

Alterações físico-químicas induzidas por processo germinativo de sementes de milho de pericarpo roxo

Physicochemical changes induced by the sprouting process of purple pericarp corn kernels

DOI:10.34117/bjdv9n2-125

Recebimento dos originais: 23/01/2023

Aceitação para publicação: 22/02/2023

Irene Andressa

Doutoranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Instituição: Universidade Federal de Viçosa

Endereço: Av. Peter Henry Rolfs, s/n, Campus Universitário, Viçosa - MG

E-mail: irene.andressa@hotmail.com

Glauce Kelly Silva Nascimento

Graduanda em Engenharia de Alimentos

Instituição: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Endereço: Campus JK, MGT 367, Km 583, nº 5000, Alto da Jacuba, Diamantina – MG,
CEP: 39100-000

E-mail: glauce.kelly@ufvjm.edu.br

Tatiane Monteiro dos Santos

Graduanda em Ciência e Tecnologia

Instituição: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Endereço: Campus JK, MGT 367, Km 583, nº 5000, Alto da Jacuba, Diamantina - MG,
CEP:39100-000

E-mail: tatiane.santos@ufvjm.edu.br

Josimar Rodrigues Oliveira

Doutor em Agronomia

Instituição: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Endereço: Campus JK, MGT 367, Km 583, nº 5000, Alto da Jacuba, Diamantina - MG,
CEP: 39100-000

E-mail: josimar.oliveira@ufvjm.edu.br

Vivian Machado Benassi

Doutora em Bioquímica

Instituição: Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Endereço: Campus JK, MGT 367 - Km 583, nº 5000, Alto da Jacuba,
Diamantina - MG, CEP: 39100-000

E-mail: vivian.benassi@ict.ufvjm.edu.br

Marcio Schmiele

Doutor em Tecnologia de Alimentos

Endereço: Campus JK, MGT 367 - Km 583, nº 5000, Alto da Jacuba,
Diamantina - MG, CEP: 39100-000

E-mail: marcio.sc@ict.ufvjm.edu.br

RESUMO

A germinação é uma técnica factível e de baixo custo capaz de melhorar as características sensoriais, nutricionais e tecnológicas do milho. O presente trabalho teve como objetivo avaliar os parâmetros morfométricos, curva de maceração, vigor das sementes, tamanho de radícula, composição centesimal, compostos fenólicos totais (CFT), parâmetros de cor instrumental (L^* , a^* e b^*) e análise de imagem por microscopia eletrônica de varredura (MEV) do amido nas sementes de milho crioulo de pericarpo roxo oriundas da região de Couto de Magalhães de Minas-MG submetidos ao processo de germinação. As sementes apresentaram 35 % de umidade ao final da maceração, o que está diretamente relacionado aos parâmetros morfométricos e físico-químicos do grão. Além disso, as sementes de milho crioulo de pericarpo roxo apresentaram vigor germinativo satisfatório (89,4 %), considerado similar às sementes comerciais. A germinação promoveu redução do teor proteico e lipídico das amostras germinadas ($8,36 \pm 0,73 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ de proteína e $3,44 \pm 0,38 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ de lipídios) em relação ao controle (farinha de milho não germinado, $10,29 \pm 0,49 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ de proteína e $5,27 \pm 0,42 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ de lipídios). Além disso, houve alterações significativas ($p < 0,05$) dos parâmetros de cor instrumental avaliados da farinha de milho germinada (L^* : $81,97 \pm 0,36$; a^* : $3,16 \pm 0,15$; b^* : $18,97 \pm 0,15$) quando comparada ao controle (L^* : $71,26 \pm 1,22$; a^* : $6,15 \pm 0,27$; b^* : $25,50 \pm 0,19$). No entanto, as amostras de milho germinado apresentaram incremento de 50,83 % dos CFT com relação ao milho não germinado. Nesse sentido, a germinação do milho de pericarpo roxo favoreceu a liberação de compostos fenólicos, apresentando-se uma técnica promissora para agregar valor a um produto regional e com potencial para a elaboração de novos produtos.

Palavras-chave: ácidos fenólicos, baixo custo, biotecnologia, enzimas, pigmentos.

ABSTRACT

Sprouting is a feasible and low-cost bioprocess capable of improving the sensory, nutritional and technological characteristics of corn kernels. This work aimed to evaluate the morphometric parameters, soaking curve, seed vigor, radicle length, proximate composition, total phenolic compounds (TFC), instrumental color (parameters L^* , a^* and b^*) and image analysis by scanning electron microscopy (SEM) of starch in creole purple pericarp corn seeds from the region of Couto de Magalhães de Minas-MG, subjected to the germination process. The seeds presented 35 % of moisture at the end of the soaking, which is directly related to the morphometric and physical-chemical parameters of the grain. In addition, the creole purple pericarp corn seeds showed satisfactory germination vigor (89.4 %), considered similar to commercial corn seeds. Sprouting promoted a reduction in the protein and lipid content of the sprouted samples ($8.36 \pm 0.73 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$ of protein and $3.44 \pm 0.38 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$ of lipids) in relation to the control (ungerminated corn flour, $10, 29 \pm 0.49 \text{ g.}100\text{g}^{-1}$ of protein and $5.27 \pm 0.42 \text{ g.}100 \text{ g}^{-1}$ of lipids). In addition, there were significant changes ($P < 0.05$) in the instrumental color parameters evaluated for the sprouted corn flour (L^* : 81.97 ± 0.36 ; a^* : 3.16 ± 0.15 ; b^* : 18.97 ± 0.15) when compared to the control (L^* : 71.26 ± 1.22 ; a^* : 6.15 ± 0.27 ; b^* : 25.50 ± 0.19). However, the germinated corn samples showed an increase of 50.83 % of the TPC in relation to the non-sprouted kernels. In this sense, the sprouting of purple pericarp corn favored the release of phenolic compounds, presenting a promising technique to add value to a regional product and with potential for the development of new products.

Keywords: phenolic acids, low cost, biotechnology, enzymes, pigments.

1 INTRODUÇÃO

O milho (*Zea mays* L.) é um dos cereais mais cultivados e estudados do mundo, representando a base da alimentação de diversos povos (DONGMO et al., 2020). Esta cultura se destaca pela capacidade de adaptação às condições climáticas em função do desenvolvimento de variedades adequadas, versatilidade e valor nutricional (vitaminas, proteínas, minerais, carotenoides e compostos fenólicos) (ROUF SHAH et al., 2016).

