

Propriedade das frações proteicas de cultivares de arroz, aveia e trigo

Property of protein fraction of rice, oat and wheat cultivars

RIALA6/1362

Fernanda Arnhold PAGNUSSATT^{1*}, Jaqueline GARDA-BUFFON¹, Luiz Carlos GUTKOSKI²,
Elia BADIÁLE-FURLONG¹

*Endereço para correspondência: ¹Laboratório de Ciência de Alimentos, Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande/RS, Brasil. Tel.: 53 3233-8663. E-mail: nandapagnu@terra.com.br.

²Laboratório de Cereais, Centro de Pesquisa em Alimentação, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo.

Recebido: 03.11.2010 – Aceito para publicação: 01.06.2011

RESUMO

Os cereais são fontes de inibidores enzimáticos que agem sobre a α -amilase, que alteram a disponibilidade do amido e podem representar uma ferramenta útil para a resistência dos vegetais ao ataque de agentes patogênicos. Neste estudo foram analisadas as características físico-químicas e da fração proteica de aveia, arroz e trigo, cultivados no Rio Grande do Sul, com o objetivo de correlacioná-las, posteriormente, com a presença de inibidores enzimáticos e resistência à contaminação fúngica. As amostras de grãos de aveia, trigo e arroz foram caracterizadas físico-quimicamente e avaliadas quanto à digestibilidade proteica *in vitro*, solubilidade em sistema aquoso e atividade enzimática de hidrolases. A aveia apresentou maior teor lipídico e proteico e a cultivar UPFA 20 Teixeira demonstra a menor digestibilidade em função do teor de fibras. O maior conteúdo de glutelina foi detectado no arroz cultivar BR 424, acompanhado pelo maior teor de proteína bruta e digestibilidade. As variedades de trigo apresentaram maior atividade de α -amilase e β -amilase, o que sugere que esse cereal é mais susceptível à degradação fúngica quando comparado com arroz e aveia, em vista da maior disponibilidade de açúcares. A atividade inibidora de amilases dos extratos proteicos dos cereais foi maior nos cultivares de aveia.

Palavras-chave. cereais, solubilidade de proteínas, digestibilidade, atividade enzimática.

ABSTRACT

Cereals are sources of enzymatic inhibitors which act upon alpha-amylase, disturbing the starch availability and generating a high resistance to pathogens. This study evaluated the physical-chemical characteristics and the protein fractions of oat, rice and wheat, cultivated in Rio Grande do Sul, for estimating the enzymatic inhibitors presence and the resistance to fungi contamination. Samples of oat, wheat and rice were characterized physical-chemically (moisture, lipids, protein and crude fiber); and *in vitro* protein digestibility, solubility in aqueous system and hydrolases enzymatic activity were evaluated. The oat samples showed the highest lipids and protein contents, and the UPFA20 Teixeira demonstrated the lowest digestibility, as expected owing to the brut fiber contents. The gluteline fraction was found in BR424 rice variety, and the highest total crude protein and digestibility. The wheat varieties showed the highest α -amylase and β -amylase activity, suggesting that this grain is the mostly susceptible to fungal degradation when compared with rice and oats, due to the increased sugar availability. The highest amylase inhibitor activity of cereals protein extracts was detected in oat cultivars.

Keywords. cereals, protein solubility, digestibility, enzymatic activity.

INTRODUÇÃO

Os cereais são matérias-primas nutricionalmente importantes, pois além de serem fonte de energia, contribuem com cerca de 20% na ingestão proteica diária. O uso de proteínas vegetais decorre de suas propriedades funcionais, que propiciam uma forma versátil de satisfazer as necessidades proteicas do ser humano¹.

As proteínas de reserva dos cereais têm seu aproveitamento influenciado pelo alto teor de fibras insolúveis e por sua solubilidade, em função da qual também são classificadas em prolaminas e glutelinas, globulinas e albuminas². As albuminas são solúveis em água, as globulinas em soluções salinas, as prolaminas em soluções de álcool/água e as glutelinas solúveis em soluções ácidas ou básicas diluídas³.

O valor nutritivo de uma proteína depende da digestibilidade e biodisponibilidade dos aminoácidos essenciais e não apenas da sua composição, nas quantidades e proporções adequadas para atender às necessidades do organismo⁴. A abundância de carboidratos na forma de amido e as proteínas solúveis em soluções aquosas tornam a qualidade dos cereais e seus derivados dependentes da atividade de enzimas α e β -amilases e de proteases ao longo da cadeia produtiva⁵. Além disso, elas podem propiciar maior susceptibilidade à contaminação dos grãos por fungos ainda no campo, durante e após a colheita, transporte, processamento e armazenamento do produto⁶.

