

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Nutrição
Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos



Dissertação

**Teor de biocompostos em germinados de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) e
painço (*Panicum miliaceum* L.)**

Scharlise Diovanela Schneider da Silva

Pelotas, 2014

Scharlise Diovanela Schneider da Silva

**Teor de biocompostos em germinados de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) e
painço (*Panicum miliaceum* L.)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Faculdade de Nutrição como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientador: Prof^a. Dr^a. Elizabete Helbig

Coorientadores: Dr^a. Roberta Manica-Berto

Prof. PhD. Rui Carlos Zambiasi

Pelotas, 2014

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S586t Silva, Scharlise Diovanela Schneider da

Teor de biocompostos em germinados de linhaça (*linum usitatissimum* L.) e painço (*panicum miliaceum* L.) / Scharlise Diovanela Schneider da Silva ; Elizabete Helbig, orientadora ; Roberta Manica-Berto, Rui Carlos Zambiasi, coorientadores. — Pelotas, 2014.

96 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2014.

1. Compostos bioativos. 2. Capacidade antioxidante. 3. Brotos. 4. Safras. I. Helbig, Elizabete, orient. II. Manica-Berto, Roberta, coorient. III. Zambiasi, Rui Carlos, coorient. IV. Título.

CDD : 641.1

Scharlise Diovanella Schneider da Silva

Teor de biocompostos em germinados de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) e painço
(*Panicum miliaceum* L.)

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

Data da Defesa:

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Elizabete Helbig (Orientador). Doutorado em Ciência e Tecnologia
Agroindustrial pela Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Brasil.

Prof. Dr. Alvaro Renato Guerra Dias. Doutorado em Tecnologia de Alimentos.
Pela Universidade Estadual de Campinas, Unicamp, Brasil.

Prof. Dr^a. Carla Rosane Barboza Mendonça. Doutorado em Química pela
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil.

Prof^a. Dr^a. Josiane Freitas Chim. Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial
pela Universidade Federal de Pelotas, UFPel, Brasil.

Dedicatória

Dedico este trabalho à Deus, minha família, ao meu namorado e a todos os professores e colegas que de alguma forma contribuíram com a minha formação.

Agradecimentos

Agradeço a Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar os caminhos nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades;

Ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos por possibilitar a realização deste trabalho;

A CAPES pela bolsa concedida;

Aos meus orientadores Roberta Manica-Berto, Prof^a. Elizabete Helbig, e Prof. Rui Carlos Zambiasi, por acreditarem em mim, me mostrarem o caminho da ciência;

A pós-doutoranda Fabiana Lemos Goularte, pela colaboração no desenvolvimento do trabalho e conhecimento transmitido;

À minha mãe Maria e mana Rubiéli, as quais amo muito, por torcerem e acreditarem no meu potencial;

Ao Jonathan, que foi a pessoa que esteve presente em todas as fases para que este trabalho fosse concluído, sendo muito compreensivo e prestativo nas horas mais difíceis e cansativas, deste período;

Às minhas amigas e colegas Michele Crizel Cardozo, Cristina Jansen, Fernanda Krumreich, Josiane Rutz, Roseane D'Ávila e Janice Moura do laboratório de Cromatografia de Alimentos, pelos momentos de descontração, incentivo, força e por toda a experiência e ensinamentos compartilhados;

À minha amiga e Prof^a Ângela Maria Fiorentini, pela amizade e pelos sábios conselhos;

A minha amiga Graciele Funck, pela amizade e força;

A todos os colegas e professores da pós-graduação em Nutrição e Alimentos pelo convívio e aprendizado;

Não caberão todos aqui, mais saibam que na memória sempre haverá lugar para lembrar de todos que de alguma forma contribuíram para essa história...

Fica aqui, o meu muito obrigada!

Resumo

SILVA, Scharlise Diovanela Schneider da. **Teor de biocompostos em germinados de linhaça (*Linum usitatissimum* L.) e painço (*Panicum miliaceum* L.)**. 2014. 96f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Vegetais germinados podem ser consumidos frescos em qualquer época do ano, este processo pode melhorar a palatabilidade, o valor nutricional além de alterar o teor dos compostos bioativos em germinados e/ou brotos. Alguns fatores podem influenciar na composição destes produtos, tais como tempo de germinação, espécie e variedade da planta. Portanto, objetivou-se investigar as modificações no perfil de compostos minoritários, especialmente de interesse biológico, resultantes do processo de germinação de linhaça e painço, ao longo do tempo. O experimento foi instalado na Estação Experimental Terras Baixas da Embrapa Clima Temperado, no Município de Capão do Leão, RS. As sementes de linhaça e painço foram adquiridas de produtores comerciais no Estado do RS e distribuídas uniformemente em caixas tipo gerbox contendo duas folhas de papel germitest umedecidos com água destilada (equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco). Em seguida, as caixas foram acondicionadas em germinador regulado com temperatura constante de 21 °C (± 2) para a linhaça e 25 °C (± 2) para o painço, umidade relativa do ar de 80 % (± 5) e luminosidade de 24 horas. As coletas dos germinados foram efetuadas 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a germinação, além da testemunha, sem germinar (0 hora). Foi considerada a emergência da radícula como indicador da germinação e forma de padronizar a coleta. O trabalho está estruturado em dois artigos, sendo: **ARTIGO 1** – Neste estudo objetivou-se avaliar a composição centesimal e o perfil de ácidos graxos nas sementes e os teores de clorofilas, carotenoides, fenóis e a capacidade antioxidante nos germinados de linhaça e painço em diferentes tempos de germinação. Para isso, foi realizado um experimento em delineamento experimental completamente casualizado, arranjado em esquema bifatorial, com três repetições. Ao fator A foi atribuído o tipo de semente (linhaça e painço) e ao fator B, os tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a germinação). A semente de linhaça apresentou maior percentual de lipídios em comparação com a semente de painço. O ácido graxo majoritário na linhaça foi o linolênico, enquanto que os ácidos palmítico, palmitoleico, linoleico e araquídico foram os principais no painço. Houve diferença entre linhaça e painço, em clorofilas, carotenoides totais, fenóis totais e capacidade antioxidante nos tempos 72, 96 e 120 horas após a germinação. **ARTIGO 2** - Objetivou-se avaliar a composição centesimal e o perfil de ácidos graxos nas sementes e os teores de clorofilas, carotenoides, fenóis e a capacidade

antioxidante, presentes em germinados de *Panicum miliaceum* L. ao longo da germinação, em duas safras consecutivas. Para isso, foi realizado um experimento em delineamento experimental completamente casualizado, arranjado em esquema bifatorial, com três repetições. Ao fator A foi atribuído a safra (2012/13 e 2013/14) e ao fator B, os tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a germinação). Os resultados demonstraram que a composição centesimal da semente varia em função da safra. O ácido graxo majoritário na semente de painço foi o linoleico, no entanto, foram encontradas diferenças significativas nos teores de ácidos graxos entre as safras, o que decorre das condições climáticas características de cada ano. Houve aumento nos teores de carotenoides totais, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante em função do tempo de germinação para ambas as safras. As sementes germinadas de linhaça e painço contêm diversos compostos que podem ser benéficos à saúde, como alguns carotenoides, compostos fenólicos, o que potencializa a capacidade antioxidante das mesmas. Portanto, o consumo de germinados de linhaça e painço pode ser uma boa alternativa para aumentar o fornecimento destes compostos na dieta humana.

Palavras-Chave: compostos bioativos; capacidade antioxidante; brotos; safras.

Abstract

SILVA, Scharlise Diovanela Schneider da. **Biocompounds content in germinated flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) and millet (*Panicum miliaceum* L.)** 2014. 96f. Dissertation (MSc) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Sprouted vegetables can be eaten fresh at any time of year, this process can improve palatability, nutritional value and alters the content of bioactive compounds in germinated and / or shoots. Several factors can influence the composition of these products, such as time of germination, species and variety of the plant. Therefore, this study aimed to investigate the changes in the profile of minor compounds, especially biological, interest resulting from germination of flaxseed and millet process over time. The experiment was conducted at the Experimental Station Lowlands Embrapa Temperate Climate in the City of Capon Lion, RS. The flaxseed and millet were acquired from commercial producers in the state of RS and evenly distributed in boxes type gerbox containing two sheets of paper germitest moistened with distilled water (equivalent to 2.5 times the mass of dry paper). Then the boxes were placed in a germination chamber set at a constant temperature of 21 ° C (± 2) for flaxseed and 25 ° C (± 2) for millet, relative humidity of 80% (± 5) and 24 hours of light . The collections were made from sprouted 24, 48, 72, 96 and 120 hours after germination, and a control without germinate (0 hours). Was considered the emergence of the radicle and germination as an indicator of the way to standardize the collection. The paper is structured in two articles, namely: **ARTICLE 1** -In this study aimed to evaluate the proximate composition and fatty acid profile of the seed and the contents of chlorophylls, carotenoids, phenolics and antioxidant capacity in sprouted flaxseed and millet in different times of germination. For this, an experiment in a completely randomized experimental design, arranged in a factorial scheme with three replications was conducted. The factor was attributed to the type of seed (linseed and millet) and factor B, the germination time (0, 24, 48, 72, 96 and 120 hours after germination). Flaxseed had a higher percentage of lipids compared to the seed of millet. The major fatty acids in linseed was linolenic, whereas palmitic, palmitoleic, linolenic and arachidic were the main millet. Was no difference between flaxseed and millet in chlorophylls, carotenoids, phenolic compounds and antioxidant capacity at times 72, 96 and 120 hours after germination. **ARTICLE 2** - This study aimed to evaluate the proximate composition and fatty acid profile of the seed and the contents of chlorophylls, carotenoids, phenolics and antioxidant capacity present in *Panicum miliaceum* L. sprouted along the germination in two consecutive harvests.

For this, an experiment in a completely randomized experimental design, arranged in a factorial scheme with three replications was conducted. The factor was attributed to the (2012/13 and 2013/14) and the crop factor B, the germination time (0, 24, 48, 72, 96 and 120 hours after germination). The results demonstrated that the chemical composition of the seed varies according to the season. The major fatty acid in the seed of millet was linoleic, however, significant differences were found in levels of fatty acids between crops, which is climate conditions typical of each year. There were increased levels of carotenoids, phenolic compounds and antioxidant capacity as a function of germination time for both harvests. Germinated seeds and linseed millet contain various compounds that can be beneficial to health, as some carotenoids, phenolic compounds, which enhances the antioxidant capacity of same. Therefore, the consumption of sprouted flax millet and can be a good alternative for increasing the supply of these compounds in the human diet.

Keywords: bioactive compounds; antioxidant capacity; shoots; crops.

Lista de Figuras

Artigo 1

- Figura 1 Clorofila *a* (A), *b* (B) e total (C) (mg g^{-1} MS) e carotenoides totais - C T ($\text{mg } \beta\text{-caroteno } 100\text{g}^{-1}$ MS - D) de sementes de linhaça (Lin) e painço (Pai) submetidas a diferentes tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas). UFPel, Pelotas, 2013/14. A barra vertical representa a DMS pelo teste *t* ($p \leq 0,05$)..... 59

- Figura 2 Fenóis totais (mg EAG g^{-1} MS - A) e capacidade antioxidante - C A (mg TEAC g^{-1} MS - B) de sementes de linhaça (Lin) e painço (Pai) submetidas a diferentes tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas). UFPel, Pelotas, 2013/14. A barra vertical representa a DMS pelo teste *t* ($p \leq 0,05$)..... 61

Artigo 2

- Figura 1 Clorofila *a* (A), *b* (B) e total (C) (mg g^{-1} MS) e carotenoides totais - C T ($\text{mg } \beta\text{-caroteno } 100\text{g}^{-1}$ MS - D) de sementes de painço safras 2012/13 e 2013/14 submetidas a diferentes tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas). UFPel, Pelotas. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%)..... 72

- Figura 2 Fenóis totais (mg EAG g^{-1} MS - A) e capacidade antioxidante - C A (mg TEAC g^{-1} MS - B) de sementes de painço safras 2012/13 e 2013/14 submetidas a diferentes tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas). UFPel, Pelotas.

(As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%)..... 74

Lista de Tabelas

Revisão da Literatura

Tabela 1.	Composição da linhaça por 100 gramas de parte comestível	21
Tabela 2.	Composição do painço por 100 gramas de parte comestível	23

Projeto

Tabela 1	Delineamento experimental para avaliar variáveis físico-químicas e fitoquímicas em diferentes tempos de germinação de linhaça e painço.....	31
Tabela 2	Cronograma de atividades a serem desenvolvidas durante a condução das diferentes etapas desse projeto de pesquisa...	36
Tabela 3	Orçamento do material de consumo	37

Artigo 1

Tabela 1	Composição centesimal de sementes de linhaça e painço. UFPel, Pelotas-RS, 2013/14.....	57
Tabela 2	Ácidos graxos (%) de sementes de linhaça e painço. UFPel, Pelotas-RS, 2013/14.....	58
Tabela 3	Coeficientes de correlação de Pearson e valores de p entre as variáveis dependentes. UFPel, Pelotas, 2013/14.....	63

Artigo 2

Tabela 1	Composição centesimal de sementes de painço, safras 2012/13 e 2013/14. UFPel, Pelotas-RS.....	70
----------	---	----

Tabela 2	Ácidos graxos (%) de sementes de painço, safras 2012/13 e 2013/14. UFPel, Pelotas-RS.....	71
Tabela 3	Coeficientes de correlação de Pearson e valores de p entre as variáveis dependentes.UFPel, Pelotas, 2013/14.....	75

Sumário

1 Introdução.....	16
2 Revisão da Literatura.....	19
3 Projeto de Pesquisa.....	26
4 Relatório do trabalho de campo.....	41
5 Artigo 1.....	45
6 Artigo 2.....	68
7 Considerações Finais.....	85
8 Referências.....	86

1 Introdução

O consumo regular de frutas e vegetais tem sido fortemente associado à redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas, tais como doenças cardiovasculares, câncer, diabetes, doença de Alzheimer e catarata (LIU, 2003). Estes benefícios estão associados a alguns compostos bioativos, os quais são metabólitos secundários de plantas e exibem uma vasta gama de efeitos biológicos, dentre eles a capacidade antioxidantes (LIU, 2004).

Uma alternativa para o consumo desses compostos são os germinados ou brotos, alimentos de origem vegetal, geralmente consumidos na forma fresca. A tecnologia de germinar sementes é econômica e eficaz, além disso, pode produzir e quebrar macromoléculas, aumentar a digestibilidade e consequentemente, os valores nutritivos (FERNANDEZ-OROZCO et al., 2008), sendo esta, uma técnica antiga e muito utilizada por alguns povos.

A germinação inicia-se quando a semente seca começa a absorver a água e se completa quando o eixo embrionário alonga. Neste ponto, as reservas dentro dos tecidos de armazenamento da semente são mobilizados para apoiar o crescimento das plântulas (BEWLEY; HEMPEL; MCCORMICK; ZAMBRYSKI, 2001). A partir do momento em que quebram a dormência das sementes, as respostas de proteção ocorrem através da síntese de fenóis e outros compostos (TAIZ; ZEIGER, 1998).

Existem diversos trabalhos publicados sobre germinados e/ou brotos, no entanto a maioria são com feijão-mungo (FERNANDEZ-OROZCO et al., 2008), arroz (MOONGNARM; SAETUNG, 2010), brócolis (MARTINEZ-VILLALUENGA et al., 2010), soja (de MEJIA et al., 2010). As sementes de linhaça e painço, por apresentarem bom perfil nutricional além de compostos bioativos (OOMAH; MAZZA, 1993; MORRIS, 2001; OOMAH, 2001; USDA, 2013b), tornam-se novas opções vegetais para produção de germinados e/ou brotos que podem ser usados na alimentação.

Estudos demonstram valores mais elevados de bioativos como ácido L-ascórbico (HUANG; CAI; XUO, 2014) e compostos fenólicos (VASILJEVIC et al., 2012; HUANG; CAI; XUO, 2014) além do aumento da capacidade antioxidante (DONKOR et al., 2012; HUANG; CAI; XUO, 2014) em germinados de grãos e leguminosas em relação aos não germinados. Compostos como, isoflavonas de forma aglicona e ácido L-ascórbico podem ser encontrados em sementes germinadas, e que geralmente são muito baixos em sementes não germinadas (SEUNG; YU; HYUN, 2009). Adicionalmente, verificou-se que o tempo de germinação também influencia no acúmulo desses compostos (de MEJIA, 2010; HUANG; CAI; XUO, 2014).

Os efeitos das condições de germinação (temperatura, luz, umidade e tempo de germinação) nos compostos bioativos podem variar em função de fatores como espécies de plantas, variedades de sementes e diferentes cultivares (EGLI et al., 2005; GLORIA et al., 2005; VASILJEVIC et al., 2012; WUEBKER et al., 2001).

Portanto, o objetivo deste estudo foi investigar as modificações no perfil de compostos minoritários, especialmente de interesse biológico, desenvolvidas pelos germinados de linhaça e painço, ao longo do processo de germinação.

1.1 Objetivo geral

Investigar as modificações no perfil de compostos minoritários, especialmente de interesse biológico, desenvolvidas pelos germinados de linhaça e painço, ao longo do tempo.

1.2. Objetivos específicos

- Determinar a composição centesimal de sementes de linhaça e painço.
- Identificar os ácidos graxos que compõe as sementes de linhaça e painço.
- Estabelecer o tempo de germinação que propicia maior concentração de compostos de importância nutricional/biológica nos germinados de linhaça e painço.

1.3 Hipótese

Sementes de linhaça e painço quando submetidas à germinação aumentam a síntese de compostos das vias dos fenilpropanoides, de carotenoides e do sistema

antioxidante, e essas alterações são maximizadas ao longo do processo de germinação.

2 Revisão de literatura

A linhaça é a semente do linho (*Linum usitatissimum* L.), uma planta de cultivo anual, que pertence à classe das Magnoliopsidas, a subclasse *Rosidae* e família *Linaceae* (USDA, 2013a). Entre as oleaginosas, o linho é uma cultura que ganhou importância dentro da cadeia agrícola mundial, com aumento médio da produção, de 18 % nos últimos cinco anos. A produção mundial em 2012 foi de 2 milhões de toneladas, em área cultivada de 2,7 milhões de hectares. O Canadá é o maior produtor (489 mil toneladas), seguido pela Rússia (369 mil toneladas) e China (350 mil toneladas), que juntos concentram 60 % da oferta mundial. Por sua vez, o Brasil ocupa a décima segunda posição, com produção de 14 mil toneladas em área de 14 mil hectares (FAO, 2012). Quanto à distribuição por Estados, o Rio Grande do Sul é o único produtor, concentrando toda produção (IBGE, 2010).

As cultivares de linho destinadas à produção de fibra têxtil, denominadas de *Flax*, possuem plantas mais altas e menos ramificadas que as cultivares oleaginosas e são cultivadas em regiões frias e temperadas do hemisfério norte, especialmente nos países da antiga União Soviética e leste da Europa. As cultivares de linho oleaginoso, denominadas *Linseed*, apresentam menor estatura e desenvolvem mais ramificações basais. Possuem sementes maiores e são cultivadas em áreas mais amplas, em regiões mais quentes, como Argentina, Índia, Austrália, Estados Unidos e Canadá, durante o verão (FLOSS, 1983; TOMM, 2006).

Do ponto de vista de registro, há dois tipos de linhos destinados à produção da semente oleaginosa comercial, o linho tradicional ou linhaça e o solin (OOMAH; MAZZA, 2000; TRUCOM, 2006). O solin é uma oleaginosa que foi desenvolvida nos anos 1990, a partir do linho, utilizando técnicas de melhoramento genético, visando reduzir o teor de ácido α -linolênico, que é de 50 % na linhaça, e menos de 5 % no solin (TOMM, 2006). Desse modo, deu-se origem a um óleo mais estável, devido à redução das reações de oxidação e polimerização, tornando-o próprio para ser utilizado tanto em saladas, quanto para cozinhar. Os padrões da Comissão

Canadense de Grãos (*Canadian Grain Commission*) definem que as cultivares de solin devem ter grãos com tegumento amarelo, para diferenciá-los. No Brasil, tem sido chamado de linhaça dourada, porém, ainda não há registro de plantio em escala significativa dessa cultivar no País (OOMAH; MAZZA, 2000; TOMM, 2006).

A maior parte de produção mundial de grãos de linhaça está voltada para extração do óleo, que visa abastecer as indústrias de esmaltes, vernizes e tintas (OOMAH; MAZZA, 1993; DAVIDSON, 1999; OOMAH, 2001). Entretanto, em função dos seus componentes benéficos, existe um grande interesse na adição da linhaça em produtos alimentícios como macarrão (MANTHEY; LEE; HALL, 2002), pão (MUIR; WESTCOTT, 2000; POSSAMAI, 2005), *cookies* (HUSSAIN et al., 2006), sorvetes (GOH; YE; DALE, 2006), e produtos orgânicos para o consumo humano (COSKUNER; KARABABA, 2007). O óleo de linhaça também tem sido utilizado na alimentação humana, devido às suas propriedades tecnológicas e fisiológicas geralmente, atribuídos à presença de altas quantidades de ácido graxo α -linolênico (C18:3, ω -3) (OOMAH; DER; GODFREY, 2006) e vitamina E, os quais estão intimamente relacionados à redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis (DAUN; BARTHET; CHORNICK; DUGUID, 2003), sendo comercializado em cápsulas gelatinosas ou a granel (OOMAH; MAZZA, 2000).

