



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

PAULO DE TARSO CARVALHO

**TRIGO COM GERMINAÇÃO PRÉ-COLHEITA NA
PRODUÇÃO DE MALTE**

Londrina
2015

PAULO DE TARSO CARVALHO

**TRIGO COM GERMINAÇÃO PRÉ-COLHEITA NA
PRODUÇÃO DE MALTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

Orientadora: Profa Dra. Adelaide Del Pino
Beléia, PhD.

Londrina
2015

Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C331t Carvalho, Paulo de Tarso.

Trigo com germinação pré-colheita na produção de malte / Paulo de Tarso
Carvalho. – Londrina, 2015.
129 f. : il.

Orientador: Adelaide Del Pino Beléia.

Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual
de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em
Ciência de Alimentos, 2015.

Inclui bibliografia.

1. Malte – Qualidade – Teses. 2. *Triticum aestivum* – Teses. 3. Trigo –
Cultivo – Teses. 4. Sementes – Viabilidade – Teses. 5. Perdas durante a
colheita – Teses. 6. Trigo – Análise enzimática – Teses. I. Beléia,

PAULO DE TARSO CARVALHO

**TRIGO COM GERMINAÇÃO PRÉ-COLHEITA NA PRODUÇÃO DE
MALTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Universidade Estadual de Londrina, como requisito à obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Profa. Dra. Adelaide Del Pino
Beléia, PhD.
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Profa. Dra. Maria Aparecida Caneppele.
Universidade Federal do Mato Grosso - UFMT

Profa. Dra. Maria Brígida Scholz
Instituto Agrônômico do Paraná - IAPAR

Profa. Dra. Maria Victoria Grossmann
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Profa. Dra. Lúcia Sadayo Assari Takahashi
Universidade Estadual de Londrina - UEL

Londrina, 11 de agosto de 2015.

Dedico este trabalho a meus filhos,
Amanda e Bernardo, que amo
infinitamente.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que é o princípio de tudo e que tenho certeza, me deu forças e coragem para vencer cada uma das etapas até aqui vividas.

Agradeço a minha orientadora, Professora Dr^a. Adelaide Del Pino Beléia, PhD., pela sua pronta disponibilidade em dividir comigo seu conhecimento, sua experiência e sabedoria.

Agradeço a meus pais, Silvio (*in memoriam*) e Vanda, que foram sempre um exemplo para mim e tantos valores me transmitiram.

Agradeço a minha esposa, Deisi, pelo apoio demonstrado em cada dia.

Agradeço a meus filhos, que com sua alegria e pureza, me ensinam a cada dia, um pouco mais.

Agradeço aos professores do Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, por todas as contribuições.

Agradeço a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, campus Londrina, pelo apoio e licença concedida.

Agradeço a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa concedida.

Agradeço ao professor Dr. Waldemar Gastoni Venturini Filho (UNESP/BOTUCATU), à professora Dr^a. Lúcia Sadayo Assari Takahashi (CCA/UEL) e à pesquisadora Dr^a. Maria Brígida dos Santos Scholz (IAPAR/LONDRINA) que sempre estiveram dispostos a colaborar no que fosse necessário.

Aos meus colegas de pós-graduação que no dia-a-dia difícil de um laboratório de pesquisa, fizeram daquele ambiente um lugar melhor, mais humano e mais prazeroso.

A todos os servidores da UEL que, ao exercerem suas funções com responsabilidade e dignidade, também contribuíram para a produção de novos conhecimentos.

As empresas COOPERATIVA BATAVO, BUNGE, CAMISC, COAMO, COOPERATIVA TRADIÇÃO, COTRIJUC, COTRISA, COTRIJUÍ, COOPERATIVA AGRÁRIA, MOINHO TRADIÇÃO que forneceram as amostras de trigo e não pouparam esforços para ajudar.

...se o grão de trigo não cair na terra e não morrer, permanecerá ele só; mas se morrer produzirá muito fruto. (Jo, 12,24) .

CARVALHO, Paulo de Tarso. **Trigo com germinação pré-colheita na produção de malte**. 2015. 129f. Tese de Doutorado (Pós-Graduação em Ciência de Alimentos) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

RESUMO

A germinação pré-colheita é um dos principais problemas da triticultura mundial. Na germinação pré-colheita ocorrem transformações bioquímicas próprias da germinação que também ocorrem na maltagem, porém sem controle e com intensidade variável. O objetivo do presente estudo foi avaliar o uso de trigo com germinação pré-colheita na produção de malte. Treze amostras de trigo com germinação pré-colheita obtidas de diferentes regiões do Paraná e Rio Grande do Sul foram analisadas a fim de avaliar a intensidade das mudanças nas propriedades físicas, composição química e atividade enzimática, em função da intensidade do dano causado pela chuva. Foram avaliados *falling number* (FN), peso hectolitro, peso de mil sementes, nitrogênio total, nitrogênio solúvel (NS), nitrogênio de aminoácidos livres (NAL), cinzas, açúcares redutores, atividade enzimática e alterações na fração de gliadina. A segunda etapa teve como objetivo otimizar a maltagem de uma amostra de trigo com germinação pré-colheita, utilizando metodologia de superfície de resposta e avaliando o efeito da temperatura de embebição e germinação, umidade inicial de germinação e tempo de germinação. Os maltes foram avaliados quanto as perdas de maltagem, extrato, atenuação limite, viscosidade, atividade de α e β -amilase, nitrogênio total, NS e NAL. Na terceira etapa foi avaliada a qualidade do malte de amostras de trigo com diferentes intensidades de germinação pré-colheita, quanto às perdas de maltagem, extrato, atenuação limite, viscosidade, atividade de α e β -amilase, nitrogênio total, NS e NAL. Nas amostras de trigo com germinação pré-colheita, as variáveis açúcares redutores, NS, NAL, atividade de α -amilase, β -glucanase e protease apresentaram correlações significativas com FN. À medida que houve redução do *falling number*, as gliadinas apresentaram alterações nas bandas entre 40 e 30 KDa que ficaram mais intensas. No estudo de otimização da maltagem, a temperatura de embebição e germinação foi o fator que influenciou um maior número de parâmetros de qualidade do malte, seguido por tempo de germinação e umidade inicial de germinação. A metodologia de superfície de resposta possibilitou otimizar a maltagem do trigo, e as melhores condições definidas pela ferramenta de desejabilidade foram 45% de umidade inicial, embebição e germinação a 12,5°C e germinação por 78 horas. A maltagem de amostras com diferentes intensidades de germinação pré-colheita nas condições anteriormente citadas, produziram maltes que atenderam aos parâmetros de viscosidade, extrato, níveis de perdas, nitrogênio de aminoácidos livres, nitrogênio solúvel e índice de Kolbach. A amostra com *falling number* acima de 200 s apresentou nitrogênio solúvel inferior; mas atividade de α e β -amilase e extrato, superiores às amostras com germinação pré-colheita. O conjunto de resultados obtidos indica a viabilidade técnica de produção de maltes de trigos com germinação pré-colheita.

Palavras-chave: *Triticum aestivum*. Maltagem. Atividade enzimática. *Falling number*. Dano por chuva.

CARVALHO, Paulo de Tarso. **Preharvest sprouting in wheat and malt production**. 2015. 129p. Thesis (Doctor Degree in Food Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2015.

ABSTRACT

The preharvest sprouting damage (PHSD) is one of the main problems in world wheat crop. During the preharvest sprouting typical germination biochemical process occurs, which also happens in malting, but without control and with variable intensity. The aim of this study was to evaluate the use of preharvest sprouted wheat in malt production. Thirteen samples of preharvest sprouted wheat were collected in Parana and Rio Grande do Sul states and were analyzed to assess the changes in physical properties, chemical composition and enzyme activity, due to rain damage. Falling number (FN), hectoliter weight, thousand seed weight, total nitrogen, soluble nitrogen (SN), free amino acid nitrogen (FAN), ash, reducing sugars, enzyme activity and changes in the gliadin fraction were investigated. In the second study response surface methodology was used to optimize the malting of preharvest sprouted wheat. The influence of three malting parameters (degree of steeping, germination time and temperature) on the quality of wheat malt was investigated. Malt quality was evaluated as malting losses, extract, attenuation limit, viscosity, α and β -amylase activity, total nitrogen, Kolbach index, SN and FAN. In the third study, the quality of preharvest sprouted wheat malt containing various levels of PHSD was investigated about malting losses, extract, attenuation limit, viscosity, α and β -amylase activity, total nitrogen, Kolbach index, SN and FAN. In samples of preharvest sprouted wheat, reducing sugars, SN, FAN, α and β -amylase activity, and protease activity showed significant correlations with FN. In samples with lower falling number values, the gliadins displayed changes to the 40 and 30 kDa bands, which become more intense. In the malting optimization study, temperature of malting was the factor that influenced a greater number of malt quality parameters, followed by germination time and degree of steeping. The response surface methodology enabled to optimize the malting of the wheat, and the best conditions defined by the desirability tool were degree of steeping 45%, temperature 12.5°C and germination time 78 hours. Wheat malt samples containing various levels of PHSD reached the desirable parameters: viscosity, extract, malting losses, free amino nitrogen, soluble nitrogen and Kolbach index. The sample with falling number greater than 200 s showed lower soluble nitrogen concentration; but higher α and β -amylase activity and extract than the samples of preharvest sprouted wheat with lower values of falling number. The set of results indicates that it is possible to produce malt, using pre-harvest sprouting wheat.

Keywords: *Triticum aestivum*. Malting. Enzymatic activity. Falling number. Rain damage

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO II

- Figura 1 - Gel de eletroforese SDS-PAGE de gliadinas de amostras de trigo (*Triticum aestivum*) de diferentes variedades e localidades que sofreram germinação pré-colheita.....69

CAPÍTULO III

- Figura 1 – Procedimento da análise de extrato (método 4.5.1 da EBC)79
- Figura 2 – Efeito do tempo e da umidade sobre as perdas em trigo com germinação pré-colheita maltado82
- Figura 3 – Efeito da umidade e da temperatura sobre a atividade de α -amilase em malte de trigo com germinação pré-colheita85
- Figura 4 - Efeito do tempo e da umidade sobre extrato de malte de trigo com germinação pré-colheita87
- Figura 5 - Efeito da umidade e da temperatura sobre a atenuação limite de malte de trigo com germinação pré-colheita89
- Figura 6 - Efeito da umidade e da temperatura sobre a concentração de nitrogênio de aminoácidos livres de malte de trigo com germinação pré-colheita.....93
- Figura 7 - Efeito da umidade inicial de germinação e temperatura de embebição e germinação sobre o índice de Kolbach de malte de trigo com germinação pré-colheita95

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1 - Exigências para padrão de cevada cervejeira tipo único.39

CAPÍTULO II

- Tabela 1 - Valores de *falling number* (FN), peso hectolitro (PH), peso de mil sementes (PMS), proteína para amostras de trigo (*Triticum aestivum*) de diferentes variedades e localidades que sofreram germinação pré-colheita.....62
- Tabela 2 - Valores de nitrogênio total, nitrogênio solúvel, nitrogênio de aminoácidos livres e açúcares redutores de amostras de trigo

	(<i>Triticum aestivum</i>) de diferentes variedades e localidades que sofreram germinação pré-colheita.....	64
Tabela 3 -	Atividade enzimática de α -amilase, β -amilase, β -glucanase e protease para amostras de trigo (<i>Triticum aestivum</i>) de diferentes variedades e localidades que sofreram germinação pré-colheita	66
Tabela 4 -	Coeficiente de correlação de Pearson entre as variáveis(1) estudadas em variedades de trigos que sofreram germinação pré-colheita (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$)	67

CAPÍTULO III

Tabela 1 -	Códigos e valores dos parâmetros temperatura de embebição e germinação, tempo de germinação e umidade inicial de germinação utilizados em otimização de maltes de trigo com germinação pré-colheita.....	78
Tabela 2 -	Valores de <i>falling number</i> , peso hectolitro, proteína total, N solúvel, nitrogênio de aminoácidos livres, atividade de α -amilase e β -amilase e poder germinativo da amostra de trigo (variedade CD-150) antes da maltagem	81
Tabela 3 -	Modelos obtidos para as variáveis resposta em função dos parâmetros temperatura de embebição e germinação, tempo de germinação e umidade inicial de germinação	83
Tabela 4 -	Valores previstos (conforme desejabilidade) e valores mensurados (máximo e mínimo) de otimização de trigo com germinação pré-colheita.....	96

CAPÍTULO IV

Tabela 1 -	<i>Falling number</i> , poder germinativo (PG) inicial e após 6 meses (PG6), proteína, nitrogênio solúvel, nitrogênio de aminoácidos livres, atividade de α -amilase e de β -amilase em amostras de trigo	109
Tabela 2 -	Proteína total, nitrogênio de aminoácidos livres (NAL) e solúvel, índice de Kolbach, atividade de α -amilase e de β -amilase em	

	amostras de malte de trigos com diferentes intensidades de germinação pré-colheita.....	112
Tabela 3 -	Extrato, atenuação limite, viscosidade e perdas de amostras de malte de trigos com diferentes níveis de germinação pré-colheita.....	116

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AACC	American Association of Cereal Chemists
ANOVA	Analysis of variance
AR	Açúcares redutores
BNPG7	Blocked p-nitrophenyl maltoheptaoside
CONAB	Companhia Brasileira de Abastecimento
EBC	European Brewery Convention
FAO	Food and Agriculture Organization
FN	Falling number
ICC	International Association of Cereal Chemistry
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
NAL	Nitrogênio de aminoácidos livres
NS	Nitrogênio solúvel
PG	Poder germinativo
PH	Peso hectolitro
PMS	Peso de mil sementes
PNP ρ -g3	p-nitrophenyl- β -Dmaltotrioside
RAS	Regra de Análise de Sementes
TEMED	N, N, N',N'-Tetrametiletilenodiamina
TCA	ácido tricloroacético
TRIS	Trisaminometano
UB	Unidade betamyl
UC	Unidade ceralpha
SDS PAGE	dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis

SUMÁRIO

CAPÍTULO I	15
INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1 ASPECTOS HISTÓRICOS	17
3.2 ORIGEM	17
3.3 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	18
3.4 ASPECTOS BOTÂNICOS	19
3.5 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E VALOR NUTRICIONAL	21
3.6 PRÉ-GERMINAÇÃO EM TRIGO	24
3.6.1 Germinação	24
3.6.2 Germinação pré-colheita	25
3.6.3 Trigo pré-germinado e ciência de alimentos	29
3.6.4 Trigo pré-germinado e tecnologia de alimentos	32
3.7 MALTAGEM	35
CAPÍTULO II	57
ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE TRIGO COM GERMINAÇÃO PRÉ-COLHEITA	57
1 INTRODUÇÃO	58
2 MATERIAL E MÉTODOS	59
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	61
4 CONCLUSÕES	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70

CAPÍTULO III	74
OTIMIZAÇÃO DA MALTAGEM DE TRIGO COM GERMINAÇÃO PRÉ-COLHEITA	74
1 INTRODUÇÃO	75
2 MATERIAL E MÉTODOS	77
2.1 MATERIAL	77
2.2 MÉTODOS	77
2.2.1 Planejamento experimental	77
2.2.2 Maltagem	78
2.2.3 Determinações analíticas	79
2.2.4 Análise estatística	81
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	81
3.1 PERDAS NA MALTAGEM	81
3.2 ATIVIDADE DE ALFA-AMILASE	84
3.3 ATIVIDADE DE BETA-AMILASE	86
3.4 EXTRATO	87
3.5 ATENUAÇÃO LIMITE	88
3.6 VISCOSIDADE	90
3.7 PROTEÍNA TOTAL	91
3.8 NITROGÊNIO SOLÚVEL	92
3.9 NITROGÊNIO DE AMINOÁCIDOS LIVRES	92
3.10 ÍNDICE DE KOLBACH	94
3.11 MODELOS	95
4 CONCLUSÕES	97
CAPÍTULO IV	104
MALTE DE TRIGO COM GERMINAÇÃO PRÉ-COLHEITA	104
1 INTRODUÇÃO	104

2	MATERIAL E MÉTODOS	106
2.1	MATERIAL.....	106
2.2	MÉTODOS.....	106
2.2.1	Maltagem.....	107
2.2.2	Determinações analíticas.....	107
2.2.3	Análise estatística.....	109
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	109
3.1	CARACTERÍSTICAS DAS AMOSTRAS DE TRIGO.....	109
3.2	PROTEÍNA TOTAL, NITROGÊNIO SOLÚVEL E NITROGÊNIO DE AMINOÁCIDOS LIVRES.....	111
3.3	ATIVIDADE DE ALFA E BETA-AMILASE.....	113
3.4	EXTRATO.....	116
3.5	ATENUAÇÃO LIMITE.....	117
3.6	VISCOSIDADE.....	118
3.7	PERDAS DA MALTAGEM.....	119
4	CONCLUSÕES	121
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	122
	CONCLUSÕES GERAIS	127
	APÊNDICE	128
	APÊNDICE A - Etapas da maltagem em laboratório de amostras de trigo com germinação pré-colheita: a) aplicação de ácido giberélico; b) germinação; c) trigo germinado com 24 horas; d) trigo germinado com 144 horas; e) secagem; f) retirada de acróspiros e radículas.....	129

CAPÍTULO I

INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 INTRODUÇÃO

O trigo faz parte da história da humanidade desde o início da domesticação das plantas e dos animais. Esse cereal foi com o tempo sendo introduzido no cotidiano de diferentes populações até alcançar reconhecimento mundial. Dentre os seus principais derivados, o pão se tornou símbolo de fartura, de alimento e até do sagrado.

Atualmente, o trigo faz parte de importante segmento dentro do agronegócio, estabelecendo-se como um dos grãos mais produzidos ao redor do mundo. É objeto de diferentes pesquisas buscando aprimorar técnicas agrícolas, adaptação a diferentes condições edafo-climáticas, resistência a doenças, controle de pragas. Recentemente no Brasil, a pesquisa procura dar maior importância às suas propriedades tecnológicas, numa demonstração clara de se produzir grãos adequados ao processamento industrial.

A germinação pré-colheita do trigo constitui-se hoje em um dos importantes problemas a serem superados dentro da triticultura nacional e internacional. Muito já se elucidou sobre as bases genéticas e bioquímicas relacionadas a esse problema e estudos são desenvolvidos com o objetivo de desenvolver variedades que apresentem maior resistência à germinação pré-colheita e também de encontrar aplicações alternativas ao uso desse tipo de grão, que tem como destino a produção de ração animal.

Esta tese investigou a aplicação de grãos de trigo com germinação pré-colheita na produção de malte. Na revisão bibliográfica é apresentada a origem, características botânicas, aspectos históricos, importância nutricional, composição e importância econômica do trigo. Também se descreve a germinação pré-colheita, suas causas, alterações que ela promove no grão, limites e alternativas de uso no setor de alimentos, com destaque para o setor de bebidas. O trabalho é composto ainda por outros três capítulos que apresentam os ensaios realizados durante a pesquisa.

2 OBJETIVOS

Avaliar a viabilidade técnica de emprego do trigo com germinação pré-colheita na produção de malte.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Caracterizar as propriedades físicas, químicas e tecnológicas de grãos de trigos com germinação pré-colheita em diferentes intensidades.

Avaliar a influência de diferentes parâmetros na maltagem de trigo com germinação pré-colheita.

Avaliar a qualidade de maltes produzidos com amostras de trigo com diferentes intensidades de germinação pré-colheita.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ASPECTOS HISTÓRICOS

O trigo é sem dúvida alguma, uma das mais antigas culturas agrícolas do mundo, tendo seus primeiros cultivos a cerca de 8.000 a 10.000 anos a.C. (DENDY; DOBRASZCYK, 2001; WRIGLEY, 2009). Desde então, o trigo se espalhou pelo mundo graças a seu valor nutricional bem como a facilidade em ser cultivado, colhido, estocado, transportado e processado (POSNER, 2000). Na Roma Antiga, conhecida como “Império do trigo”, o grão era utilizado na fabricação de pão e se tornou tão importante economicamente que o governo promoveu a regulação de seu abastecimento e das normas de qualidade (DENDY; DOBRASZCYK, 2001; WRIGLEY, 2009). Na Europa, o trigo predominou entre os cultivos de cereais, dominando o comércio doméstico e internacional. O domínio do cultivo do trigo por uma nação era considerado sinal do alto nível de civilização (WRIGLEY, 2009).

Durante a Idade Média, na Europa, o trigo se destacava junto com a cevada, leguminosas e o centeio. No período das Grandes Navegações, o grão alcançou outros continentes, dentre eles a América, tornando-se uma cultura mundialmente conhecida, um dos alimentos mais consumidos no mundo e símbolo da fartura (DENDY; DOBRASZCYK, 2001).

3.2 ORIGEM

Perduram na atualidade dúvidas quanto à exata origem do trigo. As espécies *Triticum monococcum*, *Aegilops speltoides* e *Triticum tauschii* e outras variedades selvagens do gênero *Aegilops* (todas diplóides com sete pares de cromossomos) provavelmente estão relacionadas com a origem do trigo moderno. As hibridizações devem ter ocorrido no Oriente Médio, em regiões banhadas pelo rio Nilo, Tigre e Eufrates. Pesquisas botânicas descobriram que o *Triticum turgidum* spp *diocoides* (erme) se desenvolveu em diferentes regiões e altitudes resultando em rico material genético. Ao longo do tempo, as hibridizações geraram diferentes materiais com distintas características, e que foram selecionadas pelo homem. O trigo moderno hexaplóide deve ter surgido em torno de 9.000 a.C. na região do atual

Irã e Turquia, fruto da hibridização de espécies tetraploides e de *T. tauschii* (WRIGLEY, 2009).

3.3 IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

No mundo o trigo é predominantemente utilizado na alimentação humana. São diversos os produtos que podem ser obtidos a partir dele, sendo os mais comuns os pães, massas, bolos e biscoitos. Para cada tipo de produto, há diferentes exigências quanto as características química, físicas e tecnológicas da matéria-prima e suas farinhas (CANZIANI; GUIMARÃES, 2009).

A cultura ocupa o terceiro lugar na produção mundial, perdendo apenas para o milho e o arroz (FAOSTAT, 2015). No mundo são cultivados trigos de primavera e de inverno, sendo que este último apresenta ciclo maior (cerca de 9 meses), pois é plantado no outono e permanece sob a neve antes de germinar (CANZIANI; GUIMARÃES, 2009). Essas possibilidades de plantio permitem o fornecimento do grão ao longo de todo o ano. Os quatro maiores produtores mundiais do grão são: China, Índia, Estados Unidos e Rússia (FAOSTAT, 2015).

O Brasil apesar de ter no agronegócio uma posição mundial de destaque não se situa nem entre os 20 maiores produtores de trigo do mundo. A produção em 2013 foi de 5.738.473 toneladas e no mundo (dados oficiais, não oficiais e estimativas) foi de 751 milhões de toneladas, ficando o Brasil como responsável por menos de 1% da produção (FAOSTAT, 2015). Dados sobre o comércio internacional do trigo, destacam o Brasil entre os maiores importadores mundiais junto com o Egito (CANZIANI; GUIMARÃES, 2009). Apesar do país não ser autossuficiente e nem se destacar como produtor mundial, o trigo é o 4º grão em volume de produção, perdendo para a soja, milho e arroz (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2015). Observa-se também que a produção agrícola nacional tem evoluído em produtividade e qualidade, sendo que em 1973, a produtividade era de 750 kg/ha e atualmente já atingiu 2000 kg/ha. Na União Européia, que tem a maior média mundial de produtividade, os valores oscilam entre 4500 e 5500 kg/ha (MEZIAT; VIEIRA, 2009). Os estados do Rio Grande do Sul e Paraná concentram mais de 80% da produção nacional. No Paraná as principais regiões produtoras são o norte e o oeste do estado (MEZIAT; VIEIRA, 2009).

Aspectos culturais e de regulamentação da cadeia do trigo influenciaram para que o consumo brasileiro seja considerado modesto (BRUM; MULLER, 2008; CAFÉ et al., 2003). Apesar disso, o país tem uma demanda anual de 10 milhões de toneladas, para uma produção nacional que varia entre 5 e 6 milhões de toneladas (BRASIL, 2010b), gerando, portanto, déficits na balança comercial que em 2011 foi de mais de 700 mil toneladas de farinha e de mais de 4 milhões de toneladas (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO, 2011). No Brasil, do total de farinha consumida, 55% é utilizada na panificação, 17% na fabricação de macarrão, 13% na fabricação de biscoitos, 11% para uso doméstico e 4% para outros segmentos (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE TRIGO, 2012). Os dados de Rossi e Neves (2004) apresentam algumas variações: 15% é utilizado na produção de macarrões, 20% para farinhas domésticas e misturas para bolos, 47% na produção de farinhas e pré-misturas para panificação; 5% para misturas especiais também para panificação; 11% no preparo de biscoitos e 2% na produção de rações.

3.4 ASPECTOS BOTÂNICOS

Dentre as espécies de trigo cultivadas ao redor do mundo, as duas principais são *Triticum aestivum* (hexaplóide) que envolve as variedades específicas para produção de pão, com destaque para a *Triticum aestivum* ssp *vulgare* e o *Triticum turgidum* (tetraploide) que inclui o trigo *durum*. O *T. aestivum* contempla os tipos brandos e duros tanto de inverno como de primavera. Outras espécies ainda são cultivadas em regiões muito restritas, o *T. monococcum* (diplóide), o *T. timopheevi* (tetraploide), variedades da espécie *T. compactum*, dentre outras (GOODING, 2009; POSNER, 2000).

A planta de trigo pertence à família das gramíneas (*Poaceae* ou *Gramineae*), divisão *Angiospermae* e classe *Monocotyledoneae*. Pode apresentar 7, 14 ou 21 cromossomos, sendo que este fato a diferencia quanto à morfologia, resistência a doenças, rendimento, comportamento durante a moagem e qualidade dos produtos derivados (DENDY; DOBRASZCYK, 2001).

Seu sistema radicular é ramificado com um conjunto de raízes primárias e raízes adventícias. Seu colmo é cilíndrico e normalmente oco. A partir das gemas axilares dos nós basais se desenvolvem os perfilhos, dando origem a ramificações.

As folhas têm bainhas que rodeiam o colmo (OSÓRIO, 1992). Suas sementes são cariopses onde as sementes estão fortemente aderidas e envolvidas pelo pericarpo. Esses frutos (grãos) crescem em espigas que apresentam um eixo central, composta por eixos secundários dispostas em duas fileiras alternadas. Para cada um desses eixos secundários temos espiguetas, que são constituídas por nove flores, onde podem se formar até mais de quatro grãos. As flores são protegidas por glumas e acima delas ficam as lemas que são brácteas que podem ou não apresentar em seu prolongamento as aristas. Em frente ao lema fica a pálea que é uma bráctea com bordas transparentes e que envolve os estames, o estigma e as lodículas (ABECASSIS; SHEWRY, 2009; FONTANELI et al., 2009; OSÓRIO, 1992).

O grão do trigo é a estrutura vegetal de interesse da cultura. Ele possui formato ovalado em maior ou menor grau, com um vinco disposto longitudinalmente que se estende por todo o grão em sua parte central. Em uma das extremidades apresenta pelos que podem ser mais ou menos curtos e que são extensões das células epidérmicas. Tais variações na morfologia do grão são decorrentes das diferenças de variedades, assim como as variações no tamanho e na cor (ABECASSIS; SHEWRY, 2009; EVERS; BECHTEL, 1988). Através de um corte longitudinal da semente pode ser visualizada as três partes básicas que a compõe: o germe formado pelo embrião e pelo escutelo, o endosperma que compõe a maior fração; e as diversas camadas que recobre o grão formado por material fibroso e industrialmente conhecido por farelo (ABECASSIS; SHEWRY, 2009; DENDY; DOBRASZCYK, 2001; EVERS; BECHTEL, 1988).

O germe fica localizado na parte dorsal do grão e é composto pelo escutelo e pelo embrião, que juntos representam cerca de 2,7% da semente. O embrião é formado pelo epicótilo, mesocótilo e radícula. O escutelo é um órgão de reserva, contendo quando maduro, proteína, fitina e lipídios. Separando o escutelo do endosperma há uma camada de células fibrosas, enquanto que o embrião é anatomicamente separado do endosperma e isso faz com que não seja necessária a quebra de paredes celulares para separar o germe do endosperma durante o processo de moagem (ABECASSIS; SHEWRY, 2009; EVERS; BECHTEL, 1988).

O endosperma compõe a maior fração do grão e sua parte mais periférica é o aleurona, uma fina camada celular. O aleurona faz parte do endosperma embora apresente composição amilácea diferente dele e componha o farelo durante a moagem. Suas células ao redor do endosperma amiláceo apresentam paredes

celulares grossas e sem espaços intercelulares e podem ser observadas gotículas de lipídios como material de reserva (EVERS; BECHTEL, 1988). O restante do endosperma apresenta células que diferem quanto ao tamanho, formato e localização. Essas células apresentam paredes celulares finas quando comparadas ao conteúdo celular, com as células mais periféricas sendo maiores que as que se localizam nas regiões mais internas do grão (ABECASSIS; SHEWRY, 2009; EVERS; BECHTEL, 1988).

3.5 COMPOSIÇÃO QUÍMICA E VALOR NUTRICIONAL

O grão do trigo pode ser dividido em três frações: germe, farelo e endosperma e existem vários métodos que permitem a separação delas, até mesmo em frações mais detalhadas, demonstrando haver variações quanto a sua composição. O endosperma representa de 81 a 85% do grão; o germe (embrião) de 2,5 a 3,6% e o farelo de 14 a 15% (ABECASSIS; SHEWRY, 2009; POSNER, 2000). O grão inteiro é composto por cerca de 13% de umidade, 70 a 77% de carboidratos, 8 a 19% de proteína; 0,8 a 3% de lipídios, e 1 a 3% de cinzas. Seu teor proteico é o maior dentre os cereais, entretanto tem a lisina como aminoácido limitante (ORTH; SHELLENBERGER, 1988; PIRES et al., 2006). Em ensaio biológico com ratos para avaliar diferentes fontes proteicas animais e vegetais, Pires et al. (2006) constatou que a farinha de trigo apresentava para a amostra analisada a maior digestibilidade verdadeira (89,44%) entre as fontes vegetais, mas o menor coeficiente de eficácia proteica (0,98) e uma das menores razões proteicas líquidas (2,38). Quanto ao teor de lipídios, os valores são considerados baixos (2g/100g) em comparação com outros grãos (ORTH; SHELLENBERGER, 1988). Diversos fatores podem interferir na composição como ano de cultivo, condições climáticas, variedade, adubações, local de cultivo, havendo maior diferença de composição entre variedades diferentes plantadas no mesmo local do que diferença de uma mesma variedade plantada em locais diferentes (SHEWRY et al., 2012).

Considerando a composição das diferentes frações dos grãos, observa-se que no endosperma predominam os carboidratos e proteínas; no farelo carboidratos estruturais e cinzas; e no germe proteínas. O aleurona é rico em proteínas, cinzas, gordura, fitatos, fósforo e niacina (SHEWRY et al., 2012).

No endosperma, a composição apresenta variações, com redução gradual da concentração de proteínas e cinzas nas partes mais internas do grão. Nas células abaixo do aleurona se encontram os maiores níveis de proteína (33 a 54% de proteínas) e que apresentam diferença quanto à composição da fração. As proteínas funcionais do trigo se concentram nas regiões mais internas do grão do que nas células próximas ao aleurona. Esse gradiente de redução da concentração de proteína no grão do trigo pode também ser constatado avaliando visualmente o aspecto vítreo dos grãos, que se reduz no sentido do interior do grão. Nas células maduras a proteína se apresenta como uma matriz contínua que é afetada pelo grau de abertura dessa matriz, e que interfere na textura do grão. Os endospermas macios apresentam espaços dentro da matriz ocupados por ar, além da perda na associação entre o amido e a proteína (ABECASSIS; SHEWRY, 2009; POSNER, 2000).

A proteína no trigo tem importante relação com a aplicação da farinha na produção de massas alimentícias. De acordo com a quantidade e a qualidade da proteína presente na farinha, diferentes são as aplicações, como na obtenção de pães, bolos, biscoitos, massas. As proteínas do trigo podem ser classificadas quanto a sua solubilidade, a mobilidade eletroforética e ao peso molecular. Do total de proteínas presentes no trigo e na farinha, cerca de 1/6 são solúveis e compostas por albuminas e globulinas. Junto com as insolúveis, elas absorvem cerca de 15,6 g de água a cada 100 g de farinha.

As prolaminas e glutelinas constituem os dois grupos que integram as proteínas do glúten. O glúten foi descoberto em 1729 e constitui-se da hidratação das frações de gliadinas e gluteninas. Na panificação formam a estrutura visco-elástica que permite o aprisionamento de gás e vapor d'água durante o crescimento da massa na fermentação e no forno. As proteínas do glúten são capazes de formar ligações dissulfeto dando origem a estruturas oligoméricas, o que ocorre durante a hidratação e mistura da farinha na elaboração de massas (HAMER; MacRITCHIE; WEEGELS, 2009). Gliadinas apresentam em geral pesos moleculares relativamente pequenos, da ordem de 30 a 100 mil Da. São cadeias simples com ligações dissulfeto intramoleculares (ABECASSIS; SHEWRY, 2009; CAUVAIN; YOUNG, 2009). A glutenina é relativamente hidrofóbica, porém com estrutura molecular distinta, pois é polimérica, graças às ligações dissulfídicas intermoleculares. Seu peso molecular é de aproximadamente de 3×10^6 Da. Ao ser submetida à separação

de suas frações, duas subunidades podem ser observadas: as de alto peso molecular (HMW-GS 80 a 120 mil Da) e as de baixo peso molecular LMW-GS – 40 a 50 mil Da) (CAUVAIN; YOUNG, 2009).

No endosperma são encontrados também carboidratos, destacando açúcares, oligossacarídeos, amido e hemicelulose. O amido representa cerca de 64 a 74% do endosperma. Na região periférica do grão, os grânulos são lenticulares e bem menores, e nas regiões mais internas, há grânulos grandes e cristalinos e grânulos pequenos quase cilíndricos. Em grãos maduros o endosperma contém basicamente dois tipos de grânulos: tipo A que são maiores (15 a 30 μm) e lenticulares e os grânulos tipo B que são menores (<10 μm) e de formato poliédrico a quase cilíndricos. Os grânulos tipo A estão presentes em menor quantidade (12%) mas representam o maior volume e a maior massa do total de grânulos de amido (ABECASSIS, SHEWRY, 2009). A proporção dos tipos de grânulos é um fator que influencia o rendimento tecnológico do amido (DENDY; DOBRASZCZYK, 2001). Os grânulos são circundados pela matriz proteica e apresenta concentrações de amilose entre 16,6 a 28,9%, e grau de polimerização da ordem de 830 a 1570 unidades de glicose. Sua temperatura de gelatinização fica entre 57 e 65°C, embora variedades e fatores ambientais possam alterar esses valores. Seus teores de lipídios, estão entre os mais baixos entre os cereais (CAUVAIN; YOUNG, 2009).

