

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**FACULDADE DE AGRONOMIA ELISEU MACIEL**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AGROINDUSTRIAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE**  
**ALIMENTOS**



**Dissertação**

**Germinação pré-colheita e induzida de trigo: atividade enzimática,  
propriedades físico-químicas, reológicas, de panificação e teor de ácido  
γ-aminobutírico**

**Julia Baranzelli**

**Pelotas, 2017**

**Julia Baranzelli**

**Germinação pré-colheita e induzida de trigo: atividade enzimática,  
propriedades físico-químicas, reológicas, de panificação e teor de ácido  
 $\gamma$ -aminobutírico**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Comitê de orientação: Prof. Dr. Álvaro Renato Guerra Dias – UFPel  
Dr<sup>a</sup>. Martha Zavariz de Miranda – Embrapa Trigo  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elessandra da Rosa Zavareze – UFPel

Pelotas, 2017

**Dados de catalogação na fonte:**

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas  
Catalogação na Publicação

B225g Baranzelli, Julia

Germinação pré-colheita e induzida de trigo: atividade enzimática, propriedades físico-químicas, reológicas, de panificação e teor de ácido  $\gamma$ -aminobutírico. / Julia Baranzelli ; Alvaro Renato Guerra Dias, Martha Zavariz de Miranda, orientadores ; Elessandra da Rosa Zavareze, coorientadora. — Pelotas, 2017.

92 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Triticum aestivum L.. 2. Atividade amilolítica. 3. Germinação. 4. Reologia da farinha. 5. Gaba. I. Dias, Alvaro Renato Guerra, orient. II. Miranda, Martha Zavariz de, orient. III. Zavareze, Elessandra da Rosa, coorient. IV. Título.

CDD : 664

Elaborada por Gabriela Machado Lopes CRB: 10/1842

**Julia Baranzelli**

**Germinação pré-colheita e induzida de trigo: atividade enzimática,  
propriedades físico-químicas, reológicas, de panificação e teor de ácido  
 $\gamma$ -aminobutírico**

Dissertação aprovada como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 20/02/2017

Banca examinadora:

---

Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias  
Doutor em Tecnologia de Alimentos – UNICAMP

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marcia Arocha Gularte  
Doutora em Ciência e Tecnologia Agroindustrial – UFPel

---

Dr<sup>a</sup>. Rosana Colussi  
Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFPel

---

Prof. Dr. Nathan Levien Vanier  
Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos – UFPel

*À minha família, em especial, aos meus pais Olice Luiz e Ivane*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, pela família e pelos amigos, por colocar em meu caminho as oportunidades e dar força para alcançar meus objetivos.

À minha família, em especial aos meus pais, Olice Luiz e Ivane, ao meu irmão Luis Felipe, aos meus avós maternos Arnaldo (em memória) e Leoni, ao meu dindo Derli José Dalastra, aos tios, tias e primos que sempre me incentivaram e deram o suporte que precisei em todos os momentos, pelo apoio e carinho durante estes dois anos, sempre preocupados com a minha formação pessoal e profissional.

Ao comitê de orientação acadêmico, Prof. Dr. Álvaro Renato Guerra Dias, Dra. Martha Zavariz de Miranda e Profa. Dra. Elessandra da Rosa Zavarese, exemplos de dedicação ao trabalho e ao ser humano. Muito obrigado pela amizade, pelo convívio e pelos ensinamentos profissionais e pessoais que levarei para toda a vida. Obrigada por proporcionar a oportunidade de realização do mestrado, por todo o aprendizado, por fazer parte da equipe Lab-Grãos e também do Laboratório de Qualidade de Grãos da Embrapa Trigo.

Aos componentes da banca, Prof. Dra. Marcia Arocha Gularte, Dra. Rosana Colussi e Prof. Dr. Nathan Levien Vanier por aceitarem participar da banca e pelas sugestões e contribuições prestadas para o aperfeiçoamento do meu estudo, além da cordialidade e dedicação desempenhadas.

Às pós-doutorandas e amigas Flávia Fernandes Paiva, Rosana Colussi e Shanise Lisie Mello El Halal e à Profa. Dra. Vania Zanela Pinto pelo apoio e pela atenção prestada no decorrer do trabalho. Não tenho palavras para expressar a satisfação de trabalhar junto a vocês, profissionais competentes e extremamente comprometidas. Obrigado pela amizade e pelo auxílio na pesquisa e na escrita.

Aos professores do DCTA-UFPel, em especial Dr. Maurício de Oliveira, Dr. Moacir Cardoso Elias, Dr. Fábio Clasen Chaves, Dr. Cesar Valmor Rombaldi, e Dra. Giniani Dors por terem oportunizado ensinamentos durante o mestrado e pela contribuição no meu desenvolvimento profissional.

Aos queridos colegas que se tornaram grandes amigos Dianini Hutner Kringel, Joseane Bressiani, Franciene de Almeida Villanova, Suzane Rickes da Luz, Caroline Tuchtenhagen Rockembach, Wyller Max Ferreira da Silva, Bárbara Biduski, Jorge Tiago Goebel e Patrícia Vivian pela amizade, pelo companheirismo e todos os momentos vivenciados juntos, tornando mais agradáveis e divertidos estes anos de estudo. Amizades que levarei por toda vida.

Aos demais colegas, bolsistas de iniciação científica, mestrandos, doutorandos, ou pós-doutorandos principalmente do Laboratório de Grãos, mas também dos demais laboratórios do DCTA-UFPel, obrigada pela convivência, auxílio na realização das análises e troca de conhecimentos. Obrigado pela amizade e pelo apoio.

À equipe de funcionários do Laboratório de Qualidade de Grãos da Embrapa, em especial Pihetra Oliveira Tatsch e Ellen Wayerbacher Rogoski, pelas inúmeras análises realizadas, pelos ensinamentos preciosos, pelo apoio emocional e amizade construída.

Às colegas e amigas da Linha de Pesquisa Ciência e Tecnologia de Frutos e Hortaliças do DCTA-UFPel, em especial à Bianca Camargo Aranha e Rosane Lopes Crizel, pela ajuda com as análises de determinação de ácido  $\gamma$ -aminobutírico e micotoxinas, pelo apoio nos longos incansáveis dias de análise. Obrigado pela amizade e pela dedicação de vocês.

Ao Laboratório de Cereais do Centro de Pesquisa em Alimentação (CEPA) da Universidade de Passo Fundo, em especial à pós-doutoranda Tatiana Oro, bolsista de iniciação científica Gabriela Santetti e mestranda Josemere Both, pela ajuda nas análises de propriedades de pasta das farinhas e firmeza dos pães. Obrigada pela generosidade e prestatividade de cada uma de vocês.

A grande amiga, Marina Sbardelotto, por compartilhar os momentos de alegria e ou dificuldade da caminhada pessoal e profissional. Por toda ajuda emocional e pelas inúmeras formas de incentivos, muito obrigada.

A todos os funcionários do DCTA, pelo tratamento atencioso e gentil despendidos ao longo destes anos.

À UFPel, pela instituição séria que representa, onde tive a oportunidade de aprofundar meus estudos científicos e com orgulho, receber da mesma o título de mestre.

Ao Projeto CAPES-Embrapa pelo apoio financeiro indispensável para a conclusão dos estudos realizados.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma com a realização deste trabalho.

## RESUMO

BARANZELLI, Julia. **Germinação pré-colheita e induzida de trigo: atividade enzimática, propriedades físico-químicas, reológicas, de panificação e teor de ácido  $\gamma$ -aminobutírico**. 2017. 92f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

A ocorrência de chuvas antes da colheita do trigo, especialmente no enchimento de grãos, pode causar germinação pré-colheita (PHS, *pre-harvest sprouting*), que prejudica o rendimento em grãos, a extração e a qualidade tecnológica da farinha, afetando suas formas de aplicação. Por outro lado, a germinação pode ser considerada uma ferramenta para melhorar o potencial funcional de diversos alimentos na promoção da saúde, através dos metabólitos formados, como o ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA). Assim, o objetivo desta pesquisa foi investigar o efeito da germinação pré-colheita no campo (PHS) e a induzida em laboratório (GI), na atividade enzimática, nas propriedades físico-químicas, reológicas e de panificação, e no conteúdo de GABA. Foi utilizado trigo da cultivar BRS Marcante com germinação pré-colheita e grãos não germinados (NG) para avaliar estas citadas propriedades e o conteúdo de GABA. Para a germinação induzida, os grãos foram sanitizados com hipoclorito de sódio por 15 min, lavados com água até pH 7,0, macerados até 30% de umidade e incubados por 24, 48 e 72h com 80% de umidade relativa e a 15 e 20°C com intervalos de 12h em cada temperatura, na ausência de luz. A germinação aumentou as atividades amilolítica total e de  $\alpha$ -amilase, mas não afetou a atividade proteolítica. O peso do hectolitro, a massa de mil grãos e o rendimento de farinha foram afetados pela germinação, e os grãos foram classificados como de textura dura. A composição química não mudou para GI24, apenas os teores de amido danificado e glúten diferiram entre as farinhas GIs e PHS, enquanto que as farinhas ficaram mais escuras pela germinação. As amostras de grãos e de farinha refinada não apresentaram presença ou formação de micotoxinas. Através da alveografia, o glúten inicialmente balanceado apresentou maior tenacidade com o aumento de germinação, sem alterar sua força. Houve redução dos valores de farinografia (absorção de água, tempo de desenvolvimento e estabilidade da massa), RVA (viscosidade máxima, ruptura, retrogradação e viscosidade final) e mixolab (gelatinização de amido-C3, resistência à amilase-C4 e retrogradação de amido-C5) resultando no enfraquecimento da massa e na redução da capacidade de gelatinização do amido. O volume específico e a firmeza do pão, e os conteúdos de GABA da farinha e do pão aumentaram em ambos GIs e PHS, enquanto que o miolo dos pães ficou mais escuro com a germinação. As alterações provocadas pela germinação estão diretamente associadas à atividade enzimática e embora tenham sido observadas modificações nas características do amido e da proteína, os tempos de germinação não foram suficientes para causar diminuição nas características de panificação e um aumento significativo no teor de GABA.

**Palavras-Chave:** *Triticum aestivum* L.; atividade amilolítica; germinação; reologia da farinha; panificação; GABA.

## ABSTRACT

BARANZELLI, Julia. **Pre-harvest sprouting and induced germination of wheat: enzymatic activity, physico-chemical, rheological, baking properties and  $\gamma$ -aminobutyric acid content.** 2017. 92f. Dissertation (Master Degree) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Rainfall in wheat before harvesting, especially in grain filling, can cause pre-harvest sprouting (PHS), which has detrimental effect in the grain yield, the extraction and the technological quality of flour, affecting its application forms. On the other hand, germination can be considered a tool to improve functional potentiality of several foods to promote health, through the formed metabolites, such as  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA). Thus, the objective of this research was to investigate the effect of pre-harvest sprouting in the field (PHS) and induced germination in the laboratory (IG), on the enzymatic activity, on the physicochemical, rheological, baking properties, and on the GABA content. BRS Marcante wheat cultivar, with pre-harvest germination in the field and grains of non-germinated (NG), was used to evaluate these cited properties and the GABA content. For the laboratory induced germination, the wheat grains were sanitized with sodium hypochlorite for 15 min, washed with water until pH 7.0 and incubated for 24, 48 and 72h at 80% relative humidity, 30% of grain moisture, and at 15 and 20°C with intervals of 12h in each temperature, in the absence of light. Germination increased total amylolytic and  $\alpha$ -amylase activities, but did not affect proteolytic activity. The test weight, the thousand kernel weight and the flour yield were affected by germination, and the grains were classified as being hard texture. There was no change in the IG24 chemical composition, only damaged starch and gluten contents differed among the IGs and PHS flours, and the flours became darker by the germination. There was no presence or formation of mycotoxins in grain and refined flour samples. By alveography, the gluten, initially balanced, presented more tenacity with the increase of germination, without changing its strength. The reduction in the values of farinography (water absorption, dough development time, and stability), RVA (viscosity peak, breakage, setback and final viscosity) and Mixolab (starch gelatinization-C3, resistance amylase-C4, and starch retrogradation-C5), showed dough weakening and starch gelatinization capacity reduction. Bread specific volume and firmness, and flour and bread GABA contents, increased in both IGs and PHS, while bread crumbs became darker with germination. The changes caused by germination are directly associated to the enzymatic activity and although changes in starch and protein characteristics were observed, the germination times were not enough to cause a decrease in baking characteristics and a significant increase in GABA content.

**Keywords:** *Triticum aestivum* L.; amylolytic activity; germination; flour rheology; breadmaking; GABA.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Grão de trigo, componentes anatômicos e distribuição de compostos bioativos (adaptado de ANDERSSON, 2011) .....	18
Figura 2 - Estrutura molecular da amilopectina (A) e da amilose (B) .....	19
Figura 3 - Reação de descarboxilação de L-glutamato catalisada pela glutamato descarboxilase (GAD) com a formação de ácido $\gamma$ -aminobutírico (GABA) e liberação de dióxido de carbono .....	23
Figura 4 - Curva típica de viscosidade do RVA (adaptado de Newport Scientific 2001) .....	45
Figura 5 - Curva típica de Mixolab e parâmetros analisados a partir da amostra padrão (adaptado de Schmiele et al., 2016) .....	46
Figura 6 - Propriedades de pasta de farinha refinada de trigo não germinado e com germinação induzida e pré-colheita, sem (A) e com $\text{AgNO}_3$ (B).....	62
Figura 7 - Firmeza dos pães.....	68
Figura 8 - Características de cor e alvéolos do miolo dos pães .....	71
Figura 9 - Teor de GABA da farinha refinada e dos pães. ....	74

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Delineamento experimental para avaliar as alterações nas propriedades dos grãos, das farinhas e dos pães de trigo não germinado (NG) e germinado por germinação induzida (GI) e pré-colheita (PHS).....	36
Tabela 2 - Atividade enzimática dos grãos de trigo, analisada na farinha integral .....	50
Tabela 3 - Propriedades físicas dos grãos de trigo .....	52
Tabela 4 - Atividade enzimática e taxa de extração da farinha refinada .....	54
Tabela 5 - Composição química, teor de amido danificado e de glúten da farinha refinada .....	56
Tabela 6 - Parâmetros de cor da farinha refinada de trigo .....	58
Tabela 7 - Propriedades reológicas da farinha refinada.....	59
Tabela 8 - Propriedades de pasta das farinhas refinadas de trigo não germinado e com germinação induzida e pré-colheita, sem e com adição de nitrato de prata (AgNO <sub>3</sub> ).....	63
Tabela 9 - Propriedades de mistura e de pasta por Mixolab .....	65
Tabela 10 - Características de qualidade física e cor dos pães de farinha de trigo não germinado e com germinação induzida pré-colheita .....	68
Tabela 11 – Pontuação dos pães de forma elaborados com farinha refinada de trigo não germinado, com germinação induzida e pré-colheita .....	72

## SUMÁRIO

RESUMO.....	6
ABSTRACT .....	7
LISTA DE FIGURAS .....	8
LISTA DE TABELAS .....	9
1 INTRODUÇÃO .....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	16
2.1 Trigo.....	16
2.1.1 Cultura e produção .....	16
2.1.2 Estrutura e composição química.....	17
2.1.2.1 Carboidratos .....	18
2.1.2.2 Proteínas .....	20
2.1.2.3 Lipídeos .....	22
2.1.2.4 Vitaminas e minerais .....	22
2.1.2.5 Ácido $\gamma$ -aminobutírico GABA .....	23
2.2 Germinação .....	24
2.2.1 Germinação induzida .....	25
2.2.2 Germinação pré-colheita de trigo (PHS).....	26
2.3 Alterações ocasionadas pela germinação.....	28
2.3.1 Composição química e qualidade nutricional (GABA) .....	28
2.3.2 Propriedades físico-químicas, reológicas e de panificação .....	30
2.3.3 Ocorrência de doenças fúngicas e de micotoxinas em trigo.....	34
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	36
3.1 Material .....	36
3.2 Métodos .....	36
3.2.1 Delineamento experimental .....	36
3.2.2 Germinação do trigo .....	38
3.2.3 Análises dos grãos de trigo.....	38
3.2.3.1 Obtenção da farinha integral .....	38
3.2.3.2 Atividade amilolítica total e $\alpha$ -amilase.....	38
3.2.3.3 Número de queda.....	39
3.2.3.4 Atividade proteolítica .....	39
3.2.3.5 Massa de mil grãos .....	40

3.2.3.6	Massa específica aparente.....	40
3.2.3.7	Dureza dos grãos .....	40
3.2.3.8	Análise de micotoxinas.....	41
3.2.4	Avaliação das farinhas refinadas de trigo .....	42
3.2.4.1	Obtenção da farinha refinada e taxa de extração de farinha .....	42
3.2.4.2	Atividade amilolítica total e $\alpha$ -amilase .....	42
3.2.4.3	Número de queda.....	43
3.2.4.4	Atividade proteolítica .....	43
3.2.4.5	Composição química, amido danificado e glúten .....	43
3.2.4.6	Cor da farinha.....	43
3.2.4.7	Propriedades reológicas.....	44
3.2.4.8	Propriedades de pasta.....	44
3.2.4.9	Propriedades de mistura e de pasta por Mixolab .....	45
3.2.4.10	Extração e avaliação de GABA .....	46
3.2.4.11	Análise de micotoxinas.....	47
3.2.5	Panificação e avaliação das características de qualidade dos pães .....	47
3.2.5.1	Avaliação da qualidade física dos pães.....	48
3.2.5.2	Textura dos pães.....	48
3.2.5.3	Cor do miolo .....	49
3.2.5.4	Características tecnológicas dos pães .....	49
3.2.5.5	Extração e avaliação de GABA .....	49
3.2.6	Análise estatística.....	49
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	50
4.1	Efeito da germinação nos grãos de trigo.....	50
4.1.2	Propriedades físicas .....	51
4.2	Efeito da germinação de trigo na farinha refinada .....	53
4.2.1	Atividade enzimática e rendimento de extração .....	53
4.2.2	Composição química .....	55
4.2.3	Características de cor .....	57
4.2.4	Propriedades reológicas .....	59
4.3	Efeito da germinação no teor de micotoxinas .....	66
4.4	Efeito da germinação de trigo nas propriedades de panificação da farinha refinada .....	67
4.4.1	Características físicas dos pães .....	67

4.4.2 Características de qualidade dos pães .....	70
4.5 Efeito da germinação de trigo no teor de GABA .....	73
5 CONCLUSÕES .....	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	78
Anexos .....	91
Anexo A – Avaliação das características tecnológicas dos pães .....	92

## 1 INTRODUÇÃO

O trigo (*Triticum aestivum* L.) é uma das principais culturas de cereais e está entre os alimentos básicos para a população mundial. A ocorrência de chuvas na fase pré-colheita do trigo, especialmente no enchimento de grãos, causa a germinação pré-colheita (pre-harvest sprouting, PHS). Este fator abiótico prejudica o rendimento em grãos, a extração e a qualidade tecnológica da farinha, afetando as formas de aplicação do trigo, principalmente para a produção de pães e de massas alimentícias, com conseqüente diminuição do valor econômico.

A germinação pode ser definida como a modificação morfológica e bioquímica de cereais devido à absorção de água. Para que ocorra a germinação, tanto natural quanto induzida, é necessário que os grãos estejam com sua integridade preservada, em condições de umidade elevada, temperatura ideal entre 15 e 31°C, e na presença de oxigênio, desta forma dão início ao processo germinativo, em que o eixo embrionário da semente dá prosseguimento ao seu desenvolvimento, que tinha sido interrompido por motivo da maturidade fisiológica.

A germinação pré-colheita ocorre de forma natural no campo, não é possível controlar o processo e vários fatores podem estar relacionados, como intensidade da chuva, vento, luz e trocas de temperatura. Enquanto que na germinação induzida em laboratório há controle das variáveis envolvidas, como umidade, tempo e temperatura, presença ou ausência de luz, favorecendo, assim, um processo homogêneo durante todo o período.

Durante a germinação, inicialmente, o amido é hidrolisado pela atuação de enzimas amilolíticas, principalmente  $\alpha$ -amilases, produzindo maltose, glicose, dextrinas e oligossacarídeos. Além dos processos amilolíticos, proteínas de armazenamento, como as formadoras de glúten (gliadinas e

gluteninas), também são hidrolisadas em estágios mais avançados da germinação pré-colheita, liberando aminoácidos livres e cadeias peptídicas.

O processo de germinação pode ser prejudicial as propriedades de panificação das farinhas, por outro lado, este processo vem sendo considerado como ferramenta para aumentar o potencial funcional de promoção da saúde. Através da germinação ocorre aumento da biodisponibilidade de aminoácidos e o amido torna-se mais digerível, além de grande número de compostos bioativos que são formados. Dentre os compostos bioativos, têm-se o ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), recomendado para prevenir distúrbios neurológicos, além de estar associado à prevenção e redução de doenças como diabetes tipo 2, hipercolesterolemia, hipertensão, Alzheimer, doença renal crônica, alguns tipos de câncer (mama, cólon e fígado), entre outras.

Alguns estudos mostraram efeitos da germinação sobre as propriedades das farinhas e dos amidos de trigo (NODA et al., 2004, OLAERTS et al., 2016a e OLAERTS et al., 2016b). Outros, investigaram a atividade antioxidante e a produção de compostos bioativos, como GABA e compostos fenólicos a partir da germinação induzida de grãos (CÁCERES et al., 2014, DIANA, QUÍLEZ e RAFECAS 2014a, OHM, LEE e CHO, 2016 e XIA et al., 2017). Ainda há estudos que mostram a aplicação de trigo germinado em produtos de panificação como fonte de GABA (LAMBERTS et al., 2012; DIANA, QUÍLEZ e RAFECAS 2014b e CORNEJO et al., 2015).

Porém, um estudo que reúna efeitos da germinação de trigo nas propriedades físico-químicas, reológicas, de panificação e no teor de GABA nas farinhas obtidas de trigo germinado por germinação pré-colheita, que utilize trigo com germinação pré-colheita como ferramenta para aumentar o potencial de promoção da saúde e compara os efeitos da germinação induzida com a pré-colheita ainda não está bem elucidado na literatura.

Neste contexto, objetivou-se com esta pesquisa investigar efeitos da germinação pré-colheita (PHS) de trigo no campo e germinação induzida (GI) em laboratório sobre a atividade enzimática, as propriedades físico-químicas, reológicas e de panificação e no teor de GABA.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Trigo**

#### **2.1.1 Cultura e produção**

O trigo (*Triticum aestivum* L) é uma das culturas mais importantes e amplamente cultivadas no mundo, com produção anual de 750 milhões de toneladas, ocupa o segundo lugar na produção mundial, perdendo apenas para a cultura de milho. Os principais produtores de trigo no mundo são China, Índia, Rússia, Estados Unidos, França e Canadá (FAO, 2017).

No Brasil, o trigo é cultivado principalmente na região sul, nos estados do Paraná e do Rio Grande do Sul. Outros estados como São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul também contribuem com a produção brasileira de trigo, mas em menor escala (CONAB, 2016). Embora a área plantada de trigo alcance 253,9 mil hectares, a demanda pelo produto é maior que a oferta, além disso, as frequentes ocorrências de chuvas no período da colheita, principalmente na região sul, afetam a qualidade tecnológica das farinhas, podendo apresentar alta incidência de grãos germinados.

O Brasil produz aproximadamente 5,5 milhões de toneladas de trigo por ano. Para suprir a demanda de trigo pelo país, são importados anualmente aproximadamente 5,8 milhões de toneladas de outros países, principalmente Argentina e Estados Unidos (CONAB, 2016). Apesar do país não ser autossuficiente e nem se destacar como produtor mundial, o trigo é o quarto grão em volume de produção, perdendo para as culturas de soja, milho e arroz (CONAB, 2016). Do total de farinha consumida, no país, 55% é utilizada na

fabricação de pães, 17% para massas, 13% para biscoitos, 11% para uso doméstico e 4% para outros segmentos (ABITRIGO, 2017).

### 2.1.2 Estrutura e composição química

A planta de trigo pertence à família *Poaceae*, a divisão das angiospermas e a classe das monocotiledônea (DENDY e DOBRASZCZYK, 2001). O grão do trigo possui formato ovalado com um sulco disposto longitudinalmente que se estende por toda sua extensão, na parte central. Em uma das extremidades apresenta pelos que podem ser mais ou menos curtos e que são extensões das células epidérmicas (ABECASSIS e SHEWRY, 2009).

