“shear- thickening”)

Também com comportamento reológico independente do tempo, estes fluidos são caracterizados por apresentarem um aumento na viscosidade aparente com o aumento da taxa de deformação. Apresentam uma curva inversa ao do fluido pseudoplástico (Figura 9). Em alguns casos é possível observar a presença de uma tensão inicial, a partir da qual o líquido começa a escoar (STEFFE, 1996). O amido em água é um exemplo de fluido dilatante (NABAIS, 2006).

2.3.1.2.1.3 Fluidos plásticos ou de Bingham

Os fluidos plásticos ou de Bingham são fluidos que escoam livremente após vencerem a tensão de cisalhamento inicial (σ_0), resultando em um comportamento linear entre a tensão de cisalhamento e a taxa de cisalhamento (Figura 9) (LEWIS, 1993). O ketchup é um exemplo de alimento que apresenta este tipo de comportamento (NABAIS, 2006).

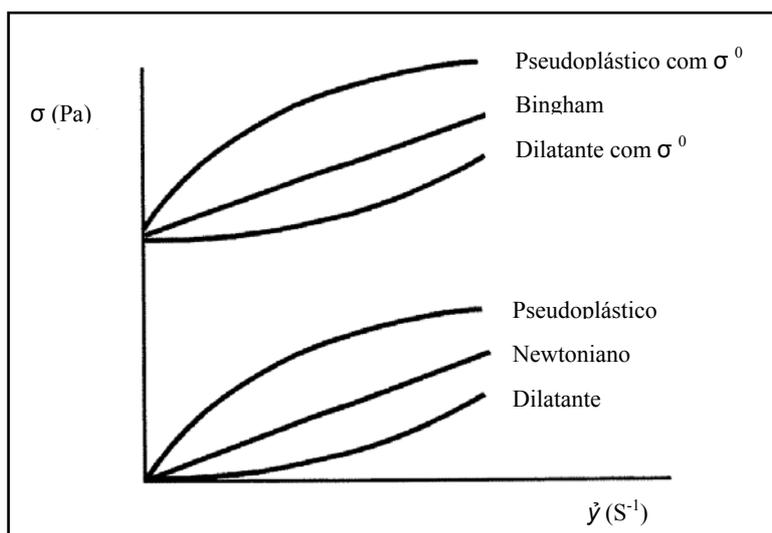


Figura 9 – Curvas de escoamento. Pseudoplástico, Bingham, Dilatante e Newtoniano.

Fonte: GOMES, 2004.

2.3.1.2.2 Fluidos não-Newtonianos dependentes do tempo

O comportamento reológico deste tipo de fluido depende, além da tensão cisalhante, também do tempo de aplicação desta tensão, para uma velocidade de cisalhamento constante (STEFFE, 1996).

2.3.1.2.2.1 Fluidos tixotrópicos

Esta classe de fluidos (Figura 10) apresenta menor viscosidade com o tempo para uma taxa de cisalhamento constante e uma viscosidade maior quando esta taxa de cisalhamento diminui por recuperação estrutural do material, voltando a ficar mais viscoso. A tixotropia pode ser explicada pela ocorrência de rupturas estruturais reversíveis, ou seja, a estrutura se recupera com a retirada da tensão aplicada (VASQUES, 2003).

Amostras tixotrópicas apresentam estruturas fracas, as quais, como resultado de um cisalhamento constante ou dinâmico podem ser temporariamente destruídas (SCHRAMM, 2006). O fenômeno da tixotropia pode ser aproximado ao da pseudoplasticidade no qual o tempo necessário para que haja um rearranjo estrutural é grande, a fim de se estabelecer a estrutura primitiva. O comportamento tixotrópico foi observado em leite concentrado açucarado, maionese e sucos concentrados (RAO, 1977; RAO, 1986).

2.3.1.2.2.2 Fluidos Reopéticos

Os fluidos reopéticos apresentam comportamento inverso ao dos tixotrópicos (Figura 10), deste modo, a viscosidade destes fluidos aumenta com o tempo de aplicação da tensão retornando a viscosidade inicial quando esta força cessa (VASQUES, 2003). O comportamento reopético raramente é previsto em alimentos, no entanto foi constatado na clara do ovo (RAO, 1977; RAO, 1986).

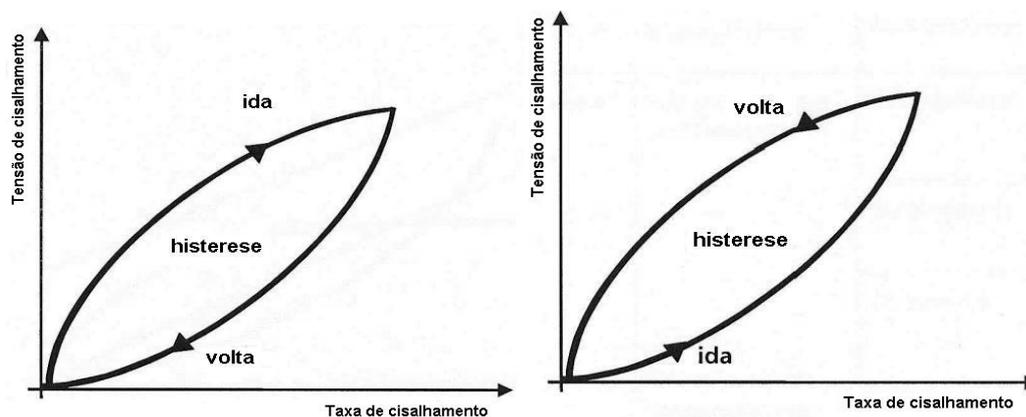


Figura 10 - Comportamento tixotrópico (esquerda) e reopético (direita).

Fonte: GOMES, 2004.

2.3.1.2.3 Propriedades de viscoelasticidade

Os fluidos viscoelásticos são aqueles que apresentam propriedades viscosas e elásticas acopladas. No instante em que a tensão de cisalhamento cessa, ocorre certa recuperação da deformação ocorrida. Este comportamento pode ser observado em massa de farinha de trigo, gelatinas, queijos, entre outros (DURAN; COSTELL, 1982).

Sistemas reais comportam-se como sólidos e líquidos, logo, para um material viscoelástico, uma parcela da tensão aplicada poderá ser parcialmente recuperada, devido às propriedades elásticas, enquanto que parte dela poderá ser dissipada devido às propriedades viscosas (NAVARRO, 1997).

A descrição do comportamento de materiais viscoelásticos é mais complexa que a de sólidos perfeitamente elásticos e fluidos newtonianos. Em um sólido puramente elástico, a tensão é determinada pela deformação do material relativo a um dado sistema de coordenadas. Assim, em cada ponto do sólido, a tensão no tempo atual é uma grandeza que só depende do valor atual da deformação. Por outro lado, em um fluido clássico, a tensão em um tempo t_0 é determinada pelos gradientes dos campos de velocidade e densidade calculados no tempo t_0 . Materiais de natureza viscoelástica se comportam, por sua vez, de maneira diferente e de tal forma que se pode situá-los entre os sólidos e os fluidos clássicos. Portanto as tensões em tais materiais não são determinadas apenas pelo estado atual de

deformação e movimento mas, também, pelas deformações e movimentos passados (BARROS, 1986).

Para explicar um fluido viscoelástico, pode-se utilizar como exemplo os líquidos poliméricos, os quais fundidos ou dissolvidos em solventes, possuem moléculas de cadeias longas. Para a grande maioria dos fluidos termoplásticos, a cadeia principal é formada por átomos de carbono com ligações que conferem à cadeia uma forma de zigzag. Estas moléculas apresentam-se em um estado de energia mínima, isto é, entropia. Uma deformação alonga a molécula ou segmentos desta, na direção em que a força for aplicada. O estiramento aumenta os ângulos de ligação e a energia de estado destas moléculas. Assim que a força de deformação é removida, tentam relaxar, ou seja, retornar à conformação inicial e ao estado de menor energia. Estas moléculas de cadeia longa não trabalham isoladas, o que ocorre é que milhões de moléculas similares se entrelaçam produzindo uma ação intermolecular, formando uma rede extensa de cadeias (SCHRAMM, 2006).

O fluido submetido repentinamente a altas forças de cisalhamento, demonstra inicialmente uma resistência, como a apresentada por um sólido, contra a deformação. Logo após, os segmentos conectores irão deformar-se elasticamente e por fim as moléculas começarão a desembaraçar e a fluir de maneira irreversível uma sobre as outras na direção da força cisalhante aplicada. Na presença de altas taxas de deformação, uma grande parte da energia é absorvida por uma deformação elástica intramolecular e intermolecular, enquanto que a massa não tem tempo suficiente para fluir como fluido viscoso. Juntamente com a deformação elástica, parte da energia de deformação é estocada e, durante a fase de relaxação, ela é recuperada. Já se pequenas forças são aplicadas, as moléculas têm bastante tempo para se arrastar para fora de seu entrelaçamento e fluir lentamente. (SCHRAMM, 2006).

2.4 Métodos dinâmicos viscoelásticos

Conforme já foi descrito, os materiais podem apresentar tanto comportamento de sólido como também de líquido, portanto, a viscosidade e a elasticidade são duas possibilidades de resposta dos materiais à tensão a que são submetidos (SCHRAMM, 2006).

As propriedades viscoelásticas de sólidos, semi-sólidos e fluidos são mensuradas em equipamentos denominados reômetros. O reômetro mede a deformação dependente do tempo resultante. Determina alterações no comportamento mecânico (KARIN, et al., 2000) além de definir a relação entre a tensão aplicada e a deformação resultante (YANG, et al., 2004; TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005). Os viscosímetros são equipamentos que se limitam apenas à medida de comportamento do fluxo viscoso (SCHRAMM, 2006).

A análise no âmbito completo do comportamento viscoelástico requer a utilização de reômetros com alta sofisticação em relação a um viscosímetro mais simples. A análise das propriedades elásticas de um fluido, sem negligenciar as propriedades viscosas, permite uma excelente elucidação da estrutura molecular deste fluido e fornece parâmetros para modificar esta estrutura de forma a adequá-la às exigências de uso. Pode-se ressaltar ainda que a reologia, requer tempo menor para obter dados significativos (SCHRAMM, 2006).

As medidas reológicas podem envolver forças de grande ou pequena deformação (ensaios estacionários ou dinâmicos). Para avaliar as características de uma solução ou mesmo realizar o controle de qualidade de um produto alimentício, indica-se realizar testes reológicos a baixa tensão de cisalhamento. Esses testes simulam as condições de utilização do produto (SCAMPARINI, 1991) e são os mais indicados para observar as características reológicas de massas, pois não causam alteração de sua estrutura (WATANABE; BELL; BROCKWAY, 1998).

As altas tensões de cisalhamento são utilizadas para realizar estudos reológicos das condições do processamento de determinadas soluções ou produtos (SHAW, 1975). Para estes testes são utilizados equipamentos como o farinógrafo, mixógrafo e extensiógrafo que causam a desorientação das moléculas e a alteração da estrutura da massa (WATANABE; BELL; BROCKWAY, 1998). Os testes baseados nestes equipamentos são úteis para fornecer informações práticas para as indústrias de panificação (SONG; ZHENG, 2007).

Dentre os testes dinâmicos de pequena deformação o teste dinâmico oscilatório é conhecido como um dos mais importantes (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000). Em particular, este teste é uma boa ferramenta para analisar as propriedades viscoelásticas do pão. Os testes dinâmicos fornecem dados de viscosidade e de elasticidade relacionados com a frequência aplicada. Relacionam a frequência ou a velocidade angular escolhida com a

deformação ou tensão resultante (SALVADOR; SANZ; FISZMAN, 2006; SCHRAMM, 2006).

Ensaio dinâmico são realizados geralmente dentro da faixa de viscoelasticidade linear do fluido, ou seja, intervalo onde a resposta do material a uma tensão ou deformação aplicada ocorre de forma linear sendo, portanto realizados geralmente a baixas taxas de deformação o que permite que se estude a conformação macromolecular e interações intermoleculares do mesmo (SILVA; RAO, 1992). Em um experimento dinâmico, uma tensão (σ) ou deformação (γ) oscilatória senoidal a uma frequência (ω) é aplicada no material e a diferença de fase entre a tensão e a deformação é medida, o que permite classificar o material como sólido elástico (tensão em fase com a deformação), líquido viscoso (tensão 90° fora de fase com a deformação) ou fluido viscoelástico (tensão e deformação defasadas entre 0 e 90°).

O teste dinâmico oscilatório aplica sobre o material uma força de pequena amplitude, o que assegura que o material irá desenvolver uma curva linear como resposta a força aplicada. São possíveis três tipos de medidas para caracterizar o comportamento reológico de um determinado material em um reômetro: através da variação da frequência com valores fixos de temperatura, através da variação da temperatura com frequência fixa e através da variação do tempo com temperatura e frequência fixas (RAO, 1999; GUNASEKARAN; AK, 2000). A frequência provavelmente é o modo de experimento oscilatório mais comum e está relacionado ao fato de demonstrar com clareza as mudanças nos comportamentos viscoso e elástico dos materiais com aplicação de força e tensão conhecidas (STEFFE, 1996). Estas técnicas são utilizadas para medir as propriedades viscoelásticas dos materiais (GUNASEKARAN; AK, 2000).

No teste dinâmico oscilatório realizado com reômetro rotacional o rotor que pode ser uma placa superior ou cone não gira continuamente em uma direção, mas é desviado alternadamente, para a direita e para a esquerda. A amostra colocada no “gap” de cisalhamento é forçada a se deformar, gerando tensões de resistência na amostra. Devido a isto, nos testes dinâmicos as amostras de fluidos viscoelásticos e mesmo de sólidos não são mecanicamente alteradas e nem suas estruturas internas são rompidas durante a realização do teste dinâmico (SCHRAMM, 2006).

Os parâmetros viscoelásticos podem ser representados por (HAN et al., 2002; KHATKAR; SCHOFIELD, 2002; SONG; ZHENG, 2007):

- G' : módulo elástico;
- G'' : módulo viscoso;
- $\tan \delta$: fator de perda (G''/G').

O módulo elástico (G') é a medida do sólido ou das características elásticas dos materiais (KHATKAR; SCHOFIELD, 2002). Também pode ser chamado de módulo de armazenamento de energia e indica que a energia de tensão é temporariamente armazenada durante o teste, porém pode ser recuperada mais tarde (SCHRAMM, 2006) e é dependente do rearranjo ocorrido pelas moléculas durante o período de oscilação (ROSS-MURPHY, 1995).

O módulo viscoso (G'') é a medida do líquido ou das características viscosas (KHATKAR; SCHOFIELD, 2002). A energia utilizada para iniciar o fluxo é irreversivelmente perdida e transformada em calor de cisalhamento. É definido pela razão entre tensão e força e é medido pela energia dissipada ou perdida por ciclo (ROSS-MURPHY, 1995; WATANABE; BELL; BROCKWAY, 1998). Para este módulo verifica-se também a utilização do termo módulo de perda (SCHRAMM, 2006).

O $\tan \delta$ indica a relativa contribuição das características viscosas e elásticas dos materiais. É a razão entre a energia perdida e armazenada em cada ciclo de deformação (KHATKAR; SCHOFIELD, 2002). Os valores de $\tan \delta=0$ ou $\delta=0^\circ$ correspondem às características de materiais elásticos, enquanto que $\tan \delta=\infty$ ou $\delta=90^\circ$ correspondem ao comportamento viscoso. Valores dentro dos ângulos $0^\circ < \delta < 90^\circ$ caracterizam os materiais viscoelásticos (STEFFE, 1996). Nos experimentos oscilatórios, são medidos no material tanto o comportamento viscoso como também o elástico. Além do comportamento viscoelástico, a oscilação pode também ser utilizada para determinar mudanças estruturais no material (SOLUTIONS, 1996).

Ao serem plotados os valores obtidos experimentalmente de G' e G'' em função da frequência (ω) obtém-se o denominado “espectro mecânico”, no qual a região de baixas frequências corresponde a grandes intervalos de tempo de observação e vice – versa. A

Figura 11 descreve o comportamento de um espectro mecânico clássico de sistemas poliméricos em cada uma das diferentes regiões de frequências que podem ser estudadas.

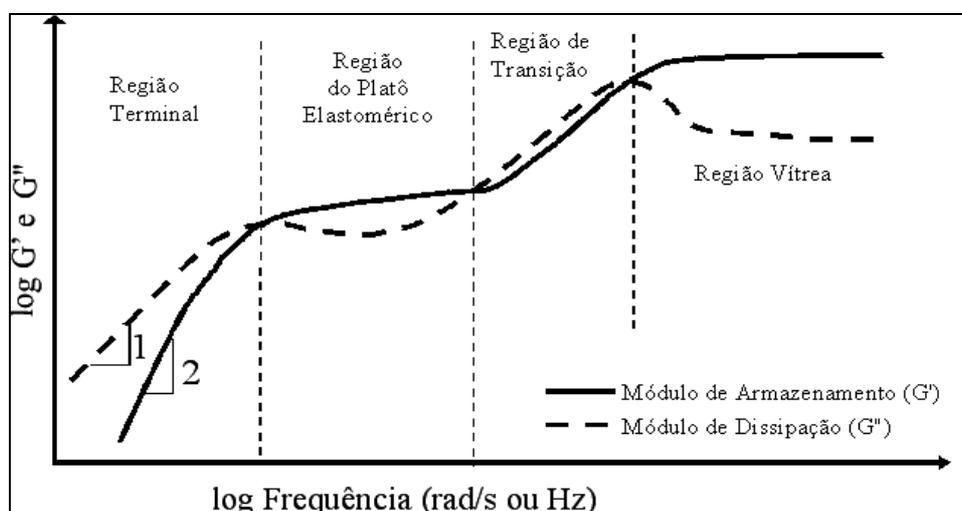


Figura 11- Espectro mecânico típico de sistemas poliméricos

Fonte: (BRETAS, 1996).

Quando o equipamento utiliza elevadas frequências, ele visualiza o material como sendo um material vítreo, visto que os segmentos da molécula não podem se movimentar tão rapidamente quanto a frequência (ω). Na região de transição vítrea, os segmentos moleculares se movimentam com a mesma frequência da medição experimental. Com frequências menores observa-se o platô elastomérico, devido aos emaranhamentos. Em frequências bem menores, o desentrelaçamento da estrutura polimérica produz a zona terminal (BRETAS, 1996).

Através dos ensaios dinâmicos realizados no reômetro, faz-se uma varredura de frequências, no intervalo linear, obtendo-se como resposta os respectivos valores de G' e G'' , que correspondem à contribuição elástica e viscosa, respectivamente, do comportamento do fluido analisado. O modelo mecânico que melhor traduz o comportamento de um material viscoelástico é o modelo de Maxwell. Este modelo foi proposto por James Clerk Maxwell, que aos 19 anos de idade publicou o artigo denominado: “O equilíbrio dos sólidos elásticos” (RAO, 1992). O modelo de Maxwell constitui-se de um elemento sólido Hookeano (elástico), de rigidez G (mola), ligado em série com um elemento fluido Newtoniano (viscoso), de viscosidade η (amortecedor), como está ilustrado na Figura 12.

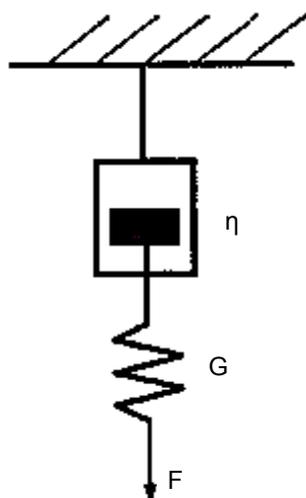


Figura 12 - Elemento de Maxwell

Fonte: FREITAS, 2002.

