

# POTENCIAL AMIOLÍTICO DO GRÃO DE TRIGO MALTADO EM DIFERENTES TEMPERATURAS DE GERMINAÇÃO E SECAGEM

**Kátia Rezzadori, Ana Carolina Vieira, Cíntia Guarienti, Daniele Farias, Telma Elita Bertolin, Luciane Maria Colla\***

*Laboratório de Fermentações, Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo*

*\*Email: [lmcolla@upf.br](mailto:lmcolla@upf.br)*

## RESUMO

O trigo é um cereal fasciculado, com grãos de tamanho e cor variáveis, amplamente cultivado e consumido na região nordeste do Rio Grande do Sul em função do seu potencial produtivo, da composição química e do valor nutritivo, além de ser um dos cereais de maior poder diastásico. O malte é o produto da germinação controlada das sementes de cereais para emprego industrial. A finalidade fundamental da maltagem é elevar o conteúdo enzimático dos grãos de cereais através da síntese de amilases, proteases e glucanases, aumentando assim o seu poder diastásico. O processo de maltagem é constituído por quatro etapas: limpeza do grão, maceração, germinação e secagem. Objetivou-se estudar a influência das temperaturas de germinação e secagem sobre a atividade amilolítica do grão de trigo através de um Planejamento Fatorial Completo  $2^2$  com três pontos centrais, onde as variáveis de estudo foram a temperatura de germinação e a temperatura de secagem. Os grãos limpos e selecionados foram macerados com água durante dois dias para posterior germinação nas temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C, durante 3 d, 5 d e 7 d. A germinação foi interrompida mediante secagem por três horas nas temperaturas de 50°C, 55°C e 60°C. Foram realizadas a extração de  $\alpha$ -amilases e amilases totais, e a determinação do potencial enzimático destas enzimas. A máxima atividade enzimática foi encontrada para tempo de 7 d de germinação nas condições de 20°C para temperatura de germinação e 50°C para temperatura de secagem.

Palavras-chave: maltagem, atividade enzimática

## 1 INTRODUÇÃO

O trigo é a segunda cultura de grãos em produção em todo o mundo. É a cultura de inverno mais representativa do Rio Grande do Sul, sendo que mais de 50% da produção concentra-se na região nordeste. É um cereal bastante cultivado e consumido em função do seu potencial produtivo, da composição química e do valor nutritivo, além de ser um dos cereais de maior poder diastásico (potencial enzimático).

O amido é o principal constituinte de muitos alimentos, incluindo o trigo, sendo a principal fonte de energia e, também, um fator essencial para a estrutura, consistência e textura dos alimentos.

No Brasil persiste a perspectiva de ampliar a extração de enzimas amilolíticas para produção de etanol a partir de amiláceos, particularmente para produção de perfumes, para a indústria de bebidas alcoólicas e na indústria de alimentos para produção de xaropes com alta concentração de glicose que representam um grande avanço tecnológico na industrialização do amido (BERTOLIN, 1997).

O processo de malteação é essencial na obtenção de álcool de cereais, envolvendo três etapas principais: maceração, germinação e secagem. Neste trabalho será avaliada a influência das temperaturas de germinação e secagem sobre o potencial amilolítico do trigo maltado.

## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 Material e Métodos

A germinação foi realizada com grãos de trigo fornecidos pela Embrapa Trigo de Passo Fundo. Os mesmos foram submetidos a uma seleção manual, retirando-se grãos partidos, mofados e injuriados. As amostras foram lavadas com uma solução de hipoclorito de sódio 2,5%, na proporção de 1:1. O trigo passou pelo processo de maceração durante o período de dois dias, à 4°C. Foi utilizada água destilada estéril na proporção de uma parte de grão para três de água, e a troca da água foi realizada a cada 12 horas, a fim de evitar a contaminação microbiológica.

Utilizou-se um Planejamento Fatorial Completo  $2^2$  com três pontos centrais, sendo as variáveis de estudo: temperatura de germinação e temperatura de secagem. Os resultados do Planejamento Fatorial Completo  $2^2$  com três pontos centrais foram analisados através do módulo Experimental Design, do Software Statistica 6.0. A Tabela 1 apresenta a matriz das variáveis codificadas e os valores reais destas variáveis para o Planejamento Fatorial Completo  $2^2$  com três pontos centrais.

O grão macerado foi germinado na forma de rolos com papel germinador, umedecido com água estéril, sendo então conduzido para estufa com temperaturas de 20°C, 25°C e 30°C. Amostras do processo de germinação foram avaliadas nos tempos de 3 d, 5 d e 7 d.

