

Área: Ciência de Alimentos

ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE TRIGO GERMINADO EM DIFERENTES TEMPOS E UMIDADES

Julia Baranzelli*¹, Shanise L. M. Halal¹, Dianini H. Kringel¹, Vânia Z. Pinto¹, Flavia F. Paiva¹, Eleessandra Zavareze¹, Martha Z. de Miranda², Alvaro R. G. Dias¹

¹Laboratório de Pós-Colheita Industrialização e Qualidade de Grãos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul; ²Laboratório de Qualidade de Grãos, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Embrapa Trigo, Passo Fundo, Rio Grande do Sul; *E-mail: jubaranzelli@gmail.com

RESUMO – O trigo é um dos cereais mais produzidos no mundo, sendo aplicado a uma enorme diversidade de produtos. No Brasil, as frequentes ocorrências de chuvas no período da colheita favorecem a germinação dos grãos de trigo ainda na espiga. Quando a germinação é iniciada, as reservas dos grãos, como amido, proteínas e lipídeos começam a ser metabolizadas, ocorre a formação ou ativação de enzimas e a degradação do endosperma. O processo de germinação em escala laboratorial consiste em processos de maceração (embebição dos grãos em água) e incubação sob temperatura, umidade e tempo controlados. Os grãos de trigo foram germinados em laboratório e avaliados quanto à atividade enzimática pelas análises do número de queda, da atividade amilolítica e de α -amilase. Durante a germinação, foi observado que a partir das primeiras 48h, os grãos emitiram radículas e coleóptilos, e que, com o passar do tempo, estas foram aumentando de tamanho. O trigo não germinado apresentou número de queda de 313s, no entanto, com a germinação este valor diminuiu, chegando a valores iguais a 62 s, tais resultados mostram a atuação das enzimas nos grãos germinados e, que puderam ser comprovados na avaliação da atividade amilolítica e de α -amilase de trigo germinado sob diferentes tempos e umidades de germinação.

Palavras-chave: germinação, trigo, atividade enzimática.

1 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum L.*) é um dos cereais mais produzidos mundialmente, sendo aplicado a uma enorme diversidade de produtos. No Brasil, as frequentes ocorrências de chuvas no período da colheita principalmente na região sul do país, afetam a qualidade e aplicação desse cereal, ou seja, a produção apresenta alta incidência de grãos germinados, fazendo com que seja classificado como “abaixo do padrão” para a indústria de panificação (BRASIL, 2010). Porém, se faz importante realizar análises detalhadas, para assim determinar o

quanto a germinação afeta a composição e estrutura química dos grãos e destinar seu uso em produtos alimentícios.

Quando a germinação é iniciada, as reservas do grão, como amido, proteínas e lipídeos começam a ser metabolizadas, nesse período é maximizada a degradação do endosperma e a formação de enzimas (DELCOUR e HOSENEY, 2010). Processo esse, que envolve reações tanto bioquímicas como fisiológicas, onde as alterações observadas, ocorrem principalmente devido à atuação das enzimas naturalmente presentes nos grãos (FERREIRA e BORGUETTI, 2004).

A germinação diminui o teor de amido do grão, devido a transformação em glicídios, que são utilizados em grande parte na respiração para produção de energia, e em parte, na síntese de moléculas complexas, ou seja, na formação da nova planta (CORTE et al., 2006). As enzimas amilolíticas produzidas, principalmente α e β -amilases são responsáveis por converter o amido em açúcares redutores, como maltose, glicose e dextrinas (MURALIKRISHNA e NIRMALA, 2005).

O processo de germinação em escala laboratorial consiste em processos de maceração (embebição dos grãos em água) e incubação sob temperatura, umidade e tempo controlados. Uma maneira, utilizada pela indústria de alimentos para determinar a atividade enzimática das farinhas de trigo é através da análise do número de queda (NQ), trata-se de um teste que avalia mudanças na fração amilácea do trigo em razão do aumento da atividade enzimática, detectando a perda de viscosidade das suspensões (BRASIL, 2010). Embora seja um teste muito empregado, através do NQ, não é possível estimar o quanto a atuação das enzimas afetou as propriedades dos grãos de trigo durante a germinação (CARVALHO e BELEIA, 2015). Por este motivo torna-se importante utilizar outras formas de avaliar, de forma quantitativa, a atuação de enzimas nos grãos durante a germinação. A análise da atividade amilolítica mostra-se uma alternativa interessante, uma vez que avalia o quanto as amilases promoveram a hidrólise do amido a açúcares redutores.