As cultivares de trigo em alguns países, como Canadá e Estados Unidos, são classificadas segundo a estação do ano em que são cultivadas como trigo de inverno (semeado no outono, fica sob a neve no inverno e brota na primavera) ou de primavera (semeado na primavera e colhido no outono); pela dureza do grão, como trigo duro e mole; e pela cor do grão, como vermelho ou branco; características essas ligadas ao conteúdo de proteína e amido. No Brasil há apenas uma safra de trigo, que é considerada cultura de inverno (semeado desde fevereiro na região central até julho no sul do país, e colhido de julho até dezembro, respectivamente). O trigo brasileiro é mais parecido com o trigo vermelho duro de primavera dos países da América do Norte.

Dentre as espécies de trigo mais cultivadas no mundo têm-se os trigos hexaploides e tetraploides, de nomes científicos *Triticum aestivum* e *Triticum durum*, respectivamente. O *T. aestivum* representa 95% da produção mundial e contempla as texturas de grão mole e dura (GOODING, 2009) envolvendo variedades específicas para produção de pães ou de biscoitos. Enquanto que o *T. durum* contribui com os 5% restantes e é principalmente indicado para a produção de massas (BARAK, MUDGIL e KHATKAR, 2015).

Através do corte longitudinal do grão, conforme Figura 1, podem ser visualizadas as três partes básicas que o compõe: pericarpo, ou industrialmente conhecido como farelo, que compreende de 14 a 15% do peso

seco do grão; endosperma, que corresponde a maior fração, com um total de 80 a 85% e gérmen, de 3 a 4% (DELCOUR e HOSENEY, 2010).

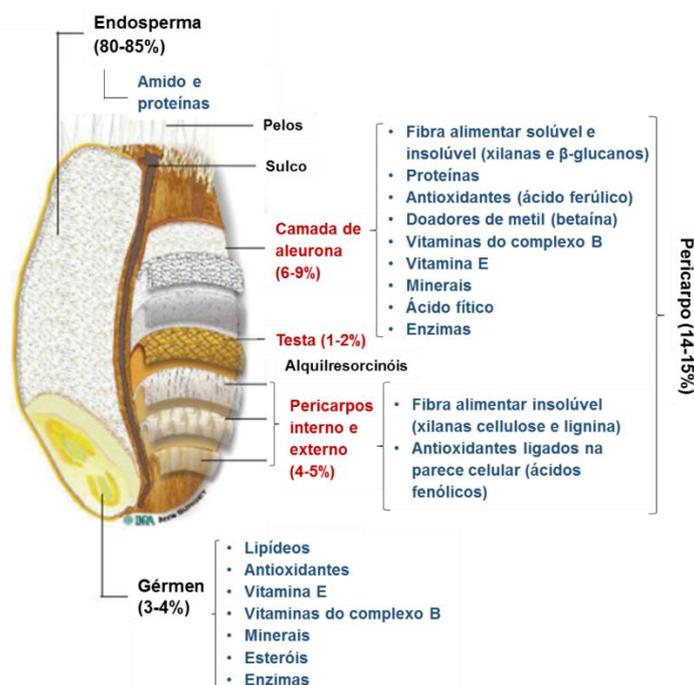


Figura 1 - Grão de trigo, componentes anátômicos e distribuição de compostos bioativos (adaptado de ANDERSSON, 2011)

Os constituintes não se distribuem uniformemente pelo grão. O pericarpio recobre o endosperma e compreende as camadas mais externas do grão, sendo rico em pentosanas, celulose e cinzas. A aleurona é uma camada rica em fibras, cinzas (fósforo e fitato), proteínas, enzimas e vitamina E e do complexo B. No endosperma predomina a fração amido envolta em matriz proteica, cobertos pela camada de aleurona. O gérmen ou embrião está localizado na parte dorsal do grão e é composto por escutelo (cotilédone), coleóptilo, plúmula e radícula, tem alto teor de lipídeos, antioxidantes, vitaminas, minerais e enzimas (DELCOUR e HOSENEY, 2010).

### 2.1.2.1 Carboidratos

Os carboidratos são, quantitativamente, os componentes presentes em maior quantidade no grão maduro, constituindo cerca de 70% do seu peso seco. Eles incluem predominantemente amido (60 a 75%), mas também

pentosanas (6,5%), celulose (2 a 2,5%) e 1,5% de açúcares redutores (QUAGLIA, 1991).

O amido é o principal carboidrato de reserva de plantas e pode ser encontrado em cereais, raízes, tubérculos, sementes e frutos. O endosperma maduro do trigo contém principalmente amido disposto em uma matriz proteica, encontrado na forma de grânulos, os quais são formados nos amiloplastos. Formado pelas macromoléculas de amilopectina e amilose, geralmente na proporção de 75% e 25%, respectivamente (BOBBIO e BOBBIO, 1995; CHEN et al., 2016).

A amilopectina e a amilose são formadas por unidades de D-glicose, porém diferem em tamanho e estrutura molecular. A amilopectina (Figura 2A) é formada por ligações  $\alpha$ -(1-4) na cadeia principal, com cerca de 5 a 6% de ligações  $\alpha$ -(1-6) nos seus pontos de ramificação, formando uma cadeia ramificada e a amilose (Figura 2B) apresenta ligações  $\alpha$ -(1-4), originando uma cadeia essencialmente linear (WALTER, SILVA e EMANUELLI, 2005; ZAVAREZE e DIAS, 2012). A estrutura do amido depende da maneira como as moléculas de amilose e amilopectina estão associadas e distribuídas ao longo do grão (ZAVAREZE e DIAS, 2012).

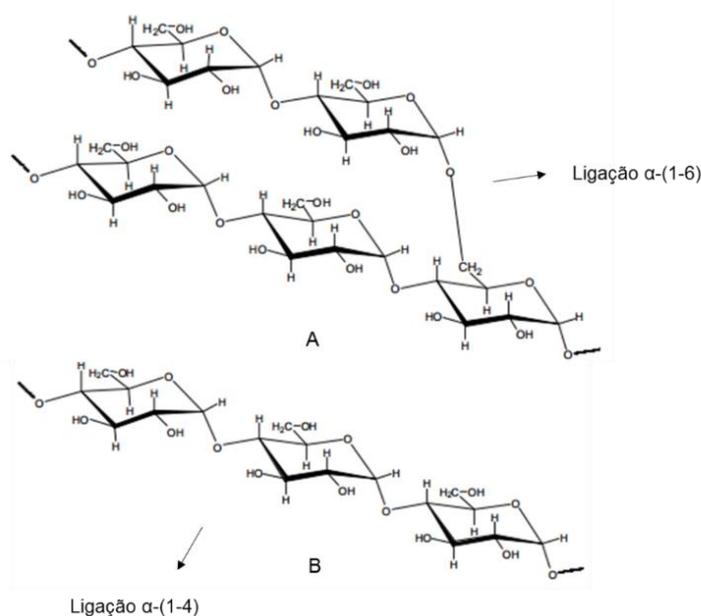


Figura 2 - Estrutura molecular da amilopectina (A) e da amilose (B)

O amido de trigo apresenta distribuição granulométrica bimodal, sendo classificado em tipo A e tipo B (KIM e HUBER 2007). Os grânulos dos tipos A e B possuem composições químicas e propriedades funcionais muito diferentes entre si. Os grânulos do tipo A têm mais de 10µm de diâmetro e formato lenticular, enquanto que os do tipo B têm um diâmetro inferior a 10µm e são esféricos (YIN et al., 2012).

A existência de ramificadas na amilopectina e moléculas lineares na amilose resulta no aparecimento de regiões cristalinas e amorfas distribuídas nos grânulos de amido (PARKER e RING, 2001). A parte linear da molécula de amilopectina forma estruturas helicoidais duplas e são elas que dão origem às regiões cristalinas. A região amorfa é composta pelas cadeias de amilose e pelas ramificações da amilopectina. No entanto, não existe demarcação entre regiões amorfas e cristalinas, o que existe são evidências de uma estrutura supramolecular onde as fases amorfas e cristalinas são interdependentes (PÉREZ e BERTOF, 2010).

A região amorfa dos grânulos de amido é menos densa, e, portanto, mais susceptível ao ataque enzimático. Esta região absorve mais água em temperaturas mais baixas que a de gelatinização. Por outro lado, são as regiões cristalinas do amido que mantêm a estrutura do grânulo, controlam o seu comportamento na presença de água e os tornam mais ou menos resistentes aos ataques químicos e enzimáticos (HOSENEY, 1991).

### **2.1.2.2 Proteínas**

As proteínas correspondem entre 6 a 20% do peso seco dos grãos de trigo (ZILIC et al., 2011; BARAK, MUDGIL e KHATKAR 2015). São polímeros orgânicos formados por cadeias de aminoácidos unidos entre si por ligações peptídicas entre o grupamento amina (-NH<sub>2</sub>) de um aminoácido com o grupo carboxila (-COOH) de outro aminoácido.

De acordo com a classificação de Osborne as proteínas de trigo são separadas em quatro grupos: as albuminas são solúveis em água, as globulinas são solúveis em solução salina diluída, as gliadinas pertencem a classe das prolaminas e são solúveis em solução alcoólica a 70% e as

gluteninas pertencem a classe das glutelinas e são solúveis em solução ácida ou básica diluída (BARAK, MUDGIL e KHATKAR, 2015).

As gliadinas e gluteninas são as proteínas de maior interesse, pois são elas que formam a rede de glúten, correspondendo a 80-85% do total de proteína do trigo, enquanto que as albuminas e globulinas representam apenas 15-20% da proteína do grão (HOSENEY, 1991; SINGH, SINGH e MACRITCHIE, 2011).

As proteínas influenciam o processamento e as propriedades reológicas da farinha de trigo. Estas propriedades descritas como viscoelasticidade, são particularmente importantes na fabricação de pães fermentados, uma vez que permitem o aprisionamento de dióxido de carbono liberado durante a fermentação. Além disso, também são importantes para outros produtos, como bolos, biscoitos e massas (SHEWRY, 2009).

As características de coesividade, extensibilidade e viscosidade do glúten são atribuídas às gliadinas, enquanto que as gluteninas contribuem para as propriedades de elasticidade e resistência do glúten (XU, BITZ e CARRIERE, 2007; BARAK, MUDGIL e KHATKAR 2015). As proteínas formadoras de glúten são ricas nos aminoácidos asparagina, glutamina, arginina ou prolina, e apresentam, em menor quantidade, lisina, triptofano, glutamato e metionina (ZILIC et al., 2011; XIA et al., 2017).

As gliadinas representam 40 a 50% do total das proteínas de armazenamento, são classificadas em quatro subcategorias  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\omega$ , com massa molecular de aproximadamente 30 a 80 kDa e apresentam estrutura globular. Os resíduos de cisteína de gliadinas formam principalmente ligações dissulfeto intramoleculares (BARAK, MUDGIL e KHATKAR 2015). As gliadinas, majoritariamente, do tipo  $\alpha$ - são geralmente associadas a doença celíaca (ZILIC et al., 2011).

Os polímeros de gluteninas são polipeptídios simples ligados através de ligações dissulfídicas intermoleculares e representam 45% do total de proteínas do grão. As gluteninas apresentam massa molecular que varia de 30 a 140kDa e são ainda fracionados em subunidades de glutenina de elevada massa molecular (high molecular weight glutenin subunit, HMW-GS: 90-140kDa) e glutenina de baixa massa molecular (low molecular weight glutenin subunit, LMW-GS: 30-75kDa) (ANJUM et al., 2007).

### **2.1.2.3 Lipídeos**

Os lipídeos são encontrados em pequena quantidade, constituindo 2 a 3% dos grãos de trigo. Estão localizados no gérmen de 30 a 36%, na camada de aleurona de 25 a 29% e no endosperma de 35 a 45% do total de lipídeos do grão de trigo (FINNIE, JEANNOTTE e FAUBION, 2009).

No trigo, os lipídeos apresentam grande diversidade estrutural e compreendem componentes neutros (acilgliceróis e ácidos graxos livres) e polares (glicolipídeos e fosfolipídeos). Como na maioria dos tecidos de sementes, os triacilgliceróis são os principais lipídeos de armazenamento e estão contidos em organelas subcelulares chamadas oleossomas. Embora presentes em pequenas quantidades no trigo, apresentam impactos significativos na funcionalidade da farinha e da massa, interagindo com as proteínas do glúten e com o amido, estabilizando células de gás durante a panificação (PAREYT et al., 2011).

A importância dos lipídeos no processo tecnológico de transformação e na conservação do produto final é devida às suas propriedades tensoativas e à capacidade de reação com as proteínas. Os lipídeos endógenos da farinha de trigo não possuem influência nas propriedades reológicas da massa (extensão biaxial), indicando a importância dos lipídeos da farinha de trigo como componentes ativos de superfície, estabilizando ou desestabilizando a estrutura das células de gás da massa. Os lipídeos polares apresentam efeito estabilizador, resultando em melhora no volume do pão. Já os lipídeos apolares demonstram efeito desestabilizador, o que causa diminuição do volume do pão (PAREYT et al., 2011).

### **2.1.2.4 Vitaminas e minerais**

A maior parte dos cereais são fontes importantes de vitaminas (HOSENEY, 1991). O trigo contém quantidades apreciáveis de tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina, ácido pantotênico, ácido fólico e tocoferóis. Sua

distribuição não é homogênea e se localiza quase que totalmente na parte externa, sendo extraídas pelo processo de moagem (QUAGLIA, 1991).

O trigo possui 1,5 a 2,0% de minerais, onde, aproximadamente 61% destes, estão localizados na camada de aleurona (HOSENEY, 1991). Os principais minerais encontrados no trigo são fósforo, potássio, magnésio, cálcio, ferro, enxofre, manganês e fitato (QUAGLIA, 1991; SHEWRY, 2009).

### 2.1.2.5 Ácido $\gamma$ -aminobutírico GABA

O ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) é um aminoácido livre de quatro carbonos que está amplamente presente em plantas, animais e bactérias. Em plantas e bactérias desempenha papel metabólico no ciclo de Krebs, e nos animais age como poderoso neurotransmissor (DIANA, QUÍLEZ e RAFECAS, 2014a; HAYAT et al., 2014). A formação de GABA é atribuída à descarboxilação de L-glutamato durante a germinação dos grãos que ativa a enzima glutamato descarboxilase (GAD), como pode ser observado na Figura 3 (AL-QURAAN, SARTAWA e QARYOUTI, 2013).

O GABA atua no sistema nervoso central (SNC) e é responsável por controlar uma série de funções físico-químicas no corpo humano (HAYAT et al., 2015). Esse neurotransmissor tem efeito oposto ao glutamato, pois age como inibidor de sinais, enquanto que o glutamato age com efeito excitatório (ECKSTEIN et al., 2008).

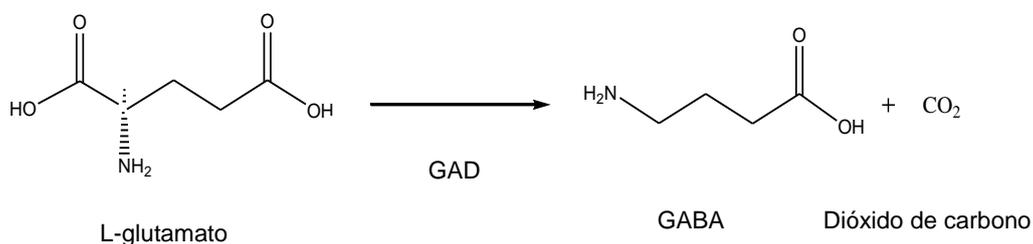


Figura 3 - Reação de descarboxilação de L-glutamato catalisada pela glutamato descarboxilase (GAD) com a formação de ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) e liberação de dióxido de carbono

O GABA exerce uma série de efeitos promotores da saúde, tais como a regulação da pressão arterial e da frequência cardíaca, alívio da dor, ansiedade e insônia, estimula células imunes, inibe a proliferação de células

cancerígenas, estimula a produção de insulina no pâncreas, ajudando na prevenção da diabetes tipo 2 (DONKOR et al., 2012; CÁCERES et al., 2014; SHAO e BAO, 2015; OHM, LEE e CHO, 2016), além de estar associado à prevenção ou redução de doenças como hipercolesterolemia, Alzheimer e doença renal crônica (CÁCERES et al., 2014; CHALERMCHAIWAT et al., 2015; CORNEJO et al., 2015).

## **2.2 Germinação**

A germinação das sementes é um processo natural e desejável para a perpetuação da espécie. Para que ela ocorra, é fundamental que haja condições favoráveis de umidade, temperatura (entre 15 e 31°C) e oxigênio, além de preservada a integridade das sementes. Nessas condições, ocorre uma série de reações morfológicas e bioquímicas, como a degradação de substâncias de reserva (FERREIRA e BORGHETTI, 2004; MCKIE e MCCLEARY, 2015).

A primeira etapa da germinação envolve a hidratação da semente (embebição), tanto das células do embrião como do endosperma. Isso promove a ativação de enzimas para a formação de organelas e macromoléculas, bem como a produção de energia a partir das substâncias de reserva.

A embebição é influenciada pela composição do grão, onde proteína e celulose são as principais responsáveis pela absorção de água. O processo promove mudanças no volume e na massa dos grãos. A germinação ocorre quando o grão absorve certa quantidade de água, que varia muito de espécie para espécie. Nesta etapa ocorre o rompimento do pericarpo na região do gérmen e começam a surgir as chamadas plúmulas. Em seguida surge a raiz primária e após algumas horas, o primeiro par de radículas já pode ser visto. O embrião se desenvolve, estabelece-se e então surgem as primeiras folhas (FERREIRA e BORGHETTI, 2004).

Durante as primeiras fases da germinação, ocorre o aumento da atividade enzimática, principalmente de  $\alpha$  e  $\beta$ -amilases, endo- $\beta$ -glucanase, dextrinase, proteases e lipases. A atividade hidrolítica é essencial, pois converte substâncias de reserva, principalmente o amido, em açúcares

menores que são substratos para o processo respiratório do grão (DELCOUR e HOSENEY, 2010). O aumento da taxa respiratória do grão acelera o metabolismo e a hidrólise do amido, de proteínas e da fração lipídica, reduzindo a matéria-seca (POPINIGIS, 1985).

A  $\alpha$ -amilase atua nas ligações  $\alpha$ -(1-4) tanto de moléculas de amilose como de amilopectina, gerando maltose, glicose e dextrinas. A  $\beta$ -amilase age na extremidade não-redutora de oligo e poli-glucanos, produzindo, principalmente maltose, mas sua ação é interrompida nas ligações  $\alpha$ -(1-6). A maltose pode ser convertida em glicose pela maltase e nas dextrinas que apresentam ligações  $\alpha$ -(1-6), agem as dextrinases originando oligossacarídeos (TESTER, KARKALAS e QI, 2004).

Na germinação, além de energia dos carboidratos, o embrião cresce às custas de fornecimento de aminoácidos. Ocorre hidrólise de proteínas de reservas, gerando frações solúveis nitrogenadas, incluindo aminoácidos livres que então sofrem inter-conversão para a constituição de novos tecidos vegetais. Essas alterações causam mudanças nas concentrações de proteínas, nitrogênio solúvel e nitrogênio de aminoácidos livres (JONES, 2005).

Em suma, a germinação é uma tecnologia de baixo custo que começa com a captação de água da semente e termina na protrusão da radícula da planta. A reativação do metabolismo ocorre durante o processo de germinação das sementes, que resulta na hidrólise de carboidratos e de proteínas de armazenamento para a síntese/acumulação de metabólitos com propriedades promotoras da saúde (CÁCERES et al., 2014).

### **2.2.1 Germinação induzida**

A germinação induzida em escala laboratorial pode ser realizada por diversos métodos, porém o processo consiste nas mesmas etapas. Basicamente os grãos secos são macerados em água até completa saturação, após o excesso de água é drenado e as sementes são colocadas em ambientes sob temperatura e umidade controladas para iniciar o processo germinativo (MIRANDA, 1998). As condições ideais de germinação são definidas de acordo com o objetivo de cada estudo.

Um estudo realizado por Hefni e Witthöft (2011) utilizou a germinação de grãos de trigo por 48h, em câmaras na ausência de luz, com o objetivo de aumentar o teor de ácido fólico na farinha. Já Ichinose et al. (2001) examinaram as alterações físicas e enzimáticas relacionadas à qualidade da panificação no trigo danificado durante a germinação. No método utilizado, os grãos foram embebidos em água a 5°C durante a noite e depois mantidas, em incubadora, a 20°C durante 24 h.

Singhornart, Edou-Ondo e Ryu (2014) estudaram as propriedades físicas e nutricionais de extrusados de trigo integral e germinado. Os grãos de trigo foram embebidos em água destilada numa razão de 1:4 (p/v) durante 6h. Após os grãos foram colocados em bandejas e germinados a 25°C, realizando aspersão de água três vezes ao dia. O trigo germinado foi retirado após 3 dias e seco em estufa a 50°C durante 24h.

Donkor et al. (2012) estabeleceram os efeitos da germinação sobre a síntese de compostos fisiologicamente importantes, como vitamina C, compostos fenólicos e antioxidantes em variedades de grãos. Os grãos foram submersos em hipoclorito de sódio (NaClO) na proporção de 1:5 p/v durante 30min, após foram lavados e embebidos em água durante 24h a 17°C. Para a germinação, os grãos foram incubados a 98% de umidade relativa e 17°C durante 5 dias no escuro. Foi realizada aspersão com água em intervalos de 12 h e arejados manualmente a cada 24h. Após 5 dias os grãos foram lavados com água destilada e armazenados a -80°C.

## **2.2.2 Germinação pré-colheita de trigo (PHS)**

A germinação pré-colheita de trigo (*pre-harvest sprouting*, PHS) ocorre devido ao excesso de umidade que os grãos absorvem durante as fases que antecipam a colheita, causada por longos e intensos períodos de chuva (CUNHA, PIRES e PAZINATO 2004). As alterações que ocorrem no grão devido a PHS podem alterar sua classificação, o que acarreta em perdas econômicas para produtores e investidores desta cultura.

A PHS afeta não somente a produção de trigo no Brasil, como também, diferentes regiões do mundo como Europa, Estados Unidos, Austrália, Nova

Zelândia, Canadá, África do Sul, China, Chile, Japão, Irã e Argentina (MARES e MRVA, 2008; MALAKSHAH et al., 2014). No Brasil atinge principalmente a região sul que é responsável por mais de 80% da produção tritícola (CUNHA, PIRES e PAZINATO 2004).

Do ponto de vista da fisiologia vegetal, a PHS está relacionada com a dormência da semente (FERREIRA e BORGUETI, 2004). Esta corresponde a falta de expressão da atividade enzimática do grão envolvida com a germinação, com destaque para a  $\alpha$ -amilase. Essa enzima pode ser acumulada nos grãos de trigo de quatro formas diferentes: I- pode permanecer retida no pericarpo depois de produzida na fase inicial de formação do grão; II- é produzida durante a fase de pré-maturação da semente; III- acumula-se quando ocorre germinação na fase de pré-maturação fisiológica antes da indução da dormência; e IV- quando ocorre germinação após a maturação fisiológica da semente, quebrando a dormência (CUNHA, PIRES e PAZINATO, 2004).

Nos grãos secos, embora presente, a  $\alpha$ -amilase tem atividade praticamente nula, causando pouco ou nenhum dano aos grãos, mas em condições específicas, a enzima promove hidrólise parcial ou total do amido (CUNHA, PIRES e PAZINATO, 2004). Durante longos períodos chuvosos antes da colheita de trigo, a PHS também ativa proteases presentes no trigo. Essas enzimas hidrolisam ligações peptídicas entre os aminoácidos, causando destruição parcial da rede proteica, com consequente aumento da viscosidade, diminuição do tempo de mistura e da estabilidade da massa, promovendo enfraquecimento da rede de glúten (HALLÉN, IBANOGLU e AINSWORTH, 2004).

Embora o intuito da germinação seja o mesmo tanto para a PHS como para a germinação induzida, as alterações sofridas diferem na maneira e na intensidade as quais acontecem. A PHS ocorre de forma natural no campo, não havendo controle do processo e vários fatores podem estar relacionados, como intensidade da chuva, vento, luz e trocas de temperatura (MARES e MRVA, 2008; OLAERTS et al., 2016a). Enquanto que na germinação induzida em laboratório a ausência destes fatores ou a substituição deles por condições controladas de umidade e temperatura favorecem o desenvolvimento de um

início imediato da germinação e homogêneo durante todo o período (CÁCERES et al., 2014; CORNEJO et al., 2015).

Noda et al. (2003) compararam os processos de germinação em escala laboratorial e germinação pré-colheita (PHS) e observaram aumento pronunciado na atividade de  $\alpha$ -amilase após 4 e 5 dias de germinação em condições controladas. A PHS não teve controle de temperatura e umidade dos grãos, assim, os resultados de atividade enzimática foram menos intensos que os obtidos em escala laboratorial, realizada em grãos de trigo maduros e em condições ótimas de germinação (umidade dos grãos  $\geq$  80% e temperatura de 30°C).

