

Artigo de Revisão

GERMINAÇÃO DE GRÃOS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DE COMO OS PROCESSOS BIOQUÍMICOS ENVOLVIDOS AFETAM O CONTEÚDO E O PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E SUAS PROPRIEDADES ANTIOXIDANTES

Autores: Gabriela Boscarol Rasera^{1,A}; Ruann Janser Soares de Castro¹

¹Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas
Rua Monteiro Lobato, 80, Campinas - SP, Brasil

Informações do artigo

Palavras Chave:

Germinação; compostos fenólicos; transformações.

Resumo

Germinação é um processo simples e econômico que melhora a qualidade nutricional e funcional dos grãos, como resultado de transformações complexas. As condições ambientais em que os grãos são expostos influenciam diretamente na composição final do broto e, conseqüentemente na sua bioatividade. É possível perceber uma correlação positiva entre o processo de germinação e o teor de compostos fenólicos presentes nos grãos, apesar da explicação para isso ser peculiar para cada processo de germinação. De maneira geral, sabe-se que os compostos fenólicos podem estar presentes nas formas solúvel e insolúvel, sendo que a primeira está normalmente armazenada no vacúolo da planta, e a segunda ligada a macromoléculas, constituindo a estrutura dos grãos. Durante o processo de germinação e conseqüente atuação das enzimas ativadas pela absorção de água, essas duas frações se transformam simultaneamente. A fração solúvel pode se tornar insolúvel devido ao crescimento da radícula e necessidade de formação estrutural e a insolúvel pode ser transformada à solúvel, devido a hidrólise das ligações com as macromoléculas de armazenamento da planta. Dessa forma, a compreensão das diversas vias e conseqüentes resultados se tornam alvo de estudo da literatura. Dentro desse contexto, o objetivo central dessa revisão é apresentar estudos recentes que investigam as alterações promovidas pelo processo de germinação e sua relação com as propriedades antioxidantes de diferentes grãos. Algumas vias bioquímicas para formação de compostos fenólicos já elucidadas foram abordadas, assim como tendências futuras para uso de germinação como um processo para melhoria de propriedades biológicas dos grãos.

^AAutor correspondente

Gabriela Boscarol Rasera – E-mail: gabi_boscarol@hotmail.com – ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3170-4006>

DOI: <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i1.90> - Artigo recebido em: 22 de outubro de 2019 ; aceito em 12 de fevereiro de 2020 ; publicado em 10 de março de 2020. Brazilian Journal of Natural Sciences, Vol. 3, N.1, março 2020. Disponível online a partir de 10 de março de 2020, ISSN 2595-0584. www.bjns.com.br. Todos os autores contribuíram igualmente com o artigo. Os autores declaram não haver conflito de interesse. Este é um artigo de acesso aberto sob a licença CC - BY: <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>

Article ID

Keywords:
Germination;
phenolic compounds;
transformations.

Abstract

Germination is a simple and economical process that improves the nutritional and functional quality of the grains as a result of complex transformations. The environmental conditions in which the grains are exposed directly influence the final composition of the sprout and, consequently, its bioactivity. It is possible to notice a positive correlation between the germination process and the content of phenolic compounds present in the grains, although the explanation for this is peculiar to each germination process. In general, it is known that phenolic compounds can be present in soluble and insoluble forms, the first being normally stored in the plant's vacuole, and the second linked to macromolecules, constituting the grain structure. During the germination process and the consequent action of enzymes activated by water absorption, these two fractions are transformed simultaneously. The soluble fraction can become insoluble due to root growth and the need for structural formation and the insoluble fraction can be transformed into soluble, due to the hydrolysis of the bonds with the plant's macromolecules. In this way, the understanding of the different pathways and the consequent results become a target for studying the literature. Within this context, the main objective of this review is to present recent studies that investigate the changes promoted by the germination process and its relationship with the antioxidant properties of different grains. Some biochemical pathways for the formation of phenolic compounds already elucidated have been addressed, as well as future trends for the use of germination as a process to improve the biological properties of grains.

Introdução

Germinação significa o surgimento de uma nova planta. Isso inclui os eventos fisiológicos desde que as sementes são plantadas até a extensão da radícula que penetra as estruturas próximas. A absorção de água inicia as atividades metabólicas e celulares do grão. Temperatura, luz, umidade e tempo são fatores responsáveis para a transição do estado de dormência para metabolismo ativo por meio das enzimas hidrolíticas endógenas e a ativação de hormônios. Enzimas hidrolíticas iniciam a degradação de macromoléculas de armazenamento como carboidratos, proteínas e lipídios para gerar os produtos necessários para o desenvolvimento e crescimento da planta. Como dito anteriormente, a germinação é visualmente detectada com o aparecimento da radícula que aumenta o consumo de oxigênio e água, como consequência das necessidades para o crescimento da radícula (Bewley, 1997; Nonogaki & Nonogaki, 2017).

É importante a compreensão, de que durante a

germinação, mudanças fitoquímicas são extensas, como resultado de um fluxo dinâmico e complexo de nutrientes, incluindo remobilização, degradação e acúmulo dos mesmos (Nelson et al., 2013). Como consequência, mudanças bioquímicas e nutricionais importantes acontecem nos grãos, modificando as características dos mesmos (Gan et al., 2017). Como resultado desse processo dinâmico, a diversidade da composição e, conseqüentemente, a composição da atividade biológica, são específicas para cada grão (Pauca-Menacho et al., 2010).

Compostos bioativos são encontrados em frutas, vegetais e grãos, e, apresentam efeitos em células específicas do corpo, resultando em melhores condições de saúde. Como eles não são essenciais, não são reconhecidos como nutrientes, apesar de exibirem efeitos benéficos como poder antioxidante (Gibney et al., 2009). A respeito disso, já se sabe que estes compostos podem aumentar, diminuir, e principalmente sofrerem transformações, de acordo com o uso da planta, sendo novamente específico para cada broto e grão

(Nelson et al., 2013). Mesmo assim, já se sabe também que esse processo pode acumular diferentes compostos bioativos em brotos, como vitaminas, GABA (ácido γ -aminobutírico) e polifenóis (Gan et al., 2017). O objetivo central dessa revisão é relacionar o processo de germinação de diferentes grãos com as mudanças no perfil de compostos fenólicos, assim como de suas propriedades antioxidantes.

O que acontece durante a germinação?

A germinação causa mudanças importantes nas características bioquímicas e na melhoria nutricional e sensorial dos grãos (Yang et al., 2017) devido aos efeitos na composição dos mesmos, que acontecem a fim de sustentar o crescimento da semente. Apesar de algumas transformações ocorrerem de maneira geral nos grãos, constituindo as fases de desenvolvimento, sabe-se que a diversidade de composição e consequentemente de bioatividade são marcantes e, um estudo detalhado do tipo de semente e das condições de germinação, é então, essencial para um conhecimento adequado (Pauca-Menacho et al., 2010).

