



XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos:
Alimentação: a árvore que sustenta a vida

X CIGR Section VI International Technical Symposium
Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 - FAURGS- Gramado / RS

EFEITO DA GERMINAÇÃO NATURAL E INDUZIDA NAS PROPRIEDADES DE PASTA DE FARINHA DE TRIGO

J. Baranzelli¹, D.H. Kringel², B. Biduski³, E.R. Zavareze⁴, M.Z. de Miranda⁵, A.R.G. Dias⁶

1, 2, 3, 4, 6- Departamento de Ciência e Tecnologia e Alimentos – Universidade Federal de Pelotas, UFPel – CEP: 96010-900 – Pelotas – RS – Brasil, Telefone: (55-53) 3275-7258 – Fax: (55-53) 3275-7259 – e-mail: (juliabaranzelli@hotmail.com; dianinikringel@hotmail.com; babi_biduski@hotmail.com; elessandrad@yahoo.com.br; alvaro.guerradias@gmail.com)

5- Laboratório de Qualidade de Grãos – Embrapa Trigo, Passo Fundo. – CEP: 99050-970, Caixa Postal 3081– Passo Fundo – RS – Brasil Telefone: (55-54) 3316-5810 – Fax: (55-54) 3316-5802 – e-mail: (martha.miranda@embrapa.br)

RESUMO – O trigo está entre as principais culturas de cereais. Um problema que ocorre durante sua produção é a germinação pré-colheita que afeta a qualidade tecnológica das farinhas. Ocorre aumento da atividade enzimática e degradação do endosperma. O objetivo foi avaliar o efeito da germinação natural e induzida do trigo em diferentes tempos sobre a atividade amilolítica, de α -amilase e das propriedades de pasta das farinhas. Os grãos foram germinados por 24, 48 e 72 h, sob condições controladas. Foram determinadas a atividade amilolítica e de α -amilase e as propriedades de pasta das farinhas de trigo com e sem adição de nitrato de prata. Pode-se perceber que com o aumento do tempo de germinação houve aumento da atividade enzimática, e esta mudança também causou diferenças nas propriedades de pasta das farinhas. As farinhas sem adição de nitrato de prata mostraram menor viscosidade confirmando a maior atividade das enzimas durante a análise.

ABSTRACT – Wheat is among of the major cereal crops. One problem that occurs during their production is the preharvest sprouting affecting technological quality of flour. There is an increase in the enzyme activity and degradation of the endosperm. The objective was to evaluate the effect of natural and induced germination of wheat at different times on the amylolytic and α -amylase activity and pasting properties of flours. The grains were germinated for 24, 48 and 72 h, under controlled conditions. They were determined amylolytic and α -amylase activity and pasting properties of wheat flour with and without addition of silver nitrate. It was found that with the increase of the germination time was increased the enzyme activity, and this change also caused differences in flour pasting properties. Flour without the addition of silver nitrate showed lower viscosity confirming the increased of enzymatic activity during the analysis.

PALAVRAS-CHAVE: germinação, α -amilase, propriedades de pasta, farinha de trigo, amido de trigo.

KEYWORDS: germination, α -amylase, pasting properties, wheat flour, wheat starch.

1. INTRODUÇÃO

O trigo é uma das principais culturas de cereais e está entre os alimentos básicos para a metade da população do mundo. No entanto, um problema comumente encontrado na produção de trigo é a germinação pré-colheita, que afeta diretamente a qualidade tecnológica das farinhas (Cunha, et al., 2004). Durante a germinação, os constituintes de reserva do grão, como amido, proteínas e lipídeos, dão origem a uma nova planta e nesse período ocorre aumento da atividade de enzimas com, conseqüente degradação do endosperma (Delcour e Hosney, 2010).



XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos:
Alimentação: a árvore que sustenta a vida

X CIGR Section VI International Technical Symposium
Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 - FAURGS- Gramado / RS

A germinação exerce efeito significativo sobre as propriedades do amido em cereais e leguminosas, uma vez que a atividade de α -amilase é capaz de degradar os grânulos de amido (Tomić et al., 2016). Como o amido é o componente majoritário nos grãos e consequentemente nas farinhas de trigo, é necessário entender as alterações que ocorrem durante a gelatinização e a retrogradação, para melhor prever as propriedades funcionais do amido presente na farinha, que poderá ser utilizado no processamento de diferentes produtos (Copeland et al., 2009).

