

# **Utilização de Amilases em Pão de Forma Branco de Trigo: Tendências e perspectivas em um mundo pós-pandêmico.**

VENENCIO, Gaspar

R.U: 1192925

MACHADO, Fábio.

## **RESUMO**

O cenário de pandemia trouxe um aumento na incerteza sobre o futuro. Tendo em vista, por um lado, a tendência de procura por estilos de vida saudáveis e escolhas de alimentos que promovam a saúde e por outro, a necessidade das panificadoras de aumentar a vida útil para diminuir o impacto do possível desabastecimento de mercadorias e matérias primas, as amilases provenientes de fungos e bactérias, que já vêm sendo amplamente utilizadas na indústria da panificação, são uma alternativa natural ao uso de emulsificantes sintéticos e ajudam a manter as características de frescor do produto por mais tempo. Neste sentido, a sinergia na utilização de enzimas somada a um controle robusto do processo produtivo garante produtos que atendam as demandas tanto populacionais como empresariais. A perspectiva é de aumento na utilização de amilases para fabricação de pão de forma de trigo com tendências de inovação e otimização de bioprocessos para diminuir custos de matérias primas.

**Palavras-chave: Amilase. Panificação. Vida-útil.**

### **1. INTRODUÇÃO**

Com o aumento da incerteza sobre o futuro que se tem revelado durante a pandemia de SARS COVID-19 é necessário reavaliar as condições de fabricação de produtos de panificação.

A procura por estilos de vida saudáveis e escolhas de alimentos que promovam a saúde fazem necessário investigar sobre as novas tendências de produção de alimentos e como podemos substituir ingredientes produzidos sinteticamente por outros de origem natural.

Dadas as características do pão de forma, por causa do envelhecimento e a deterioração microbiana, a durabilidade raramente superaria os 5 dias de frescor se não fosse pela adição de aditivos e aplicação de processos de conservação físicos (CAUVAIN E YOUNG, 2009). Para as panificadoras, o aumento da vida de prateleira, leva conseqüentemente a um aumento na

disponibilidade de produtos e a diminuição de gastos com logística, já que podem ser colocados nas prateleiras dos supermercados mais produtos, diminuindo assim a quantidade de viagens ao mercado (DE MATTOS CASTIGLIONI, 2013).

A busca por aumento da vida útil dos panificados, sem perder de vista a qualidade dos produtos é outro grande motivo para pesquisar sobre novas alternativas de ingredientes.

Neste sentido as amilases provenientes de fungos e bactérias, vêm sendo amplamente utilizadas na indústria da panificação, pois, além de auxiliar na fermentação, também têm efeito de aumentar a vida útil e são uma alternativa natural ao uso de emulsificantes, os quais ajudam a manter as características de frescor do produto por mais tempo (DA SILVA et.al.2021; BAKERPEDIA, 2020; DE MATOS E GONÇALVES MACEDO, 2015; DAMODARAN E PARKIN, 2017).

Em tempos de pandemia, o aumento da vida na prateleira se torna uma necessidade, pois ajuda a diminuir o impacto do possível desabastecimento de mercadorias e matérias primas (CUNHA; FERRARI, 2020).

Este trabalho propõe, através de pesquisa bibliográfica: entender quais são os benefícios de incorporar amilases na fabricação de pão de forma de trigo, aprimorar conhecimentos sobre tendências de utilização de Amilases na indústria de panificação, entender o que mudou nos hábitos de consumo e estilo de vida da população em tempos de pandemia do COVID-19 e como isso afetou a utilização de Amilases pela indústria de panificação, aprimorar conhecimentos sobre métodos de produção e obtenção de Amilases, aprimorar conhecimentos sobre como atuam as Amilases nos produtos de panificação e pesquisar novas técnicas de utilização, produção e otimização de eficácia de Amilases.

## **2. DESENVOLVIMENTO**

### **2.1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

#### **2.1.1. CONTEXTUALIZAÇÃO: TENDÊNCIAS DE CONSUMO E PANIFICAÇÃO NO BRASIL**

Em 2019, antes da pandemia do SARS COVID-19, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), divulgou a Pesquisa Nacional em Saúde

(PNS), a qual realizou um comparativo desde os anos de 2002/2003 até 2019, revelando uma tendência positiva no aumento de casos de excesso de peso e obesidade na totalidade da população Brasileira. Através de técnicas de medição antropométrica foi determinado que:

IBGE (2020, p.1):

O percentual de pessoas obesas em idade adulta no país mais do que dobrou em 17 anos, indo de 12,2%, entre 2002 e 2003, para 26,8%, em 2019. No mesmo período, a proporção da população adulta com excesso de peso passou de 43,3% para 61,7%, representando quase dois terços dos brasileiros.

Esta pesquisa, revela entre outras questões, a baixa preocupação com a prevenção de doenças através de uma alimentação saudável e a propensão da população ao consumo de alimentos com alto teor de gorduras saturadas e carboidratos.

Em contrapartida, o cenário desolador que trouxe a pandemia do SARS COVID-19, a qual impactou em todas as áreas da vida cotidiana (CUNHA; FERRARI, 2020) trouxe também um novo pensamento nos consumidores e uma procura por melhorar o estilo de vida e do consumo.

Com preocupações sobre os riscos da doença, o que pode acontecer no futuro e como a “nova normalidade” afetará a vida corriqueira, a saúde tem-se tornado um estilo de vida. Os consumidores estão adotando uma abordagem mais holística para a saúde e o bem-estar abraçando hábitos preventivos para se manterem saudáveis, em busca de melhor qualidade de vida, vitalidade e longevidade (FMCG GURUS. 2021).