Para determinar as características viscoelásticas através de taxas de pequena deformação, o primeiro passo é submeter às amostras a testes para determinar as condições não destrutivas apropriadas. A região viscoelástica linear (LVR) pode ser definida como a região onde as determinações de força são diretamente proporcionais à tensão aplicada (STEFFE, 1996). Para a determinação deste valor em modo oscilatório, são aplicados crescentes níveis cíclicos de força e tensão a uma frequência constante. A LVR será indicada no ponto onde o módulo dinâmico viscoelástico permanece constante em mais de 10% da análise. A amplitude da força aplicada em geral apresenta um baixo valor e permanece assim durante todo o experimento para evitar que exceda a região viscoelástica linear (KARIM; NORZIAH; SEOW, 2000).

Em se tratando de reômetros os sistemas capilares e rotacionais são os mais comuns, sendo este ultimo o mais testado através de pesquisas. Podendo ser (STEFFE, 1996; TABILO-MUNIZAGA; BARBOSA-CÁNOVAS, 2005):

- Reômetro rotacional de cilindros concêntricos
- Reômetro rotacional de placas paralelas
- Reômetro rotacional de cone e placa

Os reômetros rotacionais permitem o uso de pequenas quantidades da amostra e podem fornecer uma medida contínua da relação da taxa de deformação e tensão de cisalhamento. Nos reômetros de cilindros concêntricos (Figura 13) tem-se o sistema Searle, no qual o cilindro interno gira, além de ser utilizado para a medida do torque. Há também o sistema Couette, o qual é menos comum que o anterior. Neste sistema, o corpo externo gira e o torque é medido no cilindro interno (STEFFE, 1996).

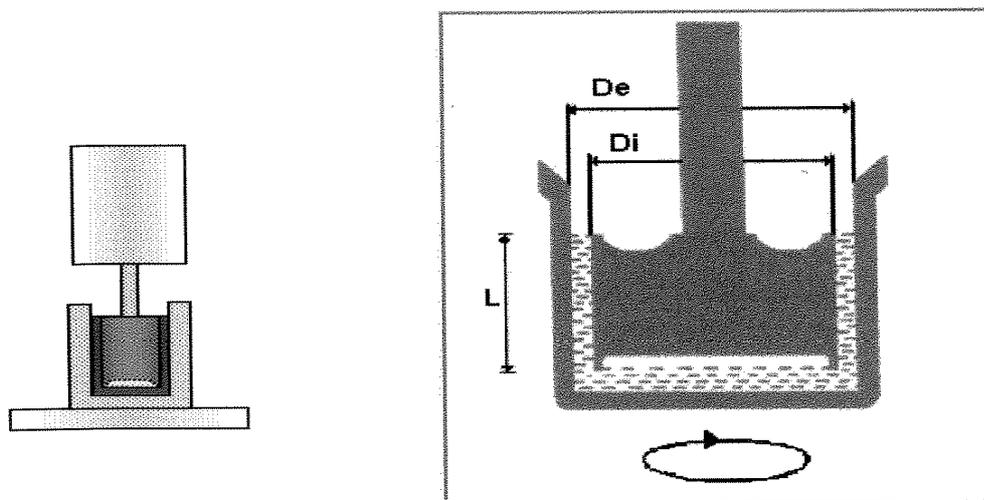


Figura 13 - Diagrama esquemático de reômetro de cilindros concêntricos.

Fonte: GOZZO, 2003.

O reômetro de placas paralelas é constituído por duas placas formando um disco e apresentando uma distância “gap” uma da outra (Figura 14). Esta distância entre as placas pode ser variada, obtendo-se, assim, diferentes faixas de taxa de deformação. Qualquer uma das partes pode girar para medir o torque necessário (BARNES et al., 1989).

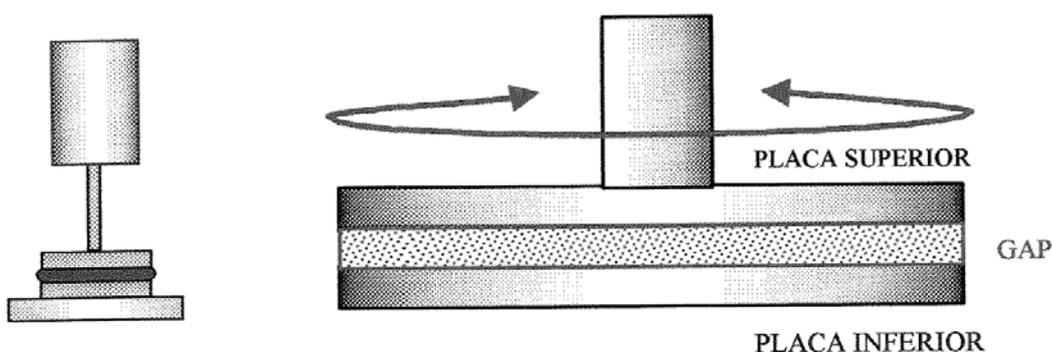


Figura 14 - Diagrama esquemático de reômetro de placas paralelas.

Fonte: GOZZO, 2003.

O reômetro de cone e placa consiste em uma placa horizontal e um cone invertido o qual apresenta o vértice muito próximo ao prato (Figura 15). O ângulo formado entre a superfície do cone e o prato é bastante pequeno e a amostra do fluido localiza-se neste pequeno espaço. Como no reômetro de placas paralelas, qualquer uma das partes pode girar para medir o torque necessário (BARNES et al., 1989).

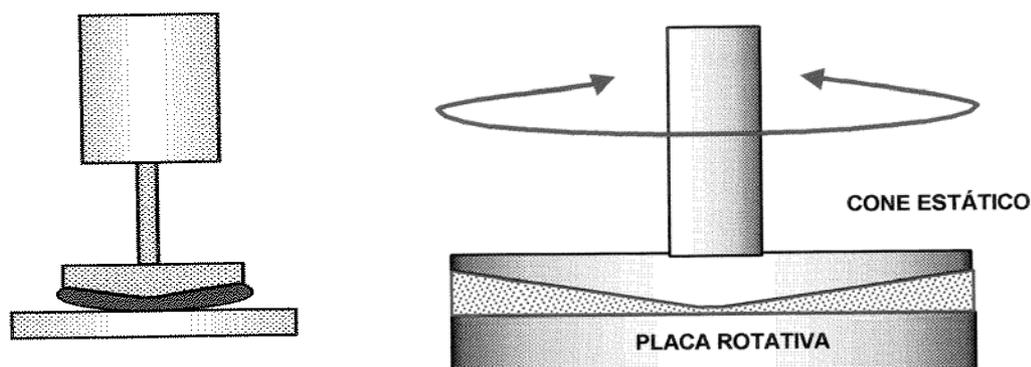


Figura 15 - Diagrama esquemático de reômetro de cone e placa.

Fonte: GOZZO, 2003.

2.5 Reologia do trigo

A determinação da qualidade dos grãos e das farinhas de trigo é realizada através de várias características que assumem diferentes significados dependendo da designação do uso ou tipo de produto a que se destina. A reologia na indústria de panificação é importante para ajudar a prever as características de processamento da massa e conseqüentemente à qualidade do produto final, além de ajudar na definição dos ingredientes dos produtos elaborados (PHAIN-THIEN; SAFARI-ARDI, 1998; LEE; MULVANEY, 2003; GUTKOSK; NODARI; NETO, 2004).

Os testes de reologia dinâmica têm se tornado uma excelente ferramenta para examinar a estrutura e as propriedades funcionais das massas de farinha de trigo e proteínas devido a sua resposta característica e sensível à variação da estrutura das massas de pão e das proteínas da farinha de trigo (SONG; ZHENG, 2007).

A avaliação reológica do trigo envolve principalmente o comportamento das massas perante seus limites de resistência à deformação. No caso da farinha de trigo, a maior importância está na extensibilidade da massa. Cada produto feito com farinha de trigo apresenta requerimentos diferentes de extensibilidade, que se manifestam quando se combinam as gliadinas e gluteninas com água, leite ou outro líquido, formando o glúten. Por exemplo, o pão de forma requer um glúten mais forte do que o pão francês. Cada variedade de trigo apresenta um potencial diferente de qualidade do glúten, que pode não ser alcançado, caso este cereal não encontre as condições ambientais que necessita. Duas pré-condições devem ser observadas para obtenção de uma massa com condições reológicas apropriadas: uma formulação na qual os ingredientes individuais devem estar balanceados e uma distribuição homogênea destes através de toda a massa, ambos para permitir a formação do glúten (ABRITRIGO, 2006).

A análise dos parâmetros reológicos (G' , G'' e $\tan \delta$) de diferentes cultivares de trigo apresenta significativas diferenças. De acordo com estudos anteriores, o glúten de trigo de baixa qualidade é reologicamente caracterizado como menos elástico e mais viscoso do que glúten proveniente de trigo de alta qualidade. Isto sugere que a variação na composição e na quantidade das frações gliadina/glutenina tem importância nos efeitos das propriedades viscoelásticas do glúten (KHATKAR et al., 2002; ZONG; CHENG, 2007).

2.6 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

O histórico do microscópio eletrônico iniciou por volta de 1935 com o trabalho de M. Knoll descrevendo a concepção do MEV. Em 1938, Von Ardenne construiu o microscópio eletrônico de transmissão de varredura e o aumento máximo conseguido foi de 8 000 vezes. O primeiro microscópio eletrônico de varredura para observação de amostras espessas foi construído em 1942 por Zworykin. Em 1965 foi construído o primeiro MEV (“Scanning Electron Microscope”, SEM) comercial desenvolvido pela Cambridge Scientific Instrument e desde então vem sendo aperfeiçoado (BONET, et al.; 2007).

Através do MEV pode-se obter informações estruturais e químicas de diversos tipos amostrais. A capacidade de aumento do MEV fica entre a capacidade alcançada pelo microscópio ótico (MO) e microscópio eletrônico de transmissão (MET). A grande vantagem

do MEV em relação ao microscópio ótico é sua alta resolução, pois permite alcançar aumentos muito superiores e dependendo do material pode atingir até 900 000 vezes. Entretanto, outras características importantes podem ser ressaltadas como a elevada profundidade de foco (imagem com aparência tridimensional) e a possibilidade de combinar a análise microestrutural com a micro-análise química (MÖECKE; DE FRANCISCO, 1995; MALISKA, 2006).

A versatilidade da microscopia eletrônica de varredura encontra-se na possibilidade de se poder captar e medir as diversas radiações provenientes das interações elétron-amostra. Basicamente, a área ou o micro-volume a ser analisado é irradiado por um fino feixe de elétrons ao invés da radiação da luz. Como resultado da interação do feixe de elétrons com a superfície da amostra, uma série de radiações é emitida como, por exemplo: elétrons secundários, elétrons retro-espalhados, raios-X característicos, fótons, entre outros. Quando estas radiações são captadas corretamente irão fornecer informações características sobre a amostra (topografia da superfície, composição, potencial eletrostático, campo magnético local, cristalografia, etc.) (MALISKA, 2006; BONET, et al.; 2007).

2.7 Análise térmica – calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Durante o processamento, a maioria dos alimentos sofre tratamentos térmicos (cocção, pasteurização, esterilização, refrigeração, congelamento) que podem alterar as propriedades físico-químicas e funcionais além da reologia, refletindo assim, na qualidade e conseqüentemente na aceitabilidade destes alimentos. A análise térmica é uma ferramenta bastante utilizada na pesquisa, desenvolvimento e controle de qualidade dos alimentos (HARWALKAR; MA, 1990).

A análise térmica constitui um grupo de técnicas de grande interesse na caracterização de alimentos, visto que proporciona dados relevantes ao processamento industrial de substâncias alimentícias, em um tempo relativamente curto e com certa especificidade quando associada a outras técnicas (SILVA et al., 2001).

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica que consiste na medição da diferença de energia fornecida a uma amostra e ao material utilizado como referência,

quando submetidas a um programa de temperatura. As medidas de variação de fluxo de calor nos instrumentos de DSC são conduzidas em pequenos cadinhos ou panelas que podem ser herméticos para prevenir a perda de massa que pode ocorrer devido à evaporação de água quando a temperatura utilizada ultrapassa 100° C (RAHMAN,1995).

Neste contexto, estudos realizados por Yu e Christie (2001), demonstraram a influência de diferentes tipos de panelas (alumínio, aço inoxidável com anel de borracha e aço inoxidável de alta pressão) no DSC para o estudo da transição térmica de amidos. Os resultados obtidos para a mesma amostra foram diferentes devido à massa e a capacidade térmica dos cadinhos e a perda de massa ocasionada pela evaporação da água presente na amostra. No geral, panelas com maior massa e menor condutividade térmica apresentaram um maior atraso na resposta ao programa de temperatura.

O DSC fornece dados relacionados com a desnaturação de proteínas, gelatinização do amido, fusão de cristais de gordura, transição vítrea entre outros (HARWALKAR; MA, 1990). Em panificação esta técnica apresenta algumas vantagens como: possibilidade de análises para diferentes conteúdos de água, determinação direta da energia requerida para a fusão e retrogradação do amido, estudo das proteínas, sendo um método rápido que não necessita de preparação especial e requer pequena quantidade de amostra (JOHNSON, 1989).

De acordo com Ma (1990), pouco se sabe sobre as características térmicas das proteínas do trigo. Este mesmo autor cita os trabalhos realizados por Eliasson (1983), que conduziu estudos no DSC, em misturas de glúten e amido. A presença do glúten induziu a diminuição da entalpia e aumentou a temperatura de gelatinização, sendo que, durante o aquecimento, a água migra do glúten para o amido. Marchisano e seus colaboradores (1996) analisaram no DSC misturas de farinha e com diferentes conteúdos de água e tempos de mistura e sugerem que a interação água – amido na presença de uma rede de proteína é afetada pela disponibilidade de água, pois ocorre uma competição pela mesma entre a rede protéica e o amido. A interação com o amido ocorre somente quando a quantidade de água é superior a 30-35%.

Segundo Falcão-Rodrigues (2005), as transições que ocorrem nas proteínas afetam o estado físico e as características de textura de vários alimentos. O comportamento térmico da massa é muito importante para a qualidade do produto final.

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANVISA - **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Disponível em: www.anvisa.gov.br
Acesso em: janeiro de 2007.

ANVISA - **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Regulamento Técnico para uso de aditivos alimentares para produtos de panificação e biscoitos. Resolução nº 383, de 5 de agosto de 1999.

ABITRIGO - **Associação Brasileira da Indústria do Trigo, 2005**. Disponível em: http://www.abitrigo.com.br/historia_do_trigo2a.asp. Acesso em: Dezembro de 2006.

ACELBRA - **Doença Celíaca**. Disponível em: <http://www.ancelbra.org.br>. Acesso em: Outubro de 2006

BARROS, R. M. **Elementos infinitos para o tratamento de problemas da viscoelastodinâmica estacionária em domínios ilimitados pelo método dos elementos finitos**. Dissertação de Mestrado. Instituição: FEM/UNICAMP, São Paulo, SP, 1996.

BARNES, H. A.; HUTTON, J. F.; WALTERS, K. **An introduction to rheology**. Amsterdam, Oxford, New York; Elsevier, 1989, 199p.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. 2. ed. Zaragoza: Acribia, 1997. p.537-575.

BRETAS, R. E. S. Reologia básica aplicada ao processamento de polímeros. In: Apostila do curso; **Viscoelasticidade em soluções poliméricas**. Universidade Federal de São Carlos, 1996.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do processamento de alimentos**. 2ed. São Paulo: Varela, 1992. 151p.

BONET, A.; JOUNEAU, P. H.; THOLLET, G.; BASSET, D.; GAUTHIER, C. A history of scanning electron microscopy developments: Towards “wet-STEM” imaging. **Micron.**, v.38, p.390–401, 2007.

BONET, A.; ROSELL, C. M.; CABALLERO, P. A. GOMEZ, M. PEREZ-MUNUERA, I.; LLUCH, M. A. Glucose oxidase effect on dough rheology and bread quality: A study from macroscopic to molecular level. **Food Chemistry**, v.99, p.408–415, 2006.

BORLA, O. P.; MOTTA, E. L.; SAIZ, A. I.; FRITZ, R. Quality parameters and baking performance of commercial gluten flours. **Lebensm.-Wiss.u.-Technol.**, v.37, p.723–729, 2004.

CAMARGO, C. R. O.; FRANCISCHI, M. L. P.; CAMPAGNOLLI, D. M. F.; A Composição da proteína e a qualidade de panificação da farinha em trigo. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e tecnologia de Alimentos**. v.31, p.25-32, 1997.

CAMPOS, S. D. S. **Reologia e textura de alimentos**. ITAL. Campinas: ITAL, 1989. 84p.

CARVALHO, D. **Controle de qualidade de trigo e derivados e tratamento e tipificação de farinhas**. Granotec do Brasil (apostila), 1999.

CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentares**. Zaragoza: Acribia, 1989. p.235-253.

CHIANG, S.; CHEN, C.; CHANG, C. Effect of wheat flour protein compositions on the quality of deep-fried gluten balls. **Food Chemistry**, v.97, p.666–673, 2006.

CURTIS, B. C.; RAJARAM, S.; MACPHERSON, H. GMEZ. Bread wheat: improvement and production. **Food and Agriculture Organization of the United Nations**, 2002.

DAY, L.; AUGUSTIN, I. L.; BATEY, I. L.; WRIGLEY, C. W. Wheat-gluten uses and industry needs. **Trends in Food Science & Technology**, v.17, p.82–90, 2006.

DEALY, J.M. WISSBRUM, K. F. **Melt rheology and its role in plastics processing: theory and applications**. New York: Van Nostrand Reinhold; 1990.

DELCOUR, J. A.; VERBRUGGEN, I. M.; VERAVERBEKE, W. S.; VANDAMME, A. Simultaneous isolation of wheat high molecular weight and low molecular weight glutenin subunits. **Journal of Cereal Science**, USA, v.28, p.25-32, 1998.

DOBRSZCZYK, B. J. The physics of baking: rheological and polymer molecular structure–function relationships in breadmaking. **Journal of Non-Newtonian Fluids Mechanics.**, v.124, p.61–69, 2004.

DOBRSZCZYK, B. J.; MORGENSTERN, M. P. Review: Rheology and the breadmaking process. **Journal of Cereal Science**, v.38, p.229-245, 2003.

DURAN, L.; COSTELL, E. Rheology of apricot perée: characterization of flow. **Journal of Textures Studies**, v.13, p.43-58, 1982.

EL-DASH, A. A. **Panificação: tecnologia, processamento e controle**. Campinas: Unicamp, 1990.

EMBRAPA. **A Embrapa frente aos desafios da agricultura familiar brasileira**, 2003. Disponível em: < <http://www.embrapa.br> > Acesso em: Setembro de 2005.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Disponível em:< <http://www.embrapa.br> > Acesso em: Outubro de 2005.

FALCAO-RODRIGUES, M. M.; MARTINS, M. M.; BEIRÃO-DA-COSTA, M. L. Thermal properties of glúten proteins of two soft wheat varieties. **Food Chemistry**, v.93, p. 459-465, 2005.

FENNEMA, O. R.; **Química de los alimentos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1996.

FREITAS, I. C. **Estudo das interações entre biopolímeros e polpas de frutas tropicais em cisalhamento estacionário e oscilatório.** Dissertação de Mestrado. Instituição: Universidade Estadual de Campinas, Campinas - SP, 2002.