As primeiras transformações que ocorrem durante a germinação iniciam-se com a embebição das sementes. Essencial para este processo, a absorção da quantidade de água necessária (A), como resposta do menor potencial de água das células, dá início às atividades celulares e metabólicas (Nonogaki & Nonogaki, 2017) e à reorganização das organelas celulares (Bewley, 1997).

A temperatura, luz e umidade adequadas fazem a transição do grão do estado de dormência para o início do metabolismo ativo, por meio da ativação de inúmeras enzimas e hormônios hidrolíticos, como a giberelina. Este hormônio, transita do embrião (ou germe) para a camada de aleurona, facilitando a liberação de enzimas hidrolíticas endógenas degradadoras de macromoléculas de armazenamento, que quando degradadas produzem nitrogênio e o esqueleto de carbono necessários para o crescimento e fotossíntese da planta (Nelson et al., 2013) pertencentes aos eventos pós-germinativos e crescimento da radícula (Nonogaki & Nonogaki, 2017).

A germinação é detectada visualmente pelo rompimento do grão com o surgimento da radícula. Assim, o embrião gera uma pressão para a saída da mesma. O alongamento celular na radícula do embrião é provavelmente induzido pelo afrouxamento da pa-

rede celular através das proteínas modificadoras de parede celular, como as expansinas, que estão sob o controle da giberelina. Neste período há aumento no consumo de oxigênio. Essa taxa decai em seguida até que a radícula penetre na membrana, quando ocorre novamente aumento expressivo do consumo desse gás. As vias das pentoses fosfato, glicolítica e oxidativa retomam e as enzimas do ciclo de Krebs são ativadas. Vale ressaltar que os tecidos da semente seca e madura contêm mitocôndrias, enzimas do ciclo de Krebs e oxidases terminais suficientes para fornecer quantidades adequadas de ATP para apoiar o metabolismo durante várias horas após a embebição (Bewley, 1997). Após o afrouxamento da parede celular e aumento do consumo de oxigênio, uma fase lag inicia-se, onde o conteúdo de água é estabilizado, eventos bioquímicos acontecem e RNA e proteínas são sintetizados. Nota-se o enfraquecimento do endosperma vivo, evento essencial para a germinação de sementes e pré-requisito para a ruptura do endosperma pela radícula, que marca a conclusão da germinação. Os eventos pós-germinativos iniciam-se e são marcados pelo aumento da necessidade de consumo de água, devido ao surgimento da radícula, que absorve rapidamente a água e alonga. Além disso, a mobilização de reservas das sementes, como proteínas, lipídios e polissacarídeos é intensificada, como dito anteriormente. A degradação dos macronutrientes é bem coordenada e o crescimento das plântulas continuarão até que as verdadeiras folhas surjam e iniciem atividades fotossintéticas eficientes (Nonogaki; Nonogaki, 2017).

Condições ambientais de germinação, o que muda?

Sabe-se que as condições ambientais em que as sementes são germinadas influenciam diretamente na composição final do broto e consequentemente na sua bioatividade. Cada semente tem sua especificidade em composição, e, os fatores ambientais devem ser então, combinados para que o ponto ótimo de germinação seja determinado (Facelli; Chesson & Barnes, 2005). Desta forma, fatores como luz, umidade, temperatura e tempo são primordiais para a determinação das condições mais adequadas de germinação. Uma breve descrição de como estes fatores atuam sobre a germinação de sementes e grãos é apresentada a seguir:

Luz: Trata-se de um fator ambiental que afeta

a fotossíntese da planta (Yan et al., 2013), sendo que a quantidade, a duração e a qualidade da luz desempenham um papel importante na regulação da dormência e germinação das sementes, o que é essencial para o crescimento e o desenvolvimento da planta (Barrero et al., 2014). A luz é detectada por diferentes fotorreceptores em plantas, como os fitocromos, que são os principais reguladores da germinação em resposta à luz. Os fitocromos são os responsáveis por perceber os sinais de luz e transformá-los em sinais bioquímicos, dependendo da qualidade, intensidade, comprimento de onda e duração da luz (Vieira; Rodrigues; Garcia, 2017). A luz evoca mudanças foto-oxidativas nas plantas, como a produção de diferentes formas de espécies reativas de oxigênio (ROS), produzidas principalmente por cloroplastos. ROS podem iniciar uma série de alterações metabólicas, como a redução da atividade enzimática e diminuição da taxa fotossintética quando em excesso. Assim, para minimizar os possíveis danos oxidativos causados por estas espécies reativas, as plantas ativam seus mecanismos de desintoxicação constituídos de substâncias de baixo peso molecular como os antioxidantes e as enzimas antioxidantes (Simlat et al., 2016). Portanto, a ausência ou presença de luz leva a formas de desenvolvimento morfológicamente distintos durante o crescimento da planta (Galvao et al., 2012).

Temperatura: A temperatura é outro parâmetro fundamental para o crescimento e o desenvolvimento das sementes. O processo fotossintético parece ser sensível a esse fator, havendo impactos prejudiciais no desempenho e produtividade da planta quando exposta a temperaturas inadequadas, como enfraquecimento da absorção de água e nutrientes, mudança na taxa de crescimento e redução nas taxas de processos fotoquímicos, como reações enzimáticas e capacidade fotossintética (Yan et al., 2013).

Assim, temperaturas inadequadas tornam-se estresse abiótico para a planta, e, como mecanismo de proteção e defesa, as mesmas produzem os compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos, flavonoides e proantocianidinas, além de polifenóis presentes como glicosídeos, acilglicosídeos e outras formas conjugadas (Zhang & Tsao, 2016).

Tempo de germinação: O tempo de germinação afeta diretamente a decomposição das macromoléculas. O prolongamento do tempo proporciona

mais decomposição das moléculas de reserva das plantas e, portanto, maior nível de liberação dos componentes bioativos (Chungcharoen et al., 2015), o que, juntamente com alta atividade de beta-gluco-nase e alfa-amilase com o tempo, aumenta o teor de compostos fenólicos livres nos brotos (Farzaneh et al., 2017).

Germinação como uma estratégia para aumentar o conteúdo de compostos fenólicos e atividade antioxidante de grãos.