Em março de 2021 a FMCG Gurus divulgou a pesquisa “Entendendo os consumidores um ano depois”, sobre como os consumidores estão escolhendo os alimentos e o estilo de vida um ano depois do começo da pandemia do COVID-19. Realizada em 18 países, a pesquisa revelou dados concretos sobre a preocupação dos consumidores com alimentos saudáveis e sobretudo com escolhas de estilo de vida. Neste sentido, 66% dos consumidores sentem-se mais conscientes sobre a sua saúde geral desde o começo da pandemia. Em 2020, 70% dos consumidores modificaram sua dieta e estilo de vida para aumentar a imunidade e 65% tornou-se mais consciente da sua saúde imunológica em 2021, como resultado do aparecimento da COVID-19. 70% dos

consumidores são agora mais atentos às reivindicações “naturais” nos rótulos de alimentos.

FMCG GURUS (2021, p.5, grifo meu):

Como resultado do COVID-19, os consumidores ficaram mais atentos aos ingredientes usados em produtos, bem como nas cadeias de abastecimento. Os consumidores querem produtos que contenham menos ingredientes e sejam considerados reais e autênticos, bem como rotulagem nutricional simplificada. Dada a subjetividade que existe em torno de afirmações como natural, sustentabilidade e localidade, as marcas precisarão validar tais afirmações. Isso é especialmente necessário porque no rótulo limpo (*clean label*) os produtos estão associados a benefícios como ser mais seguros e saudáveis.

Isso demonstra que as preocupações pela pandemia não se limitam só a doença em si e aos cuidados necessários para prevenção dela, mas, estão orientados às escolhas na forma de consumo.

As escolhas pelo estilo de vida mais saudável também têm seu impacto refletido na economia de mercados conforme Dias (2021) informa na sua nota sobre uma *start-up* de comida *plant-based* que viu seu patrimônio crescer durante a pandemia e que atingiu o primeiro bilhão de dólares de investidores e acionistas, isso tudo porque as pessoas estão procurando uma alimentação melhor e mais saudável.

A panificação é constante e estável, desde tempos dos egípcios, em finais do século XX o pão se tornou alvo de críticas por seu conteúdo elevado de carboidratos por especialistas em nutrição, fato que levou a grupos de consumidores a questionar o consumo, somado a isso, uma corrente “anti-glúten” também motivou descontentamento de parte dos consumidores (DA SILVA et.al.2021).

Neste cenário, as novas tecnologias em ingredientes de alimentos vêm à tona para ajudar às indústrias na adaptação com o que os consumidores procuram.

Especificamente, na indústria de panificação, vem sendo utilizadas enzimas naturais substituindo aditivos sintéticos há alguns anos, para conferir características específicas procuradas pelos consumidores como: propriedades organolépticas, maciez, suavidade, maior vida útil etc. (BAKERPEDIA, 2020).

### 2.1.2. PRODUÇÃO DE PÃO DE FORMA BRANCO DE TRIGO

Ao longo da história e inclusive antes de esta, a humanidade vêm evoluindo as formas de produção de alimentos, com o propósito de aumentar a disposição a través do aumento da vida útil, apoiada com as tecnologias e descobertas mais inovadoras de cada época. O pão não fica fora dessa afirmação: “O que chamamos de pão hoje representa o desenvolvimento e o aprimoramento técnico progressivo dos produtos fermentados à base de trigo ao longo de milhares de anos” (CAUVAIN E YOUNG 2009, p.3).

No contexto atual da produção de pães, o fluxograma básico de fabricação não mudou muito que o dos egípcios de há 6000 anos, porém, nos inícios do século XX, a indústria alimentícia americana vê o surgimento do pão de forma fatiado, onde além dos processos básicos de fabricação do pão foi acrescentado o fatiamento e empacotado (DA SILVA et.al.2021):



**Figura 1- Processo de fabricação de pão de forma simplificado (massa direta) - OBS: em alguns processos industriais pode existir uma segunda instancia de fermentação entre a mistura de ingredientes e a modelagem, ou ainda duas etapas de modelagem e duas de fermentação intercaladas, antes do forneamento. Fonte: o autor.**

A mudança mais significativa ocorreu no aperfeiçoamento do processo, ou seja, com cada nova descoberta científica ou avanço tecnológico, cada um desses processos foi ficando mais eficaz. Por exemplo: se em um primeiro momento a fermentação dependia diretamente da habilidade de um padeiro

manipulando um fermento ou massa madre onde praticamente não se tinha um controle adequado do tempo necessário para fermentar, na atualidade este processo pode ser altamente controlado através de medição do poder fermentativo de determinada cepa microbiana em determinada temperatura, umidade e tempo. Cauvain e Young (2009, p.5) comenta sobre a panificação atual:

Para sermos capazes de elaborar nosso tipo específico de pão, devemos ter uma compreensão das interações complexas entre as matérias-primas e os métodos que utilizaremos nos processos de conversão dos ingredientes em produtos assados. As matérias-primas sofrerão uma transformação, e os processos são sensíveis ao tempo e à temperatura. Devido à natureza intrincada do processo, é prodigioso que seja possível fazer pão. Fazemos por causa do conhecimento e da arte acumulados, atualmente aperfeiçoados cada vez mais por meio da compreensão científica e tecnológica.

Sobre os processos comuns de panificação na atualidade, Cauvain e Young (2009, p.21, grifo do autor) explica em que consiste fazer pão:

- A mistura de farinha (principalmente de trigo) e água, junto com fermento e sal, e outros ingredientes específicos, em proporções adequadas.
- O desenvolvimento de uma estrutura de glúten (proteínas hidratadas) na massa por meio da aplicação de energia durante a mistura, muitas vezes designada “amassamento”.
- A incorporação de bolhas de ar dentro da massa durante a mistura.
- O “desenvolvimento” contínuo de uma estrutura de glúten, criada como resultado do amassamento, tanto para modificar as propriedades reológicas da massa como para melhorar sua capacidade de expansão depois que a pressão do gás aumenta devido à geração de dióxido de carbono na massa em fermentação. Essa etapa do desenvolvimento também pode ser designada “amadurecimento” da massa.
- A formação, ou modificação, de compostos de sabor específicos na massa.
- A subdivisão da massa em peças unitárias.
- Uma modificação preliminar do formato das peças divididas da massa.
- Um adiantamento breve no processamento, para modificar ainda mais as propriedades físicas e reológicas das peças de massa.
- A modelagem das peças de massa para obter as configurações requeridas.
- A fermentação e a expansão das peças modeladas de massa durante a “prova”.
- Expansão adicional das peças de massa e fixação da estrutura final do pão durante o assamento.