Em função disso, esses cereais desenvolveram mecanismos naturais de defesa, como os inibidores enzimáticos de amilases que conferem resistência à contaminação fúngica e a germinação precoce dos grãos⁷. Boas práticas de armazenagem, processamento adequado e proteção contra contaminantes são alternativas bastante discutidas para garantir a segurança alimentar sob os aspectos qualitativo e quantitativo, mas sua eficiência depende do conhecimento das características bioquímicas de cada variedade em suas respostas a cada região de cultivo⁸.

A partir dessas considerações, o objetivo deste trabalho foi realizar a caracterização físico-química e da fração proteica em cultivares de aveia, arroz e trigo cultivados no Rio Grande do Sul, visando correlacioná-las com a presença de inibidores enzimáticos e a resistência à contaminação fúngica.

MATERIAL E MÉTODOS

Matéria-prima

Cultivares de grãos de arroz safra 2009 (BR 410, BR 417, BR 424), aveia safra 2008 (UPFA 20 Teixeira, UPFA 22 Temprana e UPFA Pampa) e trigo safra 2008 (Ônix, Pampero, Safira) foram fornecidas pelo Instituto Rio-Grandense do Arroz, Universidade de Passo Fundo e OR Melhoramento de Sementes Ltda., respectivamente. As amostras foram coletadas de acordo com as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) para o envio de porções representativas ao Laboratório de Ciência de Alimentos da Universidade Federal do Rio Grande (FURG). Todos os grãos foram moídos em moinho de facas (Tecnal, modelo Te-631, Brasil) e peneirados à granulometria de 42 mesh, compondo a amostra analítica.

Composição centesimal

O conteúdo de umidade, lipídios, proteínas, cinzas e fibras foi determinado pela metodologia descrita na Association of Official Analytical Chemists International – AOAC⁹, de acordo com os métodos nº 935.29; 920.85; 920.87; 923.03 e 991.43, respectivamente. O teor de carboidratos foi obtido por diferença percentual¹⁰.

Solubilidade proteica

O fracionamento das proteínas foi realizado com 1 g de amostra pesado e homogeneizado com 10 mL de água destilada (fração albumina) em agitador orbital (176 rpm) a 25 °C durante 30 minutos (Marconi, modelo MA410, Brasil). As misturas foram centrifugadas (Cientec, modelo CT-5000R, Brasil) a 2240 G durante 20 minutos e o sobrenadante coletado, repetindo-se o procedimento por duas vezes. O resíduo foi submetido sequencialmente à extração com 10 mL de NaCl 1% para a obtenção da fração globulina, 10 mL de etanol 70% e 10 mL de NaOH (0,1 mol.L⁻¹) para a separação de prolamina e glutelina, mantendo os procedimentos já descritos para a primeira fração³. A quantificação das proteínas foi realizada utilizando o reagente de Folin¹¹. As absorvâncias foram lidas em espectrofotômetro (Varian, modelo Cary 100, Estados Unidos) a 660 nm e comparadas com a curva-padrão de albumina de soro bovino (0,3 a 2,5 mg.mL⁻¹).

Digestibilidade da proteína *in vitro* e teor de metionina disponível

A digestibilidade da proteína *in vitro* (proporção 1:10) foi determinada em quadruplicata, empregando

Tabela 1. Composição centesimal dos grãos integrais de aveia, arroz e trigo (g.100g⁻¹)¹

| Cultivar | Umidade | Lipídios | Cinzas | Proteínas | Fibras | Carboidratos ¹ |
|--------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------------|
| Arroz | | | | | | |
| 410 | 14,2 ^{aA} | 3,6 ^{aB} | 2,7 ^{aA} | 5,7 ^{bD} | 0,8 ^{aBC} | 73 |
| 417 | 14,3 ^{aA} | 0,4 ^{bE} | 0,3 ^{bD} | 7,5 ^{aC} | 0,1 ^{bC} | 77,4 |
| 424 | 14,8 ^{aA} | 4,0 ^{aB} | 2,7 ^{aA} | 4,7 ^{cD} | 0,7 ^{aC} | 73,1 |
| Aveia | | | | | | |
| Pampa | 10,9 ^{aA} | 5,4 ^{aA} | 2,2 ^{aAB} | 14,0 ^{aA} | 0,7 ^{aC} | 66,8 |
| Teixeirinha | 11,4 ^{aA} | 5,6 ^{aA} | 1,7 ^{aBC} | 10,4 ^{bB} | 0,3 ^{bC} | 70,6 |
| Temprana | 14,4 ^{aA} | 5,7 ^{aA} | 1,7 ^{aBC} | 4,8 ^{cD} | 0,5 ^{aC} | 72,9 |
| Trigo | | | | | | |
| Safira | 11,8 ^{aA} | 1,1 ^{bE} | 1,5 ^{aC} | 6,1 ^{aCD} | 0,1 ^{cC} | 79,4 |
| Ônix | 12,2 ^{aA} | 2,1 ^{aCD} | 1,6 ^{aBC} | 6,5 ^{aCD} | 1,6 ^{bB} | 76 |
| Pampeano | 12,4 ^{aA} | 2,4 ^{aC} | 1,7 ^{aBC} | 7,5 ^{aC} | 3,8 ^{aA} | 72,2 |