## **2.3 Alterações ocasionadas pela germinação**

### **2.3.1 Composição química e qualidade nutricional (GABA)**

O trigo é um cereal amplamente utilizado na produção de alimentos e quando germinado ocorrem alterações que influenciam suas propriedades. Na composição química, ocorre redução nos teores de amido, aumento de açúcares e alteração na quantidade e nas propriedades das proteínas (SIMSEK et al., 2014; KERPEŞ et al., 2016; OLAERTS et al., 2016a; OLAERTS et al., 2016b).

O uso de farinhas de grãos PHS tem sido motivo para pesquisas, pois o amido e as proteínas apresentam alterações na sua composição e propriedades. Grãos germinados apresentam, em geral, açúcares mais facilmente disponíveis para absorção pelo intestino, mudanças na composição de aminoácidos e aumento dos teores de fibras, proteínas, lipídeos e minerais (CHO e LIM, 2016; XIA et al., 2017).

Segundo Miranda (1998) a composição química de farinhas de grãos germinados apresentaram aumento na concentração de açúcares redutores e nos teores de proteína, diminuição no teor de  $\beta$ -glucanas, no entanto, os teores de cinzas não sofreram variações.

Os teores de proteína, glúten, amido, amido danificado e lipídeos, o valor de sedimentação, os aminoácidos livres e a atividade proteolítica diminuíram em farinhas de trigo germinado e armazenadas por 135 dias, conforme estudo publicado por Sur et al. (1993). Já os açúcares totais e os ácidos graxos livres aumentaram nas farinhas de trigo germinado durante o armazenamento.

Com a germinação ocorre aumento da concentração de lipídeos que contribuem para o aumento do valor calórico da farinha e para a diminuição da vida de prateleira, pela maior susceptibilidade a rancidez oxidativa (LORENZ, 1980; MIRANDA, 1998). Quanto ao teor e qualidade das proteínas, no trigo são diversos os fatores que interferem na sua concentração, como variedade, adubação, sistema de cultivo, solo e clima (TOMIC et al., 2016).

Com a síntese de novos compostos, durante a germinação, as concentrações de alguns nutrientes inibidores podem diminuir. A concentração de ácido fítico diminui, pois este é hidrolisado pela enzima fitase, com maior atividade na germinação, liberando fosfato e inositol. Em farinhas de trigo germinado os teores de proteína, fibra e lipídeos aumentam significativamente, ocorre, ainda, aumento nos teores de taninos e tripsina e no total de aminoácidos. Os minerais também sofrem alterações com a germinação, ferro e silício sofrem aumento e cálcio, potássio, manganês, sódio e fósforo diminuem (DONKOR et al., 2012).

A germinação de trigo pode favorecer o desenvolvimento de compostos bioativos como o GABA. Young et al. (2011) utilizaram processo de tratamento anaeróbico e térmico, combinado com hidratação sequencial e germinação por 48h a 27°C para obter grãos de trigo com alto teor de GABA. Observaram que a germinação através da hidratação sequencial evitou a perda de componentes bioativos, resultando no aumento do teor de GABA. O tratamento térmico foi desejável para eliminar a ativação fisiológica do trigo. O trigo enriquecido com altos teores de GABA pode ser utilizado como alimento funcional.

Al-Quraan, Sartawe e Qaryouti (2013) examinaram o composto GABA e os genes envolvidos na sua formação (como o gene da glutamato descarboxilase, GAD) em cinco cultivares de trigo. Os resultados mostraram aumento acentuado nos níveis de GABA com a germinação combinada a estresse salino e osmótico, devido a acentuada expressão gênica de GAD.

Singkhornart, Edou-Ondo e Ryu (2014) observaram que a germinação induzida de trigo resultou em diminuição do teor de proteína bruta, com aumento da digestibilidade proteica devido à redução de fitato. Verificaram também aumento de açúcares redutores, GABA e arabinoxilano solúvel.

Cornejo et al. (2015) mostraram que a germinação de arroz é uma forma natural de melhorar a qualidade nutricional de pães de arroz sem glúten. A germinação durante 48 horas proporcionou ao pão qualidade nutricional superior com base nos maiores teores de proteínas, lipídeos e compostos bioativos (GABA e polifenóis), aumento da atividade antioxidante e redução do teor de ácido fítico e do índice glicêmico.

A germinação promove aumento nas concentrações de GABA, de compostos fenólicos totais, vitamina E,  $\gamma$ -orizanol e atividade de arroz integral. As condições ótimas de germinação para a acumulação de GABA e atividade antioxidante foram imersão a 28°C por 24h, seguido por germinação a 34°C por 96h. Estes grãos germinados com níveis melhorados de compostos bioativos podem ser usados como estratégias alimentares preventivas no combate a doenças crônicas (CORNEJO et al., 2015).

### **2.3.2 Propriedades físico-químicas, reológicas e de panificação**

A qualidade do grão de trigo é o resultado da interação das condições de cultivo, como interferência do solo, clima, pragas, manejo da cultura e das operações de colheita, secagem e armazenamento (COSTA et al., 2008). A qualidade tecnológica do trigo é afetada por diferentes fatores, como teores de proteína e de amido danificado, tamanho de partículas da farinha e atividade enzimática (TORBICA et al., 2016).

O trigo PHS apresenta menores valores para peso do hectolitro ou peso hectolítrico (PH) e para massa de mil grãos (MMG) ou peso de mil grãos (PMG), pois o aumento da atividade enzimática durante a germinação, acelera o metabolismo e promove a perda de matéria seca nos grãos afetando também o rendimento de extração de farinha (MARES e MRVA, 2008).

A ação das enzimas torna os grãos mais frágeis, reduzindo o gasto energético para moê-lo, e gerando maior quantidade de farinha de quebra, que

é caracterizada por apresentar baixo teor proteico e maior teor de cinzas (DENDY e DOBRASZCZYK, 2001).

Industrialmente, a alteração da atividade enzimática é detectada pela análise de número de queda (NQ), sendo que trigos com valores de 351 segundos (s) são considerados de baixa atividade enzimática e os com valores inferiores a 200s são de alta atividade enzimática (BRASIL, 2010). Uma das causas mais citadas para redução de seus valores é a PHS, que normalmente apresentam NQ inferior à 200s, e são em geral destinadas à produção de ração animal (MARES; MRVA, 2008). As alterações que esses grãos apresentam comprometem o emprego da farinha para a elaboração de produtos como pães, bolos, massas e biscoitos.

Quanto maior a atividade enzimática do grão, maior será a concentração de açúcares e de nitrogênio solúvel na farinha, interferindo na hidratação e causando alterações nas propriedades reológicas da massa (DENDY e DOBRASZCZYK, 2001).

Rakita et al. (2015) verificaram que grãos de trigo colhidos em anos com maiores períodos chuvosos apresentaram aumento da atividade de  $\alpha$ -amilase observada pelos menores valores de número de queda (NQ) e de C4 (medida indireta da atividade enzimática por Mixolab). A alta atividade amilolítica degradou o amido, afetando as propriedades de pasta da farinha com consequente redução na viscosidade da massa observada em análise de Mixolab e RVA (analisador rápido de viscosidade, ou *rapid visco analyser*).

Hadnadev et al. (2013) avaliaram as propriedades reológicas de farinhas de trigo afetadas por PHS e observaram aumento da atividade de  $\alpha$ -amilase, o que causou diminuição da viscosidade de pico e do NQ. Porém não verificaram diferenças nos valores de índice de glúten, força de glúten, estabilidade e tempo de desenvolvimento de massa comparadas à amostra controle.

Lukow e Bushuk (1984) estudaram a germinação em laboratório de duas cultivares de trigo e verificaram que a deterioração na qualidade de panificação resultou na diminuição da absorção de água e do tempo de desenvolvimento da massa, e no aumento do índice de tolerância à mistura, avaliadas pela farinografia. A diminuição gradual da absorção de água com a germinação é devido a perda da capacidade de ligar água das proteínas do glúten, a qual

causa um aumento esperado na absorção devido ao aumento do teor de amido danificado.

Hareland (2003) investigou os efeitos de um pré-tratamento conhecido como “perolização” (esfoliação) de trigo sobre a farinha e a qualidade de panificação, e encontrou que este pré-tratamento no trigo com baixo NQ antes da moagem aumentou o NQ, o pico de viscosidade e a relação P/L da farinha. A perolização não teve efeito sobre as propriedades de mistura analisadas em farinógrafo e não afetou o volume dos pães. Foi verificado ainda que a farinha de trigo perolizado conteve menos  $\alpha$ -amilase que a farinha de trigo sem pré-tratamento.

Noda et al. (2004) avaliaram os danos causados pela chuva nas propriedades do amido em grãos de trigo colhidas no momento ideal e 30 dias após. Estes autores não constataram diferença no teor de amilose nem no tamanho das cadeias de amilopectina. Duas variedades, susceptíveis à PHS, apresentaram grânulos com menor poder de intumescimento e viscosidade. A quebra de viscosidade foi maior (RVA) e a temperatura de gelatinização manteve-se igual para todas as amostras estudadas. Os grãos colhidos tardiamente apresentaram maior digestibilidade em comparação com os colhidos na época correta.

Conforme o estudo de Ichinose et al. (2001), a atividade de  $\alpha$ -amilase aumentou de 17 a 21 vezes à medida que os níveis de germinação de trigo aumentaram. Os valores de viscosidade máxima (amilógrafo) diminuíram ao mesmo tempo que a atividade de  $\alpha$ -amilase aumentou na germinação.

Torbica et al. (2016) caracterizaram 14 linhagens de trigo (*Triticum durum*) obtidos de diferentes condições climáticas, sendo o trigo obtido de um ano pouco chuvoso e um segundo ano caracterizado por longos períodos chuvosos. Quando analisados em Mixolab, os autores observaram diferenças nas propriedades de mistura e de pasta dos grãos de trigo obtidos em ambos os anos. No que se refere ao complexo amilase do grão-amido (parâmetros C3, C4 e C5) e, em relação a fração proteica (C1 e C2) mostraram diferenças genótipo dependentes, sem diferenças em relação ao ano de produção.

Diferentes estudos com aplicação de grãos germinados e com PHS em produtos finais, como pães já foram desenvolvidos, indicando limitações e possibilidades. Pães produzidos com farinhas de grãos PHS apresentam

alterações na sua estrutura, na retenção de água após o amassamento e cozimento, na cor do miolo e da crosta, na formação da rede de glúten, na retenção de gás e no volume (POSNER, 2000). Pães produzidos com farinhas de grãos germinados apresentaram volume reduzido e baixa qualidade global, mas o uso de até 5% de substituição por farinhas de grãos germinados, melhorou o volume do pão (RANHOTRA, LOEWE e LEHMANN, 1977).

O emprego de grãos germinados foi avaliado na produção de pães tipo baladi (pão egípcio), visando o enriquecimento com ácido fólico. Os teores de ácido fólico aumentaram de 4 a 5 vezes nas amostras germinadas por 48h. Ao substituir a farinha de trigo por farinha de trigo germinado, houve aumento da absorção de água e redução do tempo de desenvolvimento e da estabilidade da massa. Constatou-se que a substituição de até 50% por farinha de grãos germinados aumentou os teores de ácido fólico e produziram pães sensorialmente aceitáveis (HEFNI e WITTHÖFT, 2011).

Grãos de trigo com diferentes intensidades de germinação não diferiram quanto ao teor de cinzas e de proteína em estudo realizado por Beléia e Grossmann (1990). No entanto, houve redução da absorção de água, de 60,2% (<5% de grãos germinados) para 57,4% (> 30% de grãos germinados) e do pico de viscosidade. Também foi constatado que as massas ficaram menos estáveis ao trabalho mecânico, apresentaram maior extensibilidade e menor resistência. As amostras com até 20% de grãos germinados apresentaram melhora nas características reológicas e maior volume dos pães. As amostras com mais de 20% de grãos germinados apresentaram miolo úmido, células muito abertas, crosta mais escura e massa pegajosa.

O efeito da germinação sobre o volume específico de pães difere nos distintos tipos de trigo (ICHINOSE et al., 2001). Os autores reportaram que com o aumento da germinação, o trigo duro extra-forte manteve boas propriedades de massa e elevado volume de pão, apesar de possuir alta atividade de  $\alpha$ -amilase. Já o trigo forte não apresentou redução no volume do pão. Os autores concluíram que a deterioração das propriedades de panificação durante a germinação é devido a decomposição parcial do glúten. Além da diminuição do tempo de mistura, força de quebra e retenção do gás causados principalmente pelo aumento da atividade de endoproteases.

O volume dos pães de farinhas de trigo germinado e armazenadas por 135 dias foi menor. Já as farinhas de trigo germinado, armazenadas por até 45 dias apresentaram boas características para fabricação de biscoitos e bolos, mas não para pães (SUR et al., 1993).

### **2.3.3 Ocorrência de doenças fúngicas e de micotoxinas em trigo**

A produção de trigo também é afetada pela contaminação por fungos, o que representa grandes perdas na colheita, e pode ser agravada quando ocorre molhamento da espiga por no mínimo 48h e faixa de temperatura entre 20 a 25°C, favorecendo assim o desenvolvimento de micotoxinas. Especialmente para os cereais como o trigo, diferentes gêneros de *Fusarium spp.* são frequentemente encontrados como contaminantes. Uma doença muito comum devido à contaminação fúngica no campo é a giberela (SKRBIC et al., 2012).

A giberela causa perdas significativas de qualidade nos grãos, devido à utilização de nutrientes pelo fungo. Além disso, a partir do ponto de vista de segurança da saúde do consumidor, a produção de micotoxinas é um grande problema, devido a sua resistência as temperaturas de processamento dos alimentos e aos riscos que oferecem para a saúde humana e animal (OUILES et al., 2016; SCHMIDT et al., 2016). A ocorrência de micotoxinas predomina em regiões de clima tropical e subtropical nas quais a umidade e as altas temperaturas favorecem o desenvolvimento fúngico (SASSAHARA et al., 2003).

Stanciu et al. (2016) e Stanciu et al. (2017) confirmaram que a incidência de micotoxinas em trigo está relacionada com a localidade e provavelmente com parâmetros climáticos. Estes estudos mostraram que o trigo cultivado na parte central e sudeste da Romênia estava mais contaminado com desoxinivalenol (DON) e zearalenona (ZEA) do que o trigo das regiões ocidental e meridional, provavelmente devido as condições climáticas, como alta precipitação de chuva e baixas temperaturas durante a antese e períodos de colheita do trigo.

Um estudo realizado por Edwards et al. (2011) indicou que a concentração de DON em frações de farinha foi equivalente à do trigo moído,

com menor concentração nas camadas externas (farelo), em trigo de estação caracterizada por chuvas nas fases pré-colheita, o que resultou em movimento de DON para as camadas internas do grão devido ao DON ser altamente solúvel em água.

Olaerts et al. (2016a), ao inspecionar os grãos de trigo colhidos no momento da maturação e 30 dias mais tarde (germinado), observaram manchas como pontos rosados. Essas marcas já eram visíveis nos grãos colhidos inicialmente, mas se tornaram mais abundantes nos grãos colhidos mais tarde. Este fungo patogénico produz enzimas de degradação da parede celular hidrolítica extracelular não apenas para a obtenção de nutrientes, mas também para a penetração e infecção do hospedeiro. Além das características típicas desta infecção nos grãos, a farinha também foi caracterizada por concentrações elevadas de DON, na faixa de 200 e 2000ppb nas farinhas obtidas de trigo na maturação e germinado, respectivamente.

Olaerts et al. (2016b) verificaram que o trigo com o maior dano no teor e na estrutura de proteínas não foi apenas devido a atividade de peptidases, como também, causado por uma contaminação por *Fusarium*.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Material

Foi utilizado trigo (*Triticum aestivum* L.), cultivar BRS Marcante com germinação pré-colheita no campo (PHS) da safra de 2015 e grãos não germinados (NG) da safra de 2013, fornecidos pela Embrapa Trigo, de Passo Fundo, RS, Brasil. A BRS Marcante é da classe trigo pão, com grão de textura dura, é moderadamente suscetível à germinação na espiga e indicada para uso em panificação. Todos os reagentes químicos usados foram de grau analítico.

#### 3.2 Métodos

##### 3.2.1 Delineamento experimental

O experimento foi realizado com 5 tratamentos em três repetições, totalizando 15 amostras, conforme a Tabela 1. Para a apresentação dos resultados o trabalho foi dividido em três partes, de acordo com o Quadro 1.

Tabela 1 - Delineamento experimental para avaliar as alterações nas propriedades dos grãos, das farinhas e dos pães de trigo não germinado (NG) e germinado por germinação induzida (GI) e pré-colheita (PHS)

Tratamentos	Variáveis independentes		Variáveis dependentes
	Germinação	Tempo (h)	
1	NG	0	Avaliação dos grãos
2	GI	24	Avaliação das farinhas refinadas
3	GI	48	Avaliação dos pães
4	GI	72	
5	PHS	-	

Quadro 1 - Forma de divisão do trabalho e de abordagem para a apresentação dos resultados

<b>Parte</b>	<b>Título</b>	<b>Variáveis dependentes</b>
<b>1</b>	<b>Avaliação dos grãos</b>	Atividade amilolítica total e de $\alpha$ -amilase Número de queda (NQ) Atividade proteolítica Massa de mil grãos (MMG) Peso do hectolitro (PH) Dureza de grãos Análise de micotoxinas
<b>2</b>	<b>Avaliação das farinhas refinadas</b>	Rendimento de extração Atividade amilolítica total e de $\alpha$ -amilase Número de queda (NQ) Atividade proteolítica Composição química Cor da farinha Propriedades reológicas Propriedades de pasta Propriedades de mistura e de pasta por Mixolab Extração e avaliação de GABA Análise de micotoxinas
<b>3</b>	<b>Avaliação dos pães</b>	Avaliação da qualidade física dos pães Textura dos pães Cor do miolo Porosidade do miolo Características tecnológicas dos pães Extração e avaliação de GABA

### **3.2.2 Germinação do trigo**

O processo de germinação induzida do trigo foi realizado conforme Hung, Hatacher e Barker (2011) com adaptações. Os grãos de trigo foram inicialmente imersos em solução de hipoclorito de sódio (4-6% de cloro ativo) 1% (v/v) durante 15min, lavados com água até pH 7,0, macerados até umidade de 30% incubados em câmaras do tipo BOD por 24, 48 e 72h com 80% de umidade relativa a 15 e 20°C com intervalos de 12h em cada temperatura (simulando as condições de germinação que ocorrem no campo, considerando a faixa de temperatura na época de colheita do trigo, que é em outubro e novembro), na ausência de luz. As amostras foram secas a 40°C em estufa com circulação forçada de ar até 12% de umidade.

### **3.2.3 Análises dos grãos de trigo**

#### **3.2.3.1 Obtenção da farinha integral**

A farinha integral (ou trigo moído) necessária para algumas análises, foi obtida a partir da moagem do grão inteiro utilizando moinho de martelos (Perten, Laboratory Mill 3100, Suécia).

#### **3.2.3.2 Atividade amilolítica total e $\alpha$ -amilase**

A determinação da atividade amilolítica total e da enzima alfa-amilase foi realizada seguindo a metodologia descrita por Saman, Vázquez e Pandiella (2008). O extrato enzimático foi obtido a partir da suspensão de 1,0g de farinha em 10mL de solução de cloreto de cálcio 0,2%, misturado em vórtex por 1min, homogeneizado durante 30 min e centrifugado a 1000xg. A atividade amilolítica total foi determinada pela incubação de 0,5mL do sobrenadante do extrato enzimático em substrato composto de solução de amido solúvel 1% em tampão acetato 0,05mol.L<sup>-1</sup> (pH 5,0). As amostras foram incubadas a 60°C por 5min,

seguida de 5min a 90°C, a fim de interromper a reação. A atividade da enzima  $\alpha$ -amilase seguiu o mesmo procedimento da atividade amilolítica total com modificações na temperatura e tempo de incubação. A mistura do extrato enzimático e substrato foi incubada a 70°C por 15min para inativar as enzimas  $\beta$ -amilase e  $\alpha$ -glucosidase, desta forma tendo atuação somente da  $\alpha$ -amilase, e em seguida, foi colocada em banho a 90°C para finalizar a reação. Após cada reação enzimática, foram coletados 100  $\mu$ L e adicionados 100 $\mu$ L de DNS (ácido 3,5-dinitrosalicílico), incubados por 5min a 90°C, para a reação de cor, 1,2mL de água destilada foi adicionado e a absorbância foi medida a 540nm. Uma unidade de atividade amilolítica total e de  $\alpha$ -amilase (UA) foi considerada como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 $\mu$ mol de maltose por minuto.

### 3.2.3.3 Número de queda

O número de queda (NQ) ou *falling number* (FN, Perten Instruments 1800, EUA) do trigo (avaliado na farinha de trigo integral) foi medido de acordo com o método nº 56-81.03 da AACCI (2010).

### 3.2.3.4 Atividade proteolítica

O ensaio de protease foi realizado segundo Hajnal et al. (2014), com algumas modificações. O extrato enzimático foi preparado com 1,0 g de farinha dissolvido em 5,0mL de tampão de fosfato de sódio 0,05mol.L<sup>-1</sup> (pH 7,5), agitado durante 2h a 16°C e centrifugado a 4000xg durante 20min a 4°C. O sobrenadante foi utilizado para a análise de protease. A solução substrato foi preparada com azocaseína (25mg) e dissolvida em 1,0mL do mesmo tampão. 450 $\mu$ L do tampão fosfato de sódio foi adicionado à 50 $\mu$ L de solução de substrato e pré-incubados durante 10min a 37°C. Foi adicionado o extrato enzimático (200 $\mu$ L) e a mistura foi incubada durante 30min a 37°C. A reação foi terminada pela adição de 0,5mL de TCA (ácido tricloroacético) a 1,5mol.L<sup>-1</sup> e o precipitado foi removido por centrifugação a 20000xg durante 10 min a 4°C. Ao

sobrenadante, foi adicionado 40 $\mu$ L de NaOH (10mol.L<sup>-1</sup>) e a absorbância foi lida a 440nm. Uma unidade de atividade proteolítica (UP) corresponde à quantidade de enzima necessária para promover a mudança em uma unidade de absorbância por minuto.

### **3.2.3.5 Massa de mil grãos**

A massa de mil grãos (MMG) foi determinada em contador eletrônico de sementes (Comp Sanick, ESC 2011, Brasil) contando-se 10 repetições de 100 grãos cada. Em seguida os grãos de cada repetição foram pesados em balança eletrônica digital com precisão de 0,01g e os valores obtidos foram multiplicados por 10 para resultar na massa de 1000 grãos, de acordo com Brasil (2009).

### **3.2.3.6 Massa específica aparente**

A massa específica aparente foi determinada utilizando balança (Dalle Molle, T41, Brasil) de peso hectolítrico (PH) com capacidade de um quarto de litro, pesagem em balança eletrônica digital com precisão de 0,01g e conversão dos valores obtidos, de gramas por um quarto de litro (g  $\frac{1}{4}$ .L<sup>-1</sup>) para quilogramas por hectolitro (kg.hL<sup>-1</sup>), de acordo com MAPA (2009).

### **3.2.3.7 Dureza dos grãos**

O índice de dureza (ID) dos grãos de trigo não germinado e germinados foi determinado na Embrapa Trigo, pelo método nº 55-31.01 da AACCI (2010), em equipamento SKCS, Single Kernel Characterization System (sistema de caracterização individual da semente) e serão expressos em SKCS. Para calcular o ID são usados os dados do perfil de esmagamento do grão modificados para peso, umidade e temperatura. Segundo a AACCI (2010), o grão de trigo é classificado em diferentes categorias de acordo com o ID: extra

duro (> 90), muito duro (81-90), duro (65-80), semi-duro (45-64), semi-mole (35-44), mole (25-34), muito mole (10-24) e extra mole (< 10).

### 3.2.3.8 Análise de micotoxinas

As amostras de trigo através de suas farinhas integral e refinada foram avaliadas através de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas quanto às micotoxinas: aflatoxinas (AF) B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, deoxinivalenol (DON), fumonisina (FB) B<sub>1</sub>, ocratoxina (OTA) A e zearalenona (ZEA).

A extração das micotoxinas foi realizada de acordo com o método proposto por Herebian et al. (2009). Dissolveram-se 250mg de amostra em 950µL de solvente de extração (acetonitrila/água/ácido acético, 79:20:1 v/v/v). As amostras foram agitadas em vórtex durante 15s e em agitador rotativo durante 90 min, seguido de centrifugação a 500xg por 3min (Eppendorf, 5430 R, Brasil). Do sobrenadante foram retirados 300µL e transferidos para frascos de vidro. As diluições, quando realizadas, foram de 5:1 v/v com o mesmo solvente de extração. Os extratos foram filtrados através de membrana de nylon 0,45 (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, EUA) e injetados no cromatógrafo.