É importante esclarecer em este ponto que cada processo foi desenvolvido para afetar as características originais dos ingredientes de maneira a obter um produto final com qualidades organolépticas adequadas. Para que

este fato aconteça, em cada etapa do processo, ocorrem fenômenos químicos e físicos no interior da massa.

Sobre este assunto Da Silva et. al. 2021 enumera entre outros: formação do glúten, reações envolvendo sal (NaCl), reações envolvendo ácido ascórbico e ácido acético, gelatinização do amido, reações no processo de assar e reações de Maillard.

### **2.1.2.1. Reações químicas do amido no processo de panificação.**

Segundo Damodaran e Parkin (2017, p.135):

O amido é a reserva predominante nutricional e de energia das plantas superiores, fornecendo de 70 a 80% das calorias consumidas pelos seres humanos no mundo todo. [...] O amido distingue-se dos carboidratos por ocorrer, na natureza, como partículas parcialmente cristalinas, denominadas grânulos. Os grânulos de amido são insolúveis, mas se hidratam em alguma extensão em água à temperatura ambiente.

Sobre os grânulos de amido, Da Silva et.al. (2021, p.41) acrescenta:

Em sua forma mais intacta, recebe o nome de amido intacto e apresenta formato semelhante a um hexágono, contendo seis áreas livres de contato, enquanto o outro, conhecido como amido danificado, tem formato semelhante a uma cruz de malta, contendo doze áreas livres de contato e possuindo um poder de absorção de água muito maior, tanto quanto sua velocidade de absorção, que é quatro vezes maior em comparação ao amido intacto, podendo alterar características finais durante o processo fermentativo.

O grão de trigo apresenta um conteúdo aproximado de 70% de amido em sua composição alojado no endosperma (DA SILVA et. al. 2021).

De acordo com De Matos e Gonçalves Macedo (2015, p.22):

O amido é um homopolímero constituído por cadeia alfa-glicosídica. Por isso, também é conhecido como glicosana ou glicana. De modo mais detalhado, o amido é constituído pelos polímeros amilose e amilopectina. [...] a amilose é um polímero de glicose em estrutura helicoidal não ramificada, na qual suas moléculas são unidas somente por ligações alfa 1-4.

Já Mayes (2002) apud De Matos e Gonçalves Macedo (2015, p.22) aprofunda:

A amilopectina também é um polímero de glicose em estrutura helicoidal, mas é uma estrutura ramificada com ligações alfa 1-4 nas cadeias e 1-6 nos pontos de ramificação.

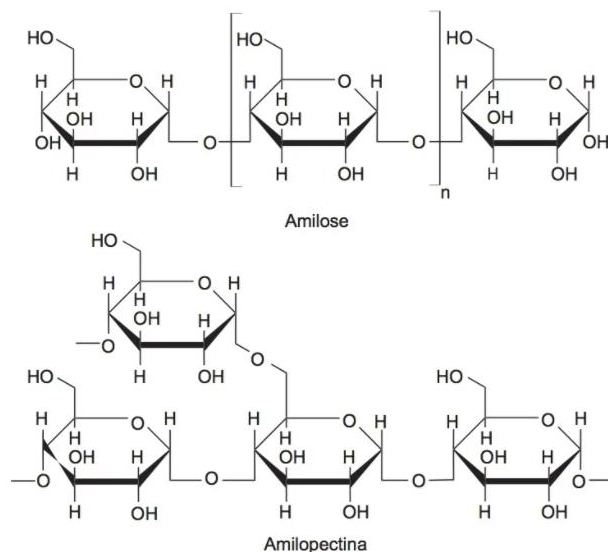
Cauvain e Young (2009, p.298) complementam:

A amilose é um polímero essencialmente linear, aparentemente amorfo, que contém mais ou menos 4 mil unidades de glicose. A amilopectina – um componente parcialmente cristalino – é um

polissacarídeo multirramificado, contendo em torno de 100 mil unidades de glicose.

Basicamente, o amido é formado por 70 a 80% de moléculas de amilopectina e o restante (20 a 30%), de amilose (DE MATOS E GONÇALVES MACEDO, 2015).

A figura 3, apresenta a estrutura da amilose e da amilopectina onde pode se-observar a forma não ramificada da amilose com a sua ligação alfa 1-4 entre os monômeros de glicose e a amilopectina com as ramificações nos carbonos 1-6.



**Figura 2 - Estrutura da amilose e amilopectina, constituintes estruturais do amido. Fonte: De Matos e Gonçalves Macedo (2015).**

### 2.1.2.2. Hidrólise do amido

A hidrólise do amido acontece quando as amilases escindem a ligação glicosídica entre as glucoses na cadeia de amido. Esta reação libera no meio açúcares com cadeias menores como dextroses, maltoses ou glucoses.

Na panificação os açúcares liberados como subprodutos da reação de hidrólises do amido são importantes reagentes em outro grupo de reações que acontecem durante e posteriormente ao amassamento:

- Os açúcares liberados durante o amassamento ajudam a aumentar a absorção de água da massa.
- Podem ser utilizados como açúcares fermentáveis para produzir etanol e CO<sub>2</sub> durante a fermentação, pois as leveduras não podem fermentar o amido diretamente.



- Durante a reação de Maillard no processo de forneamento, responsável por fornecer a cor de tostado característica, é condicional a presença de açúcares redutores (glucose e maltose).
- Algumas dextrinas de cadeia média formadas durante a hidrólise, tem função amaciante ou antienvelhecimento (DA SILVA et. al. 2021).

### **2.1.2.3. Gelatinização do amido**

Um dos processos mais importantes que acontecem durante o forneamento, além da morte da levedura e das reações de Maillard, é a gelatinização do amido. O mesmo ocorre quando a massa atinge uma temperatura superior a 60°C.