Recentemente, muita atenção tem sido voltada ao estudo dos componentes nutricionais em trigo germinado (Marengo et al., 2015; Mridula e Sharma, 2015; Yang et al., 2015). No entanto, ainda são poucas as informações encontradas sobre o efeito da germinação nas propriedades de pasta da farinha de trigo refinada. Noda et al. (2004) avaliaram o efeito da germinação pré-colheita em algumas características de amido de trigo, estudando o comportamento de três cultivares de trigo de inverno. Porém, a pesquisa limitou-se apenas ao amido, não sendo realizada nenhuma comparação em relação a diferentes estágios de germinação.

As enzimas ativadas durante a germinação de grãos de trigo interferem na análise do perfil de viscosidade (gelatinização e retrogradação) em analisador rápido de viscosidade (RVA), uma vez que estas atuam nas amostras durante as temperaturas de aquecimento. Conforme descrito no manual do RVA (Newport Scientific, 1995), o nitrato de prata é adicionado à análise, com a finalidade de inativar as enzimas, permitindo avaliar o efeito da germinação nas propriedades de pasta com e sem a presença das enzimas amilolíticas.

Tendo em vista que a germinação afeta diretamente as características dos produtos de panificação, o estudo do efeito do tempo de germinação e da atividade enzimática sobre as propriedades de pasta da farinha de trigo pode fornecer informações de referência para melhor utilização do trigo germinado como material principal ou em combinação no desenvolvimento de novos produtos alimentícios. Neste contexto, o objetivo, neste estudo, foi avaliar o efeito da germinação do trigo de forma natural (no campo) e induzida em laboratório em diferentes tempos sobre a atividade amilolítica, atividade de α -amilase e sobre as propriedades de pasta da farinha de trigo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

Foram utilizados grãos de trigo da cultivar BRS Marcante, não germinados e com germinação induzida em laboratório da safra 2013, e com germinação natural no campo, safra 2015. As amostras de trigo utilizadas foram cedidas pela Embrapa Trigo, de Passo Fundo, RS, BR.

2.2 Métodos

O processo de germinação do trigo foi realizado conforme Hung, Hatcher e Barker (2011), com adaptações. Seguiram-se as etapas de sanitização dos grãos de trigo em solução de hipoclorito de sódio a 1 % (v/v), lavagem com água até pH 7,0 e incubação dos grãos por 24, 48 e 72 horas. A umidade relativa da câmara foi de 80%, umidade dos grãos de 30% e ciclos de temperatura de 15 e 20 °C, por 12 horas cada, simulando as condições de germinação no campo, porém na ausência de luz, com posterior secagem a 40 °C até umidade de 12%.

Para a obtenção das farinhas de trigo, as amostras de grãos de trigo foram pesadas individualmente, condicionadas para 15% de umidade e após 24 horas, foram moídas em moinho experimental (marca Chopin, modelo Moulin CD1, série 1197, Curitiba, Brasil).

A atividade amilolítica e da enzima α -amilase foi determinada de acordo com a metodologia descrita por Saman, Vázquez e Pandiella (2008).



XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos:
Alimentação: a árvore que sustenta a vida

X CIGR Section VI International Technical Symposium
Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 - FAURGS- Gramado / RS

As propriedades de pasta das farinhas de trigo foram avaliadas conforme metodologia proposta por Paraginski, et al. (2014), utilizando RVA - *Rapid Visco Analyser* (modelo RVA-4, *Newport Scientific*, Austrália) e o perfil *Standard Analysis 1*. Foram avaliadas a temperatura de pasta, a viscosidade mínima, a viscosidade máxima, a quebra da viscosidade, a viscosidade final e a tendência à retrogradação. As propriedades de pasta das farinhas, também, foram avaliadas substituindo a água adicionada por uma solução de nitrato de prata (AgNO_3) 100 μmol por grama de farinha antes de iniciar o aquecimento, visando inibir a atividade enzimática de α -amilase durante a análise de RVA.

As determinações analíticas para cada amostra foram realizadas em triplicata, e os desvios padrões foram relatados. Uma comparação entre médias foi determinada através do teste de Tukey e do teste T a nível de significância de 5% por análise da variância (ANOVA) utilizando o software Statistic 7,0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Atividade amilolítica e α -amilase

Na Tabela 1 estão apresentados os valores referentes a atividade amilolítica e de α -amilase em farinha de trigo germinado e não germinado. A atividade amilolítica é superior a de α -amilase, pois na primeira estão sendo avaliadas α -amilase, β -amilase e α -glucosidase. Estas enzimas hidrolisam as ligações $\alpha(1-4)$ e $\alpha(1-6)$ do amido, produzindo glicose, maltose e oligossacarídeos (Hidalgo et al., 2013).