No entanto, o milho comercial é na grande maioria o transgênico, cujas sementes muitas vezes são inacessíveis aos pequenos produtores. Por outro lado, as sementes crioulas são variedades locais manejadas por quilombolas, indígenas, ribeirinhos e agricultores tradicionais, sendo que os grãos nunca passaram por nenhum tipo de modificação genética ou cruzamento com outras variedades. Assim, geralmente possuem características particulares e são adaptadas às condições ambientais locais (ALVES et al., 2020). Logo, as variedades crioulas possuem um valor imensurável para as populações tradicionais e fazem parte da agrobiodiversidade (CATÃO et al., 2010).

Por outro lado, a presença de compostos antinutricionais e a baixa biodisponibilidade de nutrientes faz com que a germinação seja uma alternativa biotecnológica viável e de baixo custo para tornar o consumo do milho mais vantajoso do ponto de vista nutricional (SOKRAB et al., 2012). O entendimento sobre as alterações promovidas pelo processo germinativo em sementes crioulas apresenta potencial para valorizar o desenvolvimento regional, a agricultura familiar e a sustentabilidade, destacando-se a manutenção da capacidade produtiva do agroecossistema, a conservação dos recursos naturais e da biodiversidade, o fortalecimento da organização social, a diminuição da pobreza, o fortalecimento das comunidades locais, a preservação das tradições e do conhecimento tradicional associado (BORGES et al., 2020; SOUZA et al., 2022).

No entanto, há uma escassez de trabalhos na literatura sobre estudo das características morfológicas e avaliação do impacto da germinação em milho crioulo de pericarpo roxo. Assim, o presente trabalho teve como objetivo estudar as características dos grãos de milho crioulo, bem como o efeito da germinação sobre a morfologia do grânulo de amido e nas propriedades físico-químicas das sementes de milho crioulo pericarpo roxo oriundo do município de Couto de Magalhães de Minas (MG).

2 MATERIAL E MÉTODO

2.2 MATERIAL

As sementes de milho crioulo de pericarpo roxo (safra 2020) foram obtidas através do Projeto Milho Crioulo produzidas na Fazenda Experimental Rio Manso (Couto de Magalhães de Minas/MG; 18°4'44,55''S e 43°27'23''W; altitude de 721 m). O projeto foi registrado no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN) sob número A5C29C1 do Ministério do Meio Ambiente da República Federativa do Brasil.

2.3 MÉTODOS

2.3.1 Caracterização físico-química da matéria-prima

2.3.1.1 Peso Hectolitro

O peso hectolitro foi determinado de acordo com a metodologia de Mumbach (2017). Resumidamente, determinou-se a massa de grãos em um recipiente de 250 mL utilizando-se balança semianalítica S2202 (Weblador, Piracicaba, Brasil). A análise foi realizada em quadruplicata e o resultado expresso em kg. hL⁻¹.

2.3.1.2 Peso de mil grãos

Para determinação do peso de mil grãos, contabilizou-se 100 sementes selecionadas aleatoriamente, as quais foram pesadas em balança analítica AVY220 (Shimadzu, Tóquio, Japão) e o resultado multiplicado por 10. A quantificação foi realizada em quadruplicata e o resultado expresso em gramas (MUMBACH et al., 2017).

2.3.1.3 Parâmetros morfométricos

A determinação dos parâmetros morfométricos (comprimento, largura e espessura) foi realizada de acordo com Akinyosoye et al. (2014), com algumas modificações. Resumidamente, 50 sementes foram selecionadas aleatoriamente e as medidas foram realizadas com um paquímetro óptico profissional 150 mm (Western, Suzhou, China) e os resultados expressos em mm.

2.3.2 Curva de maceração

As sementes de milho (200 g) foram sanitizadas com hipoclorito de sódio a 200 ppm por 30 minutos, sendo em seguida lavadas com água destilada por 3 vezes para remoção do cloro residual. Posteriormente, as sementes foram maceradas em água

destilada (1:5, respectivamente) por 24 horas à temperatura ambiente ($\sim 20\text{ }^{\circ}\text{C}$). A cada hora, o líquido de maceração foi drenado e realizada a pesagem das sementes em balança semianalítica S2202 (Weblador, Piracicaba, Brasil). O processo foi realizado em triplicata.

2.3.3 Processo de germinação

Após o processo de maceração, 200 g de sementes sanitizadas de milho crioulo de pericarpo roxo foram dispostas sem sobreposição em bandejas de polietileno ($0,045\text{ m}^2$), sendo a parte inferior e superior da camada de milho recobertas com algodão (aproximadamente 20 g), separadas por uma camada intermediária de papel toalha ($0,044\text{ g/m}^2$), sendo que cada camada de algodão foi umedecida uniformemente com 100 mL de água destilada. As bandejas foram incubadas em BOD TF-33A (Telga, Belo Horizonte, Brasil). Para a manutenção da umidade, uma bandeja de polietileno ($0,042\text{ m}^2$) foi mantida com água na parte interna inferior da BOD e as amostras foram borrifadas com água destilada a cada 12 horas. As sementes foram germinadas por 86 h à $29\text{ }^{\circ}\text{C}$ na ausência de luz. As amostras foram expostas à luminosidade somente quando a BOD era aberta para aspersão de água destilada. A umidade relativa foi mantida na faixa de 75-80 %, obtida por carta psicrométrica, considerando-se as temperaturas de bulbo seco e bulbo úmido.

Após expostos pelo tempo e temperatura de germinação, realizou-se a medição do comprimento da radícula de 50 sementes aleatórias com auxílio de um paquímetro óptico profissional 150 mm (Western, Suzhou, China). Em seguida, as amostras foram dispostas em bandeja perfurada de aço inox de $0,14\text{ m}^2$ e desidratadas em estufa TE-394/1 (Tecnal, Piracicaba, Brasil) com renovação e circulação forçada de ar ($1\text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) a $45 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 12 horas. Após a secagem, as sementes foram resfriadas à temperatura ambiente e as radículas removidas manualmente. Em seguida, o milho foi submetido a moagem em moedor de disco Multi Grãos (Malta, Caxias do Sul, Brasil). As farinhas de milho de pericarpo roxo germinadas foram armazenadas em embalagem de polipropileno biorientado sob refrigeração ($4,0 \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$), na ausência de luz.

Como controle, o milho não germinado foi submetido as mesmas condições de moagem e armazenamento das sementes germinadas, bem como das respectivas análises realizadas.

2.3.4 Vigor das sementes

A determinação do vigor das sementes foi realizada de acordo com Henning et al. (2010), com modificações. Resumidamente, as amostras de 200 g milho germinado foram submetidas ao quarteamento e uma porção foi escolhida de maneira aleatória, onde foram contabilizadas o número total de sementes e a quantidade de grãos que apresentavam radícula. O cálculo do vigor das sementes foi realizado conforme Equação 1 e os resultados expressos em porcentagem.

$$\text{Vigor das sementes (\%)} = \frac{S_g \times 100}{S_t} \times 100 \quad [\text{Equação 1}]$$

Onde: S_t é o total de sementes da amostragem e S_g o número de sementes que apresentavam radícula.

