

Adriano Farina da Cunha

ANÁLISE DO PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E DA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE EM SEMENTES DE TRIGO *Triticum aestivum* L. E DE CEVADA
Hordeum vulgare EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE GERMINAÇÃO

Dissertação apresentada como requisito parcial para a
obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos, pelo
Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da
Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS.

Orientador: Prof^ª. Dra. Juliana de Castilhos

Coorientador: Prof^ª. Dra. Rochele Cassanta Rossi

São Leopoldo

2014

Adriano Farina da Cunha

ANÁLISE DO PERFIL DE COMPOSTOS FENÓLICOS E DA ATIVIDADE
ANTIOXIDANTE EM SEMENTES DE TRIGO *Triticum aestivum* L. E DE CEVADA
Hordeum vulgare EM DIFERENTES ESTÁGIOS DE GERMINAÇÃO

Dissertação apresentada como requisito parcial
para a obtenção do título de Mestre em Nutrição e
Alimentos, pelo Programa de Pós-Graduação em
Nutrição e Alimentos da Universidade do Vale do
Rio dos Sinos – UNISINOS.

Aprovado em 30 de julho de 2014.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Juliana de Castilhos - UNISINOS

Profa. Dra. Carolina Didonet Pederzoli - UNISINOS

Profa. Dra. Denize Righetto Ziegler - UNISINOS.

C972a

Cunha, Adriano Farina da

Análise do perfil de compostos fenólicos e da atividade antioxidante em sementes de trigo *Triticum eastivum* L. e de cevada *Hordeum vulgare* em diferentes estágios de germinação / por Adriano Farina da Cunha. -- São Leopoldo, 2014.

61 f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) – Universidade do Vale do Rio dos Sinos, Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, São Leopoldo, RS, 2014.

Orientação: Prof^a. Dr^a. Juliana de Castilhos; Coorientação: Prof^a. Dr^a. Rochele Cassanta Rossi, Escola de Saúde.

1.Fitoquímicos. 2.Trigo – Semente. 3.Cevada – Semente. 4.Germinação. 5.Brotos (Plantas). 6.Alimentos crus. 7.Alimentos naturais. 8.Antioxidantes. I.Castilhos, Juliana de. II.Rossi, Rochele Cassanta. III.Título.

CDU 581.19

633.11:581.48

633.16:581.48

581.142

Catálogo na publicação:
Bibliotecária Carla Maria Goulart de Moraes – CRB 10/1252

*À Suprema Personalidade de Deus,
Sri Krishna.*

*À Mataji Bhumi devi dasi e aos queridos
Hari Kauí e Yan Vivasvan.*

Agradecimentos

Ao mestre espiritual Srila Bhakti Aloka Paramadwaiti Swami Maharaj, e aos Siksas Gurus, Mangala Maharaj e Swami Puri Maharaj, por constantemente abrirem meus olhos com a tocha do conhecimento. À eles minhas mais humildes e respeitadas reverências.

As profas. orientadoras, Dra. Juliana de Castilhos e Dra. Rochele Rossi, e as bolsistas colaboradoras Roberta Ströher, Cecília Müller e Vitória Motin. Sem elas seria praticamente impossível a difícil tarefa de tornar possível o indiscutível, embora mínimo, avanço científico, através das humildes e limitadas mãos de um mero profissional de cozinha.

À profa. Ms. Isabel Kasper Machado pelo incentivo e encorajamento no momento certo para que houvesse o regresso ao universo acadêmico através do ingresso neste Mestrado.

À todos os professores, colegas e colaboradores do Instituto Tecnológico em Alimentos para Saúde, ITT-Nutrifor, por compartilharem intermináveis conhecimentos, e proporcionarem um ambiente científico agradável para o avanço científico. Em especial as profas. Dra. Denize Ziegler e Dra. Renata Ramos, que desde o período da graduação em Gastronomia vieram moldando este novo perfil acadêmico, incentivando-o a novos patamares.

A grande companheira Daniela Ferreira, Mãe Bhumi, por dar cor aos nossos dias, por ser tão carinhosa e atenciosa com todos aqueles que a rodeiam e, principalmente por me auxiliar a compreender e desenvolver o Amor Supremo à todas as entidades vivas.

Aos meus filhos Hari Kauí, por transmitir delicadeza e carisma e nos apresentar uma nova forma de encarar o universo, e Yan Vivasvan, por sua tranquilidade, olhar fixo e maravilhoso sorriso.