GOMES, J. E.; PERCIN, D.; MARTINS, A. B. G.; FONTES, S. R. Comportamento de propriedades físicas, químicas e reológicas do suco de acerola armazenado a baixas temperaturas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.5, n.2, 2001.

GOZZO, A. M. **Comportamento reológico de chocolates ao leite sem fibras e enriquecido com fibras solúveis.** Dissertação de Mestrado. Instituição: Universidade estadual de Campinas – UNICAMP, 2003..

GUNASEKARAN, S.; AK, M. M. Dynamic oscillatory shear testing of foods – selected applications. **Food Science & Technology**, USA, v.11, p.115-127, 2000.

GUTKOSK, L. C.; NODARI, M. L.; NETO, R. J. Avaliação de farinhas de trigos cultivados no Rio Grande do Sul na produção de biscoitos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 23, p.91-97, 2004.

HAN, X.; CAMPANELLA, O. H.; GUAN, H.; KEELING, P. L.; HAMAKER, B. R. Influence of maize starch granule-associated protein on the rheological properties of starch pastes. Part II. Dynamic measurements of viscoelastic measurements of viscoelastic properties of starch pastes. **Carbohydrate Polymers**, USA, v.49, p.323-330, 2002.

HARWALKAR, V. R.; MA, C. Y. **Thermal analysis of food.** London: Elsevier, 1990. 362p.

HAYTA, M.; SCHOFIELD, J. D. Heat and additive induced biochemical transitions in gluten from good and poor breadmaking quality wheats. **Journal of Cereal Science**, v.40, p.245–256, 2004.

HE, H.; HOSENEY, R.C. Gas retention of different cereal flours. **Cereal Chemistry**, v.68, p.334 - 336, 1991.

HOSENEY, R. C. **Principles of Cereal Science and Technology**. St. Paul, Minnesota, USA.: American Association of Cereal Chemists, 1990. p.14-19, 33-56.

HOSENEY, R. C. **Principios de Ciencia y Tecnología de Los Cereales**. 1ed. Zaragoza, España: Acribia, 1991. p.318-321.

HOSENEY, R. C. **Principles of Cereal Science and Technology**. 2 ed. St. Paul, Minnesota, USA.: American Association of Cereal Chemists, 1998. p.213-228.

HOWTHORN, J. **Fundamentos de la Ciencia de los Alimentos**. Acribia. Zaragoza, España, 1983.

INDRANI, D.; RAO, V. Effect of additives on rheological characteristics and quality of wheat flour parrotta. **Journal of Texture Studies**, v.37, p.315–338, 2006.

JEREZ, A.; PARTAL, P.; MARTINEZ, I.; GALLEGOS, C.; GUERRERO, A. Rheology and processing of gluten based bioplastics. **Biochemical Engineering Journal**, v.26, p.131–138, 2005.

KARIM, A. A.; NORZIAH, M. H.; SEOW, C. C. Methods for the study of starch retrogradation. **Food Chemistry**, v.52, p.9-36, 2000.

KASARDA, D. D. Grains in relation to celiac disease. **Cereal Foods World**, v.46, p.209–210, 2001.

KOVACS, M. I. P.; FU, B. X.; WOODS, S. M.; KHAN, K. Thermal stability of wheat gluten protein: its effect on dough properties and noodle texture. **Journal of Cereal Science**, v.39, p.9-19, 2004.

KHATKAR, S. B.; SCHOFIELD, D. J. Dynamic rheology of wheat flour dough. I. Non-linear viscoelastic behaviour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.82, p.827-829, 2002.

- KHATKAR, S. B.; FIDOT, R. J.; TATHAMT, A. S.; SCHOFIELD, J. D. Functional properties of wheat gliadins. II. Effects on dynamic rheological properties of wheat gluten. **Journal of Cereal Science**, v.35, p. 307-313, 2002.
- LAZARIDOU, A.; DUTA, D.; PAPAGEORGIOU, M.; BELC, N.; BILIADERIS, C. G. Effects of hydrocolloids on dough rheology and bread quality parameters in gluten-free formulations. **Journal of Food Engineering**, 2006.
- LEE, C. C.; MULVANEY, S. J. Dynamic viscoelastic and tensile properties of gluten and glutenin gels of common wheats of different strength. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, USA, v. 51, p.2317-2327, 2003.
- LEWIS, M. J. **Propriedades Físicas de los Alimentos y de los Sistemas de Procesado**. España: Acribia, 1993. 494p.
- LI, W.; TSIAMI, A. A; BOLLECKER, S. S.; SCHOFIELD, J. D. Glutathione and related thiol compounds II. The importance of protein bound glutathione and related protein-bound compounds in gluten proteins. **Journal of Cereal Science**, v.39, p.213–224, 2004.
- MA, C. Y. Thermal analysis of vegetable proteins and vegetable proteins-based food products In HARWALKAR, V. R.; MA, C. Y. **Thermal analysis of foods**. London: Elsevier, 1990. p.149-167.
- MALISKA, A. M. Apostila: **Microscopia eletrônica de varredura**. Florianópolis. Disponível em: <http://www.materiais.ufsc.br/lcm/web-MEV/MEV_Frame_1.htm> Acesso em: janeiro de 2006.
- MANDARINO, J.M.G. **Aspectos importantes para a qualidade do trigo**. Londrina: Embrapa-CNPSo, 1993, 32p. (Documento, 60).
- MANOHAR, R. S.; MANOHAR, B.; HARIDAS, R. Rheological characterization of wheat porridge (cooked dalia), a semi-liquid breakfast food. **Journal of Cereal Science**, v.27, p. 103-108, 1998.

MARCHISANO, C. Characterizing in situ starch gelatinization - thermal and dynamic mechanical analysis of durum wheat dough. **Journal of thermal analysis**, v.47, p.181-194, 1996.

MINISTÉRIO DA FAZENDA, **Secretaria de Acompanhamento Econômico**. Disponível em: <http://www.cade.gov.br/jurisprudencia/arquivosPDF/ParecerSeae-2004-08012-006266-Associated-Burns.pdf>. Acesso em: fevereiro de 2007.

MÖECKE, E.; DE FRANCISCO, A. **Apostila para o curso de microscopia de alimentos: isolamento e detecção de substâncias estranhas e identificação de microestruturas vegetais**. Florianópolis, p.57, 1995.

MORRIS, E.R. Polysaccharide rheology and in-mouth perception. In: STEPHEN, A. M. **Food Polysaccharides and their applications**. New York: Marcel Dekker, Inc; 1995. p.517-546.

NABAIS, R. **Introdução às propriedades de fluidos alimentares**. Disponível em: <http://www.esac.pt/rnabais/cabulasopu2/viscosity.ppt>. Acesso em: agosto de 2006.

NAVARRO, R. F. **Fundamentos de Reologia de Polímeros**. Caxias do Sul: Universidade de Caxias do Sul, 1997. 300p.

OVIDIO, R. D.; MASCI, S. The low-molecular-weight glutenin subunits of wheat gluten. **Journal of Cereal Science**, v.39, p.321–339, 2004.

PARK, K. J.; LEITE, J. T. C. **Reologia**. <ftp://ftp.agr.unicamp.br/pub/disciplinas/fa-020/reologia>. UNICAMP. Última atualização em abril de 2001.

PASQUEL, A. **Gomas: utilização e aspectos reológicos**. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas, v.33, p.86-97, 1999.

PATIL, S. K. Corn processing industry coproducts: issues and challenges part II. **Cereal Foods World**, v.49, p.102–104, 2004.

PAVANELLI, A. P. **Aditivos para panificação: conceitos e funcionalidade**, 2000. Artigo técnico. Disponível em:

<http://www.oxiteno.com.br/aplicacoes/mercados/doc/documento.asp?artigotecnico=2&segmento=0100&idioma=PO&r=.pdf> Acesso em: janeiro de 2007.

PELEGRINE, D. H.; VIDAL, J. R. M. B.; GASPARETTO, C. A. Estudo da viscosidade aparente das polpas de manga (Keitt) e abacaxi (Pérola). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.20, p.128-131, 2003.

PEÑA, E.; BERNARDO, A.; SOLEN, C.; JOUVE, N. Do tyrosine crosslinks contribute to the formation of the gluten network in common wheat (*Triticum aestivum* L.) dough? **Journal of Cereal Science**, v.44, p.144–153, 2006.

PENNA, A. L. B. **Parâmetros reológicos de gomas para fabricação de bebidas lácteas à base de soro**. Monografia. Instituição: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 1997.

PHAIN-THIEN, N.; SAFARI-ARDI, M. Linear viscoelastic properties of flour-water doughs at different water concentrations. **Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics**, Australia, v.74, p.137-150, 1998.

QUAGLIA, G. **Ciencia y tecnología de la panificación**. Zaragoza: Acribia, 1991. 485p.

QUEIJI, M. F. D.; SCHEMIM, M. H. C.; TRINDADE, J. L. F. Propriedades reológicas da massa de farinha de trigo adicionada de alfa-amilase. **Ciência Agr. Eng.**, v.12 p.21-29, 2006.

RAHMAN, S. **Food properties handbook**. New York: CRC Press, 1995. 500p.

RAKSZEGI, M.; BÉKES, F.; LÁNGA, L.; TAMÁS, L.; SHEWRY, P. R.; BEDO, Z. Technological quality of transgenic wheat expressing an increased amount of a HMW glutenin subunit. **Journal of Cereal Science**, v. 42, p.15–23, 2005.

RAO, M. A.; RIZVI, S. S. H. **Engineering properties of foods**. New York: Marcel Dekker, 1986. 398p.

RAO, M. A. **Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications**. Gaithersburg, Maryland: An Aspen Publication, 1999. p.433.

RAO, M.A. Rheology of liquid foods- A Review. **Journal Texture Studies**, v.8, n.2, p. 135-168, 1977.

RAO, M.A. Rheological properties of fluid foods. In Rao, M.A. & Rizvi, S.S.H. (Eds). **Engineering Properties of Foods**, P. 1-47, Marcel Dekker, New York (USA). **Food Science and Technology Series**, n.19, 1986.

RAO, M. A. Measurement of viscoelastic properties of fluids and semisolid foods. In: **Viscoelastic Properties of Foods**, London/New York, Rao, M.A. & Steffe, J.F. Elsevier Applied Science, 1992, p.207-231.

RAO G. V.; RAO P.H. Methods for determining rheological characteristics of doughs: a critical evaluation. **Journal of Food Science Technology**, v.30, p.77-87, 1993.

RASPER, V.F. Quality evaluation of cereal and cereal products. In: LORENZ, K.J.; KULP, K. **Handbook of cereal science and technology**. New York: Marcel Dekker, 1991. p.595-638.

ROCHER, A.; SORIANO, F.; MOLINA, E.; GONZALVEZ-LIMAS, G.; MENDEZ, E. Characterization of distinct α - and γ - type gliadins and low molecular weight components from wheat endosperm as celiac immunoreactive proteins. **Biochimica et Biophysica Acta**, p.143-148, 1995.

ROSS-MURPHY, S. B. Rheological characterization of gels. **Journal of Texture Studies**, v.26, p.391-400, 1995.

ROSELL, C. M.; ROJAS, J. A.; BARBER, C. B. Influence of hydrocolloids on dough rheology and bread quality. **Food Hydrocolloids**, v.15, p.75-81, 2001.

SALVADOR, A.; SANZ, T.; FISZMAN, S. M. Dynamic rheological characteristics of wheat flour–water doughs. Effect of adding NaCl, sucrose and yeast. **Food Hydrocolloids**, v.20, p.780–786, 2006.

SCADE, J. **Cereales**. Ed. Acribia. Zaragoza, España, 1975.

SCAMPARINI, A. R. P. Modification of xanthan gum. In: **World Congress of Food Science and Technology**, Toronto, v.8, p.177, 1991.

SCHRAMM, S. **Reologia e reometria – fundamentos teóricos e práticos**. São Paulo: Artliber editora, 2006. 232p.

SGARBIERI, V. C. **Proteínas em alimentos proteicos**. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 517p.

SHAW, D. J. **Introdução à química dos colóides e de superfícies**. São Paulo: Edgard Blucher, 1975. 180p.

SHEWRY, P. R.; TATHAM, A. S. Mini Review - disulphide bonds in wheat gluten proteins. **Journal of Cereal Science**, v.25, p.207–227, 1997.

SILVA, J.A.; RAO, M.A. Viscoelastic properties of foods hydrocolloids dispersions. In: **Viscoelastic Properties of Food**, London, New York: Rao, M. A. e Steffe, J. F. Elsevier Applied Science, p.207-231, 1992.

SILVA, S. A.; SOUZA, A. G.; CONCEIÇÃO, M. M. ALENCAR, A. L. S.; PRASAD, S.; CAVALHEIRO, J. M. O. Estudo termogravimétrico e calorimétrico da algaroba. **Química Nova**, v.24, n.3, 2001.

SILVA, S. A.; CARVALHO, F. I. F.; NEDEL, J. L.; VASCONCELLOS, N. J. S.; CRUZ, P. J.; SIMIONI, D.; SILVA, J. A. G. Composição de subunidades de gluteninas de alto peso molecular (HMW) em trigos portadores do caráter “stay-green”. **Ciência Rural**, v.34, n.3, 2004.

SINGH, H. A study of changes in wheat protein during bread baking using SE-HPLC. **Food Chemistry**, v.90, p.247–250, 2005.

SMANHOTTO, A.; NÓBREGA, L. H. P.; OPAZO, M. A. U.; PRIOR, M. Características físicas e fisiológicas na qualidade industrial de cultivares e linhagens de trigo e triticale. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v.10, p. 867-872, 2006.

SOLUTIONS, T. I. R. **TA Instruments Thermal Analysis & Rheology: Rheology Solutions (AR 1000) – Flow, Oscillation**. New Castle, DE, 1996. p.1-3.

SONG I.; ZHENG, Q. Dynamic rheological properties of wheat flour dough and proteins. **Trends in Food Science & Technology**, p.1-7, 2007.

STAUFFER, C. E. **Functional additives for bakery foods**. New York. AVI Books, 1990. 279p.

STEFFE, J. F. **Rheological Methods in Food Process Engineering**. 2ed. East Lansing, USA: Freeman press, 1996. 418 p.

TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Rheology for the food industry. **Journal of food engineering**, v.67, p. 147-156, 2005.

TILLEY, K. A.; BENJAMIN, R. E.; BAGOROGOZA, K. E.; OKOT-KOTBER, B. M.; PRAKASH, O.; KWEN, H. Tyrosine cross-links: molecular basis of gluten structure and function. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.49, p.2627–2632, 2001.

THOMPSON, T. Do oats belong in a glúten-free diet? **J. Am. Diet. Assoc.** v.97, p.1413-1416, 1997.

TOUFEILI, I.; ISMAIL, B.; SHADAREVIAN, S.; BAALBAKI, R.; KHATKAR, A. E. B.; SCHOFIELD, J. D. The role of glúten proteins in the baking of arabic bread. **Journal of Cereal Science**, v.30, p.255-265, 1999.

TREDUS, G. A. S.; ORMENESE, R. C. S. C.; SPERANZA, S. M.; CHANG, Y. K.; BUSTOS, F. M. Estudo da adição de vital glúten à farinha de arroz, farinha de aveia e amido de trigo na qualidade dos pães. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v.21, p.20-25, 2001.

VASQUES, C. T. **Reologia do suco de goiaba: efeito da diluição e do tamanho de partícula**. Dissertação de Mestrado. Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina, SC, Florianópolis, 2003.

VIDAL-BEZERRA, J. R. M. **Comportamento reológico da polpa de manga**. Tese de Doutorado. Instituição: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2000.

WARD, I. M.; HADLEY, D. W. Principles of linear viscoelasticity. In: Sons J W, editor. **Mechanical Properties of Solids Polimers**. London: s.n.; 1993. p. 45-75.

WANG, S. H.; MAIA, L. H.; SILVA, L. F. M.; CABRAL, L. C. Estudo das propriedades reológicas e sensoriais após reconstituição dos mingaus desidratados de arroz e soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.8, n.1, p.68-73, 2000.

WATANABE, E.; BELL, A. E.; BROCKWAY, B. E. The effect of protein disulphide isomerase on dough rheology assessed by fundamental and empirical testing. **Food Chemistry**, v.61, n.4, p. 481-486, 1998.

WILLIAN, J. **The chemistry of wheat, flour, and bread, and technology of breadmaking**. Brighton, 1886.

WIESER, H. Relation between gliadina structure and coeliac toxicity. **Acta. Pediatric**. v.412, p.3-9, 1996.

WIESER, H.; KIEFFER, R. Correlations of the amount of gluten protein types to the technological properties of wheat flours determined on a micro-scale. **Journal of Cereal Science**, v.34, p.19-27, 2001.

WIESER, H. Chemistry of gluten proteins. **Food Microbiology**, v.24, p.115-119, 2007.

WIKIPÉDIA. **Cisteína**. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Ciste%C3%ADna>
Acesso em: janeiro de 2007.

XU, J.; BIETZ, J. A.; CRAIG, J. Viscoelastic properties of wheat gliadin and glutenin suspensions. **Food Chemistry**, v.101, p.1025–1030, 2007.

YANG, H.; IRUDAYARAJ, J.; OTGONCHIMEG, S.; WALSH, M. Rheological study of starch and dairy ingredient-based food systems. **Food Chemistry**, v.86, p.571-578, 2004.

YU, L.; CHRISTIE, G. Measurement of starch thermal transitions using differential scanning calorimetry. **Carbohydrate Polymers**, v.46, p.179-184, 2001.

CAPÍTULO 2

EFEITO DA ADIÇÃO DE L-CISTEÍNA NAS PROPRIEDADES REOLÓGICAS E NO “CROSS-LINK” DAS PROTEÍNAS FORMADORAS DO GLÚTEN

Trabalho publicado parcialmente em:

- Encontro anual da AACC (American Association of Cereal Chemists).

Effect of Addition of L-Cysteine on the Dynamic Rheological Properties of Gluten Proteins. 17-20 de setembro de 2006, San Francisco, Califórnia – USA.

- XX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Efeito da adição de L-cisteína nas propriedades reológicas das proteínas formadoras do glúten. 8-11 de outubro de 2006, Curitiba – PR.

Artigo a ser submetido para a Revista “Cereal Chemistry”.

RAGUZZONI, J. C. **Efeito da adição de L-cisteína nas propriedades reológicas e no “cross-link” das proteínas formadoras do glúten.** 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos), Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi analisar os efeitos da adição de L-cisteína 100, 200 e 250 ppm, em amostras comerciais de gliadina e glutenina através da reologia dinâmica de oscilação. As análises foram realizadas com três repetições de acordo com LEE et al. (2003). As medidas foram conduzidas em reômetro TA-Instruments (Modelo AR 1000-N, TA Instruments, EUA) utilizando-se sistema de pratos paralelos com 2.5 mm de espaço e com tempo de relaxamento de 1 hora por amostra. A temperatura utilizada foi de 25° C, com intervalo de frequência de 0,1 – 100 Hz. Os resultados apresentaram, para a gliadina, módulo viscoso (G'') maior que o módulo elástico (G') indicando que esta proteína apresenta características viscosas. Para a glutenina o $G' > G''$ indicando a predominância das características elásticas desta proteína. Ambas apresentaram dependência da frequência de oscilação a 25° C, com e sem adição de L-cisteína. Os valores máximos de G' aumentaram, em relação ao controle, com a adição de 100 ppm de L-cisteína e foram diminuindo a partir de 200 ppm, devido a relação existente com o número de ligações dissulfeto formadas e quebradas. Através do cálculo do número de ligações dissulfeto (SS), comprovou-se que, com 100 ppm de L-cisteína, ocorreu formação de ligações (SS) e, a partir de 200 ppm iniciou-se a redução. A avaliação reológica, na qual as propriedades viscoelásticas são determinadas, é de extrema importância, pois permite predizer o comportamento do material e características do produto final.