A introdução da linhaça na alimentação se justifica em função da sua composição (Tabela 1). Em relação às vitaminas, estão presentes as vitaminas do complexo B, tiamina (B1) com 0,12 mg 100g⁻¹ e piridoxina (B6) com 0,13 mg 100g⁻¹ de grão (NEPA-UNICAMP, 2011) e, em maior quantidade a vitamina E, com valores médios de α , γ e δ -tocoferol de 0,15; 21,50 e 0,56 mg 100g⁻¹, respectivamente, dependendo da cultivar (OOMAH; KENASCHUK; MAZZA, 1997). Fazem parte ainda da composição do grão os ácidos fenólicos, os flavonoides e o ácido fítico. Embora em pequenas quantidades, essas substâncias também são consideradas importantes, devido aos efeitos benéficos à saúde, reforçando as propriedades funcionais da linhaça (OOMAH; MAZZA, 2000).

Tabela 1. Composição da linhaça por 100 gramas de parte comestível

Composição	Linhaça (g 100 g ⁻¹)
Umidade	6,7
Lipídios	32,2
Poliinsaturados	25,3
Monoinsaturados	7,1
Saturados	4,2
Proteínas	14,1
Fibra alimentar	33,5
Carboidratos	43,3
Cinzas	3,7
Cálcio	0,21100
Magnésio	0,34700
Manganes	0,0028100
Fósforo	0,61500
Ferro	0,0047000
Sódio	0,009000
Potássio	0,86900
Cobre	0,0010900
Zinco	0,0044000

Fonte: USDA, 2008; NEPA-UNICAMP, 2011.

Assim como o linho, o painço (*Panicum miliaceum* L.) é uma planta de cultivo anual, pertence à classe das Liliopsidas, a subclasse *Commelinidae* e família *Poaceae* (USDA, 2013a). O cultivo do painço é uma atividade com produção mundial de 25,6 milhões de toneladas, em área cultivada de 31,2 milhões de hectares. A Índia é o maior produtor (9,1 milhões de toneladas), seguida por Níger (7,6 milhões de toneladas) e Nigéria (2,7 milhões de toneladas). Por sua vez, a produção no Brasil ainda é muito restrita, ao ponto que não há registros nos órgãos oficiais (IBGE, 2010; FAO, 2012).

No Brasil, a produção de painço deve-se a duas cultivares, AL Mogi e AL Tibagi. Ambas são do tipo chatinho e constituem-se nos primeiros painços oficialmente registrados no Ministério da Agricultura e Abastecimento. Elas possuem ciclo de 65 a 80 dias e os grãos são achatados de coloração creme. O AL Mogi

possui panículas abertas, enquanto que, o AL Tibagi tem as panículas fechadas (MAPA, 2001).

O painço vem sendo cultivado em algumas regiões do Estado de São Paulo e Mato Grosso do Sul com a finalidade da exploração econômica dos grãos para alimentação animal, principalmente de pássaros em cativeiro, substituindo o alpiste (SOUZA, 2001; ZANCANELLA; BONATTI; MARTUCCI, 2003). Há alguns anos, o painço passou a ser usado como espécie produtora de palha para o sistema de plantio direto e adubo verde (LIMA, 2004; ZANCANELLA; BONATTI; MARTUCCI, 2006), por apresentar como vantagens o baixo custo e a rapidez de formação abundante de palha. Há uma série de estudos que investigaram a aplicação do painço como matéria prima (malte) na fabricação de cerveja (BAUER; WALKER; BOOER; 2005; ZARNKOW et al., 2005). O painço contém teores de amido semelhante a outros grãos (PARAMESWARAN; SADASIVAM, 1994; NUSS; TANUMIHARDJO, 2010), e tem se mostrado como excelente substrato para maltagem e fermentação (ZARNKOW et al., 2010). Com o objetivo de encontrar novos usos para o painço e expandir seu mercado, um potencial uso alternativo do grão é a produção de etanol combustível (TAYLOR; SCHOBBER; BEAN, 2006; ROSE; SANTRA, 2013).

A composição do grão de painço em 100 g está descrita na Tabela 2. Quanto às vitaminas, estão presentes as vitaminas do complexo B, tiamina (B1) com 0,421 mg 100g⁻¹, riboflavina (B2) com 0,290 mg 100g⁻¹, niacina (B3) com 4,7 mg 100g⁻¹, piridoxina (B6) com 0,384 mg 100g⁻¹ de grão. Ainda apresenta vitamina E (α -tocoferol) com 0,05 mg 100g⁻¹, vitamina K (filoquinona) com 0,9 μ g 100g⁻¹ e folatos com 85 μ g 100g⁻¹ de grão (USDA, 2013b).

Há alguns anos, os consumidores passaram a incluir os alimentos funcionais na alimentação, na forma de germinados ou brotos. Esse consumo é bem difundido e apreciado na China, Japão e Estados Unidos. No Brasil, a partir da década de 80, vem se observando um crescimento da demanda por esse tipo de alimento (DUQUE; SOUTO; ABBOUD, 1987; VIEIRA; NISHIHARA, 1992), ocorrendo produção e comercialização de brotos de alfafa, lentilha, trevo, girassol, entre outros.

As sementes germinadas e brotos são didaticamente diferenciados. A semente germinada relaciona-se ao primeiro estágio pós-germinação e o broto corresponde a um estágio mais avançado de desenvolvimento, com 8 a 10 cm de altura e folhas definidas. Antes do início do brotamento, a semente é fonte de

proteína, carboidratos e, às vezes, gorduras, mas não de vitaminas. Habitualmente, os grãos são duros e de difícil digestão. Entretanto, a germinação e o crescimento do embrião promovem intensa atividade metabólica, na qual ocorrem várias reações químicas, entre elas, a síntese das enzimas. Também há consumo de grande parte de carboidratos e gorduras reaproveitados na síntese de vitaminas, açúcares, proteínas e sais minerais, sendo, assim, de fácil digestão e assimilação (EGLI; TEKRONY, 1997).

Tabela 2. Composição do painço por 100 gramas de parte comestível

Composição	Painço (g 100 g ⁻¹)
Umidade	8,7
Lipídios	4,2
Poliinsaturados	2,1
Monoinsaturados	0,8
Saturados	0,7
Proteínas	11
Fibra alimentar	8,5
Carboidratos	72,8
Cálcio	0,0080000
Magnésio	0,11400
Fósforo	0,28500
Ferro	0,0030000
Sódio	0,0050000
Potássio	0,19500
Zinco	0,0017000

Fonte: USDA, 2013b.

Na germinação, o amido é transformado, por enzimas, em açúcares mais simples e as proteínas são degradadas em aminoácidos. Há absorção de grandes quantidades de água, sintetizam-se vitaminas e enzimas e há mobilização de minerais. Tal como o cozimento, a germinação é uma espécie de pré-digestão, mas sem que ocorra perda de nutrientes. O mais elevado ponto de vitalidade no ciclo de vida de uma planta ocorre quando esta é um broto, em que se tem os melhores benefícios nutricionais (MAYER; POLJAKOFF-MAYBER, 1989; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000).

No estágio de semente germinada (dois a três dias), o gérmen começa a transformar a reserva nutritiva dormente em alimento vivo para ser assimilado pela nova planta. O próximo estágio é um broto (cinco a sete dias), com a planta

apresentando raiz, haste e clorofila, com perda da casca e assimilação de quase toda reserva nutritiva da semente (MARCOS FILHO, 2005).

Nesse contexto, tem crescido o interesse pela produção de germinados ou brotos, a partir de sementes de várias espécies, que tenham alto valor nutritivo. Dentre essas, pode-se incluir a linhaça e o painço, para os quais, embora o Brasil apresente condições favoráveis para cultivo, a produção ainda é pequena e há poucos relatos na literatura do uso dessas duas espécies como germinados ou brotos.

Os efeitos da germinação sobre a composição química, aspectos nutricionais e características sensoriais variam com as espécies, cultivares vegetais e as condições de germinação das sementes (ELLIS et al., 1986; ELLIS; BARRETT, 1994). A germinação ocorre mediante condições apropriadas, em que o eixo embrionário retoma o desenvolvimento que tinha sido interrompido por ocasião da maturação fisiológica, com o subsequente rompimento do tegumento pela radícula (CARVALHO; NAKAGAWA, 2000). Na fase inicial do processo, ocorre o reparo metabólico dos componentes celulares e do plasma citoplasmático. As membranas se reorganizam, restabelecendo a permeabilidade seletiva e evitando a exsudação excessiva de eletrólitos (ABDUL-BAKI, 1980).

A germinação proporciona melhor valor nutritivo pela maior digestibilidade protéica e pelo quociente de eficiência protéica, além de reduzir os efeitos dos fatores antinutricionais nas leguminosas. Em se tratando dos cereais, reduz o conteúdo de fitatos e tem-se observado, ainda, aumento da biodisponibilidade de minerais e vitaminas, principalmente vitamina C (WANG; FIELDS, 1978; VANDERSTOEP, 1981; BORDINGNON et al., 1995).

O ponto crítico na germinação, em termos de acúmulo de compostos nutritivos e de fitoquímicos, é a duração desse processo, que pode ser horas ou alguns dias, fator esse que é responsável pela diferenciação de germinados ou brotos. Quanto ao teor de polifenóis, foram observadas reduções de 35 a 42 % em diversas espécies de painço geminadas por seis dias (ABDELRAHAMAN et al., 2007). Da mesma forma, também ocorreu uma redução de 21 % nos compostos fenólicos totais em outras espécies de painço que foram embebidas durante 12 horas e germinaram a 25 °C, porém, os autores não especificaram o tempo de germinação (TOWO; SVANBERG; NDOSSI, 2003).

Contrariamente aos compostos fenólicos, para a vitamina C, ao testar o tempo de germinação (2, 3, 4, 5 e 7 dias) em feijão-mungo (*Vigna radiata* cv. Emerald) observou-se que do segundo para o sétimo dia ocorreu acréscimo de 482 % no teor dessa vitamina. Esse comportamento também foi verificado para o α -tocoferol, porém com acréscimo de 140 % (FERNANDEZ-OROZCO et al., 2008). Também, constataram-se acréscimos nos teores de α -tocoferol em *Lupinus albus* L. var. Multolupa, alterando de 0,29 para 3,91 mg 100 g⁻¹ de massa seca, do segundo para o nono dia avaliado, respectivamente (FRIAS et al., 2005). Em germinados de trigo, o pico máximo de acúmulo de biocompostos ocorreu aos sete dias, tanto para vitamina C, quanto para α -tocoferol e beta-caroteno (YANG; BASU; OORAIKUL, 2001).

3 Projeto de Pesquisa

PRPPG – PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

TEOR DE BIOCOMPOSTOS EM GERMINADOS DE LINHAÇA (*Linum usitatissimum* L.) E PAINÇO (*Panicum miliaceum* L.)

Equipe: Orientador: Elizabete Helbig, Dra.
Comitê de Orientação: Roberta Manica-Berto, Dra.
Rui Carlos Zambiasi, PhD.

Scharlise Diovanela Schneider da Silva

Pelotas, setembro de 2014

1. CARACTERIZAÇÃO DO PROBLEMA

Os alimentos de origem vegetal são excelentes fontes de nutrientes, fibras, minerais e fitoquímicos, mas, infelizmente, frutas e legumes frescos são geralmente sazonais e, portanto, fora de época tornam-se opções caras. Além disso, a maior parte das culturas fora da estação de cultivo é produzida em condições artificiais, colhidas prematuramente, e, em seguida, exportadas para outras partes do mundo. Todos esses fatores resultam em declínio do valor nutritivo das culturas, em termos de opções na alimentação diária. Uma excelente alternativa para os alimentos de origem vegetal são os germinados ou brotos, que podem ser consumidos, na forma fresca, em todas as épocas do ano (PAJAK et al., 2014).

O processo para obter os germinados ou brotos, inicia-se quando a semente começa a absorver água, sendo completado quando se alonga o eixo embrionário. Nesse ponto, as reservas das sementes são mobilizadas para apoiar o crescimento dessa nova plântula (BEWLEY et al., 2001). A germinação de sementes comestíveis para produzir germinados ou brotos visa aumentar a palatabilidade e a biodisponibilidade de certos compostos desses alimentos (DUEÑAS et al., 2009; MARTINEZ-VILLALUENGA et al., 2010; HUNG; HATCHER; BARKER, 2011). Diversos estudos relatam teores elevados de nutrientes e reduzidos de antinutrientes em brotos, quando comparados com sementes não germinadas (OLOYO, 2004; ZIELIŃSKI et al., 2005; MARTINEZ-VILLALUENGA et al., 2010).

As sementes comestíveis e brotos são fontes de antioxidantes, tais como, ácidos fenólicos, flavonoides e vitaminas (PAŠKO et al., 2009). Porém, a composição desses antioxidantes nos brotos depende de muitos fatores, por exemplo: condições climáticas e agronômicas durante o crescimento, condições de armazenamento e também da variedade (CEVALLOS-CASALS; CISNEROS-ZEVALLOS, 2010). Outro fator determinante é o tempo de duração do processo de germinação, geralmente de 7 a 9 dias, são suficientes para garantir o máximo de acúmulo de vitamina C e α -tocoferol (YANG et al., 2001; FRIAS et al., 2005; FERNANDEZ-OROZCO et al., 2008).

No entanto, a maioria dos trabalhos publicados recentemente está focada principalmente nos estudos de germinados e/ou brotos típicos, tais como trigo (YANG et al., 2001), feijão-mungo e soja (FERNANDEZ-OROZCO et al., 2008), e brócolis (MARTINEZ-VILLALUENGA et al., 2010), que já estão facilmente

disponíveis no mercado. Os germinados de linhaça e painço são novas opções vegetais, que podem ser usados na alimentação.

Nesse contexto, hipotetiza-se que a síntese de compostos fenólicos, de carotenoides e do sistema antioxidante sofre alterações ao longo da fase de germinação. Identificar o tempo ótimo de germinação, onde o nível de antioxidantes é máximo, torna-se atrativo para o mercado de germinados comestíveis, com melhores propriedades bioativas. Dessa forma, a realização deste projeto de pesquisa parte da necessidade de investigar tais questões, além da composição centesimal e do perfil de ácidos graxos de sementes de linhaça e painço. O conhecimento destes parâmetros pode proporcionar significativo aporte para novas opções em termos de germinados, e da mesma forma, permitirá o desenvolvimento de novas linhas de pesquisa com germinados.

2. OBJETIVOS E METAS

Investigar as modificações no perfil de compostos minoritários, especialmente de interesse biológico, desenvolvidas pelos germinados de linhaça e painço, ao longo do tempo.

2.1. Objetivos específicos

- Determinar a composição centesimal de sementes de linhaça e painço.
- Identificar os ácidos graxos que compõem as sementes de linhaça e painço.
- Estabelecer o tempo de germinação que propicia maior concentração de compostos de importância nutricional/biológica nos germinados de linhaça e painço.

2.2. Metas a serem alcançadas

Promover conhecimento acerca das respostas da germinação de sementes de linhaça e painço, ao longo do tempo, permitindo a identificação de compostos envolvidos nos processos fisiológicos e metabólicos dos germinados.

Formação de recursos humanos capacitados para identificar e resolver problemas relacionados a aspectos nutritivos de germinados.

3. METODOLOGIA

O projeto de pesquisa prevê a condução de um estudo que será desenvolvido em laboratório na Universidade Federal de Pelotas-RS, Campus Porto e Campus Capão do Leão, no período compreendido entre agosto de 2012 e junho de 2014.

Serão adquiridas sementes de linhaça e painço de produtores comerciais no Rio Grande do Sul. As lavouras comerciais serão georeferenciadas. Após a aquisição, as mesmas serão acondicionadas em sacos plásticos opacos com capacidade de 30 L mantidos em temperatura de 18 °C até o momento da realização das análises. As sementes serão pré-selecionadas para remoção das danificadas e de materiais estranhos. Antes da instalação do experimento será verificada a qualidade das mesmas, a partir de testes de germinação e vigor.

O teste de germinação será conduzido com quatro repetições de 50 sementes, distribuídas em caixas gerbox sobre três folhas de papel germitest, umedecido com 2,5 vezes a sua massa com água destilada, colocadas no germinador regulado com temperatura constante de 25 °C (± 2), umidade relativa do ar de 80 % (± 5), com fotoperíodo de doze horas. As contagens serão realizadas aos três e aos sete dias após a semeadura, de acordo com os critérios estabelecidos nas Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009). Os resultados serão expressos em percentagem. O teste de vigor constituirá na determinação, em percentagem, das plântulas normais aos cinco dias após a instalação do teste de germinação (BRASIL, 2009).

O delineamento experimental utilizado será completamente casualizado, arranjado em esquema bifatorial, com três repetições. Ao fator A será atribuído o tipo de semente (linhaça e painço) e ao fator B, os tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a germinação), de acordo com a Tabela 3. As sementes serão distribuídas em rolos formados por três folhas de papel germitest, umedecidos com água destilada (equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco). Posteriormente, os rolos serão transferidos para o germinador nas mesmas condições estabelecidas no teste de germinação. As coletas dos germinados serão efetuadas 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a germinação, considerando a emergência da radícula como indicador da germinação, além da testemunha, sem germinar (0 hora). Tanto as amostras de sementes de linhaça e de painço não germinadas (controle) quanto às correspondentes aos diferentes tempos de germinação serão liquidificadas até

adquirirem aspecto de farinha e pasta, respectivamente, objetivando assim, homogeneizar a amostra.

Tabela 1. Delineamento experimental para avaliar variáveis físico-químicas e fitoquímicas em diferentes tempos de germinação de linhaça e painço

Variáveis independentes							Variáveis dependentes
Tratamentos	Germinação 25°C						
	Tempo (horas)						
	0	24	48	72	96	120	
Linhaça (Controle) T0	X						Umidade
Linhaça T1		X					Cinzas
Linhaça T2			X				Fibra Bruta
Linhaça T3				X			Lipídeos
Linhaça T4					X		Proteína
Linhaça T5						X	Carboidratos
							Ácidos Graxos
Painço (Controle) T0	X						Fenóis Totais
Painço T1		X					Clorofilas Totais
Painço T2			X				Carotenoides Totais
Painço T3				X			Tocoferóis Individuais
Painço T4					X		Ácido L-ascórbico
Painço T5						X	Capacidade Antioxidante

12 tratamentos x 3 repetições = 36 amostras x 13 variáveis = 468 determinações (1.404 - tripl/936 dupl.).

Inicialmente, será determinada a composição centesimal das sementes de linhaça e painço, com a realização das análises de umidade por método gravimétrico; cinzas por gravimetria após incineração da amostra; fibra bruta por digestão ácida e alcalina; lipídeos (extrato etéreo em Soxhlet); proteína em sistema Micro-Kjedahl com utilização do fator 5,30 para conversão do nitrogênio em teor protéico e carboidratos por diferença, subtraindo de 100 a soma dos valores obtidos de umidade, proteína, lipídios, cinzas e fibra bruta (AOAC, 1995; AOAC, 2005).

Também, será determinado o perfil de ácidos graxos de ambas as sementes utilizadas, para isso será realizada a extração de lipídeos a frio conforme descrito por Bligh e Dyer (1959). Após a extração, a análise de ácidos graxos será realizada segundo método descrito por Hartman e Lago (1973), adicionando à amostra 500 µL de KOH 0,1 N em metanol, que permanecerá em banho-maria a 60 °C por 2 horas. Após a amostra esfriar, será adicionado na mesma 1,5 mL de H₂SO₄ 1 mol L⁻¹, e posteriormente serão levadas novamente ao banho-maria (60 °C a 2 horas). Igualmente, a amostra irá esfriar, e será acrescentado 2 mL de hexano, com posterior agitação dos tubos e coleta de 1 mL da fase de hexano, que contém os

ésteres metílicos de ácidos graxos. Será injetado 1 μL desta fase em cromatógrafo gasoso-CG (*Perkin Elmer Clarus500*), provido com detector FID, coluna capilar (Phenomenex) com fase líquida constituída de 5 % de fenil e 95 % de dimetilpolisiloxano e com dimensões 15 m x 0,32 mm x 0,1 μm . Os dados serão adquiridos e processados com auxílio do *softwareClarus 500*. Será utilizado gradiente de temperatura, com temperatura inicial da coluna de 90 °C, mantida por 1 minuto; após, passará para 160 °C com incremento linear de 12 °C min^{-1} , mantida por 3,5 minutos; seguindo a 190 °C com incremento linear de 1,2 °C min^{-1} ; e finalmente a 230 °C com incremento linear de 15 °C min^{-1} , mantida por 15 minutos. O injetor e o detector serão mantidos na temperatura de 230 °C e 240 °C, respectivamente. Será utilizado o nitrogênio como gás de arraste a 1,5 mL min^{-1} . Os ácidos graxos serão identificados por meio da comparação com os tempos de retenção dos padrões e o teor de cada ácido graxo nas amostras será calculado de acordo com a área de cada um dos picos obtidos nos cromatogramas, multiplicadas por 100 e dividido pela área total de ácidos graxos da amostra, sendo os resultados expressos em percentagem.

As demais análises descritas abaixo serão realizadas para as amostras referentes aos diferentes tempos de germinação (T0, T1, T2, T3, T4 e T5) de linhaça e painço.

A determinação do teor de fenóis totais será realizada de acordo com método descrito por Singleton e Rossi (1965), com modificações. Para a etapa de extração serão pesados 2 g de amostra triturada, que serão diluídos em 20 mL de metanol, sendo colocados em banho-maria a 25 °C (3 horas). Após esse período, a amostra será filtrada com algodão para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com metanol. Para a etapa de quantificação dos fenóis será retirado 1 mL do extrato obtido, adicionado 10 mL de água ultrapura e 0,5 mL de Folin-Ciocalteu 2N, deixando-se reagir por 3 minutos, e após serão adicionados 1,5 mL de Na_2CO_3 20 % (m/v), permanecendo no escuro por mais 2 horas. Será realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro (*Ultrospec 2100 Pro UV/Visível* - Pharmacia Biotech) no comprimento de onda de 765 nm. Será elaborada curva padrão de ácido gálico e os resultados serão expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (mg GAE) por grama de matéria fresca (MF).

