

EFEITO DA ADIÇÃO DE FARINHA DE SOJA DESENGORDURA
DA COMO FONTE DE LIPOXIGENASE ATIVA DE SOJA NAS
CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS E NA DISTRIBUIÇÃO DOS
LIPÍDIOS NA MASSA DE FARINHA DE TRIGO.

08/90

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

EFEITO DA ADIÇÃO FARINHA DE SOJA DESEN-
GORDURADA COMO FONTE DE LIPOXIGENASE
ATIVA DE SOJA NAS CARACTERÍSTICAS REO-
LÓGICAS E NA DISTRIBUIÇÃO DOS LIPÍDIOS
NA MASSA DE FARINHA DE TRIGO.

Parecer

Este exemplar corresponde a peda-
ço final da tese defendida por Wilma
maria Coelho Araújo e aprovada pela
comissão julgadora em 18.05.90.

Campinas, 18 de maio de 1990.

Wilma Maria Coelho Araújo

Química

César Francisco Ciacco

Prof. Dr. César Francisco Ciacco

Orientador

Tese apresentada para a obtenção do título de Doutor em
Tecnologia de Alimentos

Campinas, ~~abr~~ de 1990



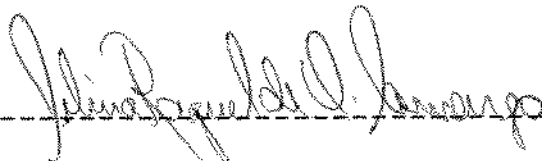
Prof. Dr. César Francisco Ciacco

(Orientador)

Suplente

Prof. Dr. Wálter Esteves

(Co-orientador)



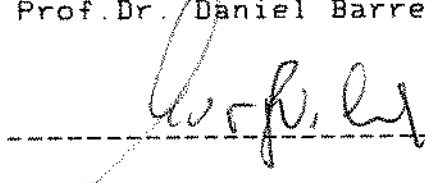
Profa. Dra. Celina Raquel de Oliveira Camargo



Prof. Dr. Emilio Segundo Contreras Guzmán

Suplente

Prof. Dr. Daniel Barrera Arellano



Prof. Dr. Evódio Ribeiro Vilela



Prof. Dr. João Shojiro Tango

Campinas, 18 de maio de 1990.

- REVISÃO DE LÍNGUA PORTUGUESA -

Prof. Ademir Araújo Filho

Ao Ademir
e aos
nossos filhos,
Vicente e
Ademir,

Com muito amor.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. César Francisco Ciacco, pela orientação segura, pela dedicação, pelo incentivo, pela amizade.

À Profa. Dra. Norma Mancilla Diaz (in memoriam), gratidão eterna ao apoio, à amizade e às primeiras orientações recebidas.

Ao Prof. Dr. Wálter Esteves, pela co-orientação e pelo apoio técnico.

À Profa. Dra. Celina Raquel de Oliveira Camargo, pelo apoio técnico e pela solidariedade.

À Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, à Universidade Federal de Pernambuco e ao Departamento de Nutrição (UFPE), por tornarem possível a realização deste curso.

Ao PICD-CAPES, pelo apoio financeiro.

Aos Professores do Departamento de Tecnologia de Alimentos (FEA - UNICAMP), pela contrubuição.

Aos funcionários e técnicos, pela colaboração.

Aos colegas de pós-graduação, pela convivência agradável e pela troca de informações.

À ABIA, pelo auxílio na impressão da tese.

ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	v
ÍNDICE DE TABELAS	x
RESUMO	xi
SUMMARY	xiii
I- INTRODUÇÃO	1
II- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
1- Lipídios da farinha: classes; distribuição e composição	4
2- Funcionalidade dos lipídios	14
3- Modelos propostos para as interações dos lipídios na massa	23
4- Lipoxigenase em panificação	26

III- MATERIAL E MÉTODOS

A- Material	34
1- Matéria-prima	34
2- Aparelhos e equipamentos	35
B- Métodos	36
1- Caracterização da farinha de trigo	36
1.1- Testes químicos	36
1.1.1- Umidade	36
1.1.2- Proteína	36
1.1.3- Cinzas	36
1.1.4- Carboidratos	36
1.1.5- Lipídios	37
2- Testes reológicos	37
2.1- Farinógrafo Brabender	37
2.2- Extensógrafo Brabender	38
3- Preparo das massas com e sem lipoxigenase ativa de soja	39
3.1- Mistura	40
3.2- Descanso das massas	41
4- Separação e fracionamento do glúten das massas com e sem lipoxigenase ativa de soja	42
5- Extração e fracionamento dos lipídios	43
5.1- Extração dos lipídios	43
5.1.1- Extração com hexano	43
5.1.2- Extração com butanol saturado com água	44

5.2-	Separação das classes de lipídios livres e ligados	44
5.3-	Determinação dos ácidos graxos nas frações de lipídios livres e ligados da farinha e da massa com e sem lipo- xigenase ativa de soja	45
IV- RESULTADOS E DISCUSSÃO		
4.1-	Caracterização da farinha de trigo	46
4.1.1-	Composição centesimal	46
4.2-	Testes reológicos	46
4.2.1-	Características farinográficas	46
4.2.2-	Características extensográficas	49
4.2.3-	Características da curva e parâmetros extensográficos das massas obtidas no misturador Do-Corder (150 rpm)	54
4.3-	Estudo dos lipídios da farinha e da massa	64
4.3.1-	Lipídios livres e ligados da farinha. Distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres e ligados da farinha	65
4.3.2-	Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na dis- tribuição dos lipídios livres e ligados	69

4.3.3- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios presentes nas frações de lipídios livres e ligados	71
4.3.4- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados do glúten	76
4.3.5- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres e ligados do glúten	79
4.3.6- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados da gliadina e da glutenina	82
4.3.7- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres e ligados da gliadina e da glutenina	87

4.3.8-	Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e da atmosfera de nitrogênio na distribuição dos lipídios livres e ligados	92
4.3.9-	Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e da atmosfera de nitrogênio na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios presentes nas frações de lipídios livres e ligados	96
4.3.10-	Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja na composição dos ácidos graxos nas frações de lipídios livres e ligados da massa	101
V-	CONCLUSÕES	105
VI-	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	108

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1 - Distribuição dos lipídios no grão de trigo	5
FIGURA 2 - Distribuição das classes de lipídios nas frações de lipídios neutros e polares no grão	6
FIGURA 3 - Distribuição das frações de lipídios no grão	10
FIGURA 4 - Distribuição das classes de lipídios nas frações de lipídios neutros e polares da farinha	11
FIGURA 5 - Distribuição dos lipídios neutros e polares nas frações de lipídios livres e ligados da farinha	12
FIGURA 6 - Envolvimento dos componentes da farinha na formação do glúten	21
FIGURA 7 - Modelos propostos para as interações dos lipídios na massa	25
FIGURA 8 - Modelo proposto para explicar a liberação de lipídios durante a mistura, na presença de lipoxigenase ativa de soja e de oxigênio	33

FIGURA 9 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a resistência à extensão, para massas misturadas a 63 rpm	51
FIGURA 10- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a resistência máxima, para massas misturadas a 63 rpm	52
FIGURA 11- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a extensibilidade, para massas misturadas a 63 rpm	53
FIGURA 12- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a resistência à extensão, para massas misturadas a 150 rpm	57
FIGURA 13- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a resistência máxima, para massas misturadas a 150 rpm	58
FIGURA 14- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a extensibilidade, para massas misturadas a 150 rpm	59
FIGURA 15- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a resistência à extensão, para massas misturadas a 63 e 150 rpm	60

FIGURA 16- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a resistência máxima, para massas misturadas a 63 e 150 rpm	62
FIGURA 17- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a extensibilidade, para massas misturadas a 63 e 150 rpm	63
FIGURA 18 -Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados	69
FIGURA 19 -Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres (a) e ligados (b)	74
FIGURA 20 -Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados do glúten	77
FIGURA 21 -Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso de massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres (a) e ligados (b) do glúten	80

- FIGURA 22 -Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados da gliadina e da glutenina 85
- FIGURA 23 -Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres (a) e ligados (b) da gliadina e da glutenina 89
- FIGURA 24 -Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e da atmosfera de nitrogênio na distribuição dos lipídios livres e ligados 95
- FIGURA 25 -Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e da atmosfera de nitrogênio na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres (a) e ligados (b) 98

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA I	- Distribuição dos ácidos graxos nas classes de lipídios da farinha	17
TABELA II	- Composição química da farinha de trigo	47
TABELA III	- Características farinográficas da farinha de trigo com e sem adição de lipoxigenase ativa de soja	48
TABELA IV	- Características extensográficas da farinha de trigo com e sem adição de lipoxigenase ativa de soja	50
TABELA V	- Características das curvas obtidas no misturador Do-Corder da farinha de trigo com e sem adição de lipoxigenase ativa de soja	55
TABELA VI	- Características extensográficas da farinha de trigo com e sem adição de lipoxigenase ativa de soja	56
TABELA VII	- Distribuição dos lipídios neutros, glicos e fosfolipídios nas frações de lipídios livres e ligados da farinha de trigo	68

TABELA VIII- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres	72
TABELA IX - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios ligados	75
TABELA X - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados da massa e do glúten	78
TABELA XI - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres do glúten	81
TABELA XII - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios ligados do glúten	83

TABELA XIII- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados na gliadina e na glutenina	86
TABELA XIV - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres da gliadina e da glutenina	88
TABELA XV - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios ligados da gliadina e da glutenina	90
TABELA XVI - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e da atmosfera de nitrogênio na distribuição dos lipídios livres e ligados	94
TABELA XVII- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e da atmosfera de nitrogênio na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios na fração de lipídios livres	97

TABELA XVIII- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e da atmosfera de nitrogênio na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios na fração de lipídios ligados	100
---	-----

TABELA XIX - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja na composição dos ácidos graxos insaturados na fração de lipídios livres da massa	103
---	-----

TABELA XX - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja na composição dos ácidos graxos insaturados na fração de lipídios ligados da massa	104
---	-----

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos da adição da enzima lipoxigenase - existente na farinha de soja desengordurada - à farinha de trigo, nas propriedades reológicas da massa e na distribuição dos lipídios livres e ligados. Concomitantemente, foi investigada a composição dos lipídios livres e ligados, no que se refere a lipídios neutros, glicolipídios e fosfolipídios.

Os resultados dos testes reológicos mostraram que a adição da enzima provocou um fortalecimento da massa. Os estudos sobre a composição lipídica mostraram que a presença de lipoxigenase ativa de soja na massa promoveu um acréscimo na concentração de lipídios livres na massa e aumentou a ligação dos lipídios no glúten. A enzima, entretanto, não promoveu modificações na distribuição das frações de lipídios livres e ligados na gliadina e na glutenina.

Por outro lado, a presença de lipoxigenase ativa de soja aumentou a concentração de glico e fosfolipídios na fração de lipídios livres da massa, enquanto que no glúten foi observado o aumento destas classes de lipídios na fração ligada. Foi verificada uma maior interação dos glicolipídios com a gliadina e, quanto à glutenina, além de uma interação efetiva com os glicolipídios, foi observada também uma interação com os lipídios neutros.

A adição da enzima promoveu também uma maior oxidação dos ácidos linoléico e linolênico, principalmente na fração de lipídios livres da massa, sugerindo portanto a participação de intermediários - provenientes da reação catalisada pela lipoxigenase - na liberação de lipídios na massa e nas alterações observadas nos constituintes lipídicos da massa, glúten, gliadina e glutenina.

SUMMARY

The objective of this work was to study the effect of lipoxygenase from defatted soybean flour on the rheological properties of doughs and on the composition of lipids in doughs and lipids bound to gluten and its fractions.

The rheological tests indicated that the addition of lipoxygenase improves the dough strength. Upon addition of lipoxygenase, increases in free lipids in the doughs and bound lipids in the gluten were observed. No modifications in the distribution of free and bound lipids of the gliadins and glutenins were observed.

The glycolipids and phospholipids concentration increased in the free lipids fractions of the doughs. On the other hand, the concentration of glycolipids and phospholipids increased in the gluten bound lipid fraction and the glycolipid fraction interacted mainly with the gliadins and glutenins, while the neutral lipids interact with the glutenins.

The addition of the enzyme led to the oxidation of linolenic and linoleic acid, mainly in the dough free lipid fraction.

I. INTRODUÇÃO

De acordo com a literatura (POMERANZ, 1985a), os efeitos dos lipídios em panificação incluem a modificação da estrutura do glúten no estágio de mistura e o retardamento do envelhecimento do pão.

Os lipídios naturais da farinha de trigo têm sido considerados de importância vital no comportamento do glúten, apesar de estarem presentes em concentrações em torno de 2% (VITTI, 1982). Entre os lipídios presentes na farinha, os não-amídicos participam das reações físicas, químicas e bioquímicas da massa, contribuindo significativamente no comportamento da massa na mistura e na panificação, principalmente quando são usados os modernos processos de desenvolvimento mecânico da massa (CHUNG, 1986). Segundo este autor, os lipídios naturais presentes na farinha de trigo podem ser classificados como livres e ligados, sendo os primeiros extraídos com solventes apolares, como hexano, e os ligados extraídos com solventes polares, como n-butanol, após a extração dos livres.

De acordo com DANIELS et alii (1966) e BELL et alii (1977), o aumento do volume do pão está relacionado com a concentração de lipídios livres adequada na massa, que favorece a formação de estruturas mais orientadas, durante o cozimento. Segundo MORRISON (1976), a relação lipídios livres e ligados na farinha e na massa é um parâmetro essencial para avaliar a funcionalidade dos mesmos.

Entre as frações que compõem os lipídios livres ou ligados, os glicolipídios e os fosfolipídios são considerados por vários pesquisadores (MacRITCHIE, 1977; CHUNG et alii, 1978 e CHUNG, 1986) como responsáveis pelo aumento do volume do pão e se ligam, principalmente, às proteínas e ao amido. Várias hipóteses, entretanto, têm surgido para explicar a interação entre lipídios e componentes da farinha (HESS & MAHL, 1954; GROSSKREUTZ, 1961; HOSENEY et alii, 1970 e WEHRLI & POMERANZ, 1970a).

O efeito de lipídios nas propriedades tecnológicas tem sido utilizado para o desenvolvimento de vários aditivos que, com as características destes componentes, proporcionam uma melhoria na massa e nos produtos de panificação. Em particular, a lipoxigenase de soja tem sido utilizada como melhorador das propriedades tecnológicas da farinha, pelas alterações que causa nas frações de lipídios livres e ligados (FRAZIER et alii, 1974; RACKIS, 1977; KIEFFER & GROSCH, 1980 e NICOLAS & DRAPRON, 1982).

Trabalhos realizados por DANIELS et alii (1968), MANN e MORRISON (1974) e FRAZIER et alii (1977) relataram o efeito proveniente da presença da lipoxigenase ativa de soja nas características reológicas da massa. Esses autores sugerem que a concentração dos ácidos linoléico e linolênico nas frações dos lipídios neutros, dos glico e dos fosfolipídios das massas está vinculada ao melhoramento oxidativo das mesmas.

De acordo com MORRISON (1976), grande parte dos produtos provenientes da ação da lipoxigenase ativa de soja não apresenta efeitos na massa, porém, os grupos polares presentes podem participar de interações na mesma, comportando-se então

como lipídios polares.

Este trabalho tem como objetivo investigar o efeito da enzima lipoxigenase, proveniente de farinha de soja desengordurada, na distribuição dos lipídios livres e ligados e das frações de glicolipídios e fosfolipídios em massas utilizadas para produção de pães. Pretende-se através deste estudo levantar dados que permitam elucidar o mecanismo de ação da enzima lipoxigenase em massas para panificação.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1- LIPÍDIOS DA FARINHA: CLASSES, DISTRIBUIÇÃO E COMPOSIÇÃO

Apesar de estarem presentes em concentrações ao redor de 2%, os lipídios naturais da farinha de trigo têm sido considerados de importância vital no comportamento do glúten (VITTI, 1982). Observa-se, através da Figura 1, que, quantitativamente, os lipídios correspondem a 3-4% do peso do grão, sendo que, destes, 30% estão presentes no gérmen e 25% e 45% se encontram na aleurona e no endosperma, respectivamente. Os lipídios presentes no endosperma, por outro lado, estão divididos em amídicos (16%) e não-amídicos (29%).

De acordo com CHUNG & POMERANZ (1981), a composição dos lipídios do grão e da farinha de trigo pode apresentar variações tanto em função dos procedimentos utilizados para extração e separação das classes de lipídios como em função da variedade estudada. Estes autores relataram 23 classes de lipídios enquanto MacMURRAY & MORRISON, citados por estes autores, encontraram no grão 17 classes de lipídios (Figura 2). Verifica-se que aproximadamente 58% dos lipídios totais são frações de lipídios neutros, enquanto 42% são frações de lipídios polares. Observa-se também que os triglicerídios perfazem mais de 80% dos lipídios neutros, que o digalactosil diglicerídio é a principal classe presente na fração de glicolipídios, enquanto a lisofosfatidil colina compreende cerca de 26% dos fosfolipídios.

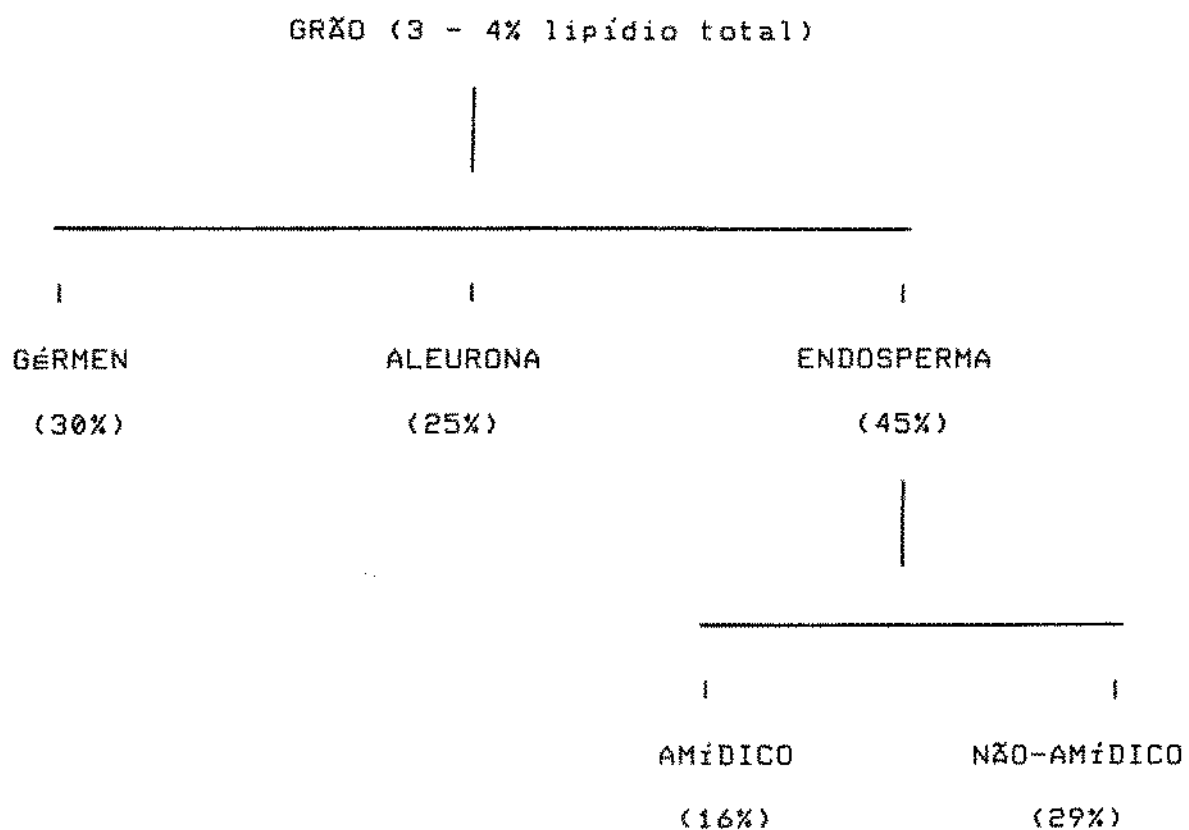


FIGURA 1 - Distribuição dos lipídios no grão de trigo.
(CHUNG, 1986)

LIPÍDIOS TOTAIS DO GRÃO

LIPÍDIOS NEUTROS		LIPÍDIOS POLARES	
(57,6%)		(42,4%)	
		GLICOLIPÍDIOS	FOSFOLIPÍDIOS
		(16,8%)	(25,6%)
	%TL	%TL	%TL
TG -	47,5	DGDG - 8,7	LPC - 6,7
DG -	3,2	DGMG - 3,0	PC - 7,9
FFA -	2,3	MGDG - 2,9	NAPEA - 3,5
SE -	2,5	ASG - 1,2	PI - 3,0
MG -	2,1	MGMG - 1,0	LPEA - 0,6
			NALPEA - 1,0
			LPG - 0,2
			PA - 0,5
			PEA + PG - 2,2

FIGURA 2 - Distribuição das classes de lipídios nas frações de lipídios neutros e polares no grão.
(CHUNG & POMERANZ, 1981)

* Abreviaturas - página 7

ASG - 6-0-acil esteril glucosídio
DG - diglicerídio
DGDG - digalactosil diglicerídio
DGMG - digalactosil monoglicerídio
FFA - ácido graxo livre
GL - glicolipídio
LN - lipídios neutros
LPEA - lisofosfatidil etanol amina
LPC - lisofosfatidil colina
LPG - lisofosfatidil glicerol
LP - lipídios polares
MG - monoglicerídio
MGDG - monogalactosil diglicerídio
MGMG - monogalactosil monoglicerídio
NALPEA - N-acil lisofosfatidil etanol amina
NAPEA - N- acil fosfatidil etanol amina
PA - ácido fosfatídico
PC - fosfatidil colina
PEA - fosfatidil etanol amina
PG - fosfatidil glicerol
PhL - fosfolipídio
PI - fosfatidil inositol
PS - fosfatidil serina
SE - éster estearil
TG - triglicerídio
TL - lipídio total

Estudos realizados por CHUNG & POMERANZ (1981) relataram a proporção de lipídios neutros e polares presentes no gérmen, aleurona e endosperma. De acordo com estes autores (Figura 3), os lipídios neutros compreendem cerca de 80% dos lipídios do gérmen e esta fração corresponde a aproximadamente 25% dos lipídios totais. A fração de lipídios polares apresenta uma maior concentração de fosfolipídios. Com relação à aleurona, observa-se que a sua concentração de lipídios compreende aproximadamente 30% dos lipídios totais do grão, e a fração de lipídios neutros é superior à fração de lipídios polares; nesta, os fosfolipídios também se encontram em maior concentração. O endosperma amídico, por sua vez, apresenta uma maior concentração de lipídios polares, constituídos principalmente por fosfolipídios. Os lipídios não-amídicos também apresentam uma maior concentração de lipídios polares, enquanto os glicolipídios perfazem 57% desta fração.

De acordo com CHUNG (1986), os lipídios amídicos existem como complexo amilose-lipídio dentro do grânulo de amido e dificilmente são extraídos. A extração destes lipídios ocorre apenas com tratamentos químicos mais drásticos ou com o rompimento do grânulo de amido. Por outro lado, os lipídios não-amídicos são facilmente extraídos à temperatura ambiente. São, portanto, aqueles que participam de todas as interações físicas, químicas e bioquímicas da massa, contribuindo significativamente para as propriedades de mistura e panificação, principalmente quando são usados os modernos processos de desenvolvimento mecânico da massa.

Segundo CHUNG & POMERANZ (1981) e CHUNG (1986), além dos lipídios do endosperma, é incorporada à farinha de trigo, durante a operação de moagem, uma pequena proporção proveniente do gérmen e da aleurona, constituída principalmente de lipídios neutros. A Figura 4 apresenta a composição dos lipídios da farinha. Observa-se que a fração de lipídios neutros corresponde a aproximadamente 60% dos lipídios totais, sendo os triglicerídios seus principais componentes. Na fração de lipídios polares (40%), o digalactosil diglicerídio é a principal classe presente na fração de glicolipídios e a fosfatidil colina e a acil fosfatidil etanolamina são os componentes presentes em maior concentração na fração de fosfolipídios (SCHUSTER & ADAMS, 1984). O fracionamento dos lipídios livres e ligados nas suas três frações - neutra, glico e fosfolipídica - é feito em coluna de ácido silícico, usando clorofórmio, acetona e metanol como eluentes (KATES, 1972; BEKES et alii, 1986 e ESTEVES et alii, 1987).

A distribuição destes lipídios na farinha está esquematizada na Figura 5. Observa-se que aproximadamente 0,8-1,0% do peso da farinha é lipídio livre e 0,6-1,0% é lipídio ligado. A composição destas frações é ligeiramente diferente. Enquanto 2/3 dos lipídios livres são frações de lipídios neutros, 2/3 dos lipídios ligados são polares, constituídos por uma mistura de glico e fosfolipídios. Os lipídios polares livres apresentam uma maior concentração de glicolipídios, enquanto os lipídios ligados são levemente mais ricos em fosfolipídios (POMERANZ, 1985a e CHUNG, 1986).