O farelo é a fração composta pelas camadas que revestem o grão e são ricas em celulose. Constituem o farelo, o pericarpo composto por epidermes externas, hipoderme, parênquima, células intermediárias, células cruzadas e células tubo. O farelo representa aproximadamente 14% do grão. Qualquer dano nessas camadas protetoras pode levar a perda e ganhos de umidade, o que é fator determinante no armazenamento (POSNER, 2000).

No germe, o eixo embriônico e o escutelo diferem quanto à sua composição. O escutelo contém altos níveis de cinzas, manganês, fósforo, fitato, tiamina, mas pouca proteína. A proteína do germe apresenta níveis de 17 a 35% (14% de umidade), com médias variando entre 21 a 25%, sendo que em germe desengorduro de trigo, a albumina era a maior fração (34,5%), seguida por globulinas (15,6%), glutenina (10,6%) e prolaminas (4,6%) (ZHU et al., 2006).

3.6 PRÉ-GERMINAÇÃO EM TRIGO

3.6.1 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 e oxigênio, além de estarem preservadas a maturidade e a integridade das sementes. Conforme Nyachiro et al. (2002) a faixa ideal de temperatura para a germinação de trigo está compreendida entre 15 e 30°C. Caso as condições ambientais não sejam favoráveis, a semente permanece em quiescência que se caracteriza por atividade metabólica reduzida. Em condições adequadas, ocorre uma série de reações como degradação de substâncias de reserva, bem como produção de novas células e organelas (BUCKERIDGE et al., 2008; CASTRO; BRADFORD; HILHORST, 2008).

A primeira etapa da germinação envolve a hidratação da semente (embebição), tanto das células do embrião como do endosperma. Isso promove a liberação de enzimas e a reativação de organelas e macromoléculas, bem como a produção de energia a partir das substâncias de reserva. A embebição é influenciada pela composição do grão e as proteínas e a celulose são as principais substâncias responsáveis pela absorção de água. O processo promove mudanças no volume e na massa dos grãos. Quando atinge determinado patamar (variável para cada espécie), o grão inicia a germinação, havendo o rompimento do pericarpo na região do germe e a emergência da plúmula. Depois a raiz primária emerge, e após algumas horas, surge o primeiro par de radículas. O embrião desenvolve, se estabelece e então surgem as primeiras folhagens (CASTRO; BRADFORD; HILHORST, 2008).

Durante as primeiras fases da germinação, há aumento da atividade enzimática, principalmente de α e β -amilases, endo- β -glucanase, dextrinase limite, 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. É através do processo respiratório que se garante o aporte energético para a germinação. 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 hidrólise do amido envolve atividade enzimática. A α -amilase atua nas ligações α 1-4 tanto de moléculas de amilose como de amilopectina, gerando maltose, glicose e dextrinas e a β -amilase age na extremidade não-redutora de oligo e poliglucanos, produzindo maltose. A ação da β -amilase é interrompida nas ligações α 1-6. A maltose pode ser convertida em glicose pela maltase e sobre as dextrinas que apresentam ligações α 1-6, agem as dextrinases originando maltosacarídeos (BEVILAQUA; EICHELBERGER, 2004). A atividade enzimática depende da variedade de trigo e fração do grão, podendo inclusive haver atividade nula de algumas enzimas de acordo com a fração do grão. A polifenoxidase, por exemplo, apresenta atividade nula no germe. Na região abaixo do aleurona e próxima ao germe há concentração de enzimas sacarogênicas, bem como dextrinogênicas, que tem atividade relacionada com a β -amilase (POMERANZ, 1988). Com o avanço da hidrólise do amido, os açúcares totais diminuem e aumenta a concentração de açúcares solúveis (DRONZEK et al., 1974).

Na germinação, além de energia, 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 interconversão para a constituição de novos tecidos vegetais. Essas alterações causam mudanças nas concentrações de proteínas, nitrogênio solúvel e nitrogênio de aminoácidos livres (DOMINGUEZ; CEJUDO, 1995; JONES, 2005).

3.6.2 Germinação pré-colheita

Para a produção de grãos de trigo, a germinação é um processo a ser evitado para preservar sua integridade e seus constituintes. Durante o armazenamento, em decorrência de elevadas taxas de umidade no grão, a germinação pode acontecer. No campo, isso pode ocorrer ainda na espiga, causando um problema denominado de germinação pré-colheita, ou germinação na espiga (CUNHA; PIRES; PAZINATO, 2004).

A germinação pré-colheita é uma das principais causas de redução da qualidade do trigo no Brasil e também em diferentes regiões do mundo com destaque para o norte e o oeste da Europa, noroeste dos Estados Unidos, norte da Austrália, oeste da Nova Zelândia, Canadá, África do Sul, Chile e Argentina. No Brasil atinge principalmente a região sul que é responsável por mais de 80% da

produção tritícola (CUNHA; PIRES; PAZINATO, 2004), ocorrendo com uma frequência de 3 a 4 safras a cada dez, podendo atingir até 50% dos grãos colhidos de uma determinada região (BASSOI, 2004). As alterações que ocorrem no grão devido a pré-germinação podem rebaixar sua classificação, o que acarreta em perdas econômicas para o produtor rural, que em 2012 significava aproximadamente redução de 30% no valor da saca. Esse cenário tem estimulado linhas de pesquisa para projetos inovadores em germinação pré-colheita, como uma das prioridades para o setor tritícola (CUNHA, 2009).

Do ponto de vista da fisiologia vegetal, a germinação pré-colheita está relacionada com a dormência da semente, que se caracteriza pelo fato de mesmo o grão estando fisiologicamente maduro e havendo condições adequadas de umidade, temperatura, luz e oxigênio, não ocorre a germinação (CASTRO; BRADFORD; HILHORST, 2008). A dormência é a falta de expressão da atividade enzimática do grão envolvida com a germinação, com destaque para a α -amilase. Essa enzima se acumula nos grãos de trigo de quatro formas diferentes. Pode permanecer retida no pericarpo depois de produzida na fase inicial de formação do grão; é produzida durante a fase de pré-maturação da semente; acumula-se quando ocorre germinação na fase de pré-maturação fisiológica antes da indução da dormência; e quando ocorre germinação após a maturação fisiológica da semente, quebrando a dormência. No caso de grãos pré-germinados a segunda e quarta situações são as mais envolvidas (CUNHA; PIRES; PAZINATO, 2004). No grão seco, embora presente, a α -amilase tem atividade praticamente nula, causando danos irrisórios aos grãos, mas em condições específicas, a enzima promove a hidrólise do amido.

A dormência é influenciada por fatores genéticos. Kato et al. (2001) identificou um QTL (“quantitative trait loci” – locos controladores de características quantitativa) principal que segundo os autores explica em torno de 77% do efeito da dormência. Dentre os genes que parecem estar envolvidos com a pré-germinação, estão aqueles responsáveis pela determinação da cor do grão, o que já fora indicado tanto por Flintham (2000) e por Bassoi e Flintham (2005). No Brasil, o uso de variedades mexicanas (susceptíveis a germinação na espiga) nos programas de melhoramento brasileiro contribuíram para que a maioria das cultivadas atualmente sejam susceptíveis ao dano pela chuva (CUNHA; PIRES; PAZINATO, 2004; OSÓRIO, 1982). Conforme Franco et al. (2009) poucas variedades apresentam

baixa germinação e, portanto, a incorporação de materiais resistentes em programas de melhoramento é essencial.

Dentre os fatores que interferem na dormência está a temperatura, principalmente durante o período entre o enchimento do grão e a colheita e chuvas na época da colheita (BARNARD; SMITH, 2009; CUNHA; PIRES; PAZINATO, 2004). Estudos tem indicado que a temperatura antes e após a maturação dos grãos afeta a resistência deles à germinação pré-colheita, sendo que temperaturas baixas aumentam a expressão da dormência (NIELSEN et al., 1984; REDDY et al, 1985). Fenner (1991) relaciona a dormência com altas temperaturas, dias curtos, estiagem e altos níveis de nitrogênio durante o desenvolvimento da semente. Alta umidade durante enchimento também é indicada como importante na redução da dormência. A duração da dormência é influenciada ainda pelas condições do armazenamento a seco, sendo que a medida que a temperatura ambiente aumenta, há redução da dormência (NYACHIRO et al., 2002).

Existem, porém, divergências entre os autores quanto ao momento crucial para que se estabeleça o dano da germinação pré-colheita no grão. Alguns estudos indicam forte influência das chuvas e da temperatura entre a antese e a maturidade do grão (NIELSEN et al, 1984), enquanto outros acreditam que esses efeitos são pequenos em comparação com as etapas de maturação (AULD; PAULSEN, 2003). Em teste com 18 variedades em três regiões diferentes da África do Sul durante 4 anos, houve expressiva interação entre variedade, ano e região para germinação pré-colheita. Foi ainda comprovado que as variedades exerceram maior efeito sobre a germinação pré-colheita mesmo considerando diferente anos de plantio e em diferentes regiões. Algumas variedades, entretanto podem apresentar comportamento variável, sendo tolerantes à germinação pré-colheita em alguns anos e susceptíveis em outros, indicando a influência das condições climáticas na superação da tolerância. Das variáveis climáticas, a precipitação pluviométrica não apresentou correlação com a germinação pré-colheita em nenhuma das etapas do ciclo da cultura e a temperatura mínima apresentou correlação com germinação pré-colheita nas etapas de enchimento do grão ($r=0,715$) e no ciclo todo ($r= 0,601$) (BARNARD; SMITH, 2009).

Também aspectos de morfologia da planta estão relacionados à germinação pré-colheita. A susceptibilidade à germinação é influenciada por características das aristas e demais estruturas que estão envolvidas com a retenção

de água junto ao grão. A presença de ceras epicuticulares também parece contribuir para minimizar o problema (KING; WETTSTEIN-KNOWLES, 2000).

Para determinar pré-germinação em grãos de trigo, um dos principais métodos utilizados, tanto em grãos como em farinha é o teste de *falling number* (número de queda). O teste verifica a atividade da enzima α -amilase, sendo um teste aprovado pelo ICC (*International Association of Cereal Chemistry*). O método de *falling number* foi desenvolvido por Hagberg e Perten, sendo uma técnica simples e rápida. O método foi padronizado pela AACC e é utilizado para classificação de grão, controle de qualidade e comercialização (MARES; MRVA, 2008). O método de *falling number* basicamente envolve a rápida gelatinização do amido de uma suspensão de farinha em água. Essa suspensão é aquecida durante um tempo e uma temperatura programados e então é feita a mensuração através de um pêndulo que atravessa essa suspensão. O tempo que demora para o pêndulo fazer o trajeto em segundos é o número de *falling number* ou número de queda. Em farinhas onde a atividade enzimática é intensa, as enzimas hidrolisam o amido, transformando-o em açúcares menores e tornando a suspensão menos viscosa. Com isso o número de queda se torna menor. Farinhas com menor atividade enzimática apresentam número de queda maior. Dentre as vantagens do método podemos citar: velocidade, reprodutibilidade, simplicidade e padronização (MARES; MRVA, 2008).

Segundo Mares e Mrva (2008) existem diversas metodologias para análise de α -amilase, dentre elas, métodos que extraem a enzima da matriz de uma amostra para depois mensurá-la a partir da medição do nível de hidrólise. A mensuração pode utilizar técnicas de focalização isoelétrica e uso de anticorpos específicos para amilases em grãos germinados. Outras metodologias avaliam mudanças na viscosidade, caso do amilograma e do RVA (Rapid Vicoamylograph). São ainda citados métodos colorimétricos, turbidimétricos, fluorimétricos, baseado em difusão em gel, análise açúcares redutores, uso de raio-X (JENSEN et al., 1984; MIRANDA; GUARIENTI, 2004; NEETHIRAJAN et al., 2007). Xing et al. (2010) conseguiu separar com níveis de confiança grãos intactos, dos germinados e dos severamente germinados, utilizando VNIR (Visible Near Infrared). O uso do HPLC (High Performance Liquid Chromatograph) também pode ser utilizado para determinação de α -amilase em trigo e se mostrou muito mais rápido que outros métodos cromatográficos (BATTERSHELL; HENRY, 1990).

Para avaliações ainda no campo, diversos estudos já foram desenvolvidos. Existem hoje técnicas variadas como uso de câmaras de germinação, uso de escalas de avaliação do grau de germinação, contaminação de grãos germinados, dentre outros (BASSOI; FLINTHAM; RIEDE, 2006; BASSOI; FLINTHAM, 2005; McMASTER; DERERA, 1976; OKUYAMA et al., 2003; REIS; CARVALHO, 1989). Franco et al. (2009) estudando tolerância em germinação na espiga de diferentes variedades, sugerem o uso da técnica de conferir notas para a germinação ao invés do processo de contagem de grãos germinados que além de trabalhosa é também demorada. Os autores encontraram coincidência avaliativa entre o método de notas e o de contagem de grãos germinados. Assim segundo os estudos, houve coincidência entre as notas visuais de germinação e as notas determinadas pela verificação da emissão de radículas e coleótilos, sendo então a primeira capaz de separar de forma eficiente as variedades com níveis similares de tolerância à germinação pré-colheita, com a vantagem de ser bem mais rápida. É importante frisar que tais resultados foram satisfatórios para o caso do ensaio realizado que promoveu um intenso molhamento dos grãos através de chuva artificial e com isso, firmou condições para uma manifestação bastante clara da presença ou ausência da tolerância à germinação.

3.6.3 Trigo pré-germinado e ciência de alimentos

O trigo é um cereal amplamente utilizado na produção de alimentos e quando apresenta germinação pré-colheita ocorrem alterações que influenciam suas propriedades. Na composição, ocorre redução nos teores de amido, aumento de açúcares e há alteração na quantidade e nas propriedades das proteínas (POSNER, 2000).

Alterações são observadas, também, durante a moagem do grão e na qualidade da farinha. Primeiro, porque o trigo pré-germinado apresenta menor peso hectolitro (PH), afetando o rendimento (BASSOI, 2004). Em segundo, porque 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. A maior atividade enzimática, aumenta a concentração de açúcares e de nitrogênio solúvel na farinha, interferindo na hidratação das mesmas e causando alterações nas propriedades reológicas

(DENDY; DOBRASZCYK, 2001). Grãos de trigo de 3 variedades diferentes foram submetidos à embebição e germinação em diferentes temperaturas e, à medida que a germinação progredia, os valores de *falling number* e de absorção de água eram reduzidos, ao mesmo tempo que o índice de solubilidade da farinha aumentava (SINGH et al., 2001).

Industrialmente, a alteração da atividade enzimática é detectada pela análise de *falling number*, sendo que a causa mais citada para redução de seus valores é a germinação pré-colheita (GUARIENTI, 1996; MARES; MRVA, 2008). Farinhas ou trigo que apresentam *falling number* superior a 351 segundos são de baixa atividade enzimática, já aqueles que apresentam valores inferiores a 200 segundos são de alta atividade enzimática (GUARIENTI, 1996). A atual legislação brasileira de classificação do trigo estabelece que os trigos para farinha devem apresentar *falling number* superior a 200 segundos (BRASIL, 2010a). Em avaliação de diferentes métodos para mensurar a atividade de α -amilase, observou-se que os pães só apresentavam alterações em suas características, quando comparado a um produto padrão, quando as farinhas utilizadas tinham *falling number* inferior a 200 s (MOOT; EVERY, 1990). Outros fatores podem também levar a esse problema como: maturidade tardia da α -amilase e a α -amilase retida no pericarpo (MARES; MRVA, 2008).

O uso de farinhas de grãos pré-germinados tem sido motivo para pesquisas, pois o amido e as proteínas apresentam alterações na sua composição e propriedades. As alterações, entretanto, podem ser de interesse para produtos que necessitam de amidos com propriedades específicas para determinadas aplicações (CEREDA, 2002). Em milho, cevada e triticale germinados, o amido apresentou menor temperatura de gelatinização, menor poder de intumescimento, aumento da solubilização e redução da viscosidade (LORENZ; KULP, 1981). Grãos germinados apresentam, em geral, açúcares mais facilmente disponíveis para absorção pelo intestino, aumento do teor de fibras e de proteínas, alterações na composição de aminoácidos, elevação dos níveis de lipídios, fibra bruta e minerais, ou seja, aumento da densidade de nutrientes obtida por unidade de volume de alimento (ASIEDU et al., 1993; MORAD; RUBENTHALER, 1983). Amostras de trigo com maior ou menor intensidade de dano pela chuva (colheitas no momento ideal e colhidas 30 dias depois) foram avaliadas quanto às propriedades do amido. Não foi constatada diferença no teor de amilose nem no tamanho das cadeias de

amilopectina, mas em duas variedades susceptíveis à germinação pré-colheita as amostras mais alteradas apresentaram grânulos com menor poder de inchamento. A viscosidade foi menor nas amostras mais alteradas e a quebra de viscosidade (Rapid ViscoAmilograph) foi maior. Não houve diferença quanto à temperatura de gelatinização. Os grãos colhidos tardiamente apresentaram maior digestibilidade em comparação com os colhidos na época correta (NODA et al., 2004).

Quanto às proteínas, no trigo são diversos os fatores que interferem na sua concentração na farinha, como variedade, adubação, taxa de extração da farinha, sistema de moagem, etc. (SHOUP; POMERANZ; DEYOE, 1966). Diversos estudos indicaram haver aumentos nos teores proteicos quando a farinha provém de grãos germinados (CHAVAN; KADAN, 1989; LEELAVATHI et al., 1990; LEMAR; SWANSON, 1976; LORENZ; VALVANO, 1981). O aumento é resultado de diferentes fatores como as condições de germinação, método, temperatura, tempo de maceração, a porcentagem de grãos geminados, bem como da variedade (CHAVAN; KADAN, 1989). Dependendo das condições, perdas também podem ser observadas. Ao germinar trigo por 8 dias, as frações solúveis em água e em soluções salinas tiveram sua concentração reduzida em relação ao controle, enquanto as frações solúveis em álcool não apresentaram alteração (HWANG; BUSHUK, 1973).

Também já foi observado aumento da digestibilidade das proteínas e redução de fatores antinutricionais em trigo germinado (ABBEY; MARK-BALM, 1988; MARERO et al., 1991). O fitato reduz absorção de alguns minerais (Ca, Fe, Zn) e está presente principalmente no aleurona e no germe. Em grãos germinados, a intensa atividade enzimática, especialmente nessas regiões, e o crescimento do embrião possibilitam a ação de fitases que promove a redução dos níveis de fitato (FREDLUND et al., 1997). Grãos maltados de milho, sorgo vermelho e milho também apresentaram redução dos teores de fitato ao longo do processo (TRAORÉ et al., 2004).

O teor de fibras em farinhas de grãos germinados, também apresenta aumento, explicado pelo crescimento de radículas e outras estruturas da planta que apresentam maior quantidade de tecidos fibrosos; bem como devido à perda de carboidratos causado pelo processo respiratório do grão (KUMAR; CHAUHAN, 1993; RANHOTRA; LOEWE; LEHMANN, 1977). O aumento da concentração de lipídios tem sua explicação na redução da concentração de carboidratos, e contribui para o

aumento do valor calórico da farinha e da diminuição da vida de prateleira, pela maior susceptibilidade a rancidez oxidativa (LORENZ, 1980). A redução do teor de amido também promove uma maior concentração de minerais como observado por Chavan e Kadan (1989). O aumento de vitaminas do complexo B, vitamina C, A, D e E também foram constatados (CHAVAN; KADAN, 1989; LORENZ, 1980).

Em grãos maltados, as mudanças na composição do grão são também observadas. Em milheto, sorgo vermelho e milho submetidos a maltagem constatou-se que em comparação com a composição original dos grãos, houve aumento de proteínas, redução de lipídios, aumento de fibras, aumento de cinzas, de glucose, de frutose e de sacarose (TRAORÉ et al, 2004).

3.6.4 Trigo pré-germinado e tecnologia de alimentos

Amostras de trigo com germinação pré-colheita que apresentam *falling number* inferior à 200 s, são em geral destinadas à produção de ração animal. As alterações que essa matéria-prima apresenta comprometem seu emprego em produtos tradicionais como pães, bolo, macarrões e biscoitos. Composição química, propriedades físicas e tecnológicas são modificadas por causa do processo germinativo. Avaliando amostras com diferentes percentuais de grãos germinados (<5 a > 30%), foi encontrada correlação de 0,78 entre o percentual de grãos germinados e o peso hectolitro, indicando que 78% da redução no peso hectolitro se explicava pela percentagem de grãos germinados na amostra (BELÉIA; GROSSMANN, 1990).

Diferentes estudos com grãos germinados e com germinação pré-colheita já foram desenvolvidos, indicando limitações e possibilidades. Pães produzidos com farinhas de grãos pré-germinados apresentam alteração na sua estrutura, na retenção de água após o amassamento e cozimento, cor de miolo e de casca, formação da rede de glúten, retenção de gás e volume (POSNER, 2000). O amido de grãos pré-germinados de trigo apresentou viscosidade reduzida, adequada ao preparo de alimentos infantis que exigem textura menos espessa (GOPALDAS, DESHPANDE; JOHN, 1988; JOHN; GOPALDAS, 1988; PEDERSEN et al., 1989; WAHED et al., 1994). Pães produzidos com farinhas de grãos germinados apresentaram volume reduzido e piora na qualidade global, mas o uso de no máximo 5% de substituição por farinhas de grãos germinados, melhorou o volume

do pão (RANHOTRA; LOEWE; LEHMANN, 1977). Essa substituição pode alcançar até 30% em certos pães e em biscoitos, o uso de farinha de grãos germinados não alterou significativamente o produto (SHARMA et al., 1988). Beléia e Grossmann (1990) não observaram entre as amostras com diferentes percentuais de grãos germinados diferenças quanto ao teor de cinzas e proteico. Houve redução da absorção de água de 60,2% (<5% de grãos germinados) para 57,4% (> 30% de grãos germinados) e a viscosidade máxima diminuiu. Com o aumento do percentual de grãos germinados também foi constatado que as massas ficaram menos estáveis ao trabalho mecânico, apresentaram maior extensibilidade e menor resistência. Amostras com até 20% de grãos germinados apresentaram melhora nas características reológicas e aquelas com valores de 5 a 20% apresentaram o maior volume. As amostras com mais de 20% de grãos germinados apresentaram miolo úmido, células muito abertas, crosta mais escura, massa pegajosa. Em macarrão tipo *noodles*, grãos germinados geram produtos com maior pegajosidade. Bolos produzidos com farinhas de grãos germinados, apresentam crosta escura, miolo úmido, baixo volume e textura compacta (MIRANDA; GUARIENTI, 2004).

As alterações no amido são decorrentes da atividade de amilases e para reduzir essa atividade, grãos de trigo germinados foram submetidos a duas técnicas de abrasão e ao fracionamento da farinha. Nos grãos de trigo, houve redução da atividade de α -amilase que sofreram abrasão para as duas variedades, mas na farinha houve aumento da atividade enzimática em uma das variedades e na outra o aumento só foi observado para a amostra germinada por mais tempo. Avaliando o fracionamento das farinhas, foi constatado que nas farinhas de quebra há menor atividade de α -amilase e que na terceira farinha de redução havia a maior. Independente da fração, quanto mais germinado o grão, maior a atividade enzimática. Os autores não observaram em grãos germinados por 22 horas a 16°C diferença na quantidade de farinha de quebra em relação aos grãos não germinados para as três variedades estudadas (HENRY; MARTIN; BLAKENEY, 1987). De modo geral, farinhas de grãos pré-germinados apresentam granulometria mais fina, em decorrência de sua fragilidade ao processo mecânico (POSNER, 2000), o que significa uma vantagem para produtos que necessitam de reconstituição mais rápida (produtos instantâneos) (KULKARNI; KULKARNI; INGLE, 1991). Em amostras de trigo foi observado aumento do teor de farinha de quebra de 28,6% (menor

percentual de grãos germinados) até 38,6% (maior percentual de grãos germinados) (BELÉIA; GROSSMANN, 1990).

Em função das propriedades e mudanças na composição, alternativas tem sido pesquisadas para uso de grãos germinados e pré-germinados. Tais matérias-primas podem ser utilizadas na elaboração de farinhas de trigos germinados extrusados (MIRANDA, 2006). Extrusados de grãos germinados apresentam-se mais macios na textura, escores de aceitabilidade global significativamente mais altos, maior expansão e menor densidade do que os extrusados de farinha de trigo sem germinar (SINGH; SEKHON; NAGI,1994). Trigo foi embebido por 6 horas a 25°C, germinado por 3 dias na mesma temperatura e depois seco a 50°C por 24 horas. Tais amostras germinadas e não germinadas foram submetidas à extrusão em duas diferentes temperaturas, duas diferentes rotações e com e sem injeção de CO₂. Os extrusados de grãos germinados apresentaram menor taxa de expansão e menor densidade, maior solubilidade e menor absorção de água. Esses extrusados apresentaram também maior número de células de ar de menor tamanho em comparação com as amostras não germinadas. Em sua composição, as farinhas de grãos germinados apresentaram quase oito vezes maior concentração de açúcares redutores, 30% menos β-glucanas, aumento dos teores de proteína de 12,81 para 15,6% e não variaram quanto aos valores de cinzas (SINGKHORNART; EDOUONDO; RYU, 2014). Extrusados de grãos germinados tem como aplicações potenciais o uso como aditivo na panificação e em formulações de mingaus (MIRANDA, 1998; SINGH; SEKHON; NAGI,1994) e poderiam ser obtidos a partir de trigos germinados a campo (MIRANDA, 1998).

O emprego de grãos germinados foi avaliado na produção de pães tipo *baladi* (pão egípcio), visando o enriquecimento com ácido fólico. As amostras foram germinadas por 48 horas a diferentes temperaturas (20, 25, 30 e 35°C) e depois secas em diferentes combinações de tempo/temperatura (1 a 6 horas/35 a 90°C). Os teores de ácido fólico aumentaram de 4 a 5 vezes nas amostras germinadas, em comparação com a amostra original, atingindo 61 microgramas/ 100 g b.s. com germinação a 30°C. Ao substituir farinha de trigo (20 a 50%) por farinha de trigo germinado (48 horas, 30°C), houve aumento da absorção de água, redução do tempo de desenvolvimento da massa, redução da estabilidade da massa, em comparação com farinhas de trigos intactos. Constatou-se que a substituição de até 50% com farinhas de grãos germinados aumentou os teores de ácido fólico e

produziam pães sensorialmente aceitáveis (teste triangular) (HEFNI; WITTHÖFT, 2011).

Na produção de pão sem glúten, a base de farinha de arroz, as farinhas foram obtidas de grãos intactos e grãos geminados (embebição por 24 horas a 28°C) durante 3 tempos diferentes (12, 24 e 48 horas) a 28°C. Grãos germinados apresentaram aumento dos teores de proteína e gordura, redução dos teores de carboidratos, variação aleatória nos conteúdos de cinzas. A amostra com 48 horas de germinação se mostrou mais calórica, com menores teores de ácido fítico, maior concentração de γ -ácido aminobutírico e de compostos bioativos (γ -oryzanil e compostos fenólicos totais) e redução do índice glicêmico (CORNEJO et al., 2015).

Fermentado probiótico com *Lactobacillus acidophilus* foi obtido a partir de uma mistura de farinha de cevada, polpa de tomate e soro de leite em pó. Foi investigado o uso de farinha de cevada germinada (24 h a 37°C) e não germinada. A mistura com farinha germinada apresentou maior contagem de *Lactobacillus acidophilus*, maior redução do pH e aumento da acidez titulável. Não houve variação nos teores de lipídios e cinzas e pequena variação de proteína. Houve incremento dos teores de tiamina, niacina, e lisina, bem como de açúcares redutores e não redutores e o teor de amido diminuiu (ARORA; JOOD; KHETARPAUL, 2010).

Trigos pré-germinados, por apresentarem maior conteúdo de açúcares fermentescíveis podem se constituir em importantes matérias-primas em fermentações. Blandino et al. (2003) relatam diferentes cereais que são utilizados em processos fermentativos de produtos tradicionais e regionais, como molho de soja (trigo), *kishk* (trigo), *boza* (trigo/arroz/milheto), *bouza* (trigo), *sake* (arroz), *chicha* (milho), *mahewu* (milho) e *tarhana* (trigo).

3.7 MALTAGEM

Uma alternativa ainda não investigada a respeito do trigo pré-germinado é o emprego na indústria cervejeira. A conversão de grãos em malte envolve o estímulo à germinação para conversão do amido em açúcares fermentescíveis, dentre outras alterações. Embora sejam processos distintos, um completamente controlável (maltagem) e outro realizado ao acaso (germinação pré-colheita) (MIRANDA, 2006), os dois envolvem os processos bioquímicos da germinação. Tais processos promovem alterações que ocorrem em diferentes intensidades tanto em

grãos pré-germinados como em grãos maltados. Trigos de grãos pré-germinados poderiam ser empregados na obtenção do malte e extrato de malte, ou utilizados como adjunto, com a vantagem de apresentar maior atividade enzimática, maior teor de açúcares fermentescíveis e maior fração de compostos nitrogenados solúveis, em comparação com grãos intactos (SUHASINI; MUALIKRISHNA; MALLES, 1997). Cevadas com germinação pré-colheita já foram maltadas (GUALANO; DEL FUEYO; BENECH-ARNOLD, 2014; McCAIG; LI, 2011; SOLE, 1994). Em cinco variedades de sorgo pré-germinados a campo, a produção de álcool atingiu os mesmos patamares que a amostra controle, com a vantagem de utilizar metade do tempo, e o rendimento de álcool produzido por tonelada de grão foi maior (YAN et al., 2010).

A maltagem é um processo industrial no qual grãos ricos em carboidratos (amido), são estimulados a germinar, modificando sua composição e aumentando a atividade enzimática (PYLER; THOMAS, 2000). A cevada é o grão mais maltado no mundo e o trigo, uma das mais antigas matérias-primas na produção de cerveja (HORNSEY, 2003). Diversas outras matérias-primas têm sido utilizadas e estudadas para produção de malte como por exemplo, arroz, triticale, sorgo, aveia, milheto, painço (GRUJIC; PEJIN; DENCIC, 2009; HASSANI, ZARNKOW; BECKER, 2013; HUBNER et al., 2010; KLOSE et al., 2011; PELEMBE; DEWAR; TAYLOR, 2002; ZARNKOW et al., 2007), mas sempre tendo a cevada como referência.

O trigo e cevada apresentam semelhanças quanto a proteínas e carboidratos, mas a cevada apresenta maior teor de cinzas e de fibras (HALN, 1966 *apud* AGU; PALMER, 1998, p. 255). Variedades de trigos para indústria cervejeira são provenientes de trigos brandos, com endosperma farináceo e um conteúdo de proteína acima de 11% (HOUGH et al., 1982), embora há cervejas que atingem melhor qualidade quando originadas de trigos duros. A viscosidade dos mostos e cervejas de trigo são superiores aos da cevada, em parte por causa das arabinoxilanas do trigo que tem um peso molecular maior em comparação com as da cevada (CLEEMPUT et al., 1993). Os extratos de maltes de trigo atingem maiores valores, mas são submodificados (BRIGGS et al., 2004), o que reduz a atenuação limite (DEPRAETERE et al., 2004). Alterações também são observadas nos valores do índice de Kolbach, que em trigos são de 38-40% (BRIGGS et al., 2004), inferiores ao da cevada (KLOSE et al., 2011).

A variedade do trigo é um dos fatores que interfere na qualidade do malte obtido. Trigos denominados de boa e de fraca aptidão para malte foram avaliados e

constatou-se que houve incremento de praticamente todos os açúcares em comparação com o grão não germinado, com exceção da rafinose. Após 72 horas de germinação, a variedade classificada como de boa aptidão para malte apresentou 4,86 g de açúcares totais/100 g, sendo maltose e glucose os principais açúcares presentes. Maltes de trigo de boa qualidade tendem a apresentar um teor levemente menor de polissacarídeos não amido e com predominância da fração solúvel (SUHASINI; MUALIKRISHNA; MALLESHI, 1997). Os teores de maltose (principal açúcar de interesse no processo cervejeiro) de trigos pré-germinados com diferentes valores de *falling number* (entre 68 e 169 s) variaram de 2 a 6,1% em 5 variedades diferentes, aumentando até 77% em comparação com os grãos que não sofreram danos pela chuva (EDWARDS et al., 1989).

Para aplicação na produção do malte, um aspecto importante é a capacidade de germinação do grão. A medida que se torna mais intenso o dano pela chuva ao grão, menor porcentagem de germinação e emergência é observada. A perda de viabilidade normalmente ocorre durante a secagem e armazenamento, e devido ao ataque por fungos, infestação por doenças e colheitas tardias (BASSOI, 2004; HUDEC, 2007).

A importância da viabilidade do embrião é devido a sua relação com o controle das modificações que ocorrem durante a germinação. As enzimas responsáveis pelas modificações são inicialmente liberadas pelo epitélio escutelar, e depois pelo aleurona. Ambos devem estar viáveis para que as modificações progridam, bem como disponibilidade de oxigênio (BRIGGS, 2002). Baixo poder germinativo devido à germinação pré-colheita afeta a taxa de extrato do malte e os grãos menos densos podem apresentar problemas de flutuarem durante a mosturação ao invés de submergirem (BASSOI, 2004). A redução no poder germinativo pode ser maior dependendo das condições de armazenamento. Trigos que sofreram germinação pré-colheita em diferentes níveis (“severo”, “moderado” e “leve”), apresentaram percentual de germinação acima de 86% logo após a colheita e depois que sofreram envelhecimento acelerado (40°C/72 horas) apresentaram pouco mais de 76% (FOSTER; BURCHETT; PAULSEN, 1997). A indústria do malte trabalha com percentual de germinação superior a 92%.

Uma das alternativas para solução do baixo poder germinativo de grãos com germinação pré-colheita é o emprego de ácido giberélico, que tem ação semelhante à da giberelina. O ácido giberélico é produto metabólico do fungo

Giberella fujikuroi e é solúvel em água (5g/L) e etanol. É instável em soluções aquo-alcoólicas, tendo sua atividade reduzida ao longo do tempo de armazenamento. A eficiência da aplicação de ácido giberélico depende de alguns fatores como tempo de aplicação, temperatura, oxigênio, teor de umidade do aleurona e a espécie e variedade do material que recebeu a aplicação (PALMER, 1974). Em grãos de cevada que tiveram os embriões extirpados, quando tratados com ácido giberélico, houve aumento e antecipação da atividade enzimática em comparação com grãos intactos, o que não ocorreu com os grãos danificados que não receberam o tratamento (BRIGGS, 2002). Isso indica a possibilidade de seu uso, mesmo em grãos que perderam a capacidade de germinar devido a comprometimento dos embriões. Em diferentes tipos de grãos foram constatados efeitos da aplicação do ácido giberélico sobre propriedades de interesse na maltagem, como aumento do poder diastático (AGU et al., 1993; OWUSU-MENSAH et al., 2011), aumento da concentração de fenóis, aumento de açúcares redutores, aumento de açúcares solúveis (YADAV et al., 2000), maior atividade de α e β -amilases (OWUSU-MENSAH et al., 2011; YADAV et al., 2000), aumento do índice de Kolbach (GRUJIC; PEJIN; DENCIC, 2009), maior concentração de nitrogênio solúvel (GRUJIC; PEJIN; DENCIC, 2009), maiores perdas (OWUSU-MENSAH et al., 2011), maior taxa de extrato (YADAV et al., 2000).