Palavras-chave: reologia, gliadina, glutenina, ligações dissulfeto, L-cisteína, panificação, glúten.

RAGUZZONI, J. C. **Effect of the addition of L-cistein on the rheologic properties and cross-linkage of the gluten formation proteins.** 2007. Dissertation (Food Science masters program), Federal university of Santa Catarina – UFSC, Florianópolis, SC.

ABSTRACT

The objective of this study was to analyze the effects of addition on commercial samples of gliadin and glutenin by oscillatory dynamic rheology. The analysis were done in triplicate according to LEE et al. (2003). The measurements were conducted in a rheometer TA-Instruments (Model AR 1000-N, TA Instruments, EUA) using the parallel plate system with 2.5 mm gap and with a relaxing time of 1 hour per sample. The temperature chosen was of 25° C, with frequency intervals of 0,1 – 100 Hz. The results showed a higher viscous modulus (G'') than the elastic modulus (G') which suggests that this protein has viscous characteristics. For the glutenin, the $G' > G''$ suggested predominance of the elastic characteristics for this protein. Both showed a dependency of the oscilation at 25° C with and without L-cistein. G' s maximum values of the control sample increased with the addition of 100 ppm of L-cysteine and gradually decreased after 200 ppm because of the disulfide bonds formed and broken. Through the disulfide (SS) bond calculations, it was demonstrated that addition of 100 ppm of L-cysteine resulted in (SS) bond formation and that after 200 ppm a reduction was initiated. Rheologic evaluation to determine viscoelastic properties, is extremely important since it predicts the behavior of the material and the characteristics of the final product.

Key words: rheology, gliadin, glutenin, disulfide bonds, L-cysteine, bakery, gluten.

1 INTRODUÇÃO

O glúten hidratado forma uma massa coesiva e elástica e existe uma relação entre as ligações dissulfeto (SS) e a força do glúten. A rede de interação proteína – proteína através das ligações (SS) é forte suficiente para impedir a lixiviação do amido durante o cozimento da massa e também para manter as condições de superfície satisfatórias (LI; LEE, 1996). Tem sido demonstrado que os grupos sulfidrilas (SH) e as ligações dissulfeto (SS) possuem um importante papel no desenvolvimento do glúten e propriedades de massa para panificação (LAVELLI; GUERRIERI; CERLETTI, 1996; LI; LEE, 1996; LI; LEE, 1998; HERNANDEZ-MUNOZ, 2004; BARONE; DANGARAN; SCHIMIDT, 2006; DAY et al., 2006; SONG; ZHENG, 2007; WIESER, 2007).

As gluteninas e gliadinas interagem principalmente através de forças não-covalentes em adição as ligações (SS) durante o descanso da massa (WEEGELS; HAMER; SCHOFIELD, 1996; LI; LEE, 1998). Estas proteínas contêm o aminoácido cisteína (C), que apresenta grupos (SH) e por isto está envolvido na formação de ligações intra e intermoleculares (LI; LEE, 1996; BARONE; DANGARAN; SCHIMIDT, 2006). Pouco se sabe sobre a quantidade destas ligações em cada proteína (BARONE; DANGARAN; SCHIMIDT, 2006), porém sabe-se que, na glutenina, estão presentes em maior número (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989).

Os grupos sulfidrilas (SH) presentes na cisteína e nas proteínas do glúten são um sítio ativo. Eles são potencialmente capazes de interagir uns com os outros, para formar as ligações dissulfeto (SS), e também para clivá-las, promovendo rearranjos moleculares através de reações de troca SS/SH. Teoricamente, a interação proteína-proteína que atua através da formação das ligações (SS) pode ser reduzida pela adição da cisteína, desde que este aminoácido possa reagir com a proteína através da formação de ligações (SS) (LAVELLI; GUERRIERI; CERLETTI, 1996; LI; LEE, 1996).

Nos últimos anos, diversos tratamentos e uso de aditivos têm sido aplicados para melhorar a qualidade de panificação (RAVI et al., 2000; BONET et al., 2006). Agentes redutores e oxidantes são utilizados para melhorar o efeito das trocas SH/SS,

enfraquecendo ou fortalecendo a massa, respectivamente (DONG; HOSENEY, 1995; LI; LEE, 1998; ROSELL et al., 2001; QUEIJI; SCHEMIN; TRINDADE, 2006).

A utilização destes aditivos é capaz de alterar o comportamento reológico da massa. Este fator é de considerável relevância na indústria de alimentos, uma vez que possui implicações diretas no produto final (ROSELL et al., 2001; QUEIJI; SCHEMIN; TRINDADE, 2006).

Na reologia, os métodos dinâmicos viscoelásticos utilizando experimentos oscilatórios, fornecem importantes parâmetros de discussão e tem sido devidamente investigados (WANG et al., 2000; SONG; ZHENG, 2007). Trabalhos têm sido conduzidos onde parâmetros como a influência de diferentes agentes redutores e oxidantes são avaliados e, também relacionados com o comportamento reológico (BONET et al., 2006; PEÑA et al., 2006; ZHANG et al., 2006; YIHU, 2007). As respostas obtidas: G' e G'' fornecem informações quanto ao comportamento destes materiais no processamento industrial e, além disto, possuem relevância na aceitabilidade pelo consumidor (KHATKAR et al., 2002; SONG; ZHENG, 2007).

Com base no exposto, a presente pesquisa teve por objetivos: 1) Analisar o efeito da adição de L-cisteína nas proteínas isoladas gliadina e glutenina, verificando o comportamento das amostras e as respostas de G' e G'' , em relação a frequência de oscilação; 2) Avaliar o efeito da L-cisteína nas ligações cruzadas ou cross-link das proteínas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Os equipamentos utilizados nesta pesquisa foram gentilmente disponibilizados pelo laboratório *Cereal Chemistry* do departamento *Food & Agricultural Products Center*, Universidade Estadual de Oklahoma - Stillwater - EUA.

2.1 Material

Para a realização deste trabalho de estudo, foram utilizadas duas amostras comerciais de proteínas do trigo, gliadina e glutenina (Figura 1), da *MGP Ingredients* - EUA. Ambas foram fornecidas pelo laboratório *Cereal Chemistry*. As amostras foram acondicionadas sob congelamento (-16°C) para evitar qualquer tipo de deterioração.

GLIADINA

GLUTENINA



Figura 1 - Amostras - gliadina e glutenina da *MGP Ingredients*.

2.2 Métodos

2.2.1 Umidade

As amostras foram analisadas em triplicata quanto ao teor de umidade segundo método oficial da AACC 44-19 (*American Association of Cereal Chemists, EUA*). Este dado foi utilizado para calcular a quantidade de L-cisteína adicionada na amostra para o experimento reológico.

2.2.2 Reologia

Os experimentos foram realizados em um reômetro TA-Instruments (Figura 2) (Modelo AR 1000-N, TA Instruments, EUA). As medidas foram conduzidas utilizando-se o sistema de pratos paralelos com 2.5 mm de espaço e com o tempo de relaxamento de uma hora por amostra. A temperatura utilizada foi de 25°C para todas as corridas e foi controlada por circulação de água através de banho termostatzado. O intervalo de frequência utilizado foi de 0,1 – 100 Hz (LEE; MULVANEY, 2003).

Os testes de varredura da tensão oscilatória foram realizados dentro de uma tensão de 0,001 a 100 Pa, com a utilização de uma frequência constante de 0,1 Hz para determinar a região viscoelástica linear (LVR – *linear viscoelastic region*).



Figura 2 – Reômetro (Modelo AR 1000-N, TA Instruments, EUA).

Para analisar o efeito da adição de L-cisteína nas frações do glúten, gliadina e glutenina, utilizou-se este agente redutor nas concentrações 100, 200 e 250 ppm. Para cada concentração foram realizadas três repetições reológicas.

A L-cisteína foi adicionada às amostras na proporção diluída 1:1 (50% sólido e 50% líquido). A mistura foi efetuada em farinógrafo durante cinco minutos. Após a mistura da amostra com L-cisteína, a massa resultante foi imediatamente analisada no reômetro (Figura 3). O excesso de massa no reômetro foi retirado com uma espátula. Durante as medidas foi utilizada uma cápsula de vidro sobre o sistema e óleo de silicone foi adicionado sobre as bordas da amostra evitando o ressecamento.

Através da reologia dinâmica oscilatória foram determinados os seguintes parâmetros reológicos: módulo elástico (G') e módulo viscoso (G'') versus frequência de oscilação.

2.2.3 Determinação do número de cross-link ou ligações cruzadas

O efeito da adição de L-cisteína no cross-link das proteínas isoladas do glúten, gliadina e glutenina, foi determinado através da fórmula sugerida por Muller (1969), para a qual inicialmente calcula-se a média da massa molar entre os cross-links (M_c) a partir das médias dos valores de G' máximos:

$$M_c = (\rho RT) / G'$$

Onde, ρ é a densidade do material, R é a constante dos gases, T é a temperatura absoluta, e G' é o módulo elástico do material. Para o cálculo do número de cross-link (N_c) aplica-se a equação:

$$N_c = \text{massa molar média} / 2 M_c$$

Para a glutenina foi utilizada a massa molar média de 100.000 g/mol e para a gliadina 40.000 g/mol. A densidade de ambas as proteínas foi determinada através de uma proveta aferida pela divisão da média da massa de 10 amostras pela média do volume deslocado na proveta, sendo 1,7 g/cm³ para a glutenina e 1,9 g/cm³ para a gliadina (LAMBERT; KOKINI, 2001).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Reologia

Para determinar o comportamento reológico das proteínas do glúten (gliadina e glutenina) conduziu-se o teste oscilatório com intervalo de frequência de 0,1 a 100 Hz, observando-se o efeito da adição de L-cisteína, visto que a reologia dinâmica é uma técnica capaz de descrever o comportamento viscoelástico dos materiais analisados.

MASSA DE GLIADINA

MASSA DE GLUTENINA



Figura 3 - Gliadina e glutenina após mistura em farinógrafo com a L-cisteína e análise no reômetro.

As técnicas dinâmicas de oscilação medem as propriedades reológicas como o módulo elástico (G') e o módulo viscoso (G'') através da aplicação de uma força rotacional oscilatória de pequena amplitude, com variação da frequência aplicada (STEFFE, 1996). A resposta resultante é medida em termos dos componentes elásticos (G') e dos componentes viscosos (G''). Para melhor compreensão, a Figura 4 apresenta as principais características do comportamento viscoso (G'') e elástico (G') para polímeros, através de uma ampla variação de frequências. A escala de frequência mais baixa, chamada de zona terminal, é caracterizada por $G'' > G'$. Este comportamento é descrito como líquido ou viscoso, onde as moléculas poliméricas estão livres para fluir. Em frequências intermediárias, os polímeros mostram uma região de platô sendo $G' > G''$. Este comportamento é descrito como sólido ou

elástico, indicando a região onde ocorre um enredamento dos polímeros não os deixando livres para se moverem (STATHOPOULOS et al.; 2006).

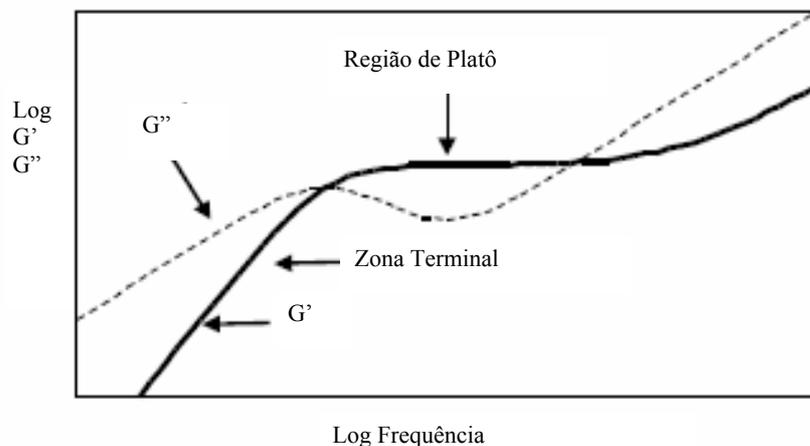


Figura 4 - Principais características do comportamento viscoso (G'') e elástico (G') para polímeros através de uma ampla variação de frequências.

Neste trabalho, foram analisados isolados protéicos com características reológicas diferentes. Através do gráfico que apresenta o comportamento da gliadina (Figura 5), é possível observar que G'' é superior a G' indicando que esta proteína apresenta características mais viscosas. O isolado protéico de glutenina apresentou G' superior a G'' (Figura 6) indicando o comportamento mais elástico da amostra. Estas características mostradas confirmaram o caráter viscoso e elástico das amostras já amplamente citadas na literatura (ATTENBURROW et al., 1990; CORNEC; POPONEAU; LEFEBVRE, 1994; KHATKAR; BELL; SCHOFIELD, 1995; JEREZ et al., 2005; XU; BIETZ; CRAIG, 2007). Como a massa do pão é composta por frações destas proteínas, reologicamente ele pode ser considerado como um material viscoelástico que apresenta comportamento intermediário entre um líquido viscoso e um sólido elástico (CABALLERO et al.; 2005).

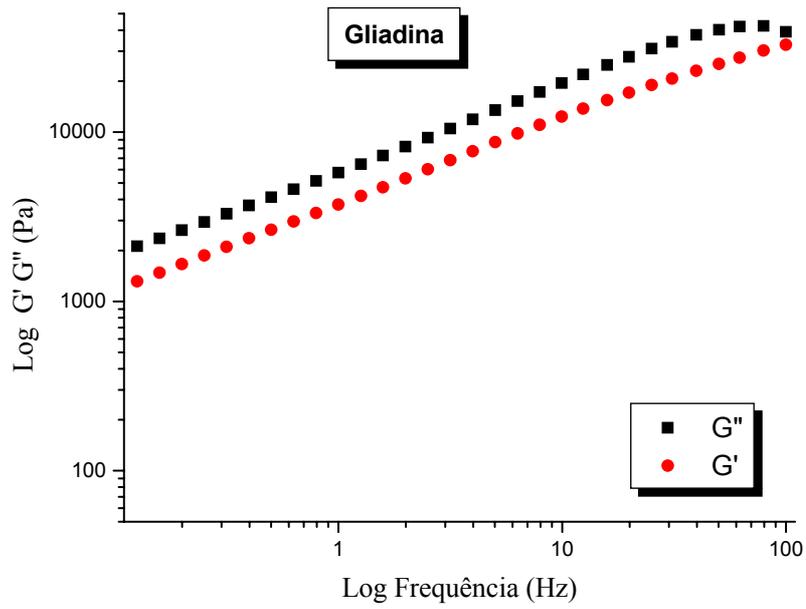


Figura 5 - Módulo elástico (G') e módulo viscoso (G'') em função da frequência para a gliadina.

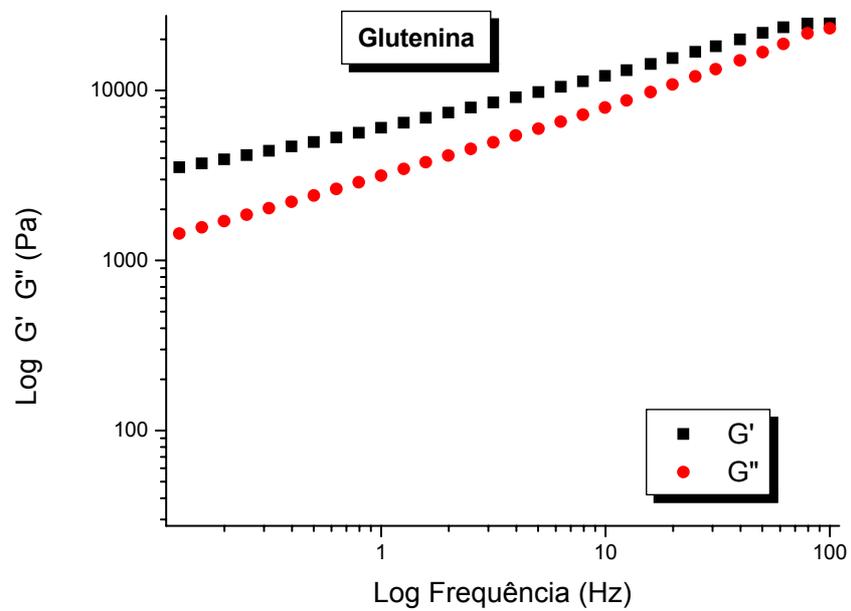


Figura 6 - Módulo elástico (G') e módulo viscoso (G'') em função da frequência para a glutenina.

Foi realizada uma varredura na frequência de oscilação buscando com isso observar a relação entre o aumento da frequência de deformação aplicada sobre as amostras em qualquer etapa da frequência e os valores resultantes dos módulos elásticos (G') e viscosos (G'') (SCHRAMM, 2006). A evolução com a frequência (espectro mecânico) de G' e G'' das amostras gliadina e glutenina a 25° C, com e sem adição de L-cisteína, estão ilustradas nas Figuras 7, 8, 9 e 10.

As figuras mostram, claramente, a dependência da evolução das funções com a frequência de oscilação, ou seja, o aumento de G' e G'' com o aumento da frequência, tanto para a gliadina como para glutenina em todas as concentrações de L-cisteína utilizadas.

Diversos autores têm observado a dependência de G' e G'' com a frequência em estudos envolvendo o glúten ou suas proteínas isoladas. Berland e Launay (1995), estudaram as propriedades reológicas da massa em relação ao conteúdo de água. Janssen, Vliet e Vereijken (1996), trabalharam com glúten nativo e reconstituído. Khatar et al. (2002), estudaram as propriedades reológicas do glúten adicionado de frações de gliadina. Jerez et al. (2005), trabalharam com bioplásticos de glúten com adição de glicerol. Salvador, Sanz e Fiszman (2006), verificaram o efeito da adição de NaCl, sacarose e fermento nas propriedades reológicas da massa. Song e Zheng (2007), trabalharam com massas enriquecidas com glúten e frações de gliadina e glutenina. Xi, Bietz e Carriere (2007), trabalharam com as propriedades viscoelásticas de diferentes suspensões de gliadina e glutenina. Em todos os casos, foi demonstrada a dependência dos módulos elástico e viscoso com a frequência de oscilação.