LIPÍDIOS TOTAIS DO GRÃO

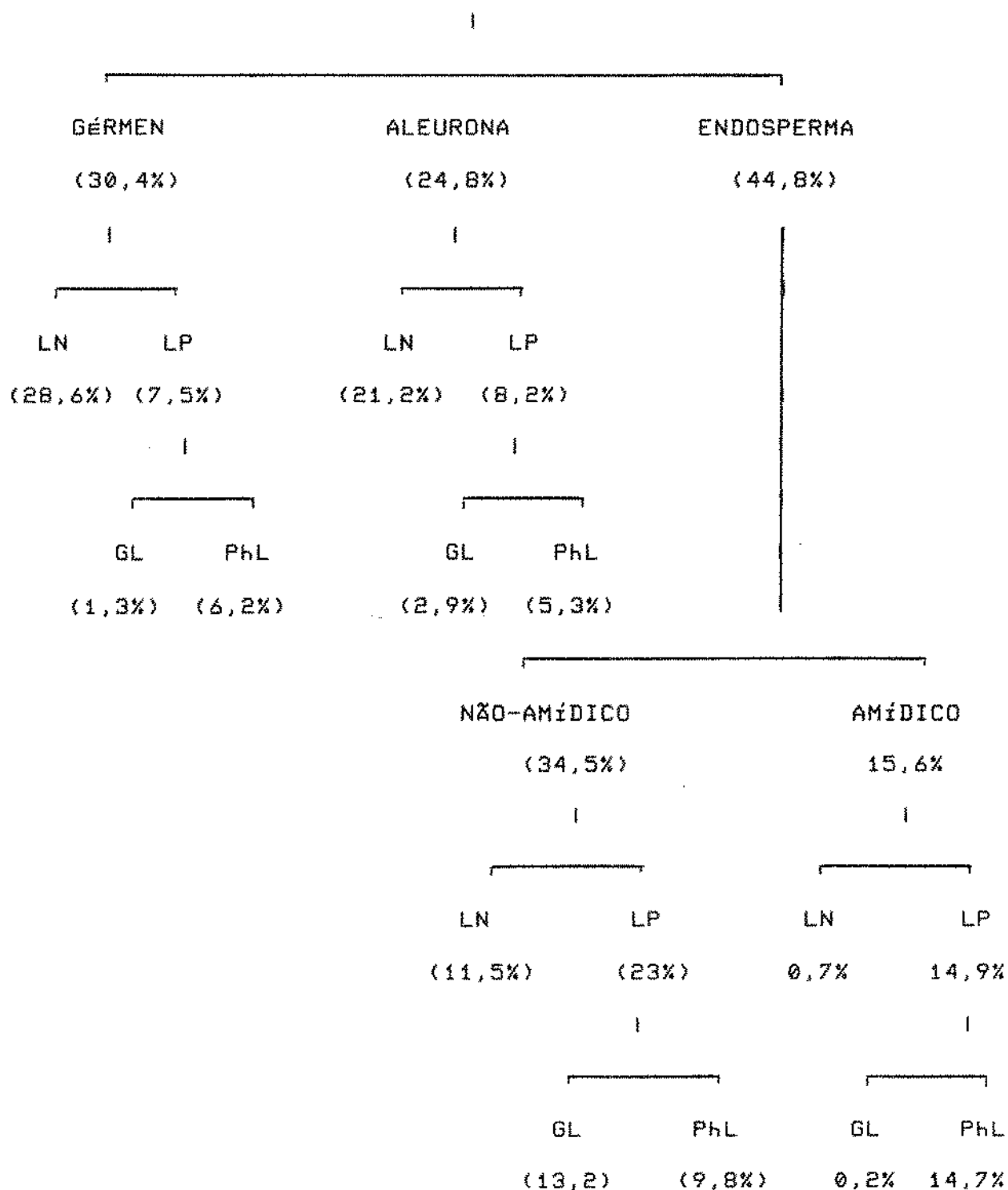


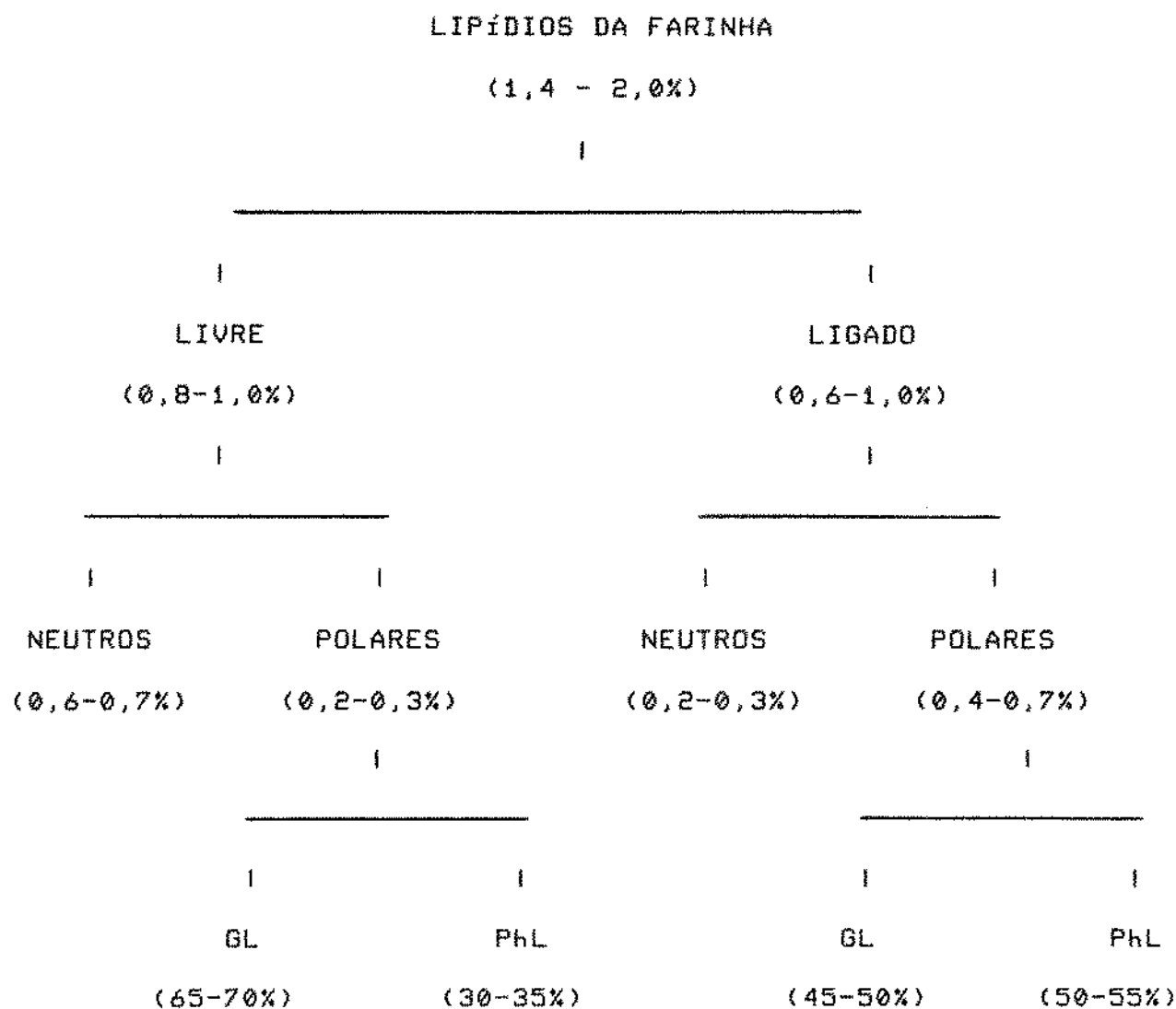
FIGURA 3 - Distribuição das frações de lipídios no grão.

(CHUNG & POMERANZ, 1981)

LIPÍDIOS DA FARINHA

LIPÍDIOS NEUTROS (59 - 63%)			LIPÍDIOS POLARES (36 - 42%)		
			GLICOLIPÍDIOS (22 - 26%)	FOSFOLIPÍDIOS (14 - 16%)	
%			%		%
SE -	1,9- 4,2		MGDG -	5,0- 5,9	NAPEA - 4,2-4,9
TG -	39,5-49,4		MGMG -	0,9- 1,4	NALPEA - 1,6-2,3
DG -	3,3- 5,4		DGDG -	12,6-16,5	PEA+PG - 0,7-1,1
MG -	2,7- 3,9		DGMG -	0,6- 3,4	PC - 3,8-4,9
FFA -	3,2- 6,5				PI+PS - 0,4-0,7
					LPEA - 0,3-0,5
					LPG - 0,2-0,3
					LPC - 1,4-2,1

FIGURA 4 - Distribuição das classes de lipídios nas frações de lipídios neutros e polares da farinha.
(SCHUSTER & ADAMS, 1984)



ZAWISTOWSKA et alii (1984) observaram que a relação lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres e ligados da farinha está relacionada às variedades de trigo. O fracionamento dos lipídios livres e ligados de cinco variedades de farinha revelou que estas frações são constituídas de aproximadamente 80-88% de lipídios neutros, 13-8% de glicolipídios e 7-4% de fosfolipídios, para a fração de lipídios livres; enquanto para a fração ligada a variação está em torno de 46% para os lipídios neutros, 34% para os glicolipídios e 19% para os fosfolipídios.

LIN et alii (1974) também verificaram que a distribuição de lipídios neutros, glico e fosfolipídios estava relacionada à variedade de trigo. MacMURRAY e MORRISON, citados por DANIELS et alii (1971), encontraram que 50,9% do total de lipídios são lipídios neutros, enquanto 26,4% e 22,7% são glico e fosfolipídios, respectivamente. CHUNG (1986) relatou que 65-70% dos lipídios polares presentes na fração livre são glicolipídios e 30-35% são fosfolipídios, concordando com os resultados apresentados por ZAWISTOWSKA et alii (1985). Para a fração de lipídios ligados da farinha, CHUNG (1986) encontrou a relação de 45-50% para os glicolipídios e 50-55% para os fosfolipídios, enquanto ZAWISTOWSKA et alii (1985) relataram 61% e 39% para os glico e fosfolipídios, respectivamente. Por outro lado, LIN et alii (1974) verificaram a concentração de glicolipídios na fração polar dos lipídios de duas variedades de trigo e encontraram valores entre 80-90%.

2 - FUNCIONALIDADE DOS LIPÍDIOS

FINNEY (1943) e FINNEY & BARMORE (1948) demonstraram que, apesar do conteúdo de proteína da farinha ser um dos principais responsáveis pela variação de volume do pão, os lipídios também influenciam esse parâmetro. Estes pesquisadores verificaram que o volume do pão diminuiu à medida que as proteínas e os lipídios foram reduzidos de seus valores naturais.

Na panificação, os efeitos da fração polar são positivos. Glicolipídios são complexos de carboidratos e lipídios que combinam a característica polar dos polióis com o comportamento lipofílico das longas cadeias alifáticas. Enquanto alguns glicolipídios mostram considerável solubilidade nos solventes orgânicos, formam também soluções aquosas. Do ponto de vista prático, os glicolipídios constituem a maior porção da fração polar essencial à produção de pães de boa qualidade. Quanto aos fosfolipídios, sabe-se que são ésteres de ácidos graxos que contêm uma molécula de ácido fosfórico associada a uma base aminada ou a uma molécula de inositol. Os fosfolipídios e monogalactosil diglicerídios são comparativamente aos glicolipídios melhoradores mais fracos. Digalactosil diglicerídio, principal glicolipídio da farinha, é efetivamente um excelente melhorador (MORRISON, 1976).

Por outro lado, os efeitos dos lipídios neutros na panificação são prejudiciais, sendo os ácidos graxos livres os principais responsáveis pela redução do volume do pão (POMERANZ, 1985a).

Segundo MORRISON (1978), os ácidos graxos livres compreendem aproximadamente 5% em farinhas novas, mas podem alcançar até 70% dos lipídios totais em farinhas extremamente velhas. A distribuição dos ácidos graxos nas classes de lipídios da farinha pode ser visualizada na Tabela I, onde se observa a presença marcante do ácido linoléico nas frações de lipídios neutros (39-74%) e polares (60-82%). Os ácidos graxos da posição 2 dos digalactosil diglicerídios são altamente insaturados, contendo 74% de ácido linoléico e 7% de ácido linolênico.

De maneira geral, os efeitos dos lipídios em panificação incluem a modificação da estrutura do glúten no estágio de mistura, a polimerização das proteínas através dos processos que envolvem a peroxidação dos lipídios, uma melhor retenção de gás pelo selamento das células, além da ação lubrificante e do retardamento no envelhecimento do pão (POMERANZ, 1985a). Entretanto, a funcionalidade destes constituintes está relacionada ao tipo e à concentração dos lipídios na farinha de trigo.

De acordo com CHUNG (1986), a hidratação da farinha altera a estrutura da proteína e é suficiente para promover a ligação dos lipídios, pois durante a mistura ocorre exposição e aproximação dos sítios de ligação. Ainda de acordo com este autor, a ligação dos lipídios está relacionada à atmosfera da

câmara e é proporcional à energia cedida à mistura. A reação do oxigênio atmosférico com os constituintes da farinha durante a mistura influenciam as propriedades reológicas e de panificação. Reações envolvendo os lipídios são responsáveis por grande parte do oxigênio consumido, e aproximadamente 2/3 dos lipídios da farinha tornam-se ligados na mistura. Esta ligação aumenta quando a concentração de oxigênio na câmara de mistura se torna reduzida e, em condições anaeróbicas, aumenta com a energia cedida à mistura. Massas desenvolvidas na presença de oxigênio, a níveis normais de energia, apresentam pouca ou nenhuma mudança na ligação dos lipídios. Entretanto, a altos níveis de mistura, lipídios ligados são irreversivelmente liberados (MORRISON, 1976).

BELL et alii (1977) concluíram que o melhoramento do volume do pão está relacionado à permanência de uma concentração adequada de lipídios livres na massa e a uma troca dinâmica entre lipídios livres e ligados. O estudo da liberação de gás carbônico de massas durante o cozimento mostrou que os lipídios livres aumentaram a retenção de gás no estágio inicial de rápida expansão, devido à formação de estruturas mais orientadas na massa. DANIELS et alii (1971) e MORRISON (1976) ressaltaram a importância de uma adequada disponibilidade de lipídios livres na massa para uma boa performance no cozimento.

LIPÍDIOS DA FARINHA	Ácido Oléico (%)	Ácido Linoléico (%)	Ácido Linolênico (%)
éster esteril	8-10	39-43	2-4
Triglicerídios	13-17	57-65	4-7
Mono e diglicerídios	10-16	57-66	3-6
Ácidos graxos livres	9-12	56-74	3-6
Monogalactosildiglicerídio	7-10	74-82	3-6
Digalactosildiglicerídio	5-8	69-74	4-7
fosfolipídios	5-15	60-65	1-4

TABELA 1 - Distribuição dos ácidos graxos insaturados nas
classes de lipídios da farinha.
(MORRISON, 1978)

Segundo MORRISON (1976) e posteriormente CHUNG et alii (1978), em farinhas de trigo desengorduradas a adição de lipídios neutros é prejudicial, enquanto que a de lipídios polares melhora efetivamente a qualidade de panificação. Misturas de lipídios neutros e polares têm um efeito melhorador intermediário, e quando a concentração de lipídios neutros é muito maior, o volume do pão é igualmente reduzido. O efeito negativo está relacionado principalmente à concentração de ácido linoléico.

Os lipídios livres na massa, que apresentam aproximadamente 65-75% de lipídios neutros e 25-35% de glico e fosfolipídios, aumentam significativamente o volume do pão, sendo que a fração rica em galactosilglicerídio parece ser a mais efetiva. Por outro lado, a fração de lipídios ligados apresenta aproximadamente 30% de lipídios neutros e 70% de glico e fosfolipídios (BELL et alii, 1977 e CHUNG, 1986).

CHUNG, (1986); MacRITCHIE (1977) e CHUNG et alii (1978) classificaram os lipídios da farinha de acordo com a sua funcionalidade e observaram que glico e fosfolipídios aumentam o volume do pão e se ligam principalmente às frações de amido e proteína, enquanto lipídios neutros como os triglicerídios podem ser efetivos, em concentrações mínimas, quando na presença de outros lipídios nativos, e se encontram distribuídos principalmente na fração de proteína solúvel em solução de ácido acético. Por outro lado, lipídios de polaridade intermediária (monogalactosil, monogalactosil diglicerídio e ácidos graxos livres) diminuem o volume do pão e se encontram distribuídos em todas as frações da massa.

Os lipídios livres e ligados da farinha representam uma importante fonte de lipídios polinsaturados. DANIELS et alii (1968) apresentaram a composição em ácidos graxos das frações de lipídios livres e ligados da farinha e verificaram que 44% dos lipídios totais contêm aproximadamente 65% de ácido linoléico, enquanto a fração de lipídios ligados apresenta 68,5%. Estudos realizados por esses pesquisadores mostraram que o ácido linoléico está envolvido, em presença de oxigênio, na ligação dos lipídios, principalmente na fração livre e durante a mistura no desenvolvimento mecânico de massas. Isto confirma a importância da presença do oxigênio nas reações de oxidação dos lipídios durante a mistura.

A importância da presença de lipídios livres na massa é provavelmente devida às modificações dos sítios de ligação no desenvolvimento da matriz do glúten, uma vez que esta hipótese justifica a adição de "shortening" às massas. De acordo com DANIELS et alii (1971), o "shortening" previne ligações adicionais dos lipídios naturais, inclusive de glicolipídios, que se tornam livres para formar complexos com a proteína e o amido, melhorando desta forma a retenção de gás e o volume do pão.

ESKIN et alii (1977) afirmaram que a liberação dos lipídios livres é acompanhada pela oxidação do glúten, que é importante para produzir as propriedades reológicas desejáveis na massa. TSEN & HLYNKA (1962) e TSEN & HLYNKA (1963) propuseram que o oxigênio atmosférico, hidroperóxidos e peróxidos são todos capazes de oxidar os grupos tióis do glúten.

CHUNG (1986) esquematizou (Figura 6) como os componentes da farinha estão envolvidos na formação do glúten. Observa-se que a fração protéica representa 79% do glúten, a lipídica 9,5% - cerca de 50% de lipídios neutros e 50% de mistura de glico e fosfolipídios - e a amídica e outras 12%.

PONTE et alii (1967) encontraram que a maioria dos lipídios do glúten está associada à gliadina extraída com solução etanólica 70%. HOSENEY et alii (1970) relataram que a glutenina, obtida por precipitação isoelétrica com solução etanólica 70%, contém menos lipídios que aquela obtida por centrifugação. CHUNG et alii (1978) encontraram que a gliadina contém 9,1% de lipídios totais, enquanto a glutenina apresenta 6,7% de lipídios totais. Mais recentemente, CHUNG (1986), utilizando dois métodos para o fracionamento do glúten, encontrou que a gliadina separada da glutenina através de solução etanólica apresenta 4,3% de lipídios livres e 3,9% de lipídios ligados, enquanto que a glutenina apresenta valores de 1,4% de lipídios livres e 3,0% de lipídios ligados. Por outro lado, quando o fracionamento foi realizado por precipitação em meio ácido, a gliadina e a glutenina apresentaram um total de lipídios igual a 1,5% e 20%, respectivamente.

ZAWISTOWSKA et alii (1985) relataram que a concentração de lipídios na glutenina e na gliadina é altamente variável e de acordo com BÉKÉS et alii (1983a) e BÉKÉS et alii (1983b) a associação dos lipídios com a gliadina e a glutenina depende das condições usadas para isolar estas proteínas. Recentes resultados apresentados por estes últimos pesquisadores mostram que os lipídios do glúten estão igualmente divididos entre a gliadina e a glutenina.

ZAWISTOWSKA et alii (1985) relataram que no glúten de uma farinha com fração de lipídios livres correspondente a 82% de lipídios neutros, 11% de glicolipídios e 6% de fosfolipídios, os valores encontrados foram de 90, 9 e 1%, respectivamente. A composição dos lipídios ligados encontrada por estes autores foi de 43% de lipídios neutros, 35% de glicolipídios e 22% de fosfolipídios. Por sua vez, a fração de lipídios ligados do glúten apresentou 40% de lipídios neutros, 34 e 25% de glico e fosfolipídios, respectivamente.

De acordo com ZAWISTOWSKA et alii (1984) a fração de lipídios totais da gliadina contém 22-30% de lipídios neutros, 48-73% de glicolipídios e 25-34% de fosfolipídios. Para a fração de lipídios totais da glutenina os valores encontrados são de 14-24% de lipídios neutros; 4-13% de glicolipídios e 15-27% de fosfolipídios, sugerindo portanto que os glicolipídios se ligam principalmente à gliadina e que a fração de glutenina apresenta uma ligação preferencial pelos lipídios neutros e fosfolipídios.

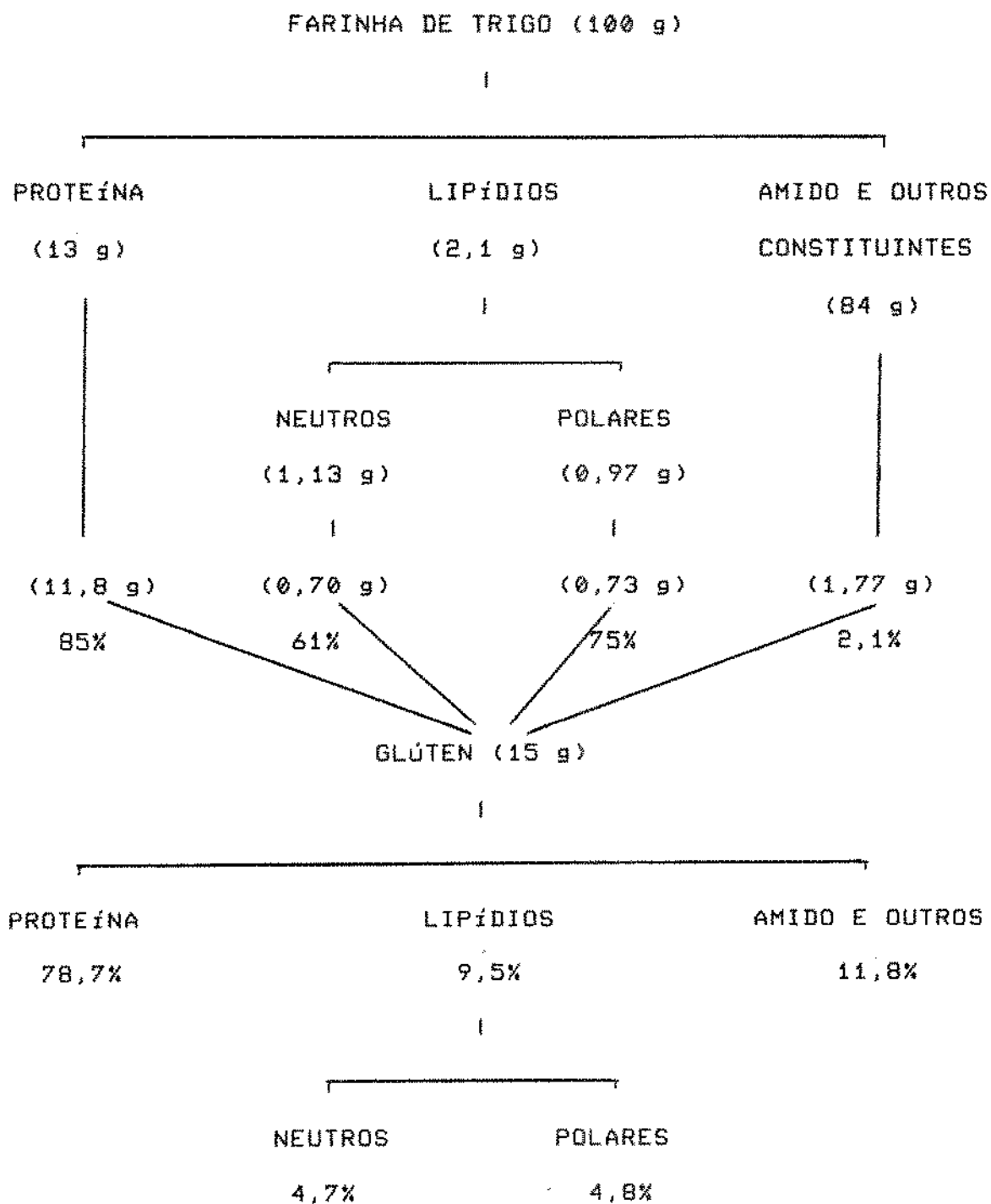


FIGURA 6 - Envolvimento dos componentes da farinha na formação do glúten.

(CHUNG, 1986)

Posteriormente, estes mesmos autores encontraram que na fração de gliadina a relação de lipídios neutros, glico e fosfolipídios é de 50,26%, 7% e 39%, respectivamente, enquanto na fração de glutenina a relação é de 41,91%, 48,51% e 9,56%. Tais pesquisadores afirmam que esta variação se deve não só às diferentes variedades de trigo como também à técnica de fracionamento usada para a separação das proteínas.