O teor de clorofila será determinado com amostras de 1 g maceradas em um almofariz em presença de 5 mL de acetona a 80 % (v/v). O material será

centrifugado a 10.000 *rpm* por 10 minutos e o sobrenadante transferido para balão volumétrico de 20 mL, completando-se esse volume com acetona a 80 % (v/v). Os teores de clorofila *a*, *b*, totais (*a+b*) e de carotenoides totais serão calculados pelo uso das fórmulas de Lichtenthaler (1987) a partir da absorbância da solução obtida por espectrofotometria a 647, 663 e 470 nm. O conteúdo de clorofilas será determinado pelas equações:

$$\text{Chl totais} = 7,15 (A_{663}) + 18,71 (A_{647});$$

$$\text{Chl 'a'} = 12,25 (A_{663}) - 2,79 (A_{647});$$

$$\text{Chl 'b'} = 21,50 (A_{647}) - 5,10 (A_{663}).$$

Os resultados serão expressos em mg g^{-1} de MF.

A determinação de carotenoides totais será realizada segundo o método descrito por Rodriguez-Amaya (1999), com algumas adaptações. Será pesado 5g de amostra em seguida, será adicionado 20 mL de acetona gelada, agitando-se o conteúdo por 10 minutos. O material será filtrado em funil de buchner com papel filtro, lavando a amostra com acetona até que o extrato fique incolor. O filtrado será transferido para um funil de separação, onde será acrescentado 30 mL de éter de petróleo e em torno de 100 mL de água destilada. A fase inferior deverá ser descartada até ocorrer a remoção total da acetona. Em seguida, o extrato superior deverá ser transferido para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com éter de petróleo. A leitura será realizada em espectrofotômetro a 450 nm. O conteúdo de carotenoides será determinado pela equação:

$$C = \text{ABS} \times 50 \text{ mL} \times 10^6 / 2.500 \times 100 \times P$$

Onde, C= concentração da amostra; ABS= absorbância e P = peso da amostra (g). Os resultados serão expressos em mg de β -caroteno 100g^{-1} amostra fresca.

A extração de tocoferóis será realizada segundo metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (1999), conforme descrito para carotenóides. Após a extração da fase etérea, esta será separada e centrifugada a 9000 *rpm* por 6 minutos, injetando 20 μL do sobrenadante no cromatógrafo. Os tocoferóis serão separados e quantificados utilizando o equipamento CLAE da Shimadzu, equipado com injetor automático, com detector de fluorescência, utilizando o comprimento de onda de 290 nm para excitação e de 330 nm para a emissão, com coluna de fase reversa RP-18 CLC-ODS (5 μm , 4,6 mm x 150 mm, Shimadzu) e coluna de guarda CLC-GODS (5 μm , 2 cm x 4 mm, Supelco). A separação será realizada pelo sistema de eluição por

gradiente, com fase móvel constituída de metanol (solvente A): isopropanol (solvente B): acetonitrila (solvente C), com fluxo de 1 mL min⁻¹. O gradiente iniciará com proporção de A:B:C de 40:50:10; será alterado em 10 minutos para 65:30:5; após 2 minutos, para 40:50:10, e mantido constante até 15 minutos (ZAMBIAZI, 1997). Os picos serão identificados por comparação com o tempo de retenção dos padrões e quantificados por comparação com as curvas de calibração externas, preparada com os padrões cromatográficos correspondentes ao α -, δ - e γ -tocoferol. O teor total de tocoferóis será expresso em $\mu\text{g g}^{-1}$ de amostra fresca.

O teor do ácido L-ascórbico (vitamina C) será quantificado através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando sistema HPLC-Shimadzu, equipado com injetor automático e detector UV-visível (254 nm). A separação será desenvolvida em coluna de fase reversa RP18 (5 μm , 4,6 mm x 150 mm), tendo como fase móvel: (A) 0,1 % de ácido acético e (B) 100 % de metanol, utilizando como curva padrão o ácido L-ascórbico, adaptado de Vinci et al. (1995). Os resultados serão expressos em miligramas de ácido L-ascórbico por 100 g de MF.

A capacidade antioxidante será determinada através do método do sequestro de radicais livres do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) adaptado de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). As leituras serão realizadas após 30 minutos de reação a 23 °C em espectrofotômetro na absorvância de 517 nm. Será preparada uma curva padrão com Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) e os resultados serão expressos em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) ($\mu\text{g TEAC g}^{-1}$ de MF).

Os dados obtidos serão analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk, à homocedasticidade pelo teste de Hartley e a independência dos resíduos será verificada graficamente. Posteriormente, serão submetidos à análise de variância ($p \leq 0,05$). Em caso de significância estatística, os efeitos dos tipos de grãos serão comparados pelo teste t ($p \leq 0,05$) e dos tempos de germinação por modelos de regressão ($p \leq 0,05$). A presença de correlações entre as variáveis dependentes do estudo será analisada através do coeficiente de correlação de Pearson ($p \leq 0,0001$) (SAS INSTITUTE, 2002).

4. RESULTADOS E IMPACTOS ESPERADOS

Participação por parte dos alunos de graduação do Congresso de Iniciação Científica (CIC) da UFPel.

Publicação de um artigo em periódico A1.

A realização deste projeto de pesquisa parte da necessidade de identificar o tempo ótimo de germinação, onde o nível de antioxidantes é máximo, além da composição centesimal e do perfil de ácidos graxos de sementes de linhaça e painço. O conhecimento destes parâmetros pode proporcionar significativo aporte para novas opções em termos de germinados, e da mesma forma, permitirá o desenvolvimento de novas linhas de pesquisa com germinados.

A proposta visa que sementes de linhaça e painço quando submetidas à germinação aumentam a síntese de compostos das vias dos fenilpropanoides, de carotenoides e do sistema antioxidante, e essas alterações são maximizadas ao longo do processo de germinação.

6. OUTROS PROJETOS E FINANCIAMENTOS

Tabela 3. Orçamento do material de consumo

Material de consumo	Valor unitário (R\$)	Quantidade	Valor total
Material para laboratório (luvas, cubetas, ponteiras, microtubos, papel gemitest)	-	-	1.500,00
Folin-Ciocalteau 2 N, Na ₂ CO ₃ , celite, ácido metafosfórico	-	-	600,00
Acetona p.a.	16,25	6 Lt	97,50
Álcool metílico p.a.	14,00	7 Lt	98,00
Éter de petróleo p.a.	35,00	6 Lt	210,00
Álcool metílico UV/HPLC	24,90	2 Lt	49,80
Hexano UV/HPLC	83,30	2 Lt	166,60
Hexano 99% p.a.	48,05	4 Lt	192,20
Álcool isopropílico UV/HPLC	17,75	2 Lt	35,50
Acetonitrila UV/HPLC	62,00	2 Lt	124,00
Ácido acético UV/HPLC	18,05	2 Lt	36,10
Sementes	140,00	-	140,00
Total			3.249,70

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 16^a ed. **Official Methods of Analysis**. Arlington, 1995.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 17^a ed. **Official Methods of Analysis**. Arlington, 2005.

BEWLEY, J.D.; HEMPEL, F.D.; MCCORMICK, S.; ZAMBRYSKI, P. Reproductive development. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Eds.), **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville, MD: Courier Companies, p.988-1043, 2001.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.

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

CEVALLOS-CASALS, B.A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. **Food Chemistry**, v.119, p.1485-1490, 2010.

DAUN, J.K.; BARTHET, V.J.; CHORNICK, T.L.; DUGUID, S. Structure, composition, and variety development of flaxseed In: Thompson LU, Cunnane SC. (Eds.). *Flaxseed in Human Nutrition*. 2. ed. **Champaign**: AOCS Press; p.1-40, 2003.

DUEÑAS, M.; HERNÁNDEZ, T.; ESTRELLA, I.; FERNÁNDEZ, D. Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). **Food Chemistry**, v.117, p.599–607, 2009.

FRIAS, J., MIRANDA, M. L., DOBLADO, R., & VIDAL-VALVERDE, C. Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa. **Food Chemistry**, v.92, n.2, p.211–220, 2005.

FERNANDEZ-OROZCO, R.; FRIAS, J.; ZIELINSKI, H.; PISKULA, M.K.; KOZLOWSKA, H.; VIDALVALVERDE, C. Kinetic study of the antioxidant compounds and antioxidant capacity during germination of *Vigna radiata* cv. Emerald, *Glycine max* cv. Jutro and *Glycine max* cv. Merit. **Food Chemistry**, v.111, p.622-630, 2008.

HARTMAN, L; LAGO, B.C.A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, p.475-477, 1973.

HUNG, P.V.; HATCHER, D.W.; BARKER, W. Phenolic acid composition of sprouted wheats by ultra-performance liquid chromatography (UPLC) and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, v.126, p.1896-1901, 2011.

LICHTENTHALER, H. K. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: COLOWICK, S. P.; KAPLAN, N. O. **Methods in enzymology**. San Diego: Academic Press, 1987. p.350-382.

MARTINEZ-VILLALUENGA, C.; PEÑAS, E.; CISKA, E.; PISKULA, M.K.; KOZLOWSKA, H.; VIDAL-VALVERDE, C.; FRIAS, J. Time dependence of bioactive compounds and antioxidant capacity during germination of different cultivars of broccoli and radish seeds. **Food Chemistry**, v.120, p.710-716, 2010.

OLOYO, R.A. Chemical and nutritional quality changes in germinating seeds of *Cajanus cajan* L. **Food Chemistry**, v.85, p.497-502, 2004.

OOMAH, B. D.; DER, T. J.; GODFREY, D. V. Thermal characteristics of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) proteins. **Food Chemistry**, v.98, p.733-41, 2006.

PAJAŁ, P.; SOCHA, R.; GAŁKOWSKA, D.; ROŻNOWSKI, J.; FORTUNA, T. Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. **Food Chemistry**, v.143, p.300-306, 2014.

PAŚKO, P.; BARTOŃ, H.; ZAGRODZKI, P.; GORINSTEIN, S.; FOŁTA, M.; ZACHWIEJA, Z. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. **Food Chemistry**, v.115, p.94-998, 2009.

RODRIGUES-AMAYA, D. B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington, DC: ILST, 1999. 64p.

SAS INSTITUTE. SAS user's guide: statistics, version 9.1. Cary: SAS Institute, 2002.

VINCI, G.; BOTRÈ, F.; MELE, G.; RUGGIERI, G. Ascorbic acid in exotic fruits: a liquid chromatographic investigation. **Food Chemistry**, v.53, p.211-214, 1995.

YANG, F.; BASU, T.K.; OORAIKUL, B. Studies on germination conditions and antioxidant contents of wheat grain. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.52, p.319-330, 2001.

ZAMBIAZI, R.C. **The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability**.1997.304f. Tese (Doutorado em Foods and Nutritional) - Sciences Interdepartamental Program. University of Manitoba Winnipeg, Manitoba, Canada.

ZIELIŃSKI, H.; FRIAS, J.; PISKUŁA, M. K.; KOZŁOWSKA, H.; VIDAL-VALVERDE, C. Vitamin B₁ and B₂, dietary fiber and minerals content of Cruciferae sprouts. **European Food Research and Technology**, v.221, p.78-83, 2005.

4 Relatório do trabalho de campo

Para a execução do projeto de pesquisa, após testes realizados, verificou-se a necessidade por substituir metodologias inicialmente indicadas no projeto.

Metodologia Inicial: A determinação do teor de fenóis totais será realizada de acordo com método descrito por Singleton e Rossi (1965), com modificações. Para a etapa de extração serão pesados 2 g de amostra triturada, que serão diluídos em 20 mL de metanol, sendo colocados em banho-maria a 25 °C (3 horas). Após esse período, a amostra será filtrada com algodão para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com metanol. Para a etapa de quantificação dos fenóis será retirado 1 mL do extrato obtido, adicionado 10 mL de água ultrapura e 0,5 mL de Folin-Ciocalteu 2N, deixando-se reagir por 3 minutos, e após serão adicionados 1,5 mL de Na₂CO₃ 20 % (m/v), permanecendo no escuro por mais 2 horas. Será realizada a leitura da absorbância em espectrofotômetro (*Ultrospec 2100 Pro UV/Visível* - Pharmacia Biotech) no comprimento de onda de 765 nm. Será elaborada curva padrão de ácido gálico e os resultados serão expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (mg GAE) por grama de matéria fresca (MF).

Metodologia Final Utilizada: O teor de fenóis totais foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu. A extração foi realizada segundo método descrito por Khattak; Zeb; Bibi; Khalil; Khattak, (2007), com modificações. Para essa etapa, três gramas de amostra fresca maceradas em moinho de bola (Marconi, MA 350) foram colocadas em tubos de falcon de 50 mL e diluídas em 20 mL de metanol, sob agitação por 20 minutos. Posteriormente, os extratos foram centrifugados a 7.000 *rpm* durante 15 minutos. Para a etapa de reação dos fenóis totais foi retirado 0,1 mL do extrato metanólico obtido e foram adicionados 0,4 mL de água ultrapura, 2,5 mL de Folin-Ciocalteu 0,2 M e 2 mL de carbonato de sódio 7,5 % (m/v). Após duas horas de incubação, a absorbância foi medida contra um branco, em espectrofotômetro (Jenway, 6700) a 760 nm (MEDA; LAMIEN; ROMITO; MILLOGO;

NACOUUMA, 2005). O teor de fenóis totais foi expresso em miligrama de equivalente de ácido gálico (GAE) por grama de MS de semente e broto.

Metodologia Inicial: A determinação de carotenoides totais será realizada segundo o método descrito por Rodriguez-Amaya (1999), com algumas adaptações. Será pesado 5g de amostra em seguida, será adicionado 20 mL de acetona gelada, agitando-se o conteúdo por 10 minutos. O material será filtrado em funil de buchner com papel filtro, lavando a amostra com acetona até que o extrato fique incolor. O filtrado será transferido para um funil de separação, onde será acrescentado 30 mL de éter de petróleo e em torno de 100 mL de água destilada. A fase inferior deverá ser descartada até ocorrer a remoção total da acetona. Em seguida, o extrato superior deverá ser transferido para um balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com éter de petróleo. A leitura será realizada em espectrofotômetro a 450 nm. O conteúdo de carotenoides será determinado pela equação:

$$C = \text{ABS} \times 50 \text{ mL} \times 10^6 / 2.500 \times 100 \times P$$

Onde, C= concentração da amostra; ABS= absorvância e P = peso da amostra (g). Os resultados serão expressos em mg de β -caroteno 100g^{-1} amostra fresca.

Metodologia Final Utilizada: O teor de carotenoides totais foi determinado a partir do método da AOAC 970.64 (2000), com modificações. Um grama de amostra fresca foi macerada e homogeneizada com 15 mL de solvente extrator (hexano:etano:acetona:tolueno, na proporção 10:6:7:7), em seguida, adicionou-se 1 mL de KOH 10 % (v/v) e procedeu-se a uma rápida homogeneização, submetendo-a ao aquecimento em banho-maria (56 °C por 20 minutos). Depois de removida do banho, a amostra permaneceu a temperatura ambiente por 1 hora. Alíquotas de 15 mL de hexano foram adicionadas aos frascos e os mesmos foram aferidos a 50 mL com Na_2SO_4 10 % (m/v). Posteriormente, foram homogeneizados e mantidos no escuro por 1 hora. Uma alíquota do sobrenadante foi avaliada em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-mini 1240) no comprimento de onda de 454 nm. Os resultados foram expressos em mg de β -caroteno por 100 grama de MS de semente e broto.

Metodologia Inicial: A extração de tocoferóis será realizada segundo metodologia descrita por Rodriguez-Amaya (1999), conforme descrito para carotenóides. Após a extração da fase etérea, esta será separada e centrifugada a 9000 rpm por 6 minutos, injetando 20 μL do sobrenadante no cromatógrafo. Os tocoferóis serão separados e quantificados utilizando o equipamento CLAE da

Shimadzu, equipado com injetor automático, com detector de fluorescência, utilizando o comprimento de onda de 290 nm para excitação e de 330 nm para a emissão, com coluna de fase reversa RP-18 CLC-ODS (5 μ m, 4,6 mm x 150 mm, Shimadzu) e coluna de guarda CLC-GODS (5 μ m, 2 cm x 4 mm, Supelco). A separação será realizada pelo sistema de eluição por gradiente, com fase móvel constituída de metanol (solvente A): isopropanol (solvente B): acetonitrila (solvente C), com fluxo de 1 mL min⁻¹. O gradiente iniciará com proporção de A:B:C de 40:50:10; será alterado em 10 minutos para 65:30:5; após 2 minutos, para 40:50:10, e mantido constante até 15 minutos (ZAMBLAZI, 1997). Os picos serão identificados por comparação com o tempo de retenção dos padrões e quantificados por comparação com as curvas de calibração externas, preparada com os padrões cromatográficos correspondentes ao α -, δ - e γ -tocoferol. O teor total de tocoferóis será expresso em μ g g⁻¹ de amostra fresca.

Metodologia Final Utilizada: A extração de tocoferóis foi realizada segundo metodologia descrita por AOAC 970.64 (2000), conforme descrito para carotenóides. Após a extração da fase etérea, esta será separada e centrifugada a 9000 *rpm* por 6 minutos, injetando 20 μ L do sobrenadante no cromatógrafo. Os tocoferóis serão separados e quantificados utilizando o equipamento CLAE da Shimadzu, equipado com injetor automático, com detector de fluorescência, utilizando o comprimento de onda de 290 nm para excitação e de 330 nm para a emissão, com coluna de fase reversa RP-18 CLC-ODS (5 μ m, 4,6 mm x 150 mm, Shimadzu) e coluna de guarda CLC-GODS (5 μ m, 2 cm x 4 mm, Supelco). A separação será realizada pelo sistema de eluição por gradiente, com fase móvel constituída de metanol (solvente A): isopropanol (solvente B): acetonitrila (solvente C), com fluxo de 1 mL min⁻¹. O gradiente iniciará com proporção de A:B:C de 40:50:10; será alterado em 10 minutos para 65:30:5; após 2 minutos, para 40:50:10, e mantido constante até 15 minutos (ZAMBLAZI, 1997). Os picos serão identificados por comparação com o tempo de retenção dos padrões e quantificados por comparação com as curvas de calibração externas, preparada com os padrões cromatográficos correspondentes ao α -, δ - e γ -tocoferol. O teor total de tocoferóis será expresso em μ g g⁻¹ de amostra fresca.

Observação: A quantificação dos tocoferóis não pode ser realizada em função de problema ocorrido com equipamento.

Metodologia Inicial: O teor do ácido L-ascórbico (vitamina C) será quantificado através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando

sistema HPLC-Shimadzu, equipado com injetor automático e detector UV-visível (254 nm). A separação será desenvolvida em coluna de fase reversa RP18 (5 μ m, 4,6 mm x 150 mm), tendo como fase móvel: (A) 0,1 % de ácido acético e (B) 100 % de metanol, utilizando como curva padrão o ácido L-ascórbico, adaptado de Vinci et al. (1995). Os resultados serão expressos em miligramas de ácido L-ascórbico por 100 g de MF.

Observação: A análise do teor do ácido L-ascórbico (vitamina C) não pode ser realizada em função de problema ocorrido com equipamento.

Metodologia Inicial: A capacidade antioxidante será determinada através do método do sequestro de radicais livres do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) adaptado de Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995). As leituras serão realizadas após 30 minutos de reação a 23 °C em espectrofotômetro na absorvância de 517 nm. Será preparada uma curva padrão com Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) e os resultados serão expressos em capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) (μ g TEAC g⁻¹ de MF).

Metodologia Final Utilizada: A capacidade antioxidante foi determinada através do método do sequestro de radicais livres do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) adaptado de Moure, Franco, Sineiro, Domínguez, Núñez, & Lema, (2001). Uma alíquota de 3,9 mL da solução de DPPH 0,1 mM foi misturada a 0,1 mL do mesmo extrato metanólico usado para avaliação dos compostos fenólicos. Após 60 minutos de incubação, a absorvância da amostra foi medida a 515 nm em espectrofotômetro (Jenway, 6700) e os resultados foram expressos em mg de capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) por grama de MS de semente e broto.

5 Artigo 1

Biocompostos em germinados de linhaça e painço sob diferentes tempos de germinação

Biocompounds in sprouted flaxseed and millet under different times of germination

Scharlise Diovanela Schneider da Silva^{a*}, Fabiana Lemos Goularte-Dutra^a, Roberta Manica-Berto^b, Rui Carlos Zambiasi^c, Elizabete Helbig^a.

^a Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos – Universidade Federal de Pelotas, Rua Gomes Carneiro 1, Centro, CEP 96010-610, RS/Brasil.

^b Embrapa Clima Temperado, Pelotas, CEP 96010-971, CP 403, RS/Brasil.
Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos / Universidade Federal de Pelotas, CEP 96010900, CP 354, RS/Brasil.

*Rua: Gomes Carneiro nº 1 – CEP: 96010-610 – Pelotas/RS – Faculdade de Nutrição – Campus Anglo – scharlisediovanella@gmail.com

O manuscrito encontra-se nas normas do periódico Food Chemistry (ISSN 0308-8146) revista escolhida pelos autores para submissão, após apreciação da banca avaliadora.