Um antioxidante pode ser definido como “uma substância que, quando presente em baixas concentrações em comparação com a de um substrato oxidável, atrasa significativamente ou impede a oxidação desse substrato” (Halliwell, 1990). Isso pode acontecer por: a) sequestro de radicais livres do meio; b) quelação de íons metálicos; c) inibição de enzimas produtoras de radicais livres; d) ativação de enzimas antioxidantes endógenas; e) prevenção de peroxidação lipídica; f) prevenção de danos no DNA; g) prevenção da modificação proteica e destruição de açúcares (Carocho; Morales & Ferreira, 2017).

O termo “compostos fenólicos” pode ser atribuído a compostos que possuem um anel aromático com grupamento hidroxila e “polifenóis”, compostos que possuem um ou mais anéis aromáticos com um ou mais grupamentos hidroxilas, embora sejam termos sinônimos. Os compostos fenólicos podem ser divididos em diversos sub-grupos de acordo com as suas características estruturais (**Figura 1**), que são os fatores responsáveis pela atividade antioxidante de cada polifenol ou composto fenólico. Assim, o número e a posição de grupamentos hidroxilas nas moléculas, grau de hidroxilação, distância entre grupamento carbonil e anel aromático, assim como a quantidade de anéis aromáticos desempenham um papel importante na atividade antioxidante do composto. (Zhang & Tsao, 2016).

Dados de pesquisas abordados na literatura demonstram o potencial efeito positivo na composição e qualidade nutricional dos grãos germinados. A **Tabela 1** apresenta alguns estudos publicados nos últimos 3 anos mostrando brevemente os efeitos positivos da germinação no conteúdo de compostos fenólicos e propriedades antioxidantes de diferentes sementes e grão.

Figura 1.

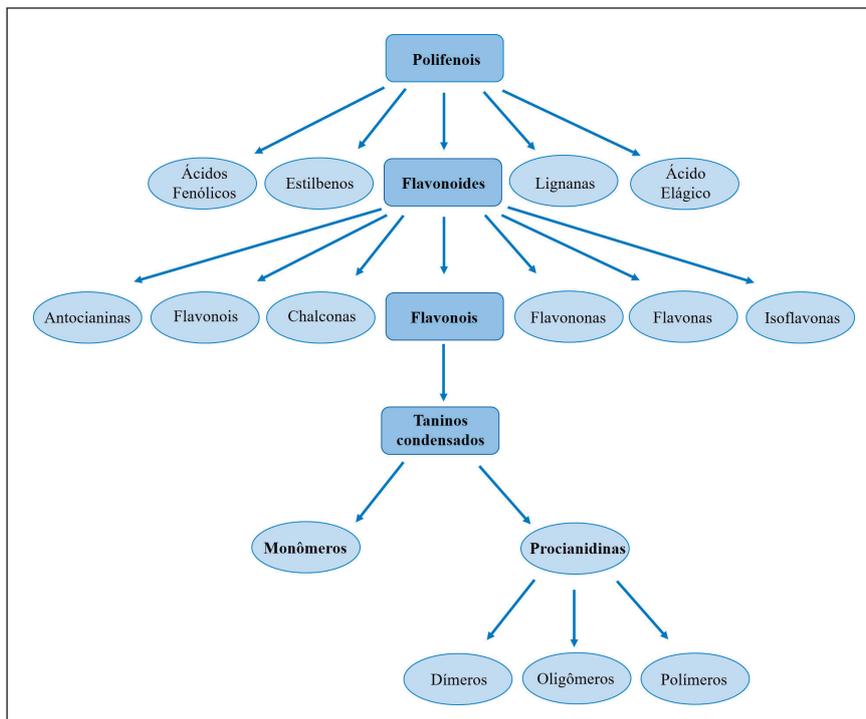


Figura 1. Classificação esquemática de polifenóis. Fonte: Traduzida de Zhang & Tsao, 2016.

Tabela 1. Grãos germinados e mudanças observadas no conteúdo de compostos fenólicos e propriedades antioxidantes durante a germinação.

| Grãos e sementes germinados | Determinações | Mudanças observadas (não germinadas para germinadas) | Referências |
|----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|
| Oliva (<i>Olea europaea</i> L.) seeds | Conteúdo de fenólicos totais (TPC); DPPH; ABTS; FRAP | Fenólicos totais aumentaram 14 vezes em média na oliva germinada. Atividade antioxidante dos brotos (8 a 16 dias) foi 30 vezes maior que das sementes não germinadas. | (Falcinelli et al., 2018) |
| Cultivares de arroz | Conteúdo de fenólicos totais; flavonoides totais; taninos totais; ácido fítico; DPPH; FRAP; ensaio de atividade de eliminação de radicais hidroxila; poder redutor; tocoferol; ascorbato total. | Três, das dez variedades de arroz estudadas (IET-23466, IET-23463 e PR-123), apresentaram nível maior de compostos bioativos e atividade antioxidante após 48 horas de germinação. | (Kaur, Asthir, & Mahajan, 2017) |

| | | | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|
| Grão de bico | Conteúdo de fenólicos totais; DPPH; ABTS (TEAC) | Germinação aumentou duas vezes o teor de compostos fenólicos totais; 4 vezes o valor de DPPH e 2 vezes o valor de TEAC. | (Hayta & İşçimen, 2017) |
| Milho roxo (<i>Zea mays L.</i>) | Compostos fenólicos totais; determinação quantitativa e qualitativa de compostos fenólicos totais por HPLC-DAD-ESI/MS; compostos não antocianinas; antocianinas; ORAC | Ácidos fenólicos livres diminuíram de 1679,72 mg GAE/100 g a 1042,82 mg GAE/100 g. Os valores de ORAC também diminuíram de 4837,061 mg TE/100 g a 2060,83 mg TE/100 g. Antocianinas foi a classe de compostos fenólicos de maior abundância nos brotos de milho roxo com 63 horas de germinação. | (Paucar Menacho et al., 2017) |
| Favas (<i>Vicia faba L.</i>) Tremoço (<i>Lupinus albus</i>) Grão de bico (<i>Cicer arietinum L.</i>) Lentilha (<i>Lens culinaris</i>) Feno-grego (<i>Trigonella foenum-graecum L.</i>) Feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>) | Conteúdo de fenólicos totais; flavonoides totais; DPPH | Fenólicos totais, flavonoides totais, e atividade antioxidante das leguminosas aumentaram proporcionalmente ao tempo de germinação (6 dias máximos) | (Saleh et al., 2017) |
| Arroz marrom | Conteúdo de fenólicos totais; ORAC | Germinação a 34°C por 96 horas aumentou em 3 vezes o conteúdo de compostos fenólicos totais e duas vezes a atividade antioxidante avaliada pelo método ORAC. | (Cáceres et al., 2017) |
| Arroz marrom (<i>Oryza sativa L.</i>) | DPPH; ABTS; FRAP | 36 horas de germinação aumentou as proporções de compostos antioxidantes bioacessíveis. | (Xia et al., 2017) |
| Soja, grão de bico, feijão mungu, lentilhas vermelhas e feijão roxo | Compostos fenólicos totais (TPC); flavonoides totais. Quantificação de ácidos fenólicos por HPLC e DPPH | O conteúdo de polifenóis totais dos extratos variou de 0,45 a 1,62 g/kg para grãos não germinados e de 0,68 a 2,45 g/kg e 0,65–2,53 g/kg em germinação a 30 °C e 40 °C, respectivamente. Atividade antioxidante dos extratos aumentou proporcionalmente com o aumento de TPC. Ácido ferúlico foi o ácido fenólico mais predominante detectado nos grãos germinados. | (Mamilla & Mishra, 2017) |
| Feijão-arroz (<i>Vigna umbellata</i>) | Fenólicos totais; composição de flavonoides e ácidos fenólicos por HPLC-MS; DPPH e FRAP | Germinação por 24 horas aumentou o conteúdo total de fenólicos e atividade antioxidante aproximadamente 2 vezes. Sete compostos fenólicos (dois ácidos fenólicos e cinco flavonoides) foram encontrados nos brotos de feijão-arroz. | (Sritongtae et al., 2017) |