3 - MODELOS PROPOSTOS PARA AS INTERAÇÕES DOS LIPÍDIOS NA MASSA

A Figura 7 apresenta os modelos propostos para as interações dos lipídios com proteínas e amido na massa (CHUNG, 1986). O modelo proposto por HESS & MAHL (1954) foi deduzido com base em microscopia eletrônica, raio X e medidas óticas e considera que a proteína aderente está ligada ao amido por uma camada de fosfolipídio (8a). O modelo 8b proposto por GROSSKREUTZ (1961), foi baseado no estudo estrutural do glúten por microscopia eletrônica e técnicas de raio X. Dos estudos feitos em raio X, GROSSKREUTZ (1961) deduziu que os fosfolipídios formam folículos bimoleculares bem orientados no glúten; que esta camada lipoprotéica ocupa 2-5% da estrutura do glúten elástico e que as cadeias de proteína estão ligadas às laterais exteriores dos fosfolipídios, ordenadamente, através de ligações iônicas entre grupos acídicos dos fosfolipídios e grupos básicos da proteína. HOSENEY et alii (1970) estabeleceram um modelo para o complexo

gliadina-glicolipídio-glutenina. No glúten não-fracionado, lipídios polares livres - principalmente glicolipídios - estão ligados hidrofílicamente às gliadinas e hidrofobicamente às gluteninas. Observaram também que a ligação simultânea dos glicolipídios livres à gliadina e à glutenina contribui para a maior habilidade de retenção de gás na massa (8c). WEHRLI (1969) propôs um modelo para o complexo glúten-glicolipídio-amido e WEHRLI & POMERANZ (1970a) investigaram as interações entre glicolipídio e amido natural, amido gelatinizado, gliadina e glutenina. Análises conduzidas por espectroscopia infravermelho revelam pontes de hidrogênio entre glicolipídio e amido gelatinizado, ou componentes do glúten e interações de VAN DER WAALS entre glicolipídio e componentes do glúten (8d). O espectro de ressonância nuclear magnética mostrou que a glutenina se liga hidrofobicamente ao glicolipídio. A auto-radiografia das massas e do pão revelou que o glicolipídio está distribuído no glúten e em extensão limitada no amido. No pão, grande parte do glicolipídio está ligada aos grânulos de amido gelatinizados, formando um complexo que parece ser o responsável pelo melhoramento da retenção do frescor do pão (WEHRLI & POMERANZ, 1970b).

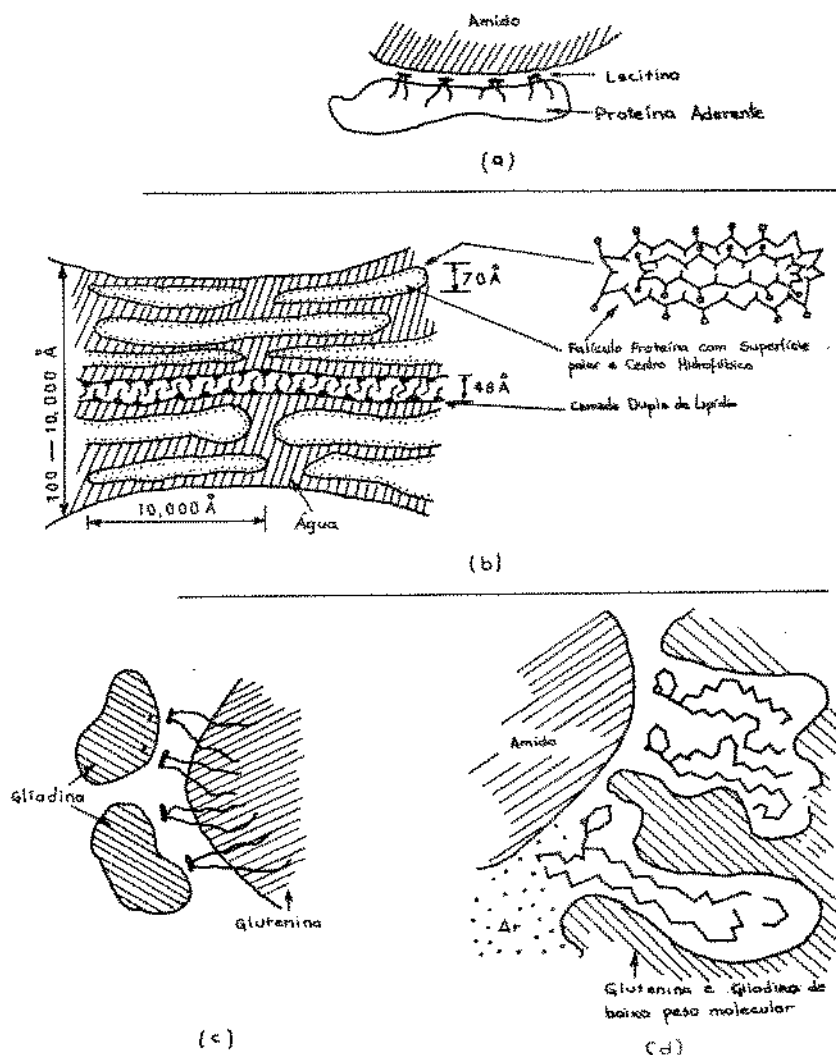


FIGURA 7 - Modelos propostos para as interações dos lipídios na massa.

(CHUNG, 1986)

a) proposto por HESS & MAHL (1954)

b) proposto por GROSSKREUTZ (1961)

c) proposto por HOSENEY et alii (1970)

d) proposto por WEHRLI & POMERANZ (1970a)

4 - LIPOXIGENASE EM PANIFICAÇÃO

A lipoxigenase é uma dioxigenase amplamente distribuída entre os vegetais que catalisa a hidroperoxidação dos ácidos graxos livres que apresentam o sistema cis-cis 1,4 pentadieno com o grupo metileno intermediário na posição w6. Por incorporação do oxigênio molecular, o principal produto formado é hidroperóxido na posição C9 ou C13, dependendo da origem da enzima ou do pH da reação. Os ácidos linoléico e linolênico, bem como seus glicerídios e ésteres metílicos, são seus principais substratos (MORRISON, 1976 e NICOLAS, 1979). A lipoxigenase é uma globulina com peso molecular em torno de 100.000 e existe em formas múltiplas, ou isoenzimas, e muito pouco é conhecido sobre suas propriedades físicas. Com relação ao pH e à temperatura de atividade ótima, observa-se que para a maioria das isoenzimas, o pH está entre 6,0 e 7,0. Apenas a lipoxigenase-1 da soja apresenta pH ótimo igual ou superior a 9,0; a temperatura de 30°C é considerada ótima para a enzima presente na soja (ESKIN et alii, 1977).

O estudo da lipoxigenase em panificação teve início por volta de 1928; HASS & BOHN, citados por AXELROLD (1974), relataram que a inclusão de pequenas quantidades de farinha de soja na massa produz o branqueamento da mesma e este efeito é atribuído à oxidação dos pigmentos carotenóides presentes na farinha.

Atualmente, sabe-se que a presença de lipoxigenase durante a mistura da massa promove, além da oxidação dos

pigmentos carotenóides, a oxidação dos ácidos graxos polinsaturados, o aumento da concentração de lipídios livres e a modificação das propriedades reológicas da massa, tal como o aumento do tempo de tolerância à mistura, o que resulta em um aumento do volume do pão (FRAZIER et alii, 1973; ESKIN et alii, 1977; HOSENEY et alii, 1980; FAUBION & HOSENEY, 1981 e GARDNER, 1988).

Entretanto, tais efeitos são observados principalmente quando na presença da enzima. A lipoxigenase deve estar presente em concentração de 0,5% (KIEFFER & GROSCH, 1980; NICOLAS & DRAPRON, 1982; DIAZ & ARAÚJO, 1987) ou em concentrações de 5 ULPX por grama de farinha (FRAZIER et alii, 1974) ou ainda 4-10 ULPX por grama de farinha (FRAZIER et alii, 1973), proveniente de fontes como a farinha de soja desengordurada e em massas desenvolvidas pelos modernos processos de panificação (RACKIS, 1977 e NICOLAS & DRAPRON, 1982).

FRAZIER et alii (1973) observaram que, quando a lipoxigenase ativa de soja é adicionada à massa e esta é desenvolvida na presença de oxigênio, a distribuição dos lipídios é alterada e a proporção de lipídios livres aumenta significativamente com o aumento da energia cedida à mistura. O aumento no tempo de relaxação da massa está relacionado com a melhora oxidativa e é acompanhado pelo aumento da concentração de lipídios livres na massa. FRAZIER et alii (1973) e FRAZIER et alii (1977) concluíram que a lipoxigenase ativa de soja exerce considerável efeito sobre as propriedades reológicas de massas desenvolvidas mecanicamente e que a magnitude deste efeito é

dependente do nível de energia cedido à mistura, e da atmosfera da câmara.

Considerando que a ação da lipoxigenase é dependente da energia cedida à mistura, isto provavelmente explica porque DAHLE & SULLIVAN (1963) observaram apenas um efeito mínimo sobre as características reológicas das massas. A mistura pelo processo convencional não é suficiente para promover o contato efetivo entre os substratos secundários e os intermediários da oxidação dos lipídios, que propicia a co-oxidação em extensão apreciável.

Segundo ESKIN et alii (1977), a liberação dos lipídios livres, através da reação mediada pela lipoxigenase, é acompanhada pela oxidação do glúten, é importante para produzir as propriedades reológicas desejáveis na massa. KOCH, citado por FRAZIER (1979), sugeriu que a oxidação da proteína envolve intermediários oxidativos, produzidos por ação enzimática, exceto os hidroperóxidos. TSEN & HLYNKA (1962) e TSEN & HLYNKA (1963) propuseram que o oxigênio atmosférico, hidroperóxidos e peróxidos são todos capazes de oxidar os grupos sulfidrila do glúten. DANIELS et alii (1970) não observaram efeito dos peróxidos na oxidação da proteína e então reforçaram o conceito de intermediários oxidativos. FRAZIER et alii (1973) não observaram melhora nas propriedades reológicas de massas tratadas com lipídios peroxidados e atribuíram este comportamento a possíveis diferenças entre a reatividade dos produtos oxidados via auto-oxidação e aqueles formados por oxidação enzimática. A estrutura exata destes intermediários ainda não está elucidada, provavelmente devido à sua natureza transitória.

De acordo com DANIELS et alii (1968), a constituição química dos lipídios do trigo, ricos em ácidos graxos polinsaturados, sugere que tais constituintes estão envolvidos no melhoramento oxidativo da massa na presença de oxigênio.

MORRISON & PANPAPRAI (1975) afirmaram que a lipoxigenase oxida os ácidos linoléico e linolênico, encontrados como ácidos graxos livres ou glicerídios parciais em massas desenvolvidas na presença de oxigênio. Como efeito principal tem-se o fenômeno da co-oxidação, que, além de provocar o branqueamento da farinha, oxida a proteína da massa e diminui a ligação dos lipídios. Entretanto, alguma dúvida existe sobre a suposta oxidação dos grupos tióis das proteínas pelos hidroperóxidos. A evidência do aumento da oxidação dos lipídios na presença da lipoxigenase se dá pelo maior consumo de oxigênio e peroxidação dos lipídios; os hidroperóxidos obtidos a partir de triglicerídios, diglicerídios e monoglicerídios foram detectados em maior quantidade.

MANN & MORRISON (1974) analisaram os lipídios neutros, glicolipídios e fosfolipídios da farinha e da massa, preparada em condições aeróbicas e anaeróbicas, e verificaram uma significativa redução na concentração dos ácidos linoléico e linolênico dos ácidos graxos livres e monoglicerídios em massas desenvolvidas em atmosfera de oxigênio, como também adicional perda durante o descanso, ambas atribuídas à ação da lipoxigenase. Em condições anaeróbicas, a composição dos ácidos linoléico e linolênico não foi alterada.

MANN & MORRISON (1975) e MORRISON (1976) observaram que a maior parte do oxigênio adsorvido durante a mistura da massa é consumida na oxidação do linoleato e linolenato, como ácidos graxos livres ou monoglicerídios. A oxidação do ácido linoléico aumenta a concentração de hidroperóxidos que são prontamente convertidos a outros ácidos oxigenados por reações que incluem redução enzimática e isomerização. A extensão da oxidação e a proporção dos produtos são afetadas pelos ingredientes e pela mistura da massa.

MORRISON (1976) afirmou que grande parte destes produtos não apresenta efeitos na massa, mas possui grupos polares que podem participar de alguma interação, comportando-se então como lipídios polares.

FRAZIER et alii (1977), através da extração dos lipídios e experimentos de reconstituição, mostraram que os efeitos reológicos provenientes da ação da lipoxigenase estão relacionados com o melhoramento oxidativo das proteínas da massa apenas quando na presença de ácidos graxos polinsaturados livres.

DANIELS et alii (1971) confirmaram que em massas desenvolvidas na presença de oxigênio e particularmente contendo farinha de soja desengordurada, como fonte de lipoxigenase ativa, os lipídios polinsaturados estão envolvidos num sítio de co-oxidação que libera lipídios livres, que se tornam disponíveis para atuar positivamente no descanso e no cozimento destas massas.

Estes pesquisadores admitem que os produtos intermediários da oxidação dos ácidos graxos polinsaturados são capazes de penetrar nos sítios hidrofóbicos de fixação dos lipídios nas proteínas do glúten e oxidar os grupos sulfridilas. Esta reação provoca uma modificação na distribuição das cargas na superfície da proteína, conduzindo à inversão da micela lipoprotéica, deixando então disponíveis sítios hidrofílicos (Figura 8).

FRAZIER et alii (1973) e FRAZIER et alii (1977) observaram que a co-oxidação do glúten ocorre na presença de lipídios livres polinsaturados, oxigênio e lipoxigenase, simultaneamente. Verificaram também que a liberação dos lipídios é significativa na presença de farinha de soja desengordurada, contendo lipoxigenase ativa, ou lipoxigenase purificada, e que a ação enzimática conduz a modificações das propriedades reológicas das massas.

BELL et alii (1977) confirmaram a importância dos lipídios livres na massa e verificaram que reações oxidativas envolvendo a lipoxigenase nos sítios de ligação das proteínas influenciam a quantidade de lipídios livres na massa e que existe uma troca dinâmica entre as frações de lipídios livres e ligados durante a mistura.

KOCH, citado por FRAZIER (1979) mostrou que a ação da lipoxigenase produz mudanças físicas na massa, observadas através do aumento de tolerância à mistura. Embora a presença dos lipídios seja essencial, os hidroperóxidos podem não ser os responsáveis por essa mudança física. KOCH, citado por FRAZIER (1979), sugeriu que algum composto intermediário, formado durante a oxidação, reage com algum constituinte da proteína.

SMITH & ANDREWS (1957) e SMITH et alii (1957) avaliaram o consumo de oxigênio na oxidação das proteínas da massa e concluíram que esta pode ocorrer através da co-oxidação dos lipídios da massa pela lipoxigenase e que esta reação leva a mudanças nas propriedades de mistura.

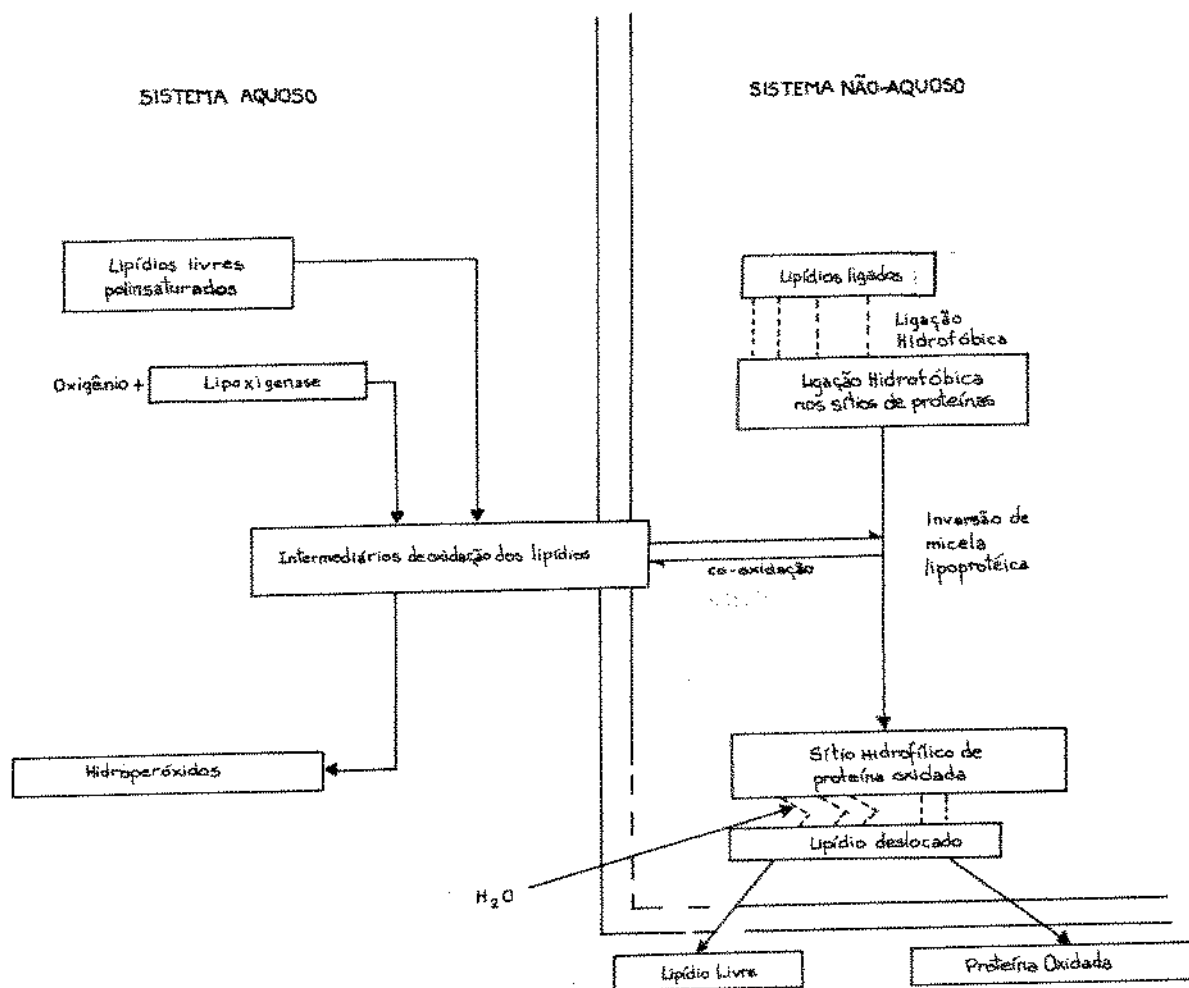


FIGURA 8 - Modelo proposto para explicar a liberação de lipídios na massa durante a mistura, na presença de lipoxigenase ativa de soja e oxigênio.
(DANIELS et alii, 1970)

III. MATERIAL E MÉTODOS

A - MATERIAL

1 - Matéria-prima

Nesta pesquisa foi utilizada farinha de trigo nacional do tipo comum, obtida em moinho comercial de Campinas - SP.

Como fonte de lipoxigenase, foi utilizada farinha de soja desengordurada. Os grãos de soja, obtidos no Instituto Agrônomo de Campinas, foram previamente limpos, sendo a seguir quebrados em moinho de disco para separação das cascas e finalmente moídos no moinho de rolos Quadramatic Senior Brabender. A farinha obtida, apresentando uma granulometria menor que 150 micras, foi desengordurada por imersão em solvente orgânico - hexano. Após a separação do solvente, por filtração a vácuo, foi realizada a secagem à temperatura ambiente (CHUNG et alii, 1978). A farinha desengordurada de soja obtida foi acondicionada em frascos fechados e mantida à temperatura de refrigeração.

A determinação da atividade de lipoxigenase na farinha de soja desengordurada foi feita de acordo com o método de SURREY (1964) e expressa em unidades de lipoxigenase (ULPX) por miligrama de farinha, sendo igual a 6,80 ULPX/mg.

2. Aparelhos e Equipamentos

No presente estudo, além dos aparelhos e equipamentos comumente encontrados em laboratório, foram ainda utilizados:

- . agitador eletrônico IKA, modelo VIBRAX - VXR
- . agitador magnético Marconi, modelo TE 085
- . Balança analítica Bosch, modelo S 2000
- . Balança semi-analítica Mettler, modelo P 1200
- . Bomba a vácuo, VacUUBrande, modelo RD-4
- . Centrífuga super speed, Sorvall RC2B
- . Cromatógrafo Perkin-Elmer, modelo Sigma 3B
- . Destilador de Proteínas Tecnal, modelo TE-036
- . Digestor de proteínas
- . Espectrofotômetro Incibrás, modelo DF 200
- . Estufa com circulação de ar Fanen, modelo 320-SE
- . Extensógrafo Brabender, modelo 860000
- . Extrator de gordura Soxhlet
- . Farinógrafo Brabender, modelo 810101
- . Liofilizador Virtis, modelo 10-146 NRE
- . Misturador Do-Corder Brabender, modelo 811202
- . Moinho de disco, modelo 1
- . Moinho Quadramatic Senior Brabender
- . Mufla Forlabo
- . Planímetro Maho
- . Potenciômetro Metrohm Herisan, modelo E 5/2
- . Rotavapor Buchi, modelo R-120

B - MÉTODOS

1 - Caracterização da farinha de trigo

1.1 - Testes químicos

1.1.1 - Umidade

O método 44-15a (AACC, 1969) foi utilizado para determinação da umidade.

1.1.2 - Proteína

Foi determinada segundo o método 46-11 (AACC, 1969).

1.1.3 - Cinzas

O teor de cinzas foi determinado de acordo com o método 08-01 (AACC, 1969)

1.1.4 - Carboidratos

Determinados por diferença.

1.1.5 - Lipídios

Os lipídios livres da farinha foram extraídos em um extrator "Soxhlet" com hexano, durante 20 horas. O hexano foi, a seguir, eliminado em evaporador rotativo, e os lipídios livres determinados por gravimetria. Após a extração dos lipídios livres, o resíduo sólido foi utilizado para extração dos lipídios ligados. Esta extração foi feita com butanol saturado com água, segundo FISHER et alii (1973); MANN & MORRISON (1974); CHUNG & POMERANZ (1981); ZAWISTOWSKA et alii (1985) e CHUNG (1986).

2 - Testes Reológicos

2.1 - Farinógrafo Brabender

As características farinográficas foram determinadas segundo o método 54-21 (AACC, 1969).

Os parâmetros farinográficos determinados foram:

1. Absorção de água, definida como a quantidade de água necessária para o centro da curva atingir a linha de 500 unidades farinográficas (UF).
2. Tempo de chegada, definido como o tempo em minutos necessário para que o topo da curva atinja a linha de 500 UF, após a adição de água.

3. Tempo de desenvolvimento, definido como o tempo em minutos desde o início da mistura até o desenvolvimento máximo da curva, imediatamente antes da primeira indicação de queda.
4. Estabilidade, definida como a diferença de tempo em minutos entre o ponto onde o topo da curva intercepta a linha de 500 UF e o ponto onde o topo da curva deixa a linha de 500 UF.
5. índice de tolerância, definido como a diferença em unidades farinográficas entre o valor no topo da curva no pico e o valor no topo da curva medido 5 minutos após o pico ser alcançado.

2.2 - Extensógrafo Brabender

As características extensográficas foram determinadas segundo o método 54-10 (AACC, 1969).

Os parâmetros extensográficos determinados foram:

1. Resistência à extensão (RE), definida como o valor da curva em unidades extensográficas obtido a 50 mm da origem.
2. Resistência máxima (RM), definida como o valor em unidades extensográficas obtido no ponto mais alto da curva.
3. Extensibilidade (E), definida como o comprimento da curva, do início ao fim, em milímetros.

4. Número proporcional (RE/E), definido como a razão entre a resistência à extensão e a extensibilidade.
5. Energia (A), definida como a área abaixo da curva em cm^2 .

Para as massas desenvolvidas a 150 rpm foi feita uma adaptação deste método. As massas, preparadas com farinha, água e 0,5% de farinha de soja desengordurada, foram desenvolvidas até atingir o ponto máximo de desenvolvimento, e porções de 150 g foram boleadas, cilindradas e colocadas na cabine para descansar, a uma temperatura de $30 \pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de 85-90%. Após os períodos de 45, 90, 135 minutos foram então obtidas as curvas no extensógrafo.

Em todos os testes reológicos, foram realizados ensaios com três repetições e de cada repetição foram obtidas três curvas.

3 - Preparo das massas com e sem lipoxigenase ativa de soja

Foi preparada uma série de massas com a finalidade de avaliar a distribuição das frações de lipídios livres e lipídios ligados nas massas. Foi também estudada a redistribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nestas frações, em função da presença de lipoxigenase ativa de soja, do tempo de descanso e da atmosfera de oxigênio e nitrogênio.