Embora os efeitos da germinação sobre as propriedades do trigo serem constantemente estudados (MIRANDA, 2006; FRANCO et al., 2009; BERNI e CANNIATTI-BRAZACA, 2011; BURIRO et al., 2011; GIACOMIN et al., 2012; SINGKHORNART, EDOU-ONDO e RYU, 2014), existem poucos trabalhos que avaliam a atividade enzimática do trigo germinado de forma quantitativa (CARVALHO e BELEIA, 2015; SILVA et al., 2008). Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes tempos e umidades durante o processo de germinação sobre a atividade de enzimas amilolíticas em trigo germinado.

2 MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de trigo utilizadas foram provenientes da cultivar BRS Louro, cultivada no estado do Rio Grande do Sul na safra de 2008.

O processo de germinação de trigo foi realizado conforme Hung, Hatacher e Barker (2011), com adaptações. As grãos de trigo foram imersos em solução de hipoclorito de sódio a 1 % (v/v) e lavados com água para a remoção do residual de hipoclorito. Para o processo de germinação, o teor de umidade dos grãos foi ajustado para 30% e 40%; e os tempos utilizados foram 2, 4 e 6 dias, com posterior secagem a 40°C até umidade de 12%. Os grãos de trigo germinados foram moídos sem a retirada do coleóptilo e de radículas.

A atividade enzimática foi avaliada através das análises de número de queda, atividade amilolítica e atividade da α -amilase. O número de queda foi determinado através do uso do aparelho *Falling Number, da Perten Instruments* (modelo Fungal, Suécia), de acordo com o método 56-81B da AACC (2000), utilizando 7 g de amostra, corrigido para 14% de umidade e os resultados expressos em segundos.

A atividade amilolítica e da enzima α -amilase foi determinada seguindo metodologia descrita por Saman, Vázquez e Pandiella (2008). A extração da enzima foi realizada pela suspensão de 1 g de amostra em 10 mL de solução de cloreto de cálcio 0,2%, misturado em vortex por 1 minuto e centrifugado a 2000 g por 10 minutos. O sobrenadante foi usado para medir a atividade enzimática (extrato enzimático), onde 0,5 mL do extrato enzimático foram incubados em substrato composto de solução de amido solúvel 1% em tampão acetato 0,05M. Para a determinação da atividade amilolítica, as amostras foram incubadas a 60°C por 5 minutos e o aumento dos açúcares redutores foi avaliado. A atividade da enzima α -amilase seguiu o mesmo procedimento da atividade amilolítica, porém com temperatura de 70°C e tempo de incubação de 15 minutos para inativar as enzimas β -amilase e α -glucosidase. Uma unidade de atividade da α -amilase (U) foi considerada como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 μ mol de maltose por minuto.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o processo de germinação foi observado que a partir das primeiras 48 horas, os grãos emitiram radículas e coleótilos e, com o passar do tempo foram aumentando de tamanho, o que indica maior consumo das reservas do grão e formação da nova planta (FERREIRA e BORGUETTI, 2004). Com as reservas alteradas, a qualidade tecnológica diminui e, conseqüentemente, prejudica a aplicação de trigo em produtos de panificação.

No trigo não germinado o número de queda foi de aproximadamente 313 segundos, classificado, segundo a legislação brasileira em vigor, como trigo do tipo 1 (BRASIL, 2010). Tal legislação prevê valores iguais ou acima de 250 segundos, sendo recomendados para produção de pães e massas alimentícias. Os trigos germinados, em todas as condições de tempo e teor de umidade, apresentaram NQ igual a 62 segundos (valor mínimo detectado pelo equipamento), indicando que estes trigos possuem alta atividade enzimática e suas reservas foram degradadas, não ocorrendo a gelatinização do amido, ou seja, o amido em sua maioria foi convertido em açúcares. Ressalta-se que o valor do número de queda apresenta relação inversa com a atividade da α -amilase, ou seja, quanto menor for o valor do NQ maior será a atividade da α -amilase.

O amido é o principal carboidrato de reserva de cereais. Sua degradação durante a germinação é iniciada pela ação da α -amilase que quebra, ao acaso, ligações α -1,4 das cadeias de amilose e amilopectina (GUPTA et al., 2003). Entre as enzimas amilolíticas ativas durante a germinação, a α -amilase exerce um papel fundamental na degradação de amido em sementes de cereais, devido ao seu poder de iniciar a hidrólise de grânulos de amido e por apresentar 90% da atividade amilolítica total no início da germinação (WARREN et al., 2015). A ação conjunta de hidrolases, como β -amilase e α -glucosidase, resulta na degradação completa do amido (DANTAS et al., 2002). Porém através do NQ não é possível saber quanto as amilases atuaram, degradando o amido, dessa forma, a análise da atividade amilolítica e de α -amilase auxiliam na verificação da degradação do amido com formação de açúcares redutores, bem como, maltose e glicose.