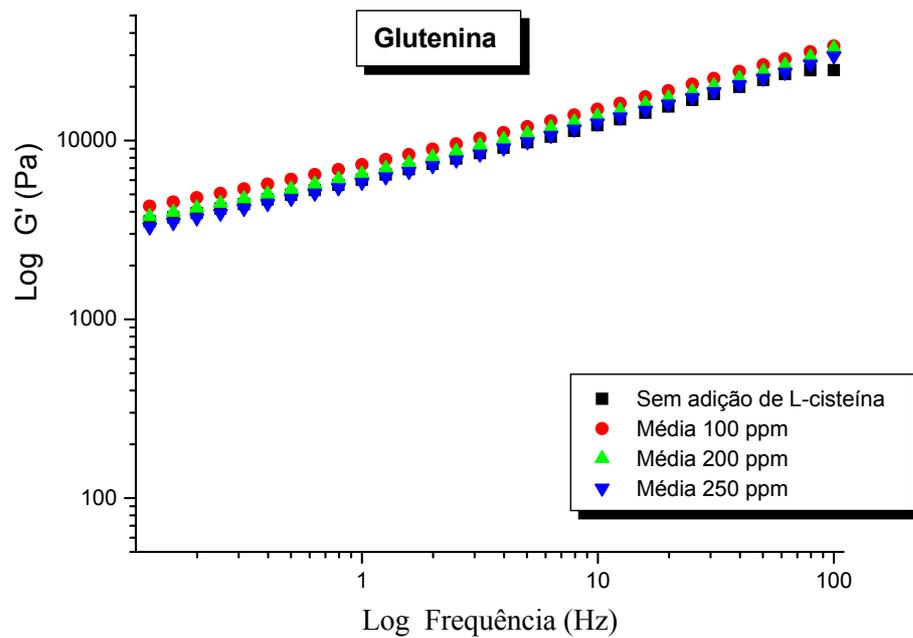


Figura 7 - Módulo elástico (G') em função da frequência para diferentes concentrações de L-cisteína na amostra glutenina a 25° C.

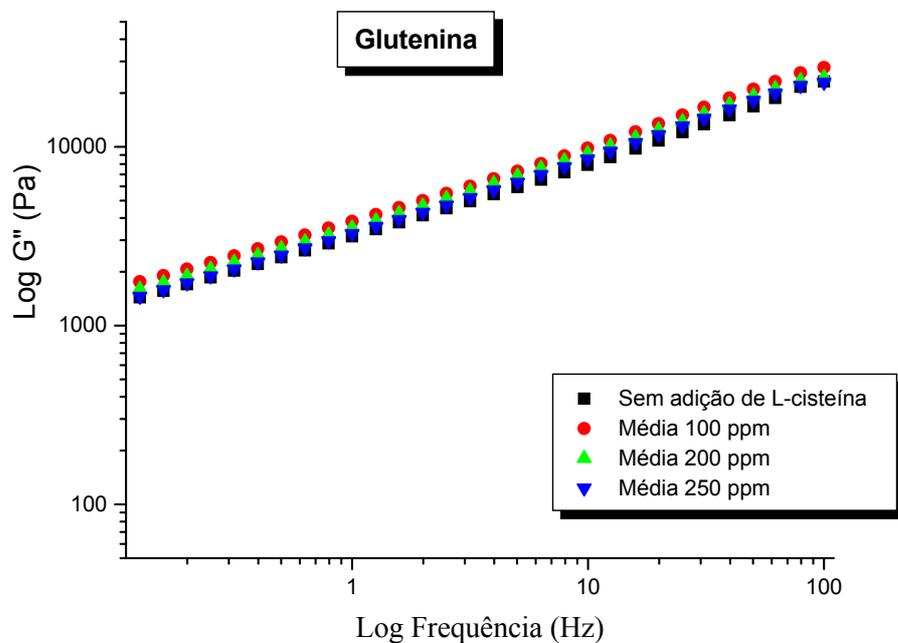


Figura 8 - Módulo viscoso (G'') em função da frequência para diferentes concentrações de L-cisteína na amostra glutenina a 25° C.

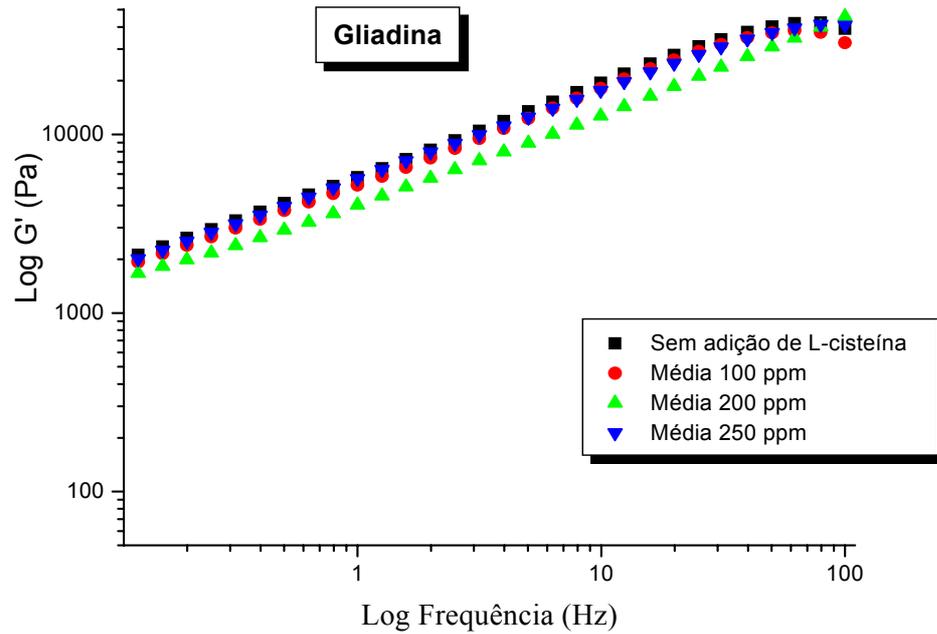


Figura 9 - Módulo elástico (G') em função da frequência para diferentes concentrações de L-cisteína na amostra gliadina a 25° C.

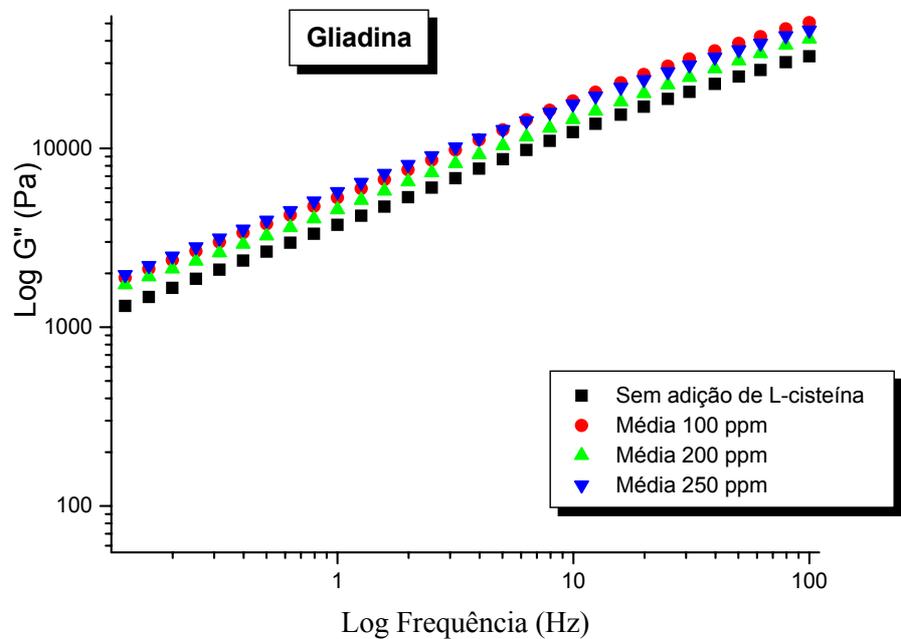


Figura 10 - Módulo viscoso (G'') em função da frequência para diferentes concentrações de L-cisteína na amostra gliadina a 25° C.

As diferenças obtidas com a adição de L-cisteína nos caracteres elásticos (G') e viscosos (G'') através da variação da frequência (Tabela 1) podem ser descritas através das equações (RAO, 1999):

$$G' = K'(\omega)^{n'} \text{ e } G'' = K''(\omega)^{n''}$$

Onde (K) e (n) são constantes e (ω) a frequência aplicada.

Os valores de (K) e (n) obtidos dos resultados experimentais estão listados na Tabela 1 e demonstram o grau de dependência dos módulos elásticos e viscosos das amostras, com relação à frequência.

Tabela 1 – Intersecção (K' , K'') e inclinação (n' , n'') da regressão linear de $\log \omega$ pelo \log de G' e G'' (Pa) das diferentes concentrações de L-cisteína para a glutenina e gliadina.

L-cisteína	Glutenina $G' \log (K')$	Glutenina $G' (n')$	Glutenina $G'' \log (K'')$	Glutenina $G'' (n'')$
0 ppm	6199	0,30	3236	0,41
100 ppm	7527	0,31	3890	0,41
200 ppm	6714	0,32	3548	0,41
250 ppm	6025	0,33	3316	0,42
L-cisteína	Gliadina $G' \log (K')$	Gliadina $G' (n')$	Gliadina $G'' \log (K'')$	Gliadina $G'' (n'')$
0 ppm	5885	0,48	5754	0,50
100 ppm	5370	0,48	5370	0,51
200 ppm	4168	0,50	4677	0,48
250 ppm	5623	0,49	5495	0,48

Como se pode observar na Tabela 1, com a adição de L-cisteína aos isolados protéicos de glutenina as características elásticas (G') e viscosas (G'') apresentaram a seguinte ordem em relação a inclinação: 0 ppm < 100 ppm < 200 ppm < 250 ppm e 0 ppm = 100 ppm = 200 ppm < 250 ppm. Quanto mais o “n” se aproxima de 1, mais elástico ou

mais viscoso será o material. Isto demonstra que a adição de L-cisteína proporcionou um certo aumento das características elásticas da glutenina e as características de viscosidade permaneceram praticamente sem alteração.

Para a gliadina os valores de n foram respectivamente: $0 \text{ ppm} = 100 \text{ ppm} < 200 \text{ ppm} > 250 \text{ ppm}$ e $0 \text{ ppm} < 100 \text{ ppm} > 200 \text{ ppm} = 250 \text{ ppm}$. Isto demonstra que a elasticidade da gliadina praticamente não foi alterada com a adição de L-cisteína e a viscosidade decresceu levemente.

Analisando-se os valores de G' máximos (Tabela 2) obtidos no gráfico do módulo elástico (G') em função da frequência para a glutenina (Figura 7), percebe-se uma pequena variação no módulo elástico, decorrente das diferentes concentrações de L-cisteína acrescentadas na massa. Os valores de G' foram diminuindo com o aumento da concentração do redutor L-cisteína. Estes valores foram: 33,95 KPa para 100 ppm de L-cisteína, 32,85 KPa para 200 ppm e 29,62 KPa para 250 ppm. Como o aumento do módulo elástico está relacionado com o aumento dos cross-links ou ligações dissulfeto (DONG; HOSENEY, 1995; LAMBERT; KOKINI, 2001), estes resultados demonstram o aparente decréscimo destas ligações, sustentando a informação de que a cisteína quebra ou bloqueia as ligações dissulfeto (SS), o que provavelmente ocasionou a ruptura das moléculas de glutenina e formação de cadeias protéicas menores (LAMBERT; KOKINI, 2001). Porém, em relação ao G' obtido sem adição de L-cisteína (26,49 KPa) estes valores aumentaram.

Como a glutenina é uma fração de proteína que contém vários resíduos de cisteína (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989) e apresenta ligações dissulfeto intramoleculares e também grupos sulfidrilas livres que, por oxidação, formam ligações dissulfeto intermoleculares (SGARBIERI, 1996; SHEWRY; TATHAM, 1997; RAKSZEGI et al., (2005), estes resultados podem indicar que, inicialmente, a L-cisteína se ligou a estes grupos sulfidrilas livres formando ligações dissulfeto até saturação dos mesmos, sendo estas ligações reduzidas na seqüência pelo aumento da concentração de L-cisteína.

No caso da gliadina, os valores de G' máximos (Tabela 2 e Figura 9) também foram influenciados pelas diferentes concentrações de L-cisteína acrescentadas na amostra, observando-se que G' também diminuiu com a concentração do redutor. Para G' da gliadina os valores foram: 46,82 KPa para 100 ppm de L-cisteína, 45,69 KPa para 200 ppm

e 43,89 KPa para 250 ppm. Então, com a diminuição dos valores de G' a medida que aumenta-se a concentração de L-cisteína, supõe-se que ocorreu a redução das ligações dissulfeto. O G' obtido sem adição de L-cisteína mostrou-se semelhante ao da glutenina, porém em diferentes proporções. Este valor foi de 45,28 KPa, portanto menor do que o G' nas concentrações de 100 e 200 ppm de L-cisteína.

Como a gliadina é uma proteína com poucos resíduos de cisteína (CHEFTEL; CUQ; LORIENT, 1989) que apresenta ligações dissulfeto intramoleculares (RAKSZEGI et al., 2005) e poucos grupos sulfidrilas livres (SGARBIERI, 1996), isto pode nos levar a concluir que este pequeno aumento de G' , com a adição de L-cisteína (100, 200 e 250 ppm) sugere, da mesma forma que ocorreu para a glutenina, que inicialmente a L-cisteína se ligou aos poucos grupos sulfidrilas livres promovendo a formação de uma pequena quantidade de ligações dissulfeto ou cross-link até saturação das mesmas sendo estas reduzidas na seqüência com o aumento da concentração de L-cisteína.

A proporção foi menor para a gliadina em comparação com a glutenina visto que a gliadina apresenta menor número de SH e SS e na glutenina ocorrem ligações inter e intramoleculares ao passo que na gliadina somente ligações intramoleculares.

Tabela 2 – Média dos valores máximos de G' (KPa) para a gliadina e glutenina nas diferentes concentrações de L-cisteína a 25° C.

L-cisteína	Glutenina média de G'	Gliadina média de G'
0 ppm	26,49	45,28
100 ppm	33,95	46,82
200 ppm	32,85	45,69
250 ppm	29,62	43,89

Já está comprovado que as propriedades reológicas da massa de pão e sua rede tridimensional são dependentes do arranjo e número de ligações dissulfeto e grupos sulfidrilas da proteína. A contribuição vital destas (SS) à estabilidade da massa de pão foi relatada em estudos reológicos pela adição de agentes formadores ou bloqueadores de (SS).

Uma pequena quantidade de cisteína modifica as propriedades da massa influenciando no resultado final (DONG; HOSENEY, 1995).

Quando a cisteína é adicionada no glúten, como já ocorreu a interação entre a gliadina e a glutenina e as ligações dissulfeto já estão formadas, a cisteína inicia sua ação atuando diretamente na redução ou no bloqueio destas ligações e, conseqüentemente, enfraquecendo a massa (LAMBERT; KOKINI, 2001).

3.1.1 Determinação do número de cross-link ou ligações cruzadas

O número de cross-link foi estimado, assumindo valores de massa molar de 100.000 g/mol e 40.000 g/mol para a glutenina e gliadina respectivamente, utilizando a equação:

$$N_c = MM/2M_c$$

Para isto, foi inicialmente calculada a média da massa molar entre os cross-links (M_c) a partir das médias dos valores de G' máximos, utilizando a equação:

$$M_c = (\rho RT)/G'$$

De acordo com os resultados, o número de cross-link para a glutenina foi de 0,31 (0 ppm de L-cisteína), 0,40 (100 ppm), 0,39 (200 ppm) e 0,35 (250 ppm). Para a gliadina foram obtidos os seguintes valores: 0,19 (0 ppm), 0,20 (100 ppm), 0,19 (200 ppm) e 0,18 (250 ppm). (Tabela 3).

Com a análise destes resultados e com base nas reações de troca SS-SH entre a cisteína e as proteínas do glúten, o efeito da cisteína nas proteínas isoladas foi a formação de ligações dissulfeto com a adição de 100 ppm até completa saturação dos sítios ativos livres, seguida de uma redução a partir de 200 ppm.

Comparando os resultados obtidos sem adição de L-cisteína com os resultados de 250 ppm, observa-se que mesmo na máxima concentração utilizada, o número de cross-link ainda assim é superior ou semelhante ao da proteína nativa sem o redutor. Isto

demonstra que para obter-se um efeito redutor desejado nas proteínas isoladas é necessária a adição de uma concentração superior a 250 ppm de L-cisteína.

Tabela 3 – Média dos valores de M_c e N_c para a glutenina e gliadina.

L-cisteína	Glutenina	Glutenina	Gliadina	Gliadina
	M_c (g/mol)	N_c	M_c (g/mol)	N_c
0 ppm	161149	0,31	108132	0,19
100 ppm	124335	0,40	102719	0,20
200 ppm	135381	0,39	103218	0,19
250 ppm	142336	0,35	113178	0,18

Estudos foram realizados para observar as mudanças ocorridas na massa de pão com a adição de cisteína. Quando a rede de glúten já está formada foi claramente observado o efeito redutor da cisteína.

Dreese et al. (1988), observaram uma forte resposta nos valores de G' quando massas de pão de trigo foram tratadas com cisteína, porém, a resposta em proteínas isoladas pode ser diferente da resposta de uma massa onde outros componentes interferem na reologia.

Lambert e Konini (2001), também observaram que a cisteína quebra ou bloqueia a formação das ligações dissulfeto (SS) quando é adicionada a farinha de trigo durante o processamento.

Berland e Launay (1995) observaram efeito similar quando adicionaram glutathione (agente redutor) em massas de pão, com concentração de 50 ppm. Nestes casos, o decréscimo de G' , característica de redução no cross-link de sistemas poliméricos, foi consistente com o que geralmente é aceito na teoria de que a cisteína é capaz de quebrar ou inibir a formação de ligações SS.

3 CONCLUSÃO

As proteínas isoladas do glúten, gliadina e glutenina, apresentaram as seguintes respostas reológicas através dos módulos elástico (G') e viscoso (G''), com variação na frequência de oscilação a 25 ° C e adição de L-cisteína:

A gliadina apresentou $G'' > G'$ indicando a predominância das características viscosas e a glutenina $G' > G''$ indicando a predominância das características elásticas desta proteína;

A 25° C ambos isolados protéicos demonstraram dependência da frequência de oscilação com e sem adição de L-cisteína;

Com a adição de L-cisteína ocorreu um pequeno aumento das características elásticas da glutenina e as características de viscosidade quase não foram alteradas. Já na gliadina a elasticidade permaneceu praticamente a mesma e a viscosidade teve um leve decréscimo;

Tanto para a glutenina quanto para a gliadina os valores máximos de G' aumentaram, em relação ao controle, com a adição de 100 ppm de L-cisteína e foram diminuindo a partir de 200 ppm, estando estes resultados relacionados com o número de ligações dissulfeto formadas e quebradas.

Através da equação proposta por Muller (1960), comprovou-se que com adição de 100 ppm de L-cisteína ocorreu formação de ligações dissulfeto até a saturação dos sítios ativos livres e, a partir de 200 ppm, iniciou-se a redução das ligações. Assim, para obter-se efeito redutor nas proteínas isoladas do glúten seria necessário acrescentar L-cisteína em concentração superior a 250 ppm.

A adição da L-cisteína obteve respostas significativas nas propriedades reológicas das proteínas isoladas do glúten, demonstrando a importância das ligações dissulfeto (SS) e que estas podem ser reduzidas pela L-cisteína em concentrações superiores a 250 ppm.

Com base no exposto, sugere-se que a forma de atuação da L-cisteína na gliadina e glutenina isoladamente pode ser: em pequenas quantidades promove rearranjos moleculares e formação de ligações dissulfeto e, em altas concentrações, atua como agente redutor na quebra das ligações.

Assim, através das propriedades reológicas, os resultados obtidos nas amostras gliadina e glutenina, demonstraram que, em alguns parâmetros, a adição de L-cisteína nas proteínas isoladas atua de forma diferente quando comparada à sua adição na rede de glúten.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC – **American Association of Cereal Chemists** – approved methods.

ATTENBURROW, G.; BARNES, D. J.; DAVIES, A. P.; INGMAN, S. J. Rheological properties of wheat gluten. **Journal of Cereal Science**, v.12, p.1–14, 1990.