Tendo em vista que dentro do forno a massa esquenta de fora para dentro, é importantíssimo que o centro da peça de pão atinja esta temperatura o mais próximo à metade do processo de forneamento para evitar problemas posteriores de estrutura, como formato alterado ou colapsos da estrutura.

Sobre a gelatinização, Da Silva et.al. (2021, p.47) ilustra:

O processo de gelatinização do amido inicia-se quando seus grânulos absorvem a água livre presente na massa sem que ainda ocorra o rompimento de sua zona cristalina (micelas). Quando a massa é exposta a temperaturas superiores a 60 °C, as moléculas de amido entram em maior estado de agitação, rompendo assim as pontes de hidrogênio presentes e dando acesso à água em suas zonas cristalinas. A prolongada exposição ao calor resulta em total rompimento dessas zonas, eliminando a natural birrefringência da molécula de amido e tornando-a totalmente transparente. A esse processo dá-se o nome de gelatinização do amido.

Um correto processo de gelatinização dentro do forno, somado a uma farinha rica em proteína de boa qualidade, é o que determina uma boa estrutura no pão de forma.

### **2.1.2.4. Retrogradação do amido e envelhecimento do pão**

O pão tende a envelhecer, independente da embalagem. Esse estado pode ser revertido com aquecimento entre 60 e 90°C, devido ao processo de gelatinização (DA SILVA et. al. 2021).

O que conhecemos comumente como envelhecimento, refere-se à decrescente aceitação gradativa que o consumidor percebe em relação ao pão, devido a todas as mudanças químicas e físicas que ocorrem na casca e no miolo, excluindo-se a deterioração microbiana, as quais iniciam-se imediatamente depois do resfriamento e que aumentam a velocidade de maneira progressiva durante o armazenamento. O resultado de este processo é um produto que o consumidor não considera mais “fresco”, as mudanças são percebidas como alterações da textura, sabor e aroma (CAUVAIN E YOUNG, 2009).

Estas mudanças químicas e físicas durante o envelhecimento, são em grande parte ocasionadas pela retrogradação do amido (CAUVAIN E YOUNG, 2009).

Sobre o processo de retrogradação Da Silva et.al. (2021, p.47) escreve:

Após o processo de assamento da massa, inicia-se o de resfriamento, no qual os polímeros perdem a mobilidade à medida que o miolo recém assado começa a esfriar e a aumentar sua viscosidade, refletindo diretamente em toda e qualquer propriedade e característica texturais devido à quantidade e à concentração de polímeros amiláceos e à temperatura atingida durante o processo completo de assamento.

Os grânulos amiláceos, após o processo final de assamento e resfriamento, começam finalmente a ganhar as características desejadas para uma massa de pão, variando do estado gelatinizado a um estado de perda de ordem devido à variação de suor emitido principalmente pela amilose, adquirindo assim uma característica física de borracha; a amilopectina adquire a mesma característica, sendo porém flexível.

Em teor de água superior a 30% começam a sofrer o processo conhecido como retrogradação do amido, definido pela recristalização da amilopectina durante o envelhecimento, no qual as moléculas previamente gelatinizadas se reassociam, formando novamente uma estrutura cristalina, em um processo muito acelerado; a firmeza do miolo do pão envolve a perda de umidade do glúten com relação ao amido.

É importante destacar que cristalinidade e firmeza do pão não são sinônimas, pois existem, dois tipos de cristais de amilopectina após a retrogradação (CAUVAIN E YOUNG, 2009):

- Cristais do tipo A: contém 8 moléculas de água, como consequência, o miolo fica com mais água livre disponível para plastificar a ligação de pontes de hidrogênio amido-glúten.
- Cristais do tipo B: contém 36 moléculas de água, neste caso o miolo fica mais firme porque maior quantidade de água migrou para a região

cristalina. Essa água que participou da formação do cristal não fica mais disponível como plastificante do amido-glúten.

### **2.1.3. AMILASES NA PANIFICAÇÃO.**

Desde mediados da década de 1990, após que a FDA e o CODEX autorizaram seu uso na indústria de alimentos, as enzimas têm sido amplamente utilizadas como aditivos e coadjuvantes de tecnologia. A indústria da panificação, não ficou alheia a esta mudança e vem utilizando enzimas cotidianamente (CAUVAIN E YOUNG, 2009).

As amilases são enzimas da família das glicosidases, no geral são responsáveis por quebrar as ligações glucose-glucose do amido, transformando-o em açúcares simples assim como explicado em 5.2.1.1. ao todo existem dois tipos de amilases principais encontradas na natureza:  $\alpha$  e  $\beta$ . As mesmas estão presentes na composição da farinha de trigo, e o nível presente depende das condições climáticas durante a colheita do grão (DA SILVA et. al. 2021).

Estas enzimas podem ser adicionadas à mistura para suprir carências da farinha ou com o intuito de trazer alguns benefícios aos produtos, conforme Miller et al., 1953 apud Cauvain e Young, 2009 p.302 “A adição de alfa-amilases à massa retarda a firmeza do miolo”, já Da Silva et. al. 2021, p.72 “A adição das amilases ajuda a produzir um pão com maior volume, com textura mais fina e mais branca e com maior vida de prateleira.”

#### **2.1.3.1. $\alpha$ -Amilase**

De acordo com Damodaran e Parkin (2017) a alfa-amilase é uma endoenzima de ação retentora  $\alpha \rightarrow \alpha$ , ou seja, hidrolisa as ligações  $\alpha 1 \rightarrow 4$  das cadeias de amido. Como consequência, a viscosidade do amido é reduzida com rapidez devido à natureza randômica da hidrólise, diminuindo em pouco tempo a massa molecular média das cadeias de amilose/amilopectina. O tamanho da molécula pode variar entre 50 a 70 kDa, embora algumas possam chegar a 200 kDa.

É uma enzima particularmente estável, em presença de  $\text{Ca}^{2+}$ , em pH que varia entre 6 e 10 (DAMODARAN E PARKIN, 2017).