2.3.5 Composição centesimal

As amostras de milho controle e germinado foram avaliadas quanto aos teores de umidade (método 44-15.02), lipídeos (método 30-25.01), cinzas (método 08-01) e proteínas (método 46-11.02, N = 6,25) da *American Association of Cereal Chemists International* (AACCI, 2010). O teor de carboidratos digeríveis (açúcares e amido) foram determinados pelo método 982.14 e as fibras alimentares pelo método 978.10 da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2019). As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em g. 100 g⁻¹.

2.3.6 Cor instrumental

Os parâmetros colorimétricos foram determinados em colorímetro CM-5 Konica (Minolta, Chiyoda, Japão), no espaço de cor L^* , a^* , b^* . As leituras foram feitas com iluminante D65, ângulo de visão de 10° para o observador e o modo de calibração RSIN - *Reflectance Specular Included* (SCHMIELE et al., 2015).

2.3.7 Compostos fenólicos solúveis totais

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado de acordo com a metodologia proposta por Cáceres et al. (2014). Resumidamente, para as farinhas foram pesadas alíquotas de 1,5 g em tubo falcon de 50 mL (em duplicata) utilizando-se balança analítica AVY220 (Shimadzu, Tóquio, Japão). Em seguida, adicionou-se 9 mL de solução

extratora composta por metanol:água (60:40 v/v). Os tubos foram revestidos com papel alumínio para evitar contato com a luz e mantidos sob agitação em mesa agitadora orbital SL 180/DT (Solab, Piracicaba, Brasil) a 240 RPM em temperatura ambiente ($\sim 20^\circ\text{C}$) por 16 horas. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a $2500 \times g$ por 10 minutos em centrífuga Sorvall ST 8 (Thermo Fiser Scientific, Jiangsu, China). O sobrenadante foi transferido para balões volumétricos de 10 mL e o volume foi aferido com solução extratora e recobertos com papel alumínio. A absorbância das amostras foi determinada em espectrofotômetro de absorção UV-M5 1 (Bel Photonics, Monza, Itália) com comprimento de onda de 750 nm, utilizando-se curva padrão de ácido gálico de 7 pontos (0 a 150 mg/L) ($y = 0,0037x + 0,011$; $r^2 = 0,9969$). As leituras foram realizadas em triplicata para cada repetição dos extratos metanólicos da farinha e expressos em mg de ácido gálico por 100 g de farinha (em base seca).

2.4 CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL DO AMIDO DE MILHO CONTROLE E GERMINADO

2.4.1 Isolamento do amido

O isolamento do amido das amostras de milho nativo e germinado foi realizado conforme descrito por Kringel et al. (2020) com pequenas modificações. As amostras foram maceradas em água destiladas na proporção 1:2 (milho: água – m/m) com adição de bissulfito de sódio (0,3 % de SO_2 ativo – m/m) em banho maria SL-150 (Solab, Piracicaba, Brasil) à $52 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24 horas. Decorrido esse tempo, o líquido de maceração foi drenado e as amostras foram lavadas com água destilada. Em seguida, adicionou-se água destilada na proporção 1:2 (milho:água – m/m) e as amostras foram trituradas em mixer PMX-700 (Philco, Curitiba, Brasil) na velocidade máxima por 2 minutos. O material triturado foi filtrado em malha de 0,88 mm e transferido para tubos de centrífuga de 50 mL, os quais foram submetidos a separação das frações em centrífuga Sorvall ST 8 (Thermo Fisher Scientific, Jiangsu, China) por 10 minutos a $2500 \times g$. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado e a camada proteica raspada cuidadosamente com auxílio de uma espátula. Para a purificação, o precipitado foi ressuspenso em água destilada e novamente centrifugadas até que a camada proteica fosse inexistente. Em seguida, o amido de milho foi ressuspenso em etanol PA e filtrado em papel filtro Whatman nº 5 (papel filtro qualitativo com gramatura de 80 g/m^2 e diâmetro de 125 mm) acoplado com bomba a vácuo 121 (Primatec, Porto Alegre, Brasil). O amido foi seco em estufa com circulação (1 m.s^{-1}) e renovação de ar TE 394/1 (Tecnal,

Piracicaba, BRA) a 40 ± 1 °C por 12 horas. As amostras foram acondicionadas em embalagens de polipropileno biorientado à temperatura ambiente (~ 20 °C).

2.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para a morfologia dos grânulos de amido, as amostras foram fixadas em suporte sobre folha de carbono e analisadas em microscópio eletrônico de varredura TM3000 (Hitachi, Tokyo, Japão). A tensão de aceleração utilizada foi de 15 kV e a corrente de feixe de 33,9 μ A para obtenção das micrografias avaliadas com aumento de magnitude de 5000 x, seguindo metodologia descrita por Schmiele et al. (2015).

2.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados quantitativos foram avaliados estatisticamente através do teste *t-Student*, com 5 % de nível de significância.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MATÉRIAS-PRIMAS

3.1.1 Características do grão

O milho crioulo de pericarpo roxo estudado apresentou peso hectolitro de $76,78 \pm 0,19$ kg.hL⁻¹, peso de mil grãos de $324,53 \pm 7,93$ g, largura de $9,99 \pm 0,91$ mm, comprimento de $8,47 \pm 1,49$ mm e espessura de $5,63 \pm 1,96$ mm. As propriedades físicas dos grãos estão ligadas aos fatores genéticos e podem variar de acordo com a variedade, condições climáticas (incidência de chuvas, sol, vento, condições do solo) e de cultivo (irrigação, agrotóxicos, fertilizantes).

O peso hectolitro é um padrão de qualidade do milho, por ser um indicativo da proporção de endosperma vítreo e farináceo presente no grão e de rendimento de moagem pela indústria. O aumento do peso hectolitro ocorre em função da maior compactação dos grânulos de amido proporcionado pela maior densidade da matriz proteica, o qual é determinado pela presença de aminoácidos sulfurados e a consequente formação de ligações dissulfeto na estrutura primária da proteína envolvendo o aminoácido essencial cisteína. Esta compactação deve-se pela oxidação dos resíduos sulfidrila da cisteína resultando na formação da ligação dissulfeto, formando a cistina e, conseqüentemente, maior a proporção de endosperma vítreo em função da expulsão do ar ocluso, aumentando a densidade e o valor do peso hectolitro (AMADOR-RODRÍGUEZ et al., 2019).