BARONE, J. R.; DANGARAN, K.; SCHIMIDT, W. F. Blends of Cysteine-Containing Proteins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.54, p.5393-5399, 2006.

BERLAND, S.; LAUNAY, B. Rheological Properties of Wheat Flour Doughs in Steady and Dynamic Shear: Effect of Water Content and Some Additives. **Cereal Chemistry**, v. 72, p.48-52, 1995.

BONET, A.; ROSELL, C. M.; CABALLERO, P. A. GOMEZ, M. PEREZ-MUNUERA, I.; LLUCH, M. A. Glucose oxidase effect on dough rheology and bread quality: A study from macroscopic to molecular level. **Food Chemistry**, v.99, p.408–415, 2006.

BURKE, M. D.; HA, S. Y.; PYSZ, M. A.; KHAN, S. A. Rheology of protein gels synthesized through a combined enzymatic and heat treatment method. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.31, p.37-44, 2002.

CABALLERO, P. A.; BONET, A.; ROSELL, C. M.; GÓMEZ, M. Effect of microbial transglutaminase on the rheological and thermal properties of insect damaged wheat flour. **Journal of Cereal Science**, v.42, p.93-100, 2005.

CORNEC, M.; POPONEAU, Y.; LEFEBVRE, J. Characterization of gluten subfractions by SE-HPLC and dynamic rheological analysis in shear. **Journal of Cereal Science**, v.19, p.131–139, 1994.

CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentares**. Zaragoza: Editorial Acribia, p.235-253, 1989.

DAY, L.; AUGUSTIN, M. A.; BATEY, I. L.; WRIGLE, C. W. Wheat-gluten uses and industry needs. **Trends in Food Science & Technology**, v.17, p.82–90, 2006.

DREESE, P. C; FAUBION, J, M.; HOSENEY, R. C. Dynamic rheological properties of flour, gluten, and gluten starch doughs. II Effect of various processing and ingredients changes. **Cereal Chemistry**, v.65, p.354-359, 1988.

HAYTA, M.; SCHOFIELD, J. D. Heat and additive induced biochemical transitions in gluten from good and poor breadmaking quality wheats. **Journal of Cereal Science**, v.40, p.245–256, 2004.

HERNANDEZ-MUNOZ, P.; KANAVOURAS, A.; VILLALOBOS, R.; CHIRALT, A. Characterization of Biodegradable Films Obtained from Cysteine-Mediated Polymerized Gliadins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.52, p.7897-7904, 2004.

JANSSEN, A. M.; VLIET, T. V.; VEREIJKEN, J. M. Rheological Behaviour of Wheat Glutens at Small and Large Deformations. Effect of Gluten Composition. **Journal of Cereal Science**, v.23, p.33–42, 1996.

JEREZ, A.; PARTAL, P.; MARTINEZ, I.; GALLEGOS, C.; GUERRERO, A. Rheology and processing of gluten based bioplastics. **Biochemical Engineering Journal**, v.26, p.131–138, 2005.

KHATKAR, B. S.; BELL, A. E.; SCHOFIELD, J. D. The dynamic rheological properties of glutens and gluten sub-fractions from wheats of good and poor bread making quality. **Journal of Cereal Science**, v.22, p.29–44, 1995.

KHATKAR, B. S.; FIDO, R. J.; TATHAM, A. S.; SCHOFIELD, J. D. Functional Properties of Wheat Gliadins. II. Effects on Dynamic Rheological Properties of Wheat Gluten. **Journal of Cereal Science**, v.35, p.307–313, 2002.

LAMBERT, I. A.; KOKINI, J. L. Effect of L-cysteine on the rheological properties of wheat flour. **Cereal Chemistry**, v.78, p.226-230, 2001.

LAVELLI, V.; GUERRIERI, N.; CERLETTI, P. Controlled Reduction Study of Modifications Induced by Gradual Heating in Gluten Proteins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.44, p.2549-2555, 1996.

LEE, C. C.; MULVANEY, S. J. Dynamic Viscoelastic and Tensile Properties of Gluten and Glutenin Gels of Common Wheats of Different Strength. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, USA, v.51, p.2317-2327, 2003.

LI, M.; LEE, T. Effect of Cysteine on the Functional Properties and Microstructures of Wheat Flour Extrudates. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.44, p.1871-1880, 1996.

MULLER, H. G. Application of the statistical theory of rubber elasticity o gluten and dough. **Cereal Chemistry**, v.46, p.443-446, 1969.

PEÑA, E.; BERNARDO, A.; SOLEN, C.; JOUVE, N. Do tyrosine crosslinks contribute to the formation of the gluten network in common wheat (*Triticum aestivum* L.) dough? **Journal of Cereal Science**, v. 44, p.144–153, 2006.

RAO, M. A. **Rheology of Fluid and Semisolid Foods: Principles and Applications**. Gaithersburg, Maryland: An Aspen Publication, 1999. p.433.

RAVI, R.; MANOHAR, R. S.; RAO, P. H. Influence of additives on the rheological characteristics and baking quality of wheat flours. **Eur. Food. Res. Technol.**v. 210, p.202–208, 2000.

SALVADOR, A.; SANZ, T.; FISZMAN, S. M. Dynamic rheological characteristics of wheat flour–water doughs. Effect of adding NaCl, sucrose and yeast. **Food Hydrocolloids**, v.20, p.780–786, 2006.

SONG I.; ZHENG, Q. Dynamic rheological properties of wheat flour dough and proteins. **Trends in Food Science & Technology**, p. 1-7, 2007.

STATHOPOULOS, C. E., TSIAMI, A. A.; DOBRASZCZYK, B. J. ; SCHOFIELD, J. D. Effect of heat on rheology of gluten fractions from flours with different bread-making quality. **Journal of Cereal Science**, v.43, p.322-330, 2006.

STEFFE, J. F. **Rheological Methods in Food Process Engineering**. 2ed. East Lansing, USA: Freeman press, 1996. 418p.

SCHRAMM, S. **Reologia e reometria – Fundamentos teóricos e práticos**. São Paulo: Artliber editora, 2006. 232p.

SONG I.; ZHENG, Q. Dynamic rheological properties of wheat flour dough and proteins. **Trends in Food Science & Technology**, p.1-7, 2007.

WEEGELS, P. L.; HAMER, R. J.; SCHOFIELD, J. D. Critical review: functional properties of wheat glutenin. **Journal of Cereal Science**, v.23, p.1-18, 1996.

ZHANG, X.; HOOBIN, P.; BURGAR, I.; DO, M. D. Chemical Modification of Wheat Protein-Based Natural Polymers: Cross-Linking Effect on Mechanical Properties and Phase Structures. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.54, p.9858-9865, 2006.

XU, J.; BIETZ, J. A.; CRAIG, J. Viscoelastic properties of wheat gliadin and glutenin suspensions. **Food Chemistry**, v.101, p.1025–1030, 2007.

CAPÍTULO 3

**EFEITO DA ADIÇÃO DE L-CISTEÍNA NAS PROTEÍNAS
FORMADORAS DO GLÚTEN: ANÁLISES MICROSCÓPICA (MEV)
E TÉRMICA (DSC)**

Artigo a ser submetido para a Revista “Cereal Chemistry”.

RAGUZZONI, J. C. **Efeito da adição de L-cisteína nas proteínas formadoras do glúten: análises microscópica (MEV) e térmica (DSC)**. 2007. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos), Curso de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC, Florianópolis.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi observar os efeitos da adição de L-cisteína 100 e 250 ppm, em amostras comerciais de gliadina e glutenina através de análise microscópica (MEV) e análise térmica (DSC). Observou-se, diferenças entre as micrografias da gliadina e da glutenina, demonstrando a ação da L-cisteína em promover ligações dissulfeto (SS) a 100 ppm, seguida de sua capacidade redutora em maiores concentrações. Através dos termogramas obtidos pelo DSC, observou-se um único pico endotérmico que foi relacionado com a saída de água das amostras. Picos de desnaturação térmica e temperatura de transição vítrea não foram identificados. Com adição de L-cisteína os valores de ΔH na glutenina obtiveram uma queda e para, a gliadina, um aumento, indicando menor ou maior retenção de água na proteína.

Palavras-chave: gliadina, glutenina, L-cisteína, análise térmica, análise microscópica, DSC, MEV.

RAGUZZONI, J. C. Effect of L-cistein addition on the gluten formation proteins: scanning electron microscopy (MEV) and thermal analysis (DSC). Dissertation (Food Science masters program), Federal university of Santa Catarina – UFSC, Florianópolis.

ABSTACT

The objective of this work was to observe the effects of the addition of 100 e 250 ppm, in commercial samples of gliadin and glutenin with scanning electron microscopy and thermal analysis (DSC). The electron micrographs clearly showed differences between gliadin and glutenin demonstrating the action of L-cysteine which promotes the formation of disulfide bonds (SS) at 100 ppm followed by it's reducing capacity at higher concentrations. The thermograms obtained by DSC, showed a single endothermic peak that is related with the release of water from the samples. Denaturation and vitreous transition peaks were not identified. With the addition of L-cysteine the ΔH values of the glutenin dropped and those of the gliadin increased which indicates a lesser water retention capacity of the protein.

Key words: gliadin, glutenin, L-cysteine, thermal analysis, microscopy analysis, DSC, SEM.

1 INTRODUÇÃO

As propriedades funcionais dos produtos de panificação são amplamente dependentes das proteínas do glúten, a gliadina e a glutenina. Diversos tratamentos têm sido utilizados para melhorar a qualidade destas proteínas (ROSSEL et al., 2003; BONET et al., 2006). As ligações dissulfeto (SS) ou a formação de ligações covalentes são formas de modificar sua funcionalidade e, simultaneamente, aumentar as aplicações em diferentes processos. O uso de aditivos, como os agentes oxidantes, induz a formação de ligações dissulfeto (SS) pela oxidação de resíduos de cisteína, resultando na ligação cruzada destas proteínas (TILLEY, et al., 2001; RASIAH, et al., 2005). Esta reação na massa do pão ajuda na formação da rede de glúten e melhora as propriedades estruturais e viscoelásticas e, portanto, melhora a qualidade de panificação (WIKSTROM; ELIASSON, 1998; FAYLE et al., 2000). Por outro lado, quando se pretende enfraquecer a massa para formulação de determinados produtos, pode-se utilizar os agentes redutores como a L-cisteína, que atuam de forma contrária aos agentes oxidantes nas ligações dissulfeto (SS) (HAYTA; SCHOFIELD, 2004; INDRANI; RAO, 2006).

Com o uso de aditivos, a microestrutura do alimento pode ser modificada, resultando em uma série de operações de reestruturação e reorganização. A estrutura do alimento é de grande importância em todos os aspectos de funcionalidade. A organização microscópica do alimento governa as informações macroscópicas que estão sendo observadas através de instrumentação, fazendo com que ocorram grandes modificações na estrutura e textura do produto final (LI; LEE, 1996). De acordo com Aguilera e Stanley (1990), define-se como microestrutura de alimentos a organização de seus componentes e suas interações. A análise da microestrutura dos alimentos está sendo reconhecida como um pré-requisito necessário para entender suas propriedades. Todos aqueles que têm interesse em descrever, prever e controlar o comportamento de materiais alimentícios reconhecem a importância da maneira como os componentes interagem, já que existe uma conexão entre a estrutura e sua funcionalidade (BOGNER et al., 2007).

A microscopia (óptica ou eletrônica) é uma técnica apropriada para análise de estrutura de alimentos por se tratar de um método analítico que fornece resultados em forma

de imagens. Esta técnica é utilizada para visualizar o comportamento do alimento em termos de morfologia e composição.

Diversos estudos a respeito da microestrutura da farinha de trigo e da massa de pão têm sido realizados utilizando diferentes técnicas microscópicas como microscopia óptica, microscopia de transmissão e microscopia eletrônica de varredura (MEV) (BETCHEL; POMERANZ; DE FRANCISCO, 1978; ROMAN-GUTIERREZ; GUILBERT; CUQ, 2002; KIM et al.; 2003; JACKOWIAK, 2005; BONET et al., 2006; BARONE; DANGARAN; SCHIMIDT, 2006; BARCENAS; ROSSEL, 2006). A MEV é amplamente utilizada na investigação das microestruturas envolvendo grãos de cereais, farinha de trigo e seus produtos derivados entre outras investigações de relevância científica (ROMAN-GUTIERREZ; GUILBERT; CUQ, 2002; GUEMES-VERA; ESPERANZA; DAVILA-ORTIZ, 2004).

Outro parâmetro de grande importância envolvendo as proteínas do trigo são suas propriedades térmicas. Elas também podem ser influenciadas pela adição de agentes externos, como, por exemplo, a L-cisteína (LAVELLI; GUERRIERI; CERLETTI, 1996).

As transições que ocorrem nas proteínas afetam o estado físico e as características de textura dos alimentos. As propriedades térmicas são importantes para a qualidade dos produtos finais de panificação e podem-se destacar dois fenômenos de grande relevância envolvendo as proteínas: a desnaturação e a transição vítrea (FALCÃO-RODRIGUES; MARTINS; BEIRÃO-DA-COSTA, 2005).

A desnaturação é o processo de transição mais importante que ocorre nas proteínas durante a panificação e contribui significativamente para as características do produto final. A desnaturação das proteínas é definida como um processo ou seqüência de processos que ocasiona a modificação de sua estrutura (secundária, terciária e quaternária) da forma nativa para um arranjo mais desordenado. Pode ser estudada através do DSC onde a desnaturação é observada como um pico endotérmico (FALCÃO-RODRIGUES; MARTINS; BEIRÃO-DA-COSTA, 2005).

Compostos quimicamente puros geralmente são estáveis. No entanto, os alimentos são formados por uma combinação de diferentes componentes e, por essa razão, existem em

um estado de não-equilíbrio amorfo. Materiais amorfos (glúten) são compostos susceptíveis às mudanças de temperatura e pressão do ambiente, de modo que pequenas variações nas condições ambientais podem provocar mudanças de estado em alguns componentes, causando mudanças estruturais indesejáveis. A mudança de fase mais comum em alimentos é a transição vítrea, que consiste em uma transição de um estado sólido-vítreo para um estado semi-líquido gomoso (COLLARES; KIECKBUSCH; FINZER, 2002).

A hidratação das proteínas do glúten também se destaca pela importância devido à influência que exerce sobre as propriedades mecânicas e reológicas da massa. A mobilidade da água é fator crítico para que ocorra a interação entre as proteínas do glúten e a água para obtenção das características de viscoelasticidade. A hidratação somada ao trabalho mecânico causa o desdobramento das proteínas fortemente ligadas e formação da rede viscoelástica que contribui para o volume do pão desenvolvido durante o processo de panificação (CHERIAN; CHINACHOTI, 1996).

Como visto, as propriedades funcionais da massa de pão dependem principalmente das proteínas que formam a rede de glúten (BONET et al., 2006). Em virtude do exposto, este estudo teve como objetivos: avaliar os efeitos da adição do redutor L-cisteína 100 e 250 ppm nas proteínas isoladas do glúten, gliadina e glutenina, através de análises microscópicas (MEV) e verificar as possíveis alterações nas propriedades térmicas, através de análise por DSC, em virtude de que poucos estudos foram conduzidos com relação às proteínas de forma isolada.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para as análises de microscopia, as massas amostrais resultantes da análise reológica foram guardadas e liofilizadas.

As amostras de gliadina e glutenina foram analisadas com adição de 100 e 250 ppm de L-cisteína e verificadas as mudanças estruturais.

Para observação por MEV, as amostras foram fixadas em pequenos pedaços de fita adesiva metálica de cobre dupla face, presos em suportes “stubs” de alumínio de 1cm de diâmetro por 1cm de altura. Esses conjuntos foram recobertos por uma fina camada de ouro em um evaporador Balzer mod. SCD50 com corrente de 400mA. A observação das amostras foi feita, posteriormente, em um microscópio eletrônico de varredura com aceleração da voltagem de 20kv.

2.2 Análise Térmica - Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As propriedades térmicas da gliadina e da glutenina foram determinadas utilizando-se um DSC-50 (Perkin Elmer Corp., Norwalk, CT) calibrado com índio e fluxo de nitrogênio de 15 mL min⁻¹. Foram realizadas corridas da temperatura ambiente até 250 °C com taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹.

Para analisar o efeito da adição de L-cisteína nas amostras, utilizou-se este agente redutor nas concentrações 100 e 250 ppm. Para a formulação da massa amostral a L-cisteína foi adicionada na proporção 1:1 (50% sólido e 50% líquido).

Foram utilizadas panelas de alumínio hermeticamente fechadas para as análises. Um cadinho vazio foi utilizado como referência. Foram coletados dados da temperatura inicial (Ti), pico (Tp), temperatura final (Tf) e entalpia (ΔH).

As análises térmicas foram realizadas sem repetições, devido ao alto custo dos cadinhos utilizados no DSC.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi utilizada para observar o efeito da adição de L-cisteína na estrutura das proteínas do glúten, a gliadina e a glutenina. As imagens captadas mostram detalhes da estrutura dos isolados protéicos e as mudanças ocasionadas pela adição do agente redutor.

As micrografias do MEV apresentaram significativas diferenças estruturais entre as massas de gliadina e de glutenina e as distintas concentrações de L-cisteína, estando estas diferenças correlacionadas com as características individuais de cada proteína.

A glutenina sem adição de L-cisteína (Figura 1) mostrou uma estrutura compacta e porosa com alvéolos (espaços de ar) ($39,1\mu\text{m} - 11,2\mu\text{m}$) cercados por folhas laminares de material contínuo e liso e foram observados na forma arredondada e alongada estando relacionados com a expansão do volume.

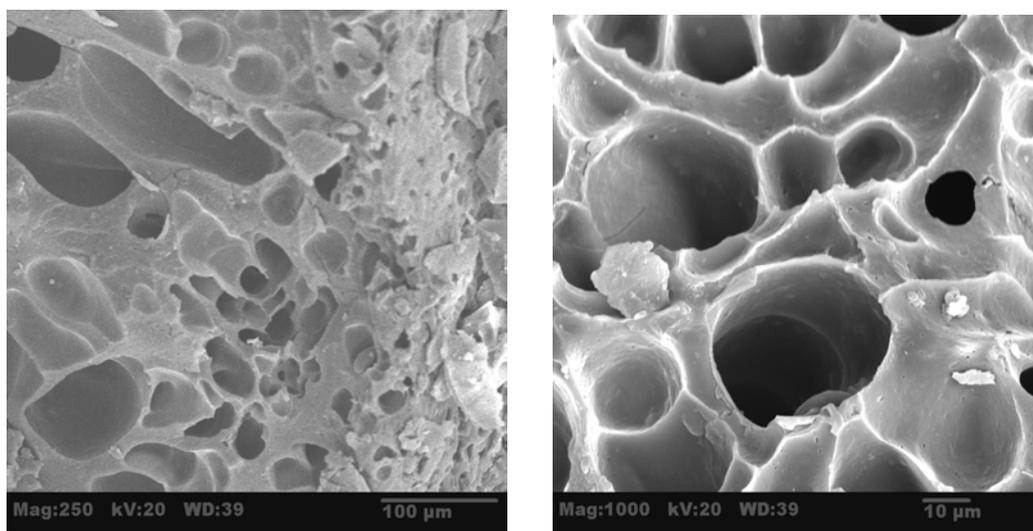


Figura 1: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Glutenina sem adição de L-cisteína com aumento de 250 e 1000X.