3.1 - Mistura

A formulação utilizada para a massa-padrão constou de farinha comum (100%), sacarose (5%) e fermento biológico (3%). Para obtenção da massa-padrão com lipoxigenase ativa de soja foi acrescido à formulação 0,5% de farinha de soja desengordurada com 6,80 ULPX/mg de farinha. A mistura das massas foi feita no Dö-Corder Brabender com peso constante de 700 g de massa.

Em ambos os casos, a quantidade de água usada para a obtenção das massas foi a equivalente à absorção necessária para que a farinha atingisse a consistência de 500 unidades farinográficas, acrescida dos 3%, conforme os processos de mistura rápida.

Inicialmente, o misturador foi ligado à rotação de 50 rpm. Foi então adicionada a água e através de um funil foram incorporados os ingredientes sólidos, em tempo inferior a 35 segundos.

Após o término da alimentação, o êmbolo de pressão foi colocado e travado. Foi feita uma pré-mistura de 30 segundos antes de se ajustar a velocidade final de 150 rpm. As massas, preparadas em triplicatas, foram então desenvolvidas até atingir o pico de desenvolvimento máximo.

Para as massas desenvolvidas em atmosfera de nitrogênio, utilizaram-se a mesma formulação e as mesmas condições de mistura. A água foi previamente fervida e deixada à temperatura ambiente até atingir a temperatura de 30°C, quando foi feito borbulhamento com nitrogênio durante 10 minutos.

Durante o período de alimentação do misturador, foi colocado nitrogênio na caixa de mistura durante 1 minuto. Em seguida, foi acoplado o êmbolo de vedação.

3.2 - Descanso das massas

Após a mistura, uma parte das massas foi congelada e liofilizada e a outra parte foi dividida, arredondada e deixada fermentar em cabine apropriada, a uma temperatura de 30°C e umidade relativa de 85-90%, por um período de 105 minutos. Imediatamente após esse período, as massas foram congeladas e liofilizadas. As amostras liofilizadas foram moídas finamente, homogeneizadas e armazenadas em recipientes herméticos, à temperatura ambiente, para avaliar a distribuição dos lipídios livres e ligados nas massas, como também a redistribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios, nestas frações.

4 - Separação e fracionamento do glúten das massas com e sem lipoxigenase ativa de soja

A separação do glúten da massa-padrão com e sem lipoxigenase ativa de soja foi realizada por lavagem manual da massa sobre uma peneira com solução salina contendo cloreto de sódio (2%), fosfato monobásico de potássio (0,046%) e fosfato dibásico de sódio (0,054%), até a obtenção de uma água de lavagem límpida. Estas massas foram então congeladas, liofilizadas, moídas e armazenadas à temperatura de aproximadamente 4°C (AACC, 38-11, 1969 e ZAWISTOWSKA et alii, 1985).

O fracionamento do glúten das massas-padrão com e sem lipoxigenase ativa de soja para separação da glutenina e da gliadina foi realizado de acordo com ORTH & BUSHUK (1973) e ZAWISTOWSKA et alii (1985). Uma amostra de vinte gramas de glúten liofilizado foi dissolvida em 3.400 ml de uma solução de AUC (0,1N de ácido acético; 3N de uréia; 0,01N de cetiltrimetilamôniobrometo) e deixada sob agitação magnética, por 16 horas. Em seguida, esta mistura foi centrifugada a 20.000 g por 30 minutos, a uma temperatura de aproximadamente 5°C.

O pH do sobrenadante foi ajustado para 6,4 com solução 1N de hidróxido de sódio e, em seguida, foi adicionado etanol numa quantidade suficiente para se obter uma solução alcoólica a 70%. Esta solução foi armazenada a uma temperatura de 2°C por aproximadamente 48 horas.

A fração de glutenina precipitada foi separada por centrifugação a 20.000 g por 10 minutos e temperatura em torno de

50°C. Em seguida, esta fração foi congelada e liofilizada.

A fração de gliadina, solúvel em solução alcoólica, foi separada do etanol em rotavapor, a uma temperatura de 50-60°C. Após eliminação do álcool o resíduo foi congelado e liofilizado.

5 - Extração e fracionamento dos lipídios

5.1 - Extração dos lipídios

Dois procedimentos de extração de lipídios foram usados neste estudo.

5.1.1 - Extração com hexano

Os lipídios da farinha, das massas, do glúten e suas frações foram primeiramente extraídos com hexano, durante 20 horas, em um extrator Soxhlet.

Após a extração, o solvente foi evaporado através do auxílio de um rotavapor, a uma temperatura de 50-60°C, e a fração de lipídios determinada por gravimetria. Os lipídios extraídos foram dissolvidos em éter de petróleo e armazenados a -18°C para usos posteriores. Essa fração de lipídios correspondeu à fração designada "lipídios livres" (FISHER et alii, 1973; MANN & MORRISON, 1974; CHUNG & POMERANZ, 1981; ZAWISTOWSKA et alii, 1985 e CHUNG, 1986).

5.1.2 - Extração com butanol saturado com água

Após a extração dos lipídios livres, os resíduos sólidos foram tratados com 300 ml de butanol saturado com água, durante 30 minutos, à temperatura ambiente e sob agitação contínua. Os resíduos sólidos foram removidos por filtração a vácuo e o solvente evaporado em rotavapor, a 50-60°C. As frações de lipídios assim recuperadas foram determinadas por gravimetria, sendo a seguir redissolvidas em éter de petróleo e armazenadas a -18°C para uso posterior. Essa fração de lipídios correspondeu à fração de "lipídios ligados". A soma das frações de "lipídios livres e ligados" correspondeu ao total de lipídios (FISHER et alii, 1973; MANN & MORRISON, 1974; CHUNG & POMERANZ, 1981; ZAWISTOWSKA et alii, 1985 e CHUNG, 1986).

5.2 - Separação das classes de lipídios livres e ligados

A partir dos extratos obtidos através da extração com hexano e com butanol saturado com água, os lipídios livres e ligados das amostras foram fracionados em coluna de sílica gel (Merck 70-230 mesh ASTM), com 25 mm de diâmetro e 25 cm de comprimento. Cada amostra de aproximadamente 200 mg foi colocada na coluna de sílica, preparada com 15 g de sílica dispersos em 50 ml de clorofórmio. A eluição das frações de lipídios neutros, glico e fosfolipídios foi realizada com clorofórmio (175 ml), acetona (700 ml) e metanol (175 ml), respectivamente. Após a evaporação dos solventes em rotavapor, à temperatura de 50-60°C,

os pesos das referidas frações foram determinados gravimetricamente (KATES, 1972).

5.3 - Determinação dos ácidos graxos nas frações de lipídios livres e ligados da farinha e da massa com e sem lipoxigenase ativa de soja

A saponificação das frações lipídicas, obtidas por extração com hexano e butanol saturado com água, da farinha e das massas com e sem lipoxigenase ativa de soja, foi feita segundo HARTMAN & LAGO (1973), bem como a posterior conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos.

A composição dos ácidos graxos foi determinada por cromatografia gasosa em um cromatógrafo marca Perkin-Elmer, modelo Sigma 3B, equipado com detector de ionização de chama. Foi empregada uma coluna empacotada com DEGS 15% em Cromosorb W. A identificação dos ácidos graxos foi feita comparando-se os tempos de retenção da amostra com os tempos de retenção dos padrões (NU-CHEK-PREP, nc.). A quantificação foi feita por normalização interna e a composição percentual de cada ácido graxo foi obtida pela razão da área individual do pico e área total, multiplicando-se por 100 (ESTEVES et alii, 1987).

IV. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Caracterização da farinha de trigo

A farinha de trigo usada neste experimento foi caracterizada através de testes químicos e reológicos.

4.1.1 - Composição centesimal

A Tabela II apresenta os valores médios referentes a três repetições para a composição química da farinha de trigo comum.

Observa-se que os valores encontrados para os componentes da farinha corresponderam aos citados na literatura (PRATT, 1978 e RANUM et alii, 1980). O teor total dos lipídios livres e ligados também esteve dentro da faixa apresentada por FISHER et alii (1973); MANN & MORRISON (1974); CHUNG & POMERANZ (1981); ZAWISTOWSKA et alii (1985) e CHUNG (1986).

4.2 - Testes reológicos

4.2.1 - Características farinográficas

Os resultados obtidos na determinação das características farinográficas da farinha de trigo estão apresentados na Tabela III. Verifica-se que os valores encontrados para absorção de água, tempo de desenvolvimento e

TABELA II

Composição química da farinha de trigo.

Componentes	%
Umidade	10,87
Proteína (N x 5,7)	11,17
Cinzas	0,72
Carboidratos ¹	75,16
Lipídios livres	1,50
Lipídios ligados	0,52
Total de lipídios	2,02

¹Carboidratos determinados por diferença.

TABELA III

Características farinográficas da farinha de trigo
com e sem adição de lipoxigenase ativa de soja.

Parâmetros	1	2
Absorção de água (%)	59,7	61,8
Tempo de chegada (min.)	1,0	1,0
Tempo de desenvolvimento (min.)	6,5	7,5
Estabilidade (min.)	14,0	14,0
índice de tolerância (UF)	20,0	20,0

1. Farinha de trigo.

2. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja.

estabilidade foram de 59,7%, 6,5 e 14,0 minutos, indicando portanto que esta farinha pode ser usada na produção de pães (PRATT, 1978).

A adição de 0,5% de farinha de soja desengordurada como fonte de lipoxigenase ativa de soja provocou um aumento em torno de 2% na absorção de água e de 1 minuto no tempo de desenvolvimento da massa na mistura. A estabilidade e o índice de tolerância à mistura não foram alterados.

4.2.2 - Características extensográficas

Com relação às características extensográficas, observa-se na Tabela IV que os valores relativos à resistência à extensão, resistência máxima, extensibilidade e número proporcional (D) foram 280 UE, 430 UE, 174 mm e 1.6, respectivamente, após 135 minutos. Tais resultados indicaram, portanto, que a farinha de trigo em questão pode ser usada para fins de panificação (PRATT, 1978).

As Figuras 9 e 10 mostram o efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja na massa sobre o valor da resistência à extensão e da resistência máxima. A adição da enzima provocou aumentos nestes dois parâmetros para o tempo de descanso de 135 minutos.

Os valores da extensibilidade na massa (Figura 11) com lipoxigenase se mantiveram praticamente constantes nos tempos de 45, 90 e 135 minutos de descanso, enquanto que os da massa sem a enzima diminuíram com o aumento do tempo de descanso.

TABELA IV

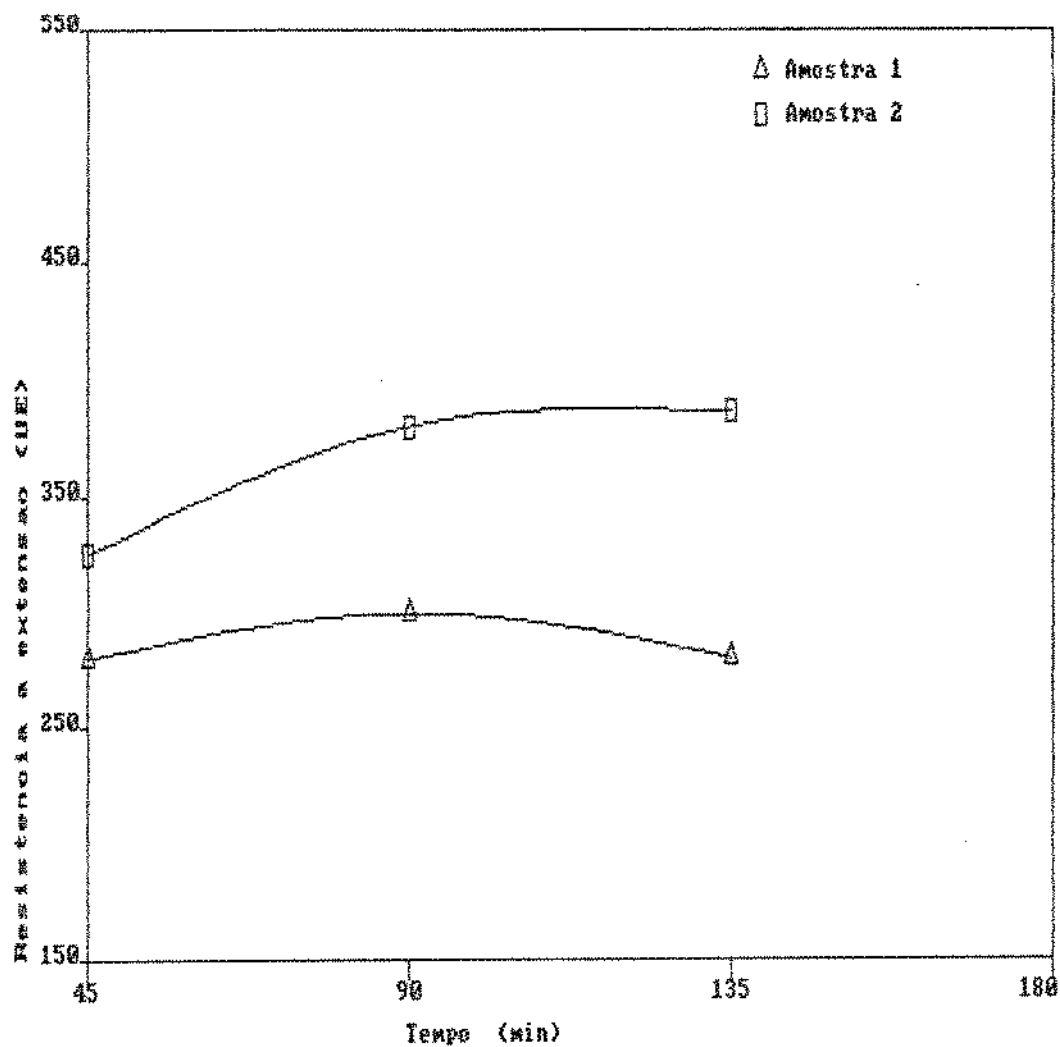
Características extensográficas* da farinha de trigo com e sem adição de lipoxigenase ativa de soja.

Parâmetros	Tempo do Teste (min)					
	45		90		135	
	1	2	1	2	1	2
Resistência à extensão (UE)	280	326	300	380	280	386
Resistência máxima (UE)	450	493	470	593	430	606
Extensibilidade (mm)	190	185	170	182	174	182
Número proporcional (D= RE/E)	1,5	1,8	1,8	2,1	1,6	2,1
Energia (cm ²)	115	118	104	139	100	135

1. Farinha de trigo.

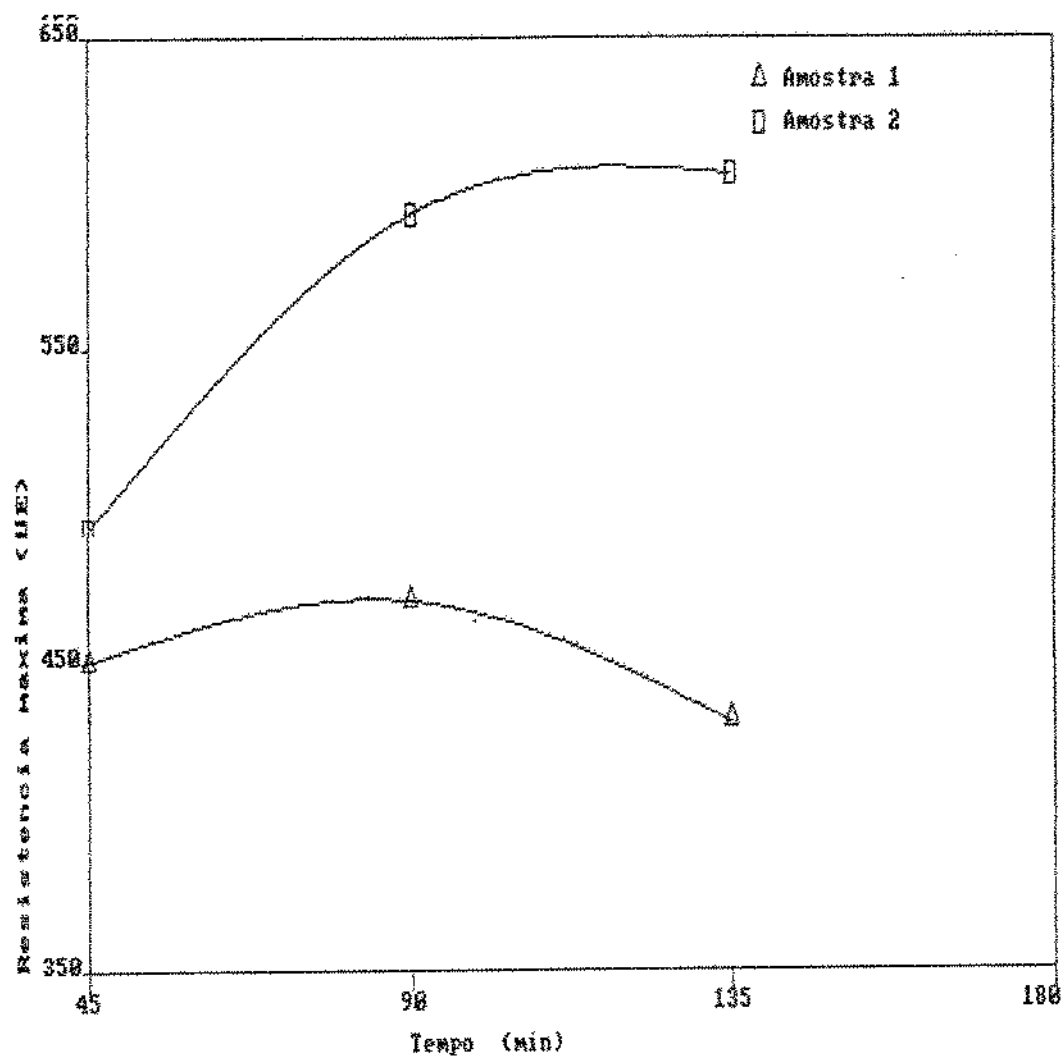
2. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja.

*Mistura no farinógrafo a 63 rpm.



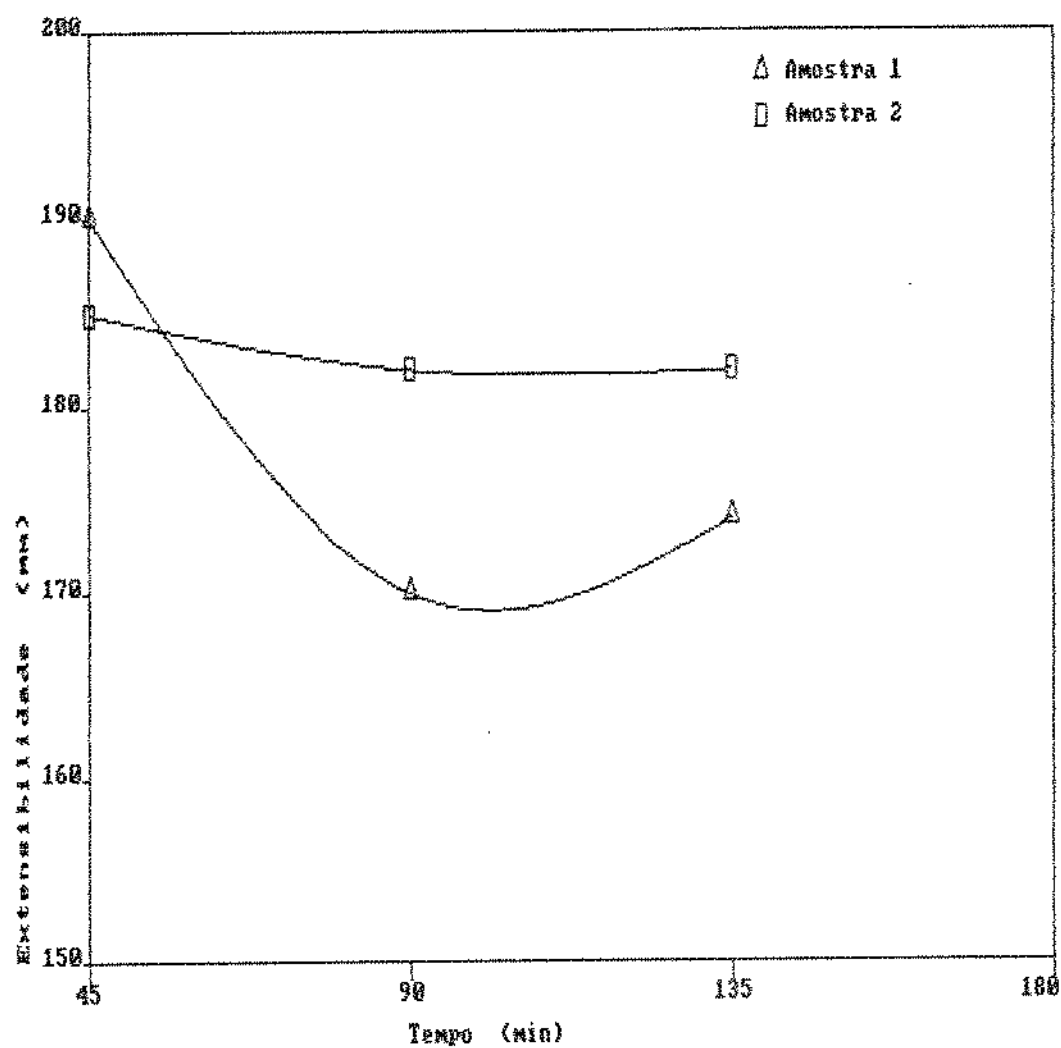
1. Farinha de trigo.
2. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja.

FIGURA 9 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a resistência à extensão, para massas misturadas a 63 rpm.



1. Farinha de trigo.
2. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja.

FIGURA 10 -Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a resistência máxima, para massas misturadas a 63 rpm.



1. Farinha de trigo.
2. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja.

FIGURA 11- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a extensibilidade, para massas misturadas a 63 rpm.

Os resultados obtidos mostraram que a adição de lipoxigenase ativa de soja alterou alguns parâmetros de mistura e elasticidade da massa, tornando-a mais próxima das características exigidas para a produção de pão de qualidade adequada.

4.2.3 - Características da curva e parâmetros extensográficos das massas obtidas no misturador Do-Corder (150 rpm)

A Tabela V apresenta as características das curvas obtidas para a massa-padrão com e sem lipoxigenase ativa de soja desenvolvidas a 150 rpm. Os resultados obtidos para as energias de pré-mistura, de mistura e energia total mostraram valores próximos para as massas com e sem a adição de enzima.

A Tabela VI mostra os valores para as curvas extensográficas das massas desenvolvidas a 150 rpm. A adição de lipoxigenase ativa de soja à massa provocou um pequeno aumento na resistência à extensão e na resistência máxima em todos os tempos de descanso, como pode ser visto nas Figuras 12 e 13.

A diminuição da extensibilidade das massas com o aumento do tempo de descanso foi mais marcante com a adição de lipoxigenase (Figura 14). Comparando-se as curvas extensográficas obtidas para a massa com adição de lipoxigenase, desenvolvida a 63 rpm, com aquelas obtidas com a massa com e sem a referida enzima e desenvolvidas a 150 rpm (Figura 15), observa-se que a presença da lipoxigenase na massa e o desenvolvimento a

TABELA V

Características das curvas obtidas no misturador Do-Corder* da farinha de trigo com e sem adição de lipoxigenase ativa de soja.

Parâmetros	1	2
Energia de pré-mistura (watt h)	26	27
Energia de mistura (watt h)	5915	5722
Energia Total (watt h)	5941	5749

1. farinha de trigo.

2. farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja.

* mistura no Do-Corder a 150 rpm.