Resumo

Uma excelente alternativa para o aumento do consumo de alimentos *in natura* são os germinados ou brotos, que podem ser consumidos na forma fresca, em todas as épocas do ano. Essas sementes germinadas são fontes de antioxidantes, tais como ácidos fenólicos, flavonoides e vitaminas, além dos aminoácidos e fibras. Nesse contexto, objetivou-se avaliar a composição centesimal e o perfil de ácidos graxos nas sementes e os teores de clorofilas, carotenoides, fenóis e a capacidade antioxidante nos germinados de linhaça e painço em diferentes tempos de germinação. Para isso, foi realizado um experimento em delineamento experimental

completamente casualizado, arranjado em esquema bifatorial, com três repetições. Ao fator A foi atribuído o tipo de semente (linhaça e painço) e ao fator B, os tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a germinação). A semente de linhaça apresentou maior percentual de lipídios em comparação com a semente de painço. O ácido graxo majoritário na linhaça foi o linolênico, enquanto que os ácidos palmítico, palmitoleico, linoleico e araquídico foram os principais no painço. Houve diferença entre linhaça e painço, em clorofilas, carotenoides totais, fenóis totais e capacidade antioxidante nos tempos 72, 96 e 120 horas após a germinação. As sementes germinadas de linhaça e painço contêm diversos compostos que podem ser benéficos à saúde, como alguns carotenoides, compostos fenólicos, o que potencializa a capacidade antioxidante das mesmas. Portanto, o consumo de germinados de linhaça e painço pode ser uma boa alternativa para aumentar o fornecimento destes compostos na dieta humana.

Palavras-chave: compostos fenólicos, capacidade antioxidante, pigmentos.

1. Introdução

Uma excelente alternativa para o aumento do consumo de alimentos *in natura* são os germinados ou brotos, que podem ser consumidos na forma fresca, em todas as épocas do ano (Pająk, Socha, Gałkowska, Rożnowski,& Fortuna, 2014). A germinação é um dos processos mais antigos, simples e econômicos para melhorar o valor nutricional das sementes. Além disso, apresenta vantagens como a não utilização de solo, de agrotóxicos e de luz solar direta e rápida obtenção dos brotos (Ambrosano et al., 2003).

A germinação de sementes comestíveis para produzir germinados ou brotos aumenta e modifica a textura e o valor nutritivo desses alimentos (Dueñas, Hernández, Estrella, & Fernández, 2009; Martinez-Villaluenga et al., 2010; Hung, Hatcher, & Barker, 2011). Diversos estudos relatam teores elevados de nutrientes e reduzidos de antinutrientes em brotos, quando comparados com sementes não germinadas (Oloyo, 2004; Zieliński, Frias, Piskula, Kozłowska, & Vidal-Valverde, 2005; Martinez-Villaluenga et al., 2010). As sementes germinadas são fontes de antioxidantes, tais como ácidos fenólicos, flavonoides e vitaminas, além dos aminoácidos e fibras (Paško, Sajewicz, Gorinstein, & Zachwieja, 2008).

A composição dos antioxidantes nos brotos depende de muitos fatores, por exemplo condições climáticas e agronômicas durante o crescimento, condições de armazenamento e também da variedade (Cevallos-Casals, & Cisneros-Zevallos, 2010). Outro fator determinante é o tempo de duração do processo de germinação, o qual influencia no acúmulo de compostos, como vitamina C e α -tocoferol (Yang, Basu, & Ooraikul, 2001; Frias, Miranda, Doblado, & Vidal-Valverde, 2005; Fernandez-Orozco, Frias, Zielinski, Piskula, Kozłowska, & Vidal-Valverde, 2008).

No entanto, a maioria dos trabalhos publicados dão ênfase principalmente nos estudos de germinados e/ou brotos típicos, tais como trigo (Yang, Basu, & Ooraikul, 2001), feijão-mungo e soja (Fernandez-Orozco, Frias, Zielinski, Piskula, Kozłowska, & Vidal-Valverde, 2008) e brócolis (Martinez-Villaluenga et al., 2010), que estão facilmente disponíveis no mercado. Os germinados de linhaça e painço constituem-se em novas opções vegetais, que podem ser incluídos na alimentação.

Considerando a importância dos compostos bioativos em alimentos, e, que o processo de germinação melhora o teor desses compostos, objetivou-se avaliar a composição centesimal e o perfil de ácidos graxos nas sementes e os teores de

clorofilas, carotenoides, fenóis e a capacidade antioxidante nos germinados de linhaça e painço em diferentes tempos de germinação.

2. Material e Métodos

2.1. Reagentes químicos

β -caroteno, reagente Folin-Ciocalteu, ácido gálico, 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), ácido 2-carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano (Trolox) e os ácidos caproico, caprílico, cáprico, caproleico, láurico, dodecenoico, mirístico, miristoleico, palmítico, palmitoleico, margárico, heptadecenoico, esteárico, oleico, linoleico, linolênico, araquídico, gadoleico, eicosadienoico, eicosadienoico, eicosatrienoico, tetraenoico, lignocérico e nervônico foram adquiridos da Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA. Os reagentes utilizados nas análises espectrofotométricas e cromatográficas foram de grau HPLC e, para as demais análises utilizaram-se reagentes com grau de pureza para análise (p.a.).

2.2. Amostras

As sementes de linhaça e painço foram adquiridas de produtores comerciais durante o ano agrícola de 2012 localizados nos municípios de Giruá (28°00'10,4"S, 54°13'3,5"O e altitude de 343 m) e Novo Machado (27°34'37"S, 54°30'14"O e altitude de 232 m) respectivamente, na Região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (RS), Brasil. O clima da região conforme a classificação de Köppen & Geiger (1928) é do tipo Cfa, subtropical úmido. A temperatura e a precipitação média

anuais são de 19,6 °C e 1.847 mm e 20,3 °C e 1.742 mm, respectivamente para Giruá e Novo Machado. O solo da região é classificado como Latossolo Vermelho distroférico típico (Embrapa-CNPS, 2006).

As sementes foram acondicionadas em sacos plásticos opacos com capacidade de 30 L, transportadas ao Laboratório de Cromatografia da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Campus Capão do Leão, RS e mantidas sob refrigeração a 10 °C até o momento da realização do experimento. Inicialmente, realizou-se uma triagem manual das sementes, a fim de remover sementes danificadas e materiais estranhos. Em seguida, as sementes utilizadas foram higienizadas por imersão em hipoclorito de sódio 1% por três minutos e posteriormente lavadas com água destilada, conforme recomendação das Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009). Posteriormente, foi verificada a qualidade das mesmas, a partir de testes de germinação e vigor. O teste de germinação foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes (LDAS/UFPel), com quatro repetições de duzentas sementes (duas sub amostras de 100 sementes), distribuídas em caixas tipo gerbox sobre duas folhas de papel germitest, umedecidos com água destilada (equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco), colocadas no germinador regulado com temperatura constante de 25 °C (± 2) para o painço e de 21 °C (± 2) para a linhaça, umidade relativa do ar de 80 % (± 5) e luminosidade de 24 horas para ambas as amostras. As contagens foram realizadas aos três e sete dias após a instalação do teste, de acordo com os critérios estabelecidos nas RAS (BRASIL, 2009), computando-se o percentual de plântulas normais. O teste de vigor consistiu na primeira contagem do teste de germinação, ao terceiro dia após a instalação do mesmo, registrando o percentual de plântulas normais, segundo as recomendações das RAS (BRASIL, 2009).

2.3. Brotos

O experimento foi instalado na Embrapa Clima Temperado - Estação Experimental Terras Baixas, no município de Capão do Leão, RS. O delineamento experimental foi completamente casualizado, arranjado em esquema bifatorial, com três repetições. Ao fator A foi atribuído o tipo de semente (linhaça e painço) e ao fator B, os tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a germinação). As sementes foram desinfestadas por imersão em hipoclorito de sódio 1% por três minutos, lavadas com água destilada conforme recomendação das RAS (BRASIL, 2009) e distribuídas uniformemente em caixas tipo gerbox contendo duas folhas de papel germitest, umedecidos com água destilada (equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco). Em seguida, as caixas foram acondicionadas em germinador nas mesmas condições estabelecidas no teste de germinação.

As coletas dos germinados foram efetuadas 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a germinação, além da testemunha, sem germinar (0 hora). Foi considerada a protrusão da radícula como indicador da germinação e como forma de padronizar a coleta. Tanto as amostras de sementes de linhaça e painço não germinadas (controle) quanto às correspondentes aos diferentes tempos de germinação foram maceradas em moinho de bola (Marconi, MA 350) até adquirirem aspecto de farinha e pasta, respectivamente, objetivando assim, homogeneizar a amostra. As amostras foram armazenadas em sacos plásticos identificados e mantidos em ultrafreezer (-80 °C) até o momento da realização das análises, nos laboratórios da UFPel, Campus Porto e Capão do Leão.

2.4. Caracterização das sementes e brotos

2.4.1. Composição centesimal

A composição centesimal das sementes de linhaça e painço foi determinada, com a realização das análises de umidade por método gravimétrico; cinzas por gravimetria após incineração da amostra; fibra bruta por digestão ácida e alcalina; lipídios (extrato etéreo em Soxhlet); proteína em sistema Micro-Kjedahl com utilização do fator 6,25 para conversão do nitrogênio em teor proteico e carboidratos por diferença, subtraindo de 100 a soma dos valores obtidos de umidade, proteína, lipídios, cinzas e fibra bruta (AOAC, 1995; AOAC, 2005).

2.4.2. Perfil de ácidos graxos

Foi determinado o perfil de ácidos graxos de ambas as sementes, para isso, realizou-se a extração de lipídios a frio conforme descrito por Bligh & Dyer (1959). Após a extração, a análise de ácidos graxos foi realizada segundo método descrito por Hartman & Lago (1973), adicionando à amostra 500 µL de KOH 0,1 N, que permaneceu em banho-maria (60 °C por 2 horas). Após a amostra esfriar, foi adicionado na mesma, 1,5 mL de H₂SO₄ 1 M, e posteriormente levadas novamente ao banho-maria (60 °C a 2 horas). Após o resfriamento da amostra, acrescentou-se 2 mL de hexano, com posterior agitação dos tubos e coleta de 1 mL da fase de hexano, que contém os ésteres metílicos de ácidos graxos. Foi injetado 1 µL desta fase em cromatógrafo gasoso-CG (*Perkin Elmer Clarus500*), provido com detector FID, coluna capilar (Phenomenex) com fase líquida constituída de 5 % de fenil e 95

% de dimetilpolisiloxano e com dimensões 15 m x 0,32 mm x 0,1 µm. Os dados foram adquiridos e processados com auxílio do *software Clarus 500*. Utilizou-se gradiente de temperatura, com temperatura inicial da coluna de 90 °C, mantida por 1 minuto; após, passar para 160 °C com incremento linear de 12 °C min⁻¹, mantida por 3,5 minutos; seguindo a 190 °C com incremento linear de 1,2 °C min⁻¹; e finalmente a 230 °C com incremento linear de 15 °C min⁻¹, mantida por 15 minutos. O injetor e o detector foram mantidos na temperatura de 230 °C e 240 °C, respectivamente. Utilizou-se o nitrogênio como gás de arraste a 1,5 mL min⁻¹. Os ácidos graxos foram identificados pela comparação com os tempos de retenção dos padrões de ésteres metílicos contendo os ácidos caproico, caprílico, cáprico, caproleico, láurico, dodecenoico, mirístico, miristoleico, palmítico, palmitoleico, margárico, heptadecenoico, esteárico, oleico, linoleico, linolênico, araquídico, gadoleico, eicosadienoico, eicosadienoico, eicosatrienoico, tetraenoico, lignocérico e nervônico. O teor de cada ácido graxo nas amostras foi calculado de acordo com a área de cada um dos picos obtidos nos cromatogramas, multiplicadas por 100 e dividido pela área total de ácidos graxos da amostra, sendo os resultados expressos em percentagem.

As demais análises descritas abaixo foram realizadas para as amostras referentes aos diferentes tempos de germinação de linhaça e painço.

2.4.3. Clorofilas

O teor de clorofila foi determinado com amostras de 1 g maceradas em um almofariz em presença de 5 mL de acetona a 80 % (v/v). O material foi centrifugado a 10.000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante transferido para balão volumétrico de

20 mL, completando-se esse volume com acetona a 80 % (v/v). Os teores de clorofila *a*, *b*, totais (*a+b*) foram calculados pelo uso das fórmulas de Lichtenthaler (1987) a partir da absorbância da solução obtida por espectrofotometria (Jenway, 6700) a 647 e 663 nm. Os teores de clorofilas foram determinados pelas equações:

$$\text{Chl totais} = 7,15 (A_{663}) + 18,71 (A_{647});$$

$$\text{Chl 'a'} = 12,25 (A_{663}) - 2,79 (A_{647});$$

$$\text{Chl 'b'} = 21,50 (A_{647}) - 5,10 (A_{663}).$$

Os resultados foram expressos em mg g⁻¹ de massa seca (MS) de sementes e brotos.

2.4.4. Carotenoides totais

O teor de carotenoides totais foi determinado a partir do método da AOAC 970.64 (2000), com modificações. Um grama de amostra fresca foi macerada e homogeneizada com 15 mL de solvente extrator (hexano:etano:acetona:tolueno, na proporção 10:6:7:7), em seguida, adicionou-se 1 mL de KOH 10 % (v/v) e procedeu-se a uma rápida homogeneização, submetendo-a ao aquecimento em banho-maria (56 °C por 20 minutos). Depois de removida do banho, a amostra permaneceu a temperatura ambiente por 1 hora. Alíquotas de 15 mL de hexano foram adicionadas aos frascos e os mesmos foram aferidos a 50 mL com Na₂SO₄ 10 % (m/v). Posteriormente, foram homogeneizados e mantidos no escuro por uma hora. Uma alíquota do sobrenadante foi avaliada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 454 nm. Os resultados foram expressos em mg de β-caroteno por 100 grama de MS de semente e broto.

2.4.5. *Fenóis totais*

O teor de fenóis totais foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu. A extração foi realizada segundo método descrito por Khattak, Zeb, Bibi, Khalil, & Khattak, (2007), com modificações. Para essa etapa, três gramas de amostra fresca maceradas em moinho de bola (Marconi, MA 350) foram colocadas em tubos de falcon de 50 mL e diluídas em 20 mL de metanol, sob agitação por 20 minutos. Posteriormente, os extratos foram centrifugados a 7.000 *rpm* durante 15 minutos. Para a etapa de reação foi retirado 0,1 mL do extrato metanólico obtido e foram adicionados 0,4 mL de água ultrapura, 2,5 mL de Folin-Ciocalteu 0,2 mol L⁻¹ e 2 mL de carbonato de sódio 7,5 % (m/v). Após duas horas de incubação, a absorbância foi medida contra um branco, em espectrofotômetro a 760 nm (Meda, Lamien, Romito, Millogo & Nacoulma, 2005). O teor de fenóis totais foi expresso em miligrama de equivalente de ácido gálico (GAE) por grama de MS de semente e broto.

2.4.6. *Capacidade antioxidante (DPPH)*

A capacidade antioxidante foi determinada através do método do sequestro de radicais livres do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) adaptado de Moure, Franco, Sineiro, Domínguez, Núñez, & Lema, (2001). Uma alíquota de 3,9 mL da solução de DPPH 0,1 mol L⁻¹ foi misturada a 0,1 mL do mesmo extrato metanólico usado para avaliação dos compostos fenólicos. Após 60 minutos de incubação, a absorbância da amostra foi medida a 515 nm em espectrofotômetro e os resultados foram expressos em mg de capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) por grama de MS de semente e broto.

2.4.7. Análise estatística

Os valores atípicos (*outliers*) foram identificados com a plotagem dos resíduos estudentizados externamente (RStudent) “versus” valores preditos (variável Y) e também, pelo gráfico da Distância de Cook. A partir do RStudent, valores que se encontravam fora do intervalo -2 a 2 foram considerados *outliers* e suas observações correspondentes foram removidas do banco de dados (Rousseeuw & Leroy, 1987; Barnett & Lewis, 1994). Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homocedasticidade pelo teste de Hartley; e, a independência dos resíduos por análise gráfica. Posteriormente, os dados foram submetidos à análise de variância através do teste F ($p \leq 0,05$). Constatando-se significância estatística, os efeitos dos tipos de sementes foram comparados pelo teste t ($p \leq 0,05$). Quando presente a interação dos fatores de tratamento, os intervalos de confiança a 95 % foram plotados no gráfico e as diferenças foram consideradas significativas quando não houve sobreposição entre as barras verticais. Os efeitos dos tempos de germinação foram avaliados por modelos de regressão não linear ($p \leq 0,05$), conforme segue:

$y = ae^{bx}$, onde: y = variável resposta de interesse; a = valor máximo estimado para a variável resposta; b = inclinação da curva; x = tempo de germinação (horas); e = constante. A presença de correlações entre as variáveis dependentes do estudo foi analisada através do coeficiente de correlação de Pearson (SAS Institute, 2002).

3. Resultados e Discussão

Para a germinação da semente de linhaça foram observados valores acima de 80 %, já para painço, os resultados foram superiores a 75 %. Quanto ao vigor, os valores apresentados foram de 53 e 46 % para linhaça e painço, respectivamente. Esses resultados demonstram a qualidade das sementes utilizadas, visto que para semente de linhaça a germinação mínima para comercialização é de 70 % (Rio Grande do Sul, 2000). Para semente de painço, de acordo com a Portaria nº 381/98 do Ministério da Agricultura, a mesma se enquadra no item demais gramíneas, as quais não apresentam percentagem de germinação (Brasil, 1998). Portanto, como painço e o capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.) são gramíneas que pertencem ao mesmo gênero, e para esta, o padrão de germinação é de 40 % (Brasil, 1998b), pode-se considerar que a germinação obtida é quase o dobro da exigida. Em vista desses resultados, o trabalho avaliou sementes de alto padrão, conferindo uma maior confiabilidade nos demais estudos realizados.

Quanto a composição centesimal, não ocorreu significância estatística para o fator de tratamento tipo de semente na variável cinzas. Para as demais variáveis, o painço caracterizou-se pelo maior percentual de umidade e carboidratos, enquanto que a linhaça o de lipídios, proteínas e fibras (Tabela 1).

Tabela 1

Composição centesimal de sementes de linhaça e painço. UFPel, Pelotas-RS.

Tipo de semente	Composição centesimal (%)					
	Umidade	Lipídios	Proteínas	Cinzas	Fibras	Carboidratos
Linhaça	5,06±0,12 *	48,3±2,93 ^{1/} *	18,7±0,60 *	3,72±0,06 ^{NS}	8,35±0,55 *	15,8±3,68 *
Painço	9,50±0,06	8,70±0,17	12,5±0,32	3,83±0,05	5,22±0,20	60,3±0,38

* Significativo pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando o tipo de semente. ^{NS}: não significativo pelo teste F ($p \leq 0,05$). ^{1/} Média de três determinações ± desvio padrão.

As sementes de linhaça e painço apresentaram baixo teor de umidade, o que contribui ao armazenamento das mesmas durante um longo período de tempo, uma

vez que, quanto mais elevado o teor de umidade, maior será a decomposição pela ação microbiana (Bozan & Temelli, 2008). Os altos teores de proteína nas sementes analisadas evidenciam a boa reserva proteica. Essas proteínas armazenadas fornecem aminoácidos que são facilmente utilizados na germinação e no crescimento das plântulas (Shewry, Napier, & Tatham, 1995). Como já era esperado, a linhaça por ser uma semente oleaginosa, apresentou maior percentual de lipídios, dentro da faixa citada por Dorrel (1970), de 40 a 60 %. Os resultados dos principais componentes químicos nas sementes de linhaça e painço são similares aos valores reportados pela literatura (Mueller, Eisner, Yoshie-Stark, Nakada, & Kirchhoff 2010; Devisetti, Yadahally, & Bhattacharya, 2014).

Para os ácidos graxos não ocorreu significância estatística para o fator de tratamento tipo de semente no ácido graxo esteárico, oleico, erúcico e total insaturado. O ácido graxo majoritário na linhaça foi o linolênico, enquanto que os ácidos palmítico, palmitoleico, linoleico e araquídico foram os principais no painço (Tabela 2). Adicionalmente, sabe-se que a composição do óleo de plantas cultivadas em baixas temperaturas, fato que ocorreu para as sementes estudadas, apresenta alta concentração de ácidos graxos insaturados, o que resulta em melhores temperaturas do ponto de fusão (Castro, Klugue & Peres, 2005).

A composição dos ácidos graxos nos lipídios vegetais varia conforme a espécie (Taiz & Zeiger, 2004). As plantas são fonte renováveis de ácidos graxos, pois muitas espécies os acumulam sob a forma de triacilgliceróis, que estão como principais componentes de reserva nas sementes (Thelen & Ohlrogge, 2002).

Tabela 2

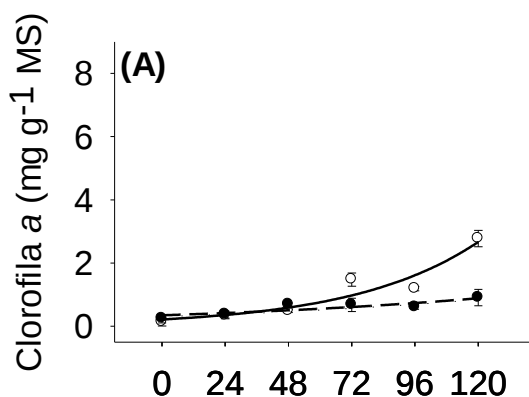
Ácidos graxos (%) de sementes de linhaça e painço. UFPel, Pelotas-RS.

Tipo de semente	Ácidos graxos (%)**				
	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2
Linhaça	5,67±0,38 *	0,00±0,00 ^{1/} *	2,58±0,49 ^{NS}	22,20±1,55 ^{NS}	13,20±0,25 *
Painço	7,14±0,06	0,14±0,00	2,00±0,00	23,09±0,00	65,10±0,26

Tipo de semente	C18:3	C20:0	C22:1	Total saturado	Total insaturado
Linhaça	54,40±1,57 *	0,07±0,10*	1,36±0,72 ^{NS}	8,32±0,21*	91,16±0,50 ^{NS}
Painço	1,18±0,02	0,51±0,02	0,00±0,00	9,65±0,04	89,51±0,28

* Significativo pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando o tipo de semente. ^{NS}: não significativo pelo teste F ($p \leq 0,05$). ^{1/} Média de três determinações $\pm$ desvio padrão. ** Ácidos graxos: C16:0: palmítico, C16:1: palmitoleico, C18:0: esteárico, C18:1: oleico, C18:2: linoleico, C18:3: linolênico, C20:0: araquídico, C22:1: erúxico.