Na maltagem, os principais parâmetros envolvidos são: qualidade inicial do grão, umidade inicial de germinação, temperatura de processo, tempo de germinação, condições de secagem e condições de armazenamento. A qualidade do grão para maltagem inclui seu poder germinativo, umidade, sensibilidade do grão a água, teor de proteína, percentual de impurezas, material estranho e grãos avariados; tamanho e segurança (contaminação microbiológica). Na tabela 1 estão os níveis para classificação de cevada tipo único (cevada de uso industrial) segundo a legislação brasileira.

A primeira etapa no processo de maltagem é a maceração (embebição) que tem por objetivo elevar a umidade do grão que é inicialmente de 13%. O nível de umidade do grão no início da germinação é denominado umidade inicial de germinação. Durante a etapa de maceração, os grãos limpos e secos são imersos em água, onde permanecem até atingir a umidade desejada. A velocidade de absorção de água pelo grão depende da temperatura da água, do aspecto poroso do grão, do teor de umidade do grão, da variedade, do conteúdo de amido, de

componentes da parede celular e β -glucanas da espécie; do teor de proteína, teor de lipídios, composição da água de embebição e tamanho do grão (COZZOLINO; ROUMELIOTIS; EGLINTON, 2013; KASHANINEJAD; DEGHANI; KASHIRI, 2009; MAYOLLE et al., 2012; RESIO; AGUERRE; SUÁREZ, 2003; THAKUR; GUPTA, 2006). É recomendável temperaturas de 12°C a 15°C durante esta etapa e no caso da cevada, o grão deve atingir aproximadamente 42% de umidade para que ocorram as modificações desejadas que são tão mais intensas quanto maiores os valores de umidade alcançados (HOUGH, 1991; BRIGGS et al., 2004).

Tabela 1 - Exigências para padrão de cevada cervejeira tipo único.

Parâmetros	Valores
Umidade	13%
Poder germinativo	95 %
Tolerância máxima de impurezas	3%
Tolerância máxima de grãos avariados	5%

Fonte: Brasil (1996)

A etapa de embebição pode ser prejudicial para a germinação, pois alguns grãos apresentam sensibilidade à água, que é a capacidade do grão em permanecer viável mesmo em condição de anaerobiose (imersão). Grãos sensíveis à umidade não germinam quando há concentrações reduzidas de O_2 , decorrentes de longos períodos de embebição. Da mesma forma, a baixa energia de germinação tem relação com baixas concentrações de O_2 nas vizinhanças do embrião (BROOKES; LOVET; MacWILLIAN, 1976). A necessidade ou não de aeração e a técnica a ser empregada é controversa. Na água de embebição, a concentração de O_2 é reduzida a praticamente zero com até 5 horas de embebição, principalmente nas partes inferiores dos tanques, com aumento da concentração de CO_2 (CHAMBERS; LAMBIE, 1960). Em embebição de cevada com aeração foi observado aumento do ganho de umidade na etapa de embebição seguinte, aumento da atividade de peptidase, amilases e glucanases; e germinação mais rápida, porém maior percentual de perdas de malte (BROOKES; LOVET; MacWILLIAN, 1976). Em sistema com agitação e aeração da água de embebição, houve maior número de grãos de cevada germinados durante a embebição em comparação ao controle (KELLY; BRIGGS, 1992). Embebição de cevada foi testada utilizando sistema com e

sem aeração e com borbulhamento de gases (N e CO₂), mas não foi observado diferença quanto ao percentual de grãos germinados total. Entretanto nos sistemas com aeração, houve maior velocidade de germinação (ENARI; LINNAHALME; LINKO, 1961).

A absorção de água pelo grão durante a embebição é descrita em três fases. Na primeira, é absorvido 60% do potencial total, num processo praticamente físico, e onde o pericarpo é a principal barreira para entrada de água. No trigo, o sulco ventral é um dos locais pelo qual a água penetra no grão. Na fase 2 a velocidade de absorção diminui e inicia-se a conversão do amido em açúcares, causando diferença no potencial osmótico. Na terceira fase há novo aumento da difusividade da água para dentro do grão que atinge maior valor de umidade (BROOKES; LOVET; MacWILLIAN, 1976). Grãos de trigo imersos em água em cinco diferentes temperaturas variando de 25 a 65°C apresentaram intensa absorção até os primeiros 30 minutos, seguido por um período de desaceleração entre 30 e 300 minutos, e após 400 minutos os percentuais de umidade do grão permaneceram constantes (KASHANINEJAD; DEGHANI; KASHIRI, 2009).

Atingida a umidade ideal, inicia-se a etapa de germinação. Os grãos são dispostos em caixas de germinação que são estruturas retangulares ou cilíndricas com piso perfurado. Nesta etapa há controle da temperatura de germinação, de perdas de umidade pelo grão, de fornecimento de oxigênio e do tempo de germinação. O objetivo não é a germinação em si, mas transformações bioquímicas que aumentem os teores de açúcares fermentescíveis, tornem o amido mais susceptível a hidrólise, reduzam teores de β -glucanas, e aumentem a concentração de frações solúveis nitrogenadas (BRIGGS et al., 2004). Para germinação de sementes de trigo no solo são recomendadas temperaturas entre 15 e 31°C (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1989) mas em dez variedades de trigos dormentes e não dormentes os melhores índices de germinação foram obtidos em temperaturas entre 10 e 15°C (NYACHIRO et al., 2002). Na maltagem de cevada são utilizadas temperaturas ao redor de 15°C (HOUGH, 1991). Temperaturas muito baixas, demandam custos de refrigeração e tornam o processo muito demorado, e temperaturas acima desses valores levam a um processo mais rápido, porém acompanhado de perdas de matéria seca, seja pelo crescimento de radículas e acróspiros, como pelo processo respiratório (BRIGGS et al., 2004).

O tempo de germinação é outro fator que deve refletir o equilíbrio entre as modificações no grão e as perdas devido a germinação. A observação do crescimento do acróspiro que não deve ultrapassar 3/4 do tamanho do grão é utilizada como uma das formas de controle dessa etapa (BRIGGS et al., 2004). Tão logo se inicia a germinação, pode ser aplicado ácido giberélico na forma de *spray* sobre os grãos, em concentrações de 0,025 a 0,25 mg/kg de grão. Mecanismos de aeração dos grãos são utilizados para refrigerar os grãos e aumentar a disponibilidade de oxigênio e reduzir de gás carbônico (HOUGH, 1991).

Para interromper a germinação, os grãos são secos. O controle desta etapa visa fixar as modificações ocorridas, manter o malte estável para o armazenamento, assegurar a atividade enzimática e incorporar cor e *flavor* característicos ao malte (BAMFORTH; BARCLAY, 1993; YAHYA; LINFORTH; COOK, 2014). O ideal é que se inicie a temperaturas próximas a 50°C, assegurando a estabilidade de enzimas como endo β -glucanases, endopeptidases, dextrinases limite, α e β -amilase.

O processo de secagem é gradual pois depende das forças que ligam a água ao malte. Maltes de trigo mourisco (*Fagopyrum esculentum*) foram secos por 48 horas à 40°C. Nas primeiras oito horas de secagem, a umidade reduziu de 45% para 20%, foram necessárias mais quatro horas para que a umidade do malte atingisse 10% e por fim mais 38 horas para atingir 5% (PHIARAIS; WIJNGAARD; ARENDT et al., 2005). A medida que a umidade reduz, as enzimas se tornam termo tolerantes, possibilitando o aumento das temperaturas finais de secagem que podem ser superiores a 75°C (BAMFORTH; BARCLAY, 1993). Durante a secagem há interação entre açúcares redutores e aminoácidos produzindo redutonas que podem ser convertidas em pirazinas, tiofenos, pirroles, furanos e melanoidinas. Há a formação também de dimetil sulfito que contribui para o *flavor* de cervejas tipo lager (BAMFORTH; BARCLAY, 1993).

Terminada a secagem, os grãos são peneirados para retirada de radículas e acróspiros e são então armazenados. Existem recomendações para que alguns tipos de malte (*pale*) sejam armazenados por 4 a 6 semanas antes de serem comercializados para melhorar a qualidade (BRIGGS et al., 2004). As condições de armazenamento são importantíssimas para se preservar a qualidade do produto. O malte depois de pronto é altamente higroscópico e em maltes de cevada quando a a_w (atividade de água) se encontrava acima de 0,5, a umidade de equilíbrio

aumentou quando a temperatura foi de 15 para 35°C (BARREIRO; FERNÁNDEZ; SANDOVAL, 2003). O aumento da umidade leva a perdas na qualidade do malte. Amostras de malte de trigo com até 9% de umidade mantiveram a qualidade do malte por até 6 meses de armazenamento a 30°C, perdendo qualidade quando a umidade atingia 14%. (SINGH; BAINS, 1988). O malte acabado apresenta cerca de 55% de amido, 8 a 10% de açúcares e 35 a 50% de nitrogênio solúvel (DRAGONE; ALMEIDA; SILVA, 2010).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBEY, B. W.; MARK-BALM, T. Nutritional quality of weaning foods prepared from composite flours of maize, ungerminated and germinated cowpea. **Nutrition Reports International**, v. 38, n. 3, p. 519-526, 1988.

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

AGU, R.C.; OKEKE, B.C.; NWUFO, S.C.; UDE, C.M.; ONWUMELU, A.H. Influence of gibberellic acid (GA₃) on diastase and cellulase development of nigerian millet (*Pennisetum maiwa*) and sorghum (*Sorghum bicolor*). **Process Biochemistry**, v. 28, n. 2, p. 105-108, 1993.

AGU, R. C.; PALMER, G.H. A reassessment of sorghum for lager-beer. **Brewing bioresource technology**, v. 66, p. 253-261, 1998.

ARORA, S.; JOOD, S.; KHETARPAUL, N. Effect of germination and probiotic fermentation on nutrient composition of barley based food mixtures. **Food chemistry**, v. 119, n. 2, p. 779-784, 2010.

ASIEDU, M.; NILSEN, R.; LIE, O.; LIED, E. Effect of processing (sprouting and/or fermentation) on sorghum and maize. I. Proximate composition, minerals and fatty acids. **Food Chemistry**, v. 46, n. 4, p. 351-353, 1993.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS DE TRIGO. **Sobre o trigo**. Disponível em: <http://www.abitrigo.com.br/index.php?mpg=02.01.00> Acesso em: 06 fev. 2012.

AULD, A.S., PAULSEN, G.M. Effects of drought and high temperature during maturation on preharvest sprouting of hard white winter wheat. **Cereal Research Communication**, v. 31, n. 1-2, p. 169-176, 2003.

BAMFORTH, C.W., BARCLAY, A.H.P. Malting technology and the uses of malt. In: MACGREGOR, A.W., BHATTY, R.S. **Barley: chemistry and technology**. St Paul, Minnessota (EUA): AACC, 1993, p. 297-354.

BARNARD, A.; SMITH, M.F. The effect of rainfall and temperature on the preharvest sprouting tolerance of winter wheat in the dryland production areas of the Free State Province. **Field Crops Research**, v.112, p. 158–164, 2009.

BARREIRO, J.A.; FERNÁNDEZ, S.; SANDOVAL, A.J. Water sorption characteristics of six row barley malt (*Hordeum vulgare*). **LWT-Food Science and Technology**, v. 36, n. 1, p. 37-42, 2003.

BASSOI, M.C. Aspectos gerais da germinação pré-colheita e seu controle genético In: CUNHA, G.R.; PIRES, J.L.F. **Germinação pré-colheita em trigo**. Passo Fundo: Embrapa, 2004, p. 21-136.

BASSOI, M.C.; FLINTHAM, J. Relationship between grain colour and preharvest sprouting-resistance in wheat. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n.10, p.981-988, 2005.

BASSOI, M.C.; FLINTHAM, J.; RIEDE, C.R. Analysis of preharvest sprouting in three brazilian wheat populations. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.4, p.583-590, 2006.

BATTERSHELL, V.G.; HENRY, R.J. High-performance liquid chromatography of α -amylases from germinating wheat and complexes with the α -amylase inhibitor from barley. **Journal of Cereal Science**, v. 12, n. 1, p. 73-81, 1990.

BELÉIA, A.; GROSSMAN, M.V.E. Germinação pré-colheita de trigo: efeitos na qualidade do grão e da farinha. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 25, n. 2, p. 1797-1804, 1990.

BEVILAQUA, G.A.P.; EICHELBERGER, L. Germinação e dormência In: CUNHA, G.R.; PIRES, J.L.F. **Germinação pré-colheita em trigo**. Passo Fundo: Embrapa, 2004, p. 137-180.

BLANDINO, A.; AL-ASEERI, M.E.; PANDIELLA, S.S.; CANTERO, D.; WEBB, C. Cereal-based fermented foods and beverages. **Food Research International**, v. 36, p. 527–543, 2003.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.38 de 30 de novembro de 2010. Regulamento técnico do trigo. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 01 dez. 2010(a), Seção 1, p. 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Sumário executivo trigo/2010 (b)**. Disponível em: www.agricultura.gov.br Acesso em: 06 fev 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria do Ministério da Agricultura n. 691. Norma de Identidade e Qualidade da Cevada, para comercialização interna. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 22 nov. 1996. Seção 1, p. 24751.

BRIGGS, D.E Malt modification: a century evolving views. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 108, n.4, p. 395–405, 2002.

BRIGGS, D.E; BOULTON, C.A.; BROOKES, P.A.; STEVENS, R. **Brewing: Science and practice**. Boca Raton: CRC PRESS, 2004, 880 p.

BROOKES, P.A.; LOVETT, D.A.; MacWILLIAM, I.C. The steeping of barley. a review of the metabolic consequences of water uptake, and their practical implications. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 82, n. 1, p. 14-26, 1976.

BRUM, A.L.; MULLER, P.K. A realidade da cadeia do trigo no Brasil: o elo produtores/cooperativas. **RER**, Rio de Janeiro, v. 46, n. 01, p. 145-169, 2008.

BUCKERIDGE, M.S.; SANTOS, H.P.; TINE, M.A.S; AIDAR, M.P.M. Mobilização de reservas In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Orgs.) **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2008, p. 163-188.

CAFÉ, S.L.; FONSECA, P.S.M.; AMARAL, G.F.; MOTTA, M.F.S.R.; ROQUE, C.A.L.; ORMOND, J.G.P. Cadeia produtiva do trigo. **BNDES Setorial**, n. 18, p. 193-220, 2003.

CANZIANI, J.R.; GUIMARÃES, V.D.A. O trigo no Brasil e no mundo: cadeia de produção, transformação e comercialização. In: CUNHA, G.R. **Oficina sobre trigo no Brasil**. Passo Fundo: Embrapa, 2009 p. 29-72.

CASTRO, R.D.; BRADFORD, K.J.; HILHORST, H.W.M. Embebição e reativação do metabolismo. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F. (Orgs.) **Germinação do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2008. p.149-162.

CAUVAIN, S.P.; YOUNG, L.S. **Tecnologia da panificação**. Barueri: Manole, 2009, 417 p.

CEREDA, M.P. **Culturas de tuberosas amiláceas latino-americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002, 540 p.

CHAMBERS, A.R.; LAMBIE, D.B. Carbon dioxide and oxygen tensions in steep water. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 66, p. 159-162, 1960.

CHAVAN, J. K.; KADAM, S. S. Nutritional improvement of cereals by sprouting. **Critical Reviews in Food Science and Technology**, v. 28, n. 5, p. 401-437, 1989.

CLEEMPUT, G., ROELS, S.P., VAN OORT, M., GROBET, P.J. Heterogeneity in the structure of water soluble arabinoxylans in european wheat flours of variable bread-making quality. **Cereal Chemistry**, v. 70, p.324–329, 1993.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Pesquisa de Safras e Informações Geográficas da Agricultura Brasileira : grãos-safra 2013/2014**. 2015. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1534&t=2> Acesso em 06 mai 2015.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Saldo balança comercial**. 2011. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=547&t=2> Acesso em: 06 fev 2012.

CORNEJO, F.; CACERES, P.J.; MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; ROSELI, C.M.; FRIAS, J. Effects of germination on the nutritive value and bioactive compounds of brown rice breads. **Food Chemistry**, v. 173, n. 15, p. 298-304, 2015.

COZZOLINO, D.; ROUMELIOTIS, S.; EGLINTON, J. Monitoring water uptake in whole barley (*Hordeum vulgare L.*) grain during steeping using near infrared reflectance spectroscopy. **Journal of Food Engineering**, v. 114, n. 4, p. 545-549, 2013.

CUNHA, G.R. **Oficina sobre trigo no Brasil: bases para a construção de uma nova triticultura brasileira-Relatório dos grupos de trabalho**. Passo Fundo: Embrapa, 192 p. 2009.

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.

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

DEPRAETERE, S.A.; DELVAUX, F.; COGHE, S.; DELVAUX, F.R. Wheat variety and barley malt properties: influence on haze intensity and foam stability of wheat beer. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 110, n. 3, p. 200–206, 2004.

DOMINGUEZ, F.; CEJUDO, F.J. Pattern of endoproteolysis following wheat grain germination. **Physiologia Plantarum**, v. 95, n. 2, p. 253-259, 1995.

DRAGONE, G.; ALMEIDA E SILVA, J.B. Cerveja In: VENTURINI FILHO, W.G. **Bebidas alcoólicas: ciência e tecnologia**, vol. 1. São Paulo: Editora Blucher, 2010, p. 15-48.

DRONZEK, B. L.; HWANG, P.; BUSHUK, W. Scanning electron microscopy of starch from sprouted wheat. **Cereal Chemistry**, v. 49, n. 2, p. 232-239, 1974.

EDWARDS, R.A.; ROSS, A.; MARES, D.J.; ELLISON, F.W.; TOMLINSON, J.D. Enzymes from rain-damaged and laboratory germinated wheat I. Effects on product quality. **Journal of Cereal Science**, v. 10, p. 157-167, 1989.

ENARI, T.M.; LINNAHALME, T.; LINKO, M. Effects of air and carbon dioxide in the steeping of barley. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 67, n. 4, p. 358-361, 1961.

EVERS, A.D.; BECHTEL, D.B. Microscopic structure of wheat grain. In: POMERANZ, Y. (ed) **Wheat: chemistry and technology**. 3^a ed., vol. 1, St. Paul (USA): AACC, 1988, p. 51-67.

FAOSTAT. **Crops/2013**. Disponível em: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>
Acesso em: 06 mai 2015.

FENNER, M. The effects of the parent environment on seed germinability. **Seed Science Research**, v. 1, p. 75–84, 1991.

FLINTHAM, J.E. Different genetic components control coat imposed and embryo-imposed dormancy in wheat. **Seed Science Research**, v.10, p.43-50, 2000.

FONTANELI, R.S.; SANTOS, H.P.; FONTANELI, K. R.S. **Forrageiras para integração lavoura-pecuária-floresta na região sul-brasileira**. Passo Fundo: Embrapa, 2009, 340 p.

FOSTER, N.R.; BURCHETT, L.A.; PAULSEN, G.M. Planting wheat seed damaged by sprouting before harvest, **SRL**, 115, 1997. Kansas State University. Disponível em: <http://www.ksre.ksu.edu/historicpublications/pubs/srl115.pdf>. Acesso em: fev 2013.

FRANCO, F.A.; PINTO, R.J.B.; SCAPIM, C.A.; SCHUSTER, I.; PREDEBON, C.T.; RARCHIOROL, V. S. Tolerância à germinação na espiga em cultivares de trigo colhido na maturação fisiológica. **Ciência Rural**, v. 39, n. 9, p. 2396-2401, 2009.

FREDLUND, K.; ASP, N.-G.; LARSSON, M.; MARKLINDER, I.; SANDBERGER, A.S. Phytate reduction in whole grains of wheat, rye, barley and oats after hydrothermal treatment. **Journal of Cereal Science**, v. 25, n. 1, p. 83-91, 1997.

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

GOPALDAS, T.; DESHPANDE, S.; JOHN, C. Studies on a wheat-based amylase-rich food. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 10, n. 3, p. 55-59, 1988.

GRUJIC, O.S.; PEJIN, J.D.; DENCIC, S.S. The influence of technological parameters on malt quality produced from different triticale varieties. **Zbornik Matice srpske za prirodne nauke**, v. 116, p. 297-303, 2009.

GUALANO, N.A.; DEL FUEYO, P.A.; BENECH-ARNOLD, R.L. Potential longevity (KI) of malting barley (*Hordeum vulgare* L.) grain lots relates to their degree of pre-germination assessed through different industrial quality parameters. **Journal of Cereal Science**, v. 60, 2014, p 222-228.

GUARIENTI, E.M. **Qualidade industrial de trigo**. Passo Fundo: Embrapa, 1996, 36 p.

HAMER, R.J.; MacRITCHIE, F.; WEEGELS, P.L. Structure and functional properties of gluten In: KHAN, K.; SHEWRY, P.S. **Wheat: chemistry and technology**. 4a ed. St Paul, Minnessota (EUA): AACC, 2009, p. 153-178.

HASSANI, A.; ZARNKOW, M.; BECKER, T. Influence of malting conditions on sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) as a raw material for fermented beverages. **Food Science and Technology International**, 71. p. 1-11, 2013. Disponível em: <http://fst.sagepub.com/content/early/2013/06/10/1082013213490710> Acesso em: mar 2014.

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

HENRY, R.J.; MARTIN, D.J.; BLAKENEY, A. B. Reduction of the α -amylase content of sprouted wheat by pearling and milling. **Journal of Cereal Science**, v. 5, p. 155-166, 1987.

HORNSEY, I.S. **A history of beer and brewing**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2003, 724 p.

HOUGH, J.S. Malt-a package of enzymes and food substances In: HOUGH, J.S. **The biotechnology of malting and brewing**. Cambridge: Cambridge University Press, 1991, p. 19-40.

HOUGH, J.S.; BRIGGS, D.E.; STEVENS, R.; YOUNG, T.W. **Malting and brewing science**. 2^a ed. Chapman & Hall: New York, 1982.

HUBNER, F.; SHEHL, B.D.; GEBRUERS, K.; COURTIN, C.M.; DELCOUR, J.A.; ARENDT, E.K. Influence of germination time and temperature on the properties of rye malt and rye malt based worts. **Journal of Cereal Science**, v. 52, p. 72-79, 2010.

HUDEK, K. Influence of harvest date and geographical location on kernel symptoms, fungal infestation and embryo viability of malting barley. **International Journal of Food Microbiology**, v. 113, p. 125–132, 2007.

HWANG, P.; BUSHUK, W. Some changes in the endosperm proteins during sprouting of wheat. **Cereal Chemistry**, v. 50, p. 147-160, 1973.

JENSEN, S.A.; MUNCK, L.; KRUGER, J.E. A rapid fluorescence method for assessment of pre-harvest sprouting of cereal grains. **Journal of Cereal Science**, v. 2, p. 187-201, 1984.

JOHN, C.; GOPALDAS, T. Reduction in the dietary bulk of soya-fortified bulgur wheat gruels with wheat-based amylase-rich food. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 10, n. 4, p. 50-53, 1988.

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

KASHANINEJAD, M.; DEHGHANI, A. A.; KASHIRI, M. Modelling of wheat soaking using two artificial neural networks (MLP and RBF). **Journal of Food Engineering**, v. 91, p. 602-607, 2009.

KATO, K.; NAKAMURA, W.; TABIKI, MIURA, H.; SAWADA, S. Detection of loci controlling seed dormancy on group 4 chromosomes of wheat and comparative mapping with rice and barley genomes. **Theoretical and Applied Genetics**, v.102, p.980-985, 2001.

KELLY, L.; BRIGGS, D. Barley maturity and the effects of steep aeration on malting **Journal of the Institute of Brewing**, v. 98, p. 329-334, 1992.

KING, R.W.; WETTSTEIN-KNOWLES, P. Epicuticular waxes and regulation of ear wetting and pre-harvest sprouting in barley and wheat. **Euphytica**, v. 112, p. 157-166, 2000.

KLOSE, C.; MAUCH, A.; WUNDERLICH, S.; THIELE, F.; ZARNKOW, M.; JACOB, F.; ARENDT, E.K. Brewing with 100% oat malt. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 117, n. 3, p. 411–421, 2011.

KULKARNI, K. D.; KULKARNI, D. N.; INGLE, U. M. Sorghum malt-based weaning food formulations: preparation, functional properties, and nutritive value. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 13, n. 4, p. 322-327, 1991.

KUMAR, A.; CHAUHAN, B. M. Chemical composition and utilization of pearl millet sprouts. **Nahrung**, v. 37, n. 4, p. 356-363, 1993.

LEELAVATHI, K.; VETRIMANI, R.; HARIDAS-RAO, P. Changes in the functional characteristics of wheat during soaking and subsequent germination. **Journal of Food Science and Technology**, v. 277, n. 5, p. 349-354, 1990.

LEMAR, L. E.; SWANSON, B. G. Nutritive value of sprouted wheat flour. **Journal of Food Science**, v. 41, n. 3, p. 719-720, 1976.

LORENZ, K. Cereal sprouts: composition, nutritive value, food applications. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 13, n. 4, p. 353-385, 1980.

LORENZ, K.; KULP, K. Sprouting of cereal grains - effects on starch characteristics. **Starch**, v. 33, n. 6, p. 183-187, 1981.

LORENZ, K.; VALVANO, R. Functional characteristics of sprout-damaged soft white wheat flours. **Journal of Food Science**, v. 46, p. 1018-1020, 1981.

MARERO, L. M.; PAYUMO, E. M.; AGUINALDO, A. R.; HOMMA, S. Vitamin E constituents of weaning foods from germinated cereals and legumes. **Journal of Food Science**, v. 56, n. 1, p. 270-271, 1991.

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

MAYER, A. M.; POLJAKOFF-MAYBER, A. **The germination of seeds**. 4. ed. Oxford: Pergamon Press, 1989. 270 p.

MAYOLLE, J.E.; LULLIEN-PELLERIN, V.; CORBINEAU, F.; BOIVIN, P.; GUILLARD, V. Water diffusion and enzyme activities during malting of barley grains: A relationship assessment. **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 358-365, 2012.

McCAIG, R.; LI, Y. Effect of pre-harvest sprouting damage on the storability and malting quality of 2009 crop AC Metcalfe, CDC Copeland and CDC Kendall barley. **Technical Report/CMBTC**, v. 15, p. 1-45, 2011. Disponível em: http://www.cmbtc.com/CMBTC_Site/Older_Reports_files/2009%20crop%20PHSD%20Report%20%20final.pdf Acesso em: 04 mar 2015.

McMASTER, G.J.; DERERA, N.F. Methodology and sample preparation when screening for sprouting damage in cereals. **Cereal Research Communications**, v.4, n.2, p.251-254, 1976.

MEZIAT, A.; VIEIRA, R.C.M.T. Política de desenvolvimento produtivo e sua extensão à cadeia produtiva do trigo. In: CUNHA, G.R. **Oficina sobre trigo no Brasil**. Passo Fundo: Embrapa, 2009 p. 15-28.

MIRANDA, M. Z. **Trigo: germinação e posterior extrusão para obtenção de farinha integral extrusada de trigo germinado**. Documentos on line, n. 74, 2006,

34 p. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do74.pdf Acesso em: 20/03/2012.

MIRANDA, M. Z. de. **Efeito do tempo de germinação do trigo e das variáveis de extrusão na qualidade tecnológica e nutricional de farinha integral**. 1998. 216 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1998.

MIRANDA, M.Z.; GUARIENTI, E.M. Enzimas de trigo: sua presença na germinação e possíveis implicações na qualidade tecnológica. In: CUNHA, G.R.; PIRES, J.L.F. **Germinação pré-colheita em trigo**. Passo Fundo: Embrapa, 2004, p.231-290.

MOOT, D.J.; EVERY, D. A comparison of bread baking, falling number, α -amylase assay and visual method for the assessment of pre-harvest sprouting in wheat. **Journal of Cereal Science**, v. 11, p. 225-234, 1990.

MORAD, M. M., RUBENTHALER, G. L. Germination of soft white wheat and its effect in flour fractions, breadbaking, and crumb firmness. **Cereal Chemistry**, v. 60, n. 6, p. 413-417, 1983.

NEETHIRAJAN, S.; JAYAS, D.S.; WHITE, N.D.G. Detection of sprouted wheat kernels using soft X-ray image analysis. **Journal of Food Engineering**, v.81, p. 509-513, 2007.

NIELSEN, M.T., MCCRATE, A.J., HEYNE, E.G., PAULSEN, G.M. Effect of weather variables during maturation on preharvest sprouting of hard white winter wheat. **Crop Science**, v. 24, p. 779-782, 1984.

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

NYACHIRO, J.M.; CLARKE, F.R.; DEPAUW, R.M.; KNOX, R.E.; ARMSTRONG, K.C. Temperature effects on seed germination and expression of seed dormancy in wheat. **Euphytica** v. 126, n. 1, p 123-127, 2002.

OKUYAMA, L. A.; RIEDE, C. R.; CAMPOS, L. A. C.; SCHOLZ, M. B. S. Avaliação de cultivares de trigo quanto à germinação na espiga. In: REUNIÃO DA COMISSÃO CENTRO SUL BRASILEIRA DE PESQUISA DE TRIGO, 18, 2003, Guarapuava, PR.

Palestras, Resumos e Atas... Guarapuava: Fundação Agrária de Pesquisa Agropecuária, 2003. p.191-193.

ORTH, R.A.; SHELLENBERGER, J.A. Origin, production, and utilization of wheat. In: POMERANZ, Y. (ed) **Wheat: chemistry and technology**. 3^a ed., v. 1, St. Paul (USA): AACC, 1988, 514 p.

OSÓRIO, E.A. **A cultura do trigo**. São Paulo: Ed. Globo, 1992, 218 p.

OSÓRIO, E.A. Variedades e melhoramento. In: FUNDAÇÃO CARGILL. **Trigo no Brasil**. Campinas: Fundação Cargill, v. 1, 1982, p.147-197.

OWUSU-MENSAH, E.; ODURO, I.; DZIEDZOAVE, N.T.; SARFO, K.J. Improving the malting qualities of rice grain using gibberellic acid (GA₃). **American Journal of Experimental Agriculture**, v. 1, n. 4, p. 432-439, 2011.

PALMER, G.H. The industrial use of gibberellic acid and its scientific basis—a review. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 80, n. 1, p. 13-30, 1974.

PEDERSEN, B.; HANSEN, M.; MUNCK, L.; EGGUM, B. O. Weaning foods with improved energy and nutrient density prepared from germinated cereals. 2. Nutritional evaluation of gruels based on barley. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 11, n. 2, p. 46-52, 1989.

PELEMBE, L. A. M., DEWAR, L.A.M.; TAYLOR, J.R.N. Effects of malt conditions on pear millet malt quality. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 108, n. 1, p. 7-12, 2002.

PHIARAIS, B.P.N.; WIJNGAARD, H.H.; ARENDT, E.K. The impact of kilning on enzymatic activity of buckwheat malt. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 111, n. 3, p. 290–298, 2005.

PIRES, C.V.; OLIVEIRA, M.G.A.; ROSA, J.C.; COSTA, N.M.B.; Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes proteicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 179-187, 2006.

POMERANZ, Y. Chemical composition of kernel structures. In: POMERANZ, Y. **Wheat: chemistry and technology**. 3^a ed., v. 1 St. Paul (USA): AACC, 1988, p. 68-114.

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

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

PYLER, R.E.; THOMAS, D.A. Malted cereals:their production and use. In: KULP, K; PONTE JR.; J.G. **Handobook of cereal Science and technology**. 2ª ed. New York: Marcel Dekker, 2000, p. 685-696.

RANHOTRA, G. S.; LOEWE, R. J.; LEHMANN, T. A. Breadmaking quality and nutritive value of sprouted wheat. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 5, p. 1373-1375, 1977.

REDDY, L.V.; METZGER, R.J.; CHING, T.M. Effect of temperature on seed dormancy of wheat. **Crop Science**, v. 25, p.455-458, 1985.

REIS, M.S.; CARVALHO, F.I.F. Eficiência de três métodos artificiais para identificação da variabilidade do caráter germinação na espiga em trigo. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.1, n.1, p.63-72, 1989.

RESIO, A.N.C.; AGUERRE, R.J.; SUÁREZ, C. Study of some factors affecting water absorption by amaranth grain during soaking. **Journal of Food Engineering**, v. 60, p. 391-396, 2003.

ROSSI, R. M.; NEVES, M. F. **Estratégia para o trigo no Brasil**. São Paulo: Ed. Atlas, 2004, 224 p.

SHARMA, S.; NAGI, H. P. S.; SEKHON, K. S. Effect of blending laboratory sprouted grains on milling and baking properties of wheat. **Journal of Food Science and Technology**, v. 25, n. 6, p. 330-334, 1988.

SHEWRY, P.R.; CHARMET, G.; BRANLARD, G.; LAFIANDRA, D.; GERGELY, S.; SALGADO, A.; SAULNIER, L.; BEDIO, Z.; CLARE MILLS, E.N.; WARD, J.L. Developing new types of wheat with enhanced health benefits. **Trends in Food Science & Technology**, v. 25, n. 2, p. 1-8, 2012.

SHOUP, F. K.; POMERANZ, Y.; DEYOE, C. W. Amino acid composition of wheat varieties and flours varying widely in bread-making potentialities. **Journal of Food Science**, v. 31, p. 94-101, 1966.

SINGH, T.; BAINS, G.S. Storage of wheat malt; sorption properties and water activity interrelations with malt and wort characteristics. **Cereal Chemistry**, v. 65, n. 2, p. 118-122, 1988.

SINGH, N.; SEKHON, K. S.; NAGI, H. P. S. Effect of temperature on the extrusion behaviour of flour from sound and sprouted wheat. **Journal of Food Science and Technology**, v. 31, n. 3, p. 233-235, 1994.

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.

SINGKORNART, S.; EDOU-ONDO, S.; RYU, G.H. Influence of germination and extrusion with CO₂ injection on physiochemical properties of wheat extrudates. **Food chemistry**, v. 143, p. 122-131, 2014.

SOLE, S.M. Effects of pregermination on germination properties of barley and resultant malt quality. **Journal of American Society of Brewing Chemists**, v. 52, n. 2, p. 76-83, 1994.