¹Resultados representam a média de três determinações. Letras minúsculas diferem estatisticamente entre as cultivares do mesmo cereal e letras maiúsculas entre todos os cereais. Carboidratos estimados por diferença.

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

hidrólise enzimática sequencial com pepsina e pancreatina¹². As alíquotas de sobrenadante digerido foram reunidas e a digestibilidade determinada através do método de Folin-Ciocalteu, utilizando curva-padrão de tirosina (25 -125 µg.mL⁻¹).

Atividade enzimática

O extrato enzimático bruto foi obtido por homogeneização de 0,5 g de amostra com 50 mL de NaCl 0,5%, agitado em mesa orbital (Marconi, modelo MA410, Brasil) por 90 minutos na temperatura de 30 °C, centrifugado (Cientec, modelo CT-5000R, Brasil), filtrado e armazenado a 5 °C até o momento do uso. A atividade de α-amilase foi determinada pela degradação do amido estimada quantitativamente pelo método iodométrico¹³; a β-amilase teve sua ação determinada pela liberação de maltose quantificada pelo método colorimétrico do ácido 3,5 dinitrosalicílico (3,5 DNS); e a atividade das proteases foi determinada empregando albumina como substrato, medindo aminoácido livre, tendo tirosina como indicativo de hidrólise¹³.

Triagem da presença de inibidores enzimáticos nos cereais

Para a triagem da presença de inibidores, cada cereal (5 g) foi submetido à extração da fração proteica com três sistemas solventes (45 mL): etanol 95%, tampão acetato de sódio pH 5 e tampão fosfato de sódio pH 7,2 durante 12 horas em mesa orbital (Marconi, modelo MA410, Brasil)^{14,15}. A ação inibitória foi avaliada pela

quantidade de amido hidrolisado por α-amilase fúngica comercial (Fungamyl® 800 L), em presença e ausência do extrato proteico, determinada por iodometria, expressa em µg.mL⁻¹.min⁻¹.

Análise estatística

Os resultados de umidade, cinzas, proteínas, lipídios, fibra, solubilidade, digestibilidade, atividade enzimática e inibição da amilase fúngica foram analisados utilizando análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para comparação das médias através do programa Statistica 5.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição do grão e de suas frações está sujeita a diferenças varietais, manejo da cultura, processamento e armazenagem, produzindo grãos com características nutricionais diferenciadas, em função da distribuição não uniforme nas porções do grão⁸. Os resultados das médias das determinações de composição centesimal nas cultivares de arroz, aveia e trigo estão apresentados na Tabela 1. Os valores médios dos teores de cada variável analisada foram expressos em % (g.100g⁻¹) de amostra em base úmida, comparados estatisticamente entre as variedades da mesma espécie e entre os diferentes cereais.

A cultivar de arroz BR417 apresentou as menores porcentagens de lipídios, cinzas e fibras. Porém, o teor de proteínas foi superior, quando comparado com as variedades BR410 e BR424.

Não houve diferença significativa entre as cultivares de aveia para as frações de umidade, lipídios e cinzas. A cultivar UPFA Pampa apresentou o maior valor de proteína. Em relação ao teor de fibras, esta cultivar apresentou valor de 0,7 g.100g⁻¹, seguido de UPFA 20 Teixeirainha (0,3 g.100g⁻¹).

O teor de umidade, cinzas e proteínas nas amostras de trigo não diferiram entre si. A cultivar Pampeano possui um teor de fibras superior ao das demais; sendo que o teor lipídico foi maior que o encontrado na cultivar Safira e estatisticamente igual ao presente no trigo Ônix.