A Figura 1 mostra a atividade amilolítica e de α -amilase dos trigos germinados e não germinado. Verificou-se o aumento da atividade das enzimas tanto em 30%, quanto em 40% de umidade e em todos os tempos, confirmando os resultados do teste de NQ, ou seja, quando diminuiu o número de queda, houve aumento da atividade enzimática. As amostras partiram de 7,17 e 7,35 U/mL para atividade amilolítica e de α -amilase em trigo não germinado, respectivamente, atingindo 13,78 e 13,67 U/mL conforme o aumento do tempo e da temperatura de germinação. Carvalho e Beleia (2015), em estudo das alterações físico-químicas e atividade enzimática de trigo com germinação pré-colheita, apresentaram resultados de atividade enzimática que variou de 25 a 117 U/g, respectivamente, para amostras com FN de 180 e 62 segundos. Segundo Saika et al. (2005), a quantidade de amilase de um cereal é dependente de vários fatores, como variedade, condições climáticas, tamanho do núcleo embrionário, e quando submetido à germinação, o conteúdo de água disponível, tempo e temperatura são cruciais, uma vez que, quanto mais elevada for a temperatura, mais rápido é o processo.

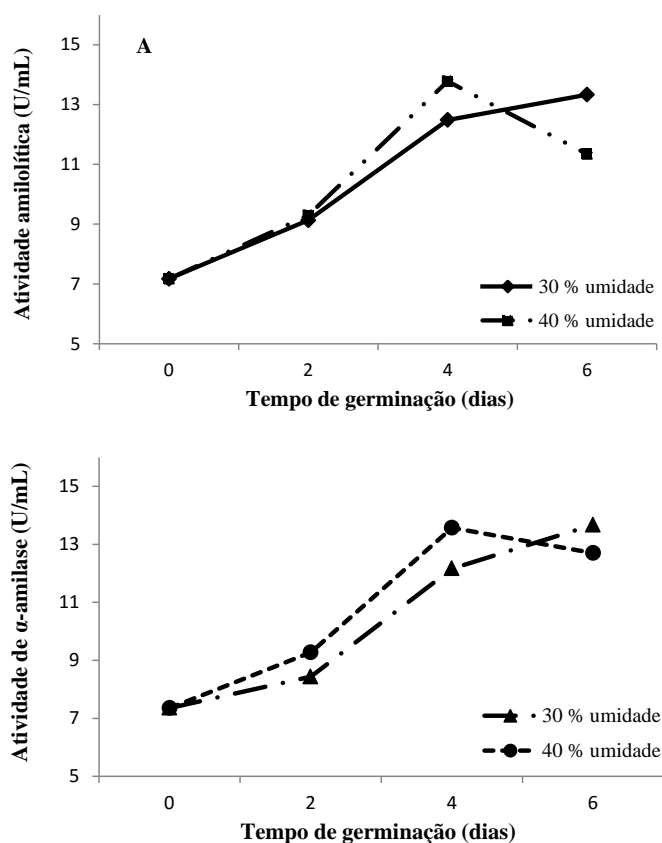


Figura 1: Atividade amilolítica (A) e de α -amilase (B) dos trigos germinados e não germinados.

A atividade das enzimas amilolíticas e de α -amilase diferiu nas amostras com 30 e 40% de umidade, sendo os maiores valores encontrados no quarto dia de germinação, com 40% de umidade. Segundo Ferreira e Borguetti (2004), a germinação é dependente de vários fatores, como água, luz, oxigênio, temperatura e reguladores de crescimento vegetal, sendo que, quando há maior disponibilidade de água e maior temperatura, a germinação ocorre de forma mais acelerada. Após o quarto dia de germinação, os grãos com umidade maior,

sofreram diminuição da atividade enzimática (Figura 1A e 1B). Este resultado pode ser devido ao amido ter sido, quase em seu total, convertido a açúcares, reduzindo a disponibilidade de substrato para a atuação das enzimas (FERREIRA e BORGUETTI, 2004).

4 CONCLUSÃO

Os grãos de trigo germinados apresentaram redução considerável dos valores de número de queda justificada pelo aumento da atuação de enzimas, ativadas durante a germinação. Tais mudanças também foram verificadas na avaliação da atividade amilolítica e de α -amilase dos trigos germinados sob diferentes tempos e umidades de germinação.

5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq, à CAPES, à FAPERGS, à Embrapa-Trigo, ao CsF, à SCIT-RS e ao Polo Tecnológico Sul de Alimentos.