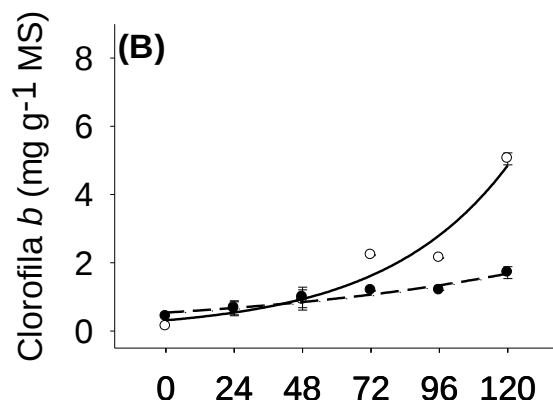
Para as variáveis clorofila *a*, *b* e total, carotenoides e fenóis totais e capacidade antioxidante ocorreu interação significativa entre os fatores de tratamento tipo de semente e tempo de germinação (Fig. 1 e 2). Quanto à clorofila *a*, *b* e total, na comparação entre as duas sementes, houve diferença entre linhaça e painço nos tempos de germinação 72, 96 e 120 horas. Essa variável ajustou-se adequadamente à equação de regressão exponencial, sendo que os valores de coeficiente de determinação (R^2) foram de 0,90 e 0,76 (Fig. 1A), 0,94 e 0,93 (Fig. 1B) e 0,94 e 0,89 (Fig. 1C) respectivamente, para linhaça e painço, demonstrando ajuste satisfatório dos dados ao modelo. As sementes apresentaram teores de clorofila *a*, *b* e total crescente com incremento do tempo de germinação, cujos valores máximos estimados pelo modelo foram de 2,73 e 0,91; 4,90 e 1,59; 7,15 e 2,62 mg g⁻¹ MS para linhaça e painço, respectivamente.



Tempo de germinação (horas)

—○— Y (Lin) = $0,22 e^{0,021x}$ R² = 0,90

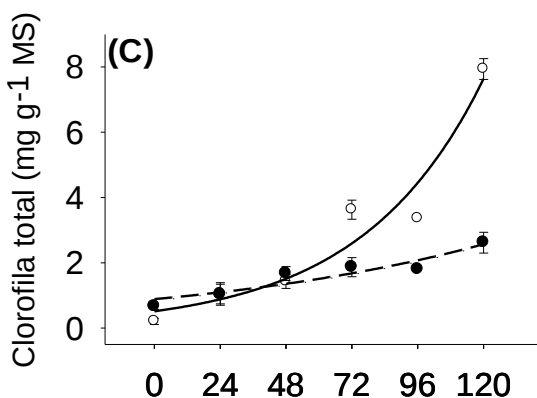
—●— Y (Pai) = $0,35 e^{0,008x}$ R² = 0,76



Tempo de germinação (horas)

—○— Y (Lin) = $0,31 e^{0,023x}$ R² = 0,94

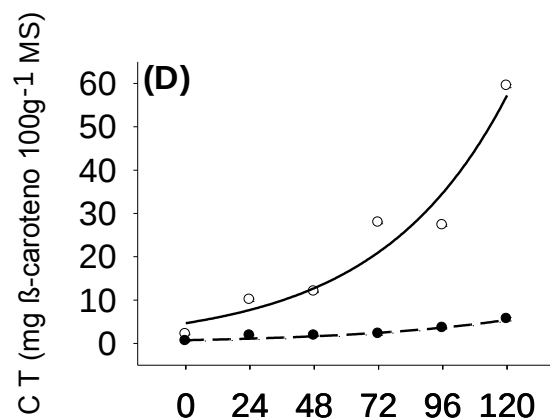
—●— Y (Pai) = $0,54 e^{0,009x}$ R² = 0,93



Tempo de germinação (horas)

—○— Y (Lin) = $0,51 e^{0,022x}$ R² = 0,94

—●— Y (Pai) = $0,89 e^{0,009x}$ R² = 0,89



Tempo de germinação (horas)

—○— Y (Lin) = $4,69 e^{0,02x}$ R² = 0,94

—●— Y (Pai) = $0,75 e^{0,02x}$ R² = 0,96

Fig. 1. Clorofila a (A), b (B) e total (C) (mg g⁻¹ MS) e carotenoides totais - C T (mg β-caroteno 100g⁻¹ MS - D) de sementes de linhaça (Lin) e painço (Pai) submetidas a diferentes tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas). UFPel, Pelotas, RS. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).

O teor de carotenoides totais apresentou comportamento similar os de clorofila a e b e total na comparação entre as duas sementes. Essa variável ajustou-se adequadamente à equação de regressão exponencial, sendo que os valores de coeficiente de determinação (R²) foram de 0,94 e 0,96, respectivamente, para linhaça e painço, demonstrando ajuste satisfatório dos dados ao modelo. As

sementes apresentaram teor de carotenoides totais crescente com incremento do tempo de germinação, cujos valores máximos estimados pelo modelo foram de 51,70 e 8,27 mg de β -caroteno 100g^{-1} MS para linhaça e painço, respectivamente (Fig. 1D). O aumento de β -caroteno e clorofila *a* foram observados após o segundo dia de germinação em brotos de duas variedades de soja, resultado este, semelhante ao verificado nos brotos de linhaça e painço (Lee, Hwang, Lee, Chang & Choung, 2013).

Para a variável fenóis totais, na comparação entre as duas sementes, houve diferença entre linhaça e painço nos tempos 0, 72, 96 e 120 horas de germinação. Esta variável ajustou-se adequadamente à equação de regressão exponencial, sendo que os valores de coeficiente de determinação (R^2) foram de 0,88 e 0,87, respectivamente, para linhaça e painço, demonstrando ajuste satisfatório dos dados ao modelo. Observa-se, para ambas as sementes, que ocorreu acréscimo na concentração de fenóis totais em função do tempo de germinação, cujos valores máximos estimados pelo modelo foram de 6,54 e 8,16 mg de EAG 100g^{-1} MS (Fig. 2A).

De acordo com Alves & Santos (2002) o aumento no teor de fenóis totais, após 24 horas de germinação, está associado a funções de defesa da planta, controle de hormônios vegetais, inibição de enzimas e agentes alelopáticos. Paško, Bartoń, Zagrodzki, Gorinstein, Fołta & Zachwieja (2009) e Liu, Guo, Zhu & Liu (2011) também relataram maior teor de fenóis totais em brotos quando comparados a sementes, sugerindo que a síntese de antioxidantes fenólicos ocorre ao longo da germinação. Adicionalmente, a germinação resulta em mudanças na composição fenólica, devido, principalmente, à ativação de enzimas endógenas e do

metabolismo bioquímico da semente durante este processo (Dueñas, Hernández, Estrella & Fernández, 2009).

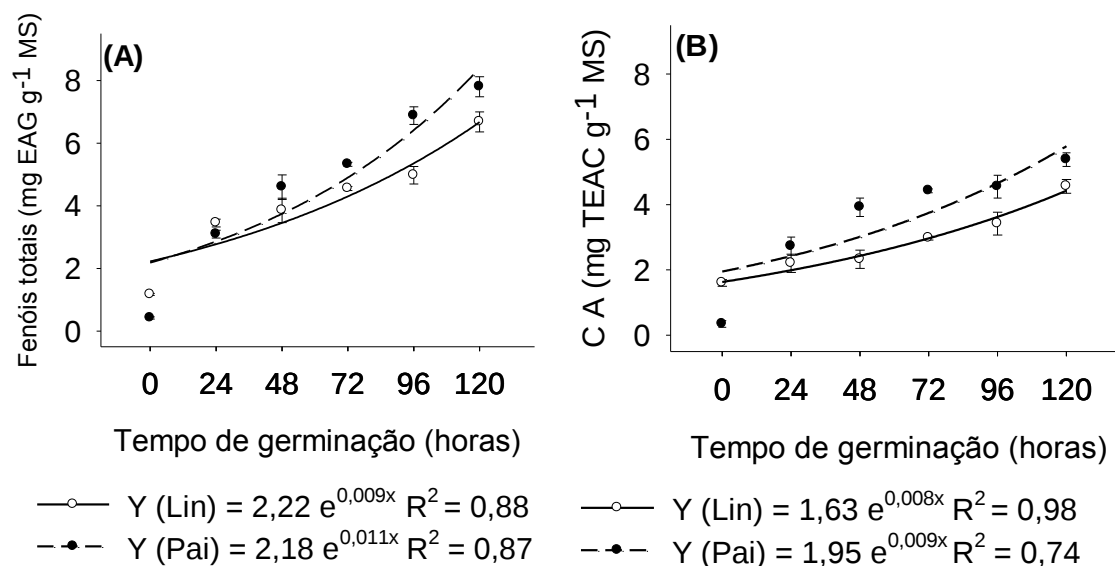


Fig. 2. Fenóis totais (mg EAG g⁻¹ MS - A) e capacidade antioxidante - C A (mg TEAC g⁻¹ MS - B) de sementes de linhaça (Lin) e painço (Pai) submetidas a diferentes tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas). UFPel, Pelotas, RS. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).

Quanto à comparação entre as duas sementes para a capacidade antioxidante equivalente de Trolox, houve diferença entre linhaça e painço nos tempos 0, 48, 72, 96 e 120 horas de germinação. A variável ajustou-se adequadamente à equação de regressão exponencial, sendo que os valores de coeficiente de determinação (R²) foram de 0,98 e 0,74, respectivamente, para linhaça e painço, demonstrando ajuste satisfatório dos dados ao modelo. Observa-se, para ambas as sementes, aumento crescente na capacidade antioxidante em função do tempo de germinação, cujos valores máximos estimados pelo modelo foram de 4,26 e 5,74 mg TEAC g⁻¹ MS (Fig. 2B). A diferença observada entre as amostras são similares as evidenciadas para os fenóis totais, com exceção do tempo 48 horas, o que já era esperado visto à alta correlação encontrada entre essas variáveis (Tabela 3).

Vários estudos têm descrito aumento de capacidade antioxidante após a germinação (Dueñas, Hernández, Estrella & Fernández, 2009; Paško, Bartoń, Zagrodzki, Gorinstein, Fořta & Zachwieja, 2009; Martinez-Villaluenga et al., 2010). Este processo é atribuído ao metabolismo bioquímico das sementes durante a germinação (Dueñas, Hernández, Estrella & Fernández, 2009). A capacidade antioxidante superior de brotos em comparação a sementes resulta de diferenças no conteúdo de polifenóis, antocianinas e outros compostos (Paško, Bartoń, Zagrodzki, Gorinstein, Fořta & Zachwieja, 2009).

Em relação às correlações (Tabela 3), as variáveis clorofila *b* e total foram as que evidenciaram o maior coeficiente de correlação positiva ($r = 0,99$, $p < 0,0001$). Representando que quando ocorre um aumento no teor de clorofila *b*, igualmente é verificado um aumento na clorofila total. Nesse contexto, outras correlações positivas foram relevantes entre capacidade antioxidante com fenóis totais ($r = 0,96$, $p < 0,0001$); carotenoides totais ($r = 0,77$, $p < 0,0001$) e clorofila total ($r = 0,56$, $p = 0,008$). Portanto, supõe-se que o aumento do nível dos antioxidantes, como carotenoides e fenóis totais presentes nos brotos, influenciam diretamente no acréscimo da capacidade antioxidante dos mesmos.

Tabela 3

Coeficientes de correlação de Pearson e valores de p entre as variáveis dependentes. UFPel, Pelotas, RS

Variáveis dependentes	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila total	Carotenoides totais	Fenóis totais	Capacidade antioxidante
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
(1)	1,000	0,994*	0,997	0,884	0,612	0,582
		<0,0001**	<0,0001	<0,0001	0,0003	0,001
(2)		1,000	0,999	0,907	0,621	0,570
			<0,0001	<0,0001	0,001	0,007
(3)			1,000	0,900	0,613	0,560
				<0,0001	0,001	0,008
(4)				1,000	0,821	0,773
					<0,0001	<0,0001
(5)					1,000	0,957
						<0,0001
(6)						1,000

* Coeficiente de correlação de Pearson. ** Valor de p .

Conclusões

A semente de linhaça apresentou maior percentual de lipídios em comparação com a semente de painço. O ácido graxo majoritário na linhaça foi o linolênico, enquanto que os ácidos palmítico, palmitoleico, linoleico e araquídico foram os principais no painço. Houve diferença entre linhaça e painço, em clorofilas, carotenoides totais, fenóis totais e capacidade antioxidante nos tempos 72, 96 e 120 horas após a germinação.

As sementes germinadas de linhaça e painço contêm diversos compostos que podem ser benéficos à saúde, como de alguns carotenoides, compostos fenólicos, o

que potencializa a capacidade antioxidante das mesmas. Portanto, o consumo de germinados de linhaça e painço pode ser uma boa alternativa para aumentar o fornecimento destes compostos na dieta humana.

Agradecimentos

Esta pesquisa foi financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Referências

Ambrosano, E. J., Ambrosano, R. B., Wutke, E. B., Bulisani, E. A., Rossi, F., Guirado, N., Ros, F. B., Mendes, P. C. D., Batelochi, L. R., et al. (2003). Produção de brotos comestíveis: feijão-mungo (*Vigna radiata*). In: Anais da III Feira da Pequena Agroindústria, Serra Negra – SP, 26 a 28 de junho, 125 – 135.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (1995). 16th. Official Methods of Analysis. Arlington.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2000). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists 17th Edition AOAC International, Gaithersburg MD.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2005). 17th. Official Methods of Analysis. Arlington.

Barnett, V., & Lewis, T. (1994). **Outliers in Statistical Data**, 3rd Edition, John Wiley & Sons, New York.

Bligh, E.G., & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry and Physiology**, 37, pp. 911-917.

Bozan, B., & Temelli, F. (2008). Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. **Bioresource Technology**, 99, Issue 14, pp. 6354–6359.

BRASIL. (2009). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes** / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : Mapa/ACS, pp. 399.

- BRASIL. (1998). **Portaria nº 381**, de 05 de Agosto de 1998. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Seção 1, pp. 43.
- Burton, G. W., Ingold, K. U. (1984). β -Carotene: An unusual type of lipid antioxidant. **Science**, 224, pp. 569–573.
- Castro, P. R. C., Klugue, R. A., & Peres L. E. P. (2005). **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, 650.
- Cazzonelli, C. I. (2011). Carotenoids in nature: Insights from plants and beyond. **Functional Plant Biology**, 38, pp. 833–847.
- Cevallos-Casals, B.A., & Cisneros-Zevallos, L. (2010). Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. **Food Chemistry**, 119, pp.1485-1490.
- Devisetti, R., Yadahally, S. N., & Bhattacharya, S. (2014). Nutrients and antinutrients in foxtail and proso millet milled fractions: Evaluation of their flour functionality. **LWT – Food Science and Technology**, In Press, Accepted Manuscript – Note to users.
- Dorrel, D.G. (1970). Distribution of fatty acids within the seed of flax. **Canadian Journal of Plant Science**, 50, pp. 71–75.
- Dueñas, M., Hernández, T., Estrella, I., & Fernández, D. (2009). Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). **Food Chemistry**, 117, pp. 599–607.
- Embrapa - Centro Nacional de Pesquisa de Solos (CNPS) (2006) **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2^a ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos. 412.
- Fernandez-Orozco, R., Frias, J., Zielinski, H., Piskula, M. K., Kozłowska, H., & Vidal-Valverde, C. (2008). Kinetic study of the antioxidant compounds and antioxidant capacity during germination of *Vigna radiata* cv. emerald, *Glycine max* cv. jutro and *Glycine max* cv. Merit. **Food Chemistry**, 111, pp. 622–630.
- Frias, J., Miranda, M. L., Doblado, R., & Vidal-Valverde, C. (2005). Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa. **Food Chemistry**, 92, 2, pp. 211–220.
- Hartman, L., & Lago, B.C. (1973). A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, 22, pp. 475-477.
- Hung, P. V., Hatcher, D. W., & Barker, W. (2011). Phenolic acid composition of sprouted wheats by ultra-performance liquid chromatography (UPLC) and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, 126, pp. 1896–1901.
- Khattak, A. B., Zeb, A., Bibi, N., Khalil, S. A., & Khattak, M. S. (2007). Influence of germination techniques on phytic acid and polyphenols content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. **Food Chemistry**, 104, pp. 1074–1079.

- Köppen, W., & Geiger, R. (1928). **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes, Wall-map, 150 x 200 cm.
- Lee, J., Hwang, Y.-S., Lee, J.-D., Chang, W.-S., Choung, M.-G. (2013). Metabolic alterations of lutein, b-carotene and chlorophyll a during germination of two soybean sprout varieties. **Food Chemistry**, 141, pp. 3177–3182.
- Lichtenthaler, H. K. (1987). **Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes**. In: Colowick, S. P., Kaplan, N. O. Methods in enzymology. San Diego: Academic Press, pp. 350-382.
- Martinez-Villaluenga, C., Peñas, E., Ciska, E., Piskula, M.K., Kozłowska, H., Vidal-Valverde, C., & Frias, J.(2010). Time dependence of bioactive compounds and antioxidant capacity during germination of different cultivars of broccoli and radish seeds. **Food Chemistry**, 120, pp. 710-716.
- Meda, A., Lamien, E. E., Romito, M., Millogo, J., & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, 91, pp. 571–577.
- Moure, A., Franco, D., Sineiro, J., Domínguez, H. Núñez, M. J., & Lema, J. M. (2001). Antioxidant activity of extracts from *Gevuina avellana* and *Rosa rubiginosa* defatted seeds. **Food Research International**, 34, pp. 103–109.
- Mueller, K., Eisner, P., Yoshie-Stark, Y., Nakada, R., & Kirchhoff E. (2010). Functional properties and chemical composition of fractionated brown and yellow linseed meal (*Linum usitatissimum* L.). **Journal of Food Engineering**, 98, 4, pp. 453-460.
- Oloyo, R.A. (2004). Chemical and nutritional quality changes in germinating seeds of *Cajanus cajan* L. **Food Chemistry**, 85, pp. 497-502.
- Pająk, P., Socha, R., Gałkowska, D., Rożnowski, J., & Fortuna, T. (2014). Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. **Food Chemistry**, 143, pp. 300-306.
- Paško, P., Bartoń, H., Zagrodzki, P., Gorinstein, S., Fołta, M., & Zachwieja, Z. (2009). Anhocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. **Food Chemistry**, 115, pp. 994–998.
- Paško, P., Sajewicz, M., Gorinstein, S., & Zachwieja, Z. (2008). Analysis of the selected phenolic acids and flavonoids in *Amaranthus cruentus* and *Chenopodium quinoa* seeds and sprouts by HPLC method. **Acta Chromatographica**, 20, 4, pp. 661–672.
- RIO GRANDE DO SUL. Secretaria da Agricultura e Abastecimento. Departamento da Produção Vegetal. Comissão Estadual de Sementes e Mudas do Estado do Rio Grande do Sul (P. Alegre, RS). **Normas e padrões de produção de sementes para**

o Estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 4a edição, 2000, 160 p. Semente; Produção; Normas; Padrões; Rio Grande do Sul; Brasil; CESM/RS CDD: 631.52108165.

Rousseeuw, P.J., & Leroy, A.M. (1987). **Robust Regression and Outlier Detection**, Ed. John Wiley & Sons, New York.

SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistics, version 9.1. Cary: SAS Institute, 2002.

Shewry, P.R., Napier, J.A., & Tatham, A.S. (1995). Seed storage proteins: Structures and biosynthesis. **The Plant Cell**, 7, pp. 945–956.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2004). **Fisiologia Vegetal**. Tradução: Santarém, E. R. et al. 3 edicao. Porto Alegre. Editora Artmed.

Thelen, J. J., & Ohlrogge, J. B. (2002). Metabolic Engineering of Fatty Acid Biosynthesis in Plants. **Metabolic Engineering**, 4, 1, pp. 12–21.

Yang, F., Basu, T.K., & Ooraikul, B.(2001). Studies on germination conditions and antioxidant contents of wheat grain. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 52, pp. 319-330.

Zieliński, H., Frias, J., Piskula, M. K., Kozłowska, H., Vidal-Valverde, C. (2005). Vitamin B₁ and B₂, dietary fiber and minerals content of Cruciferae sprouts. **European Food Research and Technology**, 221, pp. 78-83.

6 Artigo 2

BIOCOMPOSTOS EM GERMINADOS DE PAINÇO PROVENIENTES DE DUAS SAFRAS SOB DIFERENTES TEMPOS DE GERMINAÇÃO

¹Scharlise Diovanela Schneider da Silva*; ¹Fabiana Lemos Goularte Dutra; ²Roberta Manica-Berto; ³Rui Carlos Zambiasi; ¹Elizabete Helbig

¹Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, Brasil.

² Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS, Brasil.

³Centro de Ciência Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil. *Autor correspondente. Tel: 21 53 84444223. Endereço de e-mail: scharlisediovanella@gmail.com

O manuscrito encontra-se nas normas do periódico Journal of Natural Products (ISSN 1520-6025) revista escolhida pelos autores para submissão, após apreciação da banca avaliadora.