TABELA VI

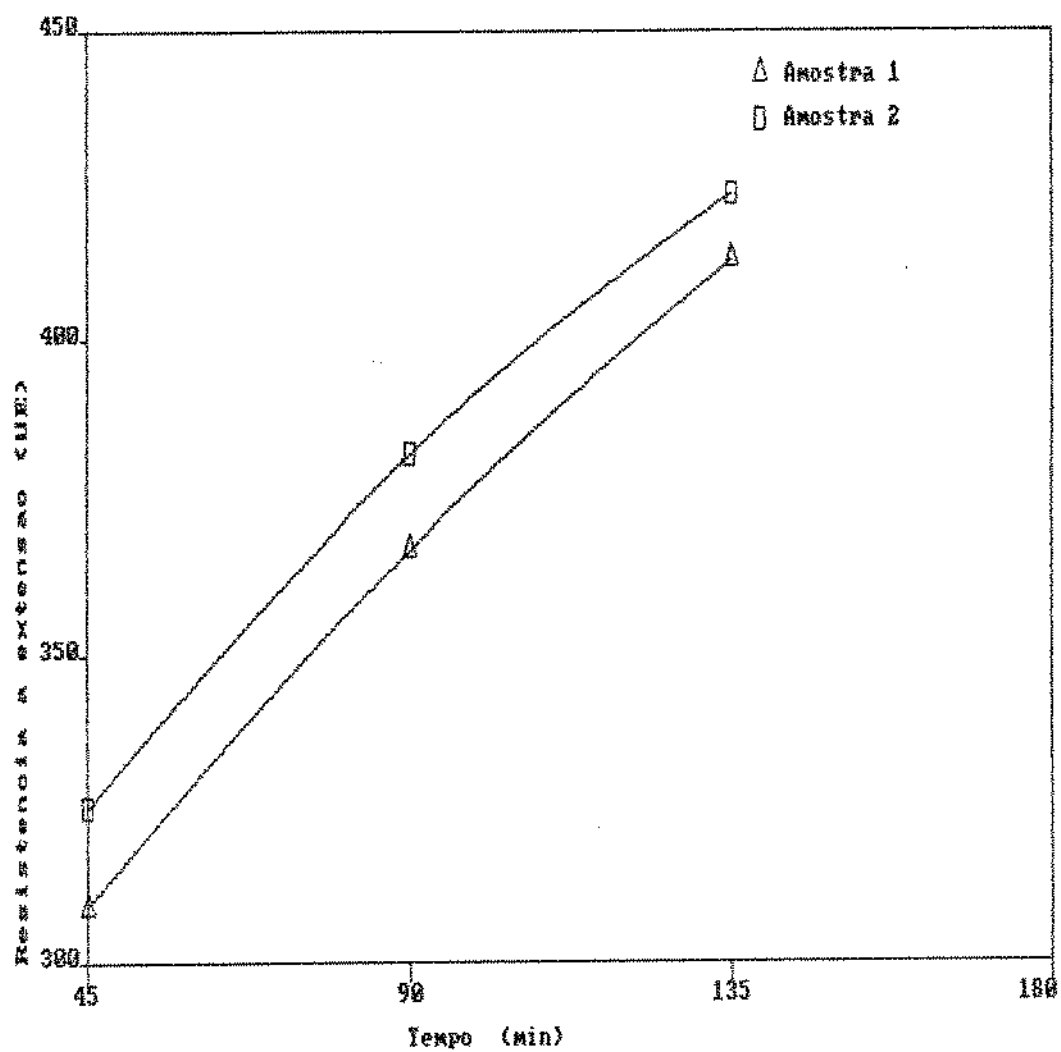
Características extensográficas* da farinha de trigo com e sem adição de lipoxigenase ativa de soja.

Parâmetros	Tempo do Teste (min)					
	45		90		135	
	1	2	1	2	1	2
Resistência à extensão (UE)	309	325	367	382	413	424
Resistência máxima (UE)	489	527	558	620	620	633
Extensibilidade (mm)	160	158	155	145	146	140
Número proporcional (D= RE/E)	1,9	2,0	2,4	2,6	2,8	3,0
Energia (cm ²)	97	108	111	108	122	108

1. Farinha de trigo.

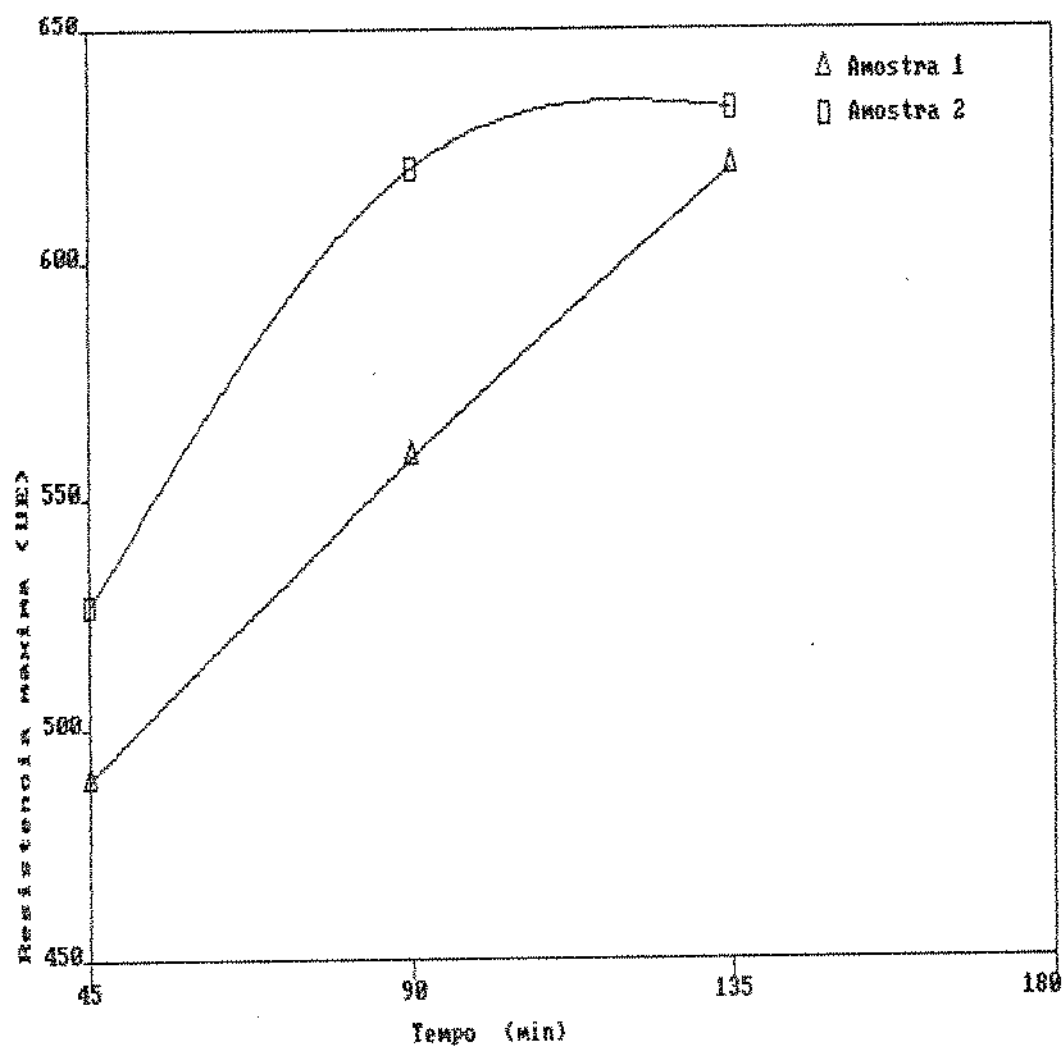
2. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja.

*Mistura no Do-Corder a 150 rpm.



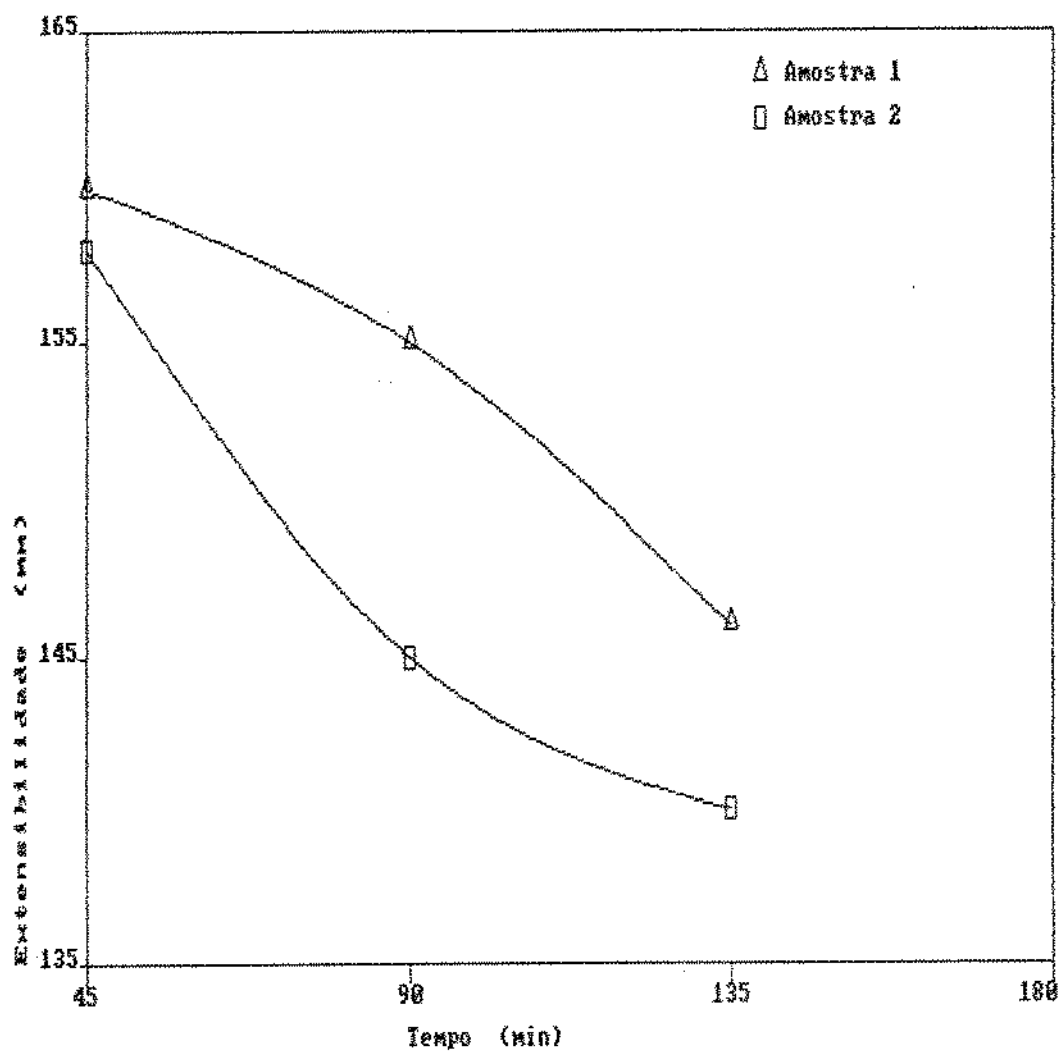
1. Farinha de trigo.
2. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja.

FIGURA 12- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a resistência à extensão, para massas misturadas a 150 rpm.



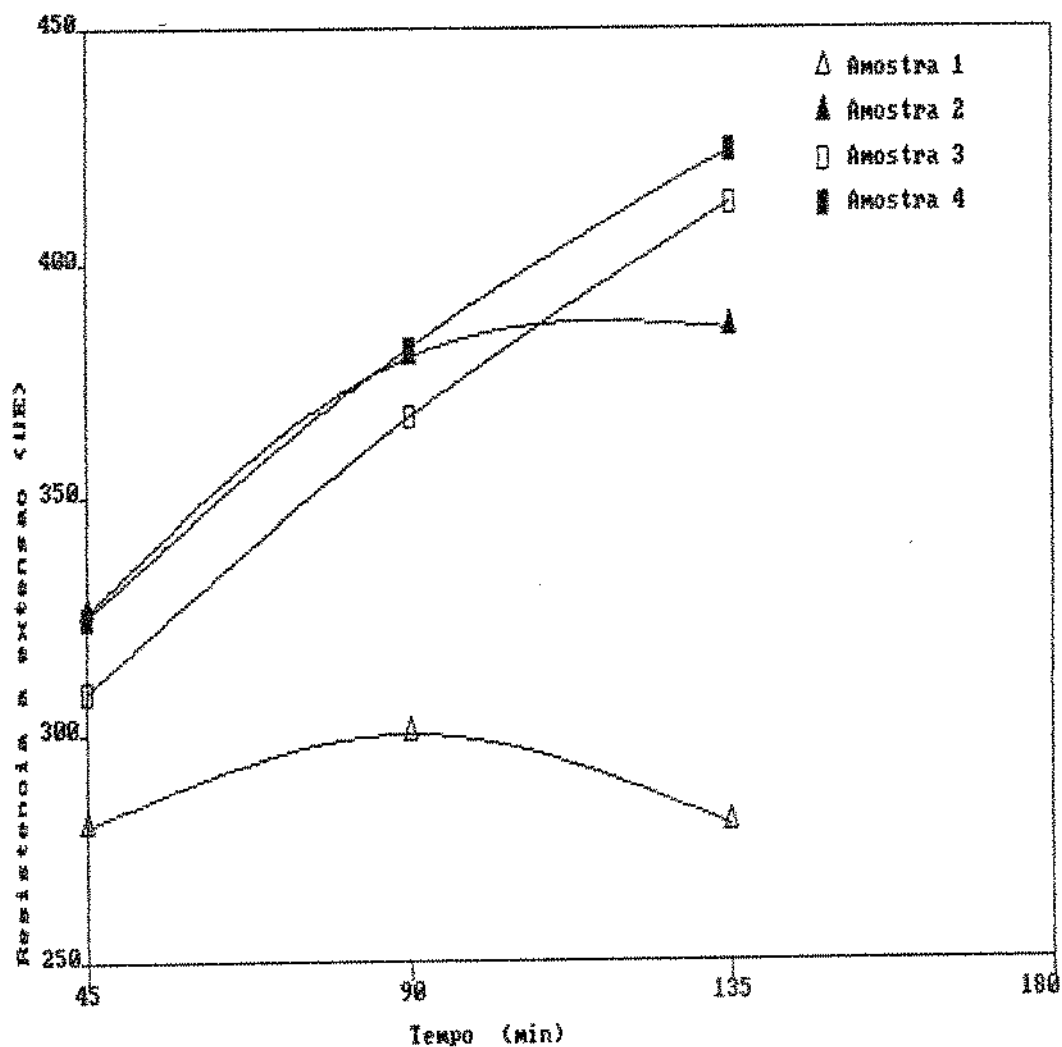
1. Farinha de trigo.
2. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja.

FIGURA 13- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a resistência máxima, para massas misturadas a 150 rpm.



1. Farinha de trigo.
2. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja.

FIGURA 14- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a extensibilidade, para massas misturadas a 150 rpm.



1. Farinha de trigo (63 rpm).
2. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja (63 rpm).
3. Farinha de trigo (150 rpm)
4. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja a 150 rpm)

FIGURA 15- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a resistência à extensão, para massas misturadas a 63 e 150 rpm.

150 rpm, propiciaram maiores valores da resistência à extensão. Este comportamento também foi observado para a resistência máxima, como pode ser visto na Figura 16.

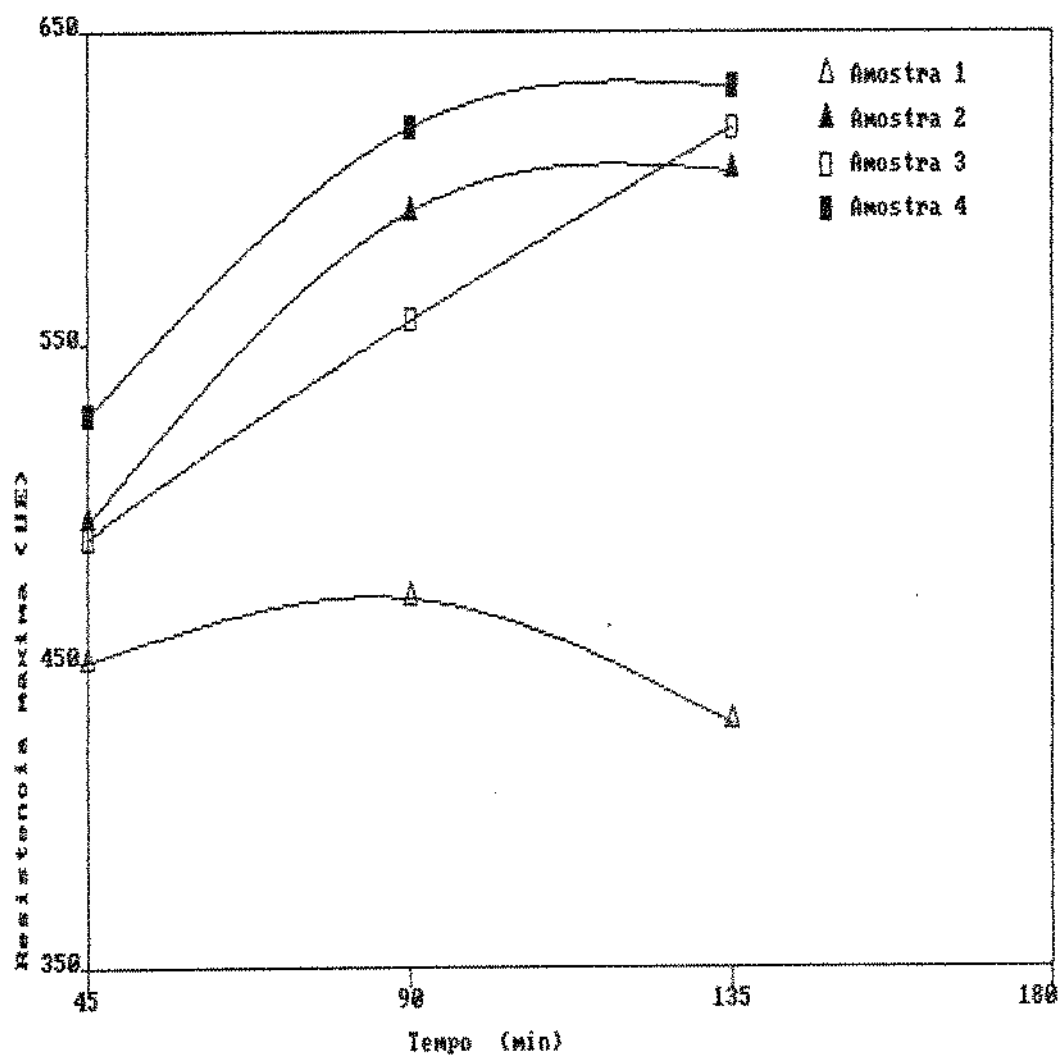
O perfil da Figura 17 reflete a redução na extensibilidade das massas tratadas com lipoxigenase ativa de soja e desenvolvidas a 150 rpm.

KOCH, citado por FRAZIER (1979), relatou que a ação da lipoxigenase ativa de soja produzia mudanças físicas na massa, refletidas pelo aumento da tolerância à mistura observado nas curvas farinográficas.

DANIELS et alii (1966), FRAZIER et alii (1973), FRAZIER et alii (1974), FRAZIER et alii (1977) e FRAZIER (1979) relataram a ação melhoradora da lipoxigenase ativa de soja sobre as propriedades reológicas de massas desenvolvidas mecanicamente na presença de oxigênio. Os experimentos desenvolvidos por estes pesquisadores mostraram que as principais mudanças foram no maior tempo de tolerância à mistura, no maior tempo de relaxação das massas e no fortalecimento da estrutura do glúten.

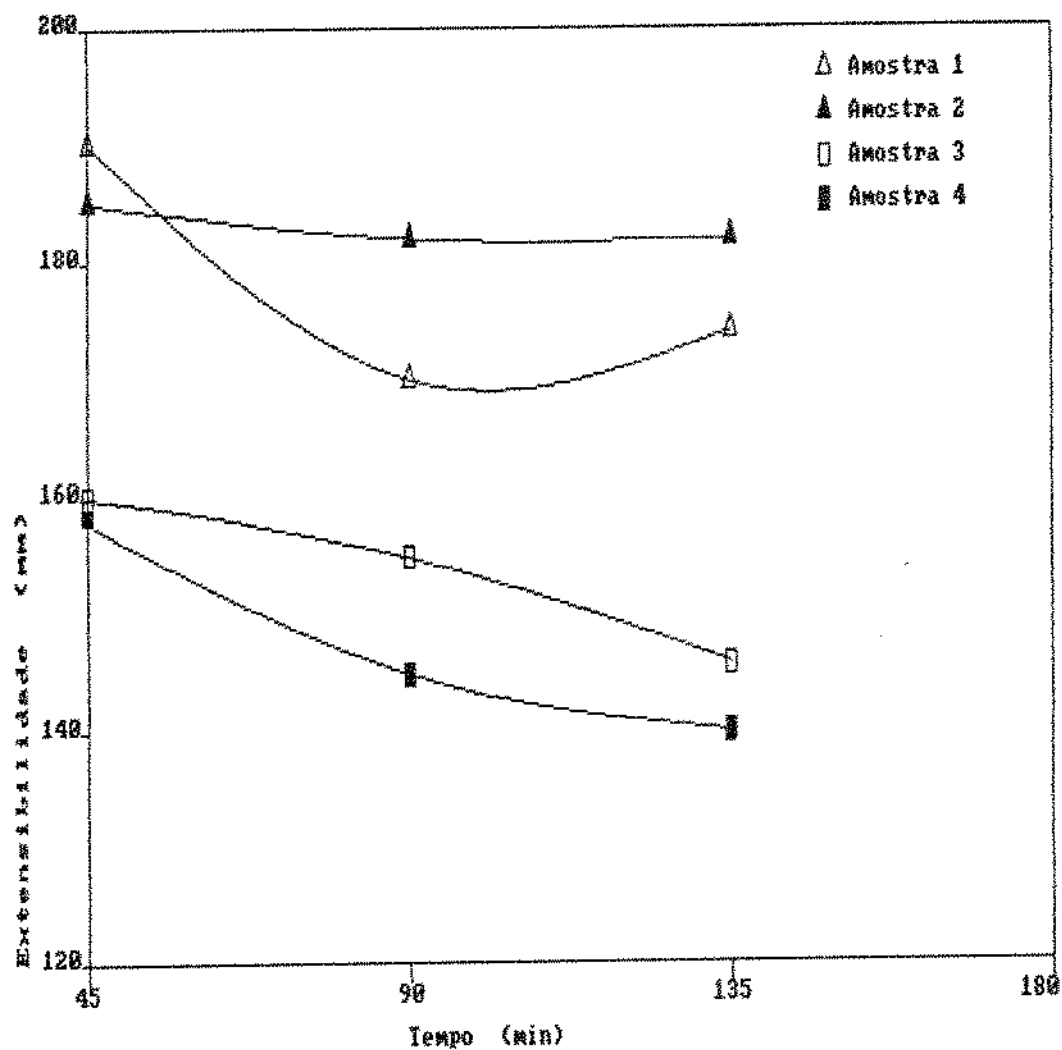
HOSENEY et alii (1980) relataram também o efeito multifuncional da lipoxigenase ativa de soja e observaram a sua influência sobre as características físicas da massa, principalmente o aumento da tolerância à mistura. Este comportamento diferencia a lipoxigenase ativa de soja de outros agentes oxidantes, uma vez que estes últimos diminuem a estabilidade à mistura (FRAZIER, 1979).

Dos resultados obtidos neste experimento, observa-se que a adição de lipoxigenase de soja à massa, desenvolvida a



1. Farinha de trigo (63 rpm).
2. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja (63 rpm).
3. Farinha de trigo (150 rpm)
4. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja (150 rpm)

FIGURA 16- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a resistência máxima, para massas misturadas a 63 e 150 rpm.



1. Farinha de trigo (63 rpm).
2. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja (63 rpm).
3. Farinha de trigo (150 rpm)
4. Farinha de trigo com lipoxigenase ativa de soja (150 rpm)

FIGURA 17- Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja sobre a extensibilidade, para massas misturadas a 63 e 150 rpm.

63 rpm, provocou uma mudança sensível nas características extensográficas destas massas, indicando o fortalecimento das mesmas. Estes dados coincidiram com aqueles apresentados por FAUBION & HOSENEY (1981) e DIAZ & ARAÚJO (1987).

Por outro lado, verifica-se que as massas desenvolvidas a 150 rpm apresentaram características extensográficas superiores àquelas relacionadas para as misturas a 63 rpm. Observa-se, também neste caso, que a adição de lipoxigenase ativa de soja à massa levou a um melhoramento nas características reológicas destas massas, refletindo o fortalecimento de suas estruturas. Tais resultados concordaram com aqueles apresentados por DANIELS et alii (1966); FRAZIER et alii (1973); FRAZIER et alii (1974); FRAZIER et alii (1977); RACKIS (1977); FRAZIER (1979) e FAUBION & HOSENEY (1981).

4.3 - Estudo dos lipídios da farinha e da massa

Os resultados reológicos encontrados indicaram que a ação da lipoxigenase ativa de soja proporcionou modificações nas características reológicas da massa semelhantes àquelas obtidas com agentes oxidantes, ou seja, tornou as massas mais fortes. Estes resultados, em conjunção com os de FRAZIER et alii (1973); DRAPRON et alii (1974) e FRAZIER et alii (1977), sugerem que esta ação da enzima está relacionada à distribuição dos lipídios nos componentes da massa.

Com base nessas considerações foi investigado o efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja na distribuição e composição dos lipídios na massa. Neste sentido foram realizados experimentos para se determinar a distribuição de lipídios livres e ligados da farinha, da massa e do glúten, em função da presença de lipoxigenase. Este estudo foi feito em massas sem descanso e após descanso de 105 minutos.

Visando a conhecer as frações de lipídios que poderiam estar envolvidas com a ação da lipoxigenase, foi estudada a composição, em termos de lipídios neutros, glico e fosfolipídios, presente nos lipídios livres e ligados. Foram também realizados estudos complementares envolvendo a composição dos lipídios nos componentes do glúten, gliadina e da glutenina.

4.3.1 - Lipídios livres e ligados da farinha.

Distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres e ligados da farinha.