Os teores médios de umidade em arroz, aveia e trigo encontram-se em torno de 12,3 14,4 e 12,1 g.100g⁻¹, respectivamente. Cabe enfatizar que a umidade é um importante aspecto para a conservação da qualidade do alimento, uma vez que pode influenciar diretamente a composição química e o desenvolvimento de micro-organismos¹⁶. Em função disto, a Instrução Normativa nº 8, de 02 de junho de 2005, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento¹⁷ estabelece que o teor máximo de umidade para grãos deve estar em torno de 15 g.100g⁻¹. Portanto, neste caso, está em condições adequadas.

O percentual de lipídios foi superior nas amostras de aveia, 2,5 vezes maior que nos demais cereais em média. O resultado foi semelhante ao encontrado na literatura, com valor de 5,4 g.100g⁻¹ para a cultivar de aveia com casca da variedade UPFA 20 Teixeirainha, após 30 dias de armazenamento e umidade final de 11 g.100g⁻¹, enquanto que na amostra descascada o valor deste componente foi de 7,7 g.100g⁻¹¹⁸.

Cabe salientar que as amostras de aveia e arroz foram apenas descascadas e moídas, não sendo separadas as camadas usuais de beneficiamento de cada grão em moinhos convencionais. O teor lipídico encontrado para as amostras de arroz e trigo está relacionado à cultivar e ao tipo de beneficiamento do grão, sendo que a maior ou menor retirada das camadas externas tem influência especial nos valores de lipídios¹⁶.

As cultivares de arroz BR 410 e BR 424 apresentaram maior teor de cinzas em relação às cultivares de aveia UPFA 20 Teixeirainha e UPFA 22 Temprana e de trigo Ônix, Pampeano e Safira. No caso deste trabalho, as variações nos teores de cinzas podem ser explicadas pelas diferentes cultivares utilizadas e possivelmente pelo local de cultivo. O teor de cinzas para as cultivares de trigo BRS Angico e Rubi foram de 0,14 e 0,6 g.100g⁻¹, respectivamente; portanto, como já mencionado, a variabilidade é afetada por outros fatores de efeito mais complexo que a forma da moagem¹⁹.

Os maiores teores de proteína foram obtidos na aveia UPFA Pampa, seguida da aveia UPFA 20 Teixeirainha e arroz BR 417. A proteína bruta encontrada para aveia UPFA 20 Teixeirainha foi de 14,4 g.100g⁻¹¹⁸, enquanto que a média em quatro amostras de aveia foi de 15 g.100g⁻¹, no trabalho realizado por Pedó e Sbarbieri⁴.

A porcentagem de fibra bruta no trigo Pampeano foi maior que a verificada nas demais amostras. Os valores encontrados para fibra bruta para as cultivares de aveia UPFA 20 Teixeirainha e UPF 18 de 13 g.100g⁻¹¹⁸ foram bem acima dos verificados neste trabalho. Fato que pode ser decorrente do uso de método químico para a determinação desse componente²⁰. O teor médio de fibras presente nas amostras de arroz foi de 0,5 g.100g⁻¹, semelhante ao estudado por outros autores, que também encontraram 0,5 g.100g⁻¹ de fibras no endosperma amiláceo; enquanto que na fração casca mais farelo o valor foi de 32,4 g 100g⁻¹²¹.

Nas variedades de trigo Safira, Ônix e Pampeano, as proteínas metabólicas, albumina e globulina, corresponderam a 34 g.100g⁻¹, 35 g.100g⁻¹ e 36 g.100g⁻¹, do total de proteína bruta (Tabela 2), sendo que a globulina foi obtida em valores mais baixos que as demais, o que pode estar associado a condições de cultivo ou a outras variáveis abióticas.

Nas variedades de aveia estudadas, a fração glutelina foi estatisticamente superior às demais e a albumina não diferiu da prolamina. A discordância entre os estudos realizados pode ser atribuída também à incompleta extração, especialmente, da globulina, visto que essa proteína pode ter sido extraída em alguma etapa posterior, estando misturada às demais frações⁴.

Nas amostras de arroz, foi observado que a cultivar BR 417 apresentou maior teor de proteína bruta (Tabela 1) e de reserva, a glutelina, constituindo 75 g.100g⁻¹ do total. Os resultados encontrados demonstraram que seria possível estabelecer um fator de correlação para a fração glutelina como indicativo da presença de aminoácidos essenciais, visto que esta é a mais rica neles²², ou ainda estimar o conteúdo de inibidores enzimáticos, usualmente presentes nesta fração¹⁴.