RESUMO

Uma alternativa de consumo do painço como opção vegetal é a germinação da semente. Essas sementes germinadas são fontes de antioxidantes, tais como ácido ascórbico, tocoferóis, tocotrienóis e os compostos fenólicos. No entanto, a influência da germinação sobre o teor e composição dos nutrientes nos alimentos depende de muitas variáveis, como umidade, temperatura, luz, tempo de germinação, espécies de plantas e variedades ou cultivares. Nesse contexto, objetivou-se avaliar a composição centesimal e o perfil de ácidos graxos nas sementes e os teores de clorofilas, carotenoides, fenóis e a capacidade antioxidante, presentes em germinados de *Panicum miliaceum* L. ao longo da germinação, em duas safras consecutivas. Para isso, foi realizado um experimento em delineamento experimental completamente casualizado, arranjado em esquema bifatorial, com três repetições. Ao fator A foi atribuído a safra (2012/13 e 2013/14) e ao fator B, os tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a germinação). Os resultados demonstraram que existe diferença significativa na composição centesimal e nos teores de ácidos graxos entre safras, o que decorre das condições climáticas características de cada ano. Após a germinação, as concentrações de todos os compostos analisados aumentaram para ambas as safras.

O painço (*Panicum miliaceum* L.) é uma planta de cultivo anual, pertence à classe das Liliopsidas, a subclasse *Commelinidae* e família *Poaceae* ¹. O cultivo do painço é uma atividade com produção mundial de 25,6 milhões de toneladas, em área cultivada de 31,2 milhões de hectares. A Índia é o maior produtor (9,1 milhões de toneladas), seguida por Níger (7,6 milhões de toneladas) e Nigéria (2,7 milhões de toneladas). Por sua vez a produção no Brasil ainda é muito restrita, ao ponto que não há registros nos órgãos oficiais ^{2,3}.

Apesar da produção mundial de painço ser expressiva, o seu consumo na alimentação humana é pouco difundido. Uma alternativa de consumo do painço como opção vegetal é a germinação da semente. Esse processo ocorre mediante condições favoráveis, em que o eixo embrionário retoma o desenvolvimento que tinha sido interrompido por ocasião da maturação fisiológica, com o subsequente rompimento do tegumento pela radícula ⁴. Na fase inicial do processo de germinação ocorre a absorção de água pela semente o que promove a hidratação dos tecidos, aumentando a respiração e outras atividades metabólicas, que culminam no fornecimento de energia e nutrientes necessários para o crescimento do eixo embrionário. Nesse processo são removidos antinutrientes, tornando os brotos seguros para consumo humano ⁵.

Além disso, durante a germinação de sementes, podem ser gerados antioxidantes, como ácido ascórbico, tocoferóis, tocotrienóis e os compostos fenólicos; resultando assim, em aumento da capacidade antioxidante ^{6, 7}. O que sugere benefícios para a saúde por meio do consumo de germinados ^{8, 9, 10}, pois os antioxidantes atuam contra danos celulares oxidativos que podem levar a doenças ¹¹.

A germinação tem sido identificada como uma tecnologia barata e eficaz para melhorar a qualidade nutricional de sementes de cereais e de leguminosas ¹². No entanto, a influência da germinação sobre o teor e composição dos nutrientes nos alimentos depende de muitas variáveis, como umidade, temperatura, luz, tempo de germinação, espécies de plantas e variedades ou cultivares ^{13, 14, 15, 16}.

Percebe-se a importância da compreensão na variação dos compostos bioativos em germinados quando a semente é exposta a diferentes condições ambientais. O objetivo deste estudo foi objetivou-se avaliar a composição centesimal e o perfil de ácidos graxos nas sementes e os teores de clorofilas,

carotenoides, fenóis e a capacidade antioxidante, presentes em germinados de *Panicum miliaceum* L. ao longo da germinação, em duas safras consecutivas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o teste de germinação da semente de painço safra 2012/13 foram observados valores acima de 75 %, já na safra 2013/14 os resultados foram superiores a 65 %. Juntamente com teste de germinação, foi realizado o de vigor, e os valores foram de 46 e 40 % para safras 2012/13 e 2013/14, respectivamente. Esses resultados demonstram a qualidade das sementes utilizadas. De acordo com a Portaria nº 381/98 do Ministério da Agricultura, a semente de painço se enquadra no item demais gramíneas, para as quais não se descreve percentagem de germinação específica ¹⁷. Portanto, como painço e o capim-colonião (*Panicum maximum* Jacq.) pertencem ao mesmo gênero e, para este o padrão de germinação é de 40 % ¹⁷, a germinação obtida está próxima do dobro da exigida. Em vista desses resultados, o presente estudo avaliou sementes de alto padrão, conferindo uma maior confiabilidade aos demais estudos realizados.

Quanto à composição centesimal, não houve significância estatística para o fator de tratamento safra para a variável carboidrato. O painço safra 2012/13 apresentou maior percentual de lipídios, proteínas e cinzas, enquanto que o painço 2013/14 o de umidade e fibras (Tabela 1). Apesar das sementes de painço, de ambas as safras, terem sido cultivadas na mesma área geográfica diferem significativamente quanto à composição centesimal. Isso foi influenciado pelas condições ambientais, como temperatura e precipitação, além das práticas agrícolas ¹⁸ ocorridas nas diferentes safras. Os resultados dos principais componentes químicos nas sementes de painço foram similares aos valores reportados pela literatura ¹⁹.

Tabela 1 - Composição centesimal de sementes de painço, safras 2012/13 e 2013/14. UFPel, Pelotas-RS

Safr	Composição centesimal ^{1/} (%)					
	Umidade	Lipídios	Proteínas	Cinzas	Fibras	Carboidratos
2012/13	9,50±0,06 *	8,70±0,17 *	12,5±0,32 *	3,83±0,05 *	5,22±0,20 *	60,3±0,38 ^{NF}
2013/14	11,75±0,07	5,82±1,16	6,22±0,18	2,89±0,07	12,7±0,09	60,6±1,34

* Significativo pelo teste t (p≤0,05) comparando as safras. ^{NF}: não significativo pelo teste F (p≤0,05).

^{1/} Média de três determinações ± desvio padrão.

Observaram-se diferenças significativas nos ácidos graxos, com exceção do ácido graxo linoleico. Foram encontrados teores superiores para os ácidos graxos palmítico, linolênico e erúcico na safra 2013/14 em relação à 2012/13 (Tabela 2), os quais têm importância nutricional, pois servem como fonte efetiva de energia calórica, além de serem os principais constituintes das células armazenadoras de gordura dos animais e das plantas ²⁰. O perfil de ácidos graxos do óleo depende principalmente da composição do ácido graxo na semente. Por conseguinte, este perfil pode ser influenciado pelo clima e condições de crescimento ^{18, 21}.

Tabela 2 - Ácidos graxos (%) de sementes de painço, safras 2012/13 e 2013/14. UFPel, Pelotas-RS

Safra	Ácidos graxos ¹ (%)**				
	C16:0	C16:1	C18:0	C18:1	C18:2
2012/13	7,14±0,06 *	0,14±0,00 *	2,00±0,00 *	23,09±0,00 *	65,10±0,26 ^{NS}
2013/14	7,56±0,06	0,00±0,00	1,50±0,00	21,15±0,96	62,50±1,12

Safra	C18:3	C20:0	C22:1	Total Saturado	Total insaturado
2012/13	1,18±0,02 *	0,51±0,02 *	0,00±0,00 *	9,65±0,04 *	89,51±0,28 *
2013/14	2,59±0,27	0,00±0,00	4,68±0,05	9,06±0,06	90,92±0,06

* Significativo pelo teste t ($p \leq 0,05$) comparando as safras. ^{NS}: não significativo pelo teste F ($p \leq 0,05$). ¹ Média de três determinações $\pm$ desvio padrão. ** Ácidos graxos: C16:0: palmítico, C16:1: palmitoleico, C18:0: esteárico, C18:1: oleico, C18:2: linoleico, C18:3: linolênico, C20: araquídico, C22:1: erúcico.

Houve interação entre os fatores de tratamento testados para todas as variáveis avaliadas (Figuras 1 e 2). Para a safra 2013/14 não foi possível realizar a coleta das amostras às 120 horas após a germinação, fato esse que se deve ao teor de umidade das mesmas (11,75%), o que impossibilitou a realização das análises nesse tempo. Observou-se para clorofila a (Figura 1A) na amostra de painço safra 2012/13 aumento significativo na concentração desse composto nas 48, 72, 96 e 120 horas após a germinação, quando comparado ao tempo controle (0 horas). Já para amostra de painço 2013/14 houve aumento significativo nas 72 e 96 horas após a germinação em relação ao controle. Quando comparadas as safras observou-se diferença significativa apenas nas 48 horas após a germinação.

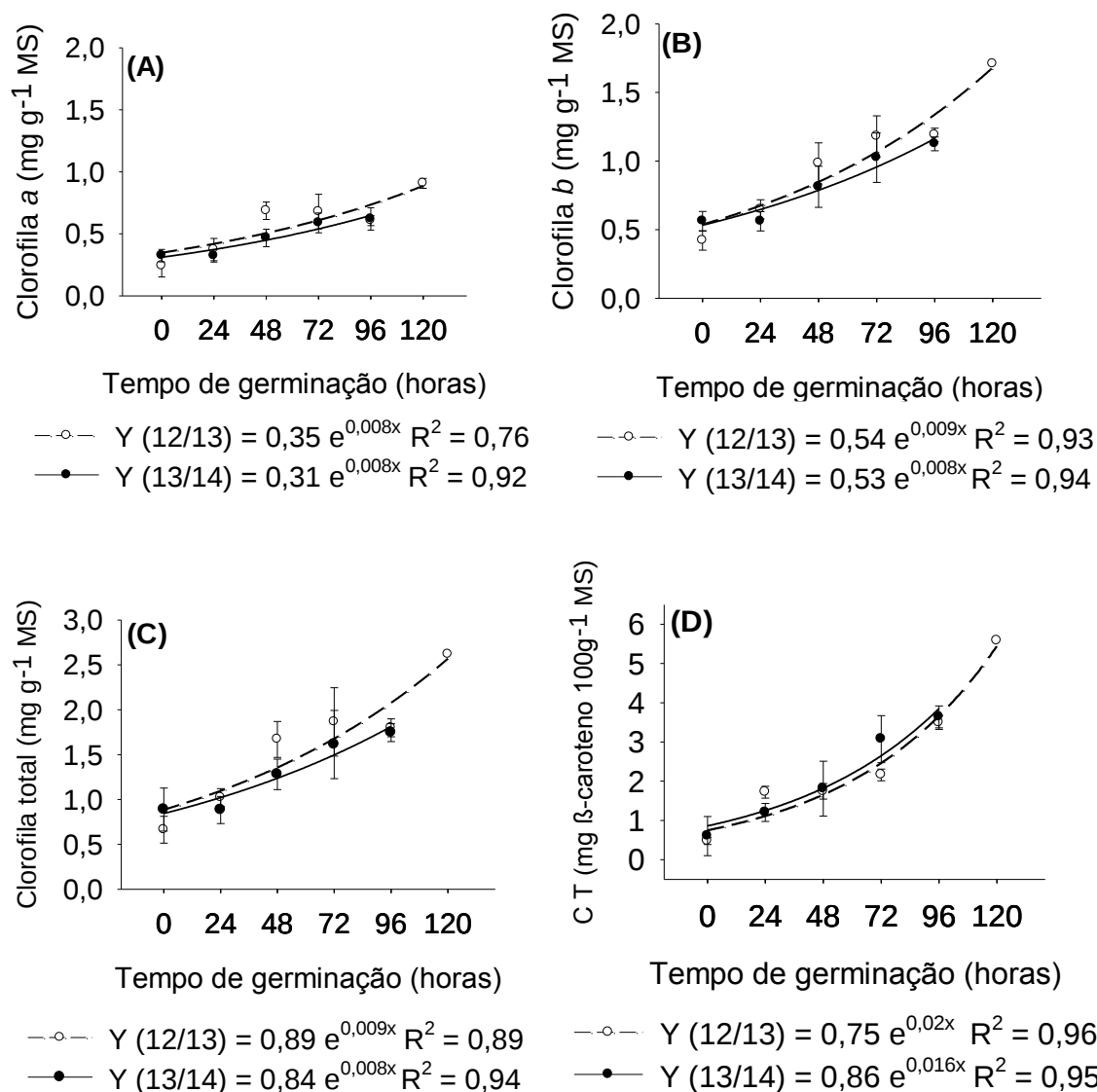


Figura 1 - Clorofila a (A), b (B) e total (C) (mg g⁻¹ MS) e carotenoides totais - C T (mg β-caroteno 100g⁻¹ MS - D) de sementes de painço safras 2012/13 e 2013/14 submetidas a diferentes tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas). UFPel, Pelotas. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).

Quanto à clorofila *b*, a amostra de painço 2012/13 apresentou o mesmo comportamento que a clorofila *a*, enquanto que na amostra de painço 2013/14 não ocorreu diferença entre os tempos 72 e 96 horas, sendo estes superiores aos demais tempos avaliados. Quando comparadas as safras, não se observou diferença significativa entre as amostras (Figura 1B). A clorofila total na amostra de painço 2012/13 caracterizou o mesmo comportamento verificado para clorofila *a* e *b*. Para amostra de painço 2013/14 percebe-se percentual superior no tempo 96 horas quando comparado aos tempos 0, 24 e 48 horas. Quando comparadas as safras, não se observou diferença significativa entre as amostras (Figura 1C).

Observou-se para carotenoides totais na amostra 2012/13 que os maiores teores foram nos tempos 96 e 120 horas após a germinação, quando comparados ao tempo controle. Já para amostra de painço 2013/14, houve aumento significativo na concentração desse composto, em relação ao controle, nas 72 e 96 horas. Quando comparados as safras, observou-se diferença significativa entre as amostras as 24 e 72 horas após a germinação (Figura 1D). O teor médio dos carotenoides totais, considerando as duas safras, foi de 3,55 mg β -caroteno 100g⁻¹ MS para 96 horas de germinação, muito superior ao encontrado na semente (0 horas), o qual foi de 0,54 mg β -caroteno 100g⁻¹ MS. Embora não haja nenhum valor específico proposto para a ingestão diária de carotenoides, há evidências epidemiológicas que sugerem que concentrações sanguíneas mais elevadas de β -caroteno e outros carotenóides obtidos a partir da ingestão de alimentos estão associados a menor risco de doenças crônicas ²². Percebe-se que o consumo de germinados de painço pode ser uma boa alternativa para aumentar o fornecimento destes compostos na dieta humana.

As clorofilas *a* e *b*, juntamente com alguns carotenoides, absorvem a radiação visível, desencadeando reações fotoquímicas da fotossíntese, processo essencial para a sobrevivência vegetal ²³. Nos cloroplastos, os carotenoides atuam como pigmentos coadjuvantes da fotossíntese absorvendo a luz na região entre 400 e 600 nm do espectro. Além disso, eles atuam como agentes protetores contra possíveis danos causados pela luz visível ^{24 - 28}, o que justifica o aumento desse composto com o passar da germinação.

Os resultados da determinação de fenóis totais de duas safras de painço estudadas são mostrados na Figura 2A. Observou-se que para fenóis totais houve diferença nas concentrações em todos os tempos de germinação avaliados para as amostras de painço 2012/13. Na safra 2013/14 não ocorreu diferença entre os tempos 24 e 48 horas após a germinação. Quando comparadas as safras, observou-se diferença significativa em todos os tempos de germinação, com exceção de 48 horas, sendo que os valores foram superiores na safra 2013/14 (Figura 2A).

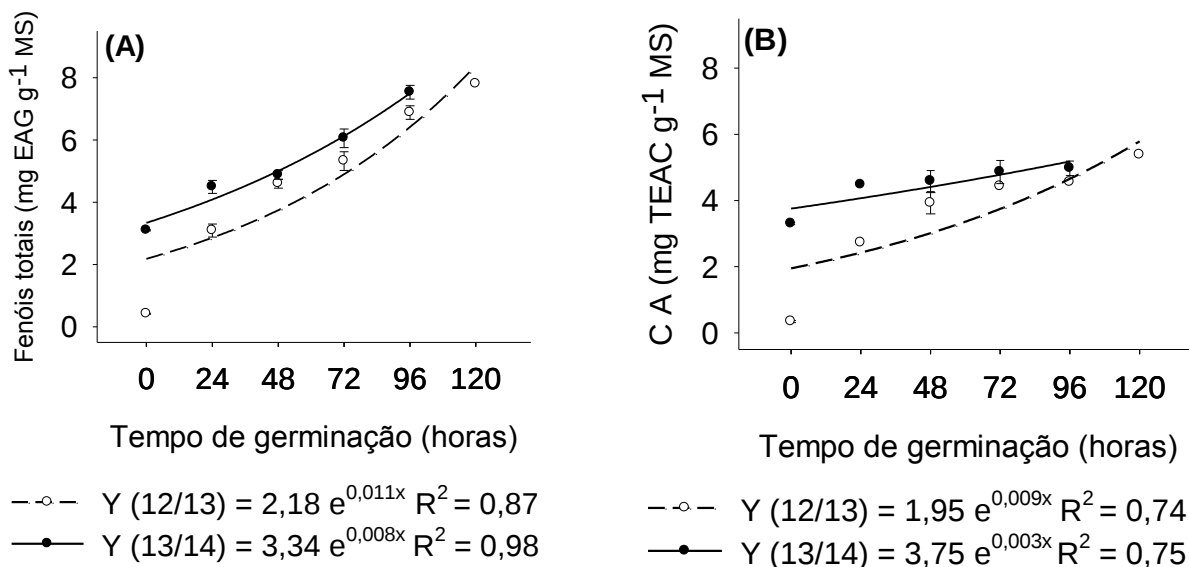


Figura 2 - Fenóis totais (mg EAG g⁻¹ MS - A) e capacidade antioxidante - C A (mg TEAC g⁻¹ MS - B) de sementes de painço safras 2012/13 e 2013/14 submetidas a diferentes tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas). UFPel, Pelotas. (As barras verticais representam os intervalos de confiança a 95%).

O acúmulo de compostos fenólicos observado nos germinados de painço deve-se a ativação de enzimas endógenas e ao metabolismo bioquímico das sementes durante o processo de germinação²⁹. Pasko *et al.*³⁰ também relataram maior teor de compostos fenólicos nos germinados em comparação com as sementes, sugerindo que ocorre a síntese de antioxidantes fenólicos durante a germinação. As sementes atuam principalmente como um reservatório de compostos primários e especializados que são posteriormente utilizados durante o processo de germinação³¹.

Os carboidratos provenientes do metabolismo primário da planta são precursores dos compostos fenólicos produzidos no metabolismo especializado e sua quantidade depende do acúmulo dessas substâncias pelas plantas³². Isto justifica os teores superiores de fenóis totais encontrados na safra 2013/14 (Figura 2A), visto que a semente de painço desta safra apresentou maior percentual de carboidratos, em valores absolutos (Tabela 1).

Em função dos resultados encontrados, pode-se evidenciar que a germinação da semente de painço proporcionou aumento significativo nos teores de fenóis totais. Em média para as duas safras ao comparar o tempo 0 com 96 horas, o teor passou de 1,75 para 7,20 mg EAG g⁻¹ MS, respectivamente. O consumo de germinados torna-se uma boa opção de fonte de fenóis totais, pois apresenta valor

superior quando comparado a frutos reconhecidos como fonte de compostos fenólicos, como algumas variedades de uva (1,56 a 3,65 mg EAG g⁻¹ MF)³³.

Um aumento no teor de compostos fenólicos, juntamente com a germinação das sementes pode influenciar a sua atividade captadora de radicais livres. Os resultados da determinação de capacidade antioxidante, das duas safras de painço estudadas são mostrados na Figura 2B. Para a variável capacidade antioxidante da semente de painço safra 2012/13 não ocorreu diferença entre 72 e 96 horas, mas ambos diferiram dos demais tempos de germinação. O painço safra 2013/14 diferiu significativamente entre o primeiro (controle) e os demais tempos de germinação. Ao comparar as safras das sementes de painço observou-se que houve diferença significativa nos tempos 0 e 24 horas de germinação, sendo superiores na safra 2013/14.

A evolução da capacidade antioxidante durante a germinação de sementes também foi relatado por Martinez-Villaluenga *et al.*³⁴ trabalhando com sementes de brócolis e rabanete. O aumento dos valores da capacidade antioxidante durante a germinação está relacionado com o acréscimo no teor de compostos antioxidantes, tais como as vitaminas e os polifenóis, o que também foi observado no presente estudo, onde a maior correlação encontrada foi entre a capacidade antioxidante e fenóis totais ($r = 0,93$, $p < 0,0001$) (Tabela 3).

Tabela 3 - Coeficientes de correlação de Pearson e valores de p entre as variáveis dependentes. UFPel, Pelotas, 2013/14

Variáveis dependentes	Clorofila <i>a</i>	Clorofila <i>b</i>	Clorofila total	Carotenoides totais	Fenóis totais	Capacidade antioxidante
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
(1)	1,000	0,955* <0,0001**	0,981 <0,0001	0,785 <0,0001	0,794 <0,0001	0,709 0,0007
(2)		1,000	0,994 <0,0001	0,858 <0,0001	0,834 <0,0001	0,704 0,0008
(3)			1,000	0,841 <0,0001	0,829 <0,0001	0,708 0,0007
(4)				1,000	0,840 <0,0001	0,662 0,0008
(5)					1,000	0,929 <0,0001
(6)						1,000

* Coeficiente de correlação de Pearson. ** Valor de p .

SEÇÃO EXPERIMENTAL

Procedimentos gerais experimentais

Reagentes

β -caroteno, reagente Folin-Ciocalteu, ácido gálico, 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH), ácido 2-carboxílico 6-hidroxi 2,5,7,8-tetrametilcromano (Trolox) e os ácidos caproico, caprílico, cáprico, caproleico, láurico, dodecenoico, mirístico, miristoleico, palmítico, palmitoleico, margárico, heptadecenoico, esteárico, oleico, linoleico, linolênico, araquídico, gadoleico, eicosadienoico, eicosadienoico, eicosatrienoico, tetraenoico, lignocérico e nervônico foram adquiridos da Sigma-Aldrich, St. Louis, EUA. Os reagentes utilizados nas análises espectrofotométricas e cromatográficas foram de grau HPLC e, para as demais análises utilizaram-se reagentes com grau de pureza para análise (p.a.).