Ainda, segundo Damodaran e Parkin (2017) o sítio ativo é composto por pelo menos cinco subsítios requerendo um substrato de pelo menos três unidades de glicose em comprimento. O pH ótimo depende do comprimento do substrato, e os malto-oligossacarídeos que não ocupam totalmente os cinco subsítios de ligação reagem em uma faixa de pH ótimo mais estreita.

Como consequência da ação da enzima sobre o amido, os produtos finais típicos são dextrinas  $\alpha$ -limite ramificadas e malto-oligossacarídeos de 2 a 12 unidades de glicose, predominantemente na parte superior desse intervalo (DAMODARAN E PARKIN, 2017).

Sobre as fontes de obtenção de esta enzima Damodaran e Parkin (2017) menciona:

- Microbiana: proveniente em maior grau de espécies de Bacillus, são termoestáveis e podem ser usadas entre 80 e 110 °C com pH entre 5 e 7 ou 5 e 60 ppm Ca<sup>2+</sup>.
- Fúngica: provenientes de Aspergillus, funcionam em condições ótimas entre 50 e 70 °C, pH 4 a 5 e < 50 ppm Ca<sup>2+</sup>. Como as  $\alpha$ -amilases de fungos também são endoglicosidases, elas tendem a favorecer a acumulação de malto-oligossacarídeos menores (n = 2–5) como produtos finais da liquefação do amido, por este motivo, este tipo de alfa-amilases são chamadas de maltogênicas.
- De cereal: malte de cevada ou trigo, estabilidade térmica intermediária entre a microbiana e a fúngica, pH entre 5 e 7.

### **2.1.3.2. $\beta$ -Amilases**

A  $\beta$ -amilase é uma exoglicosidase,  $\alpha \rightarrow \beta$  inversora, que libera unidades de maltose a partir de extremidades não redutoras de cadeias de amilose, ou seja, hidrolisa as ligações  $\alpha$ -1 $\rightarrow$ 4 atuando sempre a partir das extremidades da cadeia de amilose e amilopectina. O impedimento estérico, deixa inacessível os pontos de ramificação  $\alpha$ -1 $\rightarrow$ 6 por este motivo a ação extensiva da  $\beta$ -amilase sobre o amido gera uma mistura de maltose e dextrinas  $\beta$ -limite, sendo que as últimas retêm os pontos de ramificação  $\alpha$ -1 $\rightarrow$ 6 e as porções lineares remanescentes inacessíveis à enzima. A  $\beta$ -amilase é única, por apresentar uma estrutura de domínio simples, em vez de uma estrutura de domínios

múltiplos encontrada em outras glicosidases amilolíticas, a modo de exemplo a  $\alpha$ -amilase apresenta 3 sítios e a pululanase apresenta 5. As dextrinas  $\beta$ -limite têm massa molecular média superior à das dextrinas  $\alpha$ -limite, isso devido a que a ação exo da  $\beta$ -amilase não consegue ultrapassar os pontos de ramificação  $\alpha$ -1 $\rightarrow$ 6, mas a  $\alpha$ -amilase, sendo uma endoenzima, consegue fazê-lo. (DAMODARAN E PARKIN, 2017).

Sobre as fontes de obtenção de esta enzima Damodaran e Parkin (2017) menciona: soja, batata doce e Bacillus.

Segundo Damodaran e Parkin (2017, p.392)

$\beta$ -amilases geralmente têm um pH ótimo mais alcalino (pH 5,0–7,0) em relação às  $\alpha$ -amilases, não requerem  $\text{Ca}^{2+}$  e exibem temperatura ótima na faixa de 45 a 70 °C, dependendo da fonte (fontes microbianas são mais termoestáveis).

### **2.1.3.3. Mecanismo de ação das amilases em pão de forma branco.**

Como visto em 5.3.1. e 5.3.2. nem a  $\alpha$ -amilase nem a  $\beta$ -amilase tem capacidade de hidrolisar enlace  $\alpha$ -1 $\rightarrow$ 6 do amido, neste sentido, a pululanase, e em menor medida a glicoamilase (amiloglicosidase), são as responsáveis por escindir estes enlaces, porém não serão tratadas em este trabalho.

A importância das amilases na panificação radica em que, já é uma enzima presente naturalmente no grão de trigo em proporções variadas (dependendo do tipo de grão e condições durante a colheita) e em que os resíduos da hidrólise têm atuação em várias reações que acontecem no interior da massa nos diferentes processos de produção de pão, assim como visto em 5.2.1.1. principalmente no efeito retardante de envelhecimento (CAUVAIN E YOUNG, 2009. GRAY; BEMILLER, 2003).

As amilases adicionadas à mistura inicial começam a trabalhar em contato com água, durante o amassamento, porém, com velocidade reduzida, pois a temperatura ótima de trabalho das enzimas varia entre 55 e 75°C, sendo que a massa é batida com temperaturas entre 24 e 28°C dependendo do processo, nesta primeira etapa de produção a atuação da enzima limita-se a formação de dextrinas e açúcares menores que posteriormente servirão como alimento para as leveduras, estes açúcares somados ao amido danificado pela ruptura aumentam a absorção da massa, pois o amido danificado possui mais sítios de ligação com a água do que o amido inteiro (CAUVAIN E YOUNG, 2009).

Durante a fermentação em câmara com umidade e temperatura controladas que variam entre 40 e 50°C e 92 a 98% de umidade com um tempo que varia de 60 a 80 minutos, dependendo da quantidade e tipo de fermento biológico acrescentado, as amilases realizam seu trabalho em maior medida próximo à casca, diminuindo a viscosidade da massa neste ponto, pois a temperatura da casca é próxima à temperatura do ambiente circundante, sendo que o interior da peça não ultrapassa valores de 37 a 39°C, este fato, somado à umidade elevada auxilia a que a massa se torne mais pegajosa e se estique com maior facilidade ao redor da peça, ajudando ao aumento do volume proveniente do aprisionamento na rede de glúten do gás carbônico produzido pelas leveduras (CAUVAIN E YOUNG, 2009).