| | | | |
|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|
| Linhaça (<i>Linum usitatissimum</i> L.) | Conteúdo de fenólicos totais (TPC); conteúdo de flavonoides; ORAC; análises atividade antioxidante celular (CAA). | Linhaça germinada por 10 dias aumentou 55 vezes o conteúdo de flavonoides e 6 vezes o conteúdo de TPC quando comparada com a não germinada. Os valores de ORAC aumentaram 7 vezes. CAA mostrou um aumento de aproximadamente 4 vezes. | (Wang et al., 2016) |
|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|

Fonte: Dos autores.

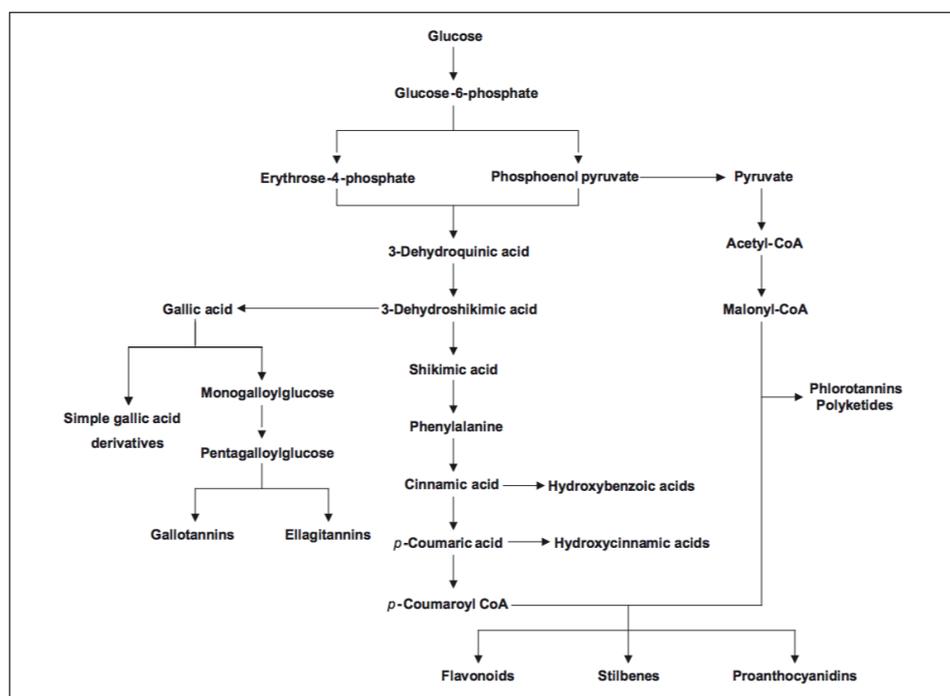
Transformação de compostos fenólicos durante a germinação

Os compostos fenólicos podem estar presentes nas células em suas formas livres e solúveis, esterificadas e insolúveis (Nayak et al., 2017) e, de maneira geral, a germinação resulta em mudanças no nível de fenólicos totais da semente germinada, atuando diferentemente em suas frações (Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2010). A maioria dos compostos fenólicos é sintetizada no espaço intracelular, especialmente no retículo endoplasmático e é armazenada no vacúolo celular como fração solúvel (Agati et al., 2012). Já os compostos insolúveis estão normalmente ligados nos componentes estruturais da parede celular como celulose, hemicelulose, lignina, proteínas estruturais e carboidratos por meio de ligações covalentes e, devido a funções potencialmente fisiológicas, esta fração

vem sendo explorada nos últimos anos (Chen et al., 2016).

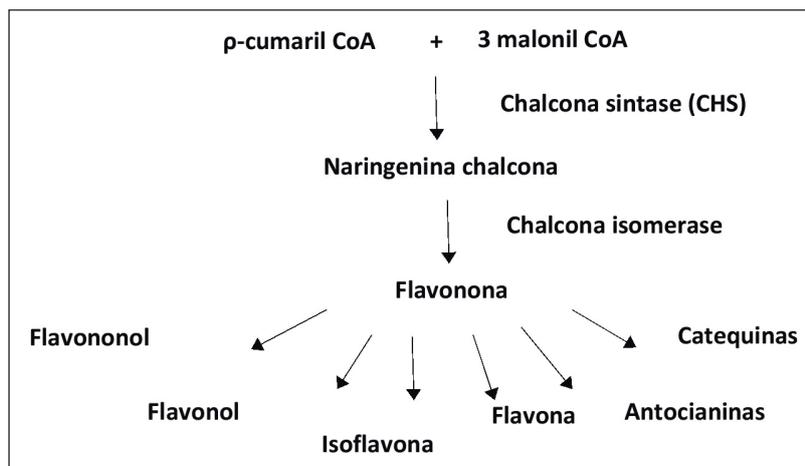
Quando há aumento do conteúdo de fenólicos totais atribui-se isso às transformações que ocorrem durante o processo de germinação e a síntese de novo, que normalmente acontece como resposta de proteção contra mudanças ambientais e para formação estrutural (Cevallos-Casals & Cisneros-Zevallos, 2010). A síntese de compostos fenólicos tem como precursor original a glicose, e, várias vias de sinalização molecular importantes, incluindo as vias das pentose fosfato, glicólise, via do acetato/malonato e via de taninos hidrolisáveis, estando estas envolvidas na síntese e transformação dos diferentes compostos fenólicos (Gan et al., 2017). Alguns exemplos de vias bioquímicas de síntese de compostos fenólicos estão exemplificados nos **esquemas 2, 3 e 4**.