A germinação dos grãos foi interrompida mediante secagem em estufa com circulação de ar, nas temperaturas de 50°C, 55°C e 60°C até umidade de 12%. Os grãos previamente secos foram moídos, embalados a vácuo em sacos de polietileno e armazenados sob congelamento.

Para extração das enzimas amilolíticas pesou-se 1 g de malte de trigo seco e adicionou-se 15 mL de tampão TRIS – HCl 0,1 M pH 7. Esta mistura foi triturada por 5 min com pistilo em gral de porcelana e filtrada (ARAGÃO, 2002). O filtrado foi transferido para um balão de 25 mL, completando-se o volume com tampão TRIS – HCl, sendo conservado em banho de gelo até o momento da determinação da atividade enzimática.

A atividade enzimática das amilases totais foi medida em um sistema de reação contendo 5 mL de amido solúvel 2,5% como substrato e 1 mL de solução de enzima extraída conforme citado anteriormente. O sistema de reação foi incubado a 35°C durante 15 min e, para interromper a atividade enzimática, adicionou-se 1 mL de NaOH 1M. Posteriormente, fez-se a diluição de 1 mL da solução com água destilada à 10 mL em balão volumétrico para a determinação dos açúcares redutores. Para a determinação da atividade enzimática das  $\alpha$ -amilases procedeu-se da mesma forma, porém, antes da realização do ensaio foram inativadas outras amilases, a 70°C por 15 min em shaker, permanecendo apenas a  $\alpha$ -amilase. Os açúcares redutores foram quantificados através do método de 3,5 DNS e a concentração de açúcares redutores liberada foi calculada através de uma curva padrão de glicose. Para a quantificação de proteínas das amostras foram colocados em tubo de ensaio 5 mL de biureto, 4 mL de água e 1 mL de extrato enzimático. Os tubos foram levados a banho maria a 37°C durante 10 min. Realizou-se a leitura em espectrofotômetro a 540 nm.

A análise estatística dos resultados do Planejamento Fatorial Completo  $2^2$  com três pontos centrais foi efetuada através do módulo Experimental Design, do Software Statistica 6.0, pelo método do erro puro, utilizando os valores de atividade enzimática ( $\text{mgAR/g}_{\text{enzima}}$ ) para 7 d de germinação, já que os mesmos apresentaram valores superiores para atividade enzimática por conteúdo de enzima.

**Tabela 1** Níveis e Valores Reais das Temperaturas de Germinação e Secagem

Experimentos	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Temperatura de Germinação	Temperatura de Secagem
1	-1	-1	20°C	50°C
2	+1	-1	30°C	50°C
3	-1	+1	20°C	60°C
4	+1	+1	30°C	60°C
5	0	0	25°C	55°C
6	0	0	25°C	55°C
7	0	0	25°C	55°C

## 2.2 Resultados e Discussão

A Tabela 2 apresenta os valores de atividade enzimática (mg AR/g<sub>enzima</sub>) para os experimentos de 1 a 7 nos tempos de 3 d, 5 d e 7 d.

**Tabela 2** Atividade Enzimática das  $\alpha$ -amilases e amilases totais para os experimentos 1 a 7

Exp	3 (d)		5 (d)		7 (d)	
	$\alpha$ -amilase (mgAR/gmalte)	Amilases totais (mgAR/gmalte)	$\alpha$ -amilase (mgAR/gmalte)	Amilases totais (mgAR/gmalte)	$\alpha$ -amilase (mgAR/gmalte)	Amilases totais (mgAR/gmalte)
1	598,72 $\pm$ 8,69	629,63 $\pm$ 12,53	518,72 $\pm$ 3,58	572,04 $\pm$ 11,01	1204,72 $\pm$ 14,40	1178,77 $\pm$ 25,66
2	395,66 $\pm$ 4,59	535,91 $\pm$ 8,92	378,46 $\pm$ 9,57	479,26 $\pm$ 7,65	572,38 $\pm$ 6,90	966,41 $\pm$ 12,35
3	655,61 $\pm$ 3,57	680,50 $\pm$ 6,37	626,84 $\pm$ 6,80	635,37 $\pm$ 14,32	1223,63 $\pm$ 14,04	1221,97 $\pm$ 8,18
4	267,03 $\pm$ 11,20	470,18 $\pm$ 8,35	347,01 $\pm$ 5,88	492,98 $\pm$ 14,32	443,77 $\pm$ 23,12	789,12 $\pm$ 13,52
5	707,17 $\pm$ 32,61	855,88 $\pm$ 29,78	858,28 $\pm$ 37,74	985,95 $\pm$ 36,90	875,60 $\pm$ 31,72	962,30 $\pm$ 33,15
6	831,64 $\pm$ 35,95	849,73 $\pm$ 32,43	852,30 $\pm$ 43,38	927,28 $\pm$ 31,40	902,14 $\pm$ 33,11	929,87 $\pm$ 40,35
7	846,29 $\pm$ 31,57	899,12 $\pm$ 34,57	901,60 $\pm$ 35,12	915,70 $\pm$ 36,15	894,07 $\pm$ 22,42	925,16 $\pm$ 21,30