Aos meus pais, Idelmar e Enedi, por demonstrarem em todas as suas atitudes, em um ambiente familiar seguro e de muita amizade, honestidade, seriedade, profissionalismo, amor e respeito à Deus e aos demais.

A antropóloga e profa. Dra. Regina Müller, por conceder a honra do convívio entre os indígenas da tribo Asurini do Xingú, e nos permitir compreender a Sabedoria dos Antigos.

Ao prof. Dr. Paulo Mário, através do seu Projeto de Cozinha e Fogão Solar, por nos ensinar a tênue diferença para encontrar a sabedoria e o conhecimento, e que é o nosso querido pai Sol que nos orienta, dá força e sustenta todos os dias.

Ao Pesquisador de Sementes Genéticas da Embrapa, Luiz Eichelberger, por oportunizar as sementes utilizadas neste estudo e, acima de tudo, incentivar a pesquisa acadêmica.

A todos os queridos devotos da Consciência de Krishna, firmes irmãos espirituais, que nos ensinam os caminhos para o serviço e a gigantesca caminhada de regresso ao Eterno.

Aos amigos Gilvan Bertinati, Aldo Floris, Anderson Silva, Arika, Fábio Mierlo, Fábio Hiran, Fábio Arenare, Marcelão, Leandro Arenare, Eduardo Alt, Magda Correa, Ana Paula Ferrari e Ariane Kovalewski pela amizade e companheirismo.

A querida amiga irmã, Daniela Albuquerque, por nos ensinar sobre o vegetarianismo, o yoga e a arte onipresente dentro de todos nós, todos tão importantes para a nossa caminhada.

A numerosa e fabulosa família Farina, em especial aos primos irmãos, e ao meu irmão, Jocimar Farina, Giane Guerra e a linda princesinha, Atena, por estarem sempre presentes.

A querida cunhada, Cláudia Ferreira, por todo o apoio prestado e as inúmeras correções ortográficas, e aos sogros, Dilson e Marília por estarem sempre dispostos.

A minhas queridas afilhadas, Manuella e Isabella, por me despertarem mais para a simplicidade e magnitude do universo feminino, e ao querido afilhado emprestado Julian.

Aos compadres, Nei e Sandra, Altair e Carla, Bruno e Luciana e Alex e Janice por estarem tão firmes na caminhada matrimonial, por demonstrarem sempre bons exemplos nas tarefas paternas e por estarem ativamente presentes durante a realização desse projeto.

Aos profissionais e as empresas Hotel Casa da Montanha, Hotel Ritta Höppner, Restaurante Galangal, Cantina Delícias Gourmet, Chocolates Praver e Casa da Velha Bruxa, por compreenderem as necessidades exigidas para a conclusão deste projeto, e, oportunizarem, mesmo que indiretamente, a realização deste curso.

Por fim, à todas as Escrituras Sagradas genuínas que permitiram que o conhecimento das eras anteriores, dos reinos superiores e inferiores, pudessem ser transmitidos para todos aqueles que possuem Fé.

“Eis que vos tenho dado todas as ervas que produzem sementes, as quais se acham sobre a face de toda a terra, bem como todas as árvores em que há fruto que dê semente; ser-vos-ão para mantimento”.

Gênesis, 1, 29.

“Mas eu vos digo: Não mateis nem a homens nem a animais, nem sequer o alimento que levais à vossa boca. Pois se comeis alimento vivo, o mesmo vos vivificará; (...). Pois a vida vem só da vida, e da morte vem sempre a morte. Porque tudo que mata vossos alimentos, mata também vossos corpos. E tudo quanto mata vossos corpos mata também vossas almas. E vossos corpos se convertem no que são vossos alimentos, como vossos espíritos se convertem no que são vossos pensamentos. (...) Não sejais como o louco agricultor que semeou em seu campo sementes cozidas, congeladas e decompostas e chegou o outono e seus campos não deram nada. E grande foi sua aflição. Senão, sede como aquele agricultor, que semeou em seu campo semente viva, e cujo campo deu espigas vivas de trigo, pagando-lhe cem vezes mais pelas sementes que plantou. Pois em verdade vos digo, vivei só do fogo da vida, e não prepareis vossos alimentos com o fogo da morte, que mata vossos alimentos, vossos corpos e também vossas almas.”