Assim como o peso hectolitro, a massa de mil grãos é um indicativo do tamanho do grão, da porosidade e, juntamente com os parâmetros morfométricos (largura, comprimento e espessura), são de suma importância para o processo de germinação. O tamanho das sementes está diretamente relacionado à capacidade de síntese de proteínas e a maior quantidade de substrato e energia disponíveis para o crescimento da radícula para o desenvolvimento da parte vegetativa (AKINYOSOYE et al., 2014). Dessa forma, o tamanho das sementes é uma das características mais importantes na germinação, pois pode afetar o desenvolvimento do embrião (REZAPOUR et al., 2013).

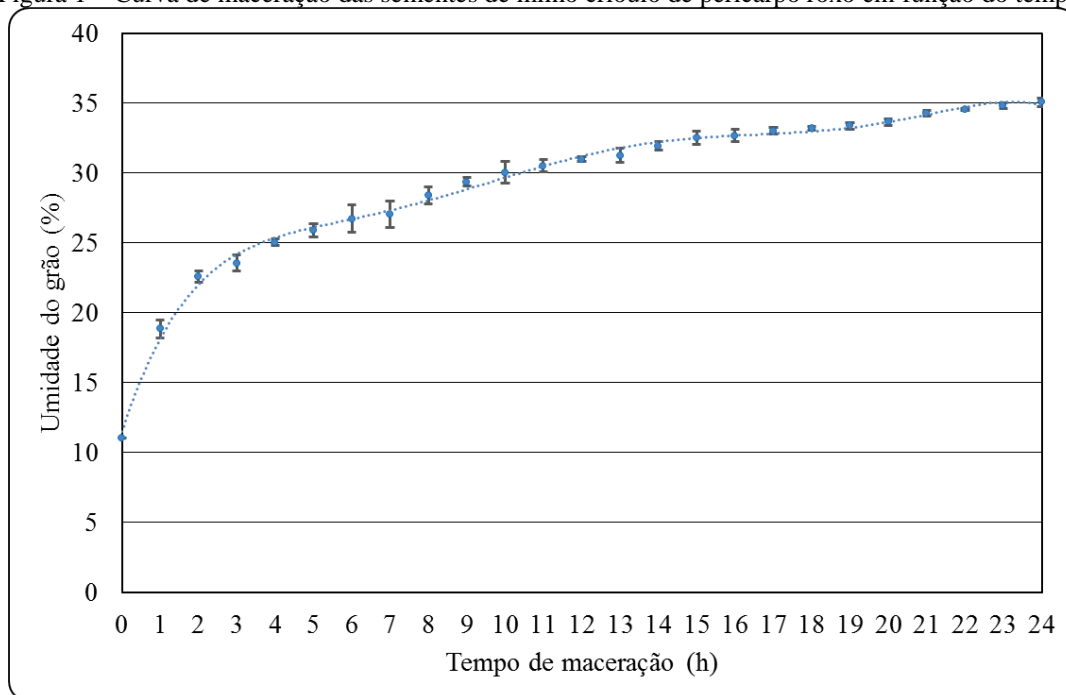
3.1.2 Curva de maceração

A germinação se inicia com a maceração das sementes em água (*hidropriming*), a qual é responsável por promover a retomada do metabolismo das sementes através do amolecimento dos tecidos e o fornecimento da água, solvente essencial para os processos bioquímicos necessários, o que favorece o surgimento da radícula. Além disso, a maceração contribui para a lixiviação de compostos antinutricionais (KIM et al., 2021).

No processo de maceração, a taxa de reidratação das sementes depende da umidade inicial, da composição química, do tamanho do grão, da temperatura, da permeabilidade e da integridade física do grão (AGARRY et al., 2014; BOTELHO et al., 2013). De acordo com Agarry et al. (2014), quanto menor a umidade inicial, maior será a absorção de água dos grãos, principalmente nas primeiras horas do processo. O teor de amido, proteínas e fibras alimentares são os principais responsáveis pela absorção de água das sementes.

Por outro lado, o tamanho e a presença de danos mecânicos aos grãos são responsáveis pelo aumento da taxa de reidratação das sementes. Além disso, grãos menores absorvem mais água devido ao aumento da área de superfície específica para absorção. A presença de danos mecânicos promove uma taxa de absorção mais rápida pela semente, pois promove a formação de orifícios e/ou fissuras que facilitarão a penetração da água nas primeiras horas do processo (BOTELHO et al., 2013). O resultado da taxa de absorção de água em função do tempo está disposto na Figura 1.

Figura 1 – Curva de maceração das sementes de milho crioulo de pericarpo roxo em função do tempo.



Fonte: Dos autores, 2022.

Através da Figura 1 observou-se um rápido intumescimento dos grãos nas primeiras horas do processo. Nonogaki et al. (2010) sugerem que isso pode ser atribuído à hidratação crescente das células nas primeiras horas de reidratação, entretanto, não ocorre de maneira uniforme pelo grão. Durante a primeira fase da maceração, além de promover aumento da umidade da semente, esse período também é responsável pela retomada do metabolismo do grão (NONOGAKI et al., 2010). Para Bello, Tolaba e Suarez (2004), a absorção de água se dá principalmente pelos vasos capilares das camadas mais externas do pericarpo (células tubulares e cruzadas) e tende a estabilizar no decorrer do processo. Este efeito foi observado após 7 horas de maceração dos grãos utilizados neste trabalho. Desta forma, a semente reduz a velocidade de embebição à medida que se aproxima da umidade crítica de hidratação, suficiente para promover a germinação (KLANG et al., 2020).

A temperatura de maceração está atrelada à rapidez do processo, uma vez que temperaturas superiores a 20 °C promovem maior difusão da água nos grãos, reduzindo o tempo de hidratação e as chances de possíveis contaminações. Entretanto, a maceração de milho em temperaturas acima de 70 °C promove a gelatinização do amido, o que ocasiona a ruptura dos grânulos, promove a maior perda de sólidos solúveis e o aumento da viscosidade do líquido de maceração e da absorção de água pelo grão (MARQUES et al., 2016). Além disso, altas temperaturas de maceração podem ocasionar desnaturação

das enzimas endógenas do milho e a inativação do embrião localizado no gérmen, diminuindo ou eliminando a vitalidade do grão, inibindo o processo de germinação. Dessa forma, no presente trabalho as sementes foram maceradas à temperatura ambiente para evitar possíveis danos à estrutura e à vitalidade das sementes, minimizando assim a perda do poder germinativo.