SUHASINI, A.W.; MUALIKRISHNA, G.; MALLESHI, N.G. Free sugars and non-starch polysaccharide contents of good and poor malting varieties of wheat and their malts. **Food Chemistry**, v. 60, n. 4, p. 537-540, 1997.

THAKUR, K.R.A.; GUPTA, A.K. Water absorption characteristics of paddy, brown rice and husk during soaking. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 252–257, 2006.

TRAORÉ, T.; MOUQUET, C.; ICARD-VERNIERE, C.; TRAORÉ, A.S.; TRECHE, S. Changes in nutrient composition, phytate and cyanide contents and α -amylase activity during cereal malting in small production units in Ouagadougou (Burkina Faso). **Food Chemistry**, v. 88, p.105–114, 2004.

WAHED, M. A.; MAHALANABIS, D.; BEGUM, M.; RAHMAN, M.; ISLAM, M. S. Energy dense weaning foods liquefied by germinated-wheat amylase: effects on viscosity, osmolality, macronutrients, and bacterial growth. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 15, n. 3, p. 257-261, 1994.

WRIGLEY, C.W. Wheat: a unique grain for the world. In: KHAN, K.; SHEWRY, P.S. **Wheat: chemistry and technology**. 4^a ed., St Paul, Minnesota: AACC, 2009, p. 1-17.

YADAV, S.K. ; LUTHRA, Y.P. ; SOOD, D.R. ; AGGARWAL, N.K. Gibberellic acid (GA3) induced changes in proanthocyanidins and malt quality of two- and six-row husked barleys. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 55, p. 87–96, 2000.

YAHYA, H.; LINFORTH, R.S.T.; COOK, D.J. Flavour generation during commercial barley and malt roasting operations: A time course study. **Food Chemistry**, v. 145, n. 15, p. 378-387, 2014.

YAN, S.; WU, X.; DAHLBERG, J.; BEAN, S.R.; MacRITCHIE, F.; WILSON, J.D.; WANG, D. Properties of field-sprouted sorghum and its performance in ethanol production. **Journal of Cereal Science**, v. 51, n. 3, p. 374-380, 2010.

XING, J.; SYMONS, S.; SHAHIN, M.; HATCHER, D. Detection of sprout damage in Canada Western Red Spring wheat with multiple wavebands using visible/near-infrared hyperspectral imaging. **Biosystems engineering**, v. 106, p.188-194, 2010.

ZARNKOW, M.; KEBLER, M.; BURBERG, F.; BACK, W.; ARENDT, E.K.; KREISZ, S. The use of response surface methodology to optimise malting conditions of proso millet (*Panicum miliaceum* L.) as a raw material for gluten-free foods. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 113, n. 3, p. 280–292, 2007.

ZHU, K.X.; ZHOU, H.M.; QIAN, H.F. Proteins extracted from defatted wheat germ: nutritional and structural properties. **Cereal chemistry**, v. 83, n. 1, p. 69-75, 2006.

CAPÍTULO II

ALTERAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS E ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE TRIGO COM GERMINAÇÃO PRÉ-COLHEITA¹

RESUMO - O trigo na colheita está exposto a danos por chuva, que podem levar à alteração na qualidade e perda de valor comercial. O objetivo desse trabalho foi caracterizar as alterações físico-químicas e da atividade enzimática de diferentes variedades de trigo da região Sul, que sofreram danos por chuva, detectado pelo método de *falling number*. Treze amostras foram avaliadas quanto a peso hectolitro, peso de mil sementes, proteína, açúcares redutores, nitrogênio solúvel, nitrogênio de aminoácidos livres e atividade enzimática (α e β -amilase, β -glucanase e protease). As alterações na fração de gliadina foram avaliadas por eletroforese SDS-PAGE. As variáveis açúcares redutores, nitrogênio solúvel, nitrogênio de aminoácidos livres, atividade de α -amilase, β -glucanase e protease apresentaram correlações significativas com *falling number*. À medida que houve redução do *falling number*, as gliadinas apresentaram alterações nas bandas entre 40 e 30 KDa, que ficaram mais intensas.

Palavras-chave: *Triticum aestivum*. *Falling number*. Dano por chuva. SDS PAGE.

ABSTRACT - During harvest, wheat is exposed to damage from rain, which may lead to changes in quality and loss of commercial value. The aim of this study was to characterize the changes in different varieties of wheat from the south of Brazil, damaged by rain as detected with the falling number method. Thirteen samples were evaluated for hectoliter weight, thousand-seed weight, protein, reducing sugars, soluble nitrogen, free amino nitrogen and enzyme activity (α and β -amylase, β -glucanase and protease). Changes in the gliadin fraction were evaluated by SDS-PAGE electrophoresis. The variables, reducing sugars, soluble nitrogen, free amino nitrogen, the activity of α -amylase, β -glucanase and protease all showed significant correlation with the falling number test. As the falling number values were reduced, the gliadins displayed changes to the 40 and 30 KDa bands, which become more intense.

Keywords: Wheat. Falling number. Rain damage. SDS PAGE.

¹ Artigo publicado na revista Ciência Agronômica, v. 46, n. 3, p. 524-531, 2015.

1 INTRODUÇÃO

Germinação pré-colheita é um importante problema na cultura do trigo em diferentes regiões do mundo, incluindo o Brasil, onde com certa frequência, chuvas no período da colheita causam danos tão severos que acarretam grandes perdas para os produtores rurais. Essas perdas são decorrentes de mudanças nas propriedades físicas, na composição química, no poder germinativo e nas propriedades tecnológicas do trigo (CUNHA; PIRES, 2004). As alterações podem alcançar níveis que levam ao rebaixamento da classificação do trigo, pois segundo a legislação brasileira, o trigo para moagem deve apresentar padrões mínimos para *falling number* (número de queda), força de glúten e estabilidade para classificação como melhorador, pão, doméstico ou básico (BRASIL, 2010).

Embora o problema tenha forte relação com a chuva e alta umidade, o comportamento das diferentes variedades de trigo é distinto, pois é influenciado tanto por fatores climáticos como por fatores anatômicos e genéticos (BARNARD; SMITH, 2009; CUNHA; PIRES, 2004; JIANG; XIAO, 2005). Havendo as condições adequadas, alterações são observadas nos grãos, em virtude principalmente do conjunto enzimático que é ativado pelos mecanismos que regulam o processo de germinação (WOONTON et al., 2005).

Para a identificação da severidade do problema, um dos principais parâmetros utilizados é a análise de *falling number* (FN), um teste que avalia mudanças na fração amilácea do trigo e da farinha em razão do aumento da atividade enzimática e detecta a perda de viscosidade das suspensões. A qualidade de produtos fabricados com farinhas com valores de FN menor que o padrão mínimo (200 s) em comparação com farinhas com mais de 250 s é prejudicada, sendo que no primeiro caso são observados defeitos como massas difíceis de manusear, volume maior no forno, miolo úmido e pegajoso e células de ar maiores (CUNHA; PIRES, 2004).

O teste de FN, entretanto, não consegue caracterizar todas as demais mudanças sob ação das enzimas que ocorrem na germinação pré-colheita. Tais informações são importantes para uma melhor compreensão a respeito das consequências do dano, para identificar se existem padrões de alterações, bem como, qual o nível de correlação entre as alterações observadas. Além disso, embora os impactos da germinação pré-colheita sobre os cereais tenham sido

estudados há várias décadas, a maioria dos estudos utiliza condições simuladas de chuva e avaliam poucos parâmetros.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar diferentes variedades de trigo provenientes de distintas localidades do Sul do Brasil, que sofreram germinação pré-colheita, quanto às suas propriedades físicas, químicas e atividade enzimática.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram obtidas inicialmente vinte amostras de trigo de diferentes variedades e localidades do Paraná e Rio Grande do Sul, todas cultivadas no ano de 2012. Dessas amostras iniciais, treze apresentaram valor de FN menor que 200 s, que caracteriza germinação pré-colheita, e somente essas foram objeto de estudo desse trabalho. As amostras coletadas foram secas sob condições naturais e, então, subamostras foram obtidas e mantidas congeladas (-20 °C) até as análises. As análises foram conduzidas na Universidade Estadual de Londrina e no Instituto Agronômico do Paraná, Londrina.

O método n. 56-81B (AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS, 2000) foi utilizado para determinar o FN em triplicata. O peso de mil sementes (PMS) foi determinado com a metodologia descrita na Regra para Análise de Sementes (RAS) (BRASIL, 2009) e os resultados expressos em gramas. A determinação de peso hectolitro (PH) utilizou balança semi-analítica (GEHAKA, modelo BK 4001 AGRI) com kit apropriado à *determinação*, seguindo as instruções do fabricante. O teste foi realizado em triplicata e os resultados expressos em kg hL⁻¹.

As análises de composição química foram realizadas em triplicata. A determinação de proteínas e nitrogênio total (% base seca e mg/100g grão base seca) utilizou o método de micro Kjeldahl, método 46-12, (N x 5,7) (AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS, 2000). Açúcares redutores (g/100g) foram analisados pelo método de Somogy-Nelson (MALDONADE et al., 2013).

Nitrogênio de aminoácidos livres (mg/grama de grão) e nitrogênio solúvel (mg/grama de grão) utilizaram os métodos 4.10 e 4.9.1 da EBC (European Brewery Convention) (EUROPEAN BREWERY CONVENTION, 2005), sendo os extratos obtidos em triplicata e as determinações realizadas em duplicata para cada extrato.

Na determinação de α -amilase, β -amilase e β -glucanases utilizaram-se kits enzimáticos Ceralpha, Betamyl-3 e Azo-Barley-glucan (Megazyme, Irlanda),

respectivamente. As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos nas unidades indicadas pelo fabricante.

A atividade de protease seguiu o método descrito por Sarath, De La Motte e Wagner (1989) com algumas modificações. O extrato foi obtido de 1 g de trigo moído, peneirado (20 mesh) adicionado de 5 mL de tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,5. O material foi homogeneizado em *shaker* refrigerado (4 °C, 2 horas). A suspensão foi centrifugada (15 min., 8.000 x g, 4 °C), e o sobrenadante separado e mantido congelado (-20 °C) até o momento da determinação.

A atividade das proteases utilizou 250 µL de solução de azocaseína (2,5% em tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 7,5) pré-aquecida a 35 °C e colocada em tubo de microcentrífuga. Ao substrato adicionou-se 150 µL do extrato enzimático pré-aquecido (35 °C), e se incubou por 30 minutos a 35 °C. A reação foi interrompida pela adição de 1,2 mL de solução de ácido tricloroacético 10%, o material foi centrifugado (14.000 x g, 8 min.) e do sobrenadante, tomou-se 1,2 mL em um tubo de ensaio que continha 1,4 mL de NaOH 1M e determinada a absorbância a 440 nm em espectrofotômetro (Biochrom, modelo Libra S22). Os extratos foram realizados em triplicata e as análises em duplicata. Uma unidade de atividade proteolítica correspondia à quantidade de enzima necessária para promover a mudança em uma unidade de absorbância.

As alterações das gliadinas foram determinadas por eletroforese em sistema SDS-PAGE, segundo Peña, González e Cervantes (2004) com algumas modificações. Cerca de 200 mg de trigo moído (20 mesh) foram pesados em béquer e adicionados 7,5 mL de propanol 50% (v/v). O material ficou em banho com agitação a 65 °C por 30 minutos e depois centrifugado por 2 minutos a 10.000 rpm. O sobrenadante foi separado e o precipitado ressuspenso e repetido o procedimento. O sobrenadante foi mantido em estufa com circulação de ar a 90 °C por 5 horas para concentração. Após este período foram adicionados 3 mL de solução TRIS contendo 2% de SDS (m/v), 40% de glicerol (m/v), e 0,02% (m/v) de Azul de Coomassie Brilhante.

Foram aplicados 10 µL de extrato em géis de poliacrilamida no sistema SDS-PAGE. O gel de corrida continha solução TRIS com pH 8,5, concentração de acrilamida de 15% e 0,48% de bis-acrilamida; 0,1% de SDS, 0,11% de TEMED (N, N, N',N'-Tetrametiletilenodiamina) e 0,04 % de persulfato de sódio. O gel de concentração continha 4% de acrilamida e 0,13% de bis-acrilamida; 0,1% de SDS,

0,04% de TEMED e 0,04 % de persulfato de sódio, água destilada e solução TRIS de pH 6,8. A solução tampão do tanque continha 3% de Trisma, 14,4% de glicina, 1% de SDS, com pH 8,3. A eletroforese foi conduzida em 11 mA com polaridade normal (Loccus Biotecnologia, modelo LPS-300 V). Ao final da corrida, os géis foram fixados e corados em uma mistura (4:1) de solução de TCA 5% e solução de Azul de Coomassie 0,1% e descoloridos em água destilada.

As análises obedeceram a um delineamento inteiramente casualizado, sendo as diferentes amostras as variáveis independentes. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando identificada diferença significativa, o Teste de Tukey a 1% de probabilidade foi utilizado para comparação entre as médias. Foi determinado o coeficiente de correlação de Pearson entre todas as variáveis respostas. O software Statistica 5.0 (StatSoft) foi utilizado.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados foram intencionalmente dispostos em ordem decrescente de FN (tabela 1). Todas as amostras apresentaram valores de FN menor que o padrão mínimo exigido pela legislação brasileira (200 s) (BRASIL, 2010), que indica germinação pré-colheita (CUNHA; PIRES, 2004), mas com grande variação, de 180 a 62 s. Segundo Mares e Mrva (2008), o FN é influenciado tanto pelas condições ambientais como pelo genótipo e, como as amostras foram provenientes do campo, as condições são muito variáveis e não controladas. Além disso, a resposta da planta ao ambiente varia em função da dormência da semente (regulada geneticamente) e de aspectos anatômicos (CUNHA; PIRES, 2004). Ao estudar tolerância à germinação pré-colheita, pesquisadores verificaram diferenças quanto ao resultado de FN tanto para variedades distintas plantadas no mesmo ano e local como também para a mesma variedade plantada no mesmo local, porém em anos diferentes (BIDDULPH et al., 2008). No Brasil, tal comportamento já foi observado, demonstrando que variedades diferentes plantadas no mesmo local e colhidas na mesma época apresentaram valores diversos de FN (FELÍCIO et al., 2002).

Tabela 1 – Valores de *falling number* (FN), peso hectolitro (PH), peso de mil sementes (PMS), teor de proteína para amostras de trigo (*Triticum aestivum*) de diferentes variedades e localidades que sofreram germinação pré-colheita.

Amostra	FN (s)	PH (kg hL ⁻¹)	PMS (g)	Proteína (%b.s.)
BRS Pardela-Mariópolis (PR)	180 ± 2 a	70 ± 0 e	25,45 ± 0,07 d	15,4 ± 0,0 c,d,e
Codetec CD 150-Mariópolis (PR)	163 ± 1 b	76 ± 0 b,c	25,51 ± 0,09 d	16,9 ± 0,1 a,b
Codetec CD 150-Honório Serpa (PR)	155 ± 3 b	76 ± 0 b,c	27,85 ± 0,08 c	16,0 ± 0,0 b,c,d
Fundacep Cristalino-Mariópolis (PR)	129 ± 3 c	78 ± 0 a	19,46 ± 0,07 f	16,8 ± 0,1 a,b
Codetec CD 150-Coronel Vivida (PR)	123 ± 5 c	76 ± 0 b,c	26,27 ± 0,09 d	15,3 ± 0,1 c,d,e
TBIO Mirante-Mariópolis (PR)	106 ± 2 d	69 ± 0 e	23,75 ± 0,07 e	13,2 ± 0,0 g
TBIO Mirante-Pato Branco (PR)	80 ± 3 e	77 ± 0 a,b	32,77 ± 0,12 a	15,0 ± 0,0 d,e,f
OR Quartzo-Erechim (RS)	78 ± 3 e,f	62 ± 1 g	30,42 ± 0,07 b	17,8 ± 0,1 a
BRS Pardela-Coronel Vivida (PR)	76 ± 3 e,f,g	63 ± 1 g	19,41 ± 0,04 g	16,6 ± 0,2 a,b,c
BRS Pardela-Honório Serpa (PR)	71 ± 3 e,f,g	69 ± 0 e	30,93 ± 0,06 b	17,1 ± 0,1 a,b
BRS Guamirim-Cruz Alta (RS)	64 ± 0 f,g	66 ± 0 f	20,62 ± 0,07 f	14,6 ± 0,0 e,f
BRS Guamirim-Ijuí (RS)	62 ± 0 g	73 ± 1 d	19,55 ± 0,07 f	14,3 ± 0,0 e,f,g
OR Marfim-Mariópolis (PR)	62 ± 0 g	54 ± 1 h	16,27 ± 0,05 g	13,7 ± 0,0 f,g
<i>F</i>	651,6**	475,1**	336,3**	28,9**

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade; **Significativo ao nível de 1%.

Sete amostras que apresentaram FN menor que 200 s tiveram PH menor que 72, o mínimo exigido para trigo para moagem, mas as outras variaram entre 73 e 78. O peso hectolitro teve coeficiente de correlação significativa com o FN ($r = 0,52$) (tabela 4), e maior do que o valor encontrado por Dick, Walsh e Gilles (1974) ($r = 0,19$), que estudaram sete variedades de trigo *durum* e promoveram artificialmente a germinação. 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, mas já ocorreram alterações devido à atividade enzimática, capazes de provocar reduções nos valores de FN (MARES; MRVA, 2008). Isso possivelmente explica o fato de que mesmo tendo sofrido dano por chuva e tendo FN menor que 200 s algumas amostras apresentaram PH acima de 72.

O peso de mil sementes (PMS) não teve correlação significativa com o FN ($r = 0,06$) (tabela 4), assim como ocorreu no estudo de Dick, Walsh e Gilles (1974). O PMS foi a variável que apresentou menor correlação com as demais variáveis

(tabela 4) e os valores variaram de 38,2 a 22,4 g, típico de grãos considerados médios a muito pequenos (GUARIENTI, 1996). Estudo com 20 variedades de trigo no Rio Grande do Sul durante dois anos demonstrou que no ano de maior índice pluviométrico na fase de maturação dos grãos, 80% das amostras apresentaram redução de no máximo 20% do PMS, em relação ao ano de menor índice pluviométrico. Os valores variaram de 24,5 a 37 g para PMS (WENDT; CAETANO; NUNES, 2007).

Quanto às proteínas, os teores encontrados foram de 13,2 a 17,1% (tabela 1), similares aos pesquisados por Vázquez et al. (2012) em amplo estudo na América Latina (23 genótipos) que encontraram valores de até 16,1%. Além disso, o processo de germinação estimulado pela chuva pode levar ao aumento na concentração de proteínas, devido à perda de matéria seca que ocorre em grãos durante a germinação, em função do consumo de reservas principalmente de carboidratos (CUNHA; PIRES, 2004). Tian et al. (2010) maltearam aveia a 16 °C por 144 horas e observaram que os teores de proteína foram de 18,98% em grãos intactos e 22,02% nos grãos malteados.

Os menores percentuais de nitrogênio de aminoácidos livres e nitrogênio solúvel correspondem àquelas amostras com maiores valores de FN, ou uma relação inversa (tabela 2). Quanto à variabilidade dessas alterações, nos estudos de Jin, Zhang e Du (2008) com maltes de trigo, os valores foram de 81,3 a 101,6 mg/100g de nitrogênio de aminoácidos livres, semelhantes aos observados nos dados desta pesquisa (de 54 a 157 mg/100g). Isso demonstra que os trigos analisados tiveram a fração protéica alterada aos níveis de trigos submetidos à maltagem (germinação controlada). Os valores determinados neste trabalho são para extração a 45 °C, simulando um processo de mosturação e segundo Osman et al. (2002) menores teores ocorreriam em extração a frio (0 °C) ou em temperatura ambiente. Outros cereais também apresentam esse comportamento quando germinados, com aumento da atividade proteolítica e dos produtos da hidrólise, como observado em aveia (TIAN et al., 2010).

Os resultados para nitrogênio solúvel e nitrogênio de aminoácidos livres tiveram a maior correlação entre si ($r = 0,93$) (tabela 4) entre os parâmetros analisados. Além disso, o aumento em nitrogênio solúvel explica 86% ($r^2 =$ coeficiente de determinação) do aumento em nitrogênio de aminoácidos livres. Osman et al. (2002) em avaliação de atividade de endoproteases de maltes de

cevada, independente da temperatura de obtenção do extrato, encontraram semelhante relação. A concentração de nitrogênio de aminoácidos livres é menor que a concentração de nitrogênio solúvel, pois as endoproteases hidrolisam as proteínas de reserva do endosperma primeiramente em peptídeos e na sequência carboxipeptidases e aminopeptidases completam a hidrólise em aminoácidos livres (JONES, 2005). O nitrogênio solúvel correspondeu entre 21,8 a 50,2% do total de nitrogênio proteico presente nos grãos (tabela 2).

Tabela 2 – Valores de nitrogênio total, nitrogênio solúvel, nitrogênio de aminoácidos livres e açúcares redutores de amostras de trigo (*Triticum aestivum*) de diferentes variedades e localidades que sofreram germinação pré-colheita.

Amostras ⁽¹⁾	Nitrogênio total (mg/g grão b.s.)	Nitrogênio solúvel (mg/g grão b.s.)	Nitrogênio de aminoácidos livres (mg/g grão b.s.)	Açúcares redutores (g/100g b.s.)
BRS Pardela-Mariópolis (PR)	26,9±0,4 c,d,e	7,3±0,5 d,e	0,61±0,01 f	0,20±0,00 f
Codetec CD 150-Mariópolis (PR)	29,6±0,5 a,b	6,4±0, 2e	0,57±0,02 f,g	0,20±0,01 f
Codetec CD 150-Honório Serpa (PR)	28,1±0,4 b,c,d	6,9±0,2 d,e	0,58±0,01 f,g	0,23±0,00 f
Fundacep Cristalino-Mariópolis (PR)	29,4±0,8 a,b	6,5±0,3 e	0,56±0,03 f,g	0,19±0,01 f
Codetec CD 150-Coronel Vívada (PR)	26,8±1,2 c,d,e	6,2±0,3 e	0,54±0,00 g	0,29±0,02 d,e
TBIO Mirante-Mariópolis (PR)	23,1±0,3 g	9,1±0,3 c	0,82±0,00 d	0,29±0,01 e
TBIO Mirante-Pato Branco (PR)	26,4±0,1 d,e,f	7,3±0,4 d,e	0,68±0,01 e	0,29±0,01 e
OR Quartzo-Erechim (RS)	31,3±0,4 a	7,9±0,2 d	0,88±0,01 d	0,45±0,02 c
BRS Pardela-Coronel Vívada (PR)	29,2±1,5 a,b,c	10,7±0,3 b	1,25±0,01 c	0,33±0,01 d,e
BRS Pardela-Honório Serpa (PR)	30,1±0,8 a,b	7,1±0,5 d,e	0,60±0,03 f,g	0,34±0,02 d
BRS Guamirim-Cruz Alta (RS)	25,6±0,0 e,f	9,9±0,2 c	0,70±0,00 e	0,51±0,01 b
BRS Guamirim-Ijuí(RS)	25,1±0,3 e,f,g	11,9±0,2 a,b	1,46±0,02 b	0,52±0,02 b
OR Marfim-Mariópolis (PR)	24,1±0,4 f,g	12,1±0,2 a	1,57±0,05 a	0,62±0,02 a
<i>F</i>	26,98**	75,5**	638,7**	147,9**

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade; ⁽¹⁾As amostras estão dispostas em ordem decrescente de *falling number*; **Significativo ao nível de 1%.

Os açúcares redutores (Tabela 2) aumentaram com a diminuição do FN ($r = -0,81$) (Tabela 4). A perda de viscosidade, detectada pelo FN indica hidrólise prévia dos polímeros que compõem o amido e consequente aumento de açúcares. Da Silva *et al.* (2008) em estudo de germinação de trigo em *stress* salino a 25 °C,

constatarem que nas sementes germinadas sem solução de NaCl, os teores de açúcares redutores nas duas variedades estudadas aumentaram de 0,2 mg/g para 0,55 mg/g no oitavo dia. Em trigo maltado por 24 horas a 30 °C, foi constatado aumento de até 6 vezes na concentração de açúcares livres (SUHASINI; MURALIKRISHNA; MALLESHI, 1997) e, em aveia, houve incremento da concentração de açúcares nas primeiras 48 horas de germinação a 16 °C, em função da atividade das amilases sobre o amido (TIAN et al., 2010).

À medida que houve redução nos valores de FN, houve uma tendência de aumento da atividade da α -amilase (Tabela 3) tendo sido encontrado coeficiente de correlação negativo ($r = -0,80$) (Tabela 4), que explica 64% da redução do FN. Entretanto, a relação entre FN, α -amilase e germinação pré-colheita ainda não está completamente elucidada. Em 77 amostras de trigo da Bélgica, foi observado que aquelas com atividade de α -amilase entre 0 e 1 UC/g, o FN variou de 150 a 450 s; assim como amostras que apresentaram FN abaixo de 150 s, apresentaram atividade de α -amilase variando de 0,5 a 6,5 UC/g. No mesmo trabalho, variação semelhante foi observada com relação a atividade enzimática e o pico de viscosidade medido com viscoamilógrafo Brabender (LENARTZ et al., 2002). Henry, Martin e Blakeney (1987) utilizaram o método *Phadebas* e, ao estudarem três variedades de trigo, encontraram correlação ($r = 0,99$), afirmando que atividades da ordem de 10-20 mU/g eram capazes de reduzir o FN.

Entre as enzimas analisadas, a β -amilase (Tabela 3) foi a que apresentou o menor coeficiente de correlação com o FN ($r = -0,04$) (Tabela 4), o que já havia sido indicado por Perten (1984). Os resultados encontrados foram de 86,2 a 201,7 UB/g, a menor variação encontrada para as enzimas estudadas. Estudo de caracterização enzimática com 59 genótipos de diferentes espécies e subespécies de trigo em duas safras, os autores encontraram um CV% de 30% para a atividade de β -amilase (HIDALGO et al., 2013). Em aveia e cevada maltadas em condições de temperatura que variaram de 10 a 20 °C e períodos de germinação de 48 a 144 horas, a atividade de β -amilase pouco variou (HÜBNER et al., 2010). Tal comportamento pode ser explicado, em parte, porque a β -amilase ocorre na forma livre ou ligada (WU et al., 2011) e necessita da ação de enzimas proteolíticas para ativá-la.

Tabela 3 – Atividade enzimática de α -amilase, β -amilase, β -glucanase e protease para amostras de trigo (*Triticum aestivum*) de diferentes variedades e localidades que sofreram germinação pré-colheita.

Amostras ⁽¹⁾	α -amilase ⁽²⁾ (UC/g)	β -amilase ⁽³⁾ (UB/g)	β -glucanase (U/kg grão)	Protease (U atividade/g grão)
BRS Pardela-Mariópolis (PR)	25,3±1,8 h	172,8±3,4 b	18,1±1,3 h	0,029±0,002 e
Codetec CD 150-Mariópolis (PR)	35,6±3,2 g,h	151,7±3,5 c	32,8±1,8 g	0,043±0,001 c,d
Codetec CD 150-Honório Serpa (PR)	50,5±0,6 e,f,g	173,3±10,0 b	29,1±1,8 g	0,034±0,002 e
Fundacep Cristalino-Mariópolis (PR)	45,8±2,7 e,f,g	123,2±3,1 d	36,7±0,3 g	0,037±0,002 d,e
Codetec CD 150-Coronel Vivida (PR)	43,6±1,8 f,g	124,5±2,8 d	47,7±1,4 f	0,049±0,002c
TBIO Mirante-Mariópolis (PR)	91,1±4,5 d	199,6±12,5 a	72,4±0,4 e	0,045±0,004 c,d
TBIO Mirante-Pato Branco (PR)	56,4±2,7 e,f	190,1±2,5 a,b	94,1±2,5 c	0,046±0,004 c
OR Quartzão-Erechim (RS)	59,2±2,7 e	188,2±5,3 a,b	31,6±2,1 g	0,046±0,003 c
BRS Pardela-Coronel Vivida (PR)	119,9±6,8 b,c	186,1±9,4 a,b	82,4±4,0 d	0,058±0,003 b
BRS Pardela-Honório Serpa (PR)	121,5±4,8 b	86,2±4,3 e	118,6±3,5 b	0,043±0,001 c,d
BRS Guamirim-Cruz Alta (RS)	155,8±6,1a	201,7±4,4 a	70,7±3,2 e	0,075±0,002 a
BRS Guamirim-Ijuí(RS)	117,7±6,6 b,c	146,8±4,1 c	90,7±1,4 c,d	0,058±0,001 b
OR Marfim-Mariópolis (PR)	104,9±4,6 c,d	150,3±2,7 c	187,7±3,8 a	0,072±0,004 a
<i>F</i>	108,7**	119,8**	691,3**	74,1**

Médias seguidas da mesma letra na coluna, não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 1% de probabilidade;

(1) As amostras estão dispostas em ordem decrescente de *falling number*;

(2) Unidade Ceralpha;

(3) Unidade Betamyl;

**Significativo ao nível de 1%

As β -glucanases (Tabela 3) apresentaram coeficiente de correlação negativo com o FN ($r = -0,71$) (Tabela 4), pois há aumento na atividade enzimática durante a germinação. Em cevada maltada a 15 °C e utilizando o kit *Azo-Barley-glucan* (Megazyme), os valores iniciais foram de 0,2 U/g no grão intacto e alcançou 1,1 U/g em uma das variedades estudada depois da maltagem (MAYOLLE *et al.*, 2012). A absorção de água e a difusão têm influencia na taxa de migração das enzimas que

degradam as paredes celulares (MAYOLLE et al., 2012), e a chuva com o grão no ponto de colheita oferece esta condição. A β -glucanase é uma das primeiras enzimas a apresentar aumento de atividade durante a germinação da cevada (KUNTZ; BAMFORTH, 2007) e a ativação reduz a viscosidade de pastas (WOOD, 2007), o que é detectado no teste de FN e explica a correlação encontrada. A atividade de β -glucanase teve correlação de $r = 0,69$ (Tabela 4), com açúcares redutores, pois a hidrólise das β -glucanas gera terminais redutores (JOHANSSON et al., 2006). As variações entre as diferentes amostras já foram observadas em outro estudo, já que a atividade da β -glucanase varia com a fonte (HÜBNER et al., 2010).

Tabela 4 – Coeficiente de correlação de Pearson entre as variáveis⁽¹⁾ estudadas em variedades de trigos que sofreram germinação pré-colheita (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$)

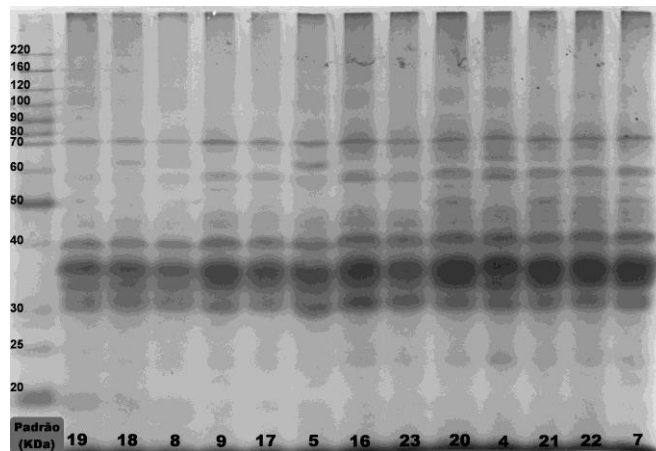
	FN	PH	PMS	P	NS	NAL	AR	α A	β A	β G	PT
FN	-	0,52**	0,06 ^{ns}	0,20*	-0,64**	-0,61**	-0,81**	-0,80**	-0,04 ^{ns}	-0,72**	-0,74**
PH	-	-	0,06 ^{ns}	0,16 ^{ns}	-0,66**	-0,64**	-0,72**	-0,50**	-0,24 ^{ns}	-0,58**	-0,62**
PMS	-	-	-	-0,02 ^{ns}	-0,07 ^{ns}	0,01 ^{ns}	-0,20 ^{ns}	-0,03 ^{ns}	-0,36*	0,25 ^{ns}	0,16 ^{ns}
P	-	-	-	-	-0,52**	-0,38*	-0,37*	-0,29 ^{ns}	-0,31 ^{ns}	-0,42**	-0,41*
NS	-	-	-	-	-	0,93**	0,77**	0,67**	0,26 ^{ns}	0,65**	0,68**
NAL	-	-	-	-	-	-	0,74**	0,50**	0,14 ^{ns}	0,66**	0,59**
AR	-	-	-	-	-	-	-	0,69**	0,11 ^{ns}	0,69**	0,83**
α A	-	-	-	-	-	-	-	-	0,07 ^{ns}	0,61**	0,75**
β A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-0,19 ^{ns}	0,20 ^{ns}
β G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,65**
PT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

⁽¹⁾Variáveis: FN-falling number, PH-peso hectolitro, PMS-peso de mil sementes, P-proteína, NS-nitrogenio solúvel, NAL-nitrogenio de aminoácidos livres, AR-açúcares redutores, α A-atividade de α -amilase, β A-atividade de β -amilase, β G-atividade de β -glucanase, PT-atividade de protease.

A atividade das proteases (Tabela 3) aumentou com a redução do FN ($r = -0,74$) (Tabela 4) porque a atividade proteolítica pode ser incrementada durante o período inicial do processo germinativo. Em trabalho avaliando proteases em variedades de trigo, Edwards et al. (1989) submeteram espigas de trigo à chuva em um simulador e depois de observarem sinais visíveis de germinação, constataram que em 40% das variedades estudadas, a atividade das proteases reduziu em comparação com os grãos não germinados. Em maltagem de sorgo a 25 °C por 6 dias, a atividade proteolítica, depois de um pico, apresentou no sexto dia de germinação a mesma atividade do primeiro (EVANS; TAYLOR, 1990). A extração das proteases foi realizada em uma única etapa em nosso trabalho, enquanto estudos com sorgo indicaram que a atividade de uma única extração era menor que a atividade total (EVANS; TAYLOR, 1990).

A atividade proteolítica foi analisada na eletroforese (Figura 1) onde é nítido que as frações entre 40 e 30 KDa aumentam de intensidade à medida que há redução do valor de FN. As amostras com valores de FN menores que 100 s (amostras 16; 23; 20; 4; 21; 22 e 7) apresentaram um maior número de bandas intermediárias entre 70 e 40 Kda. (Tabela 4). A amostra quatro apresenta também uma banda próxima a 20 KDa de baixa intensidade. Pesquisa sobre hidrólise de gliadina durante a germinação de trigo constatou que utilizando gliadina como substrato com incubação a 30 °C por 1 hora com proteases, houve a formação de peptídeos menores e completa redução das frações com mais de 43 KDa (BOTTARI et al., 1996). Também Mokhawa, Kerapeletswe-Kruger e Ezeogu (2013) em análise de SDS-PAGE de proteínas de sorgo, observaram que depois da maltagem a 30 °C, oito variedades estudadas apresentaram quase completa digestão das bandas com mais de 30 KDa. Neste trabalho, as amostras foram coletadas do campo e não foram submetidas a condições controladas e nenhuma apresentava indícios externos evidentes do processo de germinação. Do ponto de vista tecnológico essas informações são importantes, pois as gliadinas exercem papel fundamental nas propriedades de pães.