A composição em proteínas também é afetada pela característica genotípica e não só há diferença na concentração total de proteína entre cultivares como, também, há na distribuição das frações proteicas solúveis²³. Neste trabalho, a maior variação foi observada para a glutelina e globulina nas amostras de arroz, cujas concentrações variaram entre 6 e 10 g.100g⁻¹, correlacionados positivamente com o teor total de proteína.

Tabela 2. Distribuição das frações proteicas solúveis e digestibilidade *in vitro* em arroz, aveia e trigo^{1,2}

| Amostra | Albumina (%) | Globulina (%) | Prolamina (%) | Glutelina (%) | Digestibilidade (%) |
|----------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| Arroz 410 | 32,0 ^h | 37,8 ^{efg} | 4,1 ^q | 26,2 ^{ji} | 71,6 ^{BC} |
| Arroz 417 | 33,0 ^{gh} | 8,1 ^{opq} | 6,8 ^{pq} | 52,0 ^a | 55,3 ^{DE} |
| Arroz 424 | 39,1 ^{ef} | 12,3 ^{no} | 9,2 ^{op} | 39,5 ^{de} | 91,8 ^A |
| Aveia UPFA Pampa | 16,7 ^{mn} | 5,6 ^{pq} | 26,1 ^{ij} | 51,6 ^a | 40,2 ^F |
| Aveia UPFA 20 Teixeirainha | 19,1 ^{klm} | 8,4 ^{opq} | 22,3 ^{ijkl} | 50,2 ^{ab} | 78,4 ^B |
| Aveia UPFA 22 Temprana | 22,2 ^{ijkl} | 8,5 ^{opq} | 18,5 ^{lm} | 50,6 ^a | 52,7 ^E |
| Trigo Safira | 23,5 ^{ijkl} | 10,3 ^{op} | 24,4 ^{jk} | 41,9 ^{cde} | 74,7 ^{BC} |
| Trigo Ônix | 22,7 ^{ijkl} | 12,0 ^{no} | 22,1 ^{ijkl} | 43,4 ^{cd} | 66,7 ^{CD} |
| Trigo Pampeano | 23,8 ^{jk} | 12,5 ^{no} | 34,0 ^{fgh} | 29,7 ^{hi} | 76,5 ^{BC} |

Resultados representam a média de três determinações. ¹Letras minúsculas diferem estatisticamente entre cada fração proteica de todos os cereais estudados. ²Letras maiúsculas diferem estatisticamente entre a digestibilidade de todos os cereais estudados

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

Na relação entre as massas de cada fração em função da quantidade de proteína presente nas amostras, ficou demonstrado que a fração glutelina apareceu em percentuais semelhantes em aveia e trigo, enquanto que nas cultivares de arroz a variação foi entre 26 e 52 g.100g⁻¹. O arroz também foi o cereal que apresentou maiores quantidades de albumina (1,5 vezes, em média) e menores de prolamina (2 vezes, em média). O trigo possui quantidades elevadas de prolamina e glutelina, sendo baixas as quantidades de albumina e globulina, o que está associado às suas propriedades funcionais distintas dos demais cereais²⁴.

A metodologia adotada para determinação da solubilidade possui características inerentes que podem afetar a exatidão dos seus resultados, tais como granulometria da amostra, velocidade de rotação da centrífuga e tempo de centrifugação. Avaliar esses parâmetros comparados ao procedimento clássico³ pode auxiliar na obtenção de melhores correlações entre o fracionamento proteico e o seu conteúdo total. Não foram realizadas adaptações do método já citado para cada matriz, mas, ainda assim, os resultados obtidos apresentaram o perfil esperado, pois a maior parte da fração proteica do arroz foi solúvel em água (albumina), aveia em solução alcalina (glutelina) e trigo em água e solução alcalina.

Os valores de digestibilidade proteica *in vitro* dos cereais estudados estão apresentados na Tabela 2. O maior valor de digestibilidade foi encontrado para o arroz BR 424 e o menor para aveia UPFA Pampa. O valor de digestibilidade encontrado no arroz foi de

85 g.100g⁻¹²⁵, semelhante ao cultivar BR 424 e acima do BR 417. As três variedades estudadas apresentaram diferentes percentuais de digestibilidade entre si, demonstrando que, além de fatores ambientais, os genéticos também afetam o conteúdo proteico e a sua digestibilidade para esses cereais.