Jesus Cristo, em O Evangelho Essênio da Paz

"Os alimentos apreciados por aqueles que estão no modo da bondade aumentam a duração da vida, purificam a existência e dão força, saúde, felicidade e satisfação. Estes alimentos são suculentos, gordurosos, saudáveis e agradáveis ao coração".

Bhagavad-gita, Capítulo 17, Verso 8

"Sai da superfície
Mergulha no Profundo
Conecta ao âmago do ser
Enxerga daí, além do que teus olhos podem ver..."

Sai da superfície
Ou..
Vai ficando aí no raso
Uma hora o susto te empurra para a coragem de viver..."

Autor desconhecido.

RESUMO

Inúmeros benefícios para a saúde humana podem ser adquiridos na dieta através de alimentos com teores substantivos de compostos bioativos. Dentre os alimentos que mais se destacam, estão aqueles que possuem níveis significativos de vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E (α -tocoferol), carotenóides e compostos fenólicos, em especial os flavonóides. Provenientes dos metabólitos secundários das plantas, estes compostos são capazes de combater reações em cadeia danosas ao organismo humano. De acordo com a literatura, é possível encontrar inúmeras propriedades benéficas extraídas em sementes de plantas germinadas, capazes de retardar ou impedir os danos oxidativos nas células causados pela ação dos radicais livres. Processos complexos ocorrem durante o evento da germinação, entre eles a reorganização de membranas e organelas, o aumento na atividade respiratória, a síntese e o consumo de ATP, a síntese de proteínas e de mRNAs e a ativação de enzimas. O objetivo deste estudo foi analisar o perfil de compostos fenólicos e a atividade antioxidante em grãos comestíveis de cereais de trigo (*Triticum aestivum* L.) e cevada (*Hordeum vulgare*), em diferentes dias de germinação, utilizando as técnicas de determinação do conteúdo de compostos fenólicos, e da atividade antioxidante pelos radicais ABTS (ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico) e DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil). Os resultados mostraram que a germinação aumentou os níveis de compostos fenólicos totais, bem como a atividade antioxidante das sementes, nos diferentes dias do processo de germinação. Registros de períodos de picos foram significativos para ambas amostras a partir do quarto dia de germinação. É possível perceber que o processo de germinação de sementes é uma eficaz técnica de manipulação para as sementes com a intenção de obter compostos bioativos importantes para manutenção da saúde humana.

Palavras-chave: sementes, brotos, antioxidantes, compostos fenólicos, germinação.

ABSTRACT

Numerous benefits to human health can be acquired in the diet through foods with significant amounts of bioactive compounds. Among the foods with the best performance are those with significant levels of vitamin C (ascorbic acid), vitamin E (α -tocopherol) and carotenoids phenolic compounds, particularly the flavonoids. From the secondary plant metabolites, these compounds are able to combat harmful reactions in the human body chain. According to the literature, one can find numerous beneficial properties extracted seeds germinated plants, able to delay or prevent oxidative damage to cells caused by the action of free radicals. Complex processes occurring during germination event, including reorganization of the membrane and organelles, increasing the respiratory activity, synthesis and consumption of ATP, protein synthesis, and mRNAs and activation of enzymes. The aim of this study was to analyze the profile of phenolic compounds and antioxidant activity in edible seeds of cereals wheat (*Triticum eastivum L.*) and barley (*Hordeum vulgare*), on different days of germination, using the techniques of determination of total phenolic compounds, and the antioxidant activity from the ABTS (ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico) e DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) radicals. Our results showed that germination increased the levels of phenolic compounds, as well as the antioxidant activity of the seeds in the different days of the processo of germination. Records peak periods were significant for both samples from the fourth day of germination. The process of seed germination is an effective technique for handling the seeds with the intention of getting important bioactive compounds for maintaining human health.