A análise por LC-MS foi realizada em um cromatógrafo líquido (UFLC, Shimadzu, Japão) acoplado a um espectrômetro de massas de alta resolução do tipo quadrupolo-tempo de voo (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Para a separação cromatográfica foi utilizada a coluna Shim-pack XR – ODS (75mm x 2,0mm; 2,2µm). As fases móveis foram: água acidificada com ácido fórmico 0,1% v/v (eluyente A) e acetonitrila acidificada com ácido fórmico 0.1% v/v (eluyente B). Para separação foi utilizado um gradiente: 0,00min-10% B, 0,01-2,00min, 10% B, 2,00-7,00min, 50% B, 7,00-22,00min, 100% B, 22,00-25,00min., 100% de B, 25,00-27,00min, 10% B, permanecendo por 3 minutos nessa condição. O fluxo foi de 0,2 mL.min<sup>-1</sup> e a temperatura da coluna foi mantida a 40°C.

O espectrômetro de massas foi operado no modo ESI positivo, com espectros adquiridos ao longo de uma faixa de massa de m/z 50 a 1200. Os parâmetros de aquisição foram: voltagem do capilar em 4kV, pressão do gás de nebulização (N<sub>2</sub>) de 2bar, gás de secagem em 8L.min<sup>-1</sup>, temperatura da

fonte de 180°C, colisão de RF de 150Vpp; transfer 70mS e armazenamento pré-pulso de 5mS. O equipamento foi calibrado com formiato de sódio 10mM, cobrindo toda a faixa de aquisição (de m/z 50 até 1200). Além disso, experimentos automáticos de MS/MS foram realizadas ajustando os valores de energia de colisão como se segue: m/z 100, 15eV; m/z 500, 35eV; m/z 1000, 50eV, e usando nitrogênio como gás de colisão.

As micotoxinas foram identificadas de acordo com seus espectros de massa e padrões de fragmentação e quantificados com base nas curvas de calibração dos padrões, incluindo aflatoxinas (AF) B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, deoxinivalenol (DON), fumonisina (FB) B<sub>1</sub>, ocratoxina (OTA) A e zearalenona (ZEA).

### **3.2.4 Avaliação das farinhas refinadas de trigo**

#### **3.2.4.1 Obtenção da farinha refinada e taxa de extração de farinha**

Os grãos de trigo foram pesados, condicionados para 15% de umidade e após 24 h moídos em moinho experimental (Chopin, Moulin CD1, França), seguindo método nº 26-10.02 da AACCI (2010). O rendimento ou taxa de extração de farinha foi calculado com base na massa inicial de grãos e expresso em porcentagem.

#### **3.2.4.2 Atividade amilolítica total e $\alpha$ -amilase**

A determinação da atividade amilolítica e da enzima  $\alpha$ -amilase da farinha de trigo refinada foi realizada conforme item 3.2.3.2.

### **3.2.4.3 Número de queda**

O número de queda da farinha de trigo refinada foi realizado conforme item 3.2.3.3.

### **3.2.4.4 Atividade proteolítica**

A atividade de endopeptidases da farinha de trigo refinada foi determinada conforme item 3.2.3.4.

### **3.2.4.5 Composição química, amido danificado e glúten**

Na composição química da farinha de trigo, os teores de umidade, cinza, lipídeos e proteína bruta, foram analisados seguindo os métodos oficiais da AACCI (2010), 44-15.02, 08-12.01, 30-25.01 e 46-13.01, respectivamente. Os teores de amido danificado e de glúten foram determinados de acordo com os métodos 76-33.01 e 38-12.02, respectivamente, segundo AACCI (2010).

### **3.2.4.6 Cor da farinha**

A avaliação da cor das farinhas foi realizada em colorímetro (modelo Chromo Meter CR 400, marca Minolta, Japão), acoplado a processador DP-100, com iluminante D65 e ângulo de 10°. Foi utilizado sistema de avaliação CIE (Commission Internationale de l'Eclairage, ou Comissão Internacional de Iluminação), com parâmetros de cor: L\*, a\*, e b\*, onde L\* corresponde à luminosidade do mais claro (100) ao mais escuro (0); a\* e b\* são coordenadas de cromaticidade: a\* corresponde à variação de cor de verde (a-) a vermelho (a+); b\* corresponde à variação de cor de azul (b-) a amarelo (b+).

### 3.2.4.7 Propriedades reológicas

As propriedades reológicas das farinhas de trigo foram analisadas através dos testes de alveografia, farinografia de acordo com os métodos nº 54-30.02 e 54-21.02, respectivamente, da AACCI (2010).

O comportamento viscoelástico das farinhas foi determinado em alveógrafo (Chopin, modelo NG, França). As variáveis avaliadas foram força de glúten (W), tenacidade (P), extensibilidade da massa (L), relação de tenacidade/extensibilidade (P/L) e índice de elasticidade (Ie).

As propriedades de mistura da farinha foram determinadas pelo uso de 50g de farinha de trigo em farinógrafo (Brabender, Typ 820600, Alemanha) e os parâmetros avaliados foram absorção de água (AA), tempo de desenvolvimento da massa (TDM), estabilidade (EST) e índice de tolerância à mistura (ITM).

### 3.2.4.8 Propriedades de pasta

As propriedades de pasta ou viscoamilográficas das farinhas refinadas foram determinadas em analisador rápido de viscosidade (RVA-4, Newport Scientific, Austrália) de acordo com o método nº 76-21.01 da AACCI (2010). Foram avaliadas, temperatura de pasta (TP), pico de viscosidade (PV), quebra, viscosidade final (VF) e tendência à retrogradação. A curva de viscosidade típica do RVA é mostrada na Figura 4.

As propriedades de pasta das farinhas, também, foram avaliadas substituindo a água adicionada por uma solução de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) 100  $\mu\text{mol}$  por grama de farinha antes de iniciar o aquecimento, visando inibir a atividade enzimática de  $\alpha$ -amilase durante a análise de RVA, conforme descrito por Paraginski, et al. (2014).

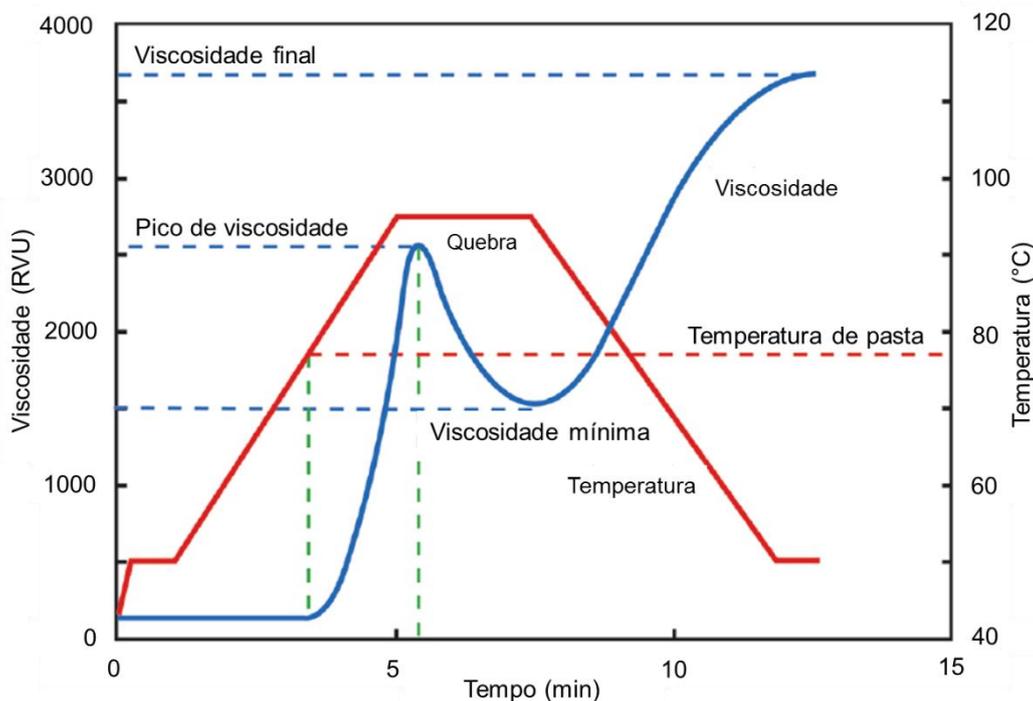


Figura 4 - Curva típica de viscosidade do RVA (adaptado de Newport Scientific 2001)

### 3.2.4.9 Propriedades de mistura e de pasta por Mixolab

As medições foram realizadas de acordo com o método nº 54-60.01 da AACCI (2010). Os parâmetros considerados foram absorção de água, tempo de desenvolvimento e estabilidade de massa, força necessária para atingir 1,1 Nm (C1), enfraquecimento de proteína (C2), gelatinização do amido (C3), atividade enzimática (C4) e retrogradação de amido (C5) foram determinadas por Mixolab (Chopin, Tripette et Renaud, França).

O protocolo Chopin (+) foi aplicado para estudar tanto a mistura como os comportamentos de pasta. Este protocolo determina a absorção de água da farinha pela dosagem de água até que a massa seja capaz de alcançar o máximo de consistência. A consistência máxima é igual a  $1,1 \pm 0,05$  Nm é equivalente a 500 unidades farinográficas (UF). A Figura 5 apresenta uma curva típica de Mixolab e suas variáveis.

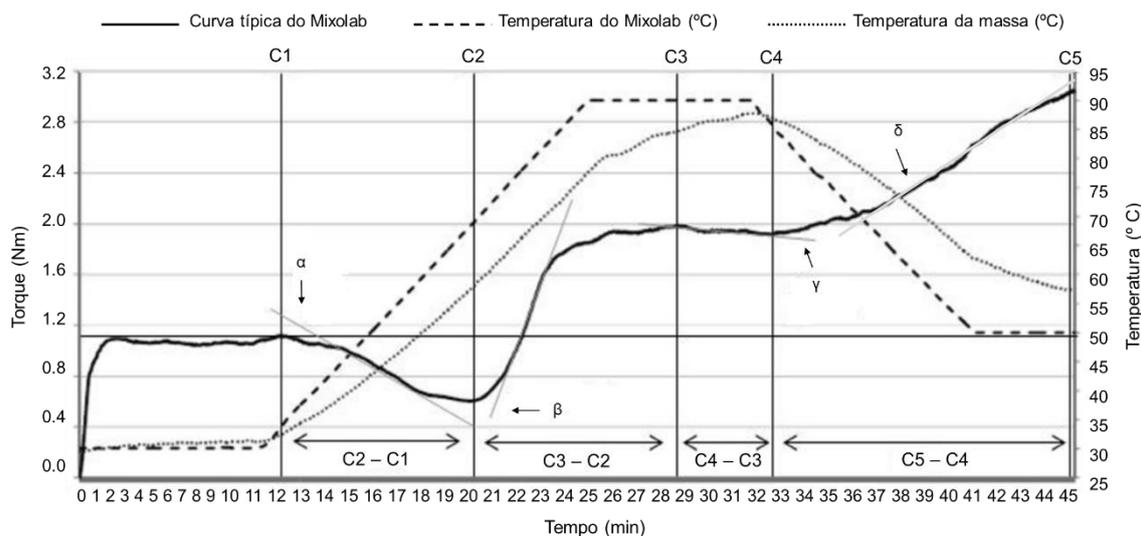


Figura 5 - Curva típica de Mixolab e parâmetros analisados a partir da amostra padrão (adaptado de Schmiele et al., 2016)

### 3.2.4.10 Extração e avaliação de GABA

O GABA foi extraído de 1g de amostra e adicionado de 5mL de metanol 90% (v/v). A mistura foi homogeneizada em vórtex por 10min, sonicada por 15min à temperatura ambiente e centrifugada a 2500xg por 10min (Eppendorf, 5430 R, Brasil). O sobrenadante foi coletado e o resíduo re-extraído duas vezes sob as mesmas condições.

Os sobrenadantes foram misturados (resultando em 15mL de extrato), filtrados em filtro de seringa de nylon de 0,22 $\mu$ m (Chalermchaiwat et al., 2015) e 10mL de extrato foram injetados em sistema LC/MS em cromatógrafo líquido ultra rápido (UFLC, Shimadzu, Japão), equipado com desgaseificador *on line*, bomba binária, detector por arranjo de diodos (DAD), amostrador automático, espectrômetro de massas de alta resolução do tipo quadrupolo-tempo de voo (Maxis Impact, Bruker Daltonics, Alemanha) com fonte de ionização por *electrospray*.

Para a separação cromatográfica foi utilizada coluna Diamond Hydride (100mm x 2,1mm; 2,2 $\mu$ m) (Microsolv Technology Corporation, EUA). O sistema de eluição utilizado baseou-se em gradiente linear, utilizando como fase móvel, as soluções A (solução aquosa de acetato de amônia 0,1mM) e B (solução mista de acetonitrila:água ultra pura 95:5 em acetato de amônia 0,1mM).

A fase móvel inicial foi 100% solução A, que foi aumentada de forma linear para 5% de solução B em 6min. A partir dos 6min o gradiente foi aumentado para 90% de B e mantido constante até 10min. A fase móvel foi então reiniciada para 100% de A em 12min para a injeção seguinte (Eckstein et al., 2008). O fluxo foi de 0,2mL.min<sup>-1</sup> e o forno da coluna foi mantido a 40°C. O espectrômetro de massas foi operado no modo ESI positivo, com espectros adquiridos ao longo de uma faixa de massa de  $m/z$  50 a 1200.

O equipamento foi calibrado com formiato de sódio 10mM, cobrindo toda a faixa de aquisição. A identificação do composto foi realizada através do *software* Data Analysis a partir da relação massa carga ( $m/z$ ), levando em consideração a adição de um próton na molécula. O íon monitorado foi  $[M+H]^+$   $m/z$  104.0706.

Para a quantificação foi preparada curva de calibração com padrão externo de GABA (Sigma Aldrich, 97% de pureza) na faixa de concentração de 7 a 1000 ng.mL<sup>-1</sup>. O *software* QuantAnalysis foi utilizado para o processamento das curvas de calibração e dos dados de quantificação. Os resultados foram expressos em µg g<sup>-1</sup>.

#### **3.2.4.11 Análise de micotoxinas**

A análise de micotoxinas da farinha de trigo refinada foi realizada conforme item 3.2.3.8.

#### **3.2.5 Panificação e avaliação das características de qualidade dos pães**

A panificação experimental das farinhas refinadas de trigos não germinados e germinados foi realizada seguindo metodologia descrita por Oro (2013). A formulação consistiu basicamente de farinha de trigo (100%), gordura vegetal hidrogenada (3%), sal refinado (1,75%), ácido ascórbico (0,009%), açúcar (5%), levedura (3%) e água a 4°C, com base na absorção de água obtido na análise de farinografia.

A mistura foi realizada na amassadeira de 50g do farinógrafo (mantendo temperatura constante a 30°C). Inicialmente foram misturados os ingredientes por 2min, em seguida foi adicionada a água destilada até a massa atingir consistência máxima de 650 ( $\pm$  20) UF. O tempo utilizado para o desenvolvimento da massa foi de 6 minutos. Após o amassamento, a massa foi dividida em duas frações de 35,0g e levada à fermentação em câmara de descanso (Gelopar, Brasil) sob temperatura de 30°C umidade relativa de 80% durante 40min.

O assamento dos pães foi realizado em forno elétrico (Fischer, Brasil) a 150°C durante 13 mi. Os pães foram arrefecidos a temperatura ambiente e após uma hora, as análises foram realizadas.

### **3.2.5.1 Avaliação da qualidade física dos pães**

Os pães e foram avaliados fisicamente através do volume, pelo método de deslocamento de sementes de painço, de acordo com o método 10-05.01 da AACC (2010), e do peso, verificado em balança, e desta forma foi possível calcular o volume específico, obtido através da razão entre volume e peso, expresso em mL.g<sup>-1</sup>, e da umidade pelo método 44-15.02 (AACC, 2010).

### **3.2.5.2 Textura dos pães**

A determinação da textura foi avaliada quanto a sua firmeza em texturômetro (TA.XT.160, Stable Micro Systems, Inglaterra) equipado com o software Expoente 32. Os pães foram cortados a 25mm de espessura e o tamanho das fatias foi de 25mm de largura x 25mm de comprimento com remoção da crosta. Utilizou-se um probe cilíndrico de alumínio P/36R (um raio de 36mm), a velocidade de 10,0mm.s<sup>-1</sup> e resistência à compressão de 40%, seguindo o método nº 74-10.02 da AACCI (2010). A medição foi realizada 4h após o assamento dos pães (temperatura ambiente).

### **3.2.5.3 Cor do miolo**

A cor do miolo dos pães foi determinada conforme item 3.2.3.4.

### **3.2.5.4 Características tecnológicas dos pães**

Os pães foram avaliados segundo o método de El-Dash (1978), onde o volume específico (VE) é multiplicado por 3,33 para resultar no volume máximo de 20 pontos para pão com VE de  $6\text{mL.g}^{-1}$ . A pontuação com valor máximo de 100 pontos é dividida nos parâmetros: volume com 20 pontos; características externas com 20 pontos, sendo distribuídos em cor da crosta (10 pontos), quebra (5 pontos) e simetria (5 pontos); características internas com 20 pontos, sendo consideradas características da crosta (5 pontos), cor do miolo (10 pontos), estrutura da célula do miolo (10 pontos) e textura do miolo (10 pontos); e aroma e gosto com 25 pontos, sendo aroma (10 pontos) e gosto (15 pontos), conforme Anexo A.

### **3.2.5.5 Extração e avaliação de GABA**

Antes da análise, os pães foram congelados em ultrafreezer (ColdLab, CL200-86V, Brasil) a  $-81^{\circ}\text{C}$  por 18h e liofilizados (Terroni equipamentos científicos, LS 3000, Brasil). As amostras foram armazenadas em sacos de polietileno, sob temperatura de  $16\pm 1^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise. Após, a extração e a avaliação de GABA dos pães foram realizadas conforme item 3.2.3.10.

### **3.2.6 Análise estatística**

Os dados foram analisados quanto a sua normalidade, submetidos à análise de variância (ANOVA) e comparados pelo teste de Tukey e teste t a 5% de significância.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Efeito da germinação nos grãos de trigo

#### 4.1.1 Atividade enzimática

A germinação ativa principalmente a síntese de enzimas amilolíticas que atuam na degradação de amido, sendo a  $\alpha$ -amilase a principal enzima ativada e responsável pela hidrólise do amido (ICHINOSE et al, 2001; RAKITA et al, 2015). A Tabela 2 apresenta a atividade enzimática dos grãos de trigo, analisada nas farinhas integrais, nos diferentes tratamentos.

Tabela 2 - Atividade enzimática dos grãos de trigo, analisada na farinha integral

Parâmetro	Não germinado	Germinado			
		24 h	48 h	72 h	Pré-colheita
Atividade amilolítica total (UA.g <sup>-1</sup> )	58,36 ± 1,12 <sup>d</sup>	62,87 ± 0,69 <sup>c</sup>	70,88 ± 2,08 <sup>b</sup>	77,10 ± 1,19 <sup>a</sup>	69,99 ± 1,12 <sup>b</sup>
Atividade de $\alpha$ -amilase (UA.g <sup>-1</sup> )	25,83 ± 0,57 <sup>c</sup>	26,06 ± 0,60 <sup>c</sup>	27,01 ± 0,20 <sup>bc</sup>	28,59 ± 0,78 <sup>a</sup>	27,45 ± 0,41 <sup>ab</sup>
Número de queda (s)	390 ± 3 <sup>a</sup>	271 ± 1 <sup>b</sup>	132 ± 2 <sup>c</sup>	78 ± 2 <sup>d</sup>	134 ± 1 <sup>c</sup>
Atividade proteolítica (UP.100g <sup>-1</sup> )	0,96 ± 0,25 <sup>a</sup>	0,75 ± 0,19 <sup>a</sup>	0,84 ± 0,29 <sup>a</sup>	1,36 ± 0,51 <sup>a</sup>	1,23 ± 0,11 <sup>a</sup>

\* Médias aritméticas simples ± desvio padrão seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. As determinações analíticas foram realizadas em triplicata, com exceção do número de queda que foi realizado em duplicata. As atividades amilolítica, de  $\alpha$ -amilase e proteolítica são expressas em relação à matéria seca (% b.s.).

A amostra PHS obtida sob condições naturais, sem controle de temperatura, umidade, luminosidade, condições de cultivo e solo na

germinação, apresentou resultados iguais ou semelhantes as amostras GI24 e GI48 quanto à atividade enzimática. À medida que aumentou o tempo de germinação do trigo (48 e 72h), aumentou a atividade das enzimas amilolíticas (incluindo  $\alpha$ -amilase) e, conseqüentemente, diminuiu o NQ dessas amostras.

O tempo de 24 horas de germinação induzida (GI24) causou moderado aumento da atividade amilolítica total e de  $\alpha$ -amilase, porém não significativo ( $p \leq 0,05$ ) em  $\alpha$ -amilase isolada, no entanto, houve diminuição do NQ. Segundo Mares e Mrva (2008) até mesmo pequenas quantidades de enzimas amilases são capazes de causar grande redução na viscosidade dos amidos e desta forma diminuir o NQ.

A farinha integral GI72 apresentou a maior atividade amilolítica total e menor NQ confirmando a hidrólise das cadeias de amido com o aumento dos tempos de germinação. A  $\alpha$ -amilase presente nos grãos de trigo em condições específicas, como na germinação pré-colheita, é ativada e é capaz de causar graves danos as farinhas. Essa enzima promove hidrólise parcial ou total do amido na geração de energia para a planta em formação (CUNHA, PIRES e PAZINATO, 2004).

Por outro lado, a germinação não promoveu ativação de proteases, nem nas farinhas GI24, GI48 e GI72, nem na farinha PHS, ou seja, não apresentou diferenças significativas da farinha NG. Resultados semelhantes foram relatados por Ichinose et al. (2001), em que a germinação não afetou a atividade de endo-proteases que não diferiu para trigo germinado por até 4 dias (96h).

#### **4.1.2 Propriedades físicas**

A massa de mil grãos (MMG) diminuiu nas amostras GI24 e PHS (Tabela 3). A MMG é afetada pelas condições de luminosidade, umidade e temperatura durante a maturação no campo (GUTKOSKI et al., 2008). Geralmente os grãos germinados tendem a apresentar menores valores de MMG devido à perda de matéria seca resultante da degradação de reservas.

Para o peso do hectolitro (PH), os grãos de trigo GI48 e GI72 exibiram os menores valores conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3 - Propriedades físicas dos grãos de trigo

Parâmetro	Não germinado	Germinado			
		24 h	48 h	72 h	Pré-colheita
MMG (g)	36,60 ± 0,94 <sup>a</sup>	34,69 ± 0,99 <sup>b</sup>	35,35 ± 0,63 <sup>ab</sup>	35,67 ± 1,09 <sup>ab</sup>	35,11 ± 0,97 <sup>b</sup>
PH (kg. hL <sup>-1</sup> )	76,95 ± 0,52 <sup>a</sup>	76,09 ± 0,29 <sup>ab</sup>	74,73 ± 0,28 <sup>c</sup>	75,51 ± 1,21 <sup>bc</sup>	77,19 ± 0,30 <sup>a</sup>
ID	67,40 ± 1,20 <sup>b</sup>	73,89 ± 0,21 <sup>a</sup>	66,33 ± 0,24 <sup>b</sup>	69,89 ± 2,76 <sup>b</sup>	66,76 ± 0,16 <sup>b</sup>

\* Médias aritméticas simples ± desvio padrão seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. MMG: massa de mil grãos; PH: peso do hectolitro; ID: índice de dureza. As determinações analíticas foram realizadas em 10 replicatas para MMG e em triplicata para PH e ID.

No Brasil, a tipificação do trigo destinado a moagem e outras finalidades, considera a porcentagem de matérias estranhas e impurezas, o PH (MEA) e a porcentagem de defeitos e, de acordo com os valores para estes parâmetros, o trigo pode ser enquadrado em tipo I, II e III de acordo com a IN n° 38 (BRASIL, 2010), atualizada pela IN n° 23 (MAPA, 2016). Assim, levando em conta somente o PH, as amostras NG, GI24, GI72 e PHS foram enquadradas como tipo II ( $\geq 75 \text{kg.hL}^{-1}$ ) e a amostra GI48, como tipo III ( $\geq 70 \text{kg.hL}^{-1}$ ).