Dos resultados apresentados na Tabela II, observa-se que a fração de lipídios livres e lipídios ligados da farinha de trigo utilizada neste experimento correspondeu a 1,50% e 0,52%, respectivamente do peso da farinha, o que resulta em 74,25% de lipídios livres e 25,75% de lipídios ligados, quando expressos na base de lipídios totais.

CHUNG (1986) relatou que aproximadamente 0,8-1,0% do peso da farinha é lipídio livre, enquanto 0,6-1,0% é lipídio

ligado. CHUNG & POMERANZ (1981) observaram que a concentração de lipídios na farinha varia com a qualidade do trigo e que estes valores estão entre 1,89 e 2,81%. MORRISON (1978) verificou que o total de lipídios da farinha está entre 2,1-3,8%.

Considerando-se os resultados obtidos, verifica-se que a fração de lipídios livres da farinha, usada no presente estudo, foi superior àquela apresentada por CHUNG (1986), enquanto o valor do total de lipídios correspondeu àqueles apresentados na literatura.

A Tabela VII apresenta os valores relativos à concentração de lipídios neutros, glico e fosfolipídios, presentes nas frações de lipídios livres e ligados da farinha.

Observa-se que a fração de lipídios livres da farinha apresentou 606 mg/100g (57%) de lipídios neutros; 340 mg/100g (32%) de glico e 112 mg/100g (10%) de fosfolipídios. ZAWISTOWSKA et alii (1984) encontraram que a composição de lipídios neutros, glico e fosfolipídios variou entre 632-713 mg/100g; 56-116 mg/100g e 30-63 mg/100g, respectivamente, em cinco variedades de trigo. Posteriormente, ZAWISTOWSKA et alii (1985) relataram valores de 660, 90 e 50 mg/100g para as frações de lipídios neutros, glico e fosfolipídios. Mais recentemente, BÉKÉS et alii (1986) encontraram variações em torno de 519-1.215 mg/100g para os lipídios neutros; 33-113 mg/100g para os glicolipídios e 32-105 mg/100g para os fosfolipídios.

A distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios na fração de lipídios ligados da farinha mostrou que esta classe de lipídios é composta majoritariamente por

glicolipídios - 280 mg/100g (60%) - seguida de fosfolipídios - 127 mg/100g (28%) - e lipídios neutros - 55 mg/100g (12%).

Esses resultados diferiram daqueles relatados por ZAWISTOWSKA et alii (1984) e ZAWISTOWSKA et alii (1985). De acordo com estes pesquisadores, a fração de lipídios ligados da farinha apresentou aproximadamente 278-350 (30%) ou 310 mg/100g (43%) de lipídios neutros, enquanto para as frações de glicolipídios e fosfolipídios, os valores encontrados foram de 203-260 (32%) ou 250 (35%) e 118-200 (38%) ou 160 mg/100g (22%), respectivamente.

Observa-se que os dados obtidos neste experimento diferem daqueles encontrados por ZAWISTOWSKA et alii (1984), ZAWISTOWSKA et alii (1985) e BÉKÉS et alii (1986) com relação aos teores de glico e fosfolipídios. Verifica-se também que os resultados apontados por estes autores apresentam uma ampla faixa de variação. Estas divergências podem ser atribuídas às diferenças na variedade ou à polimerização dos compostos neutros que, quando fracionados na coluna de sílica, apareceriam como compostos mais polares.

TABELA VII

Distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres e ligados da farinha de trigo.

	Lipídios Neutros mg/100g	Glicolipídios mg/100g	Fosfolipídios mg/100g
Lipídios livres	606 (57%)	340 (32%)	112 (11%)
Lipídios ligados	55 (12%)	280 (60%)	127 (28%)

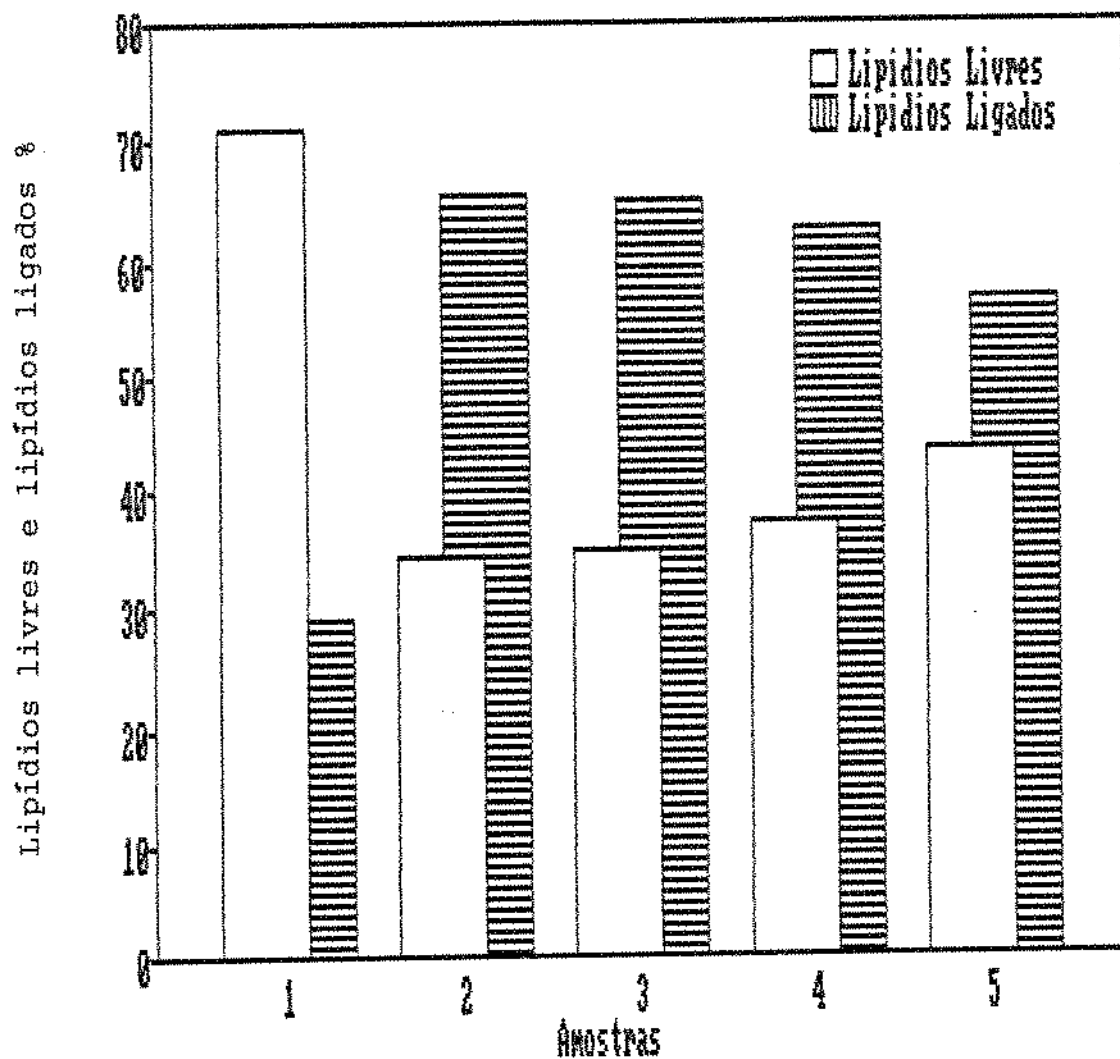
4.3.2 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados.

A Figura 18 mostra o percentual das frações de lipídios livres e ligados das amostras de farinha, massa-padrão com e sem descanso e massa-padrão com lipoxigenase ativa de soja, com e sem descanso. Os resultados mostraram que após a mistura ocorreu uma redução de cerca de 74 para 34% na concentração de lipídios livres nas massas sem enzima. O descanso não alterou estes valores, indicando que a ligação dos lipídios ocorreu basicamente durante a mistura. A mistura, com e sem descanso provocou um aumento de cerca de 26 para 66% com relação à fração de lipídios ligados.

Para as massas contendo lipoxigenase ativa de soja, a redução da fração de lipídios livres com relação à farinha foi de cerca de 74 para 37% após a mistura e para 43% após o descanso. Por outro lado, o aumento da fração de lipídios ligados foi de cerca de 26 para 63% após a mistura e 57% após o descanso.

Comparando-se os valores obtidos para as frações de lipídios livres e ligados nas massas, observa-se que a adição de lipoxigenase ativa de soja provocou aumento de aproximadamente 4 e 12% nos níveis de lipídios livres nas massas após a mistura e, principalmente, após o descanso.

O aumento relativo de lipídios livres com a adição de lipoxigenase ativa de soja observado no presente estudo concorda com as observações de FRAZIER et alii (1973); MORRISON (1976) e



1. Farinha.
2. Massa após a mistura.
3. Massa após o descanso.
4. Massa com lipoxigenase ativa de soja após a mistura.
5. Massa com lipoxigenase ativa de soja após o descanso.

FIGURA 18 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados.

NICOLAS (1979), que verificaram que o nível de lipídios livres evoluiu na presença de lipoxigenase ativa de soja.

4.3.3 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios presentes nas frações de lipídios livres e ligados.

A Tabela VIII mostra a distribuição dos lipídios livres das massas com e sem lipoxigenase ativa de soja após mistura e após o tempo de descanso. A composição dos lipídios livres, após a mistura, foi de 80,95% de lipídios neutros, e 14,67% e 4,57% de glico e fosfolipídios. Após o descanso, foi observado um ligeiro acréscimo na fração de lipídios neutros e um decréscimo nas frações de glico e fosfolipídios. Estas alterações sugerem a possibilidade de interação, durante o descanso, dos glico e fosfolipídios com os componentes da farinha, que passariam da fração livre para a ligada.

Por outro lado, independentemente do tempo de descanso, a adição de lipoxigenase ativa de soja provocou um evidente decréscimo na concentração de lipídios neutros e um aumento marcante nas concentrações de glico e fosfolipídios. Estes aumentos nas frações de glico e fosfolipídios indicaram que os produtos intermediários da ação da enzima interagiram com os componentes da farinha, possivelmente ligados aos glico e fosfolipídios, liberando-os para fração livre, como pode ser

TABELA VIII

Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres.

Amostras	Lipídios Neutros (%)	Glicolipídios (%)	Fosfolipídios (%)	Recuperação (%)**
1	80,95	14,67	4,37	96,14
2	85,10	10,97	3,92	96,01
3	23,22	53,18	23,59	98,87
4	26,57	49,06	24,36	97,85

1. Massa após mistura.

2. Massa após descanso.

3. Massa com lipoxigenase ativa de soja após mistura.

4. Massa com lipoxigenase ativa de soja após descanso.

* Resultados expressos em base seca.

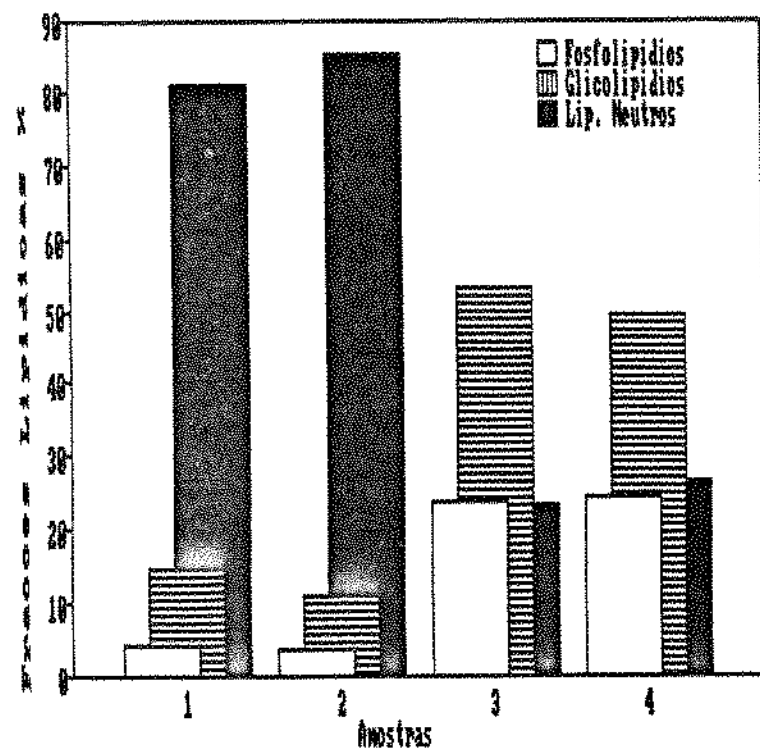
** Recuperação = $\frac{\text{Peso das frações}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$

melhor visualizado na Figura 19a.

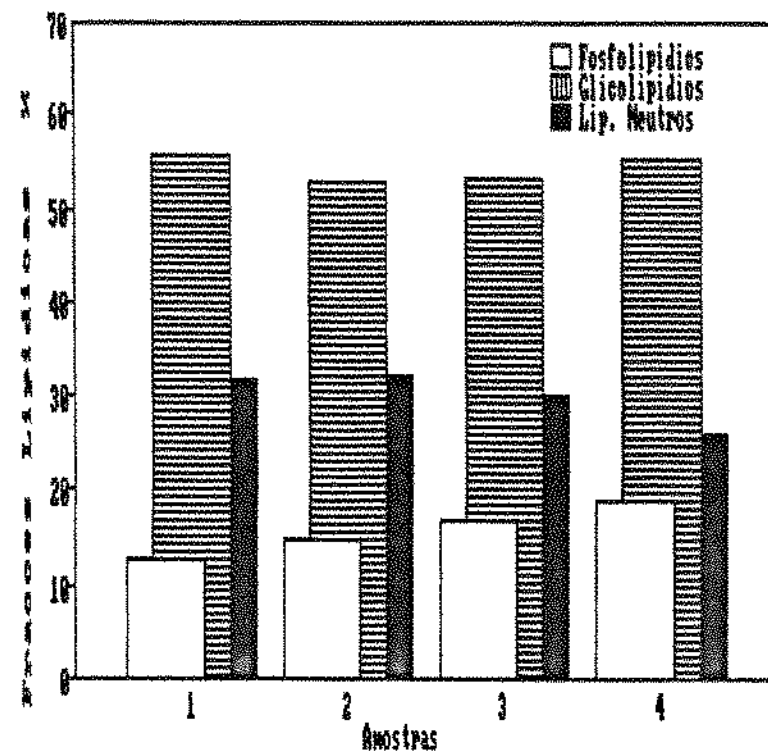
A massa com lipoxigenase ativa de soja após descanso apresentou, em relação à sem descanso, proporções um pouco superiores de lipídios neutros e menores porcentagens de glico e fosfolipídios. Estes resultados indicaram a possibilidade da ocorrência de algumas interações dos glico e fosfolipídios liberados com os componentes da farinha, durante o descanso e pela ação da lipoxigenase ativa de soja.

A Tabela IX mostra a distribuição dos lipídios ligados das massas com e sem lipoxigenase ativa de soja após a mistura e após o descanso. A composição dos lipídios ligados, após a mistura, foi de 32, 55 e 13% de lipídios neutros, glico e fosfolipídios, respectivamente. Similarmente ao que ocorreu com a fração de lipídios livres, a composição dos lipídios ligados praticamente não se alterou com o descanso da massa.

Por outro lado, a adição de lipoxigenase ativa de soja provocou um discreto aumento na concentração de fosfolipídios e um ligeiro decréscimo nos lipídios neutros. Estas pequenas alterações, entretanto, não permitiram conclusões sobre a ação da enzima na fração de lipídios ligados (Figura 19b).



(a)



(b)

- 1 - Massa após a mistura.
- 2 - Massa após o descanso.
- 3 - Massa com lipoxigenase ativa de soja após a mistura.
- 4 - Massa com lipoxigenase ativa de soja após o descanso.

FIGURA 19 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolípidios nas frações de lipídios livres (a) e ligados (b).

TABELA IX

Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios ligados.

Amostras	Lipídios Neutros (%)	Glicolipídios (%)	Fosfolipídios (%)	Recuperação (%)**
1	31,56	55,45	12,98	96,67
2	32,32	52,73	14,94	95,36
3	30,01	53,24	16,74	97,29
4	25,81	55,10	19,08	95,47

1. Massa após mistura

2. Massa após descanso.

3. Massa com lipoxigenase ativa de soja após mistura.

4. Massa com lipoxigenase ativa de soja após descanso.

* Resultados expressos em base seca.

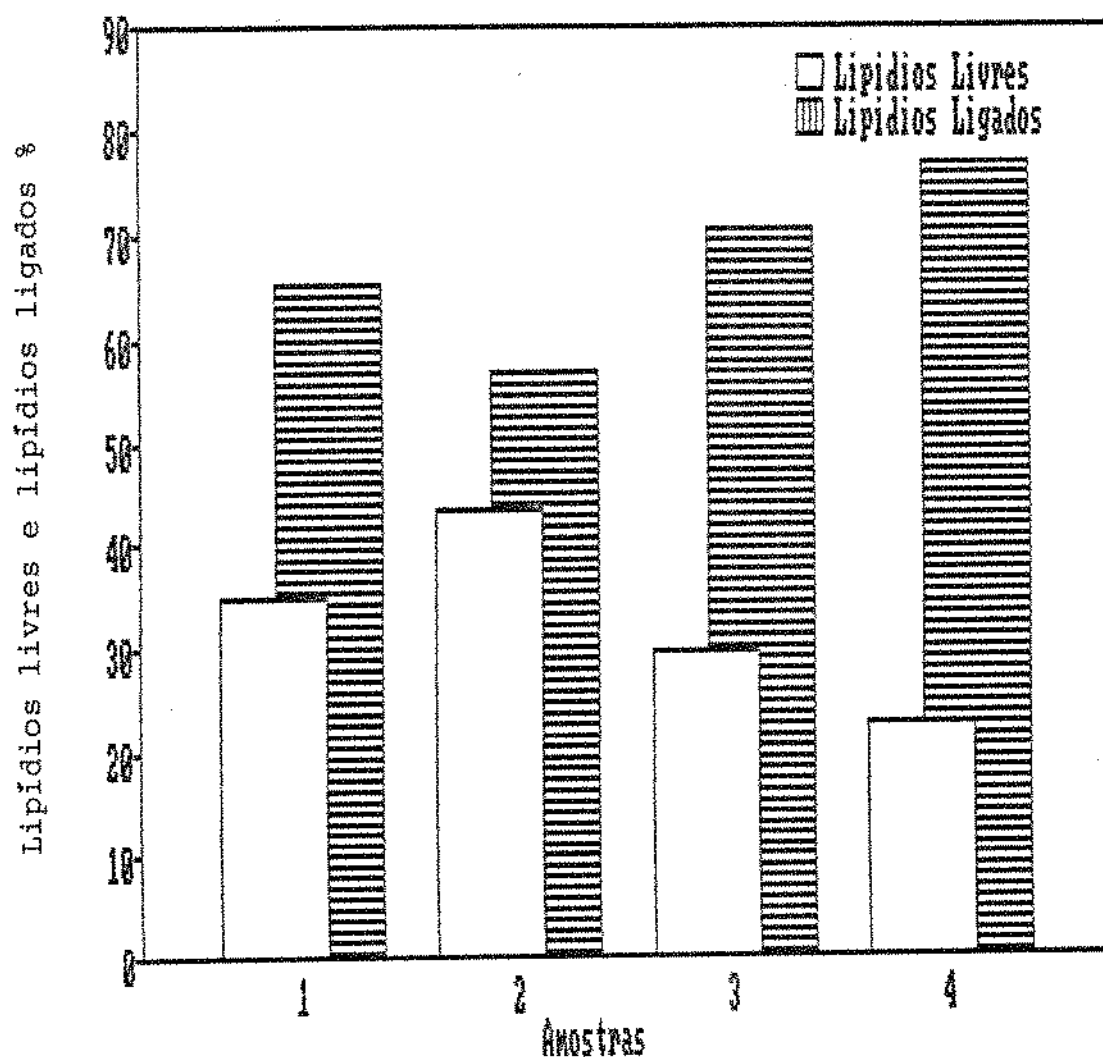
** Recuperação = $\frac{\text{Peso das frações}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$

4.3.4 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados do glúten.

A Figura 20 apresenta a relação percentual das frações de lipídios livres e ligados presentes no glúten extraído de massas com e sem lipoxigenase ativa de soja, após o descanso.

O rendimento obtido na extração do glúten (10,13% base seca) em conjunção com os resultados apresentados na Tabela X mostram que cerca de 29 e 37% dos lipídios livres e ligados da massa, respectivamente, se encontram associados ao glúten. Estes resultados mostram claramente que, entre os componentes da farinha, o glúten exerce um papel importante no que se refere ao estudo dos lipídios, principalmente os lipídios ligados.

Os dados da Tabela X mostram também que a adição de lipoxigenase ativa de soja à massa promoveu um aumento na concentração dos lipídios ligados ao glúten. Estes resultados, juntamente com a observação de que a ação da lipoxigenase ativa de soja provoca o aumento de lipídios livres na massa (Figura 18), indicaram que ocorreu uma translocação seletiva de lipídios de outros componentes da farinha para o glúten por ação da enzima. É de se supor, assim, que o efeito da lipoxigenase ativa de soja na distribuição de lipídios esteja relacionado com alterações nas propriedades reológicas da massa, que, segundo vários autores (KOCH, 1956; DANIELS et alii, 1966; DANIELS et alii, 1968; FRAZIER et alii, 1973; FRAZIER et alii, 1974; FRAZIER et alii, 1977; BELL et alii, 1977; ESKIN et alii, 1977; KIEFFER &



1. Massa após o descanso.
2. Massa com lipoxigenase ativa de soja após o descanso.
3. Glúten (massa-padrão).
4. Glúten (Massa-padrão com lipoxigenase ativa de soja)

FIGURA 20 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição de lipídios livres e ligados do glúten.

TABELA X

Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados da massa e do glúten *.

Amostras	Lipídios Livres (g/100g)	Lipídios Ligados (g/100g)	Total de Lipídios (g/100g)
Massa 1	0,771	1,438	2,209
2	0,993	1,291	2,284
Glúten 1	2,200	5,210	7,410
2	1,903	6,377	8,280

1. Massa após descanso.

2. Massa com lipoxigenase ativa de soja após descanso.

* Resultados expressos em base seca.

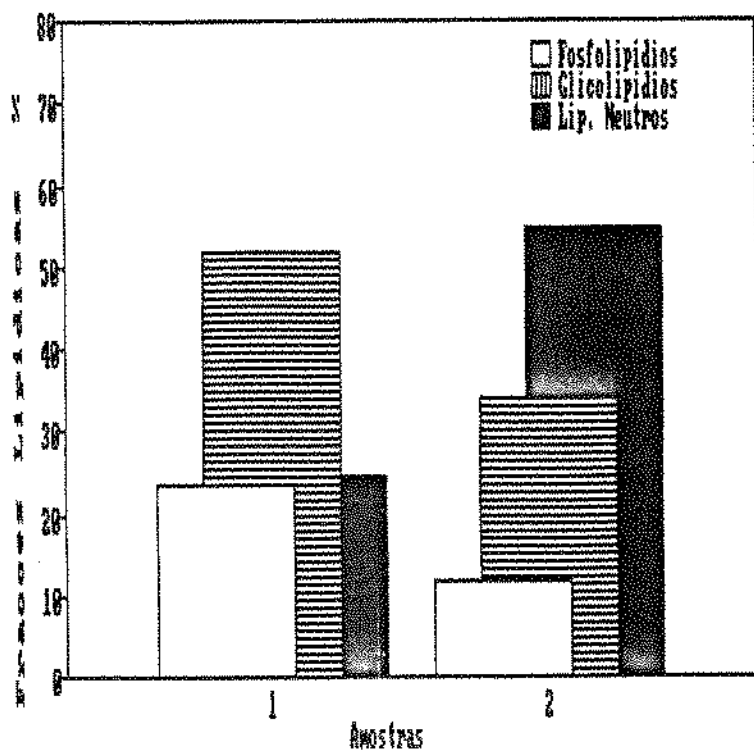
GROSCH, 1980; NICOLAS & DRAPRON, 1982), estão associadas às características do glúten.

Estas considerações nos levaram a realizar um estudo mais detalhado quanto à composição dos lipídios livres e ligados presentes no glúten, pois, segundo dados da literatura (HOSENEY & FINNEY, 1971; MORRISON, 1976; MacRITCHIE, 1977; CHUNG et alii, 1978; POMERANZ, 1985a e CHUNG, 1986), glico e fosfolipídios são importantes nas propriedades reológicas do glúten.