Amostras

As sementes de painço safras 2012/13 e 2013/14 foram adquiridas de produtor comercial localizado no município Novo Machado (27°34'37"S, 54°30'14"O e altitude de 232 m) na Região Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (RS), Brasil. O clima da região conforme a classificação de Köppen, Geiger ³⁵ é do tipo Cfa, subtropical úmido. A temperatura e a precipitação média anuais são de 20,3 °C e 1.742 mm, respectivamente. O solo da região é classificado como Latossolo Vermelho distroférico típico³⁶.

As sementes foram acondicionadas em sacos plásticos opacos com capacidade de 30 L, transportadas ao Laboratório de Cromatografia da Universidade Federal de Pelotas (UFPeI), Campus Capão do Leão, RS e mantidas sob refrigeração a 10 °C até o momento da realização do experimento. Inicialmente, realizou-se uma triagem manual das sementes, a fim de remover sementes danificadas e materiais estranhos. Em seguida, as sementes utilizadas foram higienizadas por imersão em hipoclorito de sódio 1% por três minutos e posteriormente lavadas com água destilada, conforme recomendação das Regras para Análise de Sementes - RAS (BRASIL, 2009). Posteriormente, foi verificada a qualidade das mesmas, a partir de testes de germinação e vigor. O teste de germinação foi conduzido no Laboratório de Análise de Sementes (LDAS/UFPeI), com quatro repetições de duzentas sementes (duas sub amostras de 100 sementes), distribuídas em caixas tipo gerbox sobre duas folhas de papel germitest, umedecidos com água destilada (equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco), colocadas no germinador regulado com temperatura constante de 25 °C (± 2),

umidade relativa do ar de 80 % (± 5) e luminosidade de 24 horas. As contagens foram realizadas aos três e sete dias após a instalação do teste, de acordo com os critérios estabelecidos nas RAS ³⁷, computando-se o percentual de plântulas normais. O teste de vigor consistiu na primeira contagem do teste de germinação, ao terceiro dia após a instalação do experimento, registrando o percentual de plântulas normais, segundo as recomendações das RAS ³⁷.

Brotos

O experimento foi instalado na Estação Experimental Terras Baixas da Embrapa Clima Temperado, no município de Capão do Leão, RS. O delineamento experimental foi completamente casualizado, arranjado em esquema bifatorial, com três repetições. Ao fator A foi atribuído a safra (2012/13 e 2013/14) e ao fator B, os tempos de germinação (0, 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a germinação). As sementes foram desinfestadas por imersão em hipoclorito de sódio 1% por três minutos, lavadas com água destilada conforme recomendação das RAS (BRASIL, 2009) e distribuídas uniformemente em caixas tipo gerbox contendo duas folhas de papel germitest, umedecidos com água destilada (equivalente a 2,5 vezes a massa do papel seco). Em seguida, as caixas foram acondicionadas em germinador nas mesmas condições estabelecidas no teste de germinação.

As coletas dos germinados foram efetuadas 24, 48, 72, 96 e 120 horas após a germinação, além do controle, sem germinar (0 hora). Foi considerada a protrusão da radícula como indicador da germinação e como forma de padronizar a coleta. Tanto as amostras de sementes de painço não germinadas (controle) quanto às correspondentes aos diferentes tempos de germinação foram maceradas em moinho de bola (Marconi, MA 350) até adquirirem aspecto de farinha e pasta, respectivamente, objetivando assim, homogeneizar a amostra. As amostras foram armazenadas em sacos plásticos identificados e mantidos em ultrafreezer (- 80 °C) até o momento da realização das análises.

Caracterização das sementes e brotos

Composição centesimal

A composição centesimal das sementes de painço foi determinada conforme descrito por AOAC^{38, 39}.

Perfil de ácidos graxos

Foi determinado o perfil de ácidos graxos das sementes, para isso, realizou-se a extração de lipídios a frio conforme descrito por Bligh, Dyer⁴⁰. Após a extração, a análise de ácidos graxos foi realizada segundo método descrito por Hartman, Lago⁴¹, adicionando à amostra 500 µL de KOH 0,1 N, que permaneceu em banho-maria (60 °C por 2 horas). Após a amostra esfriar, foi adicionado na mesma, 1,5 mL de H₂SO₄ 1 mol.L⁻¹, e posteriormente levadas novamente ao banho-maria (60 °C a 2 horas). Após o resfriamento da amostra, acrescentou-se 2 mL de hexano, com posterior agitação dos tubos e coleta de 1 mL da fase de hexano, que contém os ésteres metílicos de ácidos graxos. Foi injetado 1 µL desta fase em cromatógrafo gasoso-CG (*Perkin Elmer Clarus500*), provido com detector FID, coluna capilar (Phenomenex) com fase líquida constituída de 5 % de fenil e 95 % de dimetilpolisiloxano e com dimensões 15 m x 0,32 mm x 0,1 µm. Os dados foram adquiridos e processados com auxílio do *software Clarus 500*. Utilizou-se gradiente de temperatura, com temperatura inicial da coluna de 90 °C, mantida por 1 minuto; após, passar para 160 °C com incremento linear de 12 °C min⁻¹, mantida por 3,5 minutos; seguindo a 190 °C com incremento linear de 1,2 °C min⁻¹; e finalmente a 230 °C com incremento linear de 15 °C min⁻¹, mantida por 15 minutos. O injetor e o detector foram mantidos na temperatura de 230 °C e 240 °C, respectivamente. Utilizou-se o nitrogênio como gás de arraste a 1,5 mL m⁻¹. Os ácidos graxos foram identificados pela comparação com os tempos de retenção dos padrões de ésteres metílicos contendo os ácidos caproico, caprílico, cáprico, caproleico, láurico, dodecenoico, mirístico, miristoleico, palmítico, palmitoleico, margárico, heptadecenoico, esteárico, oleico, linoleico, linolênico, araquídico, gadoleico, eicosadienoico, eicosadienoico, eicosatrienoico, tetraenoico, lignocérico e nervônico. O teor de cada ácido graxo nas amostras foi calculado de acordo com a área de

cada um dos picos obtidos nos cromatogramas, multiplicadas por 100 e dividido pela área total de ácidos graxos da amostra, sendo os resultados expressos em percentagem.

As demais análises descritas abaixo foram realizadas para as amostras referentes aos diferentes tempos de germinação de painço nas duas safras.

Clorofilas

O teor de clorofila foi determinado com amostras de 1 g maceradas em um almofariz em presença de 5 mL de acetona a 80 % (v/v). O material foi centrifugado a 10.000 *rpm* por 10 minutos e o sobrenadante transferido para balão volumétrico de 20 mL, completando-se esse volume com acetona a 80 % (v/v). Os teores de clorofila *a*, *b*, totais (*a+b*) foram calculados pelo uso das fórmulas de Lichtenthaler⁴² a partir da absorbância da solução obtida por espectrofotometria (Jenway, 6700) a 647 e 663 nm. Os resultados foram expressos em mg g⁻¹ de massa seca (MS) de semente e broto.

Carotenoides totais

O teor de carotenoides totais foi determinado a partir do método da AOAC 970.64⁴³, com modificações. Um grama de amostra fresca foi macerada e homogeneizada com 15 mL de solvente extrator (hexano:etano:acetona:tolueno, na proporção 10:6:7:7), em seguida, adicionou-se 1 mL de KOH 10 % (v/v) e procedeu-se a uma rápida homogeneização, submetendo-a ao aquecimento em banho-maria (56 °C por 20 minutos). Depois de removida do banho, a amostra permaneceu a temperatura ambiente por 1 hora. Alíquotas de 15 mL de hexano foram adicionadas aos frascos e os mesmos foram aferidos a 50 mL com Na₂SO₄ 10 % (m/v). Posteriormente, foram homogeneizados e mantidos no escuro por 1 hora. Uma alíquota do sobrenadante foi avaliada em espectrofotômetro (Shimadzu, UV-mini 1240) no comprimento de onda de 454 nm. Os resultados foram expressos em mg de β-caroteno por 100 grama de MS de semente e broto.

Fenóis totais

O teor de fenóis totais foi determinado pelo método Folin-Ciocalteu. A extração foi realizada segundo método descrito por Khattak, Zeb, Bibi, Khalil, Khattak,⁴⁴ com modificações. Para essa etapa, três gramas de amostra fresca maceradas em moinho de bola (Marconi, MA 350) foram colocadas em tubos de falcon de 50 mL e diluídas em 20 mL de metanol, sob agitação por 20 minutos.

Posteriormente, os extratos foram centrifugados a 7.000 *rpm* durante 15 minutos. Para a etapa de reação dos fenóis totais foi retirado 0,1 mL do extrato metanólico obtido e foram adicionados 0,4 mL de água ultrapura, 2,5 mL de Folin-Ciocalteu 0,2 molL⁻¹ e 2 mL de carbonato de sódio 7,5 % (m/v). Após duas horas de incubação, a absorbância foi medida contra um branco, em espectrofotômetro a 760 nm ⁴⁵. O teor de fenóis totais foi expresso miligrama de equivalente de ácido gálico (GAE) por grama de MS de semente e broto.

Capacidade antioxidante (DPPH)

A capacidade antioxidante foi determinada através do método do sequestro de radicais livres do DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) adaptado de Moure, Franco, Sineiro, Domínguez, Núñez, Lema ⁴⁶. Uma alíquota de 3,9 mL da solução de DPPH 0,1 molL⁻¹ foi misturada a 0,1 mL do mesmo extrato metanólico usado para avaliação dos compostos fenólicos. Após 60 minutos de incubação, a absorbância da amostra foi medida a 515 nm em espectrofotômetro e os resultados foram expressos em mg de capacidade antioxidante equivalente ao Trolox (TEAC) por grama de MS de semente e broto.

Análise estatística

Os valores atípicos (*outliers*) foram identificados com a plotagem dos resíduos estudentizados externamente (RStudent) “versus” valores preditos (variável Y) e também, pelo gráfico da Distância de Cook. A partir do RStudent, valores que se encontravam fora do intervalo -2 a 2 foram considerados *outliers* e suas observações correspondentes foram removidas do banco de dados ⁴⁷. Os dados obtidos foram analisados quanto à normalidade pelo teste de Shapiro Wilk; à homocedasticidade pelo teste de Hartley; e, a independência dos resíduos por análise gráfica. Para a realização da análise de variância ($p \leq 0,05$) adotou-se o procedimento de modelos lineares generalizados (*proc glm*), estabelecendo o modelo linear de efeitos fixos para safras (anos) e tempos de germinação, conforme segue:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \gamma_j + (\alpha\gamma)_{ij} + \epsilon_{ij}, \text{ em que:}$$

y_{ij} = é o valor observado da j-ésima safra do i-ésimo tempo de germinação;

μ = é a média geral da variável resposta;

α_i = é o efeito fixo do i-ésimo tempo de germinação;

γ_j = é o efeito fixo da j-ésima safra;

(α)_{ij} = é o efeito fixo da interação da j-ésima safra com o i-ésimo tempo de germinação;

ϵ_{ij} = é i erro aleatório associado à observação ij.

Constatando-se significância estatística, os efeitos das safras foram comparados pelo teste t ($p \leq 0,05$). Quando presente a interação dos fatores de tratamento, os intervalos de confiança a 95% foram plotados no gráfico e as diferenças foram consideradas significativas quando não houve sobreposição entre as barras verticais. Os efeitos dos tempos de germinação foram avaliados por modelos de regressão não linear ($p \leq 0,05$), conforme segue:

$y = ae^{bx}$, onde: y = variável resposta de interesse; a = valor máximo estimado para a variável resposta; b = inclinação da curva; x = tempo de germinação (horas); e = constante. A presença de correlações entre as variáveis dependentes do estudo foi analisada através do coeficiente de correlação de Pearson (SAS Institute, 2002).

INFORMAÇÕES SOBRE O AUTOR

Autores correspondentes

(S. D. S. da Silva) Tel: +55 81093509 E-mail: scharlisediovanella@gmail.com

Nota

Os autores declaram não haver interesses financeiros concorrentes.

AGRADECIMENTOS

Esta pesquisa foi financiada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

REFERÊNCIAS

- (1) USDA. United States Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service (NRCS). Online Database. Laboratory, Beltsville, Maryland. Disponível em: <<http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=LIUS/>> Acesso em: 26 set. 2013.
- (2) IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Mundial – Culturas temporárias e Permanentes. 2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010_Publicacao_completa.pdf/>. Acesso em: 23 de agosto de 2014.
- (3) FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Production of cereals and share in world. 2012. Disponível em: <<http://www.fao.org/statistics>> Acesso em: 23 agosto de 2014.
- (4) Carvalho, N.M.; Nakagawa, J. Sementes: ciência, tecnologia e produção. 4. ed. Jaboticabal: Funep, 2000. 588 p.

- (5) Mwikya, S. M.; Camp, J. V.; Rodriguez, R.; Huyghebaert, A. Effects of sprouting on nutrient and antinutrient composition of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* var. Rose coco). European Food Research Technology, **2001**; 212, 188–191.
- (6) Frias, J.; Miranda, M. L.; Doblado, R.; Vidal-Valverde, C. Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa. Food Chemistry, **2005**; 92, Chapter 2, 211–220.
- (7) Fernandez-Orozco, R.; Frias, J.; Zielinski, H.; Piskula, M. K.; Kozłowska, H.; Vidal-Valverde, C. Kinetic study of the antioxidant compounds and antioxidant capacity during germination of *Vigna radiata* cv. emmerald, *Glycine max* cv. jutro and *Glycine max* cv. Merit. Food Chemistry, **2008**; 111, 3, 622–630.
- (8) Moongngarm, A.; Saetung, N. Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. Food Chemistry, **2010**; 122, 782–788.
- (9) Kim, S. L.; Lee, J. E.; Kwon, Y. U.; Kim, W. H.; Jung, G. H.; Kim, D. W.; Lee, C. K.; Lee, Y. Y.; Kim, M. J.; Kim, Y. H.; Hwang, T. Y.; Chung, I. M. Introduction and nutritional evaluation of germinated soy germ. Food Chemistry, January **2013**; 136, 491–500.
- (10) Pająk, P.; Socha, R.; Gałkowska, D.; Rożnowski, J.; Fortuna, T. Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. Food Chemistry, **2014**; 143, 300–306.
- (11) Dinstel, R. R.; Cascio, J.; Koukel, S. The antioxidant level of Alaska's wild berries: high, higher and highest. Int J Circumpolar Health, **2013**; 72, 796–802.
- (12) Bau, H. M. et al. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture, **1997**; 73, 1–9.
- (13) Paucar-Menacho, L. M.; Berhow, M. A.; Mandarino, J. M. G.; Chang, Y. K.; de Mejia, E. G. Effect of time and temperature on bioactive compounds in germinated Brazilian soybean cultivar BRS 258. Food Research International, **2010**; 43, 1856–1865.
- (14) Egli, D.; TeKrony, D.; Heitholt, J. Air temperature during seed filling and soybean germination and vigor. Crop Science, **2005**; 45, 1329–1335.
- (15) Gloria, B.; Tavares-Neto, J.; Labanca, R. Influence of cultivar and germination on bioactive amines in soybean (*Glycine max* L. Merrill). Journal of Agricultural and Food Chemistry, **2005**; 53, 7480–7485.
- (16) Wuebker, E.; Mullen, R.; Hoelher, K. Flooding and temperature effects on soybean germination. Crop Science, **2001**; 41, 1857–1861.
- (17) BRASIL. Portaria nº 381, de 05 de Agosto de 1998. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 06 ago. **1998**, Seção 1, p.43.
- (18) Harris, H. M.C.; William, M. C.; Mason, R. 1978. Influence of temperature on oil content and composition of sunflower seed. Australian Journal of Agricultural Research, **1978**; 29, 1203–1212.
- (19) FAO. Sorghum and millets in human nutrition. Rome: FAO, **1995**.
- (20) Chaves, N. Nutrição Básica e Aplicada. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, **1978**; Cap. 4-5, 35–84.
- (21) Lajara, J.; Diaz, U.; Quidiello, R. Definite influence of location and climatic conditions on the fatty acid composition of sunflower seed oil. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1990; 67, 618–623.

- (22) Otten, J. J.; Hellwig, J. P.; Meyers, L. D. Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements. National Academies Press, United States of America, **2006**.
- (23) Seiferman-Harms, D. The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. *Physiology Plantarum*, **1987**; 69, 561-568.
- (24) Gross, J. Pigments in fruits. London: Academic Press, **1987**; 75-138.
- (25) Bartley, G. E.; Scolnik, P. A. Carotenóides de plantas: pigmentos para fotoproteção, atração visual, e na saúde humana. *Plant Cell*. Julho **1995**; 7, Chapter 7, 1027-1038.
- (26) Oliver, J.; Palou A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. *Journal of Chromatography A*, **2000**; 881, 543-555.
- (27) Landrum, J. T.; Bone, R. A. Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **2001**; 385, Chapter 1, 28-40.
- (28) Silva, S. R.; Mercadante, A. Z. Composição de carotenóides de maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*) in natura. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, **2002**; 22, 254-258.
- (29) Dueñas, M.; Hernández, T.; Estrella, I.; Fernández, D. Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). *Food Chemistry*, **2009**; 117, 599-607.
- (30) Paško, P.; Bartoń, H.; Zagrodzki, P.; Gorinstein, S.; Folta, M.; Zachwieja, Z. Anihocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry*, **2009**; 115, 994-998.
- (31) Pérez-Balibrea, S.; Moreno, D. A.; García-Viguera, C. Genotypic effects on the phytochemical quality of seeds and sprouts from commercial broccoli cultivars. *Food Chemistry*, **2011**; 125, 348-354.
- (32) Amorim, H. V. The effect of nitrogen and carbohydrate on production of phenols by plant cell cultures. Ohio, Dissertação – The Ohio University, **1970**. 55.
- (33) Meng, J.-F.; Fang, Y.-L.; Qin, M.-Y.; Zhuang, X.-F.; Zhang, Z.-W. Varietal differences among the phenolic profiles and antioxidant properties of four cultivars of spine grape (*Vitis davidii* Foex) in Chongyi County (China). *Food Chemistry*, **2012**; 134, 2049-2056.
- (34) Martinez-Villaluenga, C.; Peñas, E.; Ciska, E.; Piskula, M. K.; Kozłowska, H.; Vidal-Valverde, C. Time dependence of bioactive compounds and antioxidant capacity during germination of different cultivars of broccoli and radish seeds. *Food Chemistry*, **2010**; 120, 710-716.
- (35) Köppen, W.; Geiger, R. *Klimate der Erde*. Gotha: Verlag Justus Perthes. **1928**. Wall-map 150cmx200cm.
- (36) EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Solos (CNPS). Sistema Brasileiro de Classificação de Solos. 2a ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos. **2006**; 412.
- (37) BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Regras para análise de sementes / Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. – Brasília : Mapa/ACS, **2009**; 399.
- (38) AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 16^a ed. Official Methods of Analysis. Arlington, **1995**.
- (39) AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 17^a ed. Official Methods of Analysis. Arlington, **2005**.
- (40) Bligh, E.G.; Dyer, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal Biochemistry and Physiology*, **1959**; 37, 911-917.

- 526 (41) Hartman, L; Lago, B.C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids.
527 Laboratory Practice, **1973**; 22, 475-477.
- 528 (42) Lichtenthaler, H. K. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic
529 biomembranes. In: COLOWICK, S. P.; KAPLAN, N. O. Methods in enzymology. San
530 Diego: Academic Press, **1987**. 350-382.
- 531 (43) AOAC, Official methods of analysis of the Association of Official Analytical
532 Chemists 17th Edition AOAC International, Gaithersburg MD. **2000**.
- 533 (44) Khattak, A. B.; Zeb, A.; Bibi, N.; Khalil, S. A.; Khattak, M. S. Influence of
534 germination techniques on phytic acid and polyphenols content of chickpea (*Cicer*
535 *arietinum* L.) sprouts. Food Chemistry, **2007**; 104, 1074–1079.
- 536 (45) Meda, A.; Lamien, C. E.; Romito, M.; Millogo, J.; Nacoulma, O.G.
537 Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan
538 honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chemistry, **2005**; 91, 571–
539 577.
- 540 (46) Moure, A.; Franco, D.; Sineiro, J.; Domínguez, H.; Núñez, J.M.; Lema, J.M.
541 Antioxidant activity of extracts from *Gevuina avellana* and *Rosa rubiginosa* defatted
542 seeds. Food Research International, **2001**; 34 , 103–109.
- 543 (47) Rousseeuw, P. J.; Leroy, A.M. Robust Regression and Outlier Detection, Ed.
544 John Wiley & Sons, New York, **1987**.
- 545 (48) Barnett, V.; Lewis, T. Outliers in Statistical Data, 3rd Edition, John Wiley &
546 Sons, New York, **1994**.

7 Considerações Finais

A composição centesimal das sementes varia em função da espécie. A semente de linhaça apresentou maior percentual de lipídios em comparação com a semente de painço. O ácido graxo majoritário na linhaça foi o linolênico, enquanto que os ácidos palmítico, palmitoleico, linoleico e araquídico foram os principais no painço. Houve diferença entre linhaça e painço, em clorofilas, carotenoides totais, fenóis totais e capacidade antioxidante nos tempos 72, 96 e 120 horas após a germinação.

A composição centesimal da semente também variou em função da safra. O ácido graxo majoritário na semente de painço foi o linoleico, no entanto, foram encontradas diferenças significativas nos teores de ácidos graxos entre as safras, o que decorre das condições climáticas características de cada ano. Houve aumento nos teores de carotenoides totais, compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante em função do tempo de germinação nas duas safras consecutivas.