Tabela 1 – Atividade amilolítica e de alfa-amilase de farinha de trigo.

Farinha de trigo	Atividade amilolítica (U/g)	Atividade α -amilase (U/g)
Não germinada	40,50 \pm 1,40 ^b	12,69 \pm 0,44 ^c
Germinada por 24 h	41,45 \pm 2,01 ^b	13,64 \pm 0,29 ^c
Germinada por 48 h	51,40 \pm 1,22 ^a	17,61 \pm 0,62 ^b
Germinada por 72 h	54,99 \pm 2,60 ^a	19,93 \pm 0,40 ^a
Germinação natural	43,14 \pm 1,91 ^b	13,84 \pm 0,51 ^c

^{a-c} Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A atividade amilolítica total e de α -amilase foram as menores para a farinha de trigo não germinada, apresentando valores de 40,50 e 12,69 U/g, respectivamente. Durante as fases iniciais do desenvolvimento do grão, α -amilase atua no pericarpo, diminuindo progressivamente à medida que o pericarpo é degradado durante o desenvolvimento dos grãos. Lunn et al. (2001) reportaram que mesmo em quantidades não significativas, a atividade de α -amilase pode persistir em níveis suficientes para afetar o número de queda da farinha destes grãos de trigo.

Com o aumento do tempo de germinação (Tabela 1), houve aumento da atividade enzimática, tanto amilolítica, como de α -amilase. Segundo De Brier et al. (2015), a germinação do grão afeta a distribuição de enzima, que migra da aleurona para o interior do endosperma, as enzimas afetam a funcionalidade de trigo, porém não se sabe ao certo como elas estão distribuídas ao longo das diferentes frações da farinha, e desse modo, pericarpo residual da moagem pode, também, alterar a atividade enzimática das amostras.

As propriedades de pasta das farinhas (Tabela 2) diferiram significativamente entre os diferentes tempos de germinação, e esta diferença foi muito mais pronunciada sem a adição de nitrato de prata. O nitrato de prata foi adicionado para inativação das enzimas e inibição de sua atuação durante



XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos:
Alimentação: a árvore que sustenta a vida

X CIGR Section VI International Technical Symposium
Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 - FAURGS- Gramado / RS

a análise. Segundo Li et al. (2008), a interação de íons de prata com grupos tiol em proteínas resulta na inativação das enzimas.

Tabela 2 – Propriedades de pasta de farinhas de trigo germinado e não germinado com e sem adição de AgNO_3 .

Parâmetros	Farinha de trigo	Com AgNO_3	Sem AgNO_3
PT (°C)	Não germinada	65,93 ± 0,51 ^{b ns}	65,38 ± 0,03 ^b
	Germinada por 24 h	67,65 ± 2,01 ^{b ns}	65,67 ± 0,42 ^b
	Germinada por 48 h	66,15 ± 0,01 ^{b ns}	65,72 ± 0,46 ^b
	Germinada por 72 h	66,68 ± 0,42 ^{b ns}	68,58 ± 4,88 ^b
	Germinação natural	86,58 ± 0,45 ^{a ns}	84,67 ± 1,44 ^a
PV (RVU)	Não germinada	196,61 ± 4,81 ^{a*}	163,00 ± 5,49 ^a
	Germinada por 24 h	181,05 ± 6,20 ^{b*}	123,53 ± 0,99 ^b
	Germinada por 48 h	183,05 ± 0,13 ^{b*}	27,11 ± 0,61 ^d
	Germinada por 72 h	179,17 ± 0,33 ^{b*}	24,83 ± 0,58 ^d
	Germinação natural	153,47 ± 5,04 ^{c*}	48,11 ± 1,49 ^c
BD (RVU)	Não germinada	64,86 ± 2,63 ^{a*}	40,31 ± 3,50 ^a
	Germinada por 24 h	57,86 ± 4,39 ^{c*}	35,86 ± 0,56 ^a
	Germinada por 48 h	63,29 ± 0,71 ^{ab*}	20,58 ± 0,47 ^c
	Germinada por 72 h	60,13 ± 1,63 ^{ab*}	19,03 ± 0,31 ^c
	Germinação natural	43,53 ± 0,78 ^{d*}	27,11 ± 1,07 ^b
FV (RVU)	Não germinada	218,72 ± 4,84 ^{a ns}	213,11 ± 4,31 ^a
	Germinada por 24 h	198,58 ± 4,47 ^{b*}	157,92 ± 1,17 ^b
	Germinada for 48 h	199,04 ± 0,29 ^{b*}	11,75 ± 0,72 ^d
	Germinada for 72 h	195,04 ± 0,71 ^{b*}	9,14 ± 0,67 ^d
	Germinação natural	182,64 ± 4,73 ^{c*}	44,89 ± 1,77 ^c
SB (RVU)	Não germinada	86,97 ± 2,36 ^{a ns}	90,42 ± 3,77 ^a
	Germinada por 24 h	75,39 ± 2,28 ^{bc*}	70,25 ± 0,68 ^b
	Germinada por 48 h	79,29 ± 0,29 ^{b*}	5,22 ± 0,40 ^d
	Germinada por 72 h	76,00 ± 2,00 ^{bc*}	3,33 ± 0,17 ^d
	Germinação natural	72,69 ± 1,03 ^{c*}	23,89 ± 1,51 ^c