No processo de assamento é onde acontece a maior velocidade da enzima devido à temperatura atingida no interior da peça, até 98°C em um processo ótimo.

Segundo Cauvain e Young 2009, p.302.

Durante o assamento, as amilases hidrolisam parcialmente o amido a uma mistura de dextrinas de menor tamanho. As enzimas de alfa-amilase não conseguem acesso aos grânulos de amido intactos; dessa maneira, eles essencialmente hidrolisam o amido danificado agindo sobre as ligações alfa-(1,4) ao longo das cadeias de amido. Essa ação é interrompida nos pontos de ramificação alfa-(1,6) da amilopectina. [...] Entre 58°C e 78°C, o amido gelatinizado é rapidamente hidrolisado, com a taxa de conversão desacelerando acima dessa faixa de temperatura devido à desnaturação da enzima.

Neste sentido a termoestabilidade da alfa-amilase determina se continuará atuando após o assamento ou não. A alfa-amilase bacteriana afeta a firmeza do miolo do pão mais do que as alfa-amilases fúngicas e do cereal, pois é mais estável ao calor do que os outros dois tipos, com temperaturas de atuação ótima entre 80 e 110°C. A utilização das enzimas de alfa-amilase resulta na formação de quantidades crescentes de dextrinas, que podem ser extraídas do miolo do pão, um indicador da termoestabilidade da enzima é precisamente a quantidade de dextrinas solúveis presentes no miolo após o assamento (CAUVAIN E YOUNG, 2009). Estas dextrinas de um menor grau de polimerização (DP 3-9) são responsáveis pelo efeito anti-firmeza, segundo Cauvain e Young 2009, p.303:

Essas dextrinas móveis podem interferir e impedir o desenvolvimento de ligações de hidrogênio entre os grânulos de amido restantes e a rede contínua de glúten. Essa ação impede o desenvolvimento de

obstáculos entre o amido e a proteína que aumenta a rigidez do miolo.

Desta maneira, ao limitar a quantidade de ligações de hidrogênio, o miolo retém maior quantidade de água, é essa água a que confere maior maciez ou retardo de firmeza no pão, por outro lado, quando suplementado com alfa-amilases bacterianas a amilopectina retrograda ou cristaliza com cristais do tipo A deixando mais água livre no meio, assim como explicado em 5.2.1.3 (GRAY; BEMILLER, 2003). Por este motivo quando Dragsdorf e Varriano-Marston, 1980 apud Cauvain e Young, 2009 compararam imagens de raio X dos pães fresco e armazenado, se surpreenderam ao descobrir que a ordem crescente de cristalinidade era: Pão com alfa-amilase bacteriana, pão com alfa-amilase fúngica, pão com alfa-amilase de cereal e pão não suplementado, concluindo assim que a quantidade de cristais não se relaciona com a firmeza do pão.

Segundo Cauvain e Young, 2009 p.303:

As discrepâncias entre os dados de difração do raio X e os resultados da firmeza surgiram porque os diversos tipos de cristais influenciam a distribuição de água de modo diferente dentro do miolo. [...] microscopicamente, a falta do efeito plastificante da água resulta em um pão mais firme, que é percebido como mais seco.

#### **2.1.3.4. Obtenção de amilases para panificação.**

As fontes de obtenção de amilases industriais para a panificação são basicamente três, sendo: Cereal, Bacteriana e Fúngica assim como estabelecido em 5.3.1. e 5.3.2. embora existam no mercado beta-amilase proveniente de batata doce e soja.

Desde o surgimento da biotecnologia após a segunda guerra mundial e com o intuito de desenvolver técnicas em escala industrial para produção de penicilina, os avanços em esta área têm levado a aprimorar praticas de obtenção de todo tipo de substâncias de origem animal, vegetal e microbiano como hormônios, anticorpos e enzimas (DE ALMEIDA LIMA et al., 2001).

Segundo Gutkoski et al. (2012), para obter amilases de cereais é necessário que o mesmo passe por um processo denominado malteagem, no qual os grãos são expostos a condições ideais para germinação, basicamente através da adição de água a uma temperatura ótima (maceração), ativando assim o mecanismo interno de crescimento da semente. A água acrescentada,

dissolve um hormônio vegetal, conhecido como ácido giberélico, esta substância produzida no interior do embrião, ativa o processo de síntese enzimática, fazendo com que ocorram as transformações necessárias para o crescimento do grão durante a germinação. É importante ressaltar que este processo biotecnológico complexo é uma germinação controlada do grão. Logo são realizados uma série de processos de secagem em sequência destinados a interromper a germinação do grão e a conferir características de sabor e aroma, é durante a secagem que se determina a utilidade do malte, ou seja, em secagem com temperaturas mais altas, a quantidade de enzimas é reduzida, enquanto que, com temperaturas mais baixas a quantidade de enzimas aumenta, também variam a cor, o sabor e o aroma, dependendo da temperatura de secagem. Por este motivo, as enzimas provenientes da malteagem de cereais proporcionam ao pão sabores e aromas únicos.

Para obter amilases bacterianas ou fúngicas, a produção é conduzida em fermentadores industriais mecanicamente agitados com capacidades de 10.000 a 100.000 litros operados de forma descontínua (por bateladas), onde os microorganismos desejados são colocados em contato com o meio de cultura, posteriormente se utilizam métodos de separação que, por se tratar de enzimas extracelulares, são relativamente simples, como filtração ou centrifugação. No caso de enzimas altamente purificadas para uso analítico ou farmacêutico, são utilizadas técnicas mais complexas envolvendo separações cromatográficas. Posteriormente são realizados processos que objetivam a concentração e secagem da enzima (DE ALMEIDA LIMA et al., 2001).

Muitas enzimas à venda comercialmente, entre elas as amilases, são encapsuladas para evitar o contato dos operadores com poeiras que são potencialmente nocivas para a saúde, o encapsulado também facilita o armazenamento em temperaturas próximas ao ambiente, sem necessidade de cadeia de frio (DE ALMEIDA LIMA et al., 2001).