Esquema 2.



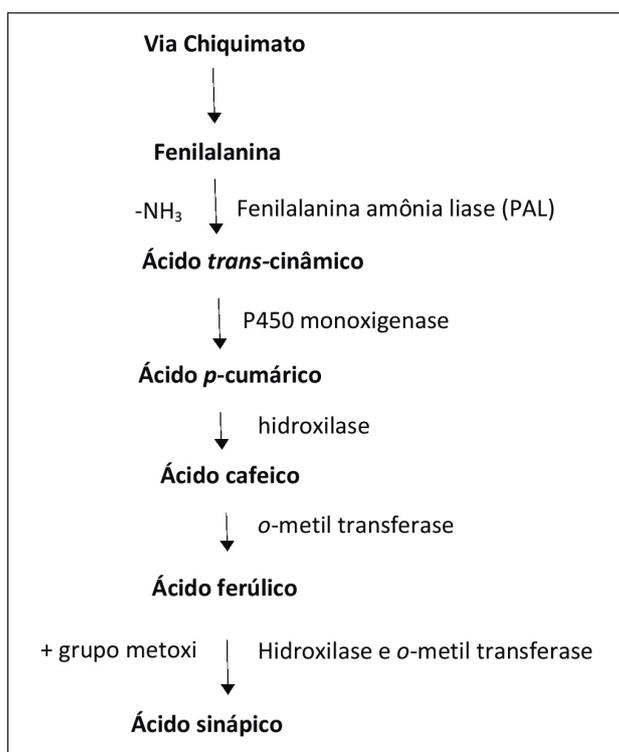
Esquema 2. Via proposta para síntese e transformação de compostos fenólicos. Fonte: Traduzida de Gan et al., (2017).

Esquema 3.



Esquema 3. Via proposta para síntese de flavonoides. A formação do composto Naringenina chalcona se dá pela junção de p -cumaril CoA com 3 moléculas de malonil CoA por meio da ação da enzima chalcona sintase. A naringenina chalcona é convertida a flavonona pela ação da chalcona isomerase. Flavonona é convertida às demais formas de flavonoides por diversas vias enzimáticas. Baseado em Shahidi & Yeo (2016).

Esquema 4.



Esquema 4. Via proposta de síntese de fenólicos totais. O aminoácido essencial fenilalanina, derivado da via bioquímica chamada de Chiquimato, por meio da ação da enzima fenilalanina amônia liase (PAL), perde uma amônia e gera ácido trans-cinâmico. O mesmo, após ação da enzima P450 monooxigenase é convertido a ácido p -cumárico, que pela ação da hidroxilase, gera ácido cafeico. Esse último, pela ação da enzima o -metil transferase é convertido a ácido ferúlico que é convertido a ácido sinápico pela ação da hidroxilase ou o -metil transferase. Baseado em Shahidi & Yeo (2016).

Além disso, nos períodos iniciais de germinação, os carboidratos, proteínas e lipídios são degradados e acompanhados consequentemente de um aumento de açúcares simples e aminoácidos livres (Nelson et al., 2013) e as frações de fenólicos insolúveis ligadas à parede celular também são liberadas. Por outro lado, com a formação de novas estruturas devido ao crescimento da planta durante a germinação, os compostos fenólicos solúveis podem se ligar à carboidratos e proteínas para a formação de novas paredes celulares, diminuindo sua quantidade na fração solúvel (Gan et al., 2017). Assim, a síntese e transporte de fenólicos para uso na parede celular ocorrem ao mesmo tempo (Yeo & Shahidi, 2015) o que faz com que a taxa de liberação e conjugação varie de acordo com a semente que está germinando (Gan et al., 2017). Trata-se, portanto, de um processo complexo, contínuo e peculiar de cada semente, e, com grande potencial de estudo. De fato, a literatura mostra diferentes pesquisas com o objetivo de entender e explicar as transformações de compostos fenólicos que ocorrem durante a germinação para a semente estudada.

Chen et al., (2017) observaram que diferentes variedades de trigo apresentaram mudanças diferenciadas na composição fenólica durante a germinação. A taxa de compostos fenólicos insolúveis e solúveis mudou positivamente de acordo com o tempo de germinação e variedade. Consequentemente, com maior teor de compostos fenólicos, a atividade antioxidante (medida pelos métodos ABTS e DPPH) também apresentou mudança positiva. Ácido ferúlico, *p*-cumárico e sinápico foram os principais ácidos fenólicos encontrados em grãos de trigo germinados. Ácido sinápico livre esteve presente em todas as variedades germinadas (4 dias) e para a fração insolúvel, um aumento de 60,4% foi detectado na variedade Jimai22 enquanto reduções de 29,9% e 13,5% foram reportadas para as variedades Sumai188 e Luyuan502, respectivamente.

O arroz marrom nativo (BR) foi germinado por 4 dias a 30°C. Os autores descreveram mudanças na composição fenólica e na atividade antioxidante no endosperma e no embrião. Os ácidos ferúlico, *p*-cumárico e sinápico foram os compostos mais encontrados, com uma variação interessante dos valores em cada parte do grão quando germinado. Existem muito mais ácidos fenólicos no embrião (especialmente ácido ferúlico e *p*-cumárico, que aumentaram 27 e 14 vezes, respectivamente, em relação ao grão não germinado e depois diminuíram) do que no endos-

perma. Além disso, a maior parte do ácido ferúlico presente no grão é na forma insolúvel. A germinação pode alterar essa composição por meio da ação enzimática, causando mudanças na bioatividade (Cho & Lim, 2018).

Diferenças quantitativas e qualitativas notáveis foram identificadas em compostos fenólicos em comparação feita entre grãos de amaranto germinados e crus. Compostos não-flavonoides (ácidos hidroxibenzoícos e hidroxicinâmicos) foram os mais encontrados no grão e no broto de amaranto. A germinação otimizada (26 °C por 63 h) aumentou significativamente ($p < 0,05$) a concentração de compostos hidroxinâmicos, representando 97% do conteúdo total de fenólicos, sendo os ácidos 4-*o*-cafeiolquínico e o 4-*o*-feruloilquínico os principais compostos desse grupo nos brotos, e que não foram encontrados nos grãos sem germinação. Ainda, este processo causou aumento de 50% no conteúdo total de compostos hidroxibenzoícos, sendo o ácido vanílico o único detectado no brotos de amaranto (Paucar-Menacho et al., 2017).