^{a-d} Médias seguidas das mesmas letras na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. * e ^{ns} significa diferença significativa e não significativa, respectivamente, pelo teste t ($p \leq 0,05$) entre farinhas trados com e sem nitrato de prata; PT = temperatura de pasta; PV = pico de viscosidade; BD = quebra; FV = viscosidade final; SB = tendência a retrogradação; RVU = unidade visco rápida.

Após a germinação, foram observadas reduções significativas para a viscosidade de pico, quebra, retrogradação e viscosidade final. Tendências semelhantes foram relatados por Chung et al. (2012) para farinha de arroz integral germinado. A diminuição na viscosidade de pasta é devido principalmente à degradação do amido e de proteínas que ocorrem durante a germinação. As amilases são enzimas de ação endógena, elas hidrolisam no interior das moléculas de amido, sendo que, pequenas quantidades dessas enzimas podem causar redução dramática na viscosidade (Mares e Mrva, 2008). As proteases são também ativadas durante a germinação, elas hidrolisam as ligações dissulfídicas com consequente quebra da rede de proteínas, contribuindo para a diminuição da viscosidade das farinhas.



XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos:
Alimentação: a árvore que sustenta a vida

X CIGR Section VI International Technical Symposium
Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 - FAURGS- Gramado / RS

Chung et al. (2012) sugeriram que a formação de ligações dissulfídicas restringem a expansão da fração de amido durante a gelatinização.

Noda et al. (2004) investigaram as propriedades físico-químicas de amido de grãos de trigo com germinação pré-colheita e observaram degradação parcial do amido por α -amilase endógena, verificando diminuição da viscosidade e aumento da digestibilidade em amido de trigo germinado. Wu et al. (2013) também investigaram as propriedades de pasta de grãos germinados, porém em farinha de arroz, onde as principais diferenças encontradas foram afetadas pelos teores de amilose, proteína e lipídios e pela distribuição de comprimento de cadeia ramificada de amilopectina.

Os menores valores de viscosidade foram encontrados para farinhas de trigo germinado e isso é devido ao aumento da atividade enzimática da α -amilase, que é responsável pela hidrólise das moléculas de amido que reduzem a viscosidade. As amostras contendo nitrato de prata mostraram viscosidade final mais elevada em comparação com as farinhas sem nitrato de prata (Tabela 2), confirmando o aumento da atividade enzimática durante a análise. Resultados semelhantes foram relatados por Paraginski et al. (2014), onde as propriedades de pasta do amido de grãos de arroz danificado diferiram com e sem a adição de AgNO_3 .

O aumento do tempo de germinação promoveu aumento da atividade das enzimas, que consequentemente diminuíram os valores de viscosidade de pico, quebra, viscosidade final e tendência a retrogradação, demonstrando a influência nas propriedades de pasta das farinhas de trigo.

4. CONCLUSÃO

Com o aumento da germinação houve aumento da atividade amilolítica e de α -amilase. A germinação ativou as enzimas que por sua vez, diminuíram a viscosidade das farinhas de trigo germinado e essa diferença foi muito maior sem a adição de nitrato de prata. A germinação natural é diferente da germinação conduzida em laboratório, porém apresentou comportamento semelhante aos tempos de 24 e 48 horas.

5. AGRADECIMENTOS

Nós gostaríamos de agradecer a CAPES e EMBRAPA-Trigo pelo financiamento do projeto, e UPF pela realização da análise em RVA.