### **5.3.5. Impacto na utilização de amilases na panificação.**

Podemos citar vários benefícios ao utilizar amilases na indústria da panificação por exemplo:

Origem natural (rótulo limpo: *clean label*) e facilidade de produção, versatilidade de uso, facilidade de controle de atuação, desenvolvimento de



características organolépticas desejáveis no produto, entre outras (GRAY E BEMILLER, 2003).

Existem diversos estudos realizados sobre o impacto na utilização de amilases na panificação, amilases específicas produtoras de maltotriose e maltotetraose ou maltopentose tem sido reportadas como agentes efetivos contra o envelhecimento por retardar a retrogradação da amilopectina (TAYLOR & FRANCIS GROUP, 2015), Gray e Bemiller (2003) em seu estudo sobre envelhecimento do pão já citavam as alfa-amilases como estratégia para reduzir a firmeza e características de pão velho em panificados estocados. Um estudo recente levado adiante por Chen et al. (2021) comparou amostras de farinhas adicionadas com amilases bacterianas: amilase maltogénica (proveniente de *Bacillus subtilis*) e amilase produtora de maltotetraose (proveniente de *Bacillus licheniformis*), chegaram a resultados favoráveis em vários aspectos com a utilização de amilase produtora de maltotetraose, pois demonstrou ter um melhor desempenho no produto final quando comparadas com amostras contendo alfa-amilase maltogénica e amostras sem adição de enzimas, em compensação, apresentou menor viscosidade na massa, isso quer dizer que a massa pode ser mais pegajosa, fato que dificultaria um pouco a maquinabilidade da mesma, de qualquer maneira, o resultado aponta ao benefício no retardo de envelhecimento do pão.

Em estudos comparando os efeitos das amilases contra emulsificantes, as amostras com enzimas têm apresentado os melhores resultados nos parâmetros de maciez e sabor (GRAY E BEMILLER, 2003).

De acordo com Taylor & Francis Group (2015) a utilização de amilases em conjunto com emulsificantes, reforça o efeito antienvelhecimento, o uso de amilases diferentes combinadas com outras enzimas como lipases, também potencializa este efeito ao propiciar um complexo termoestável amilose-lípido, este efeito potencializador é chamado de sinergia.

Isso quer dizer que o impacto direto é o aumento de vida útil do produto (em características organolépticas) que indiretamente diminui os custos de produção por afetar os custos com logística. Por ser um insumo relativamente simples de produzir, as amilases apresentam um valor razoável, porém mais caro se comparado com emulsificantes sintéticos e oligossacarídeos, embora, para obter o mesmo efeito no produto final, seja necessário acrescentar na

formulação vários outros ingredientes sintéticos (TAYLOR & FRANCIS GROUP, 2015).

Para determinar a correta dosagem e utilização, devem ser realizados testes industriais onde também seja controlado o processo em seus parâmetros fundamentais: umidade, temperatura, pH e tempo, e assim, garantir um produto com características desejáveis. O uso incorreto pode ocasionar impactos negativos no produto como: fermentação excessiva e miolo muito aberto, coloração esbranquiçada na casca, produtos com muito ou pouco volume, miolo quebradiço, colapso estrutural, massas muito pegajosas, manchas e bolhas na casca, entre outros (CAUVAIN E YOUNG, 2009).

### **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Conforme têm sido desenvolvido durante este trabalho, a utilização de enzimas pela indústria de alimentos é bem conhecida. Na panificação, as enzimas mais utilizadas são as amilases, as quais hidrolisam os enlaces glicosídicos da amilosa e amilopectina, liberando no meio açúcares menores como maltoses, dextroses e oligossacarídeos. Estes produtos de reação atuam impactando favoravelmente sobre a maciez do pão e o aumento da vida útil.

A facilidade de obtenção da amilase, provenientes tanto de cereais, bactérias ou fungos somado ao fato da capacidade de ser encapsulada beneficiando assim o armazenamento em temperaturas próximas ao ambiente, fazem de esta enzima uma alternativa natural e versátil para substituir emulsificantes e estabilizantes sintéticos em produtos panificados. Por outro lado, a facilidade na inativação, em caso de querer inativar, faz com que esta enzima seja muito simples de manusear.

Com a evolução científica na área de biotecnologia, as capacidades das indústrias produtoras de enzimas têm aumentado no último período, inclusive pelo crescente interesse na área clínica, então podemos dizer que a indústria está preparada para um aumento na demanda de amilases, embora as empresas produtoras não sejam muitas (DE ALMEIDA LIMA et al., 2001; TAYLOR & FRANCIS GROUP, 2015).

As constantes pesquisas com intuito de aprimorar tanto técnicas de utilização de enzimas, como fontes diferentes (diversas variedades de cereais,

bactérias e fungos) e inclusive meios de cultura diferentes para a produção de enzimas nos levam a pensar que as perspectivas em este mercado são promissoras (DE ALMEIDA LIMA et al., 2001; TAYLOR & FRANCIS GROUP, 2015).

Pelo exposto anteriormente, podemos concluir que as tendências de utilização de enzimas para produção de pão de forma de trigo estão em expansão, evolução e em aumento. Como perspectivas para a indústria panadeira, em primeiro lugar deverá ser investido muito tempo e dinheiro em capacitação sobre as novas formas de produção, formulações enzimáticas, sinergia e controle de processos, pois até o momento as padarias tradicionais e as indústrias de panificação de maior porte, trabalham mais confortavelmente com insumos sintéticos. Sobre o controle de processos, existem no mercado sistemas de monitoramento remoto de umidade e temperatura que utilizam sinal *bluetooth* ou *wi-fi* para se comunicar com computadores localizados a distância, assim como sensores de temperatura que, quando inseridos na massa durante o processo de forneamento, permitem visualizar a curva de forno do produto e a temperatura ao interior do equipamento, outro controle válido, pode ser a utilização de colorímetros localizados na saída do forno para garantir a cor correta do produto, checagem de peso automática, checagem de altura mediante sensores, entre outros. Esta quebra de paradigma, de controlar os processos cientificamente e com dados concretos e não deixar o controle livrado somente ao conhecimento empírico do operador, é extremamente necessária em um mundo onde os consumidores exigem cada vez mais produtos de origem natural, *Clean label*, e com características de cuidado para a saúde, sem esquecer, claro, da parte artesanal da panificação.