Apesar das mudanças de diferentes formas de isoflavonas serem complexas durante a germinação, esse processo pode aumentar o conteúdo total de agliconas na soja (Huang, Cai, & Xu, 2014). Em análise realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência relatou-se que o conteúdo total de agliconas, incluindo daidzeína, genisteína e gliciteína de grãos de soja foi significativamente maior ($p < 0,05$) em grãos germinados do que não germinados, o que significa que a germinação aumentou isoflavona na sua forma livre (Huang, Cai, & Xu, 2017). Outras pesquisas com resultados similares explicaram que isso pode ser atribuído às glicosidases ativadas e associadas à conversão de monômeros de isoflavona através das vias de malonato e fenilpropanoide (Wang et al., 2015).

Resultados mais específicos foram observados por Chen et al., (2016) que mostraram as mudanças causadas pela germinação em alpiste (na temperatura de 20°C variando tempo de germinação de 24 a 120 horas), onde o conteúdo de ácido gálico foi encontrado apenas em sua forma livre e aumentou gradualmente com o tempo de germinação. O ácido fotocatecuico foi encontrado apenas em sua forma insolúvel que foi mantida em conteúdo durante a germinação. O ácido hidroxibenzoíco foi detectado na forma livre e insolúvel e ambas as formas foram modificadas durante o processo. O ácido vanílico foi encontrado apenas na

forma insolúvel e a forma livre somente foi detectada em sementes não germinadas. Isso pode ser explicado pelo uso da fração solúvel durante a germinação para a formação da parede celular. O ácido cafeico foi detectado em alpiste apenas na forma insolúvel e foi mantido sem alterações durante a germinação. O ácido siríngico, por sua vez, foi detectado apenas em sementes não germinadas na forma livre. Já o ácido *p*-cumárico estava presente principalmente na forma insolúvel e apresentou aumento durante a germinação. O ácido ferúlico foi observado nas frações livres e insolúvel com aumento em ambas durante a germinação. Apesar do conhecimento dos mecanismos de síntese e regulação serem limitados durante a germinação, esse artigo mostra resultados consistentes do que acontece com cada composto durante a germinação de alpiste.

Ti et al. (2014) também elucidaram as diferentes mudanças durante a germinação de arroz marrom (a 20°C, no escuro por 17, 24, 30, 35 e 48 horas). Os autores observaram que o ácido fotocatecuico foi encontrado apenas em sua forma livre nos grãos germinados e cru, apresentando aumento após 48 horas de germinação. Os ácidos clorogênico e cafeico foram detectados na forma livre com o primeiro mantendo-se estável durante o processo e o segundo apresentando aumento durante as 48 horas de germinação. O ácido siríngico, presente nas frações livre e insolúvel aumentou durante as 48 horas de germinação. Já o ácido cumárico, apenas detectado na forma insolúvel também aumentou durante todo o tempo de germinação. Por último, o ácido ferúlico foi observado principalmente na forma insolúvel e aumentou durante todo o tempo de processo.

Em termos de classes de fenólicos totais, outro estudo observou o comportamento do composto tocoferol durante a germinação. Sementes de *Chamaerops humilis* var. *humilis* mostraram altos níveis de tocoferol, incluindo α -tocotrienol quando em dormência. Durante a germinação, os autores observaram a síntese de α -tocotrienol no embrião, que foi associada à proteção de lipídeos contra peroxidação lipídica durante a germinação. Os brotos apresentaram, portanto, conteúdos de α -tocotrienol (principalmente devido à presença no embrião e endosperma) e α -tocotrienol com efeitos antioxidantes (Siles et al., 2015).

Claramente, cada grão, com condições específicas de germinação, tem mudanças peculiares de transfor-

mação, demonstrando que é impossível generalizar as transformações fenólicas que ocorrem durante a germinação e a necessidade da realização de estudos específicos para cada semente e grão.

Tendências futuras de pesquisa

Já é de conhecimento da literatura que a germinação causa mudanças estruturais nos compostos fenólicos das sementes e grãos, e isso pode mudar as propriedades biológicas e de bioacessibilidade dos compostos bioativos. Assim sendo, utilizar testes biológicos *in vitro* (com linhagens celulares ou digestão simulada, por exemplo) ou mesmo testes *in vivo* são propostas de continuação dos estudos, visto que avaliam uma perspectiva biológica dos ensaios mais próxima de situações reais.

Wang et al. (2016) por exemplo, realizaram o primeiro estudo focado na cinética da atividade antioxidante de linhaça e brotos durante a germinação (8 a 10 dias) por atividade antioxidante celular (CAA). Para tal, utilizaram células humanas de câncer de fígado (HepG2). Os resultados obtidos sugeriram que a linhaça e seus brotos são uma fonte alternativa de antioxidantes celulares para aplicações futuras. Essa metodologia é útil para examinar a biodisponibilidade de antioxidantes alimentares, porque leva em consideração diversos fatores como absorção celular e metabolismo, possibilitando a obtenção de uma perspectiva biológica mais realista (Kellett, Greenspan, & Pegg, 2018).

Ainda, por meio da indução de estresse oxidativo em culturas celulares, Wang et al. (2015) observaram que o extrato de soja chinesa germinada foi capaz de proteger as células contra estresse oxidativo sem morte celular, mostrando outro exemplo de estudo *in vitro* com culturas celulares.

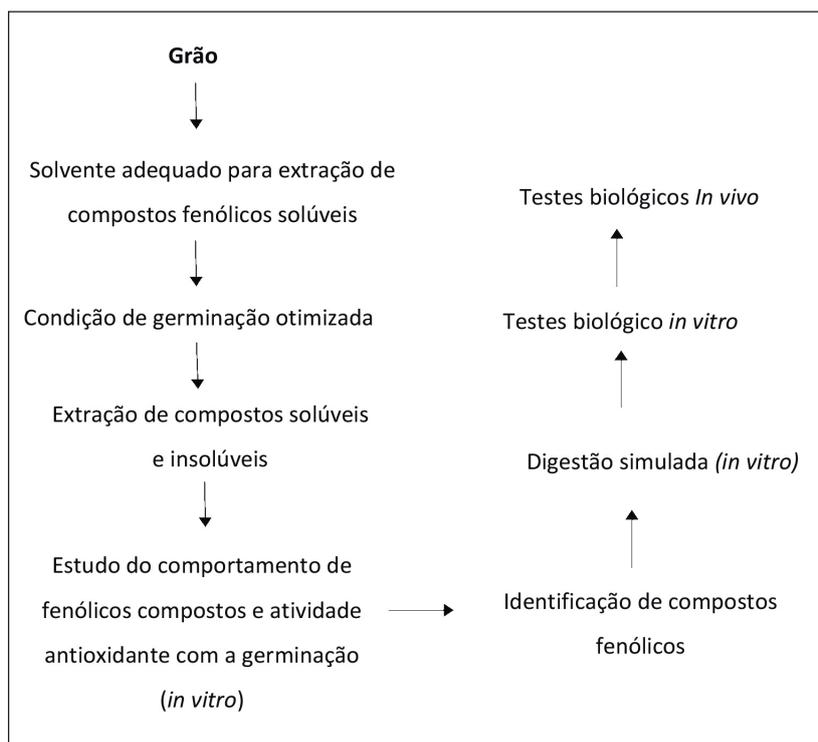
Além disso, a digestão *in vitro* é outra tendência para estudos em grãos germinados devido à sua abordagem fisiológica. Apesar de ser comum, poucos estudos utilizaram dessa técnica para analisar grãos germinados e os produtos derivados destes, como extratos. Trata-se de um teste biológico *in vitro* que pode mostrar a bioacessibilidade de compostos fenólicos e eficiência antioxidante dos brotos (Pérez-Burillo; Rufián-Henares & Pastoriza, 2018). Świeca, Sęczyk, & Gawlik-Dziki, (2014) simularam o processo de digestão *in vitro* e observaram a liberação dos compostos fenólicos presentes no broto de lentilha