Keywords: seeds, sprouts, antioxidants, phenolic compounds, germination.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Subdivisão de compostos bioativos presentes em alimentos de origem vegetal	21
Figura 2 - Exemplo de desenvolvimento pós-embrionário de <i>Arabidopsis thaliana</i>	26
Figura 3 - Esquema hipotético contendo os principais eventos de germinação e os períodos de mobilização de reservas de espécies que adotam diferentes tipos de sistemas de desenvolvimento embrionário	30
Figura 4 - Eventos metabólicos associados à embebição da semente, resultando na germinação ou na manutenção da dormência no embrião.....	31
Figura 5 - Representação esquemática do padrão trifásico de absorção de água durante a embebição de sementes em relação aos conteúdos aproximados de água em que os diferentes eventos do processo germinativo são iniciados.....	32
Figura 6 - Plântulas de milho (<i>Zea mays</i>) (A e B) e feijão (<i>Phaseolus vulgaris</i>) (C e D) cultivadas à luz (A e C) ou no escuro (B e D).....	37

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1. Teor total de compostos fenólicos em sementes e brotos de trigo (*Triticum eastivum*) e cevada (*Hordeum vulgare*), expressos em equivalentes de ácido gálico (mg) por g de matéria seca.....51
- Tabela 2. Atividade antioxidante do radical ABTS.⁺ e do radical DPPH em sementes e brotos de trigo (*Triticum eastivum*) expressos em mg de Trolox por g de matéria seca52
- Tabela 3. Atividade antioxidante do radical ABTS.⁺ e do radical DPPH em sementes e brotos de cevada (*Hordeum vulgare*) expressos em mg de Trolox por g de matéria seca53

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Principais compostos de reserva e as características relevantes para as suas funções nas sementes.....	29
Quadro 2 - Glossário de termos envolvendo o processo de germinação.....	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 FITOQUÍMICOS E O ESTRESSE OXIDATIVO.....	19
2.1 Radicais Livres e o Estresse Oxidativo	19
2.2 Antioxidantes.....	20
2.3 Metabólitos Secundários.....	21
2.4 Compostos Bioativos.....	22
2.5 Biodisponibilidade dos Compostos Bioativos.....	24
3 FISIOLOGIA VEGETAL E O PROCESSO DE GERMINAÇÃO	26
3.1 Crescimento e Desenvolvimento Vegetal	26
3.2 Dormência das Sementes	27
3.3 Reserva das Sementes.....	28
3.4 Mobilização das Reservas.....	30
3.5 Embebição	31
3.6 Germinação	33
3.7 Fotossíntese	36
3.8 Escotomorfogênese	37
3.9 Enzimas	38
4 PESQUISAS EM GERMINAÇÃO.....	41
5 ALIMENTAÇÃO VIVA.....	44
5.1 Crudivorismo.....	44
5.2 Alimentação Viva	44
6 MATERIAIS E MÉTODOS	47

6.1 Materiais	47
6.1.1 Processo de Germinação das Sementes	47
6.2 Obtenção do Extrato Metanólico	47
6.2.1 Determinação do Teor de Compostos Fenólicos Totais	48
6.2.2 Determinação da Atividade de Captura do Radical ABTS.....	48
6.2.3 Determinação da Atividade de Captura do Radical DPPH.....	48
6.3 Análise Estatística	49
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	50
7.1 Compostos Fenólicos Totais	50
7.2 Atividade Antioxidante.....	51
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	54
REFERÊNCIAS	56

1 INTRODUÇÃO

Cereais são a cultura dominante na agricultura mundial, com um total de 2500 milhões de toneladas colhidas ao redor do mundo no ano de 2011, sendo a principal fonte de calorias e proteínas para as dietas dos seres humanos. (LAFIANDRA; RICCARDI; SHEWRY, 2014).

O consumo de cereais integrais, legumes, frutas e hortaliças vem, ao longo dos anos, sendo amplamente associado a uma dieta benéfica e saudável. Além dos benefícios nutritivos provenientes dos macro e micro nutrientes, diferentes substâncias biologicamente ativas, dentre as quais são conhecidas os compostos fitoquímicos ou compostos bioativos, desempenham importantes funções. (HORST; LAJOLO, 2012). Grande parte dos benefícios da ingestão destes compostos estão atribuídos aos metabólitos secundários existentes nas plantas, tais como a vitamina C (ácido ascórbico), a vitamina E (α -tocoferol), os carotenóides e os compostos fenólicos, em especial os flavonóides, pois estes são altamente necessários para o acontecimento de reações naturais de defesa das plantas contra o ambiente. (SILVA et al., 2010).