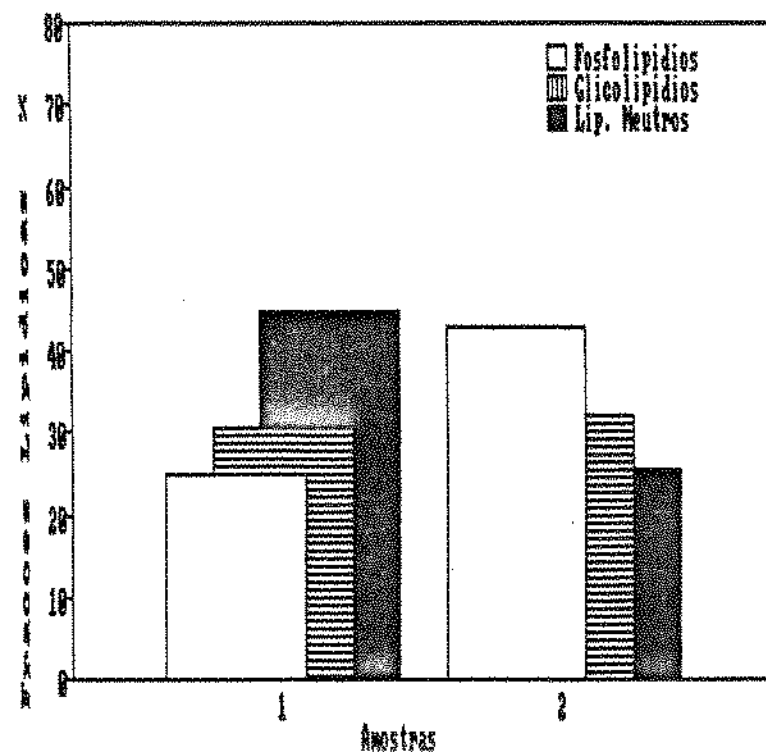
4.3.5 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres e ligados do glúten.

Verifica-se, através da Figura 21a e da Tabela XI, que os lipídios livres presentes no glúten apresentaram 25, 52 e 23% de lipídios neutros, glico e fosfolipídios, respectivamente. A adição de lipoxigenase ativa de soja alterou esta composição, pois provocou um aumento na concentração de lipídios neutros e um decréscimo nas concentrações de glico e fosfolipídios, que resultaram numa composição de 54% de lipídios neutros, 34% de glicolipídios e 12% de fosfolipídios.

A composição dos lipídios ligados associados ao glúten (Figura 21b e Tabela XII) mostra que o glúten extraído de massa sem adição de lipoxigenase ativa de soja apresenta 45, 30, e 24% de lipídios neutros, glico e fosfolipídios, respectivamente. A adição de lipoxigenase ativa de soja, por outro lado, provocou



(a)



(b)

1 - Glúten (massa-padrão).

2 - Glúten (massa-padrão com lipoxigenase ativa de soja).

FIGURA 21 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres (a) e ligados (b) do glúten.

TABELA XI

Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres do glúten.

Amostras	Lipídios Neutros (%)	Glicolipídios (%)	Fosfolipídios (%)	Recuperação (%)*
Glúten 1	24,63	51,89	23,44	95,56
2	54,36	33,74	11,89	92,16

1. Massa após descanso.

2. Massa com lipoxigenase ativa de soja após descanso.

* Recuperação = $\frac{\text{Peso das frações}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$

uma diminuição na concentração dos lipídios neutros e uma elevação na concentração dos fosfolipídios e praticamente não alterou a porcentagem de glicolipídios.

O decréscimo dos lipídios neutros na fração ligada e o seu aumento na fração livre no glúten, obtido após extração de massas contendo lipoxigenase ativa de soja, indicaram que a enzima propiciou a passagem desses lipídios neutros da fração ligada para a livre.

Por outro lado, o aumento na fração de fosfolipídios, na fração de lipídios ligados ao glúten, extraído da massa contendo lipoxigenase ativa de soja, indicou que, parte desta classe de lipídios, por ação da enzima, interagiu com o glúten.

Aparentemente, a ação da lipoxigenase ativa de soja não afetou os glicolipídios, pois não foram observadas alterações, nesta fração, entre lipídios livres e ligados, nos glúten extraídos de massas contendo a referida enzima.

4.3.6 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados na gliadina e na glutenina.

A Figura 22 apresenta os valores, expressos em percentual, das frações de lipídios livres e ligados da gliadina e da glutenina separadas do glúten extraído da massa com e sem lipoxigenase ativa de soja, após o descanso.

TABELA XII

Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios ligados do glúten.

Amostras	Lipídios Neutros (%)	Glicolipídios (%)	Fosfolipídios (%)	Recuperação (%)*
Glúten 1	44,91	30,37	24,22	94,74
2	25,35	31,82	42,82	95,15

1. Massa após descanso.

2. Massa com lipoxigenase ativa de soja após descanso.

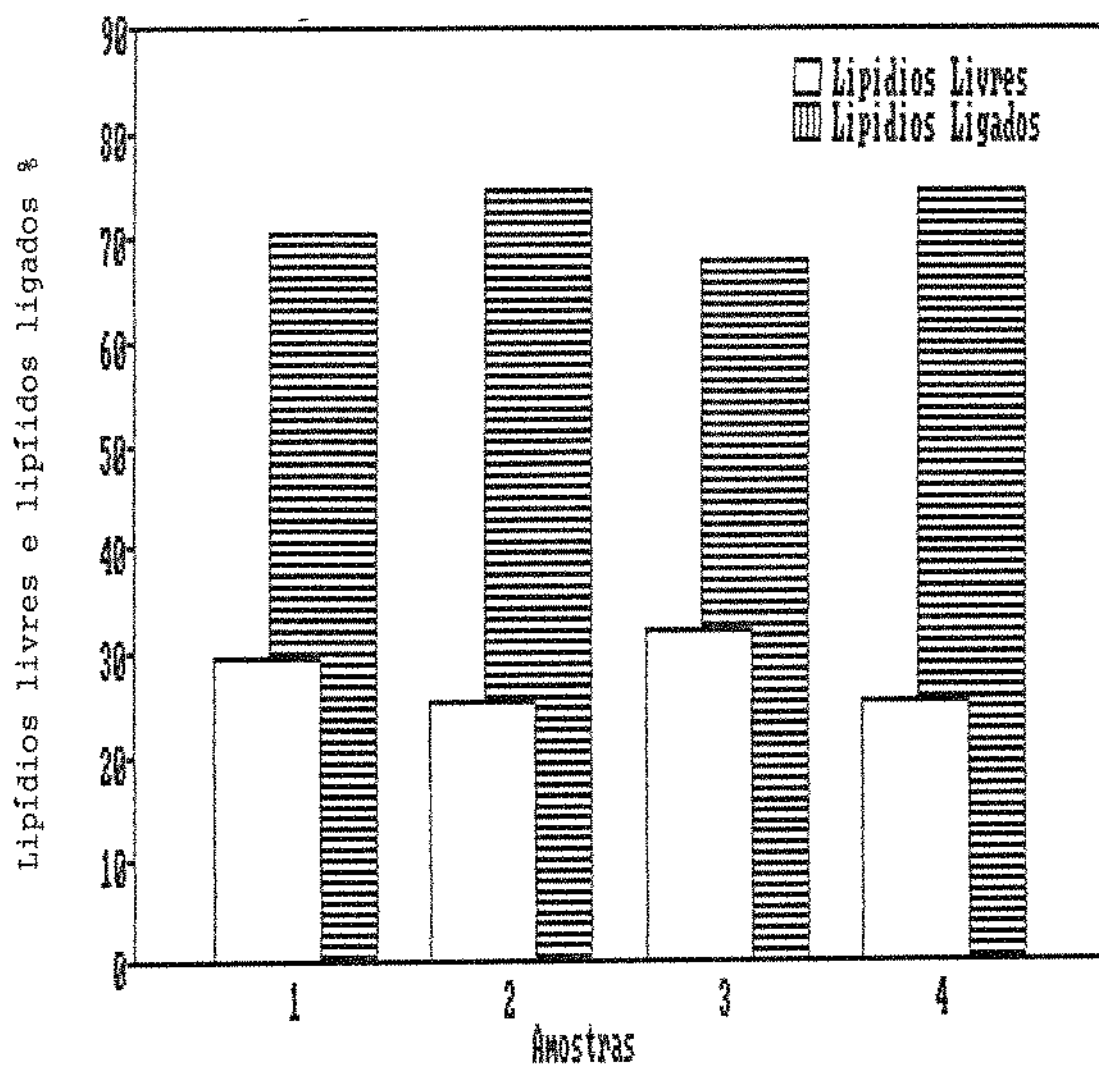
* Recuperação = $\frac{\text{Peso das frações}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$

A fração de lipídios livres correspondeu a aproximadamente 29 e 32% dos lipídios totais da gliadina e da glutenina, respectivamente. Considerando o percentual de lipídios livres no glúten, observa-se, através das Tabelas X e XIII, que aproximadamente 47 e 52% desta fração se encontram associados à gliadina e à glutenina, respectivamente.

Por outro lado, a adição de lipoxigenase ativa de soja à massa não provocou variações evidentes na fração de lipídios livres da gliadina e da glutenina.

O efeito da ação da lipoxigenase nos lipídios ligados à gliadina e à glutenina foi similar ao observado com os lipídios livres, ou seja, não foram constatadas diferenças nas concentrações desta classe de lipídios nas frações do glúten extraído de massa com lipoxigenase ativa de soja.

Estes resultados sugerem que, a nível das frações do glúten, a ação da enzima não provoca translocação. Não se pode, entretanto, descartar a hipótese de que tenha existido uma compensação entre os lipídios que se transformaram em ligados com aqueles que passaram para livres.



1. Gliadina (massa-padrão).
2. Gliadina (massa-padrão com lipoxigenase ativa de soja).
3. Glutenina (massa-padrão).
4. Glutenina (Massa-padrão com lipoxigenase ativa de soja).

FIGURA 22 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados na gliadina e glutenina.

TABELA XIII

Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios livres e ligados na gliadina e na glutenina *.

Amostras		Lipídios Livres (g/100g)	Lipídios Ligados (g/100g)	Total de Lipídios (g/100g)
Gliadina	1	1,050	2,523	3,573
	2	0,958	2,808	3,766
Glutenina	1	1,147	2,416	3,564
	2	0,944	2,769	3,713

1. Massa após descanso.

2. Massa com lipoxigenase ativa de soja após descanso.

* Resultados expressos em base seca.

4.3.7 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres e ligados da gliadina e da glutenina.

Observa-se, através da Tabela XIV e da Figura 23a, que os lipídios livres presentes na gliadina apresentaram 11, 68 e 21% de lipídios neutros, glico e fosfolipídios, respectivamente. A adição de lipoxigenase ativa de soja provocou uma redução nas concentrações de lipídios neutros e glicolipídios, e um acréscimo na concentração de fosfolipídios, que resultou em uma composição de 9,36% de lipídios neutros; 56,97% de glicolipídios e 33,65% de fosfolipídios.

Com relação à glutenina, verifica-se que a composição dos lipídios livres foi de 51% de lipídios neutros, e 30 e 18% para as frações de glico e fosfolipídios, respectivamente. Observa-se também que a adição de lipoxigenase ativa de soja promoveu uma redução na concentração de lipídios neutros, nesta fração do glúten, e um acréscimo nas concentrações de glico e fosfolipídios.

Por outro lado, a composição dos lipídios ligados, associados à gliadina e à glutenina (Tabela XV e Figura 23b), mostra que esta classe de lipídios na gliadina é formada por 9% de lipídios neutros; 62 e 29% de glico e fosfolipídios, respectivamente. A adição de lipoxigenase ativa de soja promoveu uma redução na concentração de lipídios neutros e fosfolipídios,

TABELA XIV

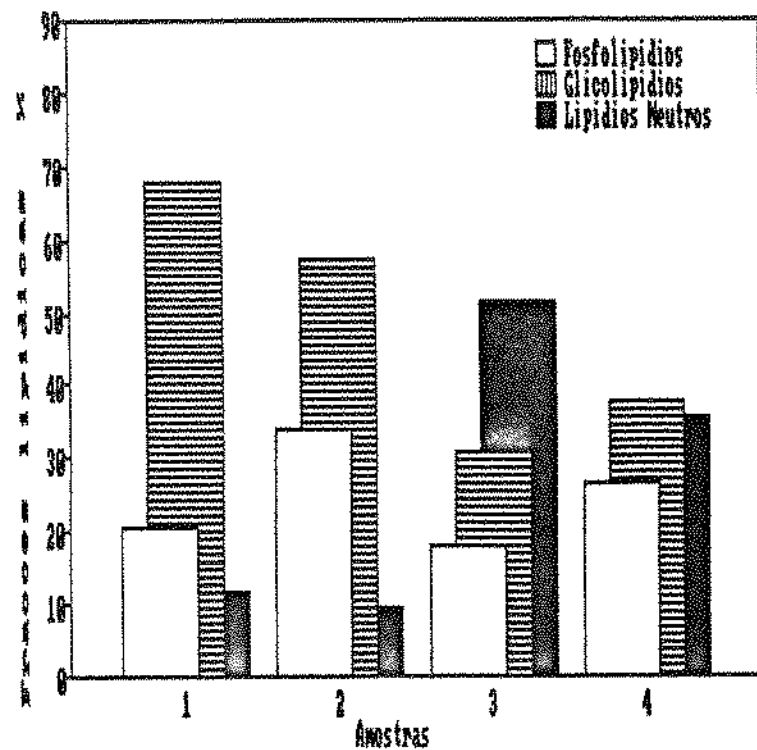
Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres da gliadina e da glutenina.

Amostras		Lipídios Neutros (%)	Glicolipídios (%)	Fosfolipídios (%)	Recuperação (%)*
Gliadina	1	11,51	67,66	20,81	91,78
	2	9,36	56,97	33,65	92,02
Glutenina	1	51,41	30,57	18,00	86,74
	2	35,69	37,73	26,57	86,74

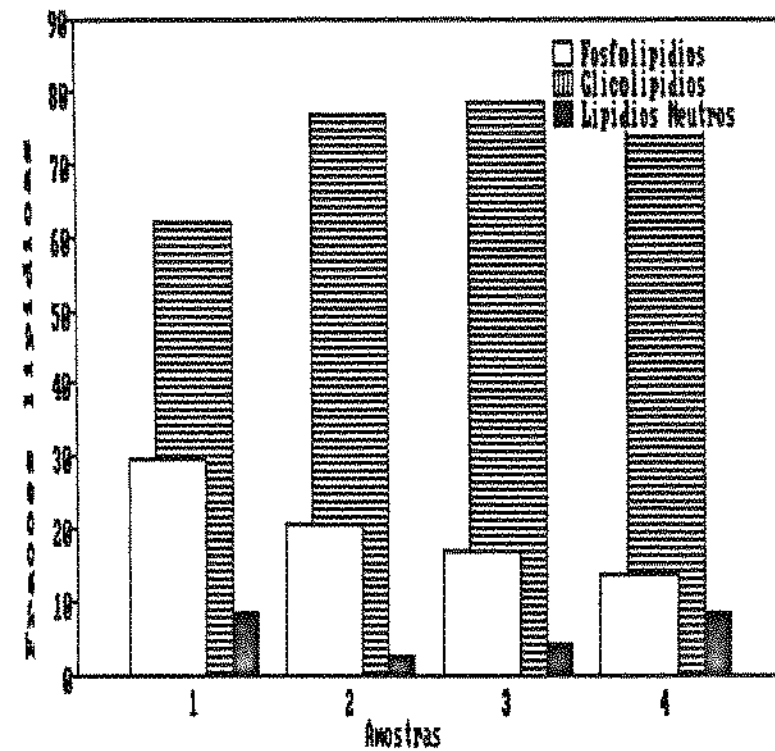
1. Massa após descanso.

2. Massa com lipoxigenase ativa de soja após descanso.

* Recuperação = $\frac{\text{Peso das frações}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$



(a)



(b)

- 1 - Gliadina (massa-padrão).
- 2 - Gliadina (massa-padrão com lipoxigenase ativa de soja).
- 3 - Glutenina (massa-padrão).
- 4 - Glutenina (massa-padrão com lipoxigenase ativa de soja).

FIGURA 23 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios livres (a) e ligados (b) da gliadina e da glutenina.

TABELA XV

Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja e do descanso da massa na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios nas frações de lipídios ligados da gliadina e da glutenina.

Amostras		Lipídios Neutros (%)	Glicolipídios (%)	Fosfolipídios (%)	Recuperação (%)*
Gliadina	1	8,59	61,97	29,42	93,58
	2	2,57	76,96	20,45	90,14
Glutenina	1	4,40	78,52	17,06	93,38
	2	8,48	77,61	13,89	93,38

1. Massa após descanso

2. Massa com lipoxigenase ativa de soja após descanso

* Recuperação = $\frac{\text{Peso das frações}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$

e um acréscimo na concentração de glicolipídios neste componente do glúten.

Para a glutenina, observou-se que a composição dos lipídios ligados apresentou 4, % de lipídios neutros, 79 e 17% de glico e fosfolipídios. A adição de lipoxigenase ativa de soja, por outro lado, provocou um aumento na concentração de lipídios neutros e uma redução no total de fosfolipídios, enquanto os glicolipídios não foram alterados.

Estes resultados e aqueles apresentados na Tabela XIII (que mostram que as quantidades de lipídios livres da gliadina e da glutenina não foram alteradas com a adição de lipoxigenase ativa de soja) indicaram que as translocações nas classes de lipídios neutros, glico e fosfolipídios foram compensadas entre si de modo a não alterar a fração de lipídios livres.

Por outro lado, o aumento observado no total de fosfolipídios na fração de lipídios ligados ao glúten pela ação da lipoxigenase ativa de soja (Tabela XII) não foi compatível com o decréscimo desta classe de lipídios nas frações de lipídios ligados à gliadina e à glutenina (Tabela XV). Esta discrepância sugere que:

a) ou ocorreu um decréscimo proporcional nos fosfolipídios, nas frações do glúten, resultante do aumento efetivo na concentração de glicolipídios na fração de gliadina e lipídios neutros na glutenina; ou

b) parte dos fosfolipídios da gliadina e da glutenina foi extraída durante o isolamento da gliadina com solução alcoólica a 70%.

Assim, tanto o aumento dos glicolipídios na gliadina como o fato destes lipídios não serem extraídos com solução alcoólica sugerem que esta fração do glúten interage preferencialmente com esta classe de lipídios.

Este mesmo mecanismo, em termos do aumento de lipídios neutros na glutenina, sugere que os glicolipídios interagem mais efetivamente com esta fração do glúten que os fosfolipídios. Por outro lado, a interação entre glutenina e lipídios neutros seria mais efetiva que aquela entre a gliadina e esta classe de lipídios.

4.3.8 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e da atmosfera de nitrogênio na distribuição dos lipídios livres e ligados.

Os resultados observados mostraram que a ação da lipoxigenase ativa de soja altera a composição dos lipídios livres e ligados da massa e do glúten. Considerando que a atividade desta enzima está associada à presença de oxigênio no meio (DANIELS et alii, 1966; FRAZIER et alii, 1973; FRAZIER et alii, 1974; FRAZIER et alii, 1977 e FRAZIER, 1979), experimentos em atmosfera de nitrogênio foram realizados com o objetivo de

constatar que a ação da lipoxigenase ativa de soja provocou a liberação de lipídios da massa, quando desenvolvida em atmosfera de oxigênio.

A Tabela XVI mostra a concentração em g/100g das frações de lipídios livres e ligados e o total de lipídios da massa com lipoxigenase ativa de soja desenvolvida em atmosfera de nitrogênio, enquanto a Figura 24 apresenta a relação percentual destas frações nas massas com e sem enzima, desenvolvidas em atmosfera de oxigênio e nitrogênio.

Observa-se que, para a massa, desenvolvida em atmosfera de oxigênio, 35% dos lipídios presentes na massa estiveram na forma de lipídios livres, enquanto que a adição de lipoxigenase ativa de soja, nestas mesmas condições, aumentou essa fração para cerca de 45%, como relatado no item 4.3.2.

Por outro lado, com relação à massa com lipoxigenase ativa de soja, desenvolvida em atmosfera de nitrogênio, verifica-se que a concentração de lipídios livres foi reduzida em 16% com relação à massa desenvolvida em atmosfera de oxigênio e em 24% com relação à massa com lipoxigenase ativa de soja desenvolvida em atmosfera de oxigênio. Estes resultados correspondem aos observados por DANIELS et alii (1971). Segundo estes autores, a ação da lipoxigenase ativa de soja altera os sítios responsáveis pelas ligações hidrofóbicas nas proteínas, provocando uma redução na fração de lipídios livres da massa.

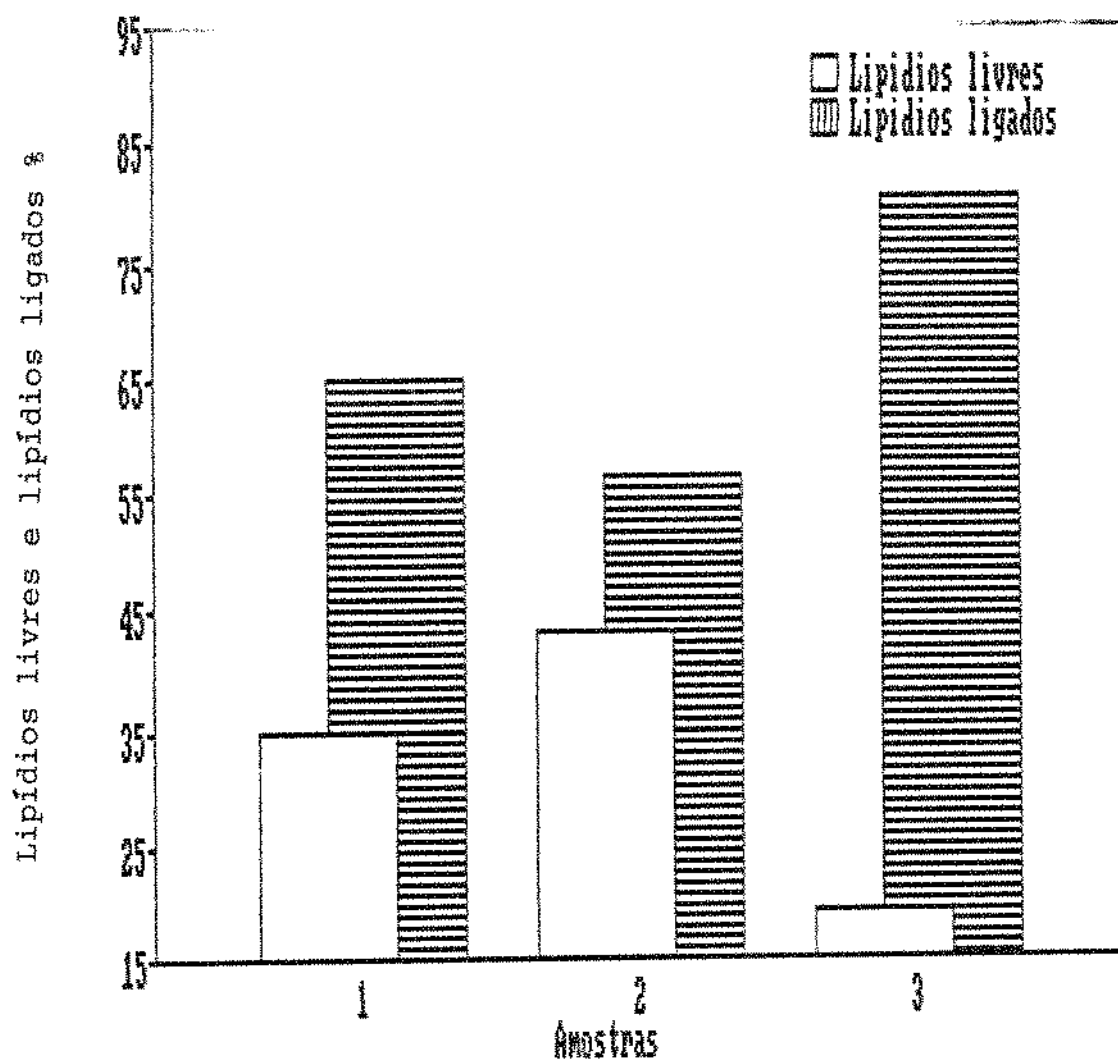
Por outro lado, contrariamente ao observado por DANIELS et alii (1971), FRAZIER et alii (1973) não foram constatadas diferenças na composição de lipídios extraídos de

TABELA XVI

Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e da atmosfera de nitrogênio na distribuição dos lipídios livres e ligados *.

Lipídios livres (g/100g)	Lipídios ligados (g/100g)	Total de lipídios (g/100g)
0,466	1,932	2,399

*Resultados expressos em base seca.



1. Massa
2. Massa com lipoxigenase ativa de soja, desenvolvida em atmosfera de oxigênio.
3. Massa com lipoxigenase ativa de soja, desenvolvida em atmosfera de nitrogênio.

FIGURA 24 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e da atmosfera de oxigênio e nitrogênio na distribuição dos lipídios livres e ligados.

massas contendo lipoxigenase ativa de soja, em função da presença de oxigênio, o que indicaria que ação desta enzima não altera a composição de lipídios na massa.

Nossos resultados confirmaram, portanto, que a presença de lipoxigenase ativa de soja propicia o aumento dos lipídios livres na massa, conforme observado anteriormente (Figura 24).

4.3.9 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e da atmosfera de nitrogênio na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios presentes nas frações de lipídios livres e ligados.