apesar dos flavonoides estarem pouco bioacessíveis. A complexidade da digestão e a interação com outros compostos também foi discutida.

A falta de pesquisas com esse foco para produtos germinados mostra o alto potencial de estudo nessa

área. O **Esquema 5** ilustra o caminho proposto para obtenção de resultados seguros e consolidados, onde a combinação e sequência adequada de métodos é crucial.

Esquema 5.



Esquema 5. Caminho proposto para a pesquisa com grãos germinados. **Fonte:** dos autores.

Conclusão

O processo de germinação mostra-se como uma excelente alternativa para melhorar a capacidade antioxidante de sementes e grãos, como discutido nessa contribuição. Os compostos fenólicos nas duas frações, livre e insolúvel, são transformados positivamente durante o processo de germinação melhorando a composição fitoquímica das sementes e consequentemente suas propriedades antioxidantes. Apesar de algumas mudanças serem similares durante a germinação, cada grão deve ser estudado de forma específica para definição dos tratamentos mais adequados. A revisão de literatura aqui apresentada mostrou claramente a necessidade de identificação e caracterização de compostos fenólicos, além da realização de ensaios que simulem de forma mais próxima dos eventos reais no organismo, como o processo de digestão e/ou testes *in vivo*, no sentido de dar a dimensão factual da atuação destes compostos em sistemas complexos.

Referências

- AGATI, G. et al. Flavonoids as antioxidants in plants: Location and functional significance. **Plant Science**, v. 196, p. 67–76, 2012.
- ARUNA, G.; BASKARAN, V. Comparative study on the levels of carotenoids lutein, zeaxanthin and β -carotene in Indian spices of nutritional and medicinal importance. **Food Chemistry**, v. 123, n. 2, p. 404–409, 2010.
- BARBOSA, L. et al. As tendências da Alimentação. **BrasilFoodTrends** 2020. p.39-47. 2010. Disponível em: <http://www.brasilfoodtrends.com.br/>. Acesso em 3 de dezembro de 2017.
- BARRERO, J. M. et al. A Role for Barley CRYPTOCHROME1 in Light Regulation of Grain Dormancy and Germination. **The Plant Cell**, v. 26, n. 3, p. 1094–1104, 2014.
- BEWLEY, J. D. Seed Germination and Dormancy. **The plant cell online**, v. 9, n. 7, p. 1055–1066, 1997.

- CÁCERES, P. J. et al. Enhancement of biologically active compounds in germinated brown rice and the effect of sun-drying. **Journal of Cereal Science**, v. 73, p. 1–9, 2017.
- CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. F. R. Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 107–120, 2018.
- 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, n. 4, p. 1485–1490, 2010.
- CHEN, Z. et al. Changes of phenolic profiles and antioxidant activity in canaryseed (*Phalaris canariensis L.*) during germination. **Food Chemistry**, v. 194, p. 608–618, 2016.
- CHEN, Z. et al. Comparison of phenolic profiles, antioxidant capacity and relevant enzyme activity of different Chinese wheat varieties during germination. **Food Bioscience**, v. 20, p. 159–167, 2017.
- CHO, D.-H.; LIM, S.-T. Changes in phenolic acid composition and associated enzyme activity in shoot and kernel fractions of brown rice during germination. **Food Chemistry**, v. 256, p. 163–170, 2018.
- CHUNGCHAROEN, T. et al. Effects of germination time and drying temperature on drying characteristics and quality of germinated paddy. **Food and Bioprocess Technology**, v. 94, p. 707–716, 2015.
- Cover Crops | USDA PLANTS. Disponível em: <<https://plants.usda.gov/java/coverCrops>>. Acesso em: 8 ago. 2017
- DIVAKARAN, M.; BABU, K. N. Mustard. In: **Encyclopedia of Food and Health**. [s.l.] Elsevier. p. 9–19. 2016.
- FAHEY, J. W. Brassica: Characteristics and Properties. In: **Encyclopedia of Food and Health**. [s.l.] Elsevier. p. 469–477, 2016.
- FALCINELLI, B. et al. Sprouting olive (*Olea europaea L.*) seeds as a source of antioxidants from residual whole stones. **Scientia Horticulturae**, v. 240, p. 558–560, 2018.
- FARZANEH, V. et al. The impact of germination time on the some selected parameters through malting process. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 94, p. 663–668, 2017.
- GALVAO, R. M., et al. Photoactivated phytochromes interact with HEMERA and promote its accumulation to establish photomorphogenesis in Arabidopsis. **Genes & Development**, 26(16), 1851–1863, 2012.
- GAN, R.-Y. et al. Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 59, p. 1–14, 2017.
- GIBNEY, M. J. (ED.). **Introduction to human nutrition**. 2nd ed. Chichester, West Sussex, U.K. ; Ames, Iowa : [London]: Wiley-Blackwell ; Nutrition Society, 2009.
- GROVER, J. K., YADAV, S., VATS, V. Effect of feeding *Murraya koenigii* and *Brassica juncea* diet kidney functions and glucose levels in streptozotocin diabetic mice. **Journal of Ethnopharmacology**, 85, p. 1-5, 2003.
- GROVER, J. K., YADAV, S., VATS, V. Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Brassica juncea* diet and their effect on hepatic glycogen content and the key enzymes of carbohydrate metabolism. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 241, p. 95-101, 2002.
- HALLIWELL, B. How to Characterize a Biological Antioxidant. **Free Radical Research Communications**, v. 9, n. 1, p. 1–32, 1990.
- HAYTA, M.; İŞÇİMEN, E. M. Optimization of ultrasound-assisted antioxidant compounds extraction from germinated chickpea using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 77, p. 208–216, 2017.
- HUANG, G., CAI, W., & XU, B. Improvement in beta-carotene, vitamin B2, GABA, free amino acids and isoflavones in yellow and black soybeans upon germination. **LWT - Food Science and Technology**, 75, 488–496, 2017.
- HUANG, X., CAI, W., & XU, B. Kinetic changes of nutrients and antioxidant capacities of germinated soybean (*Glycine max L.*) and mung bean (*Vigna radiata L.*) with germination time. **Food Chemistry**, 143, 268–276, 2014.
- KAUR, M.; ASTHIR, B.; MAHAJAN, G. Variation in Antioxidants, Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity in Germinated and Ungerminated Grains of Ten Rice Cultivars. **Rice Science**, v. 24, n. 6, p. 349–359, 2017.
- KELLETT, M. E.; GREENSPAN, P.; PEGG, R. B. Modification of the cellular antioxidant activity (CAA) assay to study phenolic antioxidants in a Caco-2 cell line. **Food Chemistry**, v. 244, p. 359–363, 2018.
- MAMILLA, R. K.; MISHRA, V. K. Effect of germination on the antioxidant activity of rice (*Oryza sativa L.*) and mung bean (*Vigna radiata L.*) seeds. **Journal of Food Science and Technology**, v. 49, p. 100–105, 2016.