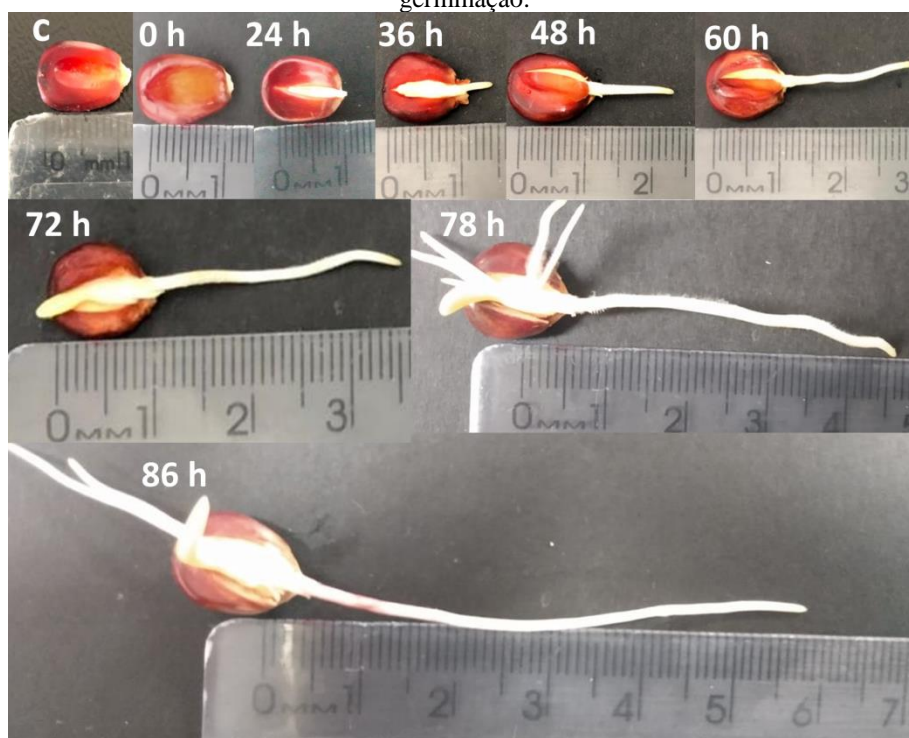
O tempo de maceração varia de acordo com a semente e a quantidade de água absorvida deve ser o suficiente para favorecer o processo germinativo (KLANG et al., 2020). Além disso, a umidade deve ser monitorada para que não ocorra excesso de hidratação da semente, o que pode resultar na falta de oxigenação, comprometendo a viabilidade das sementes e provocando um retardo no crescimento radicular (ALI et al., 2011; PATANÈ et al., 2016). Bryce et al. (2010) propuseram que a umidade final do milho deve ser de no máximo 45 % para que ocorra a germinação adequada, o que vai ao encontro aos resultados obtidos no presente estudo.

Entretanto, a umidade das sementes é mantida por meio do equilíbrio com o ambiente circundante durante a germinação, o que então permite o desenvolvimento da radícula (KIM et al., 2021). Ao final da germinação, as sementes devem submetidas à secagem para interrupção do processo germinativo e aumento da vida útil dos grãos.

3.1.3 Tamanho de radícula e vigor das sementes

A maceração marca o início da germinação dos grãos. No entanto, a semente é considerada germinada quando apresenta uma radícula visível (LEMMENS et al., 2019). No presente trabalho, foi possível observar os primeiros indícios de surgimento da radícula nas primeiras 24 horas de germinação, com uma pequena abertura no pericarpo do grão que foi favorecida pelo processo de maceração e o tamanho final da radícula foi $56,34 \pm 0,70$ mm, conforme ilustrado na Figura 2.

Figura 2: Crescimento radicular dos grãos de milho crioulo de pericarpo roxo ao longo do processo de germinação.



Fonte: Dos autores, 2022.
c: grão não macerado.

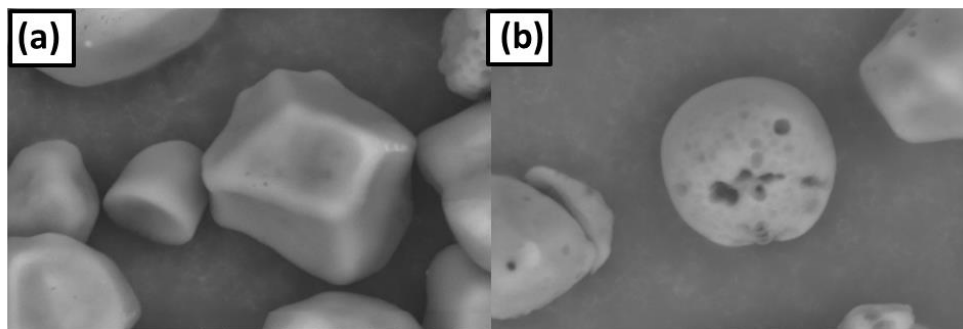
Nesse sentido, as condições do processo germinativo (temperatura e umidade) favorecem o desenvolvimento radicular, principalmente devido à ação de enzimas endógenas (carboidrases, lipases, proteases, fitases, esterases, etc) que atuam sob as reservas de macronutrientes das sementes (açúcares, amido, aminoácidos livres, proteínas e lipídeos, fibras alimentares)(PAUCAR-MENACHO et al., 2022).

Assim, a viabilidade das sementes é de suma importância para a determinação da qualidade e sucesso do processo de germinação e está associada, principalmente, ao armazenamento das sementes maduras (NONOGAKI et al., 2010). As sementes crioulas geralmente apresentam menor vitalidade (poder germinativo) quando comparadas às sementes transgênicas (ALVES et al., 2020). Dessa forma, o vigor das sementes do milho crioulo de pericarpo roxo nas condições estudadas foi de 89,40 %, o que foi considerado bastante satisfatório, demonstrando que o milho crioulo de pericarpo roxo cultivado na região de Couto de Magalhães de Minas pode ter rendimentos similares às sementes comerciais (TIBAES et al., 2018).

3.1.4 Cor instrumental das farinhas e caracterização do amido

A ação de enzimas amilolíticas e proteolíticas endógenas provenientes da germinação ficou evidente nas imagens da microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Figura 3). Pode-se observar que na amostra de amido de milho controle tem-se grânulos intactos com formato hexagonal que provavelmente estão estruturados em uma matriz proteica densa e com pequenos poros na superfície, o que é característico do amido de milho. Ao contrário do amido de milho germinado, onde pode-se observar a presença de poros maiores resultantes do catabolismo das enzimas endógenas produzidas na germinação, que hidrolisam a matriz proteica e as ligações α -1,4-D-glicosídicas do amido.