Com a adição de L-cisteína 100 ppm (Figura 2), observou-se estrutura porosa com alvéolos maiores ($52 \mu\text{m} - 10,3 \mu\text{m}$) quando comparados com as micrografias da amostra sem adição de L-cisteína, indicando que ocorreu expansão do volume. A estrutura das paredes, assim como para a glutenina sem o redutor, apresentou-se cercada por folhas laminares de material contínuo e liso, portanto, não apresentou diferença. Observou-se diminuição dos alvéolos alongados, aparecendo predominantemente na forma arredondada.

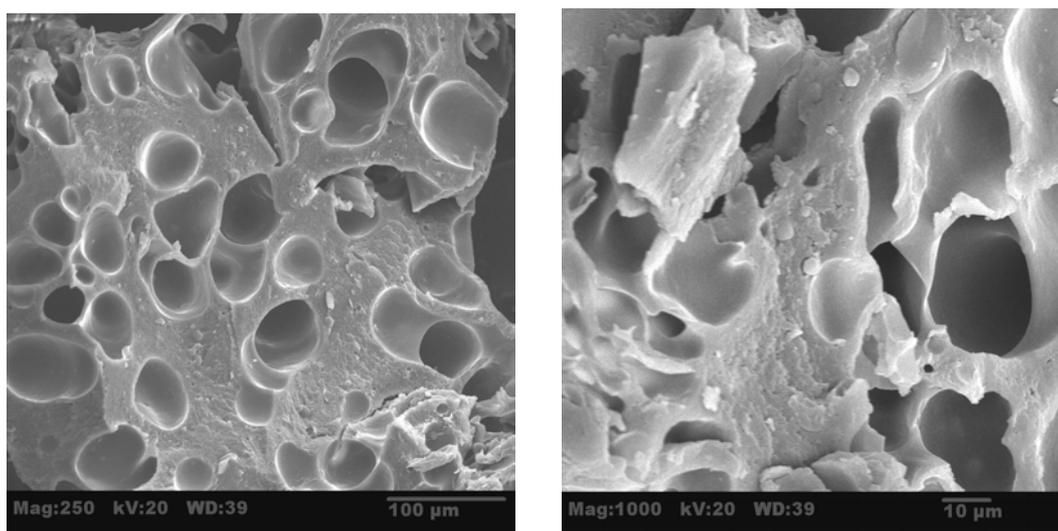


Figura 2: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Glutenina com adição de L-cisteína 100 ppm com aumento de 250 e 1000X.

Com o aumento da concentração de L-cisteína para 250 ppm (Figura 3) a estrutura da glutenina obteve grande diferença. Ocorreu aumento no número de alvéolos com diminuição significativa de seus tamanhos ($21,5 \mu\text{m} - 6,7 \mu\text{m}$). A matriz perdeu a continuidade apresentando uma estrutura quebradiça (enfraquecida) e a espessura das paredes diminuiu drasticamente tornando-se fina entre os alvéolos.

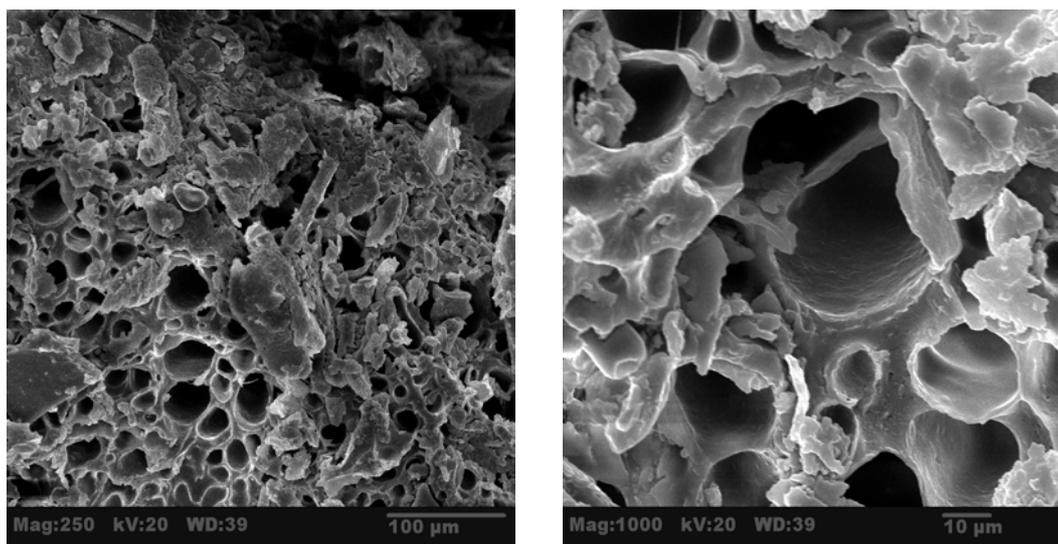


Figura 3: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Glutenina com adição de L-cisteína 250 ppm com aumento de 250 e 1000X.

Todas as mudanças ocorridas na estrutura das proteínas estão relacionadas com a alteração na composição química e interações ocasionadas pela adição da L-cisteína em diferentes concentrações. As ligações dissulfeto (SS) intermoleculares e intramoleculares presentes na glutenina podem sofrer alteração com a cisteína. Tanto as proteínas quanto a cisteína contêm grupos sulfidrilas (SH) capazes de interagir para formar ligações dissulfeto (SS) também podendo ocorrer a clivagem destas ligações seguidas de rearranjos moleculares através das trocas SS/SO (LAVELLI; GUERRIERI; CERLETTI, 1996; LI; LEE, 1996).

Li e Lee (1996), analisaram o efeito da L-cisteína nas propriedades funcionais e na microestrutura de extrusados de trigo. Eles observaram que com o aumento da concentração de cisteína, a célula do extrusado tornou-se consistentemente menor em tamanho e maior em número e a parede da célula do extrusado tornou-se fina e quebradiça. Este efeito ocorreu pelo rompimento do cross-link ou ligações cruzadas ocasionado pela cisteína.

Quando se adicionou 100 ppm de L-cisteína, provavelmente ocorreu formação de ligações SS, devido ao fato da glutenina e da cisteína apresentarem grupos SH livres. Estas ligações ocorreram até a saturação dos grupos sulfidrilas. Devido a isto, a estrutura porosa da glutenina apresentou alvéolos relativamente maiores e mais arredondados, indicando que ocorreu expansão de volume.

Quando a concentração de L-cisteína foi aumentada para 250 ppm, é provável que tenha ocorrido uma ação da cisteína como agente redutor, clivando as ligações dissulfeto formadas anteriormente e, com isso, houve um aumento no número de alvéolos e diminuição de seus tamanhos, resultando em uma estrutura enfraquecida.

A gliadina sem adição de L-cisteína e com 100 ppm (Figuras 4 e 5) apresentaram estrutura muito semelhante. Os alvéolos, tão presentes na glutenina, não aparecem na gliadina. Isto está relacionado com o fato da glutenina ser responsável pela extensibilidade da massa e a gliadina pela viscosidade. A estrutura é mais grosseira e apresenta certa estratificação.

Com a adição de L-cisteína 250 ppm (Figura 6), o aspecto das paredes permaneceu semelhante às micrografias anteriores, porém, observou-se a formação de pequenos e dispersos alvéolos o que pode indicar que a amostra perdeu um pouco de sua coesividade com a adição da L-cisteína. Esta concentração do redutor provavelmente rompeu as ligações dissulfeto (SS), permitindo a entrada de ar e ocorrendo a formação dos alvéolos.

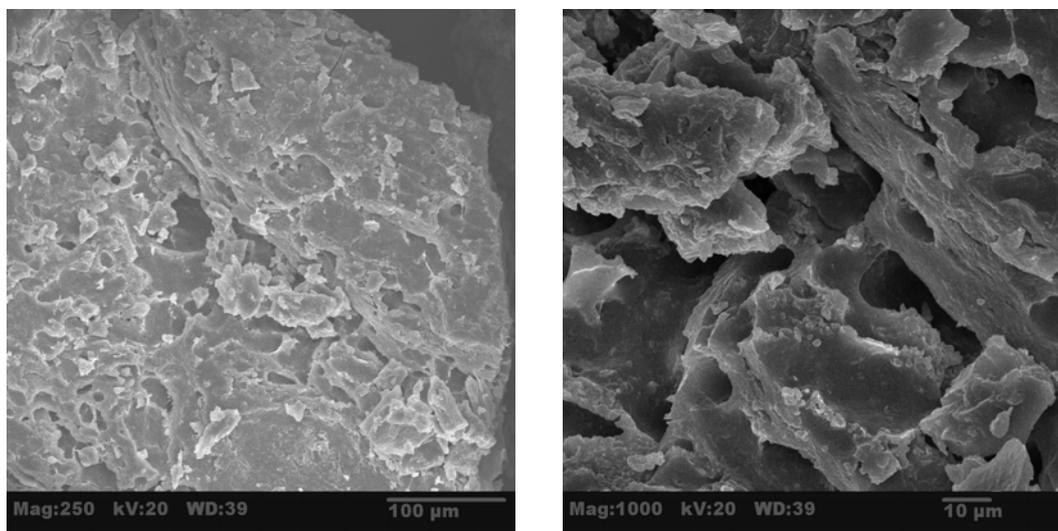


Figura 4: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Gliadina sem adição de L-cisteína com aumento de 250 e 1000X.

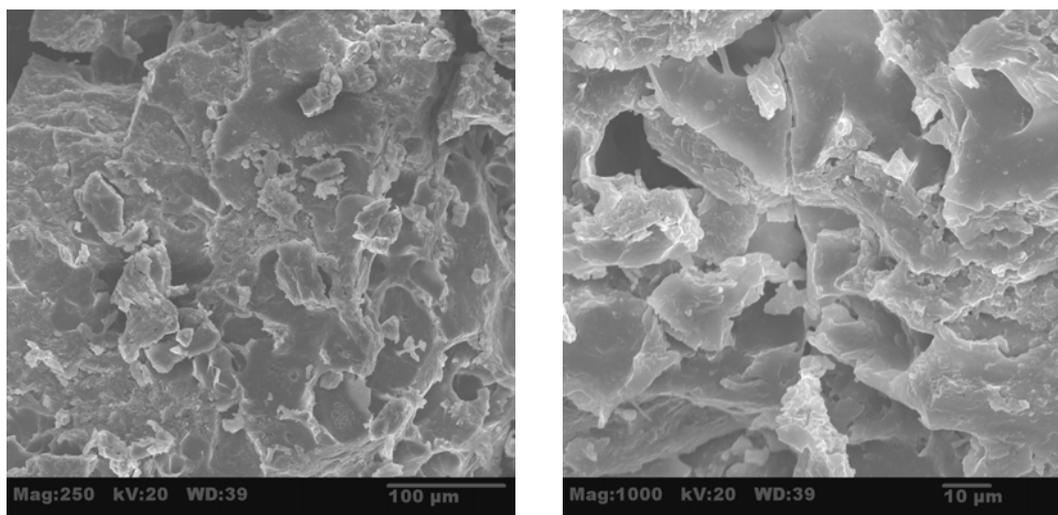


Figura 5: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Gliadina com adição de L-cisteína 100 ppm com aumento de 250 e 1000X.

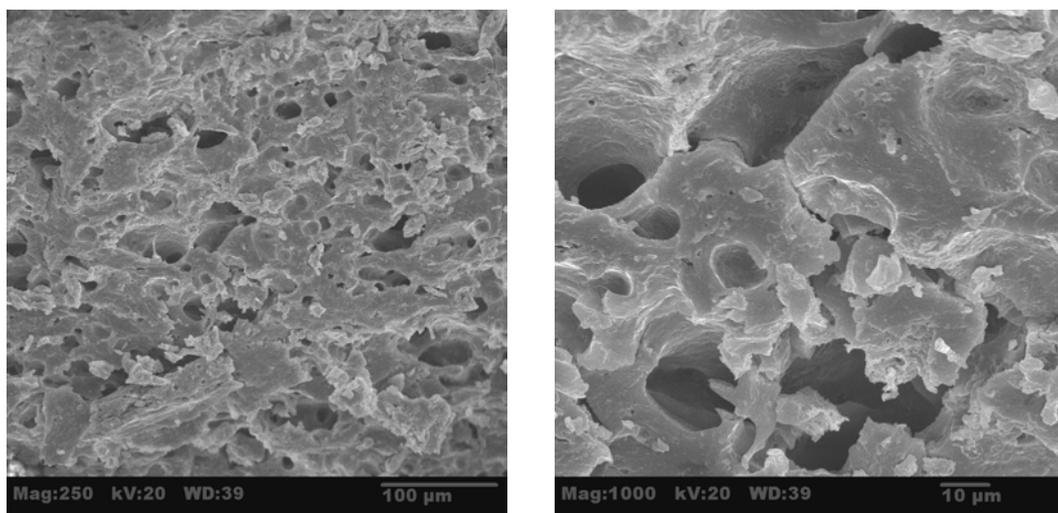


Figura 6: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Gliadina com adição de L-cisteína 250 ppm com aumento de 250 e 1000X.

3.2 Análise Térmica - calorimetria exploratória diferencial (DSC)

O comportamento térmico das proteínas do glúten foi estudado através de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para determinar as mudanças ocorridas pela adição de L-cisteína. O comportamento térmico da gliadina e glutenina está resumido na Tabela 1. Foram coletados os dados da temperatura inicial (Ti), de pico (Tp), temperatura final (Tf) e entalpia (ΔH).

Tabela 1 – Propriedades térmicas da gliadina e glutenina com e sem adição de L-cisteína.

L-cisteína	Glutenina	Glutenina	Glutenina	Glutenina
	Ti (° C)	Tp (° C)	Tf (° C)	ΔH (cal/g)
0 ppm	119.85	145.30	164.80	158.46
100 ppm	110.85	126.30	154.38	153.19
250 ppm	107.33	120.17	152.60	119.93
L-cisteína	Gliadina	Gliadina	Gliadina	Gliadina
	Ti (° C)	Tp (° C)	Tf (° C)	ΔH (cal/g)
0 ppm	103.12	120.80	146.56	162.51
100 ppm	115.78	127.96	158.18	158.80
250 ppm	120.13	125.96	145.69	183.11

Os termogramas obtidos através do DSC estão ilustrados nas Figuras: 7, 8, 9, 10, 11 e 12. Somente um pico endotérmico foi observado em faixas de temperaturas que vão de 103.12° C a 164.80° C. Estes picos provavelmente estão relacionados com a saída de água da amostra. De acordo com Falcão-Rodrigues, Moldão-Martins e Beirão-da-Costa (2005), picos na faixa de temperatura entre 50-80° C estão envolvidos com a desnaturação das proteínas, porém, eles são influenciados pela presença de alta concentração de água, podendo não ser identificados. Os mesmos autores também relataram que estes picos endotérmicos somente podem ser observados em amostras que apresentem teor de umidade em até 50%. Da mesma forma que a desnaturação protéica, a temperatura de transição vítrea também é influenciada pelo conteúdo de água. A temperatura na qual ocorre a transição vítrea de um composto é denominada Tg, que é variável com a composição do alimento e afetada pela umidade (COLLARES; KIECKBUSCH; FINZER, 2002). Micard e Guilbert

(2000) estudaram as propriedades térmicas de glúten processado e verificaram que a determinação da Tg foi dificultada pelo conteúdo de água na amostra superior a 16%. Esta porcentagem varia de acordo com diferentes autores. A Tg da gliadina está em torno de 160 ° C e da glutenina em torno de 10 ° C a mais (MICARD; GUILBERT, 2000). Além da quantidade de água presente, outros fatores como massa molar e ligações cruzadas podem alterar a Tg (MICARD; GUILBERT, 2000; HERNANDEZ-MUNOZ et al., 2004). Estes parâmetros podem ter influenciado na visualização de outros picos no termograma, não sendo possível, portanto, a avaliação de alterações ocorridas na temperatura de desnaturação e transição vítrea.

Quando a água é adicionada na massa de panificação, ela atua com um efeito plastificante, mas provavelmente não modifica a organização molecular. O aumento do conteúdo de água deixa a massa mais macia, mas não altera sua estrutura (BERLAND; LAUNAY, 1995). Já os aditivos como a L-cisteína, podem ocasionar uma modificação química, com alteração das ligações (SS) presentes na estrutura das proteínas (HAYTA; SCHOFIELD, 2004; INDRANI; RAO, 2006).

Analisando os resultados expostos na tabela 1, observa-se uma queda nos valores de Ti, Tp, Tf e ΔH para a glutenina com a presença de L-cisteína. Na gliadina, pelo contrário, estes valores aumentaram e somente a Tf apresentou uma pequena queda com a concentração de 250 ppm.

Os valores de ΔH , associados com a saída de água da amostra, para a glutenina obtiveram uma queda na seguinte ordem: 158,46 > 153,19 > 119,93 cal/g. Isto demonstra que com a presença de L-cisteína e com a ação do calor, a água começou a ser liberada a temperaturas mais baixas, o que indica uma energia de ligação água-proteína mais fraca. Micard, Morel e Guilbert (2001) e Hernandez-Munoz, Villalobos e Chiralt (2004), relacionam uma proteína menos reticulada, ou seja, com menor número de ligações cruzadas, com a capacidade de liberar a água com maior facilidade.

Por outro lado, para a gliadina, os valores de ΔH demonstraram ação diferente. Sem adição de L-cisteína o ΔH foi de 162,51 cal/g. Quando 100 ppm de L-cisteína foram adicionados houve uma queda para 158,80 cal/g e subsequentemente um aumento para 183,11 cal/g com 250 ppm de L-cisteína. Assim, percebe-se que para a gliadina a L-cisteína

100 ppm juntamente com o aumento da temperatura deixaram à água mais livre e em 250 ppm bem mais retida. Esta diferença a 250 ppm pode estar relacionada com a formação de ligações devido ao aumento de temperatura. De acordo com Hernandez-Munoz, Villalobos e Chiralt (2004), um elevado tempo de exposição à temperatura pode induzir a reticulação do material protéico.

É provável que o aquecimento cause diversos efeitos nos polímeros de diferentes tamanhos e estruturas. As proteínas de baixa massa molar (gliadinas) demonstram diferente estabilidade térmica quando comparadas aos polímeros de alta massa molar (gluteninas) (STATHOPOULOS et al., 2006). Falcão-Rodrigues, Moldão-Martins e Beirão-da-Costa (2005) relatam que as gliadinas são mais sensíveis do que as gluteninas ao tratamento térmico.

No glúten, a funcionalidade de panificação decresce progressivamente durante o aquecimento, com decréscimos marcados na solubilidade e extração indicando aumento no cross-link e polimerização das proteínas do glúten, o que é atribuído ao aumento de ligações dissulfeto. No aquecimento do glúten, os grupos livres SH decrescem e os SS aumentam devido à oxidação dos SH (STATHOPOULOS et al., 2006).