As sementes germinadas de linhaça e painço contêm diversos compostos que podem ser benéficos à saúde, como alguns carotenoides, compostos fenólicos, o que potencializa a capacidade antioxidante das mesmas. Portanto, o consumo de germinados de linhaça e painço pode ser uma boa alternativa para aumentar o fornecimento destes compostos na dieta humana.

8 Referências

ABDELRAHAMAN, S.M.; ELMAKI, H.B.; IDRIS, W.H.; HASSAN, A.B.; BABIKER, E.E.; EL TINAY, A.H. Antinutritional factor content and hydrochloric acid extractability of minerals in pearl millet cultivars as affected by germination. **International Journal of Food Science and Nutrition**, v.58, p.6-17, 2007.

ABDUL-BAKI, A.A. Biochemical aspects of seed vigor. **Horticultural Science**, v.5, p.765, 1980.

AMBROSANO, E.J.; AMBROSANO, R.B.; WUTKE, E.B.; BULISANI, E. A.; ROSSI, F.; GUIRADO, N.; ROS, F.B.; MENDES, P.C.D.; BATELOCHI, L.R. Produção de brotos comestíveis: feijão-mungo (*Vigna radiata*). In: **Anais da III Feira da Pequena Agroindústria**, Serra Negra – SP, 26 a 28 de junho, p.125 – 135, 2003.

AMORIM, H.V. **The effect of nitrogen and carbohydrate on production of phenols by plant cell cultures**. Ohio, Dissertação – The Ohio University, p.55, 1970.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 16th. **Official Methods of Analysis**. Arlington, 1995.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 17th. **Official Methods of Analysis**. Arlington, 2005.

AOAC, ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. 17th. **Official Methods of Analysis**. Gaithersburg MD. 2000.

BARNETT, V.; LEWIS, T. **Outliers in Statistical Data**, 3rd Edition, John Wiley & Sons, New York, 1994.

BARTLEY, G.E.; SCOLNIK, P.A. Carotenóides de plantas: pigmentos para fotoproteção, atração visual, e na saúde humana. **Plant Cell**. v.7, Chapter 7, p.1027-1038, julho 1995.

BAU, H.M. et al. Effect of germination on chemical composition, biochemical constituents and antinutritional factors of soya bean (*Glycine max*) seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.73, p.1-9, 1997.

BAUER, J.; WALKER, C.; BOOER, C. Of pseudocereals and roasted rice, the quest for gluten-free brewing materials. **Brewer Distiller**, v.4, p.24-26, 2005.

BEWLEY, J.D.; HEMPEL, F.D.; MCCORMICK, S.; ZAMBRYSKI, P. Reproductive development. In: BUCHANAN, B.B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. (Eds.), **Biochemistry and molecular biology of plants**. Rockville, MD: Courier Companies, p.988-1043, 2001.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

BORDINGNON, J.R.; IDA, E.L.; OLIVEIRA, M.C.N.; MANDARINO, J.M.G. Effect of germination on the protein content and on the level of specific activity of lipoxygenase-1 in seedlings of three soybean cultivars. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.45, p.222-226, 1995.

BOZAN, B.; TEMELLI, F. Chemical composition and oxidative stability of flax, safflower and poppy seed and seed oils. **Bioresource Technology**, 99, Issue, v.14, p.6354–6359, 2008.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel – Wissenschaft und Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.

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

BRASIL. **Portaria nº 381, de 05 de Agosto de 1998**. Diário Oficial da União, Brasília, DF, Seção 1, p.43, 06 ago. 1998.

BURTON, G. W.; INGOLD, K. U. β -Carotene: An unusual type of lipid antioxidant. **Science**, 224, p. 569–573, 1984.

CARVALHO, N.M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4. ed. Jaboticabal: Funep, p.588, 2000.

CASTRO, P.R.C.; KLUGUE, R.A.; PERES L.E.P. **Manual de fisiologia vegetal: teoria e prática**. Piracicaba: Editora Agronômica Ceres, p.650, 2005.

CAZZONELLI, C. I. Carotenoids in nature: Insights from plants and beyond. **Functional Plant Biology**, 38, p. 833–847, 2011.

CHAVES, N. **Nutrição Básica e Aplicada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, Cap. 4-5, p.35-84, 1978.

CEVALLOS-CASALS, B.A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. **Food Chemistry**, v.119, p.1485-1490, 2010.

COSKUNER, Y.; KARABABA, E. Some physical properties of flax seed (*Linum usitatissimum* L.). **Journal of Food Engineering**, v.78, p.1067-1073, 2007.

DAUN, J.K.; BARTHET, V.J.; CHORNICK, T.L.; DUGUID, S. Structure, composition, and variety development of flaxseed In: Thompson LU, Cunnane SC. (Eds.). Flaxseed in Human Nutrition. 2. ed. **Champaign**: AOCS Press; p.1-40, 2003.

DAVIDSON, A. **The Oxford Companion of Food**. Oxford, U.K.: Oxford University Press, p.454-455, 1999.

DEVISETTI, R.; YADAHALLY, S.N.; BHATTACHARYA, S. Nutrients and antinutrients in foxtail and proso millet milled fractions: Evaluation of their flour functionality. **LWT – Food Science and Tecnology**, In Press, Accepted Manuscript – Note to users, 2014.

DINSTEEL, R.R.; CASCIO, J.; KOUKEL, S. The antioxidant level of Alaska's wild berries: high, higher and highest. **International Journal of Circumpolar Health**, v.72, p.796–802, 2013.

DORREL, D.G. Distribution of fatty acids within the seed of flax. **Canadian Journal of Plant Science**, v.50, p.71–75, 1970.

DUEÑAS, M.; HERNÁNDEZ, T.; ESTRELLA, I.; FERNÁNDEZ, D. Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). **Food Chemistry**, v.117, p.599–607, 2009.

DUQUE, F.F.; SOUTO, S.M.; ABOUD, A.C. Mungo, proteína em forma de broto de feijão. **A Lavoura**, v.90, p.21-23, 1987.

EGLI, D.B.; TEKRONY, D.M. Species differences in seed water status during seed maturation and germination. **Seed Science Research**, v.7, p.3-11, 1997.

EGLI, D.; TEKRONY, D.; HEITHOLT, J. Air temperature during seed filling and soybean germination and vigor. **Crop Science**, v.45, p.1329–1335, 2005.

ELLIS, R.; ELLIS, R.H.; COVELL, S.; ROBERTS, E.H.; SUMMERFIELD, J. The influence of temperature on seed germination rate in grain legumes. II. Intraspecific variation in chickpea (*Cicer arietinum* L.) at constant temperatures. **Journal of Experimental Botany**, v.37, p.1503-1515, 1986.

ELLIS, R.H.; BARRETT, S. Alternating temperatures and rate of seed germination in lentil. **Annals of Botany**, v.74, p.519-524, 1994.

EMBRAPA - Centro Nacional de Pesquisa de Solos (CNPS). **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2^a ed. Rio de Janeiro, Embrapa Solos. p.412, 2006.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Production of cereals and share in world. 2012. Disponível em: <<http://www.fao.org/statistics>> Acesso em: 23 ago. de 2014.

FAO. **Sorghum and millets in human nutrition**. Rome: FAO, 1995.

FERNANDEZ-OROZCO, R.; FRIAS, J.; ZIELINSKI, H.; PISKULA, M.K.; KOZLOWSKA, H.; VIDALVALVERDE, C. Kinetic study of the antioxidant compounds and antioxidant capacity during germination of *Vigna radiata* cv. Emerald, *Glycine max* cv. Jutro and *Glycine max* cv. Merit. **Food Chemistry**, v.111, p.622-630, 2008.

FLOSS, E.L. **Linho Cultivo e Utilização**. Passo Fundo: Faculdade de Agronomia. Universidade de Passo Fundo, 1983. (Boletim Técnico, n. 3).

FRIAS, J.; MIRANDA, M.L.; DOBLADO, R.; VIDAL-VALVERDE, C. Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa. **Food Chemistry**, v.92, p.211–220, 2005.

GLORIA, B.; TAVAREZ-NETO, J.; LABANCA, R. Influence of cultivar and germination on bioactive amines in soybean (*Glycine max* L. Merrill). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v..53, p.7480–7485, 2005.

GOH, K.K.T.; YE, A.; DALE, N. Characterisation of ice cream containing flaxseed oil. **International Journal of Food Science and Technology**, v.41, p.946-953, 2006.

GROSS, J. **Pigments in fruits**. London: Academic Press, p.75-138, 1987.

HARRIS, H.M.C.; WILLIAM, M.C.; MASON, R. 1978. Influence of temperature on oil content and composition of sunflower seed. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 29, p.1203-1212, 1978.

HARTMAN, L; LAGO, B.C.A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. **Laboratory Practice**, v.22, p.475-477, 1973.

HUNG, P.V.; HATCHER, D.W.; BARKER, W. Phenolic acid composition of sprouted wheats by ultra-performance liquid chromatography (UPLC) and their antioxidant activities. **Food Chemistry**, v.126, p.1896-1901, 2011.

HUSSAIN, S.; ANJUM, F.M.; BUTT, M.S.; KHAN, M.I.; ASGHAR, A. Physical and sensoric attributes of flaxseed flour supplemented cookies. **Turkish Journal of Biology**, v.30, p.87-92, 2006.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agrícola Mundial – Culturas temporárias e Permanentes.2010. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pam/2010/PAM2010_Publicacao_completa.pdf/>. Acesso em: 23 agot. 2014.

KHATTAK, A.B.; ZEB, A.; BIBI, N.; KHALIL, S.A.; KHATTAK, M.S. Influence of germination techniques on phytic acid and polyphenols content of chickpea (*Cicer arietinum* L.) sprouts. **Food Chemistry**, v.104, p.1074–1079, 2007.

KIM, S.L.; LEE, J.E.; KWON, Y.U.; KIM, W.H.; JUNG, G.H.; KIM, D.W.; LEE, C.K.; LEE, Y.Y.; KIM, M.J.; KIM, Y.H.; HWANG, T.Y.;CHUNG, I.M. Introduction and nutritional evaluation of germinated soy germ. **Food Chemistry**, v.136, p.491–500, 2013.

KÖPPEN, W.; GEIGER, R. **Klimate der Erde**. Gotha: Verlag Justus Perthes. Wall-map 150cmx200cm, 1928.

LAJARA, J.; DIAZ, U.; QUIDIELLO, R. Definite influence of location and climatic conditions on the fatty acid composition of sunflower seed oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.67, p.618–623, 1990.

LANDRUM, J.T.; BONE, R.A. Lutein, zeaxanthin, and the macular pigment. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v.385, Chapter 1, p.28-40, 2001.

LEE, J.; HWANG, Y.-S.; LEE, J.-D.; CHANG, W.-S.; CHOUNG, M.-G. Metabolic alterations of lutein, b-carotene and chlorophyll a during germination of two soybean sprout varieties. **Food Chemistry**, 141, p. 3177–3182, 2013.

LICHTENTHALER, H.K. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. In: COLOWICK, S. P.; KAPLAN, N. O. **Methods in enzymology**. San Diego: Academic Press, p.350-382, 1987.

LIMA, E.V. **Plantas de cobertura e calagem superficial na fase de implantação do sistema de plantio direto em região de inverno seco**. 2004. 123f. Tese (Doutorado em Agronomia/Agricultura). Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

MANTHEY, F.A.; LEE, R.E.; HALL III, C.A. Processing and cooking effects on lipid content and stability of α -linolenic acid in spaghetti containing ground flaxseed. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.1668-1671, 2002.

MAPA. Ministério da Agricultura e Pecuária. Pesquisa de Cultivares Registradas no RNC. 2001. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/php/snpc/cultivarweb/cultivares_registradas.php/>. Acesso em: 04 out. 2013.

MARCOS FILHO, J. **Fisiologia de sementes de plantas cultivadas**. Piracicaba: Fealq, p.495, 2005.

MARTINEZ-VILLALUENGA, C.; PEÑAS, E.; CISKÁ, E.; PISKULA, M.K.; KOZŁOWSKA, H.; VIDAL-VALVERDE, C.; FRIAS, J. Time dependence of bioactive compounds and antioxidant capacity during germination of different cultivars of broccoli and radish seeds. **Food Chemistry**, v.120, p.710-716, 2010.

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

MEDA, A.; LAMIEN, C.E.; ROMITO, M.; MILLOGO, J.; NACOULMA, O.G. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry**, v.91, p.571–577, 2005.

MENG, J.F.; FANG, Y.L.; QIN, M.Y.; ZHUANG, X.F.; ZHANG, Z.W. Varietal differences among the phenolic profiles and antioxidant properties of four cultivars of spine grape (*Vitis davidii* Foex) in Chongyi County (China). **Food Chemistry**, v.134, p.2049–2056, 2012.

MOONGNGARM, A.; SAETUNG, N. Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. **Food Chemistry**, v.122, p.782–788, 2010.

MOURE, A.; FRANCO, D.; SINEIRO, J.; DOMÍNGUEZ, H.; NÚÑEZ, J.M.; LEMA, J.M. Antioxidant activity of extracts from *Gevuina avellana* and *Rosa rubiginosa* defatted seeds. **Food Research International**, v.34, p.103–109, 2001.

MUIR, A.D.; WESTCOTT, N.D. Quantitation of the lignan secoisolariciresinol diglucoside in baked goods containing flax seed or flax meal. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.4048–4052, 2000.

MWIKYA, S.M.; CAMP, J.V.; RODRIGUEZ, R.; HUYGHEBAERT, A. Effects of sprouting on nutrient and antinutrient composition of kidney beans (*Phaseolus vulgaris* var. Rose coco). **European Food Research Technology**, v. 212, p.188–191, 2001.

NEPA-UNICAMP. Tabela brasileira de composição de alimentos: TACO. 4.ed., Campinas: NEPA-UNICAMP, 2011. Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco/>>. Acesso em: 25 agost. 2014.

NUSS, E.T.; TANUMIHARDJO, S.A. Maize: a paramount staple crop in the context of global nutrition. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v.9, p.417–436, 2010.

OLIVER, J.; PALOU, A. Chromatographic determination of carotenoids in foods. **Journal of Chromatography A**, 2000; v.881, p.543–555.

OLOYO, R.A. Chemical and nutritional quality changes in germinating seeds of *Cajanus cajan* L. **Food Chemistry**, v.85, p.497-502, 2004.

OOMAH, B.D. Flaxseed as a functional food source. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.81, p.889-894, 2001.

OOMAH, B.D.; KENASCHUK, E.O.; MAZZA, G. Tocopherols in flaxseed. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p.2076-2080, 1997.

OOMAH, B.D.; MAZZA, G. Flaxseed proteins - a review. **Food Chemistry**, v.48, p. 109-114, 1993.

OOMAH, B. D.; DER, T. J.; GODFREY, D. V. Thermal characteristics of flaxseed (*Linum usitatissimum* L.) proteins. **Food Chemistry**, v.98, p.733–41, 2006.

OOMAH, B.D.; MAZZA, G. Productos de linaza para la prevención de enfermedades. In: MAZZA G, coordinador. **Alimentos funcionales: aspectos bioquímicos y de procesado**. Acribia: Zaragoza, Espanha, p.457, 2000.

OTTEN, J.J.; HELLWIG, J.P.; MEYERS, L.D. Dietary Reference Intakes: The Essential Guide to Nutrient Requirements. **National Academies Press**, United States of America, 2006.

PAJAŁ, P.; SOCHA, R.; GAŁKOWSKA, D.; ROŻNOWSKI, J.; FORTUNA, T. Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. **Food Chemistry**, v.143, p.300-306, 2014.

PARAMESWARAN, K.P.; SADASIVAM, S. Changes in the carbohydrates and nitrogenous components during germination of proso millet, *Panicum miliaceum*. **Plant Foods for Human Nutrition**, v.45, p.97-102, 1994.

PAŚKO, P.; BARTOŃ, H.; ZAGRODZKI, P.; GORINSTEIN, S.; FOŁTA, M.; ZACHWIEJA, Z. Anhocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. **Food Chemistry**, v.115, p.94-998, 2009.

PAUCAR-MENACHO, L.M.; BERHOW, M. A.; MANDARINO, J. M. G.; CHANG, Y. K.; DE MEJIA, E. G. Effect of time and temperature on bioactive compounds in germinated Brazilian soybean cultivar BRS 258. **Food Research International**, v.43, p.1856–1865, 2010.

PÉREZ-BALIBREA, S.; MORENO, D.A.; GARCÍA-VIGUERA, C. Genotypic effects on the phytochemical quality of seeds and sprouts from commercial broccoli cultivars. **Food Chemistry**, v.25 , p.348–354, 2011.

POSSAMAI, T.N. **Elaboração de pão de mel com fibra alimentar proveniente de diferentes grãos, sua caracterização físico-química, microbiológica e sensorial**. 2005. 82f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)-Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

RODRIGUES-AMAYA, D.B. **A guide to carotenoid analysis in foods**. Washington, DC: ILST, p.64, 1999.

ROSE, D.J.; SANTRA, D.K. Proso millet (*Panicum miliaceum* L.) fermentation for fuel ethanol production. **Industrial Crops and Products**, v.43, p.602-605, 2013.

ROUSSEEUW, P.J.; LEROY, A.M. **Robust Regression and Outlier Detection**, Ed. John Wiley & Sons, New York, 1987.

SAS INSTITUTE. SAS user's guide: statistics, version 9.1. Cary: SAS Institute, 2002.

SEIFERMAN-HARMS, D. The light-harvesting and protective functions of carotenoids in photosynthetic membranes. **Physiology Plantarum**, v.69, p.561-568, 1987.

SILVA, S.R.; MERCADANTE, A.Z. Composição de carotenoides de maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*) in natura. **Ciencia e Tecnologia de Alimentos**, v.22, p.254-258, 2002.

SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A.JR., Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v.16, p.144-158, 1965.

SOUZA, R.M. Mogi-Mirim cultiva painço na entressafra. **O Estado de São Paulo/ (Suplemento Agrícola)**. p.3. 2001.

TAYLOR, J.R.N.; SCHOBBER, T.J.; BEAN, S.R. Novel food and non-food uses for sorghum and millets. **Journal of Cereal Science**, v.44, p.252-271, 2006.

TOMM, G.O. **Indicações para o cultivo de linho no Rio Grande do Sul**. Guarani das Missões: Giovelli, 2006. 40p.

TOWO, E.E.; SVANBERG, U.; NDOSSI, G.D. Effect of grain pretreatment on different extractable phenolic groups in cereals and legumes commonly consumed in Tanzania. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.83, p.980-986, 2003.

TRUCOM, C. **A importância da linhaça na saúde**. São Paulo: Alaúde Editorial, p.151, 2006.

USDA.United States Department of Agriculture.National nutrient database for standard reference, Release 20 [citado em 2008 Jun 20]. Disponível em: <<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>>. Acesso em: 25 agost. 2014.

USDA.United States Department of Agriculture.National nutrient database for standard reference, Release 26 [citado em 2013 Set 30].Disponível em: <<http://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list?format=&count=&max=25&sort=&fg=Spices+and+Herbs&man=&facet=&qlookup=&offset=50/>>. Acesso em: 30 agost. 2014b.

USDA.United States Department of Agriculture. Natural Resources Conservation Service (NRCS). Online Database.Laboratory, Beltsville, Maryland. Disponível em: <<http://plants.usda.gov/core/profile?symbol=LIUS/>>. Acesso em: 26 agost. 2014a.

VANDERSTOEP, J. Effect of germination on the nutritive value of legumes. **Food Technology**, v.35, p.83-85, 1981.

VIEIRA, R.F.; NISHIHARA, M.K. Comportamento de cultivares de mungo-verde (*Vigna radiata*) em Viçosa, MG. **Revista Ceres**, v.39, p.60-83, 1992.

VINCI, G.; BOTRÈ, F.; MELE, G.; RUGGIERI, G. Ascorbic acid in exotic fruits: a liquid chromatographic investigation. **Food Chemistry**, v.53, p.211-214, 1995.

WANG, Y.D.; FIELDS, M.L. Germination of corn and sorghum in the home to improve nutritive value. **Journal of Food Science**, v.43, p.1113-1115, 1978.

WUEBKER, E.; MULLEN, R.; HOELHER, K. Flooding and temperature effects on soybean germination. **Crop Science**, v.41 , p.1857–1861, 2001.

YANG, F.; BASU, T.K.; OORAIKUL, B. Studies on germination conditions and antioxidant contents of wheat grain. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.52, p.319-330, 2001.

ZAMBIAZI, R.C. **The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability**.1997. 304f. Tese (Doutorado em Foods and Nutritional) - Sciences Interdepartamental Program. University of Manitoba Winnipeg, Manitoba, Canada.

ZANCANELLA, E.F.; BONATI, J.L.; MARTUCCI, L.M.V. Novos cultivares de painço. 2006. Disponível em:<www.cati.sp.gov.br/novacati/tecnologias/painco/novos_cultivares.htm>. Acesso em: 20 mar. 2014.

ZANCANELLA, E.F.; BONATTI, J.L.; MARTUCCI, L.M.V. **Cultura do painço: informações práticas**. Campinas: CATI, p.4, 2003.

ZARNKOW, M.; BACK, W.; GASTL, M.; ARENDT, E.K. Impact of proso millet (*Panicum miliaceum* L.) varieties on malting quality. **Journal of the American Society of Brewing Chemists**, v.68, p.152-159, 2010.

ZARNKOW, M.; KESSLER, M.; BURBERG, F.; KREISZ, S.; BACK, W. Gluten free beer from malted cereals and pseudocereals. **Proceedings of the European Brewery Convention Congress**, Prague. Fachverlag Hans Carl: Nürnberg, Germany, 2005. 1041-1048. CD-ROM.

ZIELIŃSKI, H.; FRIAS, J.; PISKUŁA, M. K.; KOZŁOWSKA, H.; VIDAL-VALVERDE, C. Vitamin B₁ and B₂, dietary fiber and minerals content of Cruciferae sprouts. **European Food Research and Technology**, v.221, p.78-83, 2005.