Figura 3: Microscopia eletrônica de varredura dos amidos de milho crioulo de pericarpo roxo controle e germinado



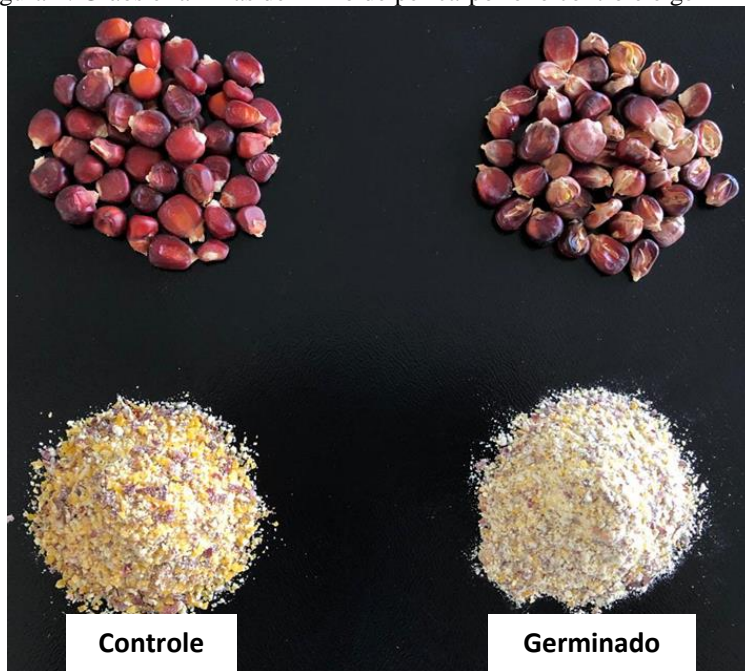
Fonte: Dos autores, 2022.

Onde: (a) amido de milho crioulo de pericarpo roxo; (b) amido de milho crioulo de pericarpo roxo germinado.

Para Claver et al. (2010), a ação enzimática se divide em três fases. Na primeira fase ocorre a difusão das enzimas na superfície do grânulo de amido, onde a porosidade inicial do grânulo de amido de milho nativo favorece a penetração das enzimas. Na segunda fase, a ação das enzimas proteolíticas rompe as ligações peptídicas, hidrolisando as proteínas, promovendo maior espaçamento entre as moléculas de amido, o que facilita a ação de enzimas amilolíticas endógenas nos grânulos de amido, ocorrendo a formação de poros significativamente maiores que vão da superfície até o centro do grânulo, facilitando a movimentação e a ação enzimática. Por fim, a ação acentuada das enzimas promove alterações no grânulo e na matriz proteica e reduzem o tamanho das moléculas de amido e proteína (CHUNG et al., 2012; CLAVER et al., 2010). Dessa forma, os aminoácidos liberados a partir da hidrólise proteica são utilizados como fonte de nitrogênio pela semente em prol do crescimento radicular.

Desse modo, os resultados do MEV ratificam a mudança dos parâmetros instrumentais de cor da farinha de milho germinado (L^* : $81,97 \pm 0,36$; a^* : $3,16 \pm 0,15$; b^* : $18,97 \pm 0,15$) com relação ao controle (L^* : $71,26 \pm 1,22$; a^* : $6,15 \pm 0,27$; b^* : $25,50 \pm 0,19$), que são evidenciados pela Figura 4.

Figura 4: Grãos e farinhas de milho de pericarpo roxo controle e germinado



Fonte: Dos autores, 2022.

O aumento do valor de L^* das amostras das farinhas de milho germinado com relação ao controle devido ao maior índice de refração dos feixes de luz, ocasionado pela redução do tamanho das partículas do amido, resultando em maior friabilidade do endosperma das sementes como resultado da ação das enzimas amilolíticas inerentes ao processo germinativo (MAHAJAN et al., 2021). Assim, esse resultado corrobora para a redução do valor do parâmetro b^* da coloração das farinhas ao longo do processo de germinação que se deve a sobreposição das partículas de amido sob os demais componentes das farinhas, o que resultou na coloração esbranquiçada das amostras. Além disso, a ação da temperatura e do oxigênio também atuou sobre os compostos foto e termossensíveis devido à exposição das sementes às condições de germinação (temperatura, umidade, oxigênio, luz), como é o caso das antocianinas (no pericarpo) e dos carotenoides (no endosperma), os quais são responsáveis pela coloração vermelha ($+a^*$) e amarela ($+b^*$), em respectivo.

3.1.5 Caracterização físico-química das farinhas

Com base na Tabela 1 observou-se que a farinha de milho germinada apresentou menor teor de umidade com relação à amostra controle. Esse resultado pode ser atribuído ao processo de secagem após a maceração e germinação dos grãos e a taxa de respiração das sementes ao longo do processo germinativo, que ocasiona redução da massa seca do grão (CHAUDHARY et al., 2013). Dessa forma, o menor teor de umidade dos grãos germinados também pode promover aumento da vida útil das farinhas produzidas.

Tabela 1: Características físico-químicas das amostras de milho de pericarpo roxo controle e germinado

Parâmetro	Milho controle	Milho germinado
Umidade (g.100 g ⁻¹)	11,01 ± 0,10	9,96 ± 0,29
Proteínas (g.100 g ⁻¹)*	10,29 ± 0,49	8,36 ± 0,73
Amido (g.100 g ⁻¹)*	63,86 ± 4,55 ^{ns}	66,11 ± 1,32 ^{ns}
Cinzas (g.100 g ⁻¹)*	1,28 ± 0,02 ^{ns}	1,12 ± 0,02 ^{ns}
Lipídios (g.100 g ⁻¹)*	5,27 ± 0,42	3,44 ± 0,38
Fibras alimentares (g.100 g ⁻¹)*	19,30 ± 1,32 ^{ns}	20,96 ± 1,56 ^{ns}
Compostos fenólicos totais (mg.100 mL ⁻¹ , em ácido gálico)*	38,42±1,04	57,95 ± 1,41

Fonte: Dos autores, 2022.

ns: não significativo

*Valores expressos em base seca.

Nesse sentido, observou-se que houve redução significativa do teor lipídico e proteico das amostras de milho controle e germinado (Tabela 1). Esse resultado pode ser atribuído a hidrólise das moléculas lipídicas para a liberação de ácidos graxos livres que são utilizadas como fonte de carbono e catabolismo das proteínas, que são utilizadas como fonte de nitrogênio durante a germinação, em prol do crescimento radicular. Além disso, a ativação de enzimas responsáveis pela degradação da parede celular (celulases, esterases e fitases), e rotas de biossíntese de compostos fenólicos, como a via dos fenilpropanoides, explicam o aumento das concentrações de polifenóis solúveis relatados para grãos germinados (LEMMENS et al., 2019). Desta forma, a biossíntese *de novo* promoveu a liberação dos compostos fenólicos esterificados ou eterificados (geralmente por ligações covalentes com os componentes do grão, principalmente com as fibras alimentares). Estes fitoquímicos possuem baixa solubilização para a solução extratora em grãos não germinados. No entanto, a forma livre dos compostos fenólicos foi facilitada pela ação das enzimas, favorecendo a biodisponibilidade dos fitoquímicos (PAUCAR-MENACHO et al., 2022 a, b).