Segundo Mares e Mrva (2008) o aumento da atividade enzimática estimulada durante a germinação pré-colheita acelera o metabolismo e promove a perda de matéria seca nos grãos. Às vezes a redução na matéria-seca não pode ser constatada no PH, porém alterações devido à atividade enzimática são capazes de provocar reduções nos valores de número de queda (NQ). Isso explica o fato de que mesmo tendo sofrido danos causados pela chuva e tendo NQ menores que 200s, algumas amostras apresentaram PH acima de  $72 \text{kg.hL}^{-1}$  que é o mínimo estabelecido pela IN n° 38 (MAPA, 2010).

A água é essencial na vida da planta, mas em quantidades elevadas, principalmente quando ocorrem chuvas excessivas na fase de pré-colheita, afeta negativamente o rendimento de grãos, podendo diminuir a MMG e a PH (GUARIENTI et al., 2005).

Quanto à dureza, avaliada em SKCS, os grãos de trigo apresentaram índices que variaram de 66,33 a 73,89, sendo assim classificados como grãos duros, de acordo com a AACCI (2010). Pomeraz e Williams (1990) relataram que a textura do trigo é afetada, principalmente, pelos teores de amido e de proteína do endosperma e sua ordenação. A dureza ou o grau de resistência à

deformação é um parâmetro físico definido por fatores genéticos (GREFFEUILLE et al., 2007).

A dureza é um aspecto muito importante a ser considerado no processo de moagem do grão, pois é determinante das características de qualidade. Tem efeito subsequente em fatores como condicionamento do grão antes da moagem, tamanho da partícula da farinha, quantidade de amido, absorção de água e razão de extração durante a moagem (HOSENEY, 1991).

De acordo com Léon (2007) o trigo duro, como a cultivar usada neste estudo (BRS Marcante), produz farinha com maior granulometria e de aspecto arenoso, composta de partículas de forma regular, geralmente é indicado para a produção de pães, pois define farinhas caracterizadas com alto teor de proteína e qualidade de glúten desejável.

## **4.2 Efeito da germinação de trigo na farinha refinada**

### **4.2.1 Atividade enzimática e rendimento de extração**

A germinação do trigo, tanto induzida como PHS, aumentou a atividade das enzimas amilolíticas das amostras (Tabela 4).

De acordo com Delcour e Hosenev (2010), as enzimas amilases estão distribuídas por toda a planta de trigo, mas principalmente no gérmen e pericarpo dos grãos e, na presença de água, migram para regiões ricas em amido, proteínas e lipídeos, em que dão início a processos hidrolíticos para a geração de energia para a planta em formação.

As atividades enzimáticas observadas na Tabela 4 (farinha refinada) são menores aos da Tabela 3 (farinha integral). Uma vez que a farinha integral é composta pelos constituintes do grão de sua forma íntegra (gérmen, pericarpo e endosperma) e a farinha refinada apresenta principalmente endosperma, desta forma há menor disponibilidade de enzimas e substrato e assim a atividade enzimática é menor.

Tabela 4 - Atividade enzimática e taxa de extração da farinha refinada

Parâmetro	Não germinado	Germinado			
		24 h	48 h	72 h	Pré-colheita
Atividade amilolítica total (UA.g <sup>-1</sup> )	29,49 ± 0,91 <sup>c</sup>	30,88 ± 1,77 <sup>c</sup>	35,93 ± 1,17 <sup>b</sup>	39,52 ± 1,17 <sup>a</sup>	32,13 ± 0,78 <sup>c</sup>
Atividade de α-amilase (UA.g <sup>-1</sup> )	12,62 ± 0,37 <sup>e</sup>	13,23 ± 0,19 <sup>d</sup>	15,78 ± 0,09 <sup>b</sup>	17,52 ± 0,11 <sup>a</sup>	13,84 ± 0,18 <sup>c</sup>
Número de queda (s)	452 ± 6 <sup>a</sup>	346 ± 4 <sup>b</sup>	153 ± 0 <sup>c</sup>	108 ± 4 <sup>d</sup>	160 ± 4 <sup>c</sup>
Atividade proteolítica (UP.100g <sup>-1</sup> )	0,31 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,33 ± 1,06 <sup>a</sup>	0,99 ± 0,22 <sup>a</sup>	1,71 ± 0,94 <sup>a</sup>	1,11 ± 0,67 <sup>a</sup>
Extração de farinha (%)	72,0 ± 2,4 <sup>a</sup>	72,1 ± 0,2 <sup>a</sup>	70,9 ± 0,7 <sup>ab</sup>	68,1 ± 0,4 <sup>bc</sup>	65,1 ± 1,8 <sup>c</sup>

\* Médias aritméticas simples ± desvio padrão seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. As determinações analíticas foram realizadas em triplicata, com exceção do número de queda que foi realizado em duplicata. As atividades amilolítica, de α-amilase e proteolítica são expressas em relação à matéria seca (% b.s.).

O tempo de 24h de germinação (GI24) não foi suficiente para causar a ativação das enzimas amilolíticas totais, porém foi observado moderado aumento na atividade de α-amilase, confirmado pela diminuição no NQ desta amostra. A farinha PHS apresentou comportamento diferente. Embora tenha mostrado atividade amilolítica total igual estatisticamente a farinha NG, houve aumento da atividade de α-amilase que resultou na diminuição do NQ, confirmando a hidrólise das cadeias de amido. A atividade de enzimas α-amilase nos grãos de trigo antes da colheita pode ocorrer devido a presença de microrganismos capazes de dar início aos processos enzimáticos (OLAERTS et al.,2016a) ou por quebra de dormência do grão que pode ocorrer por choque de temperatura durante a fase de enchimento do grão.

Noda et al. (2003), ao comparar os processos de germinação em escala laboratorial e germinação pré-colheita, observaram aumento pronunciado na atividade de α-amilase após 4 e 5 dias de germinação. A germinação pré-colheita no campo não tem controle de temperatura e umidade dos grãos. Assim, os resultados de atividade enzimática foram menos intensos que os obtidos em escala laboratorial, realizada em grãos de trigo sadios e em condições ótimas de germinação (umidade dos grãos ≥80% e temperatura de 30°C), com início de germinação homogêneo e imediato. Alterações estas, que

foram maiores do que no presente trabalho, no qual o maior tempo de germinação foi de 3 dias (72h).

Assim como na farinha integral, na farinha refinada também não foi observado aumento da atividade de proteases nas amostras estudadas (NG, GI24, GI48, GI72 e PHS).

A germinação causa degradação dos constituintes de reserva dos grãos, com isso ocorre redução da taxa de extração (menor rendimento de farinha). A germinação induzida por 72h (GI72) apresentou diminuição do rendimento de extração, o mesmo comportamento foi observado na amostra PHS. A germinação pré-colheita tem como principal consequência a perda quantitativa de rendimento e causa prejuízos na qualidade da farinha (MCKIE e MCCLEARY, 2015). A germinação induzida por 24h e 48h (GI24 e GI48) não produziram efeito sobre a taxa de extração de farinha (Tabela 4).

Se considerarmos a dureza dos grãos (Tabela 3), pode-se perceber que há relação entre com os valores obtidos para o rendimento de extração das farinhas, onde as farinhas com os maiores índices de dureza também foram aquelas com os maiores rendimentos de extração.

#### **4.2.2 Composição química**

Os resultados da composição química estão apresentados na Tabela 5. Em todas as farinhas refinadas (NG, GI24, GI48, GI72 e PHS), a umidade apresentou valores próximos a 15%, obedecendo ao valor máximo de umidade permitido para farinha de trigo pela legislação vigente (MAPA, 2005), que é de 15%. O teor de umidade de farinhas deve ser controlado, pois este parâmetro é um dos principais fatores de aceleração de reações químicas em alimentos, provocando alterações nas características nutricionais, sensoriais e tecnológicas (FARONI et al., 2002).

O teor de cinzas não sofreu alteração na amostra PHS, nem nas amostras com germinação induzida. O tempo de germinação por 24h não foi suficiente para causar alterações na composição química da farinha GI24. A germinação proporcionou aumento no teor de lipídeos das farinhas GI48, GI72 e PHS. Quanto ao teor de proteína, apenas a farinha PHS apresentou

resultado diferente, sendo observado valor de 14,38, enquanto que as demais apresentaram teores próximos a 11%, um aumento de 20,8%. Contudo, esse aumento pode ser devido à perda de peso seco, consequência da maior degradação do amido observada nos resultados de MMG e PH.

Tabela 5 - Composição química, teor de amido danificado e de glúten da farinha refinada

Parâmetro	Não germinado	Germinado			
		24 h	48 h	72 h	Pré-colheita
Umidade (%)	14,85 ± 0,10 <sup>ab</sup>	15,11 ± 0,12 <sup>a</sup>	14,43 ± 0,11 <sup>c</sup>	14,65 ± 0,07 <sup>bc</sup>	14,42 ± 0,07 <sup>c</sup>
Cinzas (%)	0,52 ± 0,03 <sup>ab</sup>	0,49 ± 0,02 <sup>ab</sup>	0,49 ± 0,01 <sup>ab</sup>	0,47 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,58 ± 0,03 <sup>a</sup>
Lipídeos (%)	0,72 ± 0,03 <sup>cd</sup>	0,71 ± 0,02 <sup>d</sup>	0,79 ± 0,03 <sup>b</sup>	0,78 ± 0,02 <sup>bc</sup>	0,99 ± 0,01 <sup>a</sup>
Proteína bruta (% N x 5,7)	11,41 ± 0,23 <sup>b</sup>	11,53 ± 0,29 <sup>b</sup>	11,04 ± 0,20 <sup>b</sup>	11,26 ± 0,27 <sup>b</sup>	14,38 ± 0,21 <sup>a</sup>
Amido danificado (%)	3,03 ± 0,04 <sup>c</sup>	3,64 ± 0,09 <sup>a</sup>	3,06 ± 0,01 <sup>c</sup>	2,66 ± 0,12 <sup>d</sup>	3,39 ± 0,14 <sup>b</sup>
Índice de glúten	100 ± 0 <sup>a</sup>	100 ± 0 <sup>a</sup>	99 ± 1 <sup>a</sup>	100 ± 1 <sup>a</sup>	93 ± 3 <sup>b</sup>
Glúten úmido (%)	25,47 ± 1,11 <sup>cd</sup>	27,07 ± 0,85 <sup>c</sup>	29,38 ± 1,11 <sup>b</sup>	24,05 ± 1,24 <sup>d</sup>	41,98 ± 0,45 <sup>a</sup>
Glúten seco (%)	9,39 ± 0,37 <sup>c</sup>	9,69 ± 0,26 <sup>c</sup>	10,59 ± 0,22 <sup>b</sup>	9,96 ± 0,34 <sup>bc</sup>	14,75 ± 0,24 <sup>a</sup>

\* Médias aritméticas simples ± desvio padrão seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. As determinações analíticas umidade, cinzas, lipídeos e proteína bruta foram realizadas em triplicata, e amido danificado, índice de glúten, glúten úmido e glúten seco em duplicata. Os teores de umidade e de glúten úmido são expressos em base de matéria úmida (% b.u.), os teores de cinzas, lipídeos, proteína bruta e glúten seco são expressos em base de matéria seca (% b.s.).

Quanto aos teores de amido danificado, embora tenham apresentado diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) nas amostras avaliadas (Tabela 5), essa variação não pode ser atribuída ao processo de germinação, uma vez que a farinha NG apresentou valor superior de amido danificado comparada a farinha com o maior tempo de germinação (GI72). O amido pode ter sido danificado por ação mecânica devido ao processo de moagem.

Se considerar os resultados de ID (Tabela 2), pode ser observada relação entre os resultados, onde a amostra com o maior ID, também foi aquela que apresentou o maior percentual de amido danificado. À medida que o endosperma é reduzido em partículas menores durante a moagem do grão de trigo, alguns grânulos de amido são danificados mecanicamente, influenciando nas características da farinha. Durante a moagem do trigo, uma pequena proporção (5-8%) de grânulos de amido da farinha é fisicamente danificada (GUTKOSKI et al., 2007).

Os valores de índice de glúten, glúten úmido e glúten seco da farinha PHS (Tabela 5) diferiram significativamente das demais farinhas (NG, GI24, GI48 e GI72). A farinha PHS, apesar de ser aquela que apresentou maior teor de proteína, também foi aquela que exibiu maior teor de glúten úmido e menor índice de glúten que indicam baixa qualidade tecnológica (ICHINOSE et al., 2001).

A ativação das enzimas, durante a germinação faz com que parte das proteínas insolúveis sejam translocadas em solúveis o que causa diminuição da qualidade tecnológica das farinhas para panificação (ARTE et al., 2015). A degradação do glúten durante a germinação ocorre, primeiramente, como resultado da hidrólise das ligações peptídicas, seguida da ruptura de ligações secundárias, como iônicas, de hidrogênio e hidrofóbicas, conhecidas por contribuírem para a estrutura física do glúten (DELCOUR e HOSENEY, 2010). Neste sentido parece que com a hidrólise das ligações peptídicas, as proteínas deixam o amido menos aderido à rede proteica, facilitando a extração da farinha.

Essa alteração vai ao encontro dos estudos de Ichinose et al. (2001) que observaram diminuição dos valores de sedimentação com o aumento dos níveis de germinação e, mesmo sem identificar atividade de proteases, perceberam diferenças na qualidade do glúten. Resultados semelhantes também foram relatados por Hadnadev et al. (2013), em que o trigo mais afetado com a germinação pré-colheita apresentou os menores índices de glúten e os maiores teores de glúten úmido.

#### **4.2.3 Características de cor**

A cor das farinhas refinadas NG, GIs e PHS está apresentada na Tabela 6. Os resultados de luminosidade ( $L^*$ ) mostraram valores mais elevados para a farinha NG, sendo esta a farinha mais clara, já a farinha PHS, teve o menor valor (89,4) correspondendo a farinha mais escura. A germinação induzida causou diminuição da  $L^*$ , que foi mais intensa na farinha GI24.

Tabela 6 - Parâmetros de cor da farinha refinada de trigo

Parâmetro de cor	Não germinado	Germinado			
		24 h	48 h	72 h	Pré-colheita
L*	92,57 ± 0,04 <sup>a</sup>	91,52 ± 0,02 <sup>c</sup>	92,04 ± 0,01 <sup>b</sup>	92,12 ± 0,00 <sup>b</sup>	89,45 ± 0,01 <sup>d</sup>
a*	0,46 ± 0,01 <sup>d</sup>	0,90 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,69 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,65 ± 0,00 <sup>c</sup>	1,28 ± 0,02 <sup>a</sup>
b*	8,90 ± 0,00 <sup>e</sup>	9,17 ± 0,02 <sup>d</sup>	9,40 ± 0,05 <sup>c</sup>	9,58 ± 0,01 <sup>b</sup>	10,22 ± 0,02 <sup>a</sup>

\* Médias aritméticas simples ± desvio padrão seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. As determinações analíticas foram realizadas em triplicata.

Em relação a coordenada de cromaticidade a\*, foi observado que a farinha PHS apresentou o maior valor tendendo a tonalidade vermelha. A germinação induzida causou aumentos variados nos valores de a\*, sendo a farinha GI24 aquela que apresentou o maior valor, dentre as farinhas obtidas de germinação induzida.

Ohm et al. (2008) explicam que o aumento da concentração de proteína prejudica o brilho (L\*) e a cromaticidade vermelho-verde (a\*). Os valores elevados de a\* estão associados com a diminuição de L\* que causam o escurecimento, explicado pelo aumento da coloração vermelha das farinhas, como ocorreu na farinha PHS.

A respeito da coordenada de cromaticidade b\*, as farinhas apresentaram valores mais elevados com o aumento do tempo de germinação, tendendo a tonalidade mais amarela, sendo a farinha PHS aquela que apresentou o maior valor de b\*. A coloração vermelha ou amarela é fortemente associada à presença dos pigmentos xantofilas e carotenoides nas farinhas (HRUSKQVÁ, SVEC e SEKERQVÁ, 2011).

As farinhas que requerem maior absorção de água e apresentam maior teor de proteína são menos brilhantes e mais vermelhas (OHM et al., 2008). Isso explica os resultados encontrados para cor, principalmente para a farinha PHS, conforme os valores encontrados para a absorção de água (Tabela 7 e Tabela 9) e o teor de proteína (Tabela 5).

Em geral, grãos mais duros (com maior ID) sadios e sem germinar, produzem farinhas com menores valores de L\* e maiores valores de a\* e de b\* que farinhas de grãos moles. Neste estudo, a farinha da cultivar BRS Marcante, de grão duro, não é muito clara. Contudo, a farinha NG foi mais clara que as demais GIs e PHS, possivelmente devido ao efeito da germinação que tornou

as farinhas mais claras e com tendência a cor amarela, da farinha GI24 até a GI72 ( $L^*$  aumentou,  $a^*$  diminuiu e  $b^*$  aumentou), sendo a PHS a mais escura.

Pela legislação brasileira a farinha de trigo deve apresentar cor branca, com tons leves de amarelo, marrom ou cinza, conforme o trigo de origem (MAPA, 2005). A cor da farinha é afetada por diferentes fatores, primeiro pelo tipo de grão moído e rendimento da farinha, e segundo pela composição da farinha, que inclui cinzas, proteínas, amido danificado e pigmentos, assim como a composição molecular da proteína (OHM et al., 2008).

Esse é um parâmetro bastante importante, pois os consumidores geralmente preferem farinhas mais brancas, embora nem sempre sejam as de melhor qualidade. As farinhas com maior qualidade proteica geralmente apresentam coloração mais escura (MIRANDA, DE MORI e LORINI, 2009).

#### 4.2.4 Propriedades reológicas

As alterações nas propriedades reológicas, que incluem as características viscoelásticas (alveografia) e de mistura (farinografia) das farinhas de trigo, causadas pela germinação, estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7 - Propriedades reológicas da farinha refinada

Trigo	Não germinado	Germinado			
		24 h	48 h	72 h	Pré-colheita
<b>Alveografia</b>					
P (mm H <sub>2</sub> O)	122 ± 1 <sup>a</sup>	99 ± 4 <sup>b</sup>	64 ± 4 <sup>c</sup>	67 ± 1 <sup>c</sup>	92 ± 0 <sup>b</sup>
L (mm)	80 ± 0 <sup>b</sup>	73 ± 3 <sup>b</sup>	112 ± 7 <sup>a</sup>	115 ± 6 <sup>a</sup>	109 ± 5 <sup>a</sup>
P/L	1,53 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,35 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,57 ± 0,07 <sup>c</sup>	0,58 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,85 ± 0,04 <sup>b</sup>
W (10 <sup>-4</sup> J)	379 ± 1 <sup>a</sup>	280 ± 1 <sup>c</sup>	251 ± 4 <sup>e</sup>	268 ± 2 <sup>d</sup>	292 ± 1 <sup>b</sup>
le (%)	66 ± 1 <sup>a</sup>	63 ± 0 <sup>a</sup>	63 ± 0 <sup>a</sup>	63 ± 1 <sup>a</sup>	53 ± 2 <sup>b</sup>
<b>Farinografia</b>					
Absorção de água (%)	61,3 ± 0,0 <sup>b</sup>	59,6 ± 0,1 <sup>c</sup>	57,5 ± 0,4 <sup>d</sup>	56,2 ± 0,0 <sup>e</sup>	63,7 ± 0,2 <sup>a</sup>
TDM (min)	21,9 ± 0,4 <sup>a</sup>	12,1 ± 0,1 <sup>b</sup>	2,2 ± 0,3 <sup>d</sup>	2,4 ± 0,2 <sup>d</sup>	8,3 ± 0,9 <sup>c</sup>
Estabilidade (min)	31,1 ± 0,9 <sup>a</sup>	16,4 ± 0,5 <sup>b</sup>	3,4 ± 0,0 <sup>d</sup>	3,9 ± 0,1 <sup>d</sup>	8,7 ± 0,0 <sup>c</sup>
ITM (UF)	7 ± 2 <sup>c</sup>	22 ± 5 <sup>b</sup>	42 ± 3 <sup>a</sup>	41 ± 1 <sup>a</sup>	33 ± 1 <sup>ab</sup>

\* Médias aritméticas simples ± desvio padrão seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. As determinações analíticas foram realizadas em duplicata. P: tenacidade; L: extensibilidade; P/L: relação de tenacidade por extensibilidade; W: força de glúten; le: índice de elasticidade; TDM: tempo de desenvolvimento de massa; ITM: índice de tolerância à mistura; UF: unidades farinográficas.

Pela análise de alveografia foi observado que o aumento do tempo de germinação reduziu a tenacidade (P) e aumentou a extensibilidade (L) das farinhas GI48, GI72 e PHS. Já o tempo de 24h de germinação não foi capaz de alterar P, L ou P/L da farinha. Singh et al. (2001) estudaram o efeito das condições de germinação nas propriedades reológicas de trigo e verificaram diminuição da elasticidade da massa em trigo germinado, como consequência da diminuição de glutenina e do aumento de gliadina.

Quanto à relação P/L (tenacidade/extensibilidade) houve redução nos valores de 1,5 para 0,6. O glúten que apresentava características de maior tenacidade ( $P/L > 1,2$ ) passou a glúten balanceado ( $P/L$  de 0,5 a 1,2) (GUTKOSKI et al., 2011). O tempo de germinação de 24h (GI24) não foi capaz de produzir alteração na relação P/L, contudo, a força de glúten (W) sofreu redução em todas as amostras germinadas. Os resultados obtidos mostraram que apesar da diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) observada, mesmo após 72h de germinação (GI72) o trigo manteve-se com elevada força de glúten ( $W > 250 \times 10^{-4} J$ ), que de acordo com Willians et al. (1988), classifica as amostras de força média forte ( $W$  de 201 a  $300 \times 10^{-4} J$ ).

O conhecimento das propriedades viscoelásticas da massa é fator essencial para a determinação do uso final da farinha. As farinhas que apresentam glúten tenaz indicam glúten forte e são preferidas para massas alimentícias e pães industriais, já as farinhas com glúten extensível, correspondem a glúten fraco e podem ser destinadas à produção de bolos e biscoitos (DOBRASZCZYK e MORGENSTERN, 2003).

Os efeitos da germinação nas propriedades de mistura foram verificados através do teste de farinografia (Tabela 7). A absorção de água das farinhas diminuiu com o aumento da germinação induzida. Entretanto, a farinha PHS apresentou maior valor de absorção de água, isso pode ser atribuído aos maiores valores encontrados para os teores de proteína e de amido danificado dessa amostra (Tabela 5). A capacidade de absorção de água depende da atividade enzimática, dos teores de umidade, fibra (farelo), proteína e amido danificado das farinhas (HALLÉN, IBANOGLU e AINSWORTH, 2004).

Nas amostras germinadas (GI24, GI48, GI72 e PHS) foi observada diminuição do tempo de desenvolvimento da massa (TDM) e da estabilidade (Tabela 7) com o aumento da germinação. Resultados semelhantes foram

obtidos por Hadnadev et al. (2013), que estudaram as propriedades reológicas de farinhas de trigo afetadas por diferentes condições climáticas, encontraram menores valores para o TDM e a estabilidade em farinhas de trigo que sofreram germinação pré-colheita.

As farinhas com germinação induzida GI48 e GI72, apresentaram reduções de até 10 e 9 vezes para TDM e estabilidade, respectivamente. A germinação é capaz de causar alterações nas proteínas formadoras de glúten, seja por hidrólise de ligações intra ou intermoleculares de gliadinas e gluteninas ou pela ruptura de ligações dissulfídicas entre os aminoácidos envolvidos (cistinas e cisteínas), desta forma contribuindo para a diminuição do TDM (KERPES et al., 2016). Assim pode-se inferir que a germinação tornou gliadinas e gluteninas menos estáveis durante o processo de mistura prolongado.

Na Tabela 7, também pode ser observado o aumento nos valores de índice de tolerância à mistura (ITM) das farinhas de trigo germinado. Valores elevados de ITM correspondem a farinhas que resistem pouco ao amassamento, mostrando assim que o aumento da germinação resultou no enfraquecimento das farinhas. Hefni e Witthöft (2011) verificaram que a substituição de farinha de trigo por farinha de trigo germinado afetou negativamente as propriedades reológicas da massa, causando enfraquecimento e diminuição do TDM e da estabilidade com o aumento do nível de substituição por farinha de trigo germinado.

Os resultados de propriedades de pasta das farinhas refinadas não germinadas e germinadas medidas pelo RVA estão apresentados na Tabela 8 e na

Figura 6. Quando analisadas as propriedades de pasta sem adição de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ), foi observado que a germinação induzida não promoveu diferenças na temperatura de pasta (TP), entretanto, a farinha PHS apresentou valor significativamente superior. Este elevado valor está positivamente correlacionado com o maior teor de proteína (Tabela 7) desta amostra que se justifica pela diferença na safra de obtenção do material.