6 REFERÊNCIAS

- AACC – American Association of Cereal Chemists. **Approved methods of American Association of Cereal Chemists**. 10. ed. Saint Paul: AACC, 2000.
- BERNI, P. R. D. A.; CANNIATTI BRAZACA, S. G. Efeito da germinação e da sanitização sobre a composição centesimal, teor de fibras alimentares, fitato, taninos e disponibilidade de minerais em trigo. **Alimentos e Nutrição**, v. 22, n. 3, p. 407–420, 2011.
- BRASIL. Instrução Normativa nº 38, de 30 de novembro de 2010. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - MAPA, 2010.
- BURIRO, M.; OAD, F. C.; KEERIO, M. I.; TUNIO, S.; GANDAH, A. W.; HASSAN, S. W. U.; OAD, S. M. Wheat Seed Germination Under the Influence of Temperature Regimes. **Sarhad J. Agric**, v. 27, n. 4, 2011.
- CARVALHO, P. D. T.; BELEIA, A. D. P. Alterações físico-químicas e atividade enzimática de trigo com germinação pré-colheita. **Revista Ciência Agronômica**, v. 46, n. 3, p. 524-531, 2015.
- CORTE, V. B.; BORGES, E. E. L.; PONTES, C. A.; LEITE, I. T. A.; VENTRELLA, M. C.; MATHIAS, A. A. Mobilização de reservas durante a germinação das sementes e crescimento das plântulas de *Caesalpinia peltophoroides* Benth. **Sociedade de Investigações Florestais**, v. 30, n. 6, p. 941-949, 2006.
- DELLOUR, J. A.; HOSENEY, R. C. **Principles of cereal science and technology**. Saint Paul: American Association of Cereal Chemists, v. 3, 2010. 280 p.
- FERREIRA, A. G.; BORGUETTI, F. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre, Artmed, ed. 1, 2004.
- FRANCO, F. A.; PINTO, R. J. B.; SCAPIM, C. A.; SCHUSTER, I.; PREDEBON, C. T.; MARCHIORO, V. S. Tolerância à germinação na espiga em cultivares de trigo colhido na maturação fisiológica. **Ciência Rural**, v. 39, p. 2396–2401, 2009.

- GIACOMIN, B.; SCHEEREN, P. L.; GUARIENTI, E. M.; SCARIOT, G.; HANEL, J. Associação entre germinação na espiga em pré-colheita e teste de número de queda em genótipos de trigo. p. 5, 2012.
- GUPTA, R. ; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V. K.; CHAUHAN, B. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. **Process Biochemistry**, p. 1-18, 2003.
- HUNG, P. V.; HATCHER, D. W.; BARKER, W. Phenolic acid composition of sprouted wheats by ultra-performance liquid chromatography (UPLC) and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1896–1901, 15 jun. 2011.
- MIRANDA, M. Z. Trigo: germinação e posterior extrusão para obtenção de farinha integral extrusada de trigo germinado. **Dossiê técnico-Embrapa**, 2006.
- MURALIKRISHNA, G.; NIRMALA, M. Cereal α -amylases an overview. **Carbohydrate Polymers**, v.60, p.163-173, 2005.
- SAIKA, H.; NAKAZONO, M.; IKEDA, A.; YAMAGUCHI, J.; MASAKI, S.; KANEKATSU, M., NEMOTO, K. A transposon-induced spontaneous mutation results in low amylase content in rice. **Plant Science**, v.169, p.239-244, 2005.
- SAMAN, P.; VÁZQUEZ, J. A.; PANDIELLA, S. S. Controlled germination to enhance the functional properties of rice. **Process Biochemistry**, v. 43, 1377-1382, 2008.
- SANTOS, I. J.; SANTOS, Y. L.; OLIVEIRA, M. G. A.; SILVA, P. H. A. Expressão da alfa e beta amilase durante a germinação de cevada. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v. 12, n. 1, p. 67–73, 2010.
- SILVA, R. N.; DUARTE, G. L.; LOPES, N. F.; MORAES, D. M.; PEREIRA, A. L. A. Composição química de sementes de trigo (*Triticum aestivum L.*) submetidas a estresse salino na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p. 215–220, 2008.
- SINGKHORNART, S.; EDOU-ONDO, S.; RYU, G. H. Influence of germination and extrusion with CO₂ injection on physicochemical properties of wheat extrudates. **Food Chemistry**, v. 143, p. 122–131, 2014.
- WARREN, F. J.; ZHANG, B.; WALTZER, G.; GIDLEY, M. J.; DHITAL, S. The interplay of α -amylase and amyloglucosidase activities on the digestion of starch in in vitro enzymic systems. **Carbohydrate Polymers**, v. 117, p. 192–200, 2015.