Por outro lado, apesar da ação enzimática evidenciada pelo MEV, observou-se que não houve mudança significativa do teor de amido entre as amostras da farinha de milho controle e germinado, o que se deve a metodologia utilizada que não é capaz de detectar a diferença entre as cadeias do amido e as moléculas de baixa massa molecular resultantes dos processos hidrolíticos.

4 CONCLUSÃO

O emprego do processo biotecnológico da germinação das sementes de milho crioulo de pericarpo roxo se mostrou promissora, com potencial germinativo bastante satisfatório. A ação das enzimas endógenas resultou em uma maior fragilidade aos grânulos de amido. Além disso, a germinação promoveu incremento significativo do teor de compostos fenólicos totais, mas reduziu o teor lipídico e proteico, embora pode ter ocorrido um aumento na biodisponibilidade e bioacessibilidade destes nutrientes. Por outro lado, os compostos responsáveis pela coloração das sementes (carotenoides e antocianinas, principalmente), foram atenuados com o bioprocessamento empregado. Dessa forma, a germinação é uma técnica factível e de baixo custo que pode ser empregada nessas sementes como forma de agregar valor ao milho, com potencial aplicação para a indústria de alimentos para a elaboração de novos produtos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à UFVJM e à UFV pelo suporte institucional, ao projeto Milho Crioulo pela doação do material, à CAPES pela assistência financeira (Código de Financiamento 001) e pela bolsa de estudos de I. Andressa (#88887.677794/2022-00), ao CNPq pelas bolsas de estudos de G.K.S. Nascimento (#158041/2022-4) e T. M. Santos (#138128/2022-7), e ao apoio do LMMA patrocinado pela FAPEMIG (CEX-112-10), SECTES/MG e RQ-MG (FAPEMIG: CEX-RED-00010-14).

REFERÊNCIAS

AACCI. American Association of Cereal Chemists International. **Approved Methods of American Association of Cereal Chemists**. 11 ed. São Paulo, AACCC, 1200 p., 2010.

AGARRY, S. E., AFOLABI, T. J., AKINTUNDE, T. T. Y. Modelling the Water Absorption Characteristics of Different Maize (*Zea Mays* L.) Types during Soaking. **Food Processing and Technology**, v. 5, n. 5, p. 1-9, 2014. DOI:10.4172/2157-7110.100032

AKINYOSOYE, S. T., ADETUMBI, J. A., AMUSA, O. D., OLOWOLAFE, M. O., & OLASOJI, J. O. Effect of seed size on *in vitro* seed germination, seedling growth, embryogenic callus induction and plantlet regeneration from embryo of maize (*Zea mays* L.) seed. **Nigerian Journal of Genetics**, v. 28, n. 2, p. 1–7, 2014. DOI:10.1016/j.nigjg.2015.06.001

ALI, H. M., EL-MAHROUK, E. S. M., HASSAN, F. A., & EL-TARAWY, M. A. Usage of sewage effluent in irrigation of some woody tree seedlings. Part 3: *Swietenia mahagoni* (L.) Jacq. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v.18, n. 2, p. 201–207, 2011. DOI:10.1016/j.sjbs.2010.08.001

ALVES, V. M., HETTER GIEHL, E. L., LOVATO, P. E., VAZ-DE-MELLO, F. Z., AGUDELO, M. B., & MEDINA HERNÁNDEZ, M. I. Dung beetles and the conservation of diversity in an agricultural landscape with maize fields and Atlantic Forest remnants. **Acta Oecologica**, v. 107, e103598, 2020. DOI:10.1016/j.actao.2020.103598

AMADOR-RODRÍGUEZ, K. Y., SILOS-ESPINO, H., VALERA-MONTERO, L. L., PERALES-SEGOVIA, C., FLORES-BENÍTEZ, S., & MARTÍNEZ-BUSTOS, F. Physico-chemical, thermal, and rheological properties of nixtamalized creole corn flours produced by high-energy milling. **Food Chemistry**, v. 283, p. 481–488, 2019. DOI:10.1016/j.foodchem.2019.01.044

BELLO, M., TOLABA M.P. & SUAREZ C. Factors Affecting Water Uptake of Rice Grain during Soaking. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 8, p. 811- 816, 2004. DOI:10.1016/j.lwt.2004.02.014

BORGES, I. M. S., ALMEIDA, R. L. J., FERNANDES, A. C. G., SILVA, S. E., SILVA, M. L. A., BARROS, U. I. G., LIMA, C. A. O., REINALDO, L. R. L. R., GOMES, R. M. & FREIRE, J. G. T. B. Family farming: analysis of sustainability through social economic and environmental indicators. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 4, p. e54942832, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i4.2832

BRYCE, J. H., GOODFELLOW, V., AGU, R. C., BROSNAN, J. M., BRINGHURST, T. A., & JACK, F. R. Effect of different steeping conditions on endosperm modification and quality of distilling malt. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 116, n. 2, p. 125–133, 2010. DOI:10.1002/j.2050-0416.2010.tb00408.x

CATÃO, H. C. R. M.; COSTA, F. M.; VALADARES, S. V.; DOURADO, E. R.; JÚNIOR, D. S. B. & SALES, N. L. P. Qualidade física, fisiológica e sanitária de sementes

de milho crioula produzidas no norte de Minas Gerais. **Revista Ciência Rural**, v. 40, n. 10, p. 2060-2066, 2010. DOI:10.1590/S0103-84782010001000002

CÁCERES, P. J., MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C., AMIGO, L., & FRIAS, J. Maximising the phytochemical content and antioxidant activity of Ecuadorian brown rice sprouts through optimal germination conditions. **Food Chemistry**, v.152, p. 407–414, 2014. DOI:10.1016/j.foodchem.2013.11.156

CHAUDHARY, D. P., KUMAR, S. & LANGYAN, S. **Maize: Nutrition Dynamics and Novel Uses**. 1 ed, Springer New Delhi, p. 161, 2013. DOI:10.1007/978-81-322-1623-0

CHUNG, H. J., CHO, D. W., PARK, J. D., KWEON, D. K., & LIM, S. T. *In vitro* starch digestibility and pasting properties of germinated brown rice after hydrothermal treatments. **Journal of Cereal Science**, v. 56, n. 2, p. 451–456, 2012. DOI:10.1016/j.jcs.2012.03.010

CLAVER, I. P., ZHANG, H., LI, Q., ZHU, K., & ZHOU, H. Impact of the soak and the malt on the physicochemical properties of the sorghum starches. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 11, n. 8, p. 3002–3015, 2010. DOI:10.3390/ijms11083002