Os dados encontrados estão em acordo com o reportado por Barak, Mudgil e Khatkar (2013) que estudaram a relação das gliadinas e gluteninas com as propriedades de pasta de variedades de trigo e encontraram que o teor

de proteína tem grande influência na TP das amostras, em que as farinhas com os maiores teores de proteína apresentaram as TP mais elevadas. As farinhas com maior teor de proteína demoraram mais tempo para atingir TP e pico de viscosidade, pois as proteínas competem pela água juntamente com os grânulos de amido e assim dificultam a gelatinização. Estes autores encontraram ainda que, a viscosidade final é inversamente relacionada com o teor de proteína e de glutenina da farinha enquanto que estava positivamente relacionada com o teor de gliadina e a razão gliadina/glutenina.

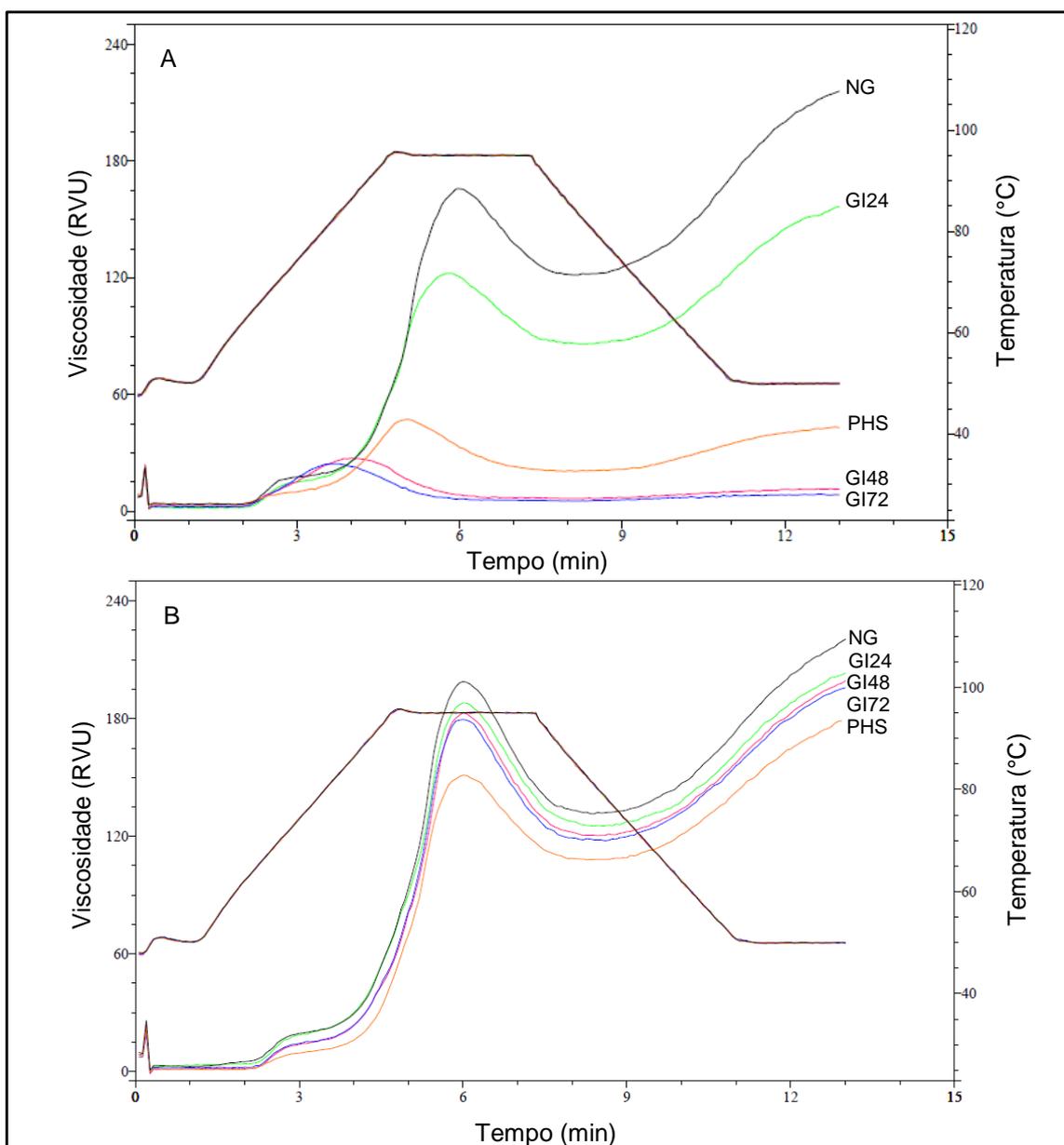


Figura 6 - Propriedades de pasta de farinha refinada de trigo não germinado e com germinação induzida e pré-colheita, sem (A) e com  $\text{AgNO}_3$  (B). NG: não germinado; IG24: germinação induzida por 24h; IG48: germinação induzida por 48h; IG72: germinação induzida por 72h; PHS: germinação pré-colheita.

Tabela 8 - Propriedades de pasta das farinhas refinadas de trigo não germinado e com germinação induzida e pré-colheita, sem e com adição de nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ )

Parâmetro	Farinha	Sem $\text{AgNO}_3$	Com $\text{AgNO}_3$
Temperatura de pasta ( $^{\circ}\text{C}$ )	NG	65,38 $\pm$ 0,03 <sup>b</sup>	65,93 $\pm$ 0,51 <sup>b ns</sup>
	GI24	65,67 $\pm$ 0,42 <sup>b</sup>	67,65 $\pm$ 2,01 <sup>b ns</sup>
	GI48	65,72 $\pm$ 0,46 <sup>b</sup>	66,15 $\pm$ 0,01 <sup>b ns</sup>
	GI72	68,58 $\pm$ 4,88 <sup>b</sup>	66,68 $\pm$ 0,42 <sup>b ns</sup>
	PHS	84,67 $\pm$ 1,44 <sup>a</sup>	86,58 $\pm$ 0,45 <sup>a ns</sup>
Pico de viscosidade (RVU)	NG	163,00 $\pm$ 5,49 <sup>a</sup>	196,61 $\pm$ 4,81 <sup>a*</sup>
	GI24	123,53 $\pm$ 0,99 <sup>b</sup>	181,05 $\pm$ 6,20 <sup>b*</sup>
	GI48	27,11 $\pm$ 0,61 <sup>d</sup>	183,05 $\pm$ 0,13 <sup>b*</sup>
	GI72	24,83 $\pm$ 0,58 <sup>d</sup>	179,17 $\pm$ 0,33 <sup>b*</sup>
	PHS	48,11 $\pm$ 1,49 <sup>c</sup>	153,47 $\pm$ 5,04 <sup>c*</sup>
Quebra (RVU)	NG	40,31 $\pm$ 3,50 <sup>a</sup>	64,86 $\pm$ 2,63 <sup>a*</sup>
	GI24	35,86 $\pm$ 0,56 <sup>a</sup>	57,86 $\pm$ 4,39 <sup>c*</sup>
	GI48	20,58 $\pm$ 0,47 <sup>c</sup>	63,29 $\pm$ 0,71 <sup>ab*</sup>
	GI72	19,03 $\pm$ 0,31 <sup>c</sup>	60,13 $\pm$ 1,63 <sup>ab*</sup>
	PHS	27,11 $\pm$ 1,07 <sup>b</sup>	43,53 $\pm$ 0,78 <sup>d*</sup>
Viscosidade final (RVU)	NG	213,11 $\pm$ 4,31 <sup>a</sup>	218,72 $\pm$ 4,84 <sup>a ns</sup>
	GI24	157,92 $\pm$ 1,17 <sup>b</sup>	198,58 $\pm$ 4,47 <sup>b*</sup>
	GI48	11,75 $\pm$ 0,72 <sup>d</sup>	199,04 $\pm$ 0,29 <sup>b*</sup>
	GI72	9,14 $\pm$ 0,67 <sup>d</sup>	195,04 $\pm$ 0,71 <sup>b*</sup>
	PHS	44,89 $\pm$ 1,77 <sup>c</sup>	182,64 $\pm$ 4,73 <sup>c*</sup>
Retrogradação (RVU)	NG	90,42 $\pm$ 3,77 <sup>a</sup>	86,97 $\pm$ 2,36 <sup>a ns</sup>
	GI24	70,25 $\pm$ 0,68 <sup>b</sup>	75,39 $\pm$ 2,28 <sup>bc*</sup>
	GI48	5,22 $\pm$ 0,40 <sup>d</sup>	79,29 $\pm$ 0,29 <sup>b*</sup>
	GI72	3,33 $\pm$ 0,17 <sup>d</sup>	76,00 $\pm$ 2,00 <sup>bc*</sup>
	PHS	23,89 $\pm$ 1,51 <sup>c</sup>	72,69 $\pm$ 1,03 <sup>c*</sup>

<sup>a-d</sup> Médias aritméticas simples  $\pm$  desvio padrão seguidas por letras iguais na mesma coluna para cada parâmetro não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. \* e <sup>ns</sup> significa diferença significativa e não significativa, respectivamente, pelo teste t ( $p \leq 0,05$ ) entre farinhas tratadas com e sem nitrato de prata. As determinações analíticas foram realizadas em duplicata. NG: não germinado; GI24: germinado por 24h; GI48: germinado por 48h; GI72: germinado por 72h; PHS: germinação pré-colheita; RVU: unidade visco rápida.

Com exceção do parâmetro quebra para a farinha GI24, os outros parâmetros avaliados, como pico de viscosidade, quebra, viscosidade final e retrogradação apresentaram redução dos seus valores com a germinação (GI24, GI48, GI72 e PHS) comparados à farinha NG, onde foi observado redução de até 20 vezes na viscosidade final, por exemplo.

Ichinose et al. (2001) estudaram as propriedades de pasta de farinha de trigo com PHS e reportaram que as amostras com baixos níveis de atividade de  $\alpha$ -amilase apresentam elevados valores de viscosidade máxima (amilógrafo). No entanto, durante a germinação, com o aumento da atividade de  $\alpha$ -amilase, os valores de viscosidade máxima diminuíram, indicando a degradação do amido das farinhas de trigo estudadas.

A germinação causou declínio na viscosidade de pico para as farinhas GI24, GI48 e GI72, com significativa redução na viscosidade final para valores próximos a 3,3RVU. Embora o processo de gelatinização tenha começado ao mesmo tempo para todas as amostras, a viscosidade final diminuiu para valores inferiores a 20RVU para as farinhas IG48, IG72 e PHS, indicando a hidrólise do amido e conseqüentemente, a menor capacidade de gelatinização. Resultados semelhantes foram relatados por Olaerts et al. (2016b) ao estudarem as propriedades de pasta de amidos de três cultivares de trigo colhidos em diferentes estágios de germinação pré-colheita.

O nitrato de prata ( $\text{AgNO}_3$ ) foi adicionado para examinar o comportamento das farinhas refinadas de trigo não germinado e germinado sem o impacto da  $\alpha$ -amilase durante a análise (

Figura 6B). Segundo Li et al. (2008), a interação de íons de prata com grupos tiol em proteínas resulta na inativação das enzimas. Desta forma é possível verificar o efeito da enzima  $\alpha$ -amilase somente durante a germinação.

A temperatura de pasta das farinhas não apresentou diferenças significativas com ou sem adição de  $\text{AgNO}_3$ . Porém, no que se refere ao pico de viscosidade, quebra, viscosidade final e retrogradação, todas as amostras apresentaram valores superiores aos mesmos parâmetros sem  $\text{AgNO}_3$ , evidenciando o efeito das enzimas durante a análise. Resultados semelhantes foram relatados por Paraginski et al. (2014), onde as propriedades de pasta do amido de grãos de arroz danificado, analisados com adição de  $\text{AgNO}_3$ ,

apresentaram maiores valores de todos os parâmetros avaliados em relação à análise realizada sem a adição de  $\text{AgNO}_3$ .

Embora os valores dos parâmetros avaliados em análise de RVA com  $\text{AgNO}_3$  tenham sido maiores que os obtidos sem  $\text{AgNO}_3$ , foi observado que também apresentaram menores valores comparados a farinha NG. Assim, mais uma vez ficou demonstrado (Tabelas 4, 5, 7, 8 e Figura 2), que a germinação provocou ativação de enzimas que degradaram o amido, promovendo a redução da viscosidade do gel.

Os resultados encontrados para as propriedades de mistura e de pasta por Mixolab estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Propriedades de mistura e de pasta por Mixolab

Parâmetro	Não germinado	Germinado			
		24 h	48 h	72 h	Pré-colheita
Absorção de água (%)	60,5	62,4	57,0	55,4	56,2
TDM (min)	8,91 ± 0,41 <sup>a</sup>	2,60 ± 0,17 <sup>c</sup>	1,82 ± 0,00 <sup>c</sup>	1,80 ± 0,04 <sup>c</sup>	5,71 ± 0,06 <sup>b</sup>
Estabilidade (min)	11,34 ± 0,06 <sup>a</sup>	10,59 ± 0,27 <sup>a</sup>	9,72 ± 0,16 <sup>b</sup>	9,46 ± 0,27 <sup>b</sup>	8,46 ± 0,18 <sup>c</sup>
C1 (Nm)	1,13 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,07 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,11 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,10 ± 0,01 <sup>a</sup>	1,13 ± 0,03 <sup>a</sup>
C2 (Nm)	0,62 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,45 ± 0,00 <sup>b</sup>	0,39 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,38 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,39 ± 0,01 <sup>c</sup>
C3 (Nm)	2,01 ± 0,00 <sup>a</sup>	1,82 ± 0,01 <sup>b</sup>	1,56 ± 0,01 <sup>c</sup>	1,47 ± 0,02 <sup>d</sup>	1,32 ± 0,02 <sup>e</sup>
C4 (Nm)	1,76 ± 0,16 <sup>a</sup>	1,40 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,60 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,40 ± 0,03 <sup>c</sup>	0,64 ± 0,04 <sup>c</sup>
C5 (Nm)	3,24 ± 0,11 <sup>a</sup>	2,40 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,97 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,59 ± 0,03 <sup>d</sup>	1,12 ± 0,03 <sup>c</sup>

\* Médias aritméticas simples ± desvio padrão seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. As determinações analíticas foram realizadas em duplicata. TDM: tempo de desenvolvimento da massa; C1: força necessária para atingir 1,1 Nm; C2: enfraquecimento das proteínas; C3: gelatinização de amido; C4: amilase de resistência; C5: retrogradação do amido.

Da mesma forma que pela farinografia, a germinação acarretou na diminuição da absorção de água, tempo de desenvolvimento da massa (TDM) e estabilidade das farinhas germinadas avaliadas. O TDM e a estabilidade são relacionadas aos primeiros estágios da curva do Mixolab (C1 e C2), que correspondem ao enfraquecimento das proteínas devido a ação mecânica e ao aumento da temperatura do sistema, resultando na diminuição da consistência da massa e, conseqüentemente, na redução do torque (KOKSEL et al., 2009).

A Tabela 9 mostra a diminuição nos valores de C2 nas farinhas germinadas (GI24, GI48, GI72 e PHS) em relação a NG. Esse resultado indica,

mais uma vez, que a germinação altera a qualidade das proteínas, assim como já apurado nas análises reológicas mostradas na Tabela 7.

Koksel et al. (2009) verificaram que a quantidade de proteínas em genótipos de trigo não prediz a qualidade das mesmas, visto que genótipos com maiores teores de proteína também apresentaram menores valores de C2 e de W o que indica ligações proteicas mais fracas. Farinhas com valores de C2 inferior a 0,4Nm indicam baixa qualidade de proteína, sendo mais indicadas para produtos como bolos e biscoitos (BANU e APRODU, 2015).

Pela análise das farinhas por Mixolab, foi possível verificar que em relação à farinha NG, a germinação causou redução nos valores de C3, C4 e C5, que correspondem as principais alterações físico-químicas que ocorrem na estrutura do amido, como o comportamento do amido quanto à gelatinização, a atividade amilolítica e a retrogradação do amido, respectivamente.

Torbica et al. (2016) avaliaram a qualidade de trigo durum afetado por diferentes fatores climáticos utilizando o Mixolab e encontraram diminuição da temperatura de gelatinização para farinhas de trigo germinado, através do valor de C3, indicando menor viscosidade da massa. Resultados semelhantes foram encontrados por Rakita et al. (2015), que ao avaliar a atividade de  $\alpha$ -amilase e as propriedades de panificação de farinha de trigo em diferentes condições climáticas, revelaram redução de C3 com o aumento da ação enzimática.

O C4 é considerado uma medida indireta da atividade de  $\alpha$ -amilase e, assim como o NQ, também apresentou resultados inversamente proporcionais. O aumento da atividade de  $\alpha$ -amilase diminui a capacidade de gelatinização do amido, assim como também reduz o valor de C4 (ROSELL et al., 2007).

A retrogradação também está relacionada com a atividade de amilase, quanto maior for a diferença entre os parâmetros C3, C4 e C5, maior será a atividade de  $\alpha$ -amilase (RAKITA et al., 2015). Conforme discutido anteriormente (Tabela 4), a germinação ativou as enzimas hidrolíticas, como a  $\alpha$ -amilase causando rápida diminuição da viscosidade na suspensão de amido devido à sua degradação em açúcares simples e oligossacarídeos (KALITA, SARMA e SRIVASTAVA, 2017), com isso, alterou as características reológicas das farinhas germinadas (Tabela 7).

### **4.3 Efeito da germinação no teor de micotoxinas**

As farinhas integrais e refinadas de trigo não germinado (NG), com germinação induzida (GI24, GI48 e GI72) e pré-colheita (PHS) foram avaliadas quanto à presença das micotoxinas aflatoxinas B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub>, deoxinivalenol, fumonisina B<sub>1</sub>, ocratoxina A e zearalenona. As amostras não revelaram picos que indicam a presença de micotoxinas, antes e após a germinação, nem mesmo nas amostras PHS (dados não mostrados). Esse resultado é de grande importância, uma vez que, as micotoxinas são altamente tóxicas para animais e humanos e favorecem o desenvolvimento de inúmeras doenças.

As amostras GI24, GI48 e GI72 passaram pela etapa de sanitização antes da germinação. Essa etapa, possivelmente favoreceu a eliminação de possíveis esporos de fungos que poderiam causar o desenvolvimento das micotoxinas durante a germinação, já que as condições de germinação (mesmo a germinação pré-colheita) são muito próximas às condições ideais de desenvolvimento de micotoxinas (elevada umidade e temperaturas acima de 20°C) (DEL PONTE et al., 2004).

### **4.4 Efeito da germinação de trigo nas propriedades de panificação da farinha refinada**

#### **4.4.1 Características físicas dos pães**

Os efeitos da germinação sobre a panificação foram avaliados através do volume específico, da umidade, da firmeza e da cor dos pães, como pode ser visto na Tabela 10. Na Figura 7 estão apresentados os dados de firmeza dos pães de farinha refinada de trigo NG, GI24, GI48, GI72 e PHS.

A germinação aumentou o volume específico dos pães GI48, GI72 e PHS, em relação ao pão de farinha de trigo não germinado (NG), contudo o pão GI24 não diferiu deste. O volume específico dos pães germinados foi em torno de 14% superior ao pão NG, ou seja, os pães ficaram mais leves. A germinação, ao ativar as enzimas amilolíticas, hidrolisam o amido liberando

açúcares. Os açúcares servem de substrato para as leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*) responsáveis pela fermentação e possivelmente podem ter contribuído para o aumento no volume específico dos pães. A umidade dos pães variou de 31,1 a 35,5%, valores estes considerados normais para este tipo de produto segundo Boita et al. (2016).

Tabela 10 - Características de qualidade física e cor dos pães de farinha de trigo não germinado e com germinação induzida pré-colheita

Parâmetro	Não		Germinado		Pré-colheita
	germinado	24 h	48 h	72 h	
Volume específico (mL.g <sup>-1</sup> )	3,61 ± 0,08 <sup>c</sup>	3,79 ± 0,10 <sup>bc</sup>	4,09 ± 0,08 <sup>a</sup>	3,94 ± 0,16 <sup>ab</sup>	3,93 ± 0,14 <sup>ab</sup>
Umidade (%)	32,36 ± 0,11 <sup>c</sup>	34,93 ± 0,03 <sup>b</sup>	31,13 ± 0,01 <sup>e</sup>	31,65 ± 0,07 <sup>d</sup>	35,51 ± 0,11 <sup>a</sup>
<b>Cor do miolo</b>					
L*	83,97 ± 0,50 <sup>a</sup>	82,56 ± 0,04 <sup>b</sup>	82,63 ± 0,30 <sup>b</sup>	83,75 ± 0,09 <sup>a</sup>	80,21 ± 0,16 <sup>c</sup>
a*	1,07 ± 0,08 <sup>d</sup>	1,79 ± 0,05 <sup>b</sup>	1,26 ± 0,00 <sup>c</sup>	1,27 ± 0,04 <sup>c</sup>	2,02 ± 0,00 <sup>a</sup>
b*	17,45 ± 0,02 <sup>a</sup>	17,38 ± 0,03 <sup>a</sup>	16,55 ± 0,03 <sup>b</sup>	17,79 ± 0,42 <sup>a</sup>	17,71 ± 0,06 <sup>a</sup>

\* Médias aritméticas simples ± desvio padrão seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância. As determinações analíticas foram realizadas em triplicata, com exceção da umidade e da firmeza que foram realizadas em duplicata.

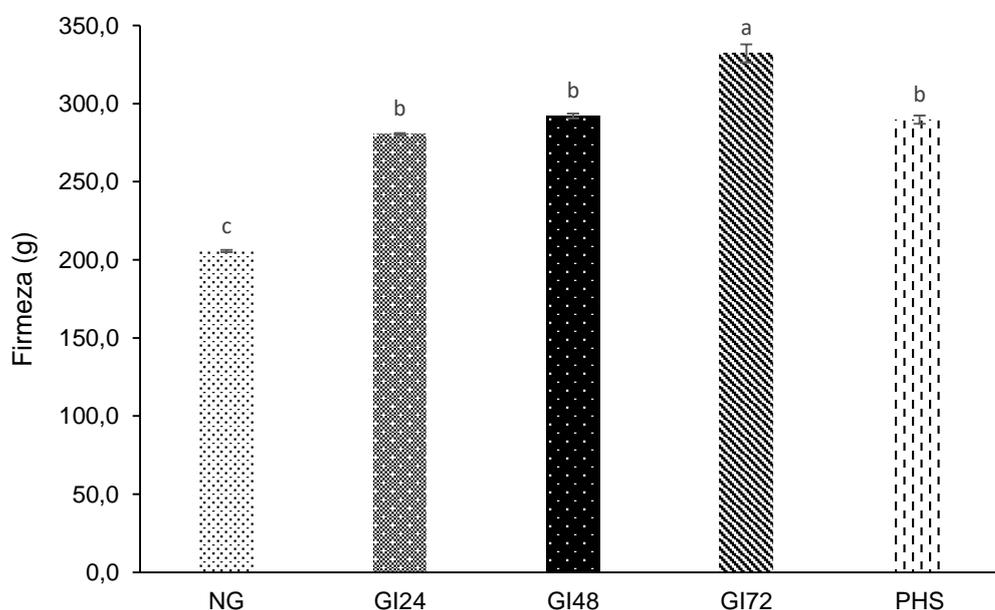


Figura 7 - Firmeza dos pães. NG: não germinado; GI24: germinação induzida por 24h; GI48: germinação induzida por 48h; GI72: germinação induzida por 72h; PHS: germinação pré-colheita.

A firmeza dos pães de farinha de trigo GIs e PHS foi significativamente superior em relação ao pão NG. Foi observado aumento da firmeza de aproximadamente 40% nos pães GI24, GI48 e PHS e de 60% no pão GI72. Um aspecto que afeta a firmeza de pães consiste na qualidade das proteínas da farinha. Segundo Morris e Morris (2012) a maior firmeza dos pães pode ser resultado do enfraquecimento do glúten, que dificulta a retenção de gás da massa de farinha de trigo.

Barak, Mudgil e Khatkar (2013) em seu estudo mostraram correlações entre o teor proteico e a qualidade das proteínas da farinha com o volume específico do pão. Evidenciaram que um equilíbrio de elasticidade e extensibilidade da massa é importante para produzir pães de menor firmeza e maior volume de pão. Glúten forte causa diminuição da firmeza do pão, elevados teores de gliadinas e gluteninas mostram correlação negativa com a firmeza, porém as que mais contribuem para o aumento da firmeza são as gluteninas, sugerindo que maior conteúdo de glutenina resulta em pão menos macio. Porém, são principalmente as gluteninas que contribuem para o maior volume específico de pão.