5. REFERÊNCIAS

- Chung, H. J., Cho, D. W., Park, J. D., Kweon, D. K., & Lim, S. T. (2012). In vitro starch digestibility and pasting properties of germinated brown rice after hydrothermal treatments. *Journal of Cereal Science*, 56, 451–456.
- Copeland, L., Blazek, J., Salman, H., & Tang, M. C. (2009). Form and functionality of starch. *Food Hydrocolloids*, 23, 1527–1534.
- Cunha, G. R., Pires, J. L. F., & Pazinato, A. (2004). Introdução ao problema da germinação na pré-colheita em trigo no Brasil. In: Cunha, G. R.; Pires, J. L. F. *Germinação pré-colheita em trigo*. Passo Fundo: Embrapa. p.11-20.
- De Brier, N., Hemdane, S., Dornez, E., Gomand, S. V., Delcour, J. A., & Courtin, C. M. (2015). Structure, chemical composition and enzymatic activities of pearlings and bran obtained from pearled wheat (*Triticum aestivum* L.) by roller milling. *Journal of Cereal Science*, 62, 66–72.
- Delcour, J. A., & Hosney, R. C. (2010). *Principles of Cereal Science and Technology*. (3rd ed.). St. Paul, MN, USA: AACC.



XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos:
Alimentação: a árvore que sustenta a vida

X CIGR Section VI International Technical Symposium
Food: the tree that sustains life

24 a 27 de outubro de 2016 - FAURGS- Gramado / RS

- Hidalgo, A., Brusco, M., Plizzari, L., & Brandolini, A. (2013). Polyphenol oxidase, alpha-amylase and beta-amylase activities of *Triticum monococcum*, *Triticum turgidum* and *Triticum aestivum*: A two-year study. *Journal of Cereal Science*, 58, 51–58.
- Hung, P. V., Hatcher, D. W., & Barker, W. (2011). Phenolic acid composition of sprouted wheats by ultra-performance liquid chromatography (UPLC) and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 126, 1896-1901.
- Li, Q., Mahendra, S., Lyon, D. L., Brunet, L., Liga, M. V., Li, D., Alvarez, D. J. J. (2008). Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbiota control: Potential applications and implications. *Water Research*, 42, 4591-4602.
- Lunn, G. D., Kettlewell, P. S., Major, B. J., & Scott, R. K. (2001). Effects of pericarp alpha-amylase activity on wheat (*Triticum aestivum*) Hagberg falling number. *Annals of Applied Biology*, 138, 207-214.
- Marengo, M., Bonomi, F., Marti, A., Pagani, M. A., Elkhalfi A. E. O., & Iameti, S. (2015). Molecular features of fermented and sprouted sorghum flours relate to their suitability as components of enriched gluten-free pasta. *LWT - Food Science and Technology*, 63, 511–518.
- Mares, D. J., & Mrva, K. (2008). Late-maturity a-amylase: low falling number in wheat in the absence of preharvest sprouting. *Journal of Cereal Science*, 47, 6-17.
- Mridula, D., & Sharma, M. (2015). Development of non-dairy probiotic drink utilizing sprouted cereals, legume and soymilk. *LWT - Food Science and Technology*, 62, 482–487.
- Newport Scientific. (1995). Operation Manual for Series 3: *Rapid visco analyser using Thermocline for Windows*. Warriewood, 92 p.
- Noda, T., Takigawa, S., Matsuura-Endo, C., Saito, K., Takata, K., Tabiki, T., Wikramasinghe, H. A. M., & Yamauchi, H. (2004). The physicochemical properties of partially digested starch from sprouted wheat grain. *Carbohydrate Polymers*, 56, 271–277.
- Paraginski, R. T., Evangelho, J. A., Colussi, R., Silva, R. M., Zavareze, E. R., Oliveira, M., Elias, M. C., & Dias, A. R. G. (2014). Starch and flour from defective rice kernels and their physicochemical properties. *Starch/Stärke*, 60, 1-9.
- Saman, P., Vázquez, J. A., & Pandiella, S. S. (2008). Controlled germination to enhance the functional properties of rice. *Process Biochemistry*, 43, 1377-1382.
- Tomić, J., Torbica, A., Popovic, L., Hristov, N., & Nikolovski, B. (2016). Wheat breadmaking properties in dependence on wheat enzymes status and climate conditions. *Food Chemistry*, 199, 565–572.
- Wu, F., Chen, H., Yang, N., Wang, J., Duan, X., Jin, Z., & Xu, X. (2013). Effect of germination time on physicochemical properties of brown rice flour and starch from different rice cultivars. *Journal of Cereal Science*, 58, 263–271.
- Yang, H., Gao, J., Yang, A., & Chen, H. (2015). The ultrasound-treated soybean seeds improve edibility and nutritional quality of soybean sprouts. *Food Research International*, 77, 704–710.