## REFERÊNCIAS

- BAKERPEDIA (Estados Unidos). **Enzyme**. In: BAKERPEDIA (Estados Unidos). BAKERPEDIA. Estados Unidos, 1 nov. 2020. Disponível em: <https://bakerpedia.com/ingredients/enzyme/>. Acesso em: 26 jul. 2021.
- CAUVAIN, Stanley P.; YOUNG, Linda S. **Tecnologia da panificação**. 2. ed. São Paulo, Brasil: Manole, 2009. 418 p. ISBN 978-85-204-4218-0. Disponível em:

<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788520442180/pageid/>

5. Acesso em: 31 ago. 2021.

CHEN, Yi et al. **Influence of Amylase Addition on Bread Quality and Bread Staling**. CS Food Sci. Technol., USA, v. 1, n. 6, p. 1143 - 1150, 6 jul. 2021.

Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.1c00158>. Acesso em: 21 dez. 2021.

CUNHA, André Moreira; FERRARI, Andrés. **É possível voltar à normalidade? A economia global em um contexto pós-pandemia**. FCE | UFRGS, Brasil, p.

1-7, 13 ago. 2020. Disponível em: <https://www.ufrgs.br/fce/e-possivel-voltar-a-normalidade-a-economia-global-em-um-contexto-pos-pandemia/>. Acesso em: 26 jul. 2021.

DAMODARAN, Srinivasan.; PARKIN, Kirk. L. **Química de Alimentos de Fennema**. São Paulo, Brasil: Grupo A, 2017. 9788582715468. Disponível em:

<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582715468/>. Acesso em: 02 nov. 2021.

DA SILVA, João Luiz Maximo *et al.* **Panificação: da moagem do grão ao pão assado**. 1. ed. São Paulo, Brasil: Manole, 2021. 162 p. ISBN 978-65-5576-067-

5. Disponível em:

[https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9786555764895/epubcfi/6/8\[%3Bvnd.vst.idref%3Dcopyright\]!/4/2/34/4](https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9786555764895/epubcfi/6/8[%3Bvnd.vst.idref%3Dcopyright]!/4/2/34/4). Acesso em: 1 set. 2021.

DE ALMEIDA LIMA, Urgel *et al.* **Biotecnologia industrial**. 1. ed. São Paulo, Brasil: Edgard Blücher Ltda, 2001. 617 p. v. 3. ISBN 978-85-212-0280-6.

Disponível em:

<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788521215196/pageid/>

4. Acesso em: 28 dez. 2021.

DE MATTOS CASTIGLIONI , José Antonio. **Logística Operacional: Guia Prático**. 3. ed. São Paulo, Brasil: Érica, 2013. 225 p. ISBN 978-85-365-0577-0.

Disponível em:

<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788536505770/pageid/>

4. Acesso em: 18 dez. 2021.

DE MATOS, Simone Pires; GONÇALVES MACEDO, Paula Daiany. **Bioquímica dos alimentos :composição, reações e práticas de conservação**. 1. ed. São Paulo, Brasil: Érica, 2015. 129 p. ISBN 978-85-365-

2081-0. Disponível em:

<https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788536520810/pageid/>

2. Acesso em: 2 nov. 2021.

DIAS, Maria Clara. **Sucesso de comida plant-based torna NotCo mais novo unicórnio da AL: Startup chilena concluiu rodada de captação de US\$ 235 milhões e atingiu valor de mercado de US\$ 1 bilhão.** *In:* Exame. [S. l.], 26 jul. 2021. Disponível em: <https://exame.com/pme/notco-unicornio-da-america-latina/>. Acesso em: 26 jul.2021.

FMCG GURUS (England). **Understanding consumers one year on.** 2021. *In:* FMCG GURUS (Reino Unido). FMCG GURUS. [S. l.], 1 mar. 2021. Disponível em: <https://fmcggurus.com/covid-19-insights/>. Acesso em: 26 jul. 2021.

GISSLEN, Wayne. **Panificação e confeitaria profissionais.** 1. ed. Barueri, SP: Manole, 2011. 771 p. ISBN 978-85-204-4479-5. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/reader/books/9788520444795/pageid/> 4. Acesso em: 26 out. 2021.

GRAY , J.A.; BEMILLER, J.N. **Bread Staling: Molecular Basis and Control.** *Comprehensive reviews in food science and food safety, USA*, v. 2, n. 1, p. 1 - 21, 2 jan. 2003. DOI 10.1111/j.1541-4337.2003.tb00011.x. Disponível em: <https://ift.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1541-4337.2003.tb00011.x>. Acesso em: 28 dez. 2021.

GUTKOSKI, Luiz Carlos et al. **Malte e extrato de malte: aveia, milho e trigo.** 1. ed. Passo Fundo, RS.: Luiz Carlos Gutkoski, 2012. 250 p.

IBGE (Brasil). Agência IBGE Notícias. **Um em cada quatro adultos do país estava obeso em 2019; Atenção Primária foi bem avaliada.** *In:* IBGE (Brasil). Agência IBGE Notícias. Pesquisa Nacional de Saúde. Brasil, 21 out. 2020. Disponível em: <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/29204-um-em-cada-quatro-adultos-do-pais-estava-obeso-em-2019>. Acesso em: 26 jul. 2021.

TAYLOR & FRANCIS GROUP (U.S.A.). **Enzymes in Food and Beverage Processing.** 1. ed. USA: Taylor & Francis Group, 2015. 538 p. ISBN 978-1-4822-2128-2.