Neste contexto, pode-se aferir que a cultivar de trigo BRS Marcante apresentava características de glúten forte (Tabela 7), e com a germinação, o glúten passou de tenaz a balanceado, além da diminuição de W, o que causou aumento no volume e diminuição na firmeza. No estudo de Barak, Mudgil e Khatkar (2013), também foi observado que a relação gliadina/glutenina está positivamente associada à firmeza do pão e negativamente com o volume específico, implicando que o equilíbrio das gliadinas e glutinas é importante para avaliar a adequação de uma variedade (cultivar) de trigo para fazer pão.

Conforme mostrado na

Figura 8, o pão PHS apresentou crosta mais escura que os demais, devido à presença de maior teor de açúcares redutores e dextrinas que combinados com aminoácidos livres favorecem a ocorrência de Reação de Maillard. Esta é uma reação de escurecimento não enzimático, em que os grupos amina de aminoácidos, peptídeos e proteínas reagem com aldeído, resultando na degradação de carboidratos formando pigmentos escuros (CORNEJO et al., 2015).

Os resultados para a luminosidade ( $L^*$ ) e as coordenadas  $a^*$  e  $b^*$  dos pães estão apresentados na Tabela 10. Os pães de farinha de trigo germinado, principalmente o PHS apresentaram-se mais escuros quando comparados ao pão NG, o que foi demonstrado pela redução gradual nos valores de luminosidade e maior tendência ao vermelho e ao amarelo. Assim como as farinhas, os pães apresentaram comportamento semelhante quanto à cor. Os mais elevados valores de  $L^*$  indicam maior refletância da luz traduzindo-se em pães com coloração clara, geralmente associada a pequenas quantidades de açúcares na formulação (ESTELLER et al., 2006).

A presença de água na formulação acelera reações de caramelização e Maillard, levando ao escurecimento da crosta e do miolo. Maiores valores de  $a^*$  indicam coloração avermelhada, principalmente observada na crosta e geralmente são associados a pães com elevada quantidade de açúcares disponíveis (ESTELLER, JÚNIOR e LANNER, 2006).

Valores elevados de  $b^*$  são traduzidos para amostras com forte coloração amarelada, que embora dispersa na coloração castanha, característica de produtos forneados, pode aparecer em pães ricos em proteínas, açúcares redutores e carotenoides. Como foi observado para o pão da farinha PHS. Algumas variações nos valores de  $a^*$  e  $b^*$  podem estar também relacionados com o grau de aeração (porosidade da massa) e mudanças na luz que incide na superfície do material (ESTELLER, 2007).

#### **4.4.2 Características de qualidade dos pães**

As características visuais dos alvéolos do miolo dos pães de farinha de trigo não germinado, com germinação induzida e pré-colheita são apresentados na

Figura 8. A estrutura celular do miolo aparece quando o pão é fatiado, mostrando a superfície macia com muitos alvéolos com variadas dimensões.

A maior incorporação de ar aos pães contribui para mudanças no sabor, maciez, mastigabilidade, elasticidade, redução do esfarelamento, aparência e aumento visual do tamanho dos alvéolos. A melhoria das características de produtos panificados é atribuída, à incorporação de oxigênio do ar às proteínas

do trigo. Assim, ocorre oxidação dos grupos sulfidrilas e/ou pontes dissulfeto com o fortalecimento da rede de glúten, facilitando a retenção dos compostos voláteis e consequente aumento do volume acabado (ESTELLER e LANNES, 2005).

O amassamento permite a formação de bolhas que vão se expandir, juntamente com os gases durante a fermentação. A massa crua de pão contém geralmente 8% de ar, aumentando para 65% ao final do crescimento e 75% no produto final (ESTELLER, 2007).

Durante o assamento dos pães, a água e demais compostos volatilizam e tendem a sair da massa sob pressão, formando vários capilares que podem se unir ou não às bolhas formadas durante o processo de fermentação. Quanto maior o número de alvéolos e o volume ocupado, mais porosa será a massa, influenciando também no volume específico dos pães (ESTELLER, 2007).

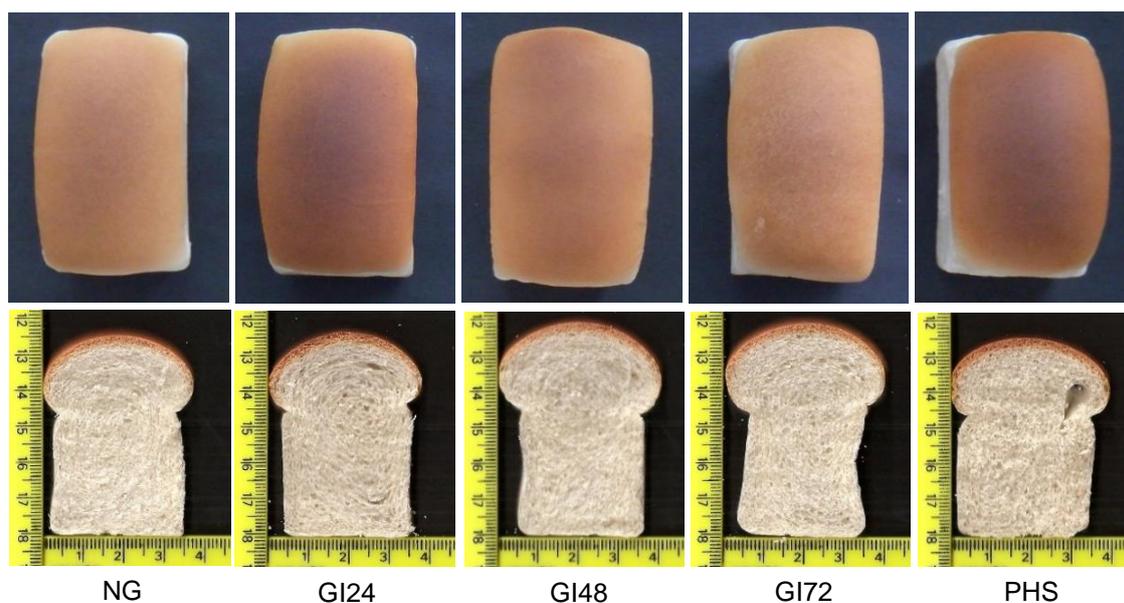


Figura 8 - Características de cor e alvéolos do miolo dos pães. NG: não germinado; GI24: germinação induzida por 24h; GI48: germinação induzida por 48h; GI72: germinação induzida por 72h; PHS: germinação pré-colheita.

As pontuações para as características tecnológicas de qualidade dos pães segundo El-Dash (1978) estão apresentadas na Tabela 11.

As maiores pontuações finais para cada parâmetro avaliado correspondem aos atributos desejáveis. De acordo com as características externas, os resultados obtidos para o volume dos pães, não foram

significativamente diferentes entre si ( $p \leq 0,05$ ). Assim como o volume específico dos pães (Tabela 10), as condições de germinação estudadas parecem ter aumentado o volume dos pães, deixando-os mais leves.

Quanto à cor da crosta, os pães de farinha de trigo germinado (GI24, GI48, GI72 e PHS), onde a quantidade de açúcares é maior devido à ação enzimática, apresentaram coloração mais escura devido a reação de Maillard (Figura 7).

No atributo quebra dos pães, as pontuações variaram entre 3,0 e 5,0 (sendo 5,0 a pontuação máxima para este atributo), os pães de farinhas germinadas (GI24, GI48, GI72 e PHS) alcançaram as maiores pontuações, sendo observada maior quebra em pães com os maiores tempos de germinação, entretanto não afetou a simetria dos pães. Segundo El-Dash (1994) a característica de quebra é relativa à abertura das laterais do pão de forma, devido ao crescimento repentino durante o cozimento no forno.

Tabela 11 – Pontuação dos pães de forma elaborados com farinha refinada de trigo não germinado, com germinação induzida e pré-colheita

Parâmetro	Não germinado	Germinado			Pré-colheita
		24 h	48 h	72 h	
<b>Características externas – máximo 40 pontos</b>					
Volume (x 3,33)	12,1 ± 0,3 <sup>b</sup>	12,7 ± 0,4 <sup>ab</sup>	13,7 ± 0,3 <sup>a</sup>	13,0 ± 0,0 <sup>ab</sup>	12,9 ± 0,3 <sup>ab</sup>
Cor da crosta	9,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	7,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	8,7 ± 0,6 <sup>ab</sup>	7,0 ± 1,0 <sup>b</sup>	8,7 ± 0,6 <sup>ab</sup>
Quebra	3,0 ± 0,0 <sup>c</sup>	4,0 ± 0,0 <sup>b</sup>	4,7 ± 0,6 <sup>ab</sup>	5,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	4,7 ± 0,6 <sup>ab</sup>
Simetria	3,0 ± 1,0 <sup>b</sup>	5,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	4,0 ± 0,0 <sup>ab</sup>	3,3 ± 0,6 <sup>b</sup>	4,0 ± 0,0 <sup>b</sup>
<b>Características internas – máximo 35 pontos</b>					
Características da crosta	5,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	3,3 ± 0,6 <sup>ab</sup>	4,7 ± 0,6 <sup>ab</sup>	3,7 ± 1,2 <sup>ab</sup>	3,0 ± 0,0 <sup>b</sup>
Cor do miolo	9,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,0 ± 1,0 <sup>a</sup>	8,7 ± 1,2 <sup>a</sup>	9,3 ± 1,2 <sup>a</sup>	7,7 ± 1,2 <sup>a</sup>
Estrutura da célula do miolo	9,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,0 ± 1,0 <sup>a</sup>	8,7 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,7 ± 1,2 <sup>a</sup>	7,3 ± 0,6 <sup>a</sup>
Textura do miolo	9,0 ± 1,7 <sup>a</sup>	8,3 ± 1,2 <sup>a</sup>	9,3 ± 1,2 <sup>a</sup>	9,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	8,7 ± 1,5 <sup>a</sup>
<b>Aroma e sabor – máximo 25 pontos</b>					
Aroma	8,3 ± 1,5 <sup>ab</sup>	6,7 ± 0,6 <sup>b</sup>	10,0 ± 0,0 <sup>a</sup>	8,0 ± 1,0 <sup>ab</sup>	8,7 ± 1,5 <sup>ab</sup>
Sabor	10,3 ± 0,6 <sup>a</sup>	6,0 ± 1,0 <sup>b</sup>	6,7 ± 1,5 <sup>b</sup>	6,7 ± 1,5 <sup>b</sup>	7,7 ± 1,2 <sup>ab</sup>
<b>Pontuação final</b>	<b>79,7 ± 6,3<sup>a</sup></b>	<b>69,4 ± 5,3<sup>a</sup></b>	<b>79,0 ± 2,2<sup>a</sup></b>	<b>74,0 ± 5,2<sup>a</sup></b>	<b>73,2 ± 4,6<sup>a</sup></b>

\* Médias aritméticas simples ± desvio padrão seguidas por letras iguais na mesma linha não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Segundo Ferreira, Oliveira e Pretto (2001) a simetria pode indicar manuseio e processamento inadequados, pode resultar de massa muito dura com baixo teor de água, assim como fermentação inadequada.

Em relação às características internas dos pães, embora sem diferença significativa, o pão PHS apresentou pontuação menor em relação aos demais pães, pois foi o que apresentou fatores indesejáveis mais marcantes. Foi verificado que a germinação induzida não causou alterações significativas ( $p \leq 0,05$ ) nas características da crosta, na cor do miolo, na estrutura da célula e na textura do miolo dos pães avaliados.

No que se refere as características da crosta, a qual deve ter espessura nem muito fina, nem grossa demais, não devendo ser dura ou borrachenta, pois este fato é atribuído à insuficiência de açúcares ou de  $\alpha$ -amilase, baixa umidade durante a fermentação, baixa temperatura de forno ou falta de gordura. A cor do miolo é outro parâmetro de avaliação das características internas, sendo que este deve ser branco, uniforme, sem estrias ou manchas. O miolo deve ser suave, macio e elástico, considerando-se indesejável uma textura grossa, áspera e pegajosa (EI- DASH,1994).

Os pães não apresentaram diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) no que se refere ao aroma, sendo que o pão GI48 foi aquele que apresentou aroma mais agradável, característico de pão, assim como o pão GI24 foi aquele com aroma menos agradável. Para o sabor dos pães, o NG foi aquele com melhor aceitação, seguido pelo PHS. Da mesma forma que para o aroma, o pão GI24 foi aquele com sabor menos agradável.

Analisando a pontuação geral obtida pela avaliação dos pães foram obtidos escores que variaram de 69,4 a 79,7 pontos, porém sem diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ). Foi verificado pelo teste de características tecnológicas de qualidade, que apesar de haver diferenças entre as características avaliadas individualmente, na pontuação final essas diferenças foram mascaradas, tornando os pães NG, GI24, GI48, GI72 e PHS iguais entre si.

#### **4.5 Efeito da germinação de trigo no teor de GABA**

O teor de GABA das farinhas e dos pães de trigo NG GIs e PHS está apresentado na Figura 9.

A germinação aumentou o teor de GABA nas farinhas estudadas. As farinhas GI24 e GI48 apresentaram aumento de cerca de 2,15 e 2,22 vezes de GABA, respectivamente, em relação a farinha NG, enquanto que as farinhas GI72 e PHS tiveram aumento de 1,6 e 1,3 vezes, respectivamente.

Cornejo et al. (2015) observaram melhora significativa no teor de GABA e também aumento na quantidade de aminoácidos livres, com o tempo de germinação, variando de acordo com o método e a cultivar de trigo utilizados.

Como observado na Figura 9, os pães que mantiveram os maiores teores de GABA foram àqueles produzidos com as farinhas NG ( $1,15\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) e GI24 ( $1,80\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ) que são estatisticamente iguais ao PHS ( $1,57\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ). Por outro lado, houve perda significativa de GABA em todos os pães em relação as suas respectivas farinhas, sendo a diminuição mais pronunciada nas amostras GI48 (95%) e GI72 (77%).

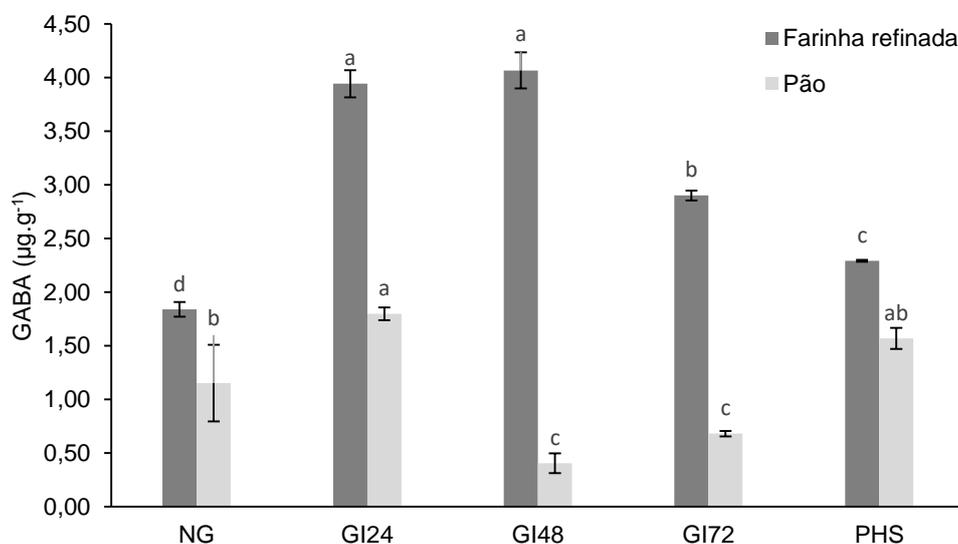


Figura 9 - Teor de GABA da farinha refinada e dos pães. NG: não germinado; GI24: germinação induzida por 24h; GI48: germinação induzida por 48h; GI72: germinação induzida por 72h; PHS: germinação pré-colheita

Resultados semelhantes foram obtidos por Lamberts et al. (2012), que observaram grandes perdas de GABA (>70%) devido ao descanso das massas fermentadas e ao assamento. As temperaturas elevadas usadas durante o assamento dos pães (em torno de 150°C) provocam diminuição do conteúdo

de GABA (CORNEJO et al., 2015), o que pode ser atribuído a degradação de aminoácidos livres originados da germinação que são usados na reação de Maillard (Lamberts et al., 2012).

Foi possível verificar que a germinação é um ótimo processo para aumentar os teores de GABA em trigo, especialmente naqueles produtos consumidos *in natura* e não na forma de produtos forneados (pães e derivados). O GABA, tem grande importância biológica, pois é um importante neurotransmissor de sinais no sistema nervoso central sendo extensivamente usado em alimentos funcionais e preparações farmacêuticas (DIANA, QUÍLEZ, e RAFECAS 2014a; HAYAT et al., 2014).

O consumo de cereais germinados, ricos em composto bioativos, como o GABA tem se tornado popular entre os consumidores preocupados com a saúde. A germinação pré-colheita, principalmente, mostrou ser um método eficiente para aumentar o teor de GABA para ser consumido em produtos *in natura*, desta forma, agregando valor ao trigo com germinação pré-colheita.

## 5 CONCLUSÕES

A germinação induzida e pré-colheita do trigo causaram ativação das enzimas amilolíticas tanto na farinha integral, como na farinha refinada, porém, não afetaram a atividade de enzimas proteolíticas.

Na avaliação das propriedades físicas dos grãos, após a germinação houve redução significativa na massa de mil grãos nas amostras GI24 e PHS, na massa específica aparente (peso do hectolitro) nas amostras GI48 e GI72, e no rendimento de farinha refinada (menor taxa de extração de farinha) nas amostras GI72 e PHS, sendo todos os grãos classificados como de textura dura.

Quanto às propriedades físico-químicas das farinhas, a composição química não mudou para GI24, apenas os teores de amido danificado e índice de glúten diferiram, em que as farinhas refinadas GIs e PHS apresentaram menor índice de glúten e maior teor de glúten úmido. A cor da farinha tornou-se mais escura à medida que aumentou a germinação.

A presença de micotoxinas não foi detectada em nenhuma das amostras de trigo e de suas respectivas farinhas (NG, GIs e PHS).

A germinação afetou às propriedades reológicas, nas propriedades viscoelásticas da farinha (alveografia) foram observadas diminuição da tenacidade e aumento da extensibilidade, e enfraquecimento da força de glúten e nas propriedades de mistura da massa das farinhas de trigos germinados (farinografia), houve diminuição da absorção de água, do tempo de desenvolvimento e da estabilidade da massa e aumento do índice de tolerância à mistura, evidenciando o enfraquecimento das proteínas. Em relação as propriedades de pasta da farinha (RVA), ocorreu hidrólise do amido que ocasionou redução nos valores de capacidade de gelatinização, viscosidade de pico, quebra, viscosidade final e retrogradação. Os resultados em Mixolab foram iguais ou muito semelhantes aos observados pela farinografia e RVA.

Na panificação, a germinação pareceu ter efeito benéfico uma vez que os pães apresentaram maiores volume específico e firmeza, embora tenha sido observado diminuição da força do glúten e enfraquecimento das proteínas quanto às propriedades de mistura. No entanto, a germinação ocasionou o escurecimento dos pães.

Como consequência da germinação, houve aumento do teor de GABA nas farinhas e nos pães, porém parte do GABA foi perdido durante o processo de panificação, mostrando que a melhor forma de consumo para aproveitamento desse composto é na forma de trigo *in natura*.

Analisando o estudo de forma global, foi possível concluir que as alterações provocadas pela germinação estão diretamente associadas à atividade enzimática e embora tenham sido observadas modificações nas características do amido e da proteína, os tempos de germinação induzida deste estudo (GI24, GI48 e GI72) não foram suficientes para causar diminuição nas características de panificação e aumentos significativos no teor de GABA. Além do mais, quando comparados os trigos com germinação induzida com o em pré-colheita (PHS), assim como suas respectivas farinhas e pães, foi observado que para a maioria dos parâmetros avaliados, o PHS apresentou resultados semelhantes ou iguais aos do GI48, indicando similaridades entre as germinações.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC. American Association of Cereal Chemists. In: **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. AACC International. 11 ed. Saint. Paul, MN, U.S.A, 2010.

ABECASSIS, J.; SHEWRY, P.R. Development, structure and mechanical properties of wheat grain. In: KHAN, K.; SHEWRY, P.S. **Wheat: chemistry and technology**. ed. 4. St Paul, Minnessota (EUA): AACC, 2009, p. 51-95.

ABITRIGO. Associação brasileira das indústrias de trigo. Sobre o trigo. Disponível em: <http://www.abitrigo.com.br>. Acesso em: janeiro de 2017.

AL-QURAAN, N.A., SARTAWA, F. A.-B., QARYOUTI, M.M. Characterization of  $\gamma$ -aminobutyric acid metabolism and oxidative damage in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings under salt and osmotic stress. **Journal of Plant Physiology**, v. 170, p. 1003–1009, 2013.

ANDERSSON, J. **Whole grain wheat – effects of peeling and pearling on chemical composition, taste and colour**. Master Thesis, The Plant Product Division, Department of Food Science, Swedish University of Agriculture, Uppsala, Sweden, 30p. 2011.

ANJUM, F.M.; KHAN, M.R.; DIN, A.; SAEED, M.; PASHA, I.; ARSHAD, A.U. Wheat gluten: High molecular weight glutenin subunits-structure, genetics, and relation to dough elasticity. **Journal of Food Science**. v. 72, p. 56–63, 2007.

ARTE, E.; RIZZELLO, C.G.; VERNI, M.; NORDLUND, E.; KATINA, K.; CODA, R. Impact of enzymatic and microbial bioprocessing on protein modification and nutritional properties of wheat bran. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, p. 8685–8693, 2015.

BANU, I.; APRODU, I. Association of physicochemical with technological properties of wheat. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 50, p. 1644–1650, 2015.

BARAK, S.; MUDGIL, D.; KHATKAR, B.S. Biochemical and functional properties of wheat gliadins: A review. **Food Science and Nutrition**, v. 55, p. 357–368, 2015.

BARAK, S.; MUDGIL, D.; KHATKAR, B.S. Relationship of gliadin and glutenin proteins with dough rheology, flour pasting and bread making performance of wheat varieties. **LWT - Food Science and Technology**, v. 51, p. 211–217, 2013.

BELÉIA, A.; GROSSMAN, M.V.E. Germinação pré-colheita de trigo: efeitos na qualidade do grão e da farinha. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 25, p. 1797-1804, 1990.

BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. **Introdução à Química dos Alimentos**. ed. 2. São Paulo: Varela, 1995. 223 p.

BOITA, E.R.; ORO, T.; BRESSIANI, J.; SANTETTI, G.S.; BERTOLIN, T.E.; GUTKOSKI, L.C. Rheological properties of wheat flour dough and pan bread with wheat bran. **Journal of Cereal Science**, v. 71, p. 177–182, 2016.

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.

CHALERMCHAIWAT, P.; JANGCHUD, K.; JANGCHUD, A.; CHARUNUCH, C.; PRINYAWIWATKUL, W. Antioxidant activity, free gamma-aminobutyric acid content, selected physical properties and consumer acceptance of germinated brown rice extrudates as affected by extrusion process. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, p. 490–496, 2015.

CHEN, G.-X.; ZHOU, J.-W.; LIU, Y.-L.; LU, X.-B.; HAN, C.-X.; ZHANG, W.-Y.; XU, Y.-H.; YAN, Y.-M. Biosynthesis and Regulation of Wheat Amylose and Amylopectin from Proteomic and Phosphoproteomic Characterization of Granulebinding Proteins. **Scientific Reports**, v. 6, p. 1-15, 2016.

CHO, D.H.; LIM, S.T. Review: Germinated brown rice and its bio-functional compounds. **Food Chemistry**, v. 196, p. 259–271, 2016.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, 2016. Disponível em [www.conab.gov.br](http://www.conab.gov.br). Acesso em outubro de 2016.

CORNEJO, F.; CÁCERES, P.J.; MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; ROSELL, C.M.; FRIAS, J. Effects of germination on the nutritive value and bioactive compounds of brown rice breads. **Food Chemistry**, v. 173, p. 298–304, 2015.

COSTA, M.G; SOUZA, E.L.; STAMFORD, T.L.M.; ANDRADE, S.A.C. Qualidade tecnológica de grãos e farinhas de trigo nacionais e importados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 220-225, 2008.

CUNHA, G.R.; PIRES, J.L.F.; PAZINATO, A. 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, 2004. p.11-20.

DEL PONTE, E.M.F.; FERNANDES J.M.C., PIEROBOM, C.R.; BERGSTROM, G.C. Giberela do trigo - Aspectos epidemiológicos e modelos de previsão. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p. 587–605, 2004.

DELCOUR, J. A.; HOSENEY, R. C. **Principles of cereal science and technology**. ed. 3. St. Paul, Minnessota (EUA): AACC, 2010.

DENDY, D.A.V.; DOBRASZCZYK, B.J. **Cereales y productos derivados: química y tecnología**. Zaragoza: Acribia, 2001, 537p.