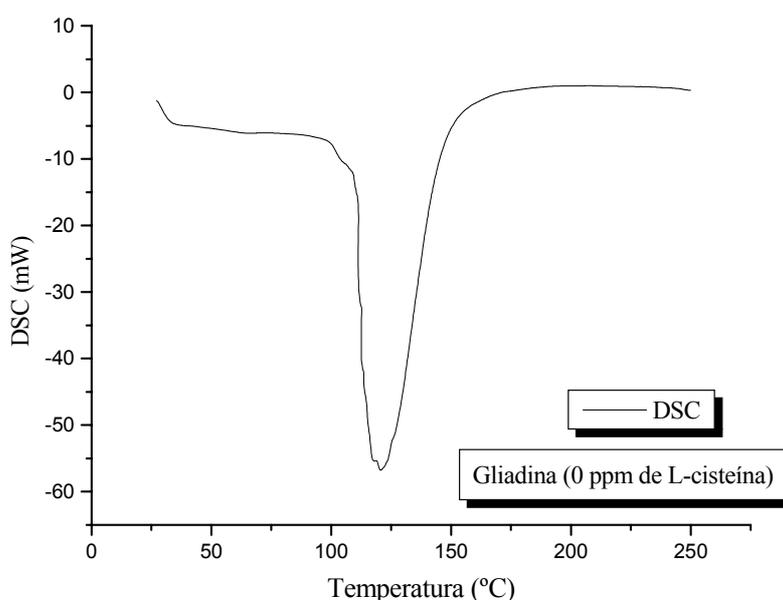


Figura 7 – Termograma obtido através do DSC: gliadina sem adição de L-cisteína com taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

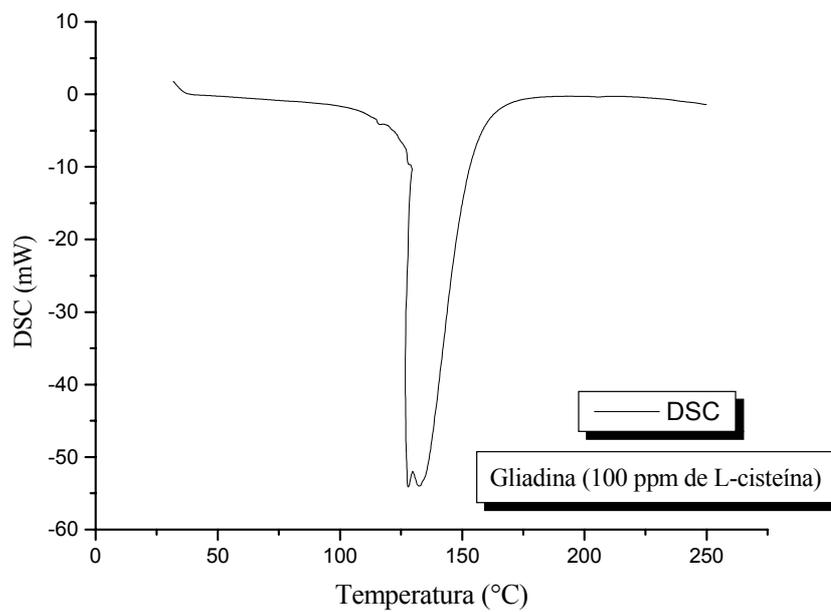


Figura 8 – Termograma obtido através do DSC: gliadina com adição de 100 ppm de L-cisteína com taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

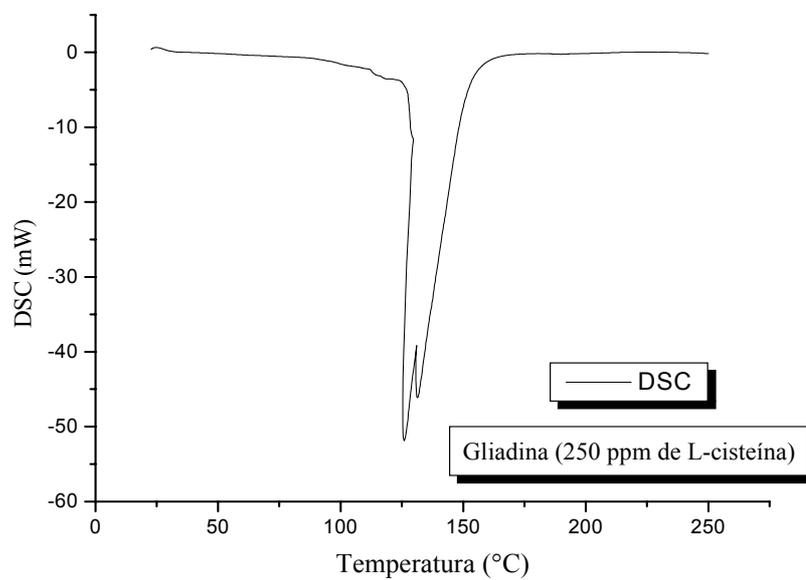


Figura 9 – Termograma obtido através do DSC: gliadina com adição de 250 ppm de L-cisteína com taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

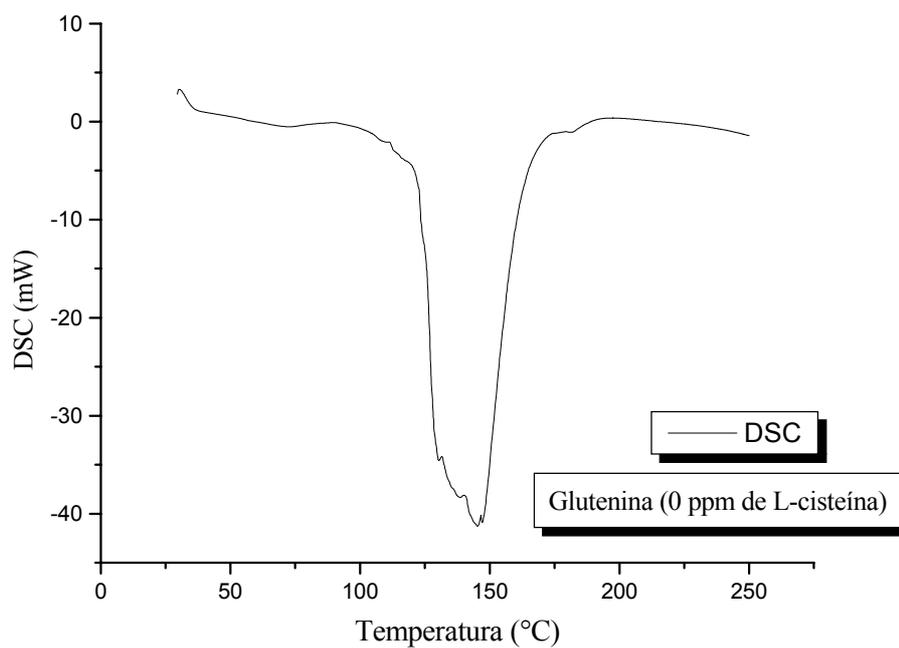


Figura 10 – Termograma obtido através do DSC: glutenina sem adição de L-cisteína com taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

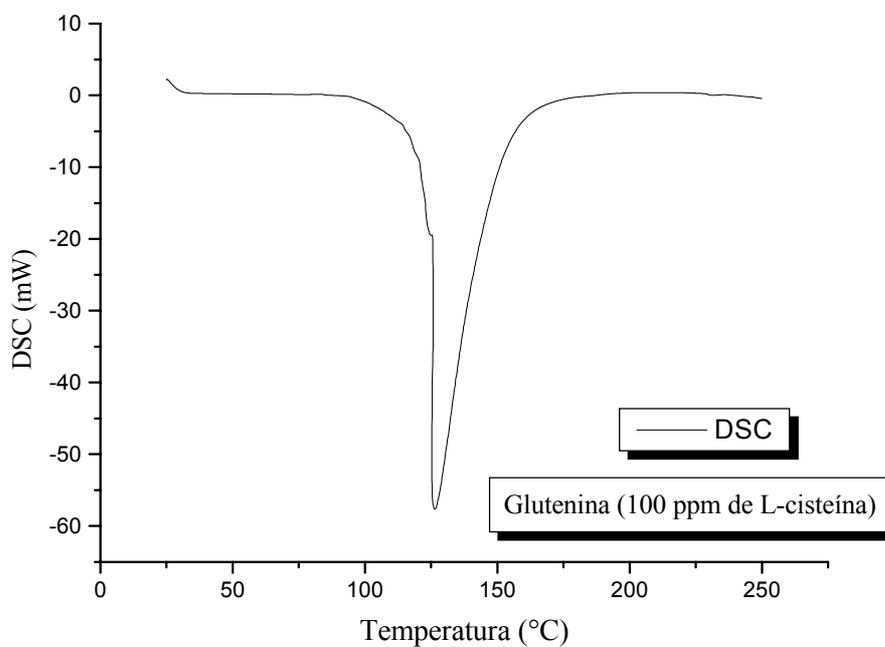


Figura 11 – Termograma obtido através do DSC: glutenina com adição de 100 ppm de L-cisteína com taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

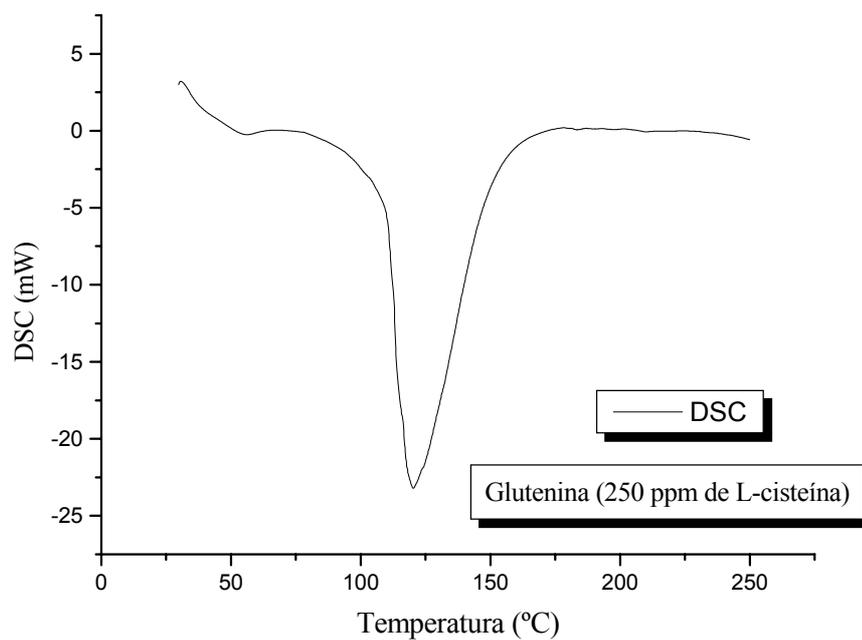


Figura 12 – Termograma obtido através do DSC: glutenina com adição de 250 ppm de L-cisteína com taxa de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$.

4 CONCLUSÃO

Os isolados protéicos de gliadina e glutenina foram observados através do microscópio eletrônico de varredura (MEV) e o comportamento térmico foi estudado através de calorimetria exploratória diferencial (DSC) para determinar as mudanças ocorridas pela adição de L-cisteína 100 e 250 ppm. Através destas análises observou-se que:

Nas micrografias da glutenina com 100 ppm de L-cisteína ocorreu uma pequena expansão de volume dos alvéolos devido ao rearranjo envolvendo os grupos SH que estavam presentes na proteína e na L-cisteína promovendo formação de ligações dissulfeto (SS);

Com a concentração de 250 ppm de L-cisteína, as micrografias da glutenina mostraram uma estrutura enfraquecida com diminuição no tamanho dos alvéolos e aumento no número dos mesmos. Isto indicaria a provável clivagem das ligações dissulfeto (SS) previamente formadas;

As micrografias da gliadina sem adição de L-cisteína e com 100 ppm foram muito semelhantes. Não se observou a presença de alvéolos, sendo que a estrutura apresentou-se mais grosseira e estratificada;

Com 250 ppm de L-cisteína a estrutura da gliadina não apresentou muitas diferenças além da formação de pequenos e dispersos alvéolos que podem estar relacionados com a perda da coesividade da amostra e rompimento das ligações dissulfeto (SS), permitindo a entrada de ar, justificando a formação dos alvéolos;

Os termogramas obtidos por DSC apresentaram somente um pico endotérmico entre as temperaturas de 103,12° C a 164,80° C relacionados com a saída de água da amostra;

Não foi possível observar os picos relacionados com a desnaturação térmica e a temperatura de transição vítrea (Tg) dos isolados protéicos, provavelmente devido à quantidade de água presente na amostra (50% sólido e 50% líquido);

A adição de L-cisteína ocasionou uma queda nos valores de T_i , T_p , T_f e ΔH para a glutenina. Para a gliadina, estes valores aumentaram e somente a T_f apresentou uma pequena queda com a concentração de 250 ppm;

A queda ocasionada nos valores de ΔH da glutenina, pode indicar que a água ficou menos retida e começou a ser liberada a temperaturas mais baixas. Esta maior facilidade na saída de água relaciona-se com a diminuição no número de ligações cruzadas presentes na proteína;

Para a gliadina os valores de ΔH demonstraram certa variação. Com 100 ppm de L-cisteína houve uma queda e com 250 ppm um aumento nos valores. Isto demonstra que em 100 ppm a água estava mais livre para sair da proteína e em 250 ppm estava mais presa. Esta relação pode indicar que em 250 ppm de L-cisteína e com a ação do calor ocorreu à formação de ligações deixando a rede protéica mais forte e, conseqüentemente, deixando a água mais presa.

Com isto, pode-se concluir que a gliadina foi mais sensível à ação do calor do que a glutenina.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUILEIRA, J. M.; STANLEY, D. W. **Microstructural: Principles of Food & Engineering**. 1. ed. Cambridge: Elsevier Applied Science, 1990. 343p.

BARCENAS, M. E.; ROSSEL, C. M. Different approaches for improving the quality and extending the shelf life of the partially baked bread: low temperatures and HPMC addition. **Journal of Food Engineering**, v.72, p.92-99, 2006.

BARONE, J. R.; DANGARAN, K.; SCHIMIDT, W. F. Blends of Cysteine-Containing Proteins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.54, p.5393-5399, 2006.

BECHTEL, D. B., POMERANZ, Y., DE FRANCISCO, A. Breadmaking studied by light and transmission electron microscopy. **Cereal Chemistry**, v.55, p.392-401, 1978.

BERLAND, S.; LAUNAY, B. Rheological Properties of Wheat Flour Doughs in Steady and Dynamic Shear: Effect of Water Content and Some Additives. **Cereal Chemistry**, v.72, p.48-52, 1995.

BOGNER, A.; JOUNEAU, P.-H.; THOLLET, G.; BASSET, D.; GAUTHIER, C. A history of scanning electron microscopy developments: Towards “wet-STEM” imaging. **Micron**, v.38, p.390-401, 2007.

BONET, A.; ROSELL, C. M.; CABALLERO, P. A. GOMEZ, M. PEREZ-MUNUERA, I.; LLUCH, M. A. Glucose oxidase effect on dough rheology and bread quality: A study from macroscopic to molecular level. **Food Chemistry**, v.99, p.408-415, 2006.

COLLARES, F. P.; KIECKBUSCH, T. G.; FINZER, J. R. D. Revisão: A Transição Vítrea em Produtos Alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.5, p.117-130, 2002.

CHERIAN, G.; CHINACHOTI, P. ^2H and ^{17}O Nuclear magnetic resonance study of water in gluten in the glassy and rubbery state. **Cereal Chemistry**, v.73, p.618-624, 1996.

FALCÃO-RODRIGUES, M. M.; MARTINS, M. M.; BEIRÃO-DA-COSTA, M. L. Thermal properties of glúten proteins of two soft wheat varieties. **Food Chemistry**, v.93, p.459-465, 2005.

FAYLE, S. E.; GERRARD, J. A.; SIMMONS, L.; MEADE, S. J.; REID, E. A.; JOHNSON, A. C. Crosslinkage of proteins by dehydroascorbic acid and its degradation products. **Food Chemistry**, v.70, p.193–198, 2000.

GUEMES-VERA, N.; ESPERANZA, A.; DAVILA-ORTIZ, G. Structural analysis of the *Lupinus mutabilis* seed, its flour, concentrate, and isolate as well as their behavior when mixed with wheat flour. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.** v.37, p.283–290, 2004.

HAYTA, M.; SCHOFIELD, J. D. Heat and additive induced biochemical transitions in gluten from good and poor breadmaking quality wheats. **Journal of Cereal Science**, v.40, p.245–256, 2004.

HERNANDEZ-MUNOZ, P.; VILLALOBOS, R.; CHIRALT, A. Effect of cross-linking using aldehydes on properties of glutenin-rich films. **Food Hydrocolloids**, v.18, p.403–411, 2004.

INDRANI, D.; RAO, V. Effect of additives on rheological characteristics and quality of wheat flour parrotta. **Journal of Texture Studies**, v.37, p. 315–338, 2006.

JACKOWIAK, H.; PACKA, D.; WIWART, M.; PERKOWSKI, J. Scanning electron microscopy of *Fusarium* damaged kernels of spring wheat. **International Journal of Food Microbiology**, v.98, p.113-123, 2005.

KIM, H.; MORITA, N.; LEE, S.; MOON, K. Scanning electron microscopic observations of dough and bread supplemented with *Gastrodia elata* Blume powder. **Food Research International**, v.36, p.387-397, 2003.

LAVELLI, V.; GUERRIERI, N.; CERLETTI, P. Controlled Reduction Study of Modifications Induced by Gradual Heating in Gluten Proteins. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.44, p.2549-2555, 1996.

LI, M.; LEE, T. Effect of Cysteine on the Functional Properties and Microstructures of Wheat Flour Extrudates. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.44, p.1871-1880, 1996.

MICARD, V.; MOREL, M. H.; BONICEL, J.; GUILBERT, S. Thermal properties of raw and processed wheat gluten in relation with protein aggregation. **Polymer**, v.42, p.477– 485, 2001.

RASIAH, I. A.; SUTTON, K. H.; LOW, F. L.; LIN, H. M.; GERRARD, J. A. Crosslinking of wheat dough proteins by glucose oxidase and the resulting effects on bread and croissants. **Food Chemistry**, v.89, p.325–332, 2005.

ROMAN-GUTIERREZ, A. D.; GUILBERT, S.; CUQ, B. Description of Microstructural Changes in Wheat Flour and Flour Components during Hydration by using Environmental Scanning Electron Microscopy. **Lebensm.-Wiss. u.-Technol.**, v.35, p.730–740, 2002.

ROSELL, C. M.; WANG, S.; AJA, S.; BEAN, S.; LOOKHART, G. Wheat flour proteins as affected by transglutaminase and glucose oxidase. **Cereal Chemistry**, v.80, p.52–55, 2003.

STATHOPOULOS, C. E., TSIAMI, A. A.; DOBRASZCZYK, B. J. ; SCHOFIELD, J. D. Effect of heat on rheology of gluten fractions from flours with different bread-making quality. **Journal of Cereal Science**, v.43, p.322-330, 2006.

TILLEY, K. A.; BENJAMIN, R.; BAGOROGOZA, K.; OKOT-KOTBER, M.; PRAKASH, O.; KEWEN, H. Tyrosine cross-links: molecular basis of gluten structure and function. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.49, p.2627–2632, 2001.

WIKSTROM, K.; ELIASSON, A. C. Effects of enzymes and oxidizing agents on shear stress relaxation of wheat flour dough: additions of protease, glucose oxidase, ascorbic acid, and potassium bromate. **Cereal Chemistry**, v.75, p.331–337, 1998.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Analisar o efeito de um agente oxidante (utilizado como melhorador de farinha) nas proteínas isoladas e também no glúten já formado através de análises reológicas, térmicas e microscópicas e comparar com os resultados obtidos no presente trabalho (utilização de agente redutor).
- Isolar a glutenina de baixa massa molar (LMW) e glutenina de alta massa molar (HMW) e verificar a influência de cada fração nas propriedades de elasticidade da glutenina;
- Analisar as alterações ocorridas nas proteínas isoladas devido à adição de agentes redutores e oxidantes na desnaturação térmica e temperatura de transição vítrea;
- Utilizar outros parâmetros da reologia dinâmica de oscilação como ensaios relacionados à temperatura e ao tempo nas proteínas isoladas com aditivos utilizados em panificação;