Figura 1 – Gel de eletroforese SDS-PAGE de gliadinas de amostras de trigo (*Triticum aestivum*) de diferentes variedades e localidades que sofreram germinação pré-colheita*



*As amostras estão dispostas do maior (esquerda) para o menor *falling number* (direita). Amostras: 19-Pardela-Mariópolis; 18-Codetec CD 150-Mariópolis; 8-Codetec CD 150-Honório Serpa; 9-Fundecep Cristalino-Mariópolis; 17-Codetec CD-150-Coronel Vivida; 5-TBIO Mirante-Mariópolis; 16-TBIO Mirante-Pato Branco; 23-OR Quartzo-Erechim; 20-BRS Pardela-Coronel Vivida; 4-BRS Pardela-Honório Serpa; 21-BRS Guamirim-Cruz Alta; 22-BRS Guamirim-Ijuí; 7-OR Marfim-Mariópolis.

4 CONCLUSÕES

As amostras colhidas e selecionadas apresentaram redução dos valores de *falling number* acompanhada por aumento da concentração de açúcares redutores, de nitrogênio solúvel e de nitrogênio de aminoácidos livres. Tais mudanças estavam relacionadas com o incremento da atividade enzimática sobre carboidratos estruturais e de reserva e sobre proteínas de reserva que foram constatadas neste trabalho. Parâmetros como peso hectolitro e peso de mil sementes não servem como indicativo da ocorrência de germinação pré-colheita.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**, 10 ed., St. Paul: AACC, 2000, v 1 e 2.

BARNARD, A.; SMITH, M. F. The effect of rainfall and temperature on the preharvest sprouting tolerance of winter wheat in the dryland production areas of the Free State Province. **Field Crops Research**, v. 112, n. 2/3, p. 158-164, 2009.

BIDDULPH, T. B.; PLUMMER, J.A.; SETTER, T.L; MARES, D.J. Seasonal conditions influence dormancy and preharvest sprouting tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) in the field. **Field Crops Research**, v. 107, n. 2, p. 116-128, 2008.

BOTTARI, A.; CAPOCCHI, A.; FONTANINI, D.; GALLUSCHI, L. Major proteinase hydrolysing gliadin during wheat germination. **Phytochemistry**, v. 43, n. 1, p. 39-44, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 38 de 30 de novembro de 2010. Regulamento Técnico do Trigo. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n. 29, Brasília, DF, 01 dez 2010. Seção 1. p. 2.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

CUNHA, G. R.; PIRES, J. L. F. **Germinação pré-colheita em trigo**. Passo Fundo: Embrapa, 2004. 320 p.

DA SILVA, R. N.; DUARTE, G.L.; LOPES, N.F.; MORAES, D.M.; PEREIRA, A.L.A. Composição química de sementes de trigo (*Triticum aestivum* L.) submetidas a estresse salino na germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 30, n. 1, p. 215-220, 2008.

DICK, J. D.; WALSH, D. E.; GILLES, K. A. The effect of field sprouting on the quality of durum wheat. **Cereal Chemistry**, v. 51, p. 180-188, 1974.

EUROPEAN BREWERY CONVENTION. **Analytica EBC**. Nürnberg: Verlag Hans Carl Getränke-Fachverlag, 2005.

EDWARDS, R. A., ROSS, A.S.; MARES, D.J.; ELLISON, F.W.; TOMLISSON, J.D. Enzymes from rain-damaged and laboratory germinated wheat I. Effects on product quality. **Journal of Cereal Science**, v. 10, n. 2, p. 157-167, 1989.

EVANS, D. J.; TAYLOR, J. R. N. Influence of cultivar and germination conditions on proteolytic activities in sorghum malt. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 96, n. 6, p. 399-402, 1990.

FELÍCIO, J. C.; CAMARGO, C.E.O.; GERMANI, R.; FREITAS, J.G. Rendimento e processo germinativo do grão na espiga de genótipos de trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 3, p. 289-294, 2002.

GUARIENTI, E. M. **Qualidade industrial do trigo**. Passo Fundo: Embrapa, 1996. 36 p.

HENRY, R. J.; MARTIN, D. J.; BLAKENEY. Reduction of the α -amylase content of sprouted wheat by pearling and milling. **Journal of Cereal Science**, v. 5, n. 2, p. 155-166, 1987.

HIDALGO, A.; BRUSCO, M.; PLIZZAN, L.; BRANDOLINI, A. Polyphenol oxidase, alpha-amylase and beta-amylase activities of *Triticum monococcum*, *Triticum turgidum* and *Triticum aestivum*: a two-year study. **Journal of Cereal Science**, v. 58, n. 1, p. 51-58, 2013.

HÜBNER, F.; O'NEIL, T.; CASHMAN, K.D.; ARENDT, E.K. The influence of germination conditions on beta-glucan, dietary fibre and phytate during the germination of oats and barley. **European Food Research Technology**, v. 231, n. 1, p. 27-35, 2010.

JIANG, G. L.; XIAO, S. Factorial cross analysis of pre-harvest sprouting resistance in white wheat. **Field Crops Research**, v. 91, n. 1, p. 63-69, 2005.

JOHANSSON, L.; VIRKKI, L.; ANTTILA, H.; ESSELSTROÖM, H.; TUOMAINEN, P.; SONTAG-STROHM, T. Hydrolysis of β -glucan. **Food Chemistry**, v. 97, n. 1, p. 71-79, 2006.

JONES, B. L. Endoproteases of barley and malt. **Journal of Cereal Science**, v. 42, n. 2, p. 139-156, 2005.

JIN, Y.; ZHANG, K.; DU, J. Effects of wheat protein content on endosperm composites and malt quality. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 114, n. 4, p. 289-293, 2008.

KUNTZ, R. J.; BAMFORTH, C. W. Time course for the development of enzymes in barley. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 113, n. 2, p. 196–205, 2007.

LENARTZ, J.; MASSAUX, C.; SINNAEVE, G.; SINDIC, M.; BODSON, B.; DARDENNE, P.; FALISSE, A.; DORANNE, C. Is the Hagberg falling number always linked to the α -amylase activity of wheat? *In*: COURTIN, C. M.; VERAVERBEKE, W. S.; DELCOUR, J. A. **Recent advances in enzymes in grains processing**. Leuven: Laboratory of Food Chemistry, 2002. p. 29-31.

MALDONADE, I. R.; CARVALHO, P.G.B.; FERREIRA, N.A.; MOULIN, B.S.F. Protocolo para determinação de açúcares redutores pelo método de Somogyi-Nelson. Brasília: Embrapa, 2013. 4 p.

MARES, D.; MRVA, K. Late-maturity α -amylase: low falling number in wheat in the absence of preharvest sprouting. **Journal of Cereal Science**, v. 47, n. 1, p. 6-17, 2008.

MAYOLLE, J.E.; LULLIEN-PELLERIN, V.; CORBINEAU, F.; BOIVIN, P.; GUILLARD, V. Water diffusion and enzyme activities during malting of barley grains: a relationship assessment. **Journal of Food Engineering**, v. 109, n. 3, p. 358-365, 2012.

MOKHAWA, G.; KERAPELETSWE-KRUGER, C. K.; EZEUGU, L. I. Electrophoretic analysis of malting degradability of major sorghum reserve proteins. **Journal of Cereal Science**, v. 58, n. 1, p. 191-199, 2013.

OSMAN, A.M.; COVERDALE, S.M.; COLE, N.; HAMILTON, S.E.; JERSEY, J.; INKERMAN, P.A. Characterization and assessment of the role of barley malt endoproteases during malting and mashing. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 108, n. 1, p. 62-67, 2002.

PEÑA, R. J.; GONZÁLEZ, H. G.; CERVANTES, F. Relationship between Glu-D1/Glu-B3 allelic combinations and bread-making quality related parameters commonly used in wheat breeding. *In*: GLUTEN WORKSHOP, 8, 2004. Cambridge. **Proceedings...** Cambridge: Royal Society, 2004. p. 156-157.

PERTEN, H. A modified falling number method suitable for measuring both cereal and fungal alpha-amylase activity. **Cereal Chemistry**, v. 61, p. 108-111, 1984.

SARATH, G.; DE LA MOTTE, R.; WAGNER, F.W. **Proteolytic enzymes: a practical approach**. Oxford: IRL Press at Oxford University Press, 1989. cap. 3, p. 25-55.

SUHASINI, A. W.; MURALIKRISHNA, G.; MALLESHI, N. G. Free sugars and non-starch polysaccharide contents of good and poor malting varieties of wheat and their malts. **Food Chemistry**, v. 60, n. 4, p. 537-540, 1997.

TIAN, B.; XIE, B.; SHI, J.; WU, J.; CAI, Y.; XU, T.; XUE, S.; DENG, Q. Physicochemical changes of oat seeds during germination. **Food Chemistry**, v. 119, n. 3, p. 1195-1200, 2010.

VÁZQUEZ, D.; BERGER, A.G.; CUNIBERTI, M.; BAINOTTI, C.; MIRANDA, M.Z.; SCHEEREN, P.L.; JOBET, C.; ZÚÑIGA, J.; CABRERA, G.; VERGES, R.; PEÑA, R.J. Influence of cultivar and environment on quality of Latin American wheats. **Journal of Cereal Science**, v. 56, n. 2, p. 196-203, 2012.

WENDT, W.; CAETANO, V. R.; NUNES, C. D. M. **Rendimento de grãos e fatores de produção de trigo em função da ocorrência de precipitação pluviométrica na fase reprodutiva**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2007. 4 p.

WOOD, P. J. Cereal β -glucans in diet and health. **Journal of Cereal Science**, v. 46, n. 3, p. 230-238, 2007.

WOONTON, B.W.; JACOBSEN, J.V.; SHERKAT, F.; STUART, I.M. Changes in germination and malting quality during storage of barley. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 111, n. 1, p. 33-41, 2005.

WU, M.J.; MCKAY, S.; HOWES, N.; HEGEDUS, E.; CHIN, J. Polymorphism and pedigree analysis of β -amylase isozymes in Australian wheat. **Journal of Cereal Science**, v. 53, n. 3, p. 362-370, 2011.

CAPÍTULO III

OTIMIZAÇÃO DA MALTAGEM DE TRIGO COM GERMINAÇÃO PRÉ-COLHEITA

RESUMO-Trigo com germinação pré-colheita apresenta alterações em sua composição e propriedades tecnológicas, o que limita e até inviabiliza o uso na panificação, sendo a maltagem uma alternativa. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da temperatura de embebição e germinação, do tempo de germinação e da umidade inicial de germinação na maltagem de trigo com germinação pré-colheita, utilizando a metodologia de superfície de resposta. A amostra de trigo (*falling number*=155 s) foi inicialmente caracterizada quanto a peso hectolitro, proteína total, proteína solúvel, nitrogênio de aminoácidos livres, atividade de α e β -amilase, e poder germinativo. Na maltagem, o experimento foi conduzido em delineamento central composto em dois blocos e os parâmetros (2 níveis) avaliados foram: temperatura de embebição e germinação (12 e 18°C), umidade inicial de germinação (40 e 46%) e tempo de germinação (72 e 144 horas). As amostras de malte foram analisadas quanto a perdas, nitrogênio total, nitrogênio solúvel, nitrogênio de aminoácidos livres, índice de Kolbach, extrato, viscosidade, atenuação limite, e atividade de α e β -amilase. A metodologia de superfície de resposta se mostrou adequada para otimizar a maltagem do trigo com germinação pré-colheita, sendo que todos os parâmetros estudados influenciam na qualidade do malte desejado, com maior influência da temperatura de embebição e germinação, seguido por tempo de germinação e por umidade inicial de germinação. Utilizando como critérios os maiores valores de extrato e maiores de atenuação limite, as melhores condições para obtenção de malte de trigo com germinação pré-colheita ficaram definidas como: temperatura de embebição e germinação 12,5°C; tempo de germinação 78 horas; e umidade inicial de germinação 43%.

Palavras-chave: *Triticum aestivum*. Malte de trigo. Superfície de resposta. Qualidade do malte.

1 INTRODUÇÃO

Em diferentes regiões do mundo, o trigo é vulnerável à germinação pré-colheita. Os danos pela chuva reduzem a qualidade, inviabilizando seu emprego na produção de massas alimentícias, resultado do início do metabolismo dos grãos, aumento da atividade enzimática (SIMSEK et al., 2014) e consequente hidrólise do amido, de carboidratos estruturais e de proteínas de reserva (BRIGGS, 2002; JONES, 2005). Pesquisas têm sido desenvolvidas com o intuito de reduzir a susceptibilidade do grão ao dano pela chuva (KING; WETTSTEIN-KNOWLES, 2000; KOTTEARACHCHI et al., 2006) e encontrar alternativas de aplicação industrial dessa matéria-prima (SEKHON et al., 1995).

A maltagem consiste em um processo industrial no qual, sob condições controladas, cereais e outros grãos são estimulados a germinar até determinado ponto, quando então são secos. O objetivo é acumular carboidratos de cadeias menores, incrementar frações solúveis de proteínas e ativar o complexo enzimático (BRIGGS, 2002). Em trigos que sofrem germinação pré-colheita tais alterações ocorrem, mas sob condições descontroladas e com intensidade variável. Consideradas as diferenças, o uso de trigo com germinação pré-colheita na produção de malte é uma possibilidade a ser investigada. Em três diferentes variedades de cevada com diferentes intensidades de grãos pré-germinados foram obtidos maltes que preservaram a qualidade por 90 dias a temperatura ambiente, e por períodos mais longos em temperaturas refrigeradas (0 a 10°C) (McCAIG; LI 2011). O trigo é o segundo cereal mais maltado no mundo e foi um dos primeiros junto com a cevada a ser utilizado para produção de cerveja. No mercado de cervejas especiais é o principal malte utilizado e apresenta como vantagens, aumentar a formação de espuma, conferir claridade e palatabilidade (BRIGGS et al., 2004).

Uma das limitações do uso de grãos com germinação pré-colheita na obtenção de malte é o baixo poder germinativo, resultado da menor tolerância do embrião à secagem ou dessecação, reduzindo sua viabilidade (SOLE, 1994). Em grãos de cevada submetidos ao envelhecimento acelerado (15% de umidade e 40°C) houve redução do poder germinativo proporcional ao tempo de armazenamento e as amostras com maior intensidade de pré-germinação (*falling number* = 62 s) apresentaram os piores resultados em comparação com amostras

com pouca alteração (*falling number* = 408 s) (GUALANO; DEL FUEYO; BENECH-ARNOLD, 2014). A legislação brasileira exige poder germinativo para cevada de, no mínimo, 95% (BRASIL, 1996), porque, além do crescimento do acróspiro ser uma indicação visível das modificações sofridas pelos grãos (BRIGGS et al., 2004), garante a rapidez e uniformidade na maltagem.

Ao se desenvolver, o embrião produz giberelinas que se difundem para o aleurona, estimulando a atividade de enzimas hidrolíticas, numa complexa interação entre hormônios, giberelinas e íons orgânicos (WOONTON et al., 2005). Em grãos com embrião danificado ou morto, isso não ocorre, e as modificações são limitadas. Há a possibilidade do emprego de ácido giberélico exógeno, que já foi investigado na produção de malte e tem sido recomendado (GRUJIC; PEJIN; DENCIC, 2009; YADAV et al., 2000). As principais alterações promovidas pelo ácido giberélico na maltagem são: quebra da dormência, redução do período de germinação, aumento da perda do malte, do extrato, do poder diastático, e da atividade de proteases dentre outras enzimas; aumentos da cor do mosto, dos componentes nitrogenados solúveis e da concentração de NAL (nitrogênio de aminoácidos livres), maior taxa de fermentação e redução da viscosidade do mosto (HOUGH, 1991). Em grãos que tiveram os embriões extirpados e foram tratados com ácido giberélico houve aumento e antecipação da atividade enzimática, em comparação com grãos intactos, o que não ocorreu com os grãos danificados que não receberam o tratamento (BRIGGS, 2002). O uso de ácido giberélico é atrativo especialmente em cevadas de baixa qualidade.

Trigos com germinação pré-colheita apresentam alterações na composição, na atividade enzimática e na fisiologia, que podem interferir na sua maltagem, o que justifica o estudo. Para avaliar a influência de diferentes parâmetros nas propriedades do malte de trigo com germinação pré-colheita, pode ser empregada a metodologia de superfície de resposta que já foi utilizada para o estudo da produção de malte de milho, aveia, arroz e triticale (MUÑOZ-INSA, et al., 2011; USANSA et al., 2011; ZARNKOW et al., 2007, ZARNKOW et al., 2009).

O objetivo deste trabalho foi a maltagem de trigo com germinação pré-colheita, avaliando a influência da temperatura de embebição e germinação, do tempo de germinação e da umidade inicial de germinação, utilizando a metodologia de superfície de resposta.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Foi utilizado trigo da variedade Codetec CD-150 (safra 2012), proveniente da região sudoeste do Paraná (Brasil). A região apresentava na época condições favoráveis para germinação pré-colheita, que foi constatada através do teste de *falling number*. O material foi limpo e armazenado por 6 meses sob condição ambiente e, depois, armazenado a 4°C por mais 12 meses, até o início dos testes de maltagem. Os grãos apresentavam 13% de umidade e porcentagem de germinação inicial de 83% (no recebimento do grão) e que depois reduziu para 69,5% (depois de 6 meses armazenado a temperatura ambiente) (tabela 2).

2.2 MÉTODOS

O trigo foi caracterizado no início do armazenamento, quanto ao *falling number* (método n. 56-81B-AACC) (AACC, 2000), peso hectolitro, proteína total (método 46-12, N x 5,7-AACC) (AACC, 2000), proteína solúvel (método 4.9.1-EBC) (European Brewery Convention, 2005), nitrogênio de aminoácidos livres (método 4.10-EBC) (European Brewery Convention, 2005), atividade de α -amilase (método Ceralpha, Megazyme) e β -amilase (método Betamyl, Megazyme) e poder germinativo (BRASIL, 2009).

2.2.1 Planejamento experimental

O experimento foi conduzido em um delineamento central composto, em dois blocos, utilizando o conceito de ortogonalidade. Os ensaios dos blocos foram realizados com um intervalo de 6 meses. Os parâmetros (tabela 1) em dois níveis (-1, +1) para avaliar os impactos nas propriedades do malte produzido foram: temperatura de embebição e germinação (12 e 18°C), umidade inicial de germinação (40 e 46%) e tempo de germinação (72 e 144 horas). A dosagem de ácido giberélico utilizada foi de 0,65 mg.kg grão⁻¹. Para cada teste foram feitas duas repetições e mais quatro pontos centrais (tabela 1), num total de 32 ensaios com 300 g de trigo cada.

Tabela 1 - Códigos e valores dos parâmetros temperatura de embebição e germinação, tempo de germinação e umidade inicial de germinação utilizados em otimização de maltes de trigo com germinação pré-colheita*.

Bloco	Codificado			Valores reais			Ensaio
	T(°C)	Tg(h)	UI(%)	T(°C)	Tg(h)	UI(%)	
1	1	1	1	18	144	46	A
1	1	1	-1	18	144	40	B
1	1	-1	1	18	72	46	C
1	1	-1	-1	18	72	40	D
1	-1	1	1	12	144	46	E
1	-1	1	-1	12	144	40	F
1	-1	-1	1	12	72	46	G
1	-1	-1	-1	12	72	40	H
2	-1,618	0	0	10	108	43	I
2	+1,618	0	0	20	108	43	J
2	0	-1,618	0	15	67,5	43	K
2	0	+1,618	0	15	168,5	43	L
2	0	0	-1,618	15	108	38	M
2	0	0	+1,618	15	108	48	N
2	0	0	0	15	108	43	O

*Para cada ensaio foram feitas duas repetições, com exceção do ensaio "O" (ponto central) que foram 4 repetições.

T(°C) – temperatura de embebição e germinação

Tg(h) – tempo de germinação

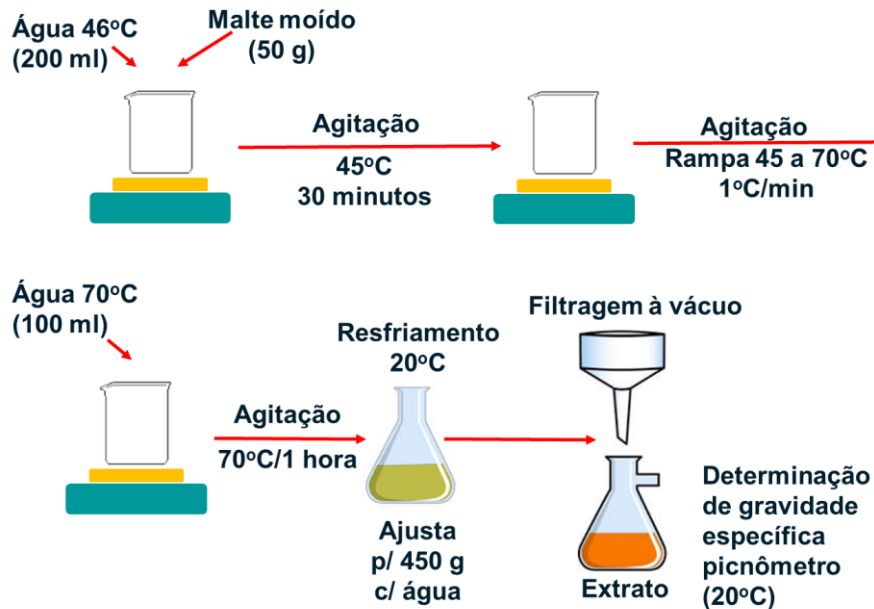
UI(%) – umidade inicial de germinação

2.2.2 Maltagem

As etapas de embebição e germinação foram conduzidas em câmara de temperatura controlada com umidade relativa variando entre 70 e 80%. A embebição obedeceu a um regime alternado de 6 horas de imersão seguidas de 6 horas de aeração, até atingir a umidade estabelecida. Ao atingi-la foi aplicada a solução de ácido giberélico na dosagem definida (0,65 mg. kg grão⁻¹) com uso de *spray* manual, que foi repetida 24 horas depois. Os grãos permaneceram germinando durante o tempo e temperatura pré-determinados para cada teste e, a cada 24 horas, foram repostas perdas de umidade pela aplicação de água destilada clorada (100 ppm) com uso de *spray* manual. A cada 12 horas, o material era revolvido. Ao atingir o tempo de germinação pré-estabelecido, o material foi disposto em fina camada sobre uma bandeja e seco em estufa com circulação de ar, em regime de 12 horas a 55°C e mais 18 horas à 65°C. Ao final da secagem, foram retiradas as raízes e epicótilos,

e o malte armazenado em embalagens herméticas durante 20 dias, em condições ambiente, e depois armazenados a 4°C até as análises.

Figura 1 – Procedimento da análise de extrato (método 4.5.1 da EBC).



Fonte: o autor

2.2.3 Determinações analíticas

Para avaliar as propriedades dos maltes, as análises seguiram métodos descritos pela AACC-American Association of Cereal Chemists (AACC, 2000) e EBC-European Brewery Convention (European Brewery Convention, 2005):

Umidade: método de estufa com circulação de ar, método 4.2 da EBC. Foi calculada a média da triplicata para cada ensaio. A umidade foi utilizada para expressar os demais resultados em base seca.

Perdas: depois da secagem e de retiradas as raízes e os epicótilos, o material foi pesado e as perdas, em base seca, calculadas pela fórmula:

$$\% \text{ perdas} = [(massa \text{ inicial de trigo} - massa \text{ de malte sem raízes}) / massa \text{ inicial de trigo}] \times 100 \quad (1)$$

Extrato: método 4.5.1 da EBC, utilizando picnômetro (figura 1). Para cada ensaio os extratos foram feitos em duplicata e a determinação de gravidade

específica foi feita em triplicata para cada extrato. A taxa de extrato foi calculada utilizando a fórmula descrita pelo método:

$$\text{Extrato (g extrato/100 g de mosto)} = -460,234 + 662,649 \times (SG) - 2-2,414 (SG)^2 \quad (3)$$

onde SG – gravidade específica do mosto

Nitrogênio total: método de micro Kjeldahl, método 46-12 da AACC (N x 5,7) em triplicata de cada ensaio.

Nitrogênio solúvel: método 4.9.1 da EBC, calculada a média da duplicata de cada extrato.

Índice de Kolbach: calculado pela fórmula descrita por EBC.

$$\text{Índice de Kolbach: (proteína solúvel (\%)/proteína total do malte (\%)) \times 100} \quad (2)$$

Nitrogênio de amino ácidos livres (NAL): método 4.10 da EBC, calculada a média da duplicata de cada extrato.

Viscosidade: método 4.8 da EBC, utilizando viscosímetro capilar. Foi calculada a média de triplicatas para cada extrato.

Atenuação limite: método 4.11.1 da EBC, sendo utilizada levedura liofilizada para cerveja de trigo (Fermentis/S.I. Lesaffre). A atenuação limite foi calculada pela relação entre o extrato inicial da amostra e o extrato após fermentação com sobre dosagem de fermento por 24 horas. Foi calculada a média da duplicata para cada extrato.

Atividade de α -amilase: método Ceralpha (Megazyme), em triplicata. Uma unidade Ceralpha (UC) de atividade é definida como a quantidade de enzima requerida para liberar um μmol de p-nitrogenol do substrato BPNPG7 em um minuto nas condições estabelecidas da análise.

Atividade de β -amilase: método Betamyl (Megazyme), em triplicata. Uma unidade Betamyl (UB) de atividade é definida como a quantidade de enzima requerida para liberar um μmol de p-nitrogenol do substrato PNP β -G3 em um minuto nas condições estabelecidas da análise.

2.2.4 Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e utilizada a ferramenta de desejabilidade para estabelecer os melhores parâmetros a fim de atender aos critérios de maior taxa de extrato, maior atenuação limite e menor viscosidade. Foi utilizado o software Statistica 5.1 (StatSoft).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados referentes à amostra de trigo antes da maltagem demonstram que o *falling number* da amostra é menor que 200 s, que é indicativo de germinação pré-colheita e também é o valor mínimo exigido pela legislação brasileira para classificação de trigo para uso em alimentação humana. O peso hectolitro se apresenta acima do valor mínimo exigido pela legislação brasileira que é 72 para comercialização (BRASIL, 2010) (tabela 2).

Tabela 2 - Valores de *falling number*, peso hectolitro, proteína total, N solúvel, nitrogênio de aminoácidos livres, atividade de α -amilase e β -amilase e poder germinativo da amostra de trigo (variedade CD-150) antes da maltagem.

Parâmetro	Valor
<i>Falling number</i>	155±2,7 s
Peso Hectolitro	76±0,3 kg.hL ⁻¹
Proteína total	16,0±0,0 %
N solúvel	6,5±0,03 mg.g ⁻¹ grão
Índice de Kolbach	22,1%
Nitrogênio de aminoácidos livres	0,56±0,03 mg.g ⁻¹ grão
Atividade de α -amilase*	50,5 UC.g ⁻¹
Atividade de β -amilase**	173,3 UB.g ⁻¹
Poder germinativo	69,5%

* Atividade de α -amilase – unidade Ceralpha: UC.g⁻¹

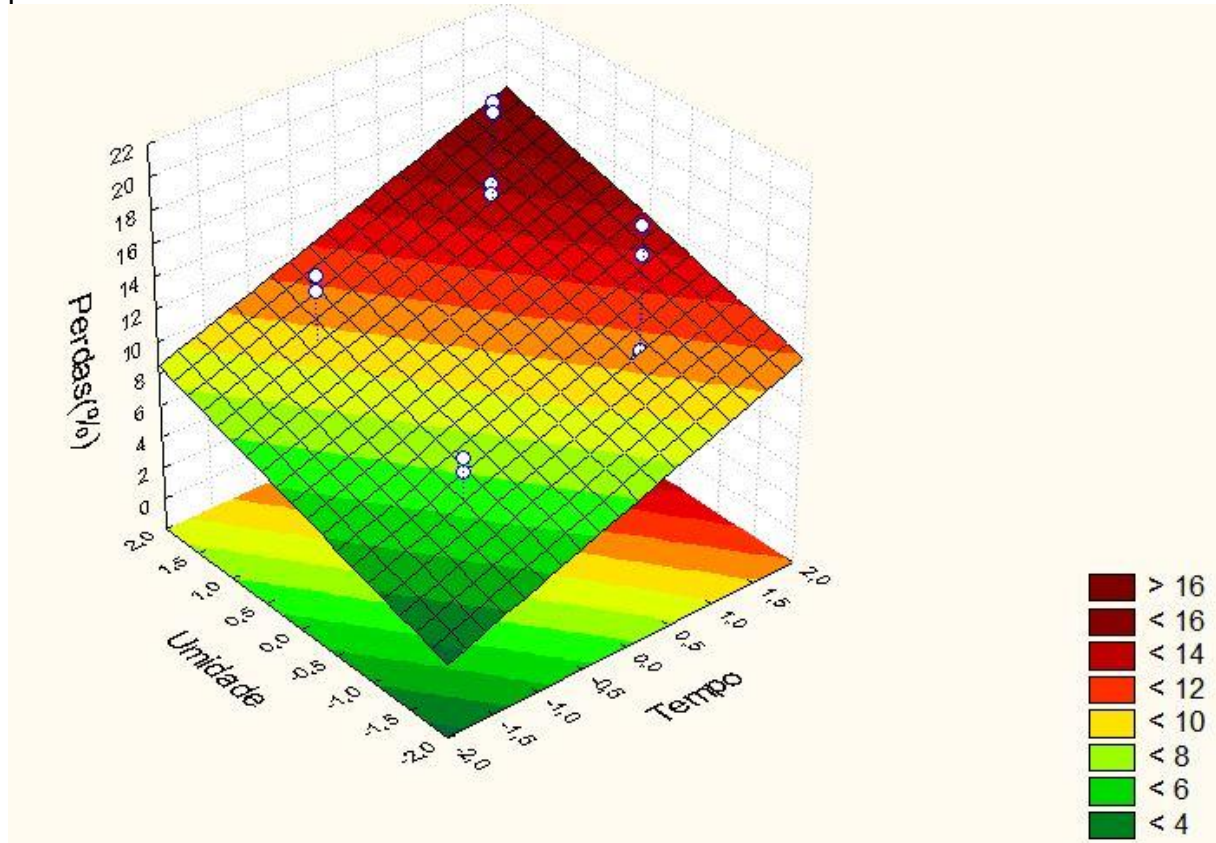
** Atividade de β -amilase – unidade Betamyl: UB.g⁻¹

3.1 PERDAS NA MALTAGEM

Neste estudo, as perdas variaram de 5,26 (12°C/72 h/40%) a 20,5% (18°C/144 h/46%). Houve efeito linear positivo dos três parâmetros (tabela 3), e o tempo apresentou o maior efeito, seguido por umidade e temperatura (figura 2). O efeito quadrático não foi observado, ou seja, não se atingiu um valor máximo, pois

na maltagem o processo germinativo é interrompido precocemente, anterior ao completo desenvolvido das estruturas vegetais e, portanto, nas condições estudadas, as perdas continuaram aumentando linearmente.

Figura 2 - Efeito do tempo e da umidade sobre as perdas em trigo com germinação pré-colheita maltado.



Perdas em malte podem ser divididas em perdas de embebição (0,5 a 1,5%), perdas de germinação (3,5 a 7,5%) e perdas de radículas (2,5 a 5%) (BRIGGS et al., 2004). Quanto ao efeito dos parâmetros, o aumento da umidade e da temperatura estabeleceram melhores condições para a emergência das estruturas vegetais e para aumentar as perdas respiratórias, acarretando em maior consumo de substâncias de reserva presentes nos grãos (BRIGGS, 2002). O avanço do tempo incrementa as perdas por estender a condição descrita anteriormente. Li et al. (2008) ao estudar diferentes fatores que afetavam o extrato do malte de cevada, constataram que, com um dia de germinação, as perdas eram em média de 3,29% e com 4 dias eram de 10,38%. Em malte de painço, o percentual de caulículos e radículas foi proporcional ao tempo e temperatura de germinação, e os resultados influenciados principalmente pela variedade; e a variedade com maior energia

germinativa (percentual de grãos germinados com até três dias) apresentou maior massa de caulículos e radículas (PELEMBE; DEWAR; TAYLOR, 2002). Em maltagem de trigo durante 5 a 7 dias, com 43 a 46% de umidade a 16°C, os autores encontraram perdas que variaram de 8,44 a 18,92% e foi constatada correlação positiva com os teores de N solúvel (JIN et al., 2012).

Tabela 3 - Modelos obtidos para as variáveis resposta em função dos parâmetros temperatura de embebição e germinação, tempo de germinação e umidade inicial de germinação.

Parâmetro	Modelo (BL-Bloco, A-Temperatura, B-Tempo, C-Umidade)	R ² do modelo
Perdas	$9,69 - 2,92BL + 1,54A + 2,08B + 1,97C$	0,81
Extrato	$80,7 - 0,62BL + 0,99A - 1,04A^2 + 1,06B - 0,78B^2 + 1,66C - 0,88C^2 - 0,68AB - 0,8AC$	0,87
Atenuação limite	$72,14 + 0,93BL - 1,06A - 1,34B - 1,85C - 1,09C^2 + 0,72AB - 0,84BC$	0,89
Viscosidade	$1,17 - 0,07BL + 0,02A^2 - 0,02B + 0,08AB + 0,03AC + 0,03BC$	0,91
Atividade de α -amilase	$394,11 + 64,87A - 38,82A^2 + 94,77B - 22,44C^2 - 27,58BC$	0,92
Atividade de β -amilase	$68,14 + 4BL - 5,36^a$	0,63
Proteína	$15,89 + 0,85BL + 0,25A + 0,16B$	0,91
Nitrogênio solúvel	$1,24 - 0,26BL + 0,03A - 0,03A^2 + 0,03B - 0,03C$	0,97
Nitrogênio aminoácidos livres	de $281,32 + 17,03Bloco + 11,71A - 16,98A^2 + 27,5B + 26,41C - 16,64AB$	0,88
Índice de Kolbach	$44,78 - 11,11Bloco + 1,04A - 1,38A^2 + 1,46B + 2,18C - 1AB - 1,63AC - 1,13BC$	0,98

O uso do ácido giberélico promove o aumento das perdas como observado em malte de arroz tratado com soluções de ácido giberélico (0 a 10² mg.L⁻¹) que apresentaram maior crescimento das raízes, em comparação ao tratamento controle (sem ácido giberélico). Em maltes de triticales tratados com ácido giberélico (concentrações não informadas), as perdas foram de 9,4 a 12,58%, sendo menores do que nas amostras não tratadas, diferente do ocorrido com malte de arroz (OWUSU-MENSAH et al., 2011).