A Tabela XVI apresenta a composição dos lipídios livres da massa com lipoxigenase ativa de soja, desenvolvida em atmosfera de nitrogênio. Verifica-se que 54% desta classe de lipídios são lipídios neutros, enquanto 23 e 23% são glico e fosfolipídios, respectivamente. A Figura 25a mostra a relação percentual destas frações lipídicas nas massas com e sem lipoxigenase ativa de soja, desenvolvidas em atmosfera de oxigênio e nitrogênio.

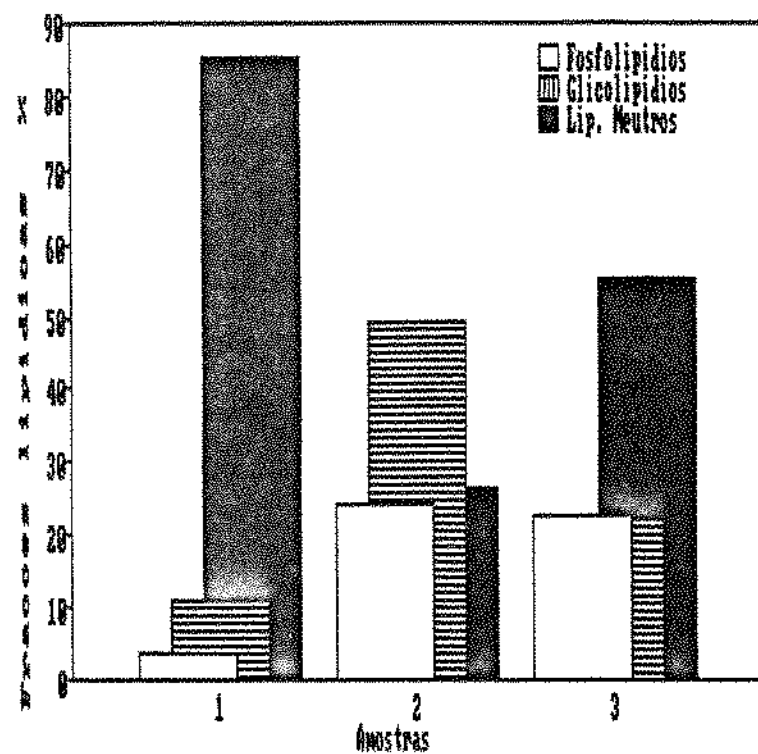
Observa-se que a adição de lipoxigenase ativa de soja e a atmosfera de nitrogênio promoveram, com relação à massa-padrão, um aumento na concentração de glico e fosfolipídios e uma redução no teor de lipídios neutros na fração de lipídios livres da massa. Por outro lado, ao se comparar a composição dos

TABELA XVII

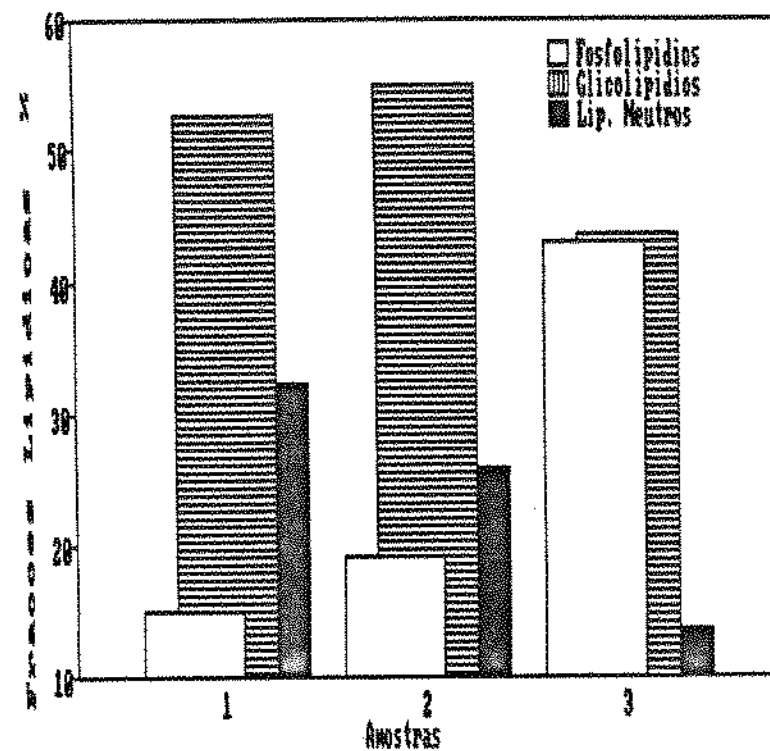
Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e da atmosfera de nitrogênio na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios na fração de lipídios livres.

Lipídios neutros (%)	Glicolipídios (%)	Fosfolipídios (%)	Recuperação (%)*
55,05	22,95	22,99	91,87

* Recuperação = $\frac{\text{Peso das frações}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$



(a)



(b)

1 - Massa-padrão desenvolvida em atmosfera de oxigênio.

2 - Massa-padrão com lipoxigenase ativa de soja desenvolvida em atmosfera de oxigênio.

3 - Massa-padrão com lipoxigenase ativa de soja desenvolvida em atmosfera de nitrogênio.

FIGURA 25 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e atmosfera de nitrogênio na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolípidios na fração de lipídios livres (a) e ligados (b).

lipídios desta classe com aquela obtida para a massa com enzima, desenvolvida em atmosfera de oxigênio, verifica-se uma maior concentração de lipídios neutros, na massa desenvolvida em atmosfera de nitrogênio, enquanto a concentração de glicolipídios foi reduzida e a de fosfolipídios se manteve inalterada.

Estes resultados mostraram que a massa com lipoxigenase ativa de soja desenvolvida em atmosfera de nitrogênio tende a apresentar a distribuição dos seus lipídios neutros, glico e fosfolipídios mais próxima àquela apresentada pela massa desenvolvida em atmosfera de oxigênio e sem lipoxigenase, evidenciando que a ação da enzima, na presença de oxigênio, promove uma alteração nestas classes de lipídios da fração de lipídios livres da massa.

Com relação aos lipídios ligados, observa-se, como mostra a Tabela XVIII, que a composição dos lipídios desta classe correspondeu a 13% de lipídios neutros, 44 e 43% de glico e fosfolipídios, respectivamente. A Figura 25b apresenta a distribuição percentual destas frações na massa com e sem lipoxigenase ativa de soja, desenvolvidas em atmosfera de oxigênio e nitrogênio.

Verifica-se que a massa com lipoxigenase ativa de soja desenvolvida em atmosfera de nitrogênio apresentou, em relação às outras massas, uma redução na concentração de lipídios neutros e de glicolipídios e um aumento na concentração de fosfolipídios.

Estes resultados sugerem que a ação da lipoxigenase ativa de soja, na presença de oxigênio, promoveria uma alteração na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios na

TABELA XVIII

Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja, do descanso da massa e da atmosfera de nitrogênio na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios na fração de lipídios ligados.

Lipídios neutros (%)	Glicolipídios (%)	Fosfolipídios (%)	Recuperação (%)*
13,51	43,54	42,93	81,47

* Recuperação = $\frac{\text{Peso das frações}}{\text{Peso da amostra}} \times 100$

na fração de lipídios ligados da massa. Entretanto, como observado no item 4.3.3, estes resultados também não permitem afirmar a ação categórica da enzima nesta fração.

Verifica-se que a massa com lipoxigenase ativa de soja desenvolvida em atmosfera de nitrogênio, com relação às massas com e sem enzima desenvolvidas em atmosfera de oxigênio, apresentou uma redução na concentração de lipídios neutros e de glicolipídios e um aumento na concentração de fosfolipídios.

Estes resultados reforçam a hipótese, já observada no item 4.3.3., de que a ação da lipoxigenase ativa de soja, na presença de oxigênio, promoveu uma alteração na distribuição dos lipídios neutros, glico e fosfolipídios na fração de lipídios ligados da massa.

4.3.10 - Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja na composição dos ácidos graxos nas frações de lipídios livre e ligados.

A Tabela XIX mostra a composição dos ácidos graxos na fração de lipídios livres na farinha e em massas com e sem adição de lipoxigenase. Os ácidos palmítico (18,24%), oléico (19%,21), linoléico (56,11%) e linolênico (4,04%) são quantitativamente os principais ácidos graxos presentes na fração de lipídios livres da farinha.

A mistura promoveu a oxidação dos ácidos linoléico e linolênico e a mistura da massa na presença de lipoxigenase ativa de soja à massa promoveu maior oxidação dos mesmos. O ácido linolênico presente nesta fração foi praticamente todo oxidado, enquanto a concentração de ácido linoléico foi reduzida à metade.

À semelhança dos resultados obtidos com a fração de lipídios livres, a adição da lipoxigenase ativa de soja também reduziu as concentrações dos ácidos linoléico e linolênico na fração de lipídios ligados (Tabela XX).

Estes resultados mostraram a efetividade da ação da lipoxigenase ativa de soja sobre os ácidos linoléico e linolênico presentes nas frações de lipídios livres - principalmente - e ligados da massa, e concordam com os dados da literatura (DANIELS et alii, 1966; MANN & MORRISON, 1974; MORRISON & PANPAPRAI, 1975 e POMERANZ, 1968).

TABELA XIX

Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja na composição dos ácidos graxos insaturados na fração de lipídios livres da massa.

ÁCIDOS GRAXOS (%)	AMOSTRAS		
	1	2	3
Mirístico	0,15	0,12	0,18
Palmitico	18,24	16,78	18,70
Palmitoléico	0,62	0,60	0,42
Estearico	1,08	2,43	6,20
Oléico	19,21	26,55	46,17
Linoléico	56,11	49,34	28,23
Araquídico	0,16	0,18	0,05
Linolênico	4,04	3,96	0,02

1. Farinha

2. Massa-padrão

3. Massa-padrão com lipoxigenase ativa de soja

TABELA XX

Efeito da adição de lipoxigenase ativa de soja na composição dos ácidos graxos insaturados na fração de lipídios ligados da massa.

ÁCIDOS GRAXOS (%)	AMOSTRAS		
	1	2	3
Mirístico	0,14	0,13	0,27
Palmitico	18,88	18,93	25,94
Palmitoléico	0,66	1,42	2,30
Esteárico	1,00	1,12	1,55
Oléico	15,26	15,05	18,79
Linoléico	60,06	59,25	48,11
Araquídico	0,01	0,17	0,09
Linolênico	3,90	3,90	2,92

1. Farinha

2. Massa-padrão

3. Massa-padrão com lipoxigenase ativa de soja

V. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados permitem concluir que:

- a adição de lipoxigenase ativa de soja à massa aumentou a absorção de água, o tempo de desenvolvimento e a elasticidade das massas desenvolvidas a 63 rpm;

- a adição de lipoxigenase ativa de soja em massas desenvolvidas a 150 rpm não provocou alteração nas curvas obtidas no Do-Corder. Entretanto, a elasticidade destas massas foi maior que a daquelas desenvolvidas a 63 rpm;

- a adição da enzima provocou um aumento de 4 e 12% nos níveis de lipídios livres na massa, após a mistura e após o descanso, respectivamente;

- a adição de lipoxigenase ativa de soja provocou, na fração de lipídios livres da massa, um decréscimo na concentração de lipídios neutros e um aumento marcante nas concentrações de glico e fosfolipídios, enquanto que a fração de lipídios ligados apresentou um discreto aumento nas concentrações de glico e fosfolipídios e um ligeiro decréscimo no teor de lipídios neutros;

- a adição da enzima promoveu um aumento na concentração de lipídios ligados ao glúten;

- a adição de lipoxigenase ativa de soja provocou na fração de lipídios livres do glúten um aumento na concentração de lipídios neutros e uma redução nos teores de glico e fosfolipídios, enquanto na fração de lipídios ligados foi observado um decréscimo no teor de lipídios neutros e um aumento no total de fosfolipídios, não alterando, entretanto, a porcentagem de glicolipídios;

- a adição da enzima não provocou variações evidentes na fração de lipídios livres e ligados da gliadina e da glutenina;

- a adição de lipoxigenase ativa de soja promoveu na fração de lipídios livres da gliadina um redução da concentração de lipídios neutros e glicolipídios e um acréscimo no teor de fosfolipídios, enquanto na fração de lipídios ligados foi observada uma diminuição no teor de lipídios neutros e fosfolipídios e um aumento na concentração de glicolipídios;

- a adição da enzima provocou na fração de lipídios livres da glutenina um decréscimo na concentração de lipídios neutros e um aumento dos teores de glico e fosfolipídios; na fração de lipídios ligados foi observado um acréscimo no total de lipídios neutros e uma redução no teor de fosfolipídios, enquanto os glicolipídios não sofreram alteração;

- a adição da enzima às massas desenvolvidas em atmosfera de nitrogênio promoveu uma distribuição dos lipídios livres e ligados, bem como a distribuição de lipídios neutros, glico e fosfolipídios destas frações, mais próxima àquela apresentada pela massa desenvolvida em atmosfera de oxigênio;

- a adição da lipoxigenase ativa de soja provocou a oxidação de praticamente todo o ácido linolênico presente na fração de lipídios livres da massa, enquanto a concentração de ácido linoléico foi praticamente reduzida à metade; nas frações de lipídios ligados foi também observada uma redução nos teores dos ácidos linoléico e linolênico, entretanto, a fração de lipídios livres apresentou uma maior taxa de oxidação.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. Approved methods of the American Association of Cereal Chemists. 7ed. St. Paul, 1969. v. 1 e 2.

AXELROD, B. Lipoxygenases. Food related enzymes. MEETING OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, 166. Chicago, Ill., aug, 28-29, 1973. John R. Whitake, Ed. Washington, D. C., 325-348, 1974.

BELL, B.M; DANIELS, D.G.H.; FISHER, N. Physical aspects of the improvement of dough by fat. Food Chemistry, 2:57-70, 1977.

BÉKÉS, F.; ZAWISTOWSKA, U.; BUSHUK, W. Protein-lipid complexes in the gliadin fraction. Cereal Chemistry, 60(5): 371-378, 1983a.

BÉKÉS, F.; ZAWISTOWSKA, U.; ZILLMAN, R.R.; BUSHUK, W. Lipid mediated aggregation of gliadin. Cereal Chemistry, 60(5): 379-380, 1983b.

BÉKÉS, F.; ZAWISTOWSKA, U.; ZILLMAN, R.R.; BUSHUK, W. Relationship between lipid content and composition and loaf volume of twenty-six common spring wheats¹. Cereal Chemistry, 63(4): 327-331, 1986.

CHUNG, O.K. Lipid-protein interactions in wheat flour, dough, gluten, and protein fractions^{1,2}. Cereal Foods World, 31(3) 242-255, 1986.

CHUNG, O.K. & POMERANZ, Y. Recent Research on wheat lipids¹. The Bakers Digest, october, 38-50, 1981

CHUNG, O.K.; POMERANZ, Y.; FINNEY, K. F. Wheat flour lipids in breadmaking¹. Cereal Chemistry. 55(5): 598-618, 1978.

DAHLE, L. & SULLIVAN, B. The oxidation of wheat flour. V. Effect of lipid peroxides and antioxidants¹. Cereal chemistry, 40: 372-384, 1963.

DANIELS, N.W.; FRAZIER, P. J.; WOOD, P. S. Flour lipids and dough development. The Bakers Digest, August, 20-28, 1971.

DANIELS, N.W.R.; RICHMOND, J. W.; RUSSELL EGGITT, P.W.; COPPOCK, J. B.M. Studies on the lipids of flour. III - lipid binding in breadmaking. Journal of the Science Food and Agriculture, 17: 20-29, 1966.

DANIELS, N.W.R.; RICHMOND, J. W.; RUSSELL EGGITT, P.W.; COPPOCK, J.B.M. Studies on the lipids of flour. IV. - Factors affecting lipid binding in breadmaking. Journal of the Science Food and Agriculture, 20:129-136, 1968.

- DANIELS, N.W.R.; WOOD, P. S.; RUSSELL EGGITT, P.W.; COPPOCK, J.B. M. Studies on the lipids of flour. 5. Effect of air on lipid binding. Journal of the Science Food and Agriculture, 21, 377-384, 1970.
- DIAZ, N.M. & ARAÚJO, W.M.C. Efeito da lipoxigenase de soja sobre as características reológicas de farinhas brasileiras. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 10, São Paulo, 1987. Anais. Campinas, SBCTA, 1987.
- ESKIN, N.A.M.; GROSSMAN, S.; PINSKY, A. Biochemistry of lipoxygenase in relation to food quality. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 9(1): 1-40, 1977.
- ESTEVES, W.; MERCADANTE, A.Z.; ROSSI, E.A.; MAROCHI, M.A.; ROMANELLI, P.F.; FERRARI, R.A. Constituição lipídica da semente do adlay. Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 21(2): 95-101, 1987.
- FAUBION, J.M. & HOSENEY, R.C. Lipoxygenase: its biochemistry and role in breadmaking¹. Cereal Chemistry 58(3): 175-180, 1981.
- FINNEY, K.F. Fractionation and reconstituting techniques as tools in wheat flour research. Cereal Chemistry, 20(3): 381-396, 1943.

FINNEY, K.F. & BARMORE, M.A. Loaf volume and protein content of hard winter and spring wheats. Cereal Chemistry, 25(5):291-312, 1948.

FISHER, N.; BELL, B.M.; RAWLINGS, C.E.B. Lipid binding in flour, dough and bread. Journal of the Science Food and Agriculture, 24, 147-155, 1973.

FRAZIER, P.J. Lipxygenase action and lipid binding in breadmaking. The Bakers Digest, dec., 8-20, 1979.

FRAZIER, P.J.; BRIMBLECOMBE, F.A.; DANIELS, N.W.R. Effect of enzyme active soya flour on the rheological and baking properties of wheat flour doughs. INTERNATIONAL CONGRESS FOOD SCIENCE TECHNOLOGY, 4. Proceedings. v.1, 127-129, 1974.

FRAZIER, P.J.; BRIMBLECOMBE, F.A.; DANIELS, N.W.R.; EGGITT, P.W. R. The effect of lipxygenase action on the mechanical development of doughs from fat-extracted and reconstituted wheat flours^a. Journal of the Science Food and Agriculture, 28:247-254, 1977.

FRAZIER, P.J.; LEIGH-DUGMORE, F.A.; DANIEL, N.W.R.; EGGITT, P.W. R.; COPPOCK, J.B.M. The effect of lipxygenase action on the mechanical development of wheat flour doughs^a. Journal of the Science Food and Agriculture. 24:421-436, 1973.

GARDNER, M.W. Lipxygenase pathway in cereals. Advances in Cereal Science and Technology, 2: 161-215, 1988.

GROSSKREUTZ, J.C. A lipoprotein model of wheat gluten structure. Cereal Chemistry, 38: 336, 1961.

HARTMAN, L. & LAGO, C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. Laboratory Practice, 22(8): 475-476, 1973.

HESS, K. & MAHL, M. Elektronmikroskopische beobachtungen an mehl und mehlpriparaten von weizen. Mikroskopie 2: 81, 1954.

HOSENEY, R.C.; POMERANZ, Y.; FINNEY, K.F. Functional (breadmaking) and biochemical properties of wheat flour components. VI. Gliadin-lipid-glutenin interaction in wheat gluten. Cereal Chemistry 47: 153-166, 1970.

HOSENEY, R.C. & FINNEY, K.F. Functional (breadmaking) and biochemical properties of wheat flour components XI. A review. Bakers Digest, 45(4): 30-36, 39-40, 1971.

HOSENEY, R.C.; RAO, H.; FAUBION, J.; SIDHU, J. S. Mixograph studies. IV. The mechanism by which lipxygenase increases mixing tolerance. Cereal Chem. 57 (3): 163-166, 1980.

KATES, M. Techniques of lipidiology. isolation, analysis and identification of lipids. American Elsevier Publishing Company, INC. 1972.

KIEFFER, R. & ROSCH, N. Improvement of dough and baking properties of wheat flour by type II lipoxygenase from soybeans. Zlebensm Unters Forsch, 170 (4) 258-261, 1980.

LIN, M.J.Y.; YOUNGS, V.L.; D' APPOLONIA, B.L. Hard red spring and durum wheat polar lipids. I. Isolation and quantitative determinations. Cereal Chemistry, 51: 17-33, 1974.

MacRITCHIE, F. Flour lipids and their effects in backing. Journal of the Science Food and Agriculture, 28:53, 1977.

MANN, D. L. & MORRISON, W.R. Changes in wheat lipids during mixing and resting of flour-water doughs. Journal of the Science Food and Agriculture, 25: 1109-1119, 1974.

MANN, D.L. & MORRISON, W.R. Effects of ingredients on the oxidation of linoleic acid by lypoxigenase in bread doughs. Journal of the Science Food and Agriculture, 26:493-505, 1975.

MORRISON, W.R. Cereal lipids. Advances in Cereal Science and Technology, 2:221-348, 1978.

MORRISON, W.R. Lipids in flour, dough and bread. The Bakers Digest, Aug., 29-36, 1976.

MORRISON, W.R. & PANPAPRAI, R. Oxidation of free and esterified linoleic and linoleic acids in bread doughs by wheat and soya lipoxygenases. Journal of the Science Food and Agriculture, 26, 1225-1236, 1975.

NICOLAS, J. Mise au point sur l'action d'enzymes d'oxydoréduction en technologie boulangère. La maturation des farines de blé tendre et le pétrissage des pâtes. Annales Technologie Agricole, 28 (4):445-468, 1979.

NICOLAS, J. & DRAPRON, R. Influence of some biochemical parameters on lipoxygenase activity during breadmaking. WORLD CEREAL AND BREAD CONGRESS, 7. Prague, 1982. Proceedings. Prague, 1982, 819-824.

ORTH, H.A. & BUSHUK, W. Studies of Glutenin. I. Comparison of preparative methods¹. Cereal Chemistry 50:106-113, 1973.

POMERANZ, Y. Functional properties of food components. Academic Press, 1985a.

POMERANZ, Y. Wheat chemistry and technology. St. Paul, American Association of Cereal Chemists, 1968.

POMERANZ, Y. Wheat flour lipids-what they can and cannot do in Bread¹. Cereal Foods World, 30(2): 443-446, 1985b.

PONTE Jr, J. G.; De STEFANIS, V.A.; COTTON, R.H. Studies of gluten lipids. I. Distribution of lipids in gluten fractions separated by solubility in 70% ethanol. Cereal Chemistry 44: 427, 1967.

PRATT Jr., D.B. Criteria of flour quality. In: POMERANZ, Y. Wheat chemistry and technology. 2 ed. St. Paul, ed. AACC, 1978. cap. 5, p. 201-226.

RACKIS, J.J. Enzymes in soybean processing and quality control. MEETING OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, 172. San Francisco, Cali, Aug. 30-31, 1976. In: Enzymes in Food and Beverage Processing. Edt. American Chemical Society, Washington, D.C., 1977, 244.

RANUM, P.M.; BARRETT, F.F.; LOEWE, R.J.; KULP, K. Nutrient levels in internationally milled wheat flours. Cereal Chemistry. 57 (5): 361-366, 1980.

SCHUSTER, G. & ADAMS, W. F. Emulsifiers as additives in bread and fine baked products. Advances in Cereal Science and Technology, 6:139-287, 1984.

- SMITH, D.E. & ANDREWS, J.S. The uptake of oxygen by flour doughs. Cereal Chemistry, 34(5): 323-336, 1957.
- SMITH, D.E.; Van BUREN, J.P.; ANDREWS, J.S. Some effects of oxygen and fat upon the physical and chemical properties of flour doughs¹. Cereal Chemistry, 34(5): 337-349, 1957.
- SURREY, K. Spectrophotometric method for determination of lipoxidase activity. Plant Physiology, 39:65-70, 1964.
- TSEN, C.C. & HLYNKA, I.I. The role of lipids in the oxidation of doughs. Cereal Chemistry, 39, 209, 1962.
- TSEN, C.C. & HLYNKA, I.I. Flour lipids and oxidation of sulfhydryl groups in dough. Cereal Chemistry, 40, 145, 1963.
- VITTI, P. Lípidos da farinha e seu papel na panificação. Boletim do Instituto de Tecnologia de Alimentos, 19(1):21-31, 1982.
- WEHRLI, M.P. The synthesis of glycolipids and their role in breadmaking. Manhattan, Kansas State University, 1969. Dissertation (PhD).
- WEHRLI, H.P. & POMERANZ, Y. A note on the interaction between glycolipids and wheat flour macromolecules. Cereal Chemistry, 47:160, 1970a.

WEHRLI, H P. & POMERANZ, Y. A note on autoradiography of tritium-labeled galactolipids in dough and bread. Cereal Chemistry, 47:221, 1970b.

ZAWISTOWSKA, U.; BÉKÉS, F.; BUSHUK, W. Intercultivar variations in lipid content, composition and distribution and their relation to baking quality¹. Cereal Chemistry, 61 (6): 527-531, 1984.

ZAWISTOWSKA, U.; BÉKÉS, F.; BUSHUK, W. Gluten proteins with high affinity to flour lipids¹. Cereal Chemistry, 62 (4): 284-289, 1985.