As digestibilidades das amostras de trigo apresentaram valores em torno de 73 g.100 g⁻¹, sendo que as variedades Safira e Pampeano não diferiram estatisticamente entre si, enquanto que a variedade Ônix foi ligeiramente inferior. Farinha de arroz, trigo e trigo integral apresentaram digestibilidade *in vitro* de 85, 86 e 84 g.100g⁻¹, respectivamente²⁵. O menor valor de digestibilidade foi encontrado para a aveia, cultivar UPFA Pampa, enquanto que, em outro estudo, as porcentagens de digestibilidade em cultivares de aveia UPF15, UPF16 e UFRGS14 foram de 80, 92 e 87 g.100g⁻¹, respectivamente⁴.

O baixo valor de digestibilidade encontrado em algumas amostras pode ser atribuído à presença de inibidores enzimáticos de proteases, que podem estar ativos nos cereais estudados que não foram submetidos a processo físico que ocasionasse desnaturação proteica. Os outros compostos associados que podem modificar e diminuir a digestibilidade são os carboidratos não digeríveis associados às proteínas presentes nas matrizes vegetais⁴.

Nos cereais, a atividade enzimática pode ser detectada durante a germinação precoce, sendo essencial para o crescimento e obtenção de energia²⁶. A Figura 1 representa os resultados referentes à atividade específica

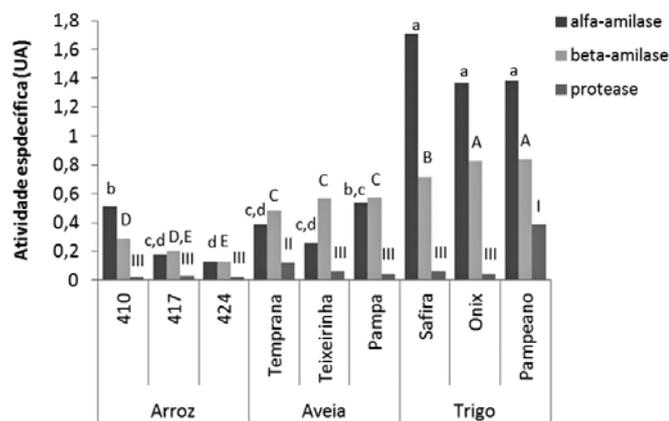


Figura 1. Atividade específica da α -amilase, β -amilase¹ e protease². UA = atividade enzimática específica

¹Letras minúsculas diferem estatisticamente entre os resultados da alfa-amilase, enquanto que letras maiúsculas diferem estatisticamente entre os resultados da beta-amilase. ²Números romanos diferem estatisticamente entre si

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

das enzimas presentes nos cereais e expressos em unidades de atividade específica (UA).

As três variedades de trigo apresentaram maior atividade de α -amilase e β -amilase do que as amostras de aveia e arroz, o que pode estar relacionado ao fato de esse cereal estar entre os mais susceptíveis à germinação e contaminação fúngica²⁷. Um estudo sobre a distribuição de alfa-amilase em diferentes frações de trigo permitiu concluir que o aumento do grau de extração da farinha ocasionava diminuição da atividade enzimática, demonstrando que essa enzima se encontra nas camadas mais externas do grão, como farelo e escutelo²⁸. A

atividade da beta-amilase aumentou com a germinação, sendo um bom indicador da capacidade de germinação de sementes de arroz armazenadas²⁶. Estes dados permitiram diagnosticar que o trigo, nas condições de armazenamento realizadas, parece ser o mais susceptível à germinação, pois apresentou a maior atividade de beta-amilase.

Comparado ao trigo, a atividade de enzimas amilolíticas na aveia foi menor, o que pode estar relacionado com os maiores teores de fibras e lipídios, dificultando a extração enzimática. As amostras de arroz apresentaram menor atividade de alfa e beta-amilase, sugerindo a presença de inibidores enzimáticos ativos, o que é bastante provável por tratar-se de amostras de grãos recém-colhidos (safra 2009); ao contrário das demais, cujos períodos de coleta foram anteriores.

A atividade específica de protease apresentou variações, sendo o trigo Pampeano, seguido pela aveia UPFA 22 Temprana, o que se destacou pelos maiores níveis de atividade. As variedades de arroz BR 410, BR 417 e BR 424, contrariamente, apresentaram baixa atividade destas enzimas.

Ao relacionar a fração proteica com os resultados de digestibilidade e solubilidade, constatou-se que as amostras de arroz, com menor teor de proteína solúvel (4,3 mg g⁻¹, em média), apresentaram maior digestibilidade e solubilidade. Isto está de acordo com os dados em que o arroz BR 424 possui as maiores quantidades de albumina e globulina. O aumento do teor de proteína solúvel em soluções aquosas apresentou uma correlação positiva com as atividades de alfa e beta-amilase e uma correlação negativa com a protease.