O bloco exerceu efeito negativo sobre as perdas, ou seja, o armazenamento por mais 6 meses (bloco 2) reduziu perdas de sólidos, metabólicas e de radículas, sendo maior número de grãos não germinados. Em amostras de 3 variedades de cevada com diferentes níveis de germinação pré-colheita, armazenadas a temperatura ambiente, as propriedades germinativas também foram afetadas e quanto maior era o percentual de grãos pré-germinados mais intensa a queda na energia germinativa e aumento da sensibilidade à água. Essas alterações aumentavam com o prolongamento do armazenamento (McCAIG; LI, 2011). Menor energia germinativa indica menor rapidez na germinação e maior desuniformidade.

3.2 ATIVIDADE DE ALFA-AMILASE

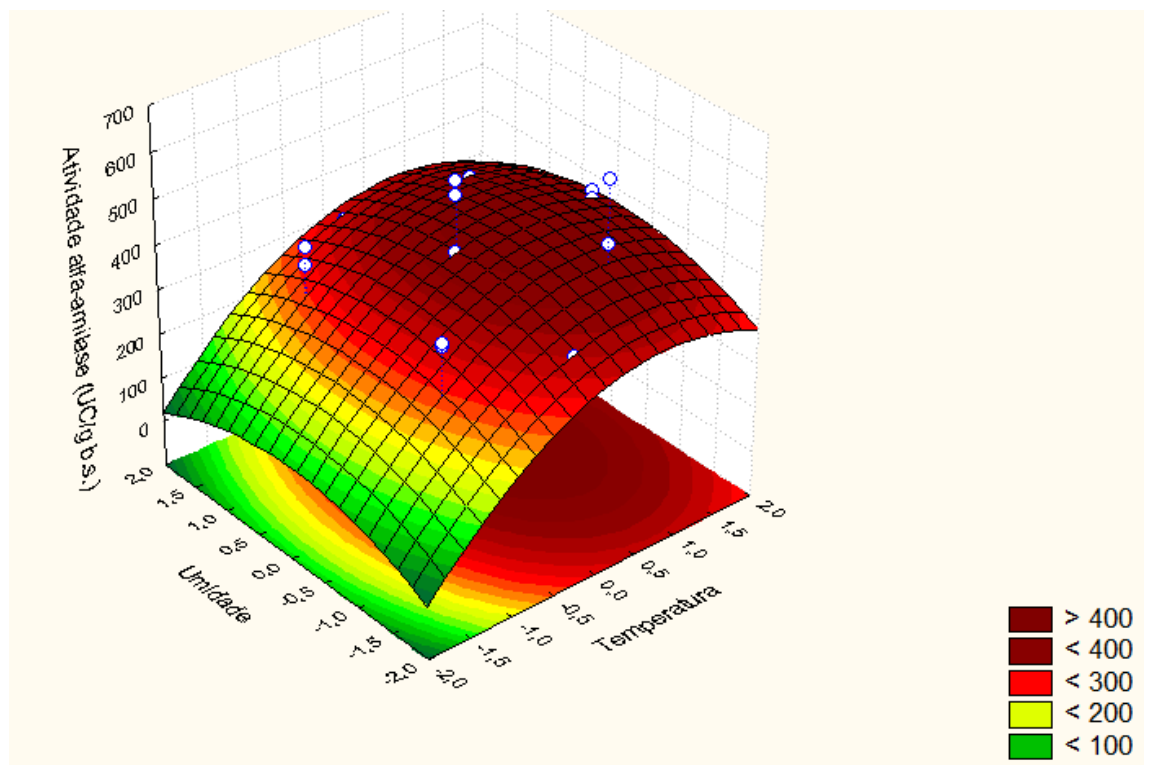
Os valores de atividade de α -amilase variaram de 121,7 (12°C/72 h/40%) a 590,0 UC. g grão⁻¹ b.s (18°C/144 h/40%) em comparação com a atividade inicial (50,5 UC.g grão⁻¹) (tabela 2), indicam aumento de quase 12 vezes. Houve efeito das três variáveis estudadas (tabela 3) e na figura 3 é apresentado o efeito da temperatura de embebição e germinação e da umidade inicial. O tempo de germinação exerceu o maior efeito linear, dentre os parâmetros estudados, entretanto, não apresentou efeito quadrático.

A atividade de α -amilase pode apresentar variações tanto durante a embebição como na maltagem, como observado em variedades de cevada que no terceiro dia de germinação a 15°C atingiram atividades entre 100 e 300 UC.g grão⁻¹ (MAYOLLE et al., 2012). O regime de embebição pode influenciar o aumento da atividade como ocorre com certas enzimas quando há troca da água ou períodos de aeração (OKUNGBOWA; OBETA; EZEUGU, 2002). A atividade da α -amilase é imprescindível pois juntamente com β -amilase e dextrinase limite são as responsáveis pela hidrólise do amido em açúcares como a maltose, o que tem estreita relação com os valores de extrato. A ação das amilases reduz a formação de complexos viscosos que diminuem a velocidade de escoamento do mosto (GOODE et al., 2005).

O tempo foi a variável que mais influenciou na atividade de α -amilase em malte de arroz (HUBNER et al., 2010). Efeito linear de temperatura e tempo também foram encontrados para otimização de malte de sorgo (HASSANI; ZARNKOW; BECKER, 2013) e malte de painço (ZARNKOW et al., 2007). Não houve efeito do

bloco, indicando que o tempo e condições de armazenamento não influenciaram na atividade da enzima. Em amostras de cevadas de três variedades diferentes e com três intensidades de germinação pré-colheita, o aumento do tempo de armazenamento em temperatura ambiente, reduziu a atividade de α -amilase; e para as amostras armazenadas em temperatura controlada (0 a 10°C), os resultados não apresentaram um padrão (McCAIG; LI; 2011). Os mesmos autores constataram que o efeito das temperaturas de armazenamento sobre o poder diastático foi mais pronunciado nas amostras com pré-germinação em comparação com as sem o dano (McCAIG; LI; 2011). Em cevada armazenada, o comportamento foi diverso, com aumento da atividade enzimática da α -amilase quanto maior o tempo de armazenamento para todas as variedades estudadas (WOONTON; SHERKAT; MAHARJAN, 2005).

Figura 3 - Efeito da umidade e da temperatura sobre a atividade de α -amilase em malte de trigo com germinação pré-colheita.



Não foi possível mensurar o efeito do uso de ácido giberélico sobre a atividade de α -amilase, pois estudos preliminares com dois níveis de ácido giberélico não resultaram em diferença na atividade enzimática, o que não indica que não haja

efeito. Em grãos que não germinam, as alterações na atividade da enzima são limitadas, como constatado em malte de milheto (PELEMBE; DEWAR; TAYLOR, 2002), e, portanto, o aumento observado, mesmo com baixo poder germinativo é indicativo da ação do ácido giberélico. Variedades de cevada tratadas com ácido giberélico (5 a 20 ppm) apresentaram aumento do poder diastático (YADAV et al., 2000). O tempo é um fator que influencia os níveis de resposta ao ácido giberélico, como observado em malte de arroz, que só apresentou diferença de atividade de α -amilase entre as amostras tratadas e não tratadas com ácido giberélico a partir do 4º dia (OWUSU-MENSAH et al., 2011).

3.3 ATIVIDADE DE BETA-AMILASE

A temperatura foi o único fator a apresentar efeito sobre a atividade de β -amilase e o modelo apresenta baixo coeficiente de regressão (tabela 3). Em comparação com os valores iniciais (tabela 2), os obtidos na otimização (tabela 04) apresentaram redução de um terço na atividade. Zarnkow et al. (2007) constataram efeito tanto da temperatura de germinação como da umidade em maltagem de painço, enquanto Hassani, Zarnkow e Becker (2013) e Usansa et al. (2011) só encontraram efeito do tempo de germinação na atividade de β -amilase em sorgo e arroz, respectivamente. Neste último, as temperaturas de maltagem eram maiores (25 a 30°C), e houve aumento de atividade de até 7 vezes em uma das variedades de arroz e nenhuma alteração em outra. Em painço, a atividade de β -amilase variou entre 40 e 142 UB.g⁻¹, sendo que no material original a atividade era de 63 UB.g⁻¹ (ZARNKOW et al., 2007). A redução na atividade pode ser resultado do incremento da atividade de proteases que, na maltagem, degradam β -amilases (SCHMITT; MARINAC, 2008). Ao estudar a interferência do conteúdo de proteína na obtenção de malte de trigo, os autores constataram que amostras com 16% de proteína apresentaram pico de atividade de determinadas enzimas e depois uma queda abrupta, indicando que certas proteínas podem exercer efeito inibitório ao se combinarem com as enzimas (JIN; ZHANG; DU, 2008).

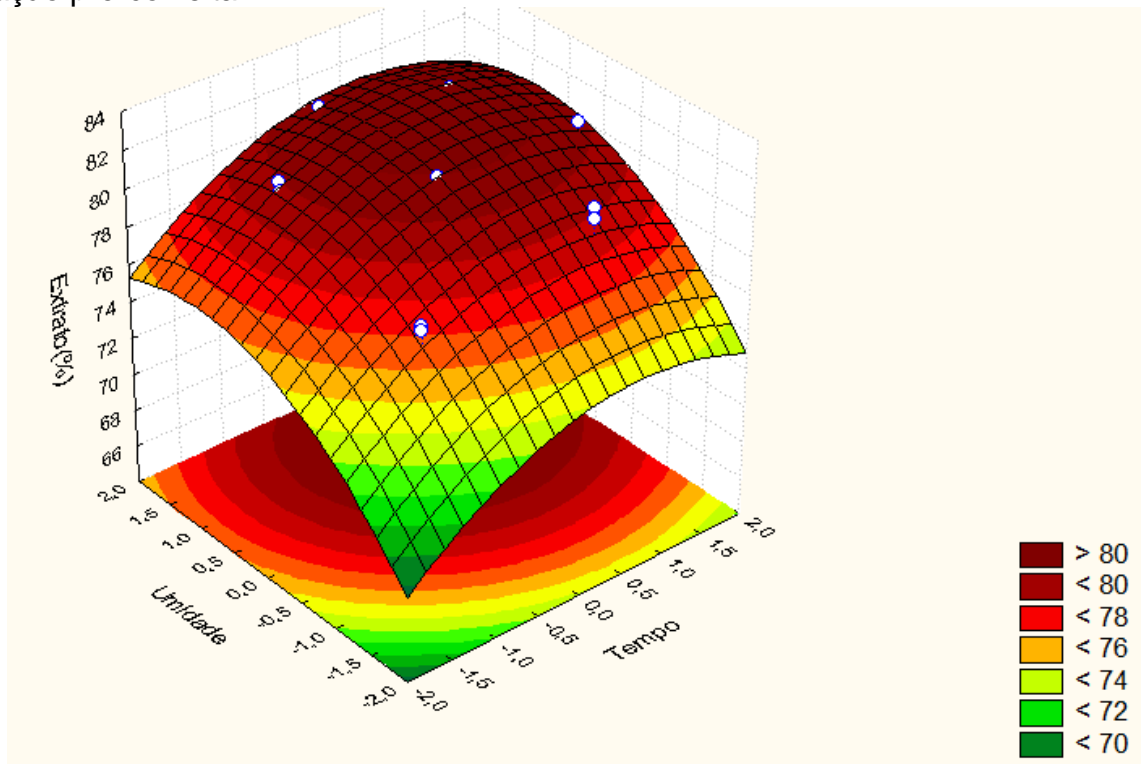
O bloco exerceu efeito positivo, indicando aumento da atividade da enzima após o armazenamento (tabela 3). A β -amilase é produzida durante o desenvolvimento da semente, sendo encontrada no endosperma, concentrada próximo ao aleurona e já apresenta atividade mesmo no grão seco. Como se

encontra tanto nas formas ligada como livre, processos enzimáticos ao longo do armazenamento podem ter aumentado a fração livre (ZIEGLER, 1999).

3.4 EXTRATO

Os ensaios apresentaram extratos que variaram de 73,7% (15°C/108 h/38%) a 82% (12°C/144 h/46%), sendo que são esperados, para cevada, de 75 a 78%. O teor de extrato foi influenciado por todas as variáveis estudadas (tabela 3) assim como observado em otimização de maltagem de trigo espelta (MUÑOZ-INSA et al., 2013). Como pode ser observado na figura 4, ao passar do nível mais baixo para o mais alto, tanto do tempo como da umidade, as variáveis estabelecem condições que ultrapassam o equilíbrio entre a hidrólise de compostos decorrente da atividade enzimática e o consumo por processo respiratório e produção de novos tecidos.

Figura 4 - Efeito do tempo e da umidade sobre extrato de malte de trigo com germinação pré-colheita.



O extrato é um dos mais importantes fatores de caracterização do malte. Maltes de trigo tendem a ser submodificados mas os extratos são altos (83%) em função da não existência da casca (BRIGGS et al., 2004), assim como foi verificado

em malte de arroz (HUBNER et al., 2010). Em maltagem de trigo com umidade inicial de 44%, por 5 dias e a temperatura de 13-15°C, os extratos variaram de 77,5 a 82,0% (JIN; ZHANG; DU, 2008). Estudo sobre a influência do índice de Kolbach em outros parâmetros de malte de trigo, encontrou extratos de 79,3 a 82,9%, quando a maltagem foi conduzida em condições de 5 a 7 dias, a 16°C e com umidade de 43 a 46% (JIN et al., 2012). Os valores encontrados neste trabalho apresentaram maior variação, abaixo, inclusive, dos esperados para maltes de cevada. Isso pode ser explicado pelas alterações anatômicas sofridas pelos grãos ainda a campo e depois na etapa de secagem. Estudo demonstrou que quanto maior o percentual de grãos germinados na amostra e mais longo o tempo de armazenamento, maior era a absorção de água pelo grão durante a embebição (McCAIG; LI, 2011). Parte dos compostos que compõe o extrato podem se perder na água de embebição.

O extrato indica os açúcares, proteínas e β -glucanas solúveis, resultado da atividade de enzimas amilolíticas, glucanases e enzimas proteolíticas (BRIGGS, 2002). Os resultados indicaram aumento da concentração de NAL e nitrogênio solúvel em comparação com os valores do trigo (tabela 2), resultantes da atividade das proteases que hidrolisam as proteínas do endosperma e liberam os grânulos de amido para a ação de enzimas amilolíticas, favorecendo a obtenção de taxas de extrato acima de 80% (OGBONNA; OBI; OKOLO, 2004). A atividade das proteases é favorecida pelo aumento da umidade dos grãos nas fases iniciais da germinação (JONES, 2005) e já foi constatado correlação positiva entre os conteúdos de nitrogênio solúvel e o teor de extrato em maltes de trigo (JIN et al., 2012).

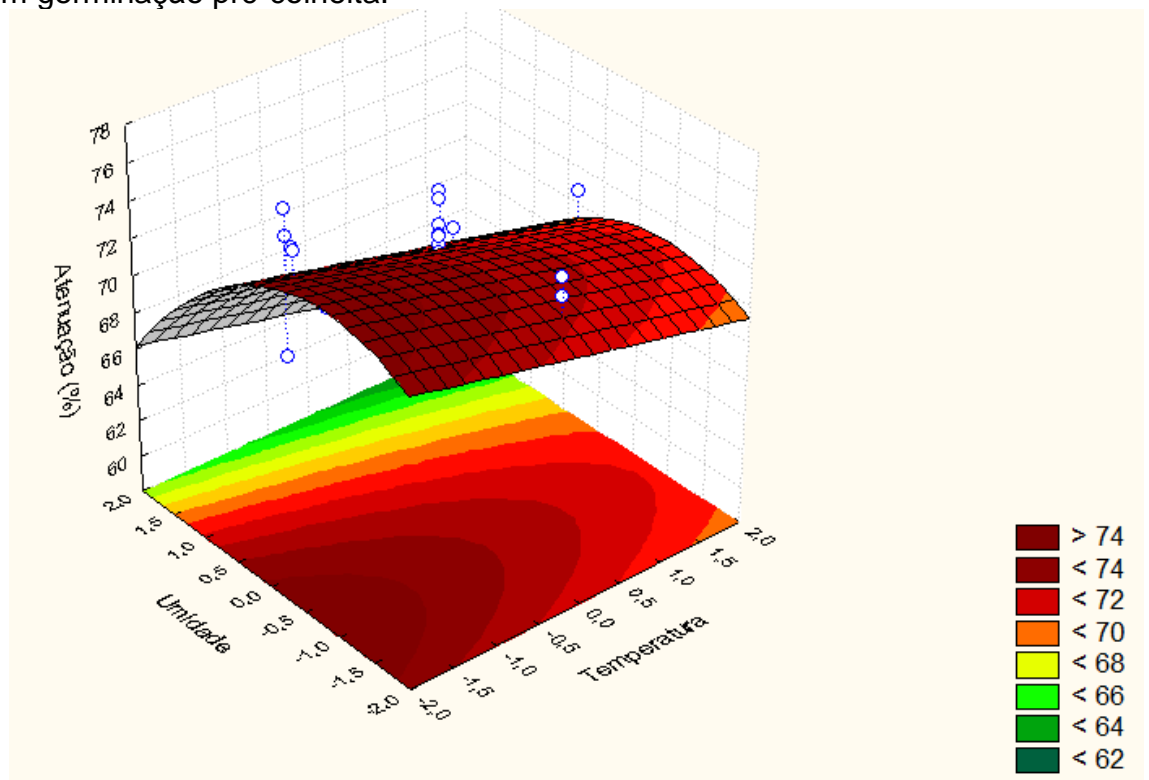
Quanto à aplicação de ácido giberélico, ela contribui para aumentar a taxa de extrato. Yadav et al. (2000) variando a dosagem de ácido giberélico de 0 a 20 ppm em maltagem de cevada notaram que havia aumento da concentração de açúcares solúveis e redutores à medida que se aumentava a dosagem de ácido giberélico. O mesmo autor observou aumento do poder diastático.

3.5 ATENUAÇÃO LIMITE

Os valores de atenuação limite variaram de 65 (15°C/108 h/48%) a 75,6% (10°C/108 h/43%), e é desejável de 81 a 84%, em malte de cevada. A análise de variância indicou efeito da temperatura, do tempo e da umidade, todos negativos

(tabela 3) (figura 5). Em otimização de maltes de aveia e arroz ao passar dos níveis menores para os maiores dos mesmos parâmetros, a atenuação limite aumentava (MUÑOZ-INSA, 2011; USANSA et al., 2011). Ao otimizar maltagem de painço, menores níveis de temperaturas e maiores de umidade promoviam incrementos na atenuação limite, sem efeito do tempo de germinação, porém a 20°C o aumento da umidade acarretava em redução da atenuação limite (ZARNKOW et al., 2007).

Figura 5 - Efeito da umidade e da temperatura sobre a atenuação limite de malte de trigo com germinação pré-colheita.



A atenuação limite ou fermentabilidade reflete a adequação do mosto para as leveduras (BRIGGS et al., 2004), e valores abaixo de 80% interferem na qualidade da bebida. Para atingir os valores desejados, a atenuação limite depende de uma completa hidrólise do amido, bem como de um bom suprimento de NAL para as leveduras. A concentração de NAL encontrada neste trabalho não é limitante, mas talvez a atividade enzimática sobre os carboidratos tenha sido deficiente, produzindo açúcares não fermentescíveis. Os resultados encontrados necessitam de investigação a respeito da composição do extrato. Foi constatado aumento da atividade de α -amilase, mas redução da atividade de β -amilases, o que pode ter limitado a conversão do amido em açúcares fermentescíveis. Em cervejas com trigo

não maltado utilizado como adjunto (40%), a atenuação limite foi menor em comparação com a amostra que utilizou apenas malte de cevada, pois havia menos açúcares fermentescíveis (DEPRAETERE et al., 2004).

3.6 VISCOSIDADE

Houve efeito da temperatura e do tempo de maltagem e interações foram constatadas entre todos os parâmetros (tabela 3). A viscosidade dos extratos variou de 1,02 (15°C/72 h/38%) a 1,43 mPa.s (18°C/144 h/46%), valores abaixo dos limites máximo de 1,8 mPa.s sugerido para cervejas de trigo ou de 1,5 mPa.s para cevada. A baixa viscosidade encontrada provavelmente está relacionada com a atividade enzimática que já havia sido estabelecida no campo, como indicam os valores de *falling number* na amostra original e que foi incrementada com a maltagem, (tabela 2). A aplicação de ácido giberélico aumenta e antecipa a atividade enzimática (KUNTZ; BAMFORTH, 2007) e reduz a viscosidade dos mostos (BRIGGS, 2002) e pode ter provocado a antecipação da ação de arabinoxilanas que se desenvolvem tardiamente no processo germinativo (DENNIS, 1998).

A viscosidade do mosto é muito importante no processo de fabricação de cerveja, onde alta viscosidade resulta em gastos energéticos. Problemas de filtração da cerveja são mais pronunciados quando malte de trigo é usado como adjunto, em função do alto conteúdo de arabinoxilanas de maior peso molecular (1×10^5 a 8×10^5) em comparação com a cevada (CLEEMPUT et al., 1993; LI et al., 2005). Durante a maltagem, as arabinoxilanas são hidrolisadas, reduzindo a viscosidade. Os resultados obtidos por Goode et al. (2005) mostram que o efeito do amido na viscosidade do mosto é baixo antes da gelatinização, sendo melhor explicada pela presença de glucanas, arabinoxilanas, proteínas e dextrinas que interferem na viscosidade de soluções (SADOSKY; SCHWARZ; HORSELY, 2002). Na viscosidade do mosto, a participação das β -glucanas depende da concentração e do tamanho da cadeia, e no trigo, as β -glucanas representam aproximadamente 0,5% no grão inteiro, com predominância de trissacarídeos (aproximadamente 70%) (CUI et al., 2000; JIN et al., 2004).

Sobre os efeitos dos parâmetros da maltagem na viscosidade do mosto, Hubner et al. (2010) encontraram que maltes de arroz submetidos aos maiores níveis de tempos de germinação (144 hrs) e menores níveis de temperaturas (10°C)

de maltagem resultavam em menores viscosidades dos extratos. Em otimização de maltagem de trigo espelta, tempos de germinação no nível maior e umidades de germinação no nível menor reduziam a viscosidade (MUÑOZ-INSA et al., 2013). A viscosidade do extrato está relacionada com a atividade de enzimas hidrolíticas que degradam os carboidratos estruturais e de reserva. Com o avanço do tempo de germinação, é maior a duração da atividade das enzimas sobre o material estrutural, reduzindo a viscosidade do extrato. Na germinação, as β -glucanases estão entre os primeiros grupos de enzimas a atuarem, como observado em cevada (KUNTZ; BAMFORTH, 2007) e a α -amilase hidrolisa ligações α 1-4 do amido, produzindo oligossacarídeos e promovendo redução da viscosidade (MURALIKRISHNA; NIRMALA, 2005). Em nossas observações, quando foi empregada temperatura em níveis menores, provavelmente a velocidade com que enzimas degradaram as moléculas foi reduzida, conseqüentemente, viscosidades maiores foram observadas. Já nos níveis maiores, a maltose pode ter contribuído para aumentar a viscosidade. Maior concentração de maltose desempenha importante papel na viscosidade das soluções como identificado por Jin et al. (2004).

3.7 PROTEÍNA TOTAL

Temperatura e tempo influenciaram os teores de proteína dos maltes (tabela 3), sendo observados valores entre 14,1(12°C/72 h/40%) a 17,7%(20°C/108 h/43%). Não houve efeito quadrático de nenhum parâmetro. As menores concentrações de proteínas foram encontradas nos níveis mais baixos de temperatura (12°C) e tempo (72 horas), em função da reduzida síntese proteica e possíveis perdas em virtude de frações solúveis que se dissolveram na água de embebição, favorecida pela pré-germinação (McCAIG; LI, 2011). Com o aumento do tempo e da temperatura, são observados aumentos dos teores de proteína, em função da síntese proteica durante a germinação e do acúmulo resultante do consumo de carboidratos pela respiração (TIAN et al., 2010). Na industrialização da cerveja o teor de proteína interfere na etapa de embebição, e a absorção de água é proporcional ao teor de proteína do grão, como observado em cevada (MAYOLLE et al., 2012). Excesso de proteína tenderá a precipitar e interferir na turbidez na cerveja (característico de cervejas de trigo) e exerce papel importante na formação da espuma da cerveja (BAMFORTH,

2004). Variedades de trigos para indústria cervejeira são provenientes de trigos brandos, com endosperma farináceo e um conteúdo de proteína acima de 11%. A facilidade de moagem deste material contribui para uma boa taxa de extrato. Entretanto, há tipos de cervejas de trigo, para as quais, trigos mais duros seriam interessantes, com altos teores proteicos, e com maiores frações de alto peso molecular.

3.8 NITROGÊNIO SOLÚVEL

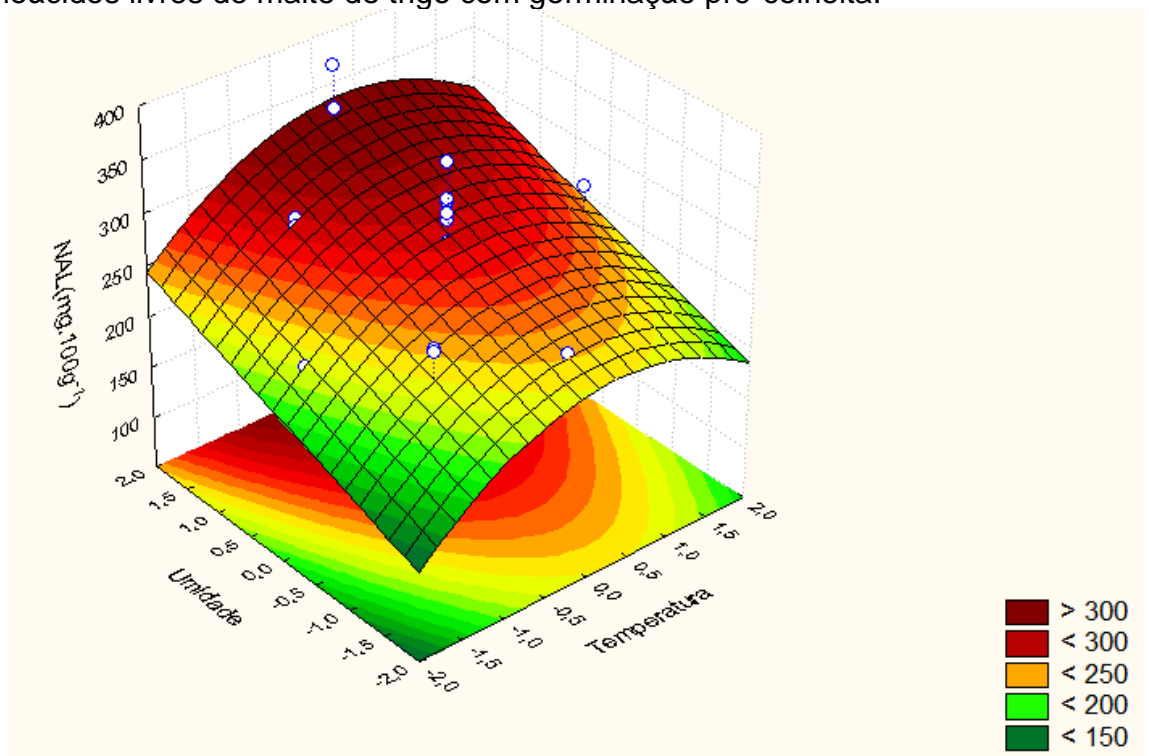
Em maltes de trigo os valores desejados de nitrogênio solúvel é de 650 a 780 mg.100g⁻¹, valores próximos aos observados na amostra de trigo antes da maltagem (tabela 2). Nitrogênio solúvel variou de 760 (10°C/108 h/43%) a 1.540 mg.100g⁻¹ (20°C/108 h/43%) depois da maltagem. As variáveis temperatura de embebição e germinação, tempo de germinação e umidade inicial de germinação apresentaram efeito sobre a concentração de nitrogênio solúvel (tabela 3), assim como observado em otimização de malte de arroz (USANSA et al., 2011), onde o aumento do tempo de 6 para 8 dias e da temperatura de 20°C para 30°C incrementaram os valores de nitrogênio solúvel e de NAL. Em otimização de malte de trigo espelta os valores variaram de 646 a 1024 mg.100g⁻¹ (MUÑOZ-INSA et al., 2013). Estudos demonstraram não haver relação entre o teor de nitrogênio solúvel e a concentração de proteína (JIN; ZHANG; DU, 2008). Altas concentrações de nitrogênio solúvel podem escurecer a cor do malte e do extrato, devido a formação de melanoidinas durante a secagem (BRIGGS, 2002).

3.9 NITROGÊNIO DE AMINOÁCIDOS LIVRES

No trigo antes da maltagem a concentração de nitrogênio de aminoácidos livres era de 0,56 mg.g⁻¹ grão (56 mg.100g grão⁻¹) (tabela 2) e após a maltagem os valores variaram de 190(12°C/72 h/40%) a 386 mg.100g grão⁻¹ (15°C/108 h/48%) que são superiores aos valores mínimos exigidos de 120 a 150 mg.100g⁻¹ para uma adequada fermentação. Todas as variáveis independentes apresentaram efeito sobre a concentração de NAL (tabela 3) (figura 6), assim como foi observado em otimização de maltagem de sorgo (HASSANI; ZARNKOW; BECKER, 2013), painço

(ZARNKOW et al., 2007) e trigo espelta (MUÑOZ-INSA et al., 2013). Variações são encontradas em função das espécies, do intervalo estudado de cada parâmetro e até mesmo de variedades dentro da mesma espécie. Em otimização de maltagem de aveia, a temperatura e umidade promoveram maior concentração de NAL em uma variedade, mas para a outra, maior efeito se deu pela temperatura e tempo (MUNÕZ-INSA et al., 2011).

Figura 6 - Efeito da umidade e da temperatura sobre a concentração de nitrogênio de aminoácidos livres de malte de trigo com germinação pré-colheita.



Nitrogênio de aminoácidos livres se refere à amônia e pequenos peptídeos quando mensurado pelo método com ninidrina e não ao total de nitrogênio disponível para as leveduras. O conceito de nitrogênio aproveitável total congrega o nitrogênio disponível para leveduras e envolve aminoácidos livres, amônia e pequenos peptídeos (ABERNATHY; SPEDDING; STARCHER, 2009). A concentração de NAL é fundamental para que haja nutrientes suficientes para o crescimento das leveduras durante a fermentação (BRIGGS et al., 2004). Está relacionada com a atividade proteolítica, favorecida pelo aumento da umidade, da temperatura e do tempo de ação das enzimas sobre as proteínas. Ao longo do processo germinativo, a síntese de compostos nitrogenados e hidrólise são

acompanhadas pelo consumo em função do crescimento do acróspiro. Neste trabalho as perdas em função do crescimento dos acróspiro foram menores por causa do baixo poder germinativo e a atividade proteolítica foi intensa (nitrogênio solúvel, índice de Kolbach), favorecendo o acúmulo desses compostos.

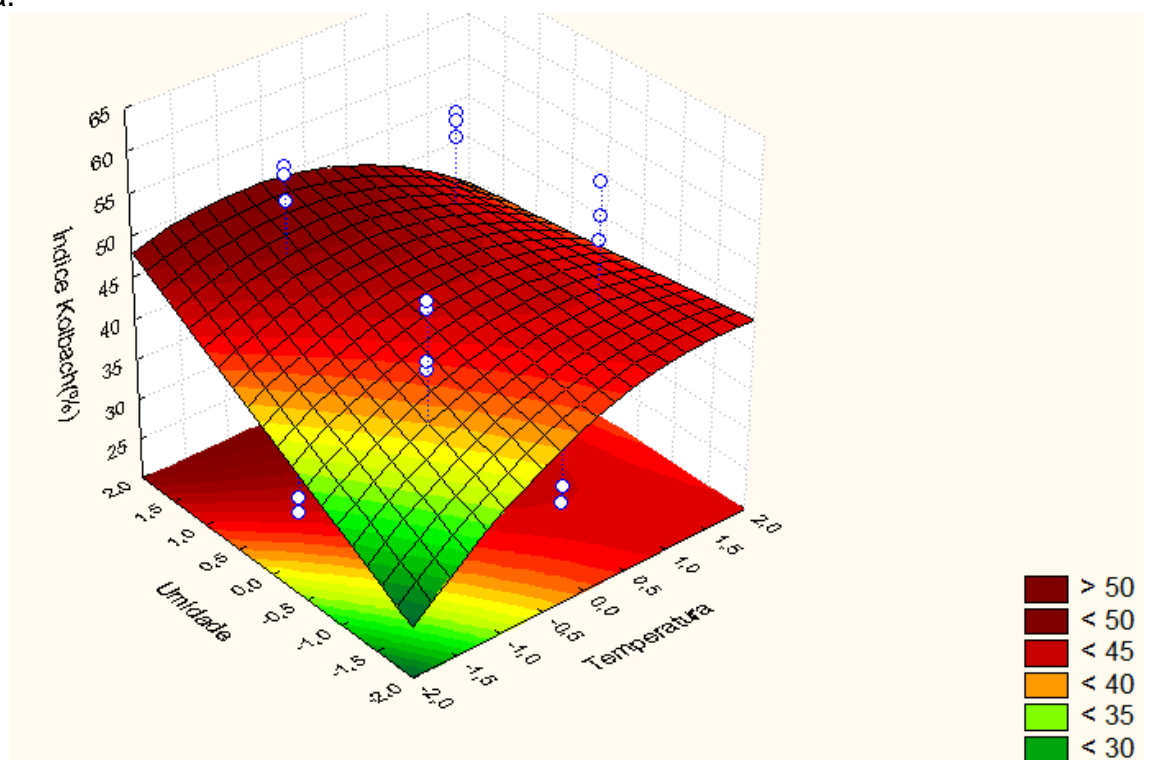
O emprego de ácido giberélico aumenta a atividade enzimática em geral, incluindo proteases, resultando em aumento da concentração de nitrogênio solúvel e de NAL em comparação com amostras que não são tratadas (BRIGGS 2002; BRYCE et al., 2010). Porém, em maltagem de trigo, houve aumento da concentração de certos aminoácidos assim como decréscimo de outros, ao longo de 8 dias de germinação, não sendo observado grandes alterações em função do uso ou não de ácido giberélico (SINGH; SOSULSKI, 1986).