Amplamente distribuídos em alimentos de origem vegetal, os compostos bioativos possuem potentes capacidades antioxidantes capazes de reduzir danos oxidativos nas células causados pela ação de radicais livres em desequilíbrio. Estudos epidemiológicos indicam que a alta ingestão de produtos vegetais está relacionada com a redução do risco de múltiplas doenças crônicas, tais como câncer, doenças inflamatórias e doenças cardiovasculares (KRISHNAIAH; SARBATLY; NITHYANANDA, 2011), e confirmam que antioxidantes exógenos, especialmente fornecidos pelos alimentos, são essenciais para neutralizar o estresse oxidativo nas células, principalmente na forma de compostos fenólicos, ácido ascórbico e carotenóides. (SILVA et al., 2010).

Nos últimos 20 anos, a busca de antioxidantes naturais tornou-se um grande desafio para a pesquisa científica e industrial. Todavia, o conhecimento do poder antioxidante de moléculas, extratos vegetais e dos alimentos não encontram-se satisfatoriamente desvendados, fazendo-se necessário maiores estudos na área em prol de melhorias para a nutrição humana, em especial, no fornecimento de uma fonte de alimento com perfis antioxidantes em medidas quantitativa e qualitativa adequadas. (LAGUERRE; LECOMTE; VILLENEUVE, 2007).

Recentes pesquisas científicas sugerem grandes benefícios no consumo de sementes recém-germinadas para a saúde humana ao demonstrarem que o processo de germinação gera uma excelente fonte de compostos fenólicos e altas capacidades antioxidantes, apontando, assim, como uma importante alternativa para uma alimentação nutritiva. (GUAJARDO-FLORES et al., 2013; GUO et al., 2012; LIU et al., 2011; PAŠKO et al., 2009; LÓPEZ-AMORÓS; HERNÁNDEZ; ESTRELLA, 2006).

Segundo Andersen, Koehler e Somoza (2011), estudos epidemiológicos garantem que o consumo de grãos integrais auxiliam na redução do risco de diversificadas doenças, e muitos esforços vêm sendo empregados para melhorar a qualidade nutricional de grãos de cereais, sendo a germinação uma das estratégias, devido a melhorias na biodisponibilidade natural de compostos fenólicos dos grãos.

Khole et al. (2014) afirma inúmeras propriedades benéficas extraídas em sementes de alimentos germinadas quando comparadas a sementes não germinadas, e relata estudos demonstrando melhora na digestão de proteínas *in vitro*, diminuição nos níveis de ácidos graxos saturados totais, triglicerídeos, entre outros, melhora na qualidade nutricional, redução do teor de ácido fítico, maior biodisponibilidade de ferro, redução nos níveis de açúcar no sangue e colesterol em pacientes diabéticos, entre outras.

Estudos recentes garantem que a germinação em alhos maduros seja uma maneira útil para melhorar o potencial antioxidante do alho, estimulando a produção de vários fitoquímicos que melhoram a saúde. (ZACAROVA, 2014). Segundo o autor, no momento em que o talo esverdeado de alhos idosos começam a brotar, a capacidade antioxidante é ainda maior do que quando fresco. Os autores acreditam que, ao nascerem essas estruturas, novos compostos são criados, intensificando a presença de substâncias capazes de nos proteger contra o câncer, aumentar a imunidade e contribuir para a saúde cardiovascular.

De acordo com Pajak et al. (2014), uma excelente alternativa para alimentos de origem vegetal são as sementes recém-germinadas, que podem ser consumidas na forma fresca em todos os momentos do ano, as quais possuem níveis significativamente altos de ácidos fenólicos e flavonóides, bem como atividade antioxidante elevada. Contudo, o conteúdo e a composição dos compostos bioativos em brotos de sementes germinadas depende de muitos fatores, entre eles, as condições climáticas e agronômicas de crescimento, condições de armazenamento dos grãos, nível de maturidade e suas variedades. (CEVALLOS-CASALS;

CISNEROS-ZEVALLOS, 2010). Recentes pesquisas demonstram que alterações nos processos de manipulação, como por exemplo, o processamento, a secagem e o cozimento a altas temperaturas aos quais os alimentos são submetidos, podem afetar as quantidades de vitaminas e compostos fenólicos nos alimentos.(MA et al., 2013; VADIVEL et al., 2011; XU; CHANG, 2008; SENSOY et al., 2006).

Minimizar perdas ou maximizar a presença de compostos bioativos benéficos, através de diferentes técnicas de processamento e manipulação nos alimentos, a fim de influenciar os teores nutritivos e fitoquímicos dos alimentos, e conseqüentemente suas capacidades antioxidantes, torna-se imprescindível para uma dieta segura, em especial nos dias atuais, devido a grande prevalência de doenças degenerativas.