Tabela 3. Inibição da amilase fúngica, pelo sistema com etanol e tampão, com diferentes quantidades de extrato bruto para as variedades de trigo e aveia¹ e atividade inibitória específica²

| Sistema extração | % Inibição | | | | | |
|------------------|---------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|-------------------------|
| | Aveia | | | Trigo | | |
| | Pampa | Teixeirinha | Temprana | Safira | Ônix | Pampeano |
| Acetato | ND ³ | ND ³ | ND ³ | ND ³ | ND ³ | ND ³ |
| Fosfato | 22,1±0,87 ^{cde} | 10,3±3,40 ^e | 28,4±5,09 ^{bcd} | 17,9±0,00 ^d | 25,7±1,62 ^d | 19,4±2,16 ^d |
| Etanol | 45,9±4,93 ^{abcd} | 18,2±8,13 ^{de} | 61,8±1,30 ^a | 55,9±0,02 ^{ab} | 66,9±0,70 ^a | 37,2±1,19 ^{cd} |
| Sistema extração | Atividade inibitória específica | | | | | |
| | Aveia | | | Trigo | | |
| | Pampa | Teixeirinha | Temprana | Safira | Ônix | Pampeano |
| Fosfato | 2394 | 7377 | 3938 | 4914 | 5732 | 3908 |
| Etanol | 80985 | 98320 | 15591 | 20931 | 18923 | 17649 |

¹Resultados representam a média de três repetições. ²Atividade inibitória específica = %I min-1µg de proteína⁻¹.

³ND = Atividade inibitória não detectada

*Significativo a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

A extração de inibidores enzimáticos com etanol é usual na literatura¹⁴ e foi previamente testada com amostras de aveia e trigo, mostrando-se a mais eficiente, de acordo com a Tabela 3.

A maior capacidade de inibição de amilase fúngica foi observada em cultivares de aveia. O trigo frequentemente é relatado na literatura por apresentar contaminação por fungos de campo, sugerindo que a avaliação realizada está correlacionada com a resistência a esses contaminantes. Considerando que nesta etapa o inibidor é uma proteína contida num estado não purificado, foi definida a atividade inibitória específica como %I min⁻¹µg de proteína⁻¹, apresentada na Tabela 3. As maiores atividades específicas verificadas nos extratos proteicos corroboram com a verificação anterior, em que este sistema foi mais eficiente para extração. Os resultados sugerem que proteínas indesejáveis foram eliminadas ou não extraídas. Destacaram-se os extratos proteicos obtidos de aveia, que foram 2 vezes superiores à capacidade de inibição quando comparados com as amostras de trigo. Os inibidores enzimáticos presentes no arroz também podem ser capazes de reduzir a ação da enzima utilizada na degradação do amido, sendo que a metodologia de extração será posteriormente adaptada.

CONCLUSÃO

As amostras de aveia apresentam o maior teor de proteínas, com destaque para a cultivar UPFA Pampa, onde também é demonstrada uma relação inversa entre o teor de fibra e a digestibilidade dos cereais. A fração albumina é maior nas amostras de arroz, enquanto que na aveia predomina a proteína solúvel em meio alcalino, glutelina. No trigo, prolamina e glutelina constituem mais da metade do total de proteína solúvel. Nas cultivares de trigo, a atividade enzimática de α-amilase e β-amilase é em média 4 vezes maior que nas amostras de aveia e arroz.

A caracterização da fração proteica permite observar que a utilização da fração solúvel em etanol (prolamina) é promissora para o estudo de inibidor enzimático de amilase, sendo o trigo mais susceptível à contaminação por espécies fúngicas.

AGRADECIMENTOS

Ao IRGA, UPF e OR Melhoria de Sementes Ltda. pelo material experimental. À CAPES pela bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS

1. McKeivith B. Nutritional aspects of cereal. *Nutr Bull*. 2004;29(2):111-42.
2. Mackintosh SH, Meade SJ, Healy JP, Sutton KH, Larsen NG, Squires AM, et al. Wheat glutenin assemble into a nanostructure with unusual structural features. *J Cereal Sci*. 2009;49:157-62.
3. Osborne TB. The vegetable proteins. London: Longmans; 1924. p. 124.
4. Pedó I, Sgarbieri VC. Caracterização química de cultivares de aveia (*Avena sativa* L.). *Ciênc Tecnol Aliment*. 1997;17(2):78-83.
5. Fernandes LP, Ulchoa CJ, Asquieri ER, Monteiro VN. Produção de amilases pelo fungo *Macrophomina Phaseolina*. *Rev Eletr Farm*. 2007;IV:43-5.
6. Calda ED, Silva SC, Oliveira JN. Aflatoxinas e ocratoxina A em alimentos e riscos para a saúde humana. *Rev Saúde Publ*. 2002;36(3):319-23.
7. Figueira ELZ, Blanco-Labra A, Gerage AC, Ono EYS, Mendiola-Olaya E, Ueno Y, ET al. New amylase inhibitor present in corn seeds active *in vitro* against amylase from *Fusarium verticillioides*. *Plant Dis*. 2003;87(3):233-40.
8. Zhou Z, Robards K, Heliwell S, Blanchard C. Composition and functional properties of rice. *Int J Food Sci Tech*. 2002;37:849-68.
9. Association of Official Analytical Chemists [AOAC]. Official Methods of Analysis of International. Estados Unidos; 2000. CD-ROM.
10. Osborne DR, Voogt P. The analysis of nutrient in foods. London: Academic Press;1978. p. 251.
11. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Andall RJ. Protein measurement with the folin-phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193:265-75.
12. Sgarbieri VC. Proteínas em Alimentos Proteicos: Propriedades, degradações, modificações. São Paulo (SP): Livraria Varela; 1996. p. 517.
13. Baraj E, Garda-Bufferon J, Badiale-Furlong E. Effect of Deoxynivalenol and T-e Toxin in Malt Amylase Activity. *Braz Arch Biol Tecnol*. 2010;53(3):505-11.
14. Mosca M, Boniglia C, Carratu B, Giammarioli S, Nera V, Sanzini E. Determination of alpha-amylase inhibitor activity of phaseolamin from kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) in dietary supplements by HPAEC-PAD. *Anal Chim Acta*. 2008;617:192-5.
15. Marsaro-Júnior AL, Lazzari SMN, Figueira ELZ, Hirooka E. Inibidores de amilase em híbridos de milho como fator de resistência a *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *Neotrop Entomol*. 2005; 34(3):443-50.
16. Silva RF, Ascheri JLR, Pereira RGFA. Composição centesimal e perfil de aminoácidos de arroz e pó de café. *Rev Aliment Nut*. 2007;18(3):325-30.
17. Brasil. Resolução-RDC nº 263 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 22 set.2005. Seção I, pg. 368.
18. Simioni D, Gutkoski LC, Elias MC, Deuner CC, Pagnussatt FA, Oliveira M. Secagem intermitente e armazenamento de aveia cultivar UPFA 20 Teixeira. *Rev Bras Agrociênc*. 2007;13(2): 211-7.

19. Gutkoski LC, Pagnussatt FA, Spier F, Pedó I. Efeito do teor de amido danificado na produção de biscoitos tipo semi-duros. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2007;27(1):787-92.
20. Badiale-Furlong E, Gonçalves AA, Souza-Soares LA. Enzymatic determination of soluble and insoluble dietary fiber in rice and wheat bran. *Arch Latinoam Nutr*. 1998;48(4):35-44.
21. Dors GC, Pinto RH, Badiale-Furlong E. Influência das condições de parboilização na composição química do arroz. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2009; 29(1):219-24.
22. Walter M, Marchezan E, Ávila LA. Arroz: composição e características nutricionais. *Ciênc. Rural*. 2008;38:1184-92.
23. Liu ZH, Cheng F, Zhang G. Grain phytic acid content in japonica rice as affected by cultivar and environment and its relation to protein content. *Food Chem*. 2005; 89(1):49-52.
24. Mendichi R, Fisichella S, Savarino A. Molecular weight, size distribution and conformation of Glutenin from different wheat cultivars by SECeMALLS. *J Cer Sci*.2008;48: 486-93.
25. Wolzak A, Bressani R, Brenes RG. A comparison of in vivo and *in vitro* estimates of protein digestibility of native and thermally processed vegetable proteins. *Plants food Hum Nutr*. 1981;31(1):31-43.
26. Nandi S, Das G, Sen-Mandi S. β -amylase activity as an Index for germination potential in rice. *Ann Bot*. 1995;75:463-7.
27. Calori-Domingues MA, Almeida RR, Tomiwaka MM, Gallo CR, Gloria EM, Dias CTS. Ocorrência de deoxinivalenol e trigo nacional e importado utilizado no Brasil. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2007;27(1):181-5.
28. Rani KU, Prasada-Rao UJS, Leelavathi K, Haridas-Rao P. Distribution of Enzymes in Wheat Flour Mill Streams. *J Cer Sci*. 2001;34:233-42.