nation on antioxidant and ACE inhibitory activities of legumes. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 51–58, 2017.

MORLEY, W. G. Mayonnaise. In: **Encyclopedia of Food and Health**. [s.l.] Elsevier, p. 669–676. 2016.

NAYAK, B.; LIU, R. H.; TANG, J. Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits, Vegetables, and Grains—A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 55, n. 7, p. 887–918, 2015.

NELSON, K. et al. Germinated grains: a superior whole grain functional food? **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 91, n. 6, p. 429–441, 2013.

NONOGAKI, M.; NONOGAKI, H. Germination. In: **Encyclopedia of Applied Plant Sciences**. [s.l.] Elsevier, 509–512, 2017.

PAUCAR-MENACHO, L. M. et al. Effect of time and temperature on bioactive compounds in germinated Brazilian soybean cultivar BRS 258. **Food Research International**, v. 43, n. 7, p. 1856–1865, 2010.

PAUCAR-MENACHO, L. M. et al. Optimizing germination conditions to enhance the accumulation of bioactive compounds and the antioxidant activity of kiwicha (*Amaranthus caudatus*) using response surface methodology. **LWT - Food Science and Technology**, v. 76, p. 245–252, 2017.

PÉREZ-BURILLO, S.; RUFÍAN-HENARES, J. A.; PASTORIZA, S. Towards an improved global antioxidant response method (GAR+): Physiological-resembling in vitro digestion-fermentation method. **Food Chemistry**, v. 239, p. 1253–1262, 2018.

RANA, M. K. Salad Crops: Leaf-Type Crops. In: **Encyclopedia of Food and Health**. [s.l.] Elsevier, p. 673–678. 2016.

SALEH, H. M. et al. Melatonin, phenolics content and antioxidant activity of germinated selected legumes and their fractions. **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, 2017.

SFORZA, S.; PRANDI, B. Food Allergies: Occurrence and Analysis. In: **Encyclopedia of Food and Health**. [s.l.] Elsevier. p. 743–748. 2016.

SHAHIDI, F.; YEO, J. Insoluble-Bound Phenolics in Food. **Molecules**, v. 21, n. 9, p. 1216, 2016.

SILES, L. et al. Enhanced tocopherol levels during early germination events in *Chamaerops humilis* var. *humilis* seeds. **Phytochemistry**, v. 118, p. 1–8, 2015.

SIMLAT, M. et al. The effect of light quality on seed germination, seedling growth and selected biochemical properties of *Stevia rebaudiana* Bertoni. **Scientia**

Horticulturae, v. 211, p. 295–304, 2016.

SRITONGTAE, B. et al. Effect of acid pretreatment and the germination period on the composition and antioxidant activity of rice bean (*Vigna umbellata*). **Food Chemistry**, v. 227, p. 280–288, 2017.

ŚWIECA, M.; SĘCZYK, Ł.; GAWLIK-DZIKI, U. Elicitation and precursor feeding as tools for the improvement of the phenolic content and antioxidant activity of lentil sprouts. **Food Chemistry**, v. 161, p. 288–295, 2014.

THIRUMALAI, T., et al. Hypoglycemic effect of *Brassica juncea* (seeds) on streptozotocin induced diabetic male albino rat. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 1, p. 323–325, 2011.

TI, H. et al. Dynamic changes in the free and bound phenolic compounds and antioxidant activity of brown rice at different germination stages. **Food Chemistry**, v. 161, p. 337–344, 2014.

VIEIRA, B. C.; RODRIGUES, B. M. A.; GARCIA, Q. S. Light exposure time and light quality on seed germination of *Vellozia* species (*Velloziaceae*) from Brazilian campo rupestre. **Flora**, v. 238, p. 94–101, 2018.

WANG, F. et al. Isoflavone, γ -aminobutyric acid contents and antioxidant activities are significantly increased during germination of three Chinese soybean cultivars. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 596–604, 2015.

WANG, H. et al. Effect of germination on lignan biosynthesis, and antioxidant and antiproliferative activities in flaxseed (*Linum usitatissimum* L.). **Food Chemistry**, v. 205, p. 170–177, 2016.

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

XU, M. et al. Pulse seed germination improves antioxidative activity of phenolic compounds in stripped soybean oil-in-water emulsions. **Food Chemistry**, v. 250, p. 140–147, 2018.

YAN, N. et al. Interactive effects of temperature and light intensity on photosynthesis and antioxidant enzyme activity in *Zizania latifolia* Turcz. plants. **Photosynthetica**, v. 51, n. 1, p. 127–138, 2013.

YANG, H. et al. Germination-Assisted Enzymatic Hydrolysis Can Improve the Quality of Soybean Protein: Germination-assisted hydrolysis. **Journal of Food Science**, v. 82, n. 8, p. 1814–1819, 2017.

YEO, J.; SHAHIDI, F. Critical Evaluation of Changes in the Ratio of Insoluble Bound to Soluble Phenolics on Antioxidant Activity of Lentils during Germination. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 63, n. 2, p. 379–381, 2015.

ZHANG, H.; TSAO, R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. **Current Opinion in Food Science**, v. 8, p. 33–42, 2016.