DONGMO, H., TAMBO, S. T., TEBOUKEU, G. B., MBOUKAP, A. N., FOTSO, B. S., TEKAM DJUIDJE, M. C., & KLANG, J. M. Effect of process and variety on physicochemical and rheological properties of two corn flour varieties (*Atp and Kassai*). **Journal of Agriculture and Food Research**, v. 2, e100075, 2020. DOI:10.1016/j.jafr.2020.100075

HENNING, F. A., MERTZ, L. M., JACOB JUNIOR, E. A., MACHADO, R. D., FISS, G. & ZIMMER, P. D. Composição química e mobilização de reservas em sementes de soja de alto e baixo vigor. **Bragantia**, v. 69, n. 3, p. 727–734, 2010. DOI:10.1590/s0006-87052010000300026

KIM, H. J., HAN, J. A., LIM, S. T. & CHO, D. H. Effects of germination and roasting on physicochemical and sensory characteristics of brown rice for tea infusion. **Food Chemistry**, v. 350, e129240, 2021. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.129240

KLANG, J. M., WOUATIDEM-NANFACK, S. L., TENE, S. T., BOUNGO, G. T. & WOMENI, H. M. Optimisation of the production of corn amylase flour from corn *Atp* and *Kassai* varieties for the fluidification and energy density increase of cassava gruel. **Heliyon**, v.6, n. 10, 2020. DOI:10.1016/j.heliyon.2020.e05344

KRINGEL, D. H., EL HALAL, S. L. M., ZAVAREZE, E. D. R., & DIAS, A. R. G. Methods for the Extraction of Roots, Tubers, Pulses, Pseudocereals, and Other Unconventional Starches Sources: A Review. **Starch – Stärke**, e1900234, 2020. DOI:10.1002/star.201900234

LEMMENS, E., MORONI, A. V., PAGAND, J., HEIRBAUT, P., RITALA, A., KARLEN, Y., KIM-ANNE, L., VAN DEN BROECK, H. C., BROUNS, F. J. P. H., DE BRIER, N., & DELCOUR, J. A. Impact of Cereal Seed Sprouting on Its Nutritional and Technological Properties: A Critical Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 18, n. 1, p. 305–328, 2019. DOI:10.1111/1541-4337.12414

MAHAJAN, P., BERA, M. B., PANESAR, P. S. & CHAUHAN, A. Millet starch: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 180, p. 61–79, 2021. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2021.03.063

MARQUES, B. C., DE MATOS JORGE, L. M. & JORGE, R. M. M. (2016). Chemical properties and water absorption kinetics of transgenic corn grain (2B587 Hx) and its conventional isolate (2B587). **Journal of Cereal Science**, v. 71, p. 93–98, 2016. DOI:10.1016/j.jcs.2016.08.005

MUMBACH, G. L., KOTOWSKI, I. E., SCHNEIDER, F. J. A., MALLMANN, M. S., BONFADA, É. B., PORTELA, V. O., BONFADA, É. B., & KAISER, D. R. Response of inoculation with *Azospirillum brasilense* in wheat and corn of second crop. **Scientia Agraria**, v. 18, n. 2, p. 97–103, 2017. DOI:10.5380/rsa.v18i2.51475

NONOGAKI, H., BASSEL, G. W., & BEWLEY, J. D. Germination-still a mystery. **Plant Science**, v. 179, n. 6, p. 574–581, 2010. DOI:10.1016/j.plantsci.2010.02.010

PATANÈ, C., SAITA, A., TUBEILEH, A., COSENTINO, S. L., CAVALLARO, V. Modeling seed germination of unprimed and primed seeds of sweet sorghum under PEG-induced water stress through the hydrotime analysis. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 38, n. 5, p. 1–12, 2016. DOI:10.1007/s11738-016-2135-5

PAUCAR-MENACHO, L. M., SCHMIELE, M., LAVADO-CRUZ, A. A., VERONARUIZ, A. L., MOLLÁ, C., PEÑAS, E., FRIAS, J., SIMPALO-LOPEZ, W. D., CASTILLO-MARTÍNEZ, W. E. & MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C. Andean Sprouted Pseudocereals to Produce Healthier Extrudates: Impact in Nutritional and Physicochemical Properties. **Foods**, v. 11, n. 20, p. 3259, 2022a. DOI:10.3390/FOODS11203259/S1

PAUCAR-MENACHO, L.M., CASTILLO-MARTÍNEZ, W.E., SIMPALO-LOPEZ, W.D., VERONARUIZ, A., LAVADO-CRUZ, A., MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C., PEÑAS, E.; FRIAS, J. & SCHMIELE, M. Performance of Thermoplastic Extrusion, Germination, Fermentation, and Hydrolysis Techniques on Phenolic Compounds in Cereals and Pseudocereals. **Foods**, v. 11, e1957, 2022b. DOI:10.3390/foods11131957

REZAPOUR, R., KAZEMI-ARBAT, H., YARNIA, M. & ZAFARANI-MOATTAR, P. Effect of seed size on germination and seed vigor of two soybean (*glycin max* L.) cultivars. **International Research Journal of Applied & Basic Sciences**, v. 4, n. 11, p. 3396-3401, 2013.

ROUF SHAH, T., PRASAD, K., & KUMAR, P. Maize - A potential source of human nutrition and health: A review. **Cogent Food & Agriculture**, v.2, n. 1, 2016. DOI:10.1080/23311932.2016.1166995

SCHMIELE, M., ANE, G., SEHN, R., SANTOS, S., & ROCHA, T. D. S. Physicochemical, Structural and Rheological Properties of Chestnut (*Castanea sativa*) Starch. **American Journal of Food Science and Technology**, v. 3, n. 4, p. 1–7, 2015. DOI:10.12691/ajfst-3-4A-1

SOUZA, E. C. de, CORDEIRO, D. A., SILVA, B. S., NEVES, N. de A. & SCHMIELE, M. Development of muffin with the incorporation of olive pomace flour, extra virgin

olive oil and hydrolyzed soy protein. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 2, p. e58511226012, 2022. DOI: 10.33448/rsd-v11i2.26012.

SOKRAB, A. M., MOHAMED AHMED, I. A., & BABIKER, E. E. Effect of germination on antinutritional factors, total, and extractable minerals of high and low phytate corn (*Zea mays* L.) genotypes. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, v. 11, n. 2, p. 123–128, 2012. DOI:10.1016/j.jssas.2012.02.002

TIBAES, E. S. R., OLIVEIRA, J. R. & SARAIVA, E. A. Adubação de cobertura em milho crioulo roxo: nutrição e produtividade. **VI Semana da Integração do Ensino, Pesquisa e Extensão da UFVJM – VI SINTEGRA**. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri – UFVJM– Diamantina/MG, 2018.