3.10 ÍNDICE DE KOLBACH

Os resultados para índice de Kolbach revelam comportamento similar ao de nitrogênio solúvel e NAL, com efeitos de temperatura de embebição e germinação, tempo de germinação e umidade inicial de germinação (tabela 3) (figura 7). Na amostra que deu origem ao malte de trigo, o índice de Kolbach era de 22,3% (tabela 2) e depois da maltagem variou de 26 (10°C/108 h/43%) a 59%(12°C/144 h/46% e 18°C/144 h/40%). Em maltes de trigo, o índice de Kolbach deve ser em torno de 38-40% (BRIGGS et al., 2004), valores de 30 a 35% para o índice de Kolbach são considerados de baixa modificação e para cevada se deseja em torno de 38 a 42% (KLOSE et al., 2011).

Os altos valores de índice de Kolbach são explicados tanto por se tratar de uma amostra que apresenta germinação pré-colheita e provavelmente pela aplicação do ácido giberélico. Ao avaliar três variedades de cevada com três diferentes níveis de germinação pré-colheita, as amostras com maior intensidade de dano, apresentaram os maiores índices de Kolbach (McCAIG; LI, 2011). Quanto a ação do ácido giberélico ao maltear triticales, em amostras tratadas com ácido giberélico (concentração não informada) houve maior atividade proteolítica, maior valor para o índice de Kolbach e também maior concentração de nitrogênio solúvel (GRUJIC; PEJIN; DENCIC, 2009).

Figura 7 - Efeito da umidade inicial de germinação e temperatura de embebição e germinação sobre o índice de Kolbach de malte de trigo com germinação pré-colheita.



O índice de Kolbach indica o quanto do nitrogênio total está na forma solúvel e reflete a atividade proteolítica do malte. Entretanto se houver um balanço entre a síntese de proteína e a sua hidrólise, o índice de Kolbach não muda. Em otimização de malte de sorgo se observou efeito de temperatura de germinação, tempo de germinação e umidade inicial de germinação, com os níveis mais altos de umidade (41%) e de tempo (7 dias) resultando em maiores índices (HASSANI; ZARNKOW; BECKER, 2013), similar ao observado em aveia (MUÑOZ-INSA et al., 2011). Trigo foi maltado, variando o tempo de germinação (5 a 7 dias) e a umidade inicial (43 a 46%) a 16°C, e o índice de Kolbach foi de 31,36 a 45,49% (JIN et al., 2012).

3.11 MODELOS

Com exceção do modelo para β -amilase, todos os demais apresentaram coeficiente de regressão acima de 80% (tabela 3) o que indica que há um bom ajuste dos modelos (JOGLEKAR; MAY, 1987). Em função do grande número de variáveis resposta estudadas, fica impossível definir valores dos parâmetros que atenda a todas. Inicialmente, foi definido que as respostas para maiores valores de

extrato, maiores valores de atenuação limite e menores valores de viscosidade seriam utilizadas para estabelecer as melhores condições de maltagem. Porém a viscosidade teve em todos os testes resultados aceitáveis e, portanto, deixou de ser um fator limitante. Para maltes de trigo são recomendados valores em torno de 83% para extrato e de 81 a 84% para atenuação limite e, embora os resultados fossem próximos não foram atingidos no presente estudo.

Para definir os valores das variáveis foi utilizada a ferramenta de desejabilidade que estabelece as melhores condições para atender às duas respostas, dentro da faixa estudada. Ficaram estabelecidos, então: temperatura 12,5°C (-0,8409), tempo 78 horas (-0,8409) e umidade inicial de germinação 43% (0). Aplicando esses valores aos diferentes modelos das variáveis estudadas, obtivemos os resultados da tabela 4, que foram apresentados em faixas devido ao efeito do bloco. Esses resultados mostram que são atendidas as exigências quanto a qualidade de um cereal maltado, e operando em condições próximas às sugeridas, inclusive para cevada. As variáveis perdas e índice de Kolbach apresentaram faixas amplas em função do efeito maior do bloco, indicando o quanto a duração do armazenamento entre os dois experimentos interferiu nos resultados.

Tabela 4 - Valores previstos (conforme desejabilidade) e valores mensurados (máximo e mínimo) de otimização de trigo com germinação pré-colheita.

Valores dos parâmetros: temperatura: 12,5 °C (-0,8409); tempo: 78 hrs (-0,8409); umidade: 43% (0,0)

Parâmetro	Valor previsto calculado*	Valor máximo mensurado	Valor mínimo mensurado	Valores recomendados
Perdas na maltagem(%)	3,8 a 6,7	20,5	5,26	
Atividade α -amilase (UC.g ⁻¹)	292,51	590,0	121,7	-
Atividade β -amilase (UB.g ⁻¹)	72,7 a 767	89,3	45,6	-
Extrato (%)	76,6 a 77,2	82	73,7	>83**
Atenuação Limite(%)	72,6 a 73,5	75,6	65	80 (cevada)**
Viscosidade (mPa.s)	1,19 a 1,26	1,43	1,02	<1,8**
Proteína total (%)	15,55 a 16,4	17,7	14,1	>11***
N. solúvel (mg.100 g grão ⁻¹)	920 a 1180	1.540	760	650 a 780**
Nitrogênio de aminoácidos livres (mg.100 g grão ⁻¹)	236 a 253	386	190	>120 a 150**
Índice de Kolbach(%)	29,9 a 41	59	26	37 a 40**

*Devido ao efeito do bloco, os resultados estão expressos em uma faixa, exceto atividade de α -amilase.

Referências: **Muñoz-Insa et al. (2013); *** Hough et al. (1982)

4 CONCLUSÕES

A metodologia de superfície de resposta se mostrou adequada para otimizar a produção de malte de trigo com germinação pré-colheita. Todos os parâmetros estudados influenciam na qualidade do malte desejado, e a temperatura de embebição e germinação foi o fator que influenciou um maior número de parâmetros de qualidade do malte, seguida pelo tempo de germinação e pela umidade inicial de germinação. Foram possíveis estabelecer parâmetros para produção de malte de qualidade dentro das faixas utilizadas pelas maltarias.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AACC. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**, 10 ed., St. Paul: AACC, 2000, v 1 e 2.

ABERNATHY, D.G.; SPEDDING, G.; STARCHER, B. Analysis of protein and total usable nitrogen in beer and wine using a microwell ninhydrin assay. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 115, n. 2, p. 122–127, 2009.

BAMFORTH, C.W. The relative significance of physics and chemistry for beer foam excellence: theory and practice. **Journal of the Institute of Brewing**, v.110, n. 4, p. 259–266, 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa n. 38. Estabelecer o Regulamento Técnico do Trigo. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 01 dez. 2010, Seção 1, p. 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Mapa/ACS, 2009. 399 p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria do Ministério da Agricultura n. 691. Norma de Identidade e Qualidade da Cevada, para comercialização interna. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 22 nov. 1996. Seção 1, p. 24751.

BRIGGS, D. E. Malt modification-a century of evolving views. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 108, p. 395-405, 2002.

BRIGGS, D.E; BOULTON, C.A.; BROOKES, P.A.; STEVENS, R. **Brewing: Science and practice**. Boca Raton: CRC Press, 2004, 880 p.

BRYCE, J.H.; GOODFELLOW, V.; AGU, R.C.; BROSNAN, J.M.; BRINGHURST, T.A.; JACK, F.R. Effect of different steeping conditions on endosperm modification and quality of distilling malt. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 116, n. 2, p. 125–133, 2010.

CLEEMPUT, G.; ROELS, S.P.; VAN OORT, M.; GROBET, P.J.; DELCOUR, J.A. Heterogeneity in the structure of water-soluble arabinoxylans in european wheat flour of variable bread-making quality. **Cereal chemistry**, v. 70, n. 3, p. 324-329, 1993.

CUI, W.; WOOD, P.J.; BLACKWELL, B.; NIKIFORUK, J. Physicochemical properties and structural characterization by two-dimensional NMR spectroscopy of wheat β -D-glucan—comparison with other cereal β -D-glucans. **Carbohydrate polymers**, v. 41, n. 3, p. 249-258, 2000.

DENNIS, E. B. **Malts and malting**. London: Blackie Academic and Professional. 1998, 805 p.

DEPRAETERE, S.A.; DELVAUX, F.; COGHE, S.; DELVAUX, F.R. Wheat variety and barley malt properties: influence on haze intensity and foam stability of wheat beer. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 110, n. 3, p. 200–206, 2004.

EUROPEAN BREWERY CONVENTION. **Analytica EBC**. Nürnberg: Verlag Hans Carl Getränke-Fachverlag, 2005.

GOODE, D.L.; WITSHKO, ULMER, H.M.; ARENDT, E.K. Application of the rapid viscoanalyser as a rheological tool for the characterisation of mash viscosity as affected by the level of barley adjunct. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 111, n. 2, p. 165–175, 2005.

GUALANO, N.A.; DEL FUEYO, P.A.; BENECH-ARNOLD, R.L. Potential longevity (KI) of malting barley (*Hordeum vulgare* L.) grain lots relates to their degree of pre-germination assessed through different industrial quality parameters. **Journal of Cereal Science**, v. 60, p. 222-228, 2014.

GRUJIC, O.S.; PEJIN, J.D.; DENCIC, S.S. The influence of technological parameters on malt quality produced from different triticale varieties. **Zbornik Matice srpske za prirodne nauke**, v. 116, p. 297-303, 2009.

HASSANI, A.; ZARNKOW, M.; BECKER, T. Influence of malting conditions on sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) as a raw material for fermented beverages. **Food Science and Technology International**, 71. p. 1-11, 2013. Disponível em: <http://fst.sagepub.com/content/early/2013/06/10/1082013213490710> Acesso em: mar 2014.

HOUGH, J.S. Malt—a package of enzymes and food substances In: HOUGH, J.S. **The biotechnology of malting and brewing**. Cambridge: Cambridge University Press, 1991, p. 19-40

HOUGH, J.S.; BRIGGS, D.E.; STEVENS, R.; YOUNG, T.W. **Malting and brewing science**. 2^a ed. Chapman & Hall: New York, 1982

HUBNER, F.; SHEHL, B.D.; GEBRUERS, K.; COURTIN, C.M.; DELCOUR, J.A. ARENDT, E.K. Influence of germination time and temperature on the properties of rye malt and rye malt based worts. **Journal of Cereal Science**, v. 52, p. 72-79, 2010.

KING, R.W.; WETTSTEIN-KNOWLES, P. Epicuticular waxes and regulation of ear wetting and pre-harvest sprouting in barley and wheat. **Euphytica**, v. 112, p. 157–166, 2000.

KOTTEARACHCHI, N.A.; UCHINO, E.N.; KATO, E.K.; MIURA, E.H. Increased grain dormancy in white-grained wheat by introgression of preharvest sprouting tolerance QTLs. **Euphytica**, v. 152, p. 421-428, 2006.

KUNTZ, R.J.; BAMFORTH, C.W. Time course for the development of enzymes in barley. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 113, n.2, p. 196–205, 2007.

JIN, Y.; DU, J.; ZHANG, K.; XIE, L.; LI, P. Relationship between Kolbach index and other quality parameters of wheat malt. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 118, n. 1, p. 57–62, 2012.

JIN Y., SPEERS A., PAULSON A.T., STEWART R.J. Effects of β -glucans and environmental factors on the viscosities of wort and beer. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 110, n. 2, p. 104-116, 2004.

JIN, Y.; ZHANG, K.; DU, J. Effects of wheat protein content on endosperm composites and malt quality. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 114, n. 4, p. 289–293, 2008.

JOGLEKAR, A.M.; MAY, A.T. Product excellence through design of experiments. **Cereal Foods World**, v. 32, p. 857–868, 1987.

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

KLOSE, C.; MAUCH, A.; WUNDERLICH, S.; THIELE, F.; ZARNKOW, M.; JACOB, F.; ARENDT, E.K. Brewing with 100% oat malt. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 117, n. 3, p. 411–421, 2011.

LI, Y.; LU, J.; GU, G.; SHI, Z.; MAO, Z. Studies on water-extractable arabinoxylans during malting and brewing. **Food Chemistry**, v. 93, n. 1, p. 33-38, 2005.

LI, Y.; SCHWARZ, P.B.; BAN, J.M.; HORSLEY, R.D. Factors predicting malt extract whiten in a single barley cultivar. **Journal of Cereal Science**, v. 48, p. 531-538, 2008.

MAYOLLE, J.E.; LULLIEN-PELLERIN, V.; CORBINEAU, F.; BOIVIN, P.; GUILLARD, V. Water diffusion and enzyme activities during malting of barley grains: A relationship assessment. **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 358-365, 2012.

McCAIG, R.; LI, Y. Effect of pre-harvest sprouting damage on the storability and malting quality of 2009 crop AC Metcalfe, CDC Copeland and CDC Kendall barley. **Technical Report/CMBTC**, v. 15, p. 1-45, 2011. Disponível em: http://www.cmbtc.com/CMBTC_Site/Older_Reports_files/2009%20crop%20PHSD%20Report%20%20final.pdf Acesso em: 04 mar 2015.

MUÑOZ-INSA, A.; GASTL, M.; ZARNKOW, M.; BECKER, T. Optimization of the malting process of oat (*Avena sativa* L.) as a raw material for fermented beverages. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 2, p. 510-523, 2011.

MUÑOZ-INSA, A.; HARALD SELCIANO, MARTIN ZARNKOW, THOMAS BECKER, MARTINA GASTL. Malting process optimization of spelt (*Triticum spelta* L.) for the brewing process. **LWT - Food Science and Technology**, v. 50, p. 99-109, 2013.

MURALIKRISHNAA, G.; NIRMALAB, M. Cereal α -amylases—an overview. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 163–173, 2005.

OGBONNA, A.C; OBI, S.K.C.; OKOLO, B.N. Optimization of proteolytic activities in malting sorghum. **Process Biochemistry**, v. 39, p. 713–718, 2004.

OKUNGBOWA, J.; OBETA, J.A.N.; EZEUGU, L.I. Sorghum beta amylase production: relationship with grain cultivar, steep regime, steep liquor composition, and kilning temperature. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 108, n. 3, p. 362–370, 2002.

OWUSU-MENSAH, E.; ODURO, I.; DZIEDZOAVE, N.T.; SARFO, K.J. Improving the malting qualities of rice grain using gibberellic acid (GA3). **American Journal of Experimental Agriculture**, v. 1, n. 4, p. 432-439, 2011.

PELEMBE, L. A. M., DEWAR, L.A.M.; TAYLOR, J.R.N. Effects of malt conditions on pear millet malt quality. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 108, n. 1, p. 7–12, 2002.

SADOSKY, P.; SCHWARZ, P.B.; HORSELY, R.D. Effect of arabinoxylans, β -glucan, and dextrans on the viscosity and membrane filterability of a beer model solution. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v. 60, p. 153-162, 2002.

SCHMITT, M., MARINAC, L.A. Beta-amylase degradation by serine endoproteinases from green barley malt. **Journal of Cereal Science**, v. 47, p. 480-488, 2008.

SEKHON, K.S.; SINGH, N.; KAUR, H.; NAGI, H.P.S. Improving the functional and bread making properties of sprouted Indian wheat **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 19, p. 147-160, 1995.

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

SINGH, T.; SOSULSKI, F.W. Amino acid composition of malts: effect of germination and gibberellic acid on hulled and hullless barley and utility wheat. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 34, p.1012-1016, 1986.

SOLE, S.M. Effects of pregermination on germination properties of barley and resultant malt quality. **Journal of American Society of Brewing Chemists**, v. 52, n. 2, p. 76-83, 1994

TIAN, B.; XIE, B.; SHI, J.; WU, J.; CAI, Y.; XU, T.; XUE, S.; DENG, Q. Physicochemical changes of oat seeds during germination. **Food Chemistry**, v. 119, p. 1195–1200, 2010.

USANSA, U.; BURBERG, F.; GEIGER, E., BACK, W.; WANAPU, C.; ARENDT, E.K.; KREISZ, S.; BOONKERD, N. TEAUMROONG, N.; ZARNKOW, M. Optimization of malting conditions for two black rice varieties, black non-waxy rice and black waxy rice (*Oryza sativa* L. Indica). **Journal of the Institute of Brewing**, v. 117, n. 1, p. 39–46, 2011.

WOONTON, B.W.; JACOBSEN, J.V.; SHERKAT, F.; STUART, I.M. Changes in germination and malting quality during storage of barley. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 111, n. 1, p. 33–41, 2005.

WOONTON, B.W.; SHERKAT, F.; MAHARJAN, P. The Influence of barley storage on respiration and glucose-6-phosphate dehydrogenase during malting. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 111, n. 4, p. 388–395, 2005

YADAV, S.K. ; LUTHRA, Y.P. ; SOOD, D.R. ; AGGARWAL, N.K. Gibberellic acid (GA3) induced changes in proanthocyanidins and malt quality of two- and six-row husked barleys. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 55, p. 87–96, 2000.

ZARNKOW, M.; KEBLER, M.; BURBERG, F.; BACK, W.; ARENDT, E.K.; KREISZ, S. The use of response surface methodology to optimize malting conditions of proso millet (*Panicum miliaceum* L.) as a raw material for gluten-free foods. **Journal of the Institute of Brewing**, p. 13, n. 3, p. 280–292, 2007.

ZARNKOW, M.; MAUCH, A., BURBERG, F.; BACK, W.; ARENDT, E.A.; KREISZ, S. Proso Millet (*Panicum miliaceum* L.) a sustainable raw material for the malting and brewing process. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 62, p. 119–140, 2009.

ZIEGLER, P. Cereal beta-amylases. **Journal of Cereal Science**, v. 29, p. 195-204, 1999.

CAPÍTULO IV

MALTE DE TRIGO COM GERMINAÇÃO PRÉ-COLHEITA

RESUMO-A germinação é um processo comum, tanto à maltagem de cereais como a germinação pré-colheita, o que indica a possibilidade do emprego de grãos pré-germinados na produção de malte. O objetivo deste trabalho foi avaliar a qualidade de maltes produzidos a partir de grãos de trigo com germinação pré-colheita em diferentes intensidades. Quatro amostras de trigo foram caracterizadas no início do armazenamento quanto ao *falling number* e poder germinativo, e três delas que apresentavam germinação pré-colheita (*falling number* menor que 200 s) foram também analisadas quanto a proteína total, proteína solúvel, nitrogênio de aminoácidos de livres, atividades de α e β -amilase. A maltagem obedeceu a um delineamento inteiramente casualizado e os parâmetros utilizados foram germinação por 78 horas, umidade inicial de germinação de 43% e temperatura de embebição e germinação de 12,5°C. Os maltes obtidos foram analisados quanto a perdas, extrato, atenuação limite, viscosidade, nitrogênio total, nitrogênio solúvel, nitrogênio de aminoácidos livres, índice de Kolbach, atividade de α e β -amilase. Os resultados demonstraram que a maltagem elevou as concentrações de nitrogênio solúvel, de nitrogênio de aminoácidos livres, do índice de Kolbach e da atividade de α -amilase e reduziu a atividade de β -amilase para todas as amostras com germinação pré-colheita. Não houve diferença significativa entre as amostras com germinação pré-colheita para nitrogênio de aminoácidos livres, índice de Kolbach, atividade de α e β -amilase, extrato, atenuação limite, viscosidade. O malte da amostra com *falling number* acima de 200 s apresentou nitrogênio solúvel menor; mas atividade de α e β -amilase e extrato superiores às amostras com germinação pré-colheita.

Palavras-chave: *Triticum aestivum*. Maltagem. *Falling number*. Qualidade de malte

1 INTRODUÇÃO

O trigo foi um dos primeiros cereais domesticados pela humanidade, utilizado na produção de pães, biscoitos, macarrões e mingaus (WRIGLEY, 2009). Durante seu cultivo, de acordo com a tolerância da variedade e se estabelecidas condições climáticas favoráveis, o trigo pode germinar a campo após a sua

maturação, causando um dano denominado de germinação pré-colheita. A germinação pode não ser visível, mas o grão apresenta alterações que implicam em mudanças na composição, potencial germinativo, propriedades físicas e tecnológicas. O principal teste utilizado para avaliar o dano causado pela germinação pré-colheita é o *falling number*, que detecta a hidrólise do amido pelas amilases, medindo a redução da viscosidade de uma pasta feita a partir do material. Devido ao fato de analisar a degradação do amido durante a germinação (LORENZ; COLLINS; KULP, 1981), o teste avalia também a qualidade potencial de cevada e de maltes (BEST; MULLER, 1991) e é empregado para mensurar os efeitos de enzimas comerciais quando se produz cervejas a partir de outros tipos de grãos (CANTERANNE; MULLER, 1993). A legislação brasileira estabelece *falling number* mínimo de 200 s para comercialização do trigo (BRASIL, 2010), e aqueles que não atendem a esse requisito, em geral são rejeitados pelos moinhos.

A maltagem de trigo com germinação pré-colheita é uma opção de utilização desta matéria-prima. Junto com a cevada, o trigo foi um dos primeiros cereais a serem utilizados na produção da cerveja (HORNSEY, 2003) e, atualmente, tem ampliado seu uso devido ao emergente mercado de cervejas especiais e artesanais. Nos Estados Unidos as cervejas artesanais representaram em 2013, 8% do mercado de consumo e 14,3% do valor arrecadado (BREWERS ASSOCIATION, 2014). A maltagem consiste em um processo industrial que promove a germinação do grão, visando maior atividade enzimática e concentração de compostos de cadeias menores (PYLER; THOMAS, 2000). No processo de maltagem as transformações são interrompidas pela secagem do grão e todo o processo ocorre sob condições controladas. Ao contrário, na germinação pré-colheita, o estímulo a germinação se dá sob condições climáticas adversas para a cultura e, portanto, o grau de alterações é variado. Por apresentarem em comum a germinação, estudos avaliaram cevada com germinação pré-colheita na obtenção de maltes (SOLE, 1994; McCAIG; LI, 2011; GUALANO; DEL FUEYO; BENCH-ARNOLD, 2014). Segundo Sole (1994) cevadas com até 5% de grãos pré-germinados produzem maltes sem comprometimento da qualidade e grãos levemente danificados pela germinação pré-colheita são mais facilmente convertidos em malte do que os que não foram.

O trigo para produção de cerveja pode ser oriundo de variedades macias ou duras, com teores de proteína acima de 11%, independente se de linhagens de primavera ou inverno (HOUGH et al., 1982). Fatores como teor de amido, relação

amilose/amilopectina e conteúdo de proteína do grão afetam a qualidade do trigo para produção de malte (JIN et al., 2011). Em comparação com a cevada, maltes de trigo apresentam menor atenuação limite e a ausência da casca dificulta o processo de filtração do mosto (DEPRAETERE et al., 2004). A cerveja obtida a partir de trigo maltado ou não, apresenta em comparação com cervejas de malte de cevada, diferenças na viscosidade, pH, turbidez e espuma (HOUGH et al., 1982; DEPRAETERE et al., 2004).

O objetivo deste trabalho foi avaliar se, a partir de grãos de trigo com germinação pré-colheita em diferentes intensidades e submetidos as mesmas condições de maltagem, é possível obter maltes que atendam aos padrões de qualidade.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

Foram utilizadas quatro amostras de trigo provenientes do estado do Paraná, de três variedades diferentes (BRS Pardela, BRS Tangará e Fundacep Cristalino) da safra 2012. Das quatro amostras, três apresentavam germinação pré-colheita, que foi constatada através do teste de *falling number*. O material foi limpo e permaneceu 6 meses armazenado sob condição ambiente e, depois, armazenado a 4°C por mais 24 meses até o início dos testes de maltagem.

2.2 MÉTODOS

As amostras de trigo foram caracterizadas no início do armazenamento quanto ao *falling number* (FN) (método n. 56-81B-AACC) (AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS, 2000) e quanto ao poder germinativo (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2009) no recebimento e 6 meses depois de armazenamento a temperatura ambiente. As amostras que apresentaram *falling number* menor que 200 s foram também caracterizadas quanto a proteína total (método 46-12, N x 5,7-AACC) (AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS, 2000), proteína solúvel (método 4.9.1-EBC) (EUROPEAN BREWERY CONVENTION, 2005), nitrogênio de aminoácidos de

livres (método 4.10-EBC) (EUROPEAN BREWERY CONVENTION, 2005), atividades de α -amilase (método Ceralpha, Megazyme) e β -amilase (método Betamyl, Megazyme) e poder germinativo.

2.2.1 Maltagem

As quatro amostras de trigo (300 g) foram maltadas em câmara de temperatura controlada com umidade relativa variando de 70 a 80%. As condições previamente definidas de maltagem foram: temperatura de embebição e germinação de 12,5°C, tempo de germinação 78 horas e umidade inicial de germinação 43%. A etapa de embebição obedeceu a um regime alternado de 6 horas de imersão seguidas de 6 horas de aeração, até atingir a umidade estabelecida. Ao atingi-la, os grãos foram drenados e então aplicada a solução de ácido giberélico na dosagem de 0,65 mg/ kg grão com uso de *spray* manual, repetida 24 horas depois. Durante a germinação realizada em câmara BOD, a cada 24 horas eram repostas perdas de umidade pela aplicação de água destilada clorada (100 ppm) com uso de *spray* manual, e a cada 12 horas o material era revolvido. Ao atingir o tempo de germinação pré-estabelecido, o material foi disposto em fina camada sobre uma bandeja e seco em estufa com circulação de ar, em regime de 12 horas a 55°C e depois 18 horas à 65°C. Ao final da secagem, foram retiradas as raízes e epicótilos, e o malte armazenado em embalagens herméticas durante 20 dias em condições ambiente e depois armazenados a 4°C até as análises. Para cada amostra de trigo foram feitas duas repetições de maltagem.

2.2.2 Determinações analíticas

Para avaliar a qualidade dos maltes, as análises seguiram métodos descritos pela AACC-AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS (AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS, 2000) e EBC-EUROPEAN BREWERY CONVENTION (EUROPEAN BREWERY CONVENTION, 2005):

Umidade: método de estufa com circulação de ar, método 4.2 da EBC. A umidade foi utilizada para expressar os demais resultados em base seca.

Perdas: depois da secagem e de retiradas as raízes e os epicótilos, o material foi pesado e as perdas, em base seca, calculadas pela fórmula:

$$\% \text{ perdas} = [(massa \text{ inicial de trigo} - massa \text{ de malte sem raízes})/massa \text{ inicial de trigo}] \times 100 \text{ (1)}$$

Extrato: método 4.5.1 da EBC, utilizando picnômetro. Para cada ensaio os extratos foram feitos em duplicata e a determinação de gravidade específica foi feita em triplicata para cada extrato. A taxa de extrato foi calculada utilizando a fórmula descrita pelo método:

$$\text{Extrato (g extrato/100 g de mosto)} = -460,234 + 662,649 \times (SG) - 2-2,414 (SG)^2 \text{ (3)}$$

onde SG – gravidade específica do mosto

Nitrogênio total: método de micro Kjeldahl, método 46-12 da AACC (N x 5,7) em triplicata de cada ensaio.

Nitrogênio solúvel: método 4.9.1 da EBC, calculada a média da duplicata de cada extrato.

Índice de Kolbach: calculado pela fórmula descrita por EBC.

$$\text{Índice de Kolbach: (proteína solúvel (\%)/proteína total do malte (\%))} \times 100 \text{ (2)}$$

Nitrogênio de amino ácidos livres (NAL): método 4.10 da EBC, calculada a média da duplicata de cada extrato.

Viscosidade: método 4.8 da EBC, utilizando viscosímetro capilar. Foi calculada a média de triplicatas para cada extrato.

Atenuação limite: método 4.11.1 da EBC, sendo utilizada levedura liofilizada para cerveja de trigo (Fermentis/S.I. Lesaffre). A atenuação limite foi calculada pela relação entre o extrato inicial da amostra e o extrato após fermentação com sobre dosagem de fermento por 24 horas. Foi calculada a média da duplicata para cada extrato.

Atividade de α -amilase: método Ceralpha (Megazyme), em triplicata. Uma unidade Ceralpha (UC) de atividade é definida como a quantidade de enzima requerida para liberar um μ mol de p-nitrogenol do substrato BPNPG7 em um minuto nas condições estabelecidas da análise.

Atividade de β -amilase: método Betamyl (Megazyme), em triplicata. Uma unidade Betamyl (UB) de atividade é definida como a quantidade de enzima requerida para liberar um μmol de p-nitrogenol do substrato PNP β -G3 em um minuto nas condições estabelecidas da análise.

2.2.3 Análise estatística

As análises obedeceram a um delineamento inteiramente casualizado, sendo as diferentes amostras as variáveis independentes e foi utilizado o software Statistica 5.0. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e quando identificadas diferenças significativas, o Teste de Tukey a 1% de probabilidade foi usado para comparação entre as médias.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERÍSTICAS DAS AMOSTRAS DE TRIGO

Das quatro amostras (tabela 1), três apresentaram *falling number* (FN) menor que 200 s, o que caracteriza germinação pré-colheita. À medida que a atividade de α -amilase aumenta, o FN diminui. O contrário foi observado para a atividade de β -amilase, que nas 3 amostras com FN menor que 200s, tiveram atividades crescentes com o aumento do FN. Every e Ross (1996) relatam que amostras de farinhas de grãos com germinação pré-colheita apresentaram menor *falling number* e maior atividade de α -amilase, em comparação com farinhas de grãos sem dano, inclusive as tratadas com α -amilase exógena.

Tabela 1 - *Falling number*, poder germinativo (PG) inicial e após 6 meses (PG6), proteína, nitrogênio solúvel, nitrogênio de aminoácidos livres, atividade de α -amilase e de β -amilase em amostras de trigo.

Amostra (variedade/local)	FN (s)	PG (%)	PG6 (%)	Proteína (%b.s.)	NS(mg/g grão b.s)	NAL (mg/g grão b.s.)	α -amilase (UC/g)	β -amilase (UB/g)
BRS/Pardela-Honório Serpa	71d	70c	63c	17,1 ^a	7,1a	0,6a	121,6a	86,2c
Fundacep/Cristalino-Mariópolis	129c	84b	75b	16,9 ^a	6,5a	0,56a	45,9b	123,2b
BRS/Pardela-Mariópolis	180b	82b	60c	15,4 ^a	7,3a	0,61a	25,3c	172,8a
BRS Tangará-Pitanga	352a	93a	98a	-	-	-	-	-

O poder germinativo das amostras com *falling number* menor que 200 s foi menor que o recomendado para cevadas que serão maltadas (mínimo de 95%), apresentando valores entre 60 e 75% (BRASIL, 1996). Somente a amostra Tangará/Pitanga, com FN 352, teve poder germinativo superior (93%), que aumentou para 98% após seis meses de armazenamento à temperatura ambiente. As demais apresentaram queda do poder germinativo, que foi mais intensa para amostra Pardela/Mariópolis com redução de 82% para 60%.

O poder germinativo em cereais armazenados pode variar. Variedades de cevada foram armazenadas em diferentes temperaturas e diferentes tempos e, em temperaturas acima de 25°C, havia perda da energia de germinação (96 horas de germinação) e, para armazenamento a 20°C, havia manutenção e até aumento da energia de germinação por até 9 meses (REUSS; CASSELS; GREEN, 2003). Ao avaliar o potencial de longevidade de variedades de cevada durante o armazenamento, amostras com FN menor que 200 s (189 a 62s), a viabilidade inicial dos grãos variou entre 100% (FN=118 s) a 53% (FN= 62 s) mas quando submetidas a teste de envelhecimento acelerado a 40°C, o poder germinativo e o potencial de longevidade reduziram de modo mais rápido quanto maior a severidade da germinação pré-colheita (GUALANO; DEL FUEYO; BENCH-ARNOLD, 2014). Em amostras de cevada com diferentes intensidades de grãos pré-germinados, armazenadas durante 42 semanas a 15°C, amostras com até 7% de grãos germinados não apresentaram redução na energia germinativa de modo a inviabilizar o uso na maltagem (valores acima de 98%), mas na amostra com 10% de germinados houve redução para 88%. As amostras com 60 e 70% de grãos germinados apresentavam maior número de grãos mortos e a energia de germinação atingiu apenas 18% (SOLE, 1994). As alterações nas propriedades de germinação não são observadas em curtos períodos de tempo, mas acontecem ao longo do armazenamento (GUALANO; DEL FUEYO; BENCH-ARNOLD, 2014; McCAIG; LI, 2011), devido ao envelhecimento dos grãos que leva a danos de natureza genética, nas mitocôndrias, nas estruturas e na estabilidade das membranas assim como alteração na função reparadora das enzimas (McDONALDS, 1999). As alterações variam conforme a variedade (GUALANO; DEL FUEYO; BENCH-ARNOLD, 2014) e a safra.

Apesar dos baixos valores de poder germinativo observados nas amostras com germinação pré-colheita, a etapa de embebição pode contribuir para seu

aumento. As condições da embebição, principalmente temperatura da água e duração podem promover os mesmos efeitos de um condicionamento fisiológico, acarretando em aumento do poder germinativo. Em teste com uma variedade de trigo embebida por 12 e 24 horas, à temperatura ambiente, a taxa de germinação passou de 72,3% (controle) para até 100% (24 horas) (BASRA; PANNU; AFZAL, 2003). Cevada embebida em água destilada em três diferentes temperaturas (5, 15 e 35°C) e durante três diferentes tempos (8, 16 e 24 horas), apresentou o maior percentual de grãos germinados (radículas com mais de 1 mm), nas temperaturas mais baixas (>80%) do que na temperatura de 35°C (<48%) (CHUNG et al., 2009).

3.2 PROTEÍNA TOTAL, NITROGÊNIO SOLÚVEL E NITROGÊNIO DE AMINOÁCIDOS LIVRES

Inicialmente (tabela 1) todas as amostras com germinação pré-colheita (FN < 200 s) apresentaram valores similares para porcentagens de proteína e conteúdo de nitrogênio de aminoácidos livres (NAL) e nitrogênio solúvel, independente da diferença na intensidade do dano indicado pelo *falling number*. A maltagem promoveu alterações nesses parâmetros, pois as porcentagens de proteína se mantiveram próximos aos valores originais, mas as frações de nitrogênio solúvel e de nitrogênio de aminoácidos livres aumentaram de concentração (tabelas 1 e 2). A concentração de nitrogênio solúvel (18,4 mg/g. grão) aumentou quase 3 vezes na amostra de malte Cristalino/Mariópolis em relação a amostra de trigo e a concentração de NAL (4,5 mg/g. grão) teve o maior incremento, aumentando mais de 7 vezes. Tangará/Pitanga, que apresentou *falling number* superior a 200 s, apresentou os menores valores para estes dois parâmetros, mas superiores aos recomendados para maltes de cevada (NS > 6,5 mg.ggrão⁻¹ e NAL > 120 mg.100g grão⁻¹). Entre as amostras com germinação pré-colheita não houve diferença para NAL, mas houve para nitrogênio solúvel entre a menos alterada (Pardela/Mariópolis, *falling number* 180 s) e as outras duas. O índice de Kolbach não apresentou alteração para nenhuma das amostras, variando entre 57,5 a 61,5 (tabela 2).