DIANA, M.; QUÍLEZ, J.; RAFECAS, M. Free amino acids, acrylamide and biogenic amines in gamma-aminobutyric acid enriched sourdough and commercial breads. **Journal of Cereal Science**, v. 60, p. 639-644, 2014b.

DIANA, M.; QUÍLEZ, J.; RAFECAS, M. Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: a review. **Journal of Functional Foods**, v. 10, p. 407–420, 2014a.

DOBRASZCZYK, B.J.; MORGENSTERN, M.P. Rheology and the bread making process. **Journal of Cereal Science**, v. 38, p. 229–245, 2003.

DONKOR, O.N.; STOJANOVSKA, L.; GINN, P.; ASHTON, J.; VASILJEVIC, T. Germinated grains - Sources of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 135, p. 950–959, 2012.

EDWARDS, S.G.; DICKIN, E.T.; MACDONALD, S.; BUTTLER, D.; HAZEL, C.M.; PATEL, S.; SCUDAMORE, K.A. Distribution of Fusarium mycotoxins in UK wheat mill fractions. **Food Additives and Contaminants**, v. 28, p. 1694-1704, 2011.

EL-DASH, A. A. Standardized mixing and fermentation procedure for experimental baking test. **Cereal Chemistry**, v.55, p.436-446, 1978.

ESTELLER, M.S. **Modificações estruturais de produtos panificados por processos de tratamentos térmico e bioquímico**. Tese de doutorado apresentada ao programa de pós-graduação em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2007, 154.

ESTELLER, M.S. ZANCANARO, J.O.; PALMEIRA, C.N.S.; LANNES, S.C.S. The effect of kefir addition on microstructure parameters and physical properties of porous white bread. **European Food Research and Technology**, v. 222, p. 26-31, 2006.

ESTELLER, M.S.; JÚNIOR, O.Z.; LANNES, S.C.S. Bolo de chocolate produzido com pó de capuaçu e kefir. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, p. 447-454, 2006.

ESTELLER, M.S.; LANNES, S.C.S. Parâmetros complementares para fixação de identidade e qualidade de produtos panificados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 802-806, 2005.

ESTELLER, M.S.; LIMA, A.C.O.; LANNER, S.C.S. Color measurement in hamburger buns with fat and sugar replacers. **Lebensmittel-Untersuch Technology**, v. 39, p. 184-184, 2006.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations Disponível em: <http://www.fao.org/faostat>. Acesso em: 07 jan 2017.

FARONI, L.R.D.; BERBERT, P.A.; MARTINAZZO, A.P.; COELHO, E.M. Qualidade da farinha obtida de grãos de trigo fumigados com dióxido de carbono e fosfina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 6, p. 115-119, 2002.

FERREIRA, A.; BORGHETTI, F. **Germinação: do básico ao avançado**. Porto Alegre: Artmed, 2004., 332p.

FERREIRA, S.M.R; OLIVEIRA, P.V; PRETTO, D. Parâmetros de qualidade do pão francês. **Boletim CEPPA**, v.19, p.301-318, 2001. EL-DASH, A.; CABRAL, L.C.; GERMANI, R. **Tecnologia de farinhas mistas**. Empresa Brasileira de Pesquisa, Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos. – Brasília: EMBRAPA-SPI, 1994.

FINNIE, S.M.; JEANNOTTE, R.; FAUBION, J.M. Quantitative characterization of polar lipids from wheat whole meal, flour, and starch. **Cereal Chemistry**, v. 86, p. 637–645, 2009.

GOODING, M.J. The wheat crop In: KHAN, K.; SHEWRY, P.S. **Wheat: chemistry and technology**. ed. 4. St Paul, Minnesota (EUA): AACC, 2009, p. 19-49.

GREFFEUILLE, V.; ABECASSIS, J.; BAROUH, H.; VILLENEUVE, P.; MABILLE, F.; BAR LHELGOUAC, C.; LULLIEN-PELLERIN, V. Analysis of the milling reduction of bread wheat farina: physical and biochemical characterization. **Journal of Cereal Science**, v. 45, p. 97-105, 2007.

GUARIENTI, E.M.; CIACCO, C.F.; CUNHA, G.R.; DEL DUCA, L.J.A.; CAMARGO, C.M.O. Efeito da precipitação pluvial, da umidade relativa do ar e de excesso e déficit hídrico do solo no peso do hectolitro, no peso de mil grãos e no rendimento de grãos de trigo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p. 412-418, 2005.

GUTKOSKI, L.C.; DURIGON, A.; MAZZUTTI, S.; CEZARE, K. COLLA, L.M. Influência do tipo de farinha de trigo na elaboração de bolo tipo inglês. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 14, p. 275-282, 2011.

GUTKOSKI, L.C.; DURIGON, A.; MAZZUTTI, S.A.; SILVA, A.C.T.; ELIAS, M.C. Efeito do período de maturação de grãos nas propriedades físicas e reológicas de trigo. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, p. 888-894, 2008.

GUTKOSKI, L.C.; PAGNUSSATT, F.A.; SPIER, F.; PEDÓ, I. Efeito do teor de amido danificado na produção de biscoitos tipo semi-duros. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 119-124, 2007.

HADNADEV, M.; DAPCEVIC HADNADEV, T.; SIMURINA, O.; FILIPCEV, B. Empirical and fundamental rheological properties of wheat flour dough as affected by different climatic conditions. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 15, p. 1381–1391, 2013.

HAJNAL, E.J.; TOMIC, J.; TORBICA, A.; RAKITA, S.; POJIC, M.; ZIVANCEV, D.; HADNADEV, T.D. Content of free amino groups during postharvest wheat and flour maturation in relation to gluten quality. **Food Chemistry**, v. 164, p. 158–165, 2014.

HALLÉN, E.; IBANOGLU, Ş.; AINSWORTH, P. Effect of fermented/germinated cowpea flour addition on the rheological and baking properties of wheat flour. **Journal of Food Engineering**, v. 63, p. 177–184, 2004.

HARELAND, G.A. Effects of pearling on falling number and  $\alpha$ -amylase activity of preharvest sprouted spring wheat. **Cereal Chemistry**, v. 80, p. 232–237, 2003.

HAYAT, A.; JAHANGIR, T.M.; KHUHAWAR, M.Y.; ALAMGIR, M.; SIDDIQUI, A. J.; MUSHARRAF, S. G. Simultaneous HPLC determination of gamma amino butyric acid (GABA) and lysine in selected Pakistani rice varieties by pre-column derivatization with 2-Hydroxynaphthaldehyde. **Journal of Cereal Science**, v. 60, p. 356–360, 2014.

HAYAT, A.; MUHAMMAD, T.; YAR, M.; ALAMGIR, M.; HUSSAIN, Z.; UL, F.; GHULAM, S. HPLC determination of gamma amino butyric acid (GABA) and some biogenic amines (BAs) in controlled , germinated , and fermented brown rice by pre-column derivatization. **Journal of Cereal Science**, v. 64, p. 56–62, 2015.

HEFNI, M.; WITTHÖFT, C. M. Increasing the folate content in Egyptian baladi bread using germinated wheat flour. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, p. 706–712, 2011.

HEREBIAN, D.; ZÜHIKE, S.; LAMSHÖFT, M.; SPITELLER, M. Multi-mycotoxin analysis in complex biological matrices using LC-ESI/MS: Experimental study using triple stage quadrupole and LTQ-Orbitrap. **Journal of Separation Science**, v. 32, p. 939–948, 2009.

HOSENEY, R. C. **Principios de ciencia y tecnología de los cereales**. Zaragoza: Acribia, 1991. 321p.

HRUSKQVÁ, M.; SVEC, I.; SEKERQVÁ, H. Colour analysis and discrimination of laboratory prepared pasta by means of spectroscopic methods. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 29, p. 346–353, 2011.

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, p. 1896–1901, 2011.

ICHINOSE, Y.; TAKATA, K.; KUWABARA, T.; IRIKI, N.; ABIKO, T.; YAMAUCHI, H. Effects of increase in  $\alpha$ -amylase and endo-protease activities during germination on the breadmaking quality of wheat. **Food Science and Technology Research**, v. 7, p. 214–219, 2001.

JONES, B.L. Endoproteases of barley and malt. **Journal of Cereal Science**, v. 42, p. 139–156, 2005.

KALITA, D.; SARMA, B.; SRIVASTAVA, B. Influence of germination conditions on malting potential of low and normal amylose paddy and changes in enzymatic activity and physico chemical properties. **Food Chemistry**, v. 220, p. 67–75, 2017.

KERPES, R.; KNORR, V.; PROCOPIO, S.; KOEHLER, P.; BECKER, T. Gluten-specific peptidase activity of barley as affected by germination and its impact on gluten degradation. **Journal of Cereal Science**, v. 68, p. 93–99, 2016.

KIM, H.S.; HUBER, K.C. Channels within soft wheat starch A- and B-type granules. **Journal of Cereal Science**, v. 9, p. 1-14, 2007.

KOKSEL, H.; KAHRAMAN, K.; SANAL, T.; OZAY, D.S.; DUBAT, A. Potential utilization of mixolab for quality evaluation of bread wheat genotypes. **Cereal Chemistry**, v. 86, p. 522–526, 2009.

LAMBERTS, L.; JOYE, I.J.; BELIËN, T.; DELCOUR, J.A. Dynamics of  $\gamma$ -aminobutyric acid in wheat flour bread making. **Food Chemistry**, v. 130, p. 896–901, 2012.

LÉON, A. E. **De tales harinas, tales panes: granos, harinas y productos de panificación em Iberoamérica**. Córdoba: Hugo Báez, 2007, 473p.

LI, Q.; MAHENDRA, S.; LYON, D.L.; BRUNET, L.; LIGA, M.V.; LI, D.; ALVAREZ, D.J.J. Antimicrobial nanomaterials for water disinfection and microbiota control: Potential applications and implications. **Water Research**, v. 42, p. 4591-4602, 2008.

LORENZ, K. Cereal sprouts: composition, nutritive value, food applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 13, p. 353-385, 1980.

LUKOW, O.M.; BUSHUK, W. Influence of germination on wheat quality. 1. Functional breadmaking and biochemical properties. **Cereal Chemistry**, v. 61, p. 336-339, 1984.

MALAKSHAH, A.A.; DHUMAL, K.; PIRDASHTI, H.; SAPTARSHI, P. Screening of different wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes for pre-harvest sprouting resistance. **International Journal of Biosciences**, v. 5, p. 189-198, 2014.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8, de 02 de junho de 2005. **Regulamento técnico de identidade e qualidade da farinha de trigo**. Diário Oficial da República Federativa do

Brasil, Brasília – DF, 2005. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>. Acesso em: janeiro de 2017.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 23, de 01 de julho de 2016. **Altera a Instrução Normativa MAPA nº 38, de 30 de novembro de 2010, que estabelece o Regulamento Técnico do Trigo**. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília – DF, de 04.07.2016. Disponível em: <http://www.ioonline.com.br/Repository/ConsultaDoc?guid=I36CF8267601063FCE05330B5DE0A993B&produto=iof>. Acesso em: janeiro de 2017.

MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para Análise de Sementes**. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 395 p.

MARES, D.; MRVA, K. Late-maturity  $\alpha$ -amylase: low falling number in wheat in the absence of preharvest sprouting. **Journal of Cereal Science**, v. 47, p. 6-17, 2008.

MAYER, A.M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. Oxford: Pergamon Press, 1989. 270 p.

MCKIE, V.A.; MCCLEARY, B.V. A rapid, automated method for measuring  $\alpha$ -amylase in pre-harvest sprouted (sprout damaged) wheat. **Journal of Cereal Science**. v. 64, p. 70–75, 2015.

MIRANDA, M.Z. **Efeito do tempo de germinação do trigo e das variáveis de extrusão na qualidade tecnológica e nutricional de farinha integral**. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil, 1998, 216p.

MIRANDA, M.Z.; DE MORI, C.; LORINI, I. Qualidade comercial de trigo brasileiro: safra 2006. **Comunicado técnico da Embrapa Trigo**, 2009.

MORRIS, C.; MORRIS, G.A. The effect of inulin and fruto-oligosaccharide supplementation on the textural, rheological and sensory properties of bread and their role in weight management: A review. **Food Chemistry**, v. 133, p. 237–248, 2012.

NEWPORT SCIENTIFIC. Instruction manual for the series 4 rapid visco analyzer. Newport Scientific Pty. Ltd., 2001, Australia. p. 1-45. Disponível em: [http://www.perten.com/Global/Brochures/RVA/CustomerSupportPackage%20RVA\\_20120911\\_General.pdf](http://www.perten.com/Global/Brochures/RVA/CustomerSupportPackage%20RVA_20120911_General.pdf). Acesso em: janeiro de 2017.

NODA, T.; ICHINOSE, Y.; TAKIGAWA, S.; MATSUURA-ENDO, C.; ABE, H.; SAITO, K.; HASHIMOTO, N.; YAMAUCHI, H. The pasting properties of flour and starch in wheat grain damaged by  $\alpha$ -amylase. **Food Science and Technology Research**, v. 9, p. 387–391, 2003.

NODA, T.; TAKIGAWA, S.; MATSUURA-ENDO, C.; SAITO, K.; TAKATA, K. TABIKI, T.; WIKRAMASINGHE, H. A. M.; YAMAUCHI, H. The physicochemical properties of partially digested starch from sprouted wheat grain. **Carbohydrate Polymers**, v. 56, p. 271–277, 2004.

OHM, J.-B.; LEE, C.W.; CHO, K. Germinated Wheat: Phytochemical Composition and Mixing Characteristics. **Cereal Chemistry**, v. 93, p. 612–617, 2016.

OHM, J.B.; ROSS, A.S.; PETERSON, C.J.; ONG, Y.L. Relationships of high molecular weight glutenin subunit composition and molecular weight distribution of wheat flour protein with water absorption and color characteristics of noodle dough. **Cereal Chemistry**, v. 85, p. 123–131, 2008.

OLAERTS, H.; ROYE, C.; DERDE, L.J.A.; SINNAEVE, G.; MEZA, W.R.; BODSON, B.; COURTIN, C.M. Evolution and distribution of hydrolytic enzyme activities during preharvest sprouting of wheat (*Triticum aestivum*) in the field. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, p. 5644–5652, 2016a.

OLAERTS, H.; ROYE, C.; DERDE, L.J.A.; SINNAEVE, G.; MEZA, W.R.; BODSON, B.; COURTIN, C.M. Impact of preharvest sprouting of wheat (*Triticum aestivum*) in the field on starch, protein and arabinoxylan properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, p. 8324–8332, 2016b.

ORO, T. **Adaptação dos métodos de avaliação da qualidade tecnológica da farinha de trigo integral**. Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil, 195p., 2013.

PARAGINSKI, R. T., EVANGELHO, J. A., COLUSSI, R., SILVA, R. M., ZAVAREZE, E. R., OLIVEIRA, M., ELIAS, M. C., DIAS, A. R. G. Starch and flour from defective rice kernels and their physicochemical properties. **Starch/Stärke**, v. 60, p. 1-9, 2014.

PAREYT, B.; FINNIE, S.M.; PUTSEYS, J.A.; DELCOUR, J.A. Lipids in bread making: Sources, interactions, and impact on bread quality. **Journal of Cereal Science**, v. 54, p. 266–279, 2011.

PARKER, R.; RING, S.G. Aspects of the physical chemistry of starch. **Journal of Cereal Science**, v. 34, p. 1-17, 2001.

PÉREZ, S.; BERTOFT, E. The molecular structure of starch components and their contribution to the architecture of starch granule: a comprehensive review. **Starch/Stärke**, v. 62, p. 389-420, 2010.

POMERAZ, Y; WILLIAMS, P.C. Wheat hardness: its genetic, structural and biochemical background, measurement and significance. In: **Advances in cereal science and technology**, v. 10, p. 471-544, 1990.

POPINIGIS, F. **Fisiologia da semente**. Brasília: AGIPLAN, 1985, 289p.

POSNER, E.S. Wheat In: KULP, K; PONTE JR.; J.G. **Handbook of cereal science and technology**. ed. 2. New York: Marcel Dekker, 2000, p. 1-30.

QUAGLIA, G. **Ciencia y tecnologia de la panificación**. Zaragoza: Acribia, 1991, 485p.

RAKITA, S. M.; TORBICA, A.M.; DOKIC, L.P.; TOMIC, J.M.; POJIC, M.M.; HADNADEV, M.S.; HADNADEV, T.R.D. Alpha-amylase activity in wheat flour and breadmaking properties in relation to different climatic conditions. **Food and Feed Research**, v. 42, p. 91–99, 2015.

RANHOTRA, G.S.; LOEWE, R.J.; LEHMANN, T.A. Breadmaking quality and nutritive value of sprouted wheat. **Journal of Food Science**, v. 42, p. 1373-1375, 1977.

ROSELL, C.M.; COLLAR, C.; HAROS, M. Assessment of hydrocolloid effects on the thermo-mechanical properties of wheat using the Mixolab. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p.452–462, 2007.

SAMAN, P.; VÁZQUEZ, J. A.; PANDIELLA, S. S. Controlled germination to enhance the functional properties of rice. **Process Biochemistry**, v. 43, p. 1377-1382, 2008.

SASSAHARA, M.; YANAKA, E.K.; NETTO, D.P. Ocorrência de aflatoxina e zearalenona em alimentos destinados ao gado leiteiro na Região Norte do Estado do Paraná. Semina: **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 24, p. 63-72, 2003.

SCHMIDT, M.; HORSTMANN, S.; COLLI, L. DE; DANAHER, M.; SPEER, K.; ZANNINI, E.; ARENDT, E.K. Impact of fungal contamination of wheat on grain quality criteria. **Journal of Cereal Science**, v. 69, p. 95–103, 2016.

SCHMIELE, M.; FELISBERTO, M.H.F.; CLERICI, M.T.P.S.; CHANG, Y.K. Mixolab™ for rheological evaluation of wheat flour partially replaced by soy protein hydrolysate and fructooligosaccharides for bread production. **LWT - Food Science and Technology**, 1–11, 2016,. In Press:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2016.07.014>

SHAO, Y.; BAO, J. Polyphenols in whole rice grain: Genetic diversity and health benefits. **Food Chemistry**, v. 180, p. 86–97, 2015.

SHEWRY, P.R. Wheat: Darwin review. **Journal of Experimental Botany**, v. 60, p. 1537–1553, 2009.

SIMSEK, S.; OHM, J.-B.; LU, H.; RUGG, M.; BERZONSKY, W.; ALAMRI, M.; MERGOUM, M. Effect of pre-harvest sprouting on physicochemical properties of starch in wheat. **Foods**, v. 3, p. 194-207, 2014.

SINGH, H.; SINGH, N.; KAUR, L.; SAXENA, S.K. Effect of sprouting conditions on functional and dynamic rheological properties of wheat. **Journal of Food Engineering**, v. 47, p. 23-29, 2001.

SINGH, S.; SINGH, N.; MACRITCHIE, F. Relationship of polymeric proteins with pasting, gel dynamic and dough empirical-rheology in different Indian wheat varieties. **Food Hydrocolloid**, v. 25, p. 19–24, 2011.

SINGKHORNART, S.; EDOU-ONDO, S.; RYU, G.H. Influence of germination and extrusion with CO<sub>2</sub> injection on physicochemical properties of wheat extrudates. **Food Chemistry**, v. 143, p. 122–131, 2014.

SKRBIC, B.; ZIVANCEV, J.; DURISIC-MLADENOVIC, N.; GODULA, M. Principal mycotoxins in wheat flour from the Serbian market: Levels and assessment of the exposure by wheat-based products. **Food Control**, v. 25, p. 389–396, 2012.

STANCIU, O.; JUAN, C.; MIERE, D.; LOGHIN, F.; MAÑES, J. Occurrence and co-occurrence of Fusarium mycotoxins in wheat grains and wheat flour from Romania. **Food Control**, p. 1–9, 2016. In press:  
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.07.042>

STANCIU, O.; JUAN, C.; MIERE, D.; LOGHIN, F.; MAÑES, J. Occurrence and co-occurrence of Fusarium mycotoxins in wheat grains and wheat flour from Romania. **Food Control**, v. 73, p. 147-155, 2017.

SUR, R.; NAGI, H.P.S.; SHARMA, S.; SEKHON, K.S. Storage changes in the quality of sound and sprouted flour. **Plant foods for human nutrition**, v. 44, p. 35–44, 1993.

TESTER, R.F.; KARKALAS, J.; QI, X. Review: Starch composition fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, p. 151-165, 2004.

TORBICA, A.; DRASKOVIC, M.; TOMIC, J.; DODIG, D.; BOSKOVIC, J.; ZECEVIC, V. Utilization of Mixolab for assessment of durum wheat quality dependent on climatic factors. **Journal of Cereal Science**, v. 69, p. 344–350, 2016.

WALTER, M; SILVA, L.P.; EMANUELLI T. Amido resistente: características físico químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.35, p.974-980, 2005.

WILLIAMS, P.; EL-HARAMEIN, F.J.; NAKKOUL, H.; RIHAWI, S. In. **Crop quality evaluation methods and guidelines**. 2 ed. Aleppo, Syria: ICARDA, 145p, 1988.

XIA, Q.; WANG, L.; XU, C.; MEI, J.; LI, Y. Effects of germination and high hydrostatic pressure processing on mineral elements, amino acids and antioxidants in vitro bioaccessibility, as well as starch digestibility in brown rice (*Oryza sativa* L.). **Food Chemistry**, v. 214, p. 533–542, 2017.

XU, J.; BIETZ, J. A.; CARRIERE, C. J. Viscoelastic properties of wheat gliadin and glutenin suspensions. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1025–1030, 2007.

YIN, Y.-A.; QI, J.-C.; LI, W.-H.; CAO, L.-P.; WANG, Z.-B. Formation and Developmental Characteristics of A- and B-Type Starch Granules in Wheat Endosperm. **Journal of Integrative Agriculture**, v. 11 p. 73-81, 2012.

YOUN, Y.S.; PARK, J.K.; JANG, H.D.; RHEE, Y.W. Sequential hydration with anaerobic and heat treatment increases GABA (gamma-aminobutyric acid) content in wheat. **Food Chemistry**, v. 129, p. 1631–1635, 2011.

ZAVAREZE, E.R.; HALAL, S.L.M.; PEREIRA, J.M.; RADÜNZ, A.L., ELIAS, M.C.; DIAS, A.R.G. Caracterização química e rendimento de extração de amido

de arroz com diferentes teores de amilose. **Brazilian Journal of Food Technology**, 2, 24–30, 2009.

ZAVAREZE, E.R; DIAS, A.R.G. Propriedades físico-químicas, funcionais e aplicações de amido de arroz. **Qualidade de arroz da pós-colheita ao consumo**. Pelotas: Editora UFPel, cap. 10, p. 161-171, 2012.

ZILIC, S.; BARAC, M.; PESIC, M.; DODIG, D.; IGNJATOVIC-MICIC, D. Characterization of proteins from grain of different bread and durum wheat genotypes. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, p. 5878–5894, 2011.

## **Anexos**

## Anexo A – Avaliação das características tecnológicas dos pães

### Pontuação para as características tecnológicas dos pães (EL-DASH, 1987)

Nome: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Amostra: \_\_\_\_\_

<b>Características externas</b>	<b>Valor máximo</b>	<b>Nota</b>
Volume (volume específico x 3,33)	20	--
Cor da crosta (fatores indesejáveis: não uniforme, opaca, muito clara, muito escura)	10	
Quebra (fatores indesejáveis: muito pequena, áspera, lados desiguais)	05	
Simetria (fatores indesejáveis: laterais, pontas e parte superior desiguais)	05	
<b>SUBTOTAL</b>	<b>40</b>	
<b>Características internas</b>		
<b>Características internas</b>	<b>Valor máximo</b>	<b>Nota</b>
Características da crosta (fatores indesejáveis: crosta "borrachenta", quebradiça, dura, muito grossa, muito fina)	05	
Cor do miolo (características indesejáveis: miolo cinza, opaco, desigual, escuro)	10	
Textura do miolo (fatores indesejáveis: falta de uniformidade, áspero, compacto, seco)	10	
Estrutura da célula do miolo (fatores indesejáveis: falta de uniformidade, alvéolos muito abertos ou compacto)	10	
<b>SUBTOTAL</b>	<b>35</b>	
<b>Aroma e gosto</b>		
<b>Aroma e gosto</b>	<b>Valor máximo</b>	<b>Nota</b>
Aroma (fatores indesejáveis: falta de aroma, aroma desagradável, não característico, muito fraco ou forte)	10	
Gosto (fatores indesejáveis: ácido, não característico, sabor de goma ou massa, gosto residual)	15	
<b>SUBTOTAL</b>	<b>25</b>	
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	