O objetivo deste estudo foi analisar o perfil de compostos fenólicos e a atividade antioxidante em sementes de trigo (*Triticum eastivum* L.) e cevada (*Hordeum vulgare*), em diferentes etapas do processo de germinação.

2 FITOQUÍMICOS E O ESTRESSE OXIDATIVO

2.1 Radicais Livres e o Estresse Oxidativo

De acordo com Halliwell (2007), o termo radical livre refere-se a átomos ou moléculas altamente reativos contendo um número ímpar de elétrons, capazes de estimular reações em cadeia em série e formar novos radicais livres a cada etapa. A presença deste radical livre, ou seja, deste não-emparelhamento de elétrons da última camada, é responsável por conferir alta reatividade a átomos ou moléculas, tendo como biomoléculas alvo as membranas celulares, proteínas, DNA e RNA. (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

A formação dos radicais livres acontece naturalmente através da respiração celular e outras reações oxidativas que ocorrem nas células aeróbicas (SIKORA et al., 2008), no qual fazem parte um grupo de espécies reativas denominados de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO), do inglês, *Reactive Oxygen Species* (ROS). (HALLIWELL 2007).

De acordo com Halliwell (2011), as ERO referem-se ao termo coletivo em que encontram-se os radicais de oxigênio, incluindo a hidroxila (OH.) e o superóxido (O₂⁻) e alguns outros não-radicais derivados do oxigênio, tais como peróxido de hidrogênio (H₂O₂), que podem facilmente gerar radicais livres e/ou causar danos oxidativos.

As ERO, ou radicais livres, são substâncias perigosas produzidas pelo corpo, juntamente com as toxinas e resíduos formados durante os processos metabólicos normais do organismo. O estresse oxidativo está relacionado com um aumento na produção de ERO, ou em uma diminuição significativa na capacidade de defesa antioxidante do corpo, permitindo que os radicais livres danifiquem funções e uma variedade de componentes essenciais do corpo. (MEKHA, et al. 2014).

Segundo afirma Mekha et al. (2014), a geração de ERO sob variadas condições são capazes de oxidar ácidos nucleicos, proteínas e lipídios, havendo uma ligação estreita entre o envelhecimento e o estresse oxidativo causado pelos radicais livres.

É o excesso de ERO, em comparação com a capacidade antioxidante do organismo, o responsável por gerar um desequilíbrio no organismo capaz de acarretar em um estresse oxidativo, causando danos nas células e nos tecidos do organismo, que por sua vez aceleram o

processo de envelhecimento e contribuem para o aparecimento de inúmeras doenças, tais como, inflamações, tumores, mal de Alzheimer, doenças cardiovasculares, entre outras. (SIKORA et al., 2008).

Este dano oxidativo, causado pelo excesso de radicais livres no organismo, é geralmente combatido por substâncias com capacidades antioxidantes, naturalmente produzidas pelo corpo ou absorvidas através da dieta, das quais destacam-se as vitaminas α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno (pro-vitamina A), ácido ascórbico (vitamina C) e os compostos fenólicos, onde encontram-se os flavonóides e os poliflavonóides. (PIETTA, 2000).

Já nas plantas, o estresse oxidativo é causado por uma ampla gama de fatores abióticos e bióticos, incluindo salinidade, colonização de patógenos, estresse UV, atividade herbicida e deficiência de oxigênio. Estes, por sua vez, afetam processos bioquímicos e fisiológicos que afetam o desenvolvimento em plantas de forma individual ou em grupos, que, sob estresse oxidativo, produzem alguns mecanismos de proteção contra as ameaças. Além dos antioxidantes enzimáticos, tais como, superóxido dismutase, catalase e peroxidase, a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) também são impedidas por um grupo de sistema antioxidante não enzimático - os compostos de baixa massa molecular -, tais como a glutathione, o ácido ascórbico, α -tocoferol, carotenóides e os compostos fenólicos. (WAŚKIEWICZ; BESZTERDA; GOLINSKI, 2014).

2.2 Antioxidantes

Segundo Halliwell (2007) podemos considerar como antioxidante "qualquer substância que possa retardar, impedir ou eliminar os danos oxidativos de uma molécula-alvo", servindo, portanto, para controlar