Observou-se que os valores de atividade enzimática referentes a amilases totais foram superiores aos valores de atividade enzimática da  $\alpha$ -amilase. De acordo com Reguly (1996) as amilases totais são as principais constituintes do malte, sendo elas compostas pela soma de  $\alpha$ -amilases e  $\beta$ -amilases, o que justifica os maiores valores encontrados para amilases totais.

Analisando-se os experimentos 1 a 4 observa-se que para 7 d de germinação os valores de atividade enzimática foram superiores. A atividade enzimática aumenta com o tempo de germinação, sendo que este aumento da produção de enzimas depende do tipo do grão, condições dos mesmos, duração e temperatura de germinação (HELLAND, 2001). Segundo Agu e Palmer (1996) a máxima atividade enzimática encontrada para sorgo foi na temperatura de germinação de 20°C durante 4 d de germinação e para cevada a temperatura de germinação foi de 17°C nos tempos de 4 d e 5 d de germinação.

Os valores máximos de atividade enzimática foram encontrados para os experimentos 1 e 3 (temperatura de germinação 20°C), o que se justifica devido a temperatura usualmente empregada na germinação de trigo variar de 5°C a 25°C, com ótimo em torno de 15°C (MALTE)

A temperatura de secagem não apresentou influência significativa sobre a atividade enzimática ( $p > 0,05$ ) pelo fato das mesmas serem baixas e insuficientes para romper a barreira

de inativação das enzimas presentes no malte ( $\alpha$  e  $\beta$ -amilases). Isto pode ser explicado visto que as temperaturas de desnaturação dessas enzimas são superiores a 60°C, e as temperaturas usadas durante a secagem foram de 50°C, 55°C e 60°C.

Nos experimentos 5, 6 e 7 (pontos centrais) não ocorreu grande variação da atividade enzimática no decorrer do tempo pois desde o início da germinação a mesma apresentou valores elevados.

Verifica-se que as maiores atividades enzimáticas das  $\alpha$ -amilases foram obtidas quando utilizaram-se níveis inferiores para temperatura de germinação, ou seja, 20°C. A temperatura de secagem não apresentou efeito significativo ( $p > 0,05$ ) sobre a atividade enzimática. Pelo fato da estrutura da  $\alpha$ -amilase não desnaturar na temperatura de 60°C (REGULY, 1996) seria viável utilizar esta temperatura para obter menores tempos de secagem.

A atividade enzimática das amilases totais aumenta quando se passa de um nível superior para um nível inferior, ou seja, à medida que as temperaturas de germinação e secagem aumentam a atividade enzimática apresenta valores inferiores.

### 3 CONCLUSÃO

A máxima atividade enzimática foi encontrada para o tempo de germinação de 7d nas condições de 50°C para temperatura de secagem e 20°C para temperatura de germinação.

### 4 REFERÊNCIAS

AGU R.C. AND. PALMER G.H, The effect of temperature on the modification of sorghum and barley during malting, **Process Biochemistry**, v.32, n.6, p.501-507, 1997.

ARAGÃO, C.A. et al, Atividade amilolítica e qualidade fisiológica de sementes armazenadas de milho superdoce tratadas com ácido giberélico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, SP, 2002.

BERTOLIN, T.E., **Estudo da adição de diferentes fontes de carbono e de nitrogênio na síntese de glicoamilase por aspergillus awamori NRRL 3112 em processo semi-sólido**. São Paulo, 1997. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.

HELLAND M.H et al, Effect of germination time on alpha-amylase production and viscosity of maize porridge, **Food Research International**, v.35, p.315-321, 2001.

REGULY, J.C., **Fundamentos, matérias primas agrícolas, produtos e processos**. V.1. Pelotas: 1996.

Silva, P. L. Malte. Disponível em <http://www.members.tripod.com/emersonam/cerveja.html>. Acesso em 8 setembro de 2004.