Em otimização de malte de arroz não houve efeito de tempo ou de temperatura sobre o teor de nitrogênio total (HUBNER et al., 2010). Ao maltar trigo (44% de umidade por até 8 dias de maltagem a 15°C) o nitrogênio total não se alterou em função dos dias de germinação ou da aplicação de ácido giberélico, pois embora houvesse perdas pela retirada das raízes e epicótilos, ocorre perda de

matéria seca, que leva a concentração de nutrientes (SINGH; SOSULSKI, 1986). Em maltes de 6 variedades de trigo embebidos a 16°C e germinados por 5 dias a 13-15°C e com 44% de umidade inicial, foi constatado aumento do teor de proteína, com maior concentração de gliadina e glutenina e menor de albuminas e globulinas (JIN; ZHANG; DU, 2008). No mesmo estudo, foi constatado que a amostra com 16% de proteína gerou maltes com maior poder diastático e maior atividade de protease, maior concentração de proteína solúvel e de NAL, maior índice de Kolbach, e efeito negativo sobre o extrato (JIN; ZHANG; DU, 2008).

Tabela 2 - Proteína total, nitrogênio de aminoácidos livres (NAL) e solúvel, índice de Kolbach, atividade de α -amilase e de β -amilase em amostras de malte de trigos com diferentes intensidades de germinação pré-colheita.

Amostra	Proteína total (%)	NAL (mg/g grão b.s)	N solúvel (mg/g grão b.s)	Índice de Kolbach (%)	α -amilase (UC/g)	β -amilase (UB/g)
BRS/Pardela-Honório Serpa	17,7a	4,3a	18,4a	61,5a	191,24b	55,47a,b
Fundacep/Cristali no-Mariópolis	17,3a	4,5a	18,3a	60,5a	227,04b	57,1a,b
BRS/Pardela-Mariópolis	15,1b	3,7a,b	15,3b	57,5a	200,97b	45,92b
BRS/Tangará-Pitanga	10,2c	3,2b	10,3c	57,5a	315,16a	60,93a

Em trigo a atividade de protease é observada quando a umidade do grão atinge 15% e as peptidases aumentam a ação hidrolítica em sistemas de embebição com aeração (BROOKES; LOVET; MacWILLIAN, 1976). Além disso, há aumento da atividade de endopeptidases em função do ácido giberélico e desaparecimento de inibidores internos (BAMFORTH; BARCLAY, 1993). A ação dessas enzimas se expressa nos resultados de nitrogênio solúvel, NAL e índice de Kolbach. Em relação ao controle (sem grãos pré-germinados), em amostras de cevada com mais de 10% de grãos pré-germinados o nitrogênio total aumentou e naquelas com 90% de pré-germinação, o nitrogênio solúvel e o índice de Kolbach aumentaram (SOLE, 1994). O aumento das frações de nitrogênio solúvel intensifica a cor do mosto e conseqüentemente da cerveja (SOLE, 1994).

Em malte de cevada o índice de Kolbach é de aproximadamente 40,7% e no de trigo em torno de 37,4% e ele indica a relação entre o teor de proteína total e o teor de proteína solúvel. Maltes de triticales tratados com ácido giberélico apresentaram índice de Kolbach variando de 39,73 a 56,99%, enquanto as amostras não tratadas apresentaram valores de 35,01 a 39,37% (GRUJIC; PEJIN; DENCIC,

2009). McCaig e Li (2011) observaram que em amostras de cevada com grãos germinados, o índice de Kolbach era maior do que nas amostras sem grãos germinados. Pode ocorrer durante a germinação que parte das proteínas de reserva sejam hidrolisadas enquanto outras são sintetizadas, o que leva a manutenção do índice de Kolbach (MUÑOZ-INSA et al., 2011).

A diferença nos valores de nitrogênio solúvel observada neste trabalho, entre as amostras de malte de trigo com germinação pré-colheita possivelmente esteja relacionada com a rapidez da embebição que ocorre em grãos mais severamente alterados pela chuva (McCAIG; LI, 2011), havendo estímulo à atividade enzimática e antecipação das alterações. Já as concentrações de NAL entre as amostras de malte de trigo variaram provavelmente em função do balanço entre a atividade enzimática que os produz e as perdas das estruturas vegetais. A concentração de NAL deve ser superior a 120 mg/100 g grão para que nutrientes estejam disponíveis para as leveduras contribuindo para a produção de álcool (BRIGGS et al., 2004). Em variedades de trigo maltadas a 16°C, 44% de umidade inicial e 5 dias de germinação (período mais longo e maior temperatura de germinação que os usados nesse trabalho) o teor de NAL variou de 81,35 a 112,89 mg/100g (JIN et al., 2011). A fração de nitrogênio solúvel e de NAL não se alteram proporcionalmente porque enquanto a primeira é resultante da ação de endoproteínases, a segunda é resultado da ação de exoproteínases que agem sobre a fração solúvel (JONES; BUDDE, 2005).

3.3 ATIVIDADE DE ALFA E BETA-AMILASE

A atividade de α -amilase (tabela 2) foi similar entre todas as amostras de malte de grãos com germinação pré-colheita e menores que a amostra sem o dano (Tangará/Pitanga). Em comparação às amostras de trigo que originaram os maltes (tabela 1), houve aumento de atividade para as amostras com FN inferior a 200 s, mas quanto mais intenso foi o dano por chuva, menor foi o incremento na atividade da enzima. O aumento observado na atividade da enzima provavelmente foi influenciado pela aplicação do ácido giberélico, já que as giberelinas contribuem para a reorganização celular e síntese de novas proteínas e enzimas. Nos cereais são encontradas diferentes isoenzimas de α -amilase e que representam cerca de

30% da proteína sintetizada durante a germinação, tanto no aleurona como no escutelo (MURALIKRISHNA; NIRMALA, 2005).

Em grãos não germinados a atividade da α -amilase é praticamente nula, mas durante a germinação, aumenta progressivamente, como observado em quatro variedades de cevada maltada a 15°C, que passou de atividade nula para 100 a 300 UC/g (MAYOLLE et al., 2012). Em variedades de trigo germinadas durante 5 dias a 16°C com 44% de umidade inicial, α -amilase apresentava atividade nula no grão (método colorimétrico utilizando I₂-KI) com incremento para 5 U durante a embebição, e aumento linear ao longo da germinação, atingindo 60 U (JIN et al., 2011). Em milho e sorgo, amostras foram aspergidas com solução de ácido giberélico depois da embebição com concentrações que variaram de 0,10 a 0,30 mg/l e para os dois grãos no 4º e o 5º dia a diástase atingiu os maiores valores, decrescendo posteriormente (AGU et al., 1993). Foi encontrada correlação de 0,97 entre a dosagem de ácido giberélico e a atividade de α -amilase em malte de arroz (OWUSU-MENSAH et al., 2011).

Em amostras de trigo com germinação pré-colheita há aumento na atividade de α -amilase, como foi constatado na tabela 1, e proporcional a intensidade do dano. Mas ao longo do armazenamento e da maltagem, alterações podem ocorrer e explicar porque as amostras com *falling number* abaixo de 200 s apresentaram os menores valores para atividade de α -amilase, em comparação com a amostra não pré-germinada (tabela 2). Em cevadas com diferentes níveis de germinação pré-colheita, houve aumento do poder diastático em armazenamento refrigerado, ao contrário do que ocorreu com amostras armazenadas à temperatura ambiente (McCAIG; LI, 2011). O poder diastático entre as amostras de cevada com até 10% grãos pré-germinados apresentou tanto aumento como redução em relação ao controle. Porém, nas amostras com 70 e 90% de grãos pré-germinados houve redução do poder diastático (SOLE, 1994).

A composição do grão tem relação com a atividade de α -amilase, como em malte de trigo, onde foi constatada relação com entre a atividade da enzima e o teor de amido, sendo encontrada correlação de $r = 0,825$ (JIN et al., 2011). Em cevada, a amostra com maior teor de proteína (16%) apresentou maior pico de atividade de α -amilase (JIN; ZHANG; DU, 2008). Neste trabalho (tabela 02), a amostra maltada com menor teor de proteína apresentou a maior atividade de α -amilase. Quanto às demais amostras malte de trigo, a intensa atividade proteolítica, constatada pela

concentração de NAL e nitrogênio solúvel (tabela 2), pode estar relacionada a menor atividade enzimática, em comparação com a amostra sem germinação pré-colheita e que apresentou as menores concentrações tanto de NAL como de nitrogênio solúvel. Em maltagem de sorgo, houve aumento da atividade da α -amilase até 96 horas de germinação e depois houve queda em todas as variedades estudadas (RATNAVATHI; RAVI, 1991).

Houve diferença na atividade de β -amilase (tabela 2) entre a amostra não germinada e a amostra que apresentou menor intensidade de dano por germinação pré-colheita. Em comparação com a atividade de β -amilase do grão antes da maltagem, o comportamento foi o inverso do observado para α -amilase. Antes da maltagem, os grãos apresentavam valores distintos de β -amilase, com valores tão mais altos, quanto menor a severidade pelo dano de germinação pré-colheita, mas, depois da maltagem, a atividade reduziu em todas as amostras, não havendo diferença entre as amostras com FN inferior a 200 s. A redução foi mais intensa, quanto menor o dano pela pré-germinação.

As β -amilases são exoamilases consideradas sacarificadoras, hidrolisam ligações α 1-4 de amilose e amilopectina dos finais não redutores das moléculas e, portanto, geram maltose e glucose sucessivamente (MURALIKRISHNA; NIRMALA, 2005). A β -amilase pode não apresentar incrementos significativos depois do grão maltado, já que apresenta atividade no grão antes da maltagem. A baixa atividade observada pode estar relacionada com a degradação de β -amilase pelo aumento das proteases devido ao processo de maltagem, especialmente serine proteases (SCHMITT; MARINAC, 2008). Em cevadas maltadas os incrementos foram da ordem de 25 a 30%, com valores distintos entre as variedades (MAYOLLE et al., 2012). Em trigo, a atividade de β -amilase (método colorimétrico com ácido 3,5-dinitrosalicílico) nos grãos intactos era de cerca de 50 U e durante a embebição aumentou para 60 U (JIN et al., 2011). A atividade de β -amilase foi incrementada em estudo que utilizou 6 variedades de cevada para maltagem e que foram submetidas a tratamento com ácido giberélico, variando de 0 a 20 ppm (YADAV et al., 2000). Tal comportamento não foi observado em nosso trabalho.

3.4 EXTRATO

O maior extrato foi obtido de malte da amostra Tangará Pitanga (tabela 3), mas, entre as amostras com germinação pré-colheita, não houve diferença e os valores (79,8 a 82%) estiveram próximos a 83%, que é o desejado para maltes de trigo, embora para cevada, valores menores são adequados. Os menores valores encontrados para as amostras com intensa germinação pré-colheita podem estar relacionados com perdas na água de embebição. Grãos pré-germinados tem maior conteúdo de compostos solúveis de carboidratos e de proteínas e durante a embebição os compostos podem ser lixiviados. O extrato é um dos principais parâmetros de avaliação da qualidade do malte e resulta da atividade enzimática, principalmente sobre carboidratos de reserva, mas também sobre proteínas e carboidratos estruturais. Os resultados para atividade de α -amilase (tabela 2) são compatíveis com os valores de extrato (tabela 3).

Tabela 3 - Extrato, atenuação limite, viscosidade e perdas de amostras de malte de trigos com diferentes níveis de germinação pré-colheita.

Amostra (variedade/local)	Extrato (%)	Atenuação limite (%)	Viscosidade (m.Pa.s⁻¹)	Perdas (%)
BRS/Pardela-Honório Serpa	79,8b	63,2 b	1,13a,b	12,6a
Fundacep/Cristalino- Mariópolis	80,4b	67,7a,b	1,16a	12,4a
BRS/Pardela- Mariópolis	82,0b	70,2a,b	1,29a	9,2b
BRS/Tangará-Pitanga	87,4a	79,2a	1,03b	10a,b

O uso de ácido giberélico deve ter contribuído para os valores encontrados, pois influencia positivamente na atividade enzimática. A resposta do grão, entretanto depende não só da giberelina produzida pelo embrião ou do ácido giberélico aplicado exogenamente, mas do comportamento do grão na produção de enzimas (BAMFORTH; BARCLAY, 1993). Em malte de 5 variedades de cevada, os autores encontraram teores de açúcares redutores aumentado devido ao acréscimo nas dosagens de ácido giberélico até 20 ppm/ g grão, fruto da hidrolise do amido e atividade da β -amilase (YADAV et al., 2000). Além disso, fatores que contribuem para a germinação e aumento da atividade enzimática estão relacionados com o teor de extrato. A umidade inicial empregada (43%) deve ter contribuído para os valores alcançados de extrato, já que umidades em torno de 43 a 46% são as ideais para

promover as modificações desejadas nos maltes de cevada (BROOKES; LOVET; MacWILLIAN, 1976).

A composição do grão influencia os teores de extrato, tanto que em experimento avaliando adição de trigo não maltado (40%) para produção de cerveja, houve relação linear entre o conteúdo de nitrogênio dos trigos e o extrato ($R^2 = 0,9$, $p > 0,01$) (DEPRAETERE et al., 2004), e em maltes de trigo, a correlação entre amido e extrato atingiu $r = 0,967$ (JIN et al., 2011). Entretanto, (Bishop, 1948 apud SOLE, 1994, p. 80) afirma que o aumento do teor de proteína leva a uma redução potencial do extrato, enquanto níveis maiores de nitrogênio solúvel leva a maiores extratos. Tal comportamento foi o observado neste trabalho.

Para amostras com germinação pré-colheita os resultados são variáveis. Extratos a frio de maltes de cevada com diferentes níveis de germinação pré-colheita apresentaram valores diversos em relação ao controle (sem germinação pré-colheita). Nas amostras com 70 e 90% de grãos pré-germinados, os valores para extrato a frio foram menores ao longo do armazenamento (SOLE, 1994).

3.5 ATENUAÇÃO LIMITE

As amostras de malte de trigo com *falling number* abaixo de 200 s não apresentaram diferença entre si para atenuação limite. As duas amostras distintas foram a não danificada e a com o menor *falling number* (Pardela/Honório Serpa). Os valores (63,2 a 79,2%) (tabela 3) ficaram abaixo do desejável que é de 81 a 84%. Cervejas com trigo não maltado utilizado como adjunto (40%), apresentaram valores de atenuação limite menores em comparação com a amostra que utilizou apenas malte de cevada, devido a menor concentração de açúcares fermentescíveis (DEPRAETERE et al., 2004).

A atenuação limite mede o percentual de extrato que é convertido em álcool e depende tanto da concentração de açúcares fermentescíveis como de um adequado suprimento de aminoácidos para as leveduras (WAINWRIGHT; BUCKEE, 1977). Os extratos obtidos com as diferentes amostras de trigo (tabela 2) se mostraram em valores adequados, entretanto, ao observarmos as concentrações de nitrogênio solúvel e índice de Kolbach, os valores são considerados acima dos preconizados, indicando que, possivelmente, a fração proteica tem forte influência nos valores obtidos de extrato. Portanto, embora os extratos sejam adequados, a

composição não favorece a produção de álcool. Além disso, β -amilase faz parte do conjunto de enzimas envolvidas com a produção de açúcares fermentescíveis e houve redução de atividade na maltagem. A intensa atividade proteolítica, observada pelos resultados de nitrogênio solúvel e NAL, pode ter provocado queda na atividade amilolítica e conseqüente limitação na conversão do amido em açúcares fermentescíveis. O emprego de ácido giberélico aumenta a taxa de atenuação limite (HOUGH et al., 1982), porém neste trabalho, seu uso não fez com que fossem atingidos valores desejáveis para esse parâmetro.

3.6 VISCOSIDADE

A viscosidade dos extratos (tabela 3) foi menor que os valores máximos recomendados para maltes de trigo que é de 1,8mPa.s, não havendo diferença entre as amostras com *falling number* abaixo de 200 s. A viscosidade do mosto é influenciada por concentração e peso molecular de arabinoxilanas, β -glucanas, dextrinas e outros polissacarídeos, proteínas e polifenóis (SADOSKY; SCHWARZ, 2002; LI et al., 2005; HUBNER et al., 2010).

A importância de cada um dos compostos na viscosidade final tem sido investigada. As β -glucanas durante a maltagem e a mosturação são hidrolisadas enzimaticamente e liberadas (GRIMM; KRUGER; BURCHARD, 1995) e a viscosidade do mosto é resultado tanto da solubilização desses e demais compostos como de sua concentração. Em amostras de cevada, a concentração de maltose foi mais determinante nos valores de viscosidade dos mostos, seguido pela β -glucanas. (JIN et al., 2004). Xilanas solúveis apresentaram maior efeito sobre a viscosidade do que as β -glucanas solúveis em maltes de trigo com diferentes índices de Kolbach (JIN et al., 2012). Essa solubilização tende a aumentar a viscosidade, mas com o avanço da germinação e da atividade enzimática, o tamanho das cadeias pode ser limitante (JIN et al., 2004). Em mostos de alta viscosidade, pentosanas podem se combinar com as β -glucanas e formar gomas solúveis em água aquecida, que levam a aumentos de viscosidade, dificultam a filtração e aumentam a turbidez (ALTUNKAYA et al., 2001), além de maior gasto energético no processo.

Maltes de trigo tendem a produzir mostos com maior viscosidade em comparação com a cevada. Em maltagem de 15 variedades de trigo de duas localidades diferentes, as amostras apresentaram viscosidades semelhantes (entre

1,45 e 1,55 cP) mas com atividade de β -glucanase bem distintos (ALTUNKAYA et al., 2001). Avaliando o aquecimento sobre a solubilização de arabinosilanas e a viscosidade, amostras de malte de cevada apresentaram valores entre 1,325 e 1,993 mPa.s; em amostras com 40% de malte de trigo os valores variaram de 1,398 e 2,089 mPa.s; e as amostras com 40% de trigo não maltado os valores foram de 1,3 a 2,077 mPa,s (LU; LI, 2006). A viscosidade das cervejas com 40% de trigo não maltado variou de 1,53 a 1,61 cP enquanto na cerveja sem adição de trigo foi de 1,45 a 1,55 cP (DEPRAETERE et al., 2004).

Neste trabalho, a amostra sem germinação pré-colheita apresentou resultados distintos das duas amostras com menor intensidade de dano pela chuva (tabela 3). A viscosidade de pastas obtidas com cevadas da safra de 2009 com diferentes intensidades de germinação pré-colheita em 3 variedades foi avaliada utilizando RVA (Rapid ViscoAmilograph), e foi observado o efeito do maior percentual de grãos germinados na redução da viscosidade da pasta (McCAIG; LI, 2011). Avaliando maltes de cevadas com diferentes intensidades de grãos pré-germinados, somente a amostra com 90% de grãos pré-germinados apresentou alteração nos níveis de viscosidade, mas depois de armazenadas por 28 semanas, na amostra com 70% de grãos pré-germinados a viscosidade aumentou e na amostra com 90%, a viscosidade que já era reduzida se manteve. (SOLE, 1994). Os reduzidos valores encontrados de viscosidade (1,03 a 1,29 mPa) (tabela 3) devem ser resultado também do emprego de ácido giberélico (BRIGGS, 2002).

3.7 PERDAS DA MALTAGEM

As menores perdas foram encontradas na amostra com *falling number* 180 s, que se diferenciou das demais amostras com *falling number* abaixo de 200 s (tabela 3). Cevadas maltadas com umidade inicial de 43,7% a 16°C, germinando de 1 a 4 dias, apresentaram perdas de 1,3 a 13,51% (LI et al., 2008). Amostras com maior intensidade de dano pela germinação a campo são as que mais facilmente aumentam seus teores de umidade, e embebem mais rapidamente (SOLE, 1994; McCAIG; LI, 2011). A embebição mais rápida pode ter levado os grãos de trigo a apresentarem maior solubilização dos compostos e conseqüentemente, maiores perdas por lixiviação. Essas perdas devem ter sido tão intensas que suplantaram as perdas de radículas e acróspiros que tendem a ser maiores nas amostras com maior

poder germinativo. As perdas também estão relacionadas com a atividade proteolítica, tanto que o emprego de bromato de potássio é recomendado, exatamente para retardar a proteólise, e reduzir as perdas de malte (PARKER; PROUDLOVE, 1995). O ácido giberélico é um dos fatores que influencia nas perdas. Ao maltear triticale utilizando ácido giberélico (concentração não informada) foram constatadas menores perdas devido a respiração, menor perda pelas radículas descartadas, resultando em menores perdas em geral (GRUJIC; PEJIN; DENCIC, 2009).

Na determinação da qualidade do malte vários são os parâmetros considerados e nem sempre é possível contemplar todos. Geralmente parâmetros como taxa de extrato, atenuação limite e viscosidade são os mais importantes, e para as amostras que apresentaram germinação pré-colheita, a atenuação limite não atingiu os níveis desejáveis. Estudos sobre a composição desses extratos podem esclarecer melhor os reduzidos níveis de atenuação limite atingidos para todas as amostras.

Alterações no processo de mosturação, principalmente na rampa de temperaturas, e uso de inibidores proteolíticos podem ser utilizados, buscando a intensificação da atividade de enzimas amilolíticas e reduzir os teores de nitrogênio solúvel e nitrogênio de aminoácidos livres, melhorando a qualidade dos maltes. Há também a possibilidade de sua utilização na obtenção de cervejas com baixo teor alcoólico (máximo de 1,2% de álcool), que já respondem por 5% do mercado alemão (BRANYC et al., 2012). O emprego de trigos com grãos pré-germinados deve ainda ser objeto de estudo quanto a sua segurança. Calori-Domingues et al, (2007) avaliou 50 amostras de trigos brasileiros, 25 da Argentina e 25 do Paraguai e constatou que 94% das amostras brasileiras estavam contaminadas, em média, com 332 microgramas/kg de desoxinivalenol e nas amostras paraguaias e argentinas, 88% estavam contaminadas com níveis médios de 90 microgramas/kg. Na Europa é sugerido limites máximo em torno de 1250 microgramas/kg. Em grãos pré-germinados, as condições de campo podem favorecer níveis mais altos de contaminação.

4 CONCLUSÕES

Os resultados encontrados indicam a possibilidade de emprego de grãos pré-germinados de trigo na obtenção de malte nas condições aqui empregadas, por atenderem a maioria dos parâmetros de qualidade. A intensidade da germinação pré-colheita não indicou ser limitante. A amostra sem germinação pré-colheita somente foi superior as demais com relação ao teor de extrato e atividade de α e β -amilase.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**, 10 ed., St. Paul: AACC, 2000, v 1, 2.

AGU, R.C.; OKEKE, B.C.; NWUFO, S.C.; UDEB, C.M.; ONWUMELU, A.H. Influence of gibberellic acid (GA) on diastase and cellulase development of nigerian millet (*Pennisetum maiwa*) and sorghum (*Sorghum bicolor*). **Process Biochemistry**, v.28, 105-108, 1993.

ALTUNKAYA A.; ÇELIK S.; YALÇIN E.; KÖKSEL H. Effects of genotype and environment on malt β -glucanase activity. **Journal of Institute of Brewing**, v. 107, n. 1, p. 27-30, 2001.

BAMFORTH, C.W.; BARCLAY, A.H.P. Malting technology and the uses of malt. In: MacGREGOR, A.W.; BHATTY, R.S. **Barley: chemistry and technology**. St. Paul: AACC. 1993. p. 297-354.

BASRA, S.M.A.; PANNU, I.A.; AFZAL, I. Evaluation of seedling vigor of hydro and matriprimed wheat (*Triticum aestivum* l.) **Seeds**, v.5, n. 2, p. 121-123, 2003.

BEST, S.; MULLER, R. Use of the Hagberg falling number apparatus to determine malt and barley quality. **Journal of Institute of Brewing**, v. 97, p. 273-278, 1991.

BRANYC, T.; SILVA, D.P.; BASZCZYNSKI, M.; LEHNERT, R. SILVA, J.B.A. A review of methods of low alcohol and alcohol-free beer production. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 4, p.493–506, 2012.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa n.38 de 30 de novembro de 2010. Regulamento técnico do trigo. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 01 dez. 2010(a), Seção 1, p. 3.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Portaria do Ministério da Agricultura n. 691. Norma de Identidade e Qualidade da Cevada, para comercialização interna. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 22 nov. 1996. Seção 1, p. 24751

BREWERS ASSOCIATION. **Insights & analysis: craft at 35,000 feet** (2014). Disponível em: <http://www.brewersassociation.org/insights/airlines-serving-craft-beer/> Acesso em: 20 mar 2015.

BRIGGS, D. E. Malt modification-a century of evolving views. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 108, n. 4, p. 395-405, 2002.

BRIGGS, D.E; BOULTON, C.A.; BROOKES, P.A.; STEVENS, R. **Brewing: Science and practice**. Boca Raton: CRC PRESS, 2004, 880 p.

BROOKES, P.A.; LOVETT, D.A.; MacWILLIAM, I.C. The steeping of barley: a review of the metabolic consequences of water uptake, and their practical implications. **Journal of Institute of Brewing**, v. 82, p. 14-26, 1976.

CALORI-DOMINGUES, M.A.; ALMEIDA, R.R.; TOMIWAKA, M.M.; GALLO, C.R.; GLORIA, E.M.; DIAS, C.T.S. Ocorrência de desoxinivalenol em trigo nacional e importado utilizado no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 1, p. 181-185, 2007.

CANTERANNE, E.; MULLER, R.E., A rapid mashing technique: the Hagberg falling number method. **Fermentation**, v. 5, p. 413–416, 1993.

CHUNG, H.J.; JANG, S.H.; CHO, H.Y.; LIM, S.T. Effects of steeping and anaerobic treatment on GABA (γ -aminobutyric acid) content in germinated waxy hull-less barley. **LWT-Food Science and Technology**, v. 42, n. 10, p.1712–1716, 2009.

DEPRAETERE, S.A.; DELVAUX, F.; COGHE, S.; DELVAUX, F.R. Wheat variety and barley malt properties: influence on haze intensity and foam stability of wheat beer. **Journal of Institute of Brewing**, v. 110, n. 3, p. 200–206, 2004.

EUROPEAN BREWERY CONVENTION. **Analytica EBC**. Nürnberg: Verlag Hans Carl Getränke-Fachverlag, 2005.

EVERY, D.; ROSS, M. The role of dextrans in the stickiness of bread crumb made from pre-harvest sprouted wheat or flour containing exogenous α -amylase. **Journal of Cereal Science**, v. 23, p. 247–256, 1996.

GRIMM, A. KRUGER, E.; BURCAHRD, W. Solution properties of β -D-(1,3)(1,4)-glucan isolated from beer. **Carbohydrate Polymers**, v. 27, p. 205-214, 1995.

GRUJIC, O.S.; PEJIN, J.D.; DENCIC, S.S. The influence of technological parameters on malt quality produced from different triticale varieties. **Zbornik Matice srpske za prirodne nauke: Zb Mat srp prir nauk**, v. 116, p. 297-303, 2009.

GUALANO, N. A.; DEL FUEYO, P. A.; BENECH-ARNOLD, R. L. Potential longevity (K_i) of malting barley (*Hordeum vulgare* L.) grain lots relates to their degree of pre-germination assessed through different industrial quality parameters. **Journal of Cereal Science**, v. 60, n. 1, p. 222-228, 2014.

HORNSEY, I. S. **A history of beer and brewing**. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2003, 745 p.

HOUGH, J. S. Malt—a package of enzymes and food substances In: HOUGH, J. S. **The biotechnology of malting and brewing**. Cambridge: Cambridge University Press, 1991, p. 19-40.

HOUGH, J. S.; BRIGGS, D. E.; STEVENS, R.; YOUNG, T. W. Adjuncts, sugars, wort syrups and industrial enzymes. In: **Malting and Brewing Science**, London: Chapman and Hall, 1981, p. 228–240, v. 1.

HUBNER, F.; SHEHL, B. D.; GEBRUERS, K.; COURTIN, C. M.; DELCOUR, J. A. ARENDT, E. K. Influence of germination time and temperature on the properties of rye malt and rye malt based worts. **Journal of Cereal Science**, v. 52, p. 72-79, 2010.

JONES, B. L.; BUDDE, A. D. How various malt endoproteinases classes affect wort soluble protein levels. **Journal of Cereal Science**, v. 41, p. 95-106, 2005.

JIN, Y. H.; DU, J. H.; ZHANG, K. L.; ZHANG, X. C. Effects of wheat starch contents on malt qualities **Journal of Institute of Brewing**, v. 117, n. 4, p. 534–540, 2011.

JIN, Y.; DU, J.; ZHANG, K.; XIE, L.; LI, P. Relationship between Kolbach index and other quality parameters of wheat malt. **Journal of Institute of Brewing**, v. 118, n. p. 57-62, 2012.

JIN, Y.; ZHANG, K.; DU, J. Effects of wheat protein content on endosperm composites and malt quality. **Journal of Institute of Brewing**, v. 114, n. 4, p. 289-293, 2008.

JIN Y., SPEERS A., PAULSON A. T., STEWART R. J. Effects of β -glucans and environmental factors on the viscosities of wort and beer. **Journal of Institute of Brewing**, v. 110, n. 2, p. 104-116, 2004.

LI, Y.; SCHWARZ, P. B.; BARR, J. M.; HORSLEY, R. D. Factors predicting malt extract within a single barley cultivar. **Journal of Cereal Science**, v. 48, p. 531-538, 2008.

LI, Y.; LU, J.; GU, G.; SHI, Z.; MAO, Z. Studies on water-extractable arabinoxylans during malting and brewing. **Food Chemistry**, v. 93, n. 1, p. 33-38, 2005.

LORENZ, K.; COLLINS, F.; KULP, K. Sprouting of cereal grains – effects on starch characteristics. **Starch**, v. 33, n. 6, p. 183–187, 1981.

LU, J.; Y. LI. Effects of arabinoxylans solubilization on wort viscosity and filtration when mashing with grist containing wheat and wheat malt. **Food chemistry**. v. 98, p. 164-170, 2006..

MAYOLLE, J.E.; LULLIEN-PELLERIN, V.; CORBINEAU, F.; BOIVIN, P.; GUILLARD, V. Water diffusion and enzyme activities during malting of barley grains: a relationship assessment. **Journal of Food Engineering**, v. 109, p. 358–365, 2012.

McCAIG, R.; LI, Y. Effect of pre-harvest sprouting damage on the storability and malting quality of 2009 crop AC Metcalfe, CDC Copeland and CDC Kendall barley. **Technical Report/CMBTC**, v. 15, p. 1-45, 2011. Disponível em: http://www.cmbtc.com/CMBTC_Site/Older_Reports_files/2009%20crop%20PHSD%20Report%20%20final.pdf Acesso em: 04 mar 2015.

McDONALDS, M.B. Seed deterioration: physiology, repair and assessment. **Seed Science and technology**, v. 27, n. 1, p. 177-237, 1999.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Regra para análise de sementes**. Brasília : Mapa/ACS, 2009. 399 p.

MUÑOZ-INSA, A.; GASTL, M.; ZARNKOW, M.; BECKER, T. Optimization of the malting process of oat (*Avena sativa* L.) as a raw material for fermented beverages. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 2, p. 510-523, 2011.

MURALIKRISHNAA, G.; NIRMALA, M. Cereal α -amylases—an overview. **Carbohydrate Polymers**, v. 60, p. 163-173, 2005.

OWUSU-MENSAH, E.; ODURO, I.; DZIEDZOAVE, N.T.; SARFO, K.J. Improving the malting qualities of rice grain using gibberellic acid (GA3). **American Journal of Experimental Agriculture**, v. 1, n. 4, p. 432-439, 2011.

PARKER, D.K.; PROUDLOVE, M. O. Studies on the mechanisms of rootlet inhibition developing barley embryos. **Journal of Cereal Science**, v. 21, p. 71-78, 1995.

PYLER, R.E.; THOMAS, D.A. Malted cereals: their production and use. In: KULP, K; PONTE JR.; J.G. **Handbook of cereal Science and technology**. 2^a ed. New York: Marcel Dekker, 2000, p. 685-696.

RATNAVATHI, C. V.; RAVI, S. B. Effect of different durations of steeping and malting on the production of *alpha-amylase* in sorghum. **Journal of Cereal Science**, v. 14, p. 287-296, 1991.

REUSS, R.; CASSELLS, J.A.; GREEN, J.R. Malting barley: storage, dormancy and processing quality. Stored grain in Australia 2003. **Proceedings of the Australian Postharvest Technical Conference**, Canberra, 25–27 June 2003. CSIRO Stored Grain Research Laboratory, Canberra

SADOSKY, P.; SCHWARZ, P.B. Effect of arabinoxylans, beta-glucans, and dextrans on the viscosity and membrane filterability of a beer model solution. **Journal of American Society of Brewing Chemistry**, v. 60, n. 4, p. 153-162, 2002.

SCHMITT, M.R.; MARINAC, L. Beta-amylase degradation by serine endoproteases from green barley malt. **Journal of Cereal Science**, v. 47, p. 480–488, 2008.

SINGH, T.; SOSULSKI, F.W. Amino acid composition of malts: effect of germination and gibberellic acid on hulled and hullless barley and utility wheat. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 34, p.1012-1016, 1986.

SOLE, S.M. Effects of pregermination on germination properties on barley and resultant malt quality. **Journal of American Society Brewing Chemistry**, v. 52, n. 2, p. 76-83, 1994.

WAINWRIGHT, T.; BUCKEE, G.K. Barley and malt analysis—a review. **Journal of the Institute of Brewing**, v. 83, p. 325-347, 1977.

WRIGLEY, C.W. Wheat: a unique grain for the world. In: KHAN, K. SHEWRY, P.R. **Wheat: chemistry and technology**. 4^a ed., St Paul: AACC, 2009, p. 1-17.

YADAV, S.K.; LUTHRA, Y.P.; SOOD, D.R.; AGGARWAL, N.K. Gibberellic acid (GA₃) induced changes in proanthocyanidins and malt quality of two- and six-row husked barleys. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 55, p. 87–96, 2000.

CONCLUSÕES GERAIS

Trigo com germinação pré-colheita apresenta alterações na atividade enzimática, composição de carboidratos e na fração proteica, correlacionada aos valores de *falling number*. Tais alterações entretanto não atingem níveis similares a de um processo de maltagem.

Através da metodologia de superfície de resposta foi possível identificar e mensurar a influência de diferentes parâmetros na maltagem desse tipo de matéria-prima.

A produção de malte de trigo com germinação pré-colheita é uma alternativa viável do ponto de vista da tecnologia da maltagem, independente da intensidade do dano causado pela chuva.

APÉNDICE

APÊNDICE A - Etapas da maltagem em laboratório de amostras de trigo com germinação pré-colheita: a) aplicação de ácido giberélico; b) germinação; c) trigo germinado com 24 horas; d) trigo germinado com 144 horas; e) secagem; f) retirada de acróspiros e radículas.

a)



d)



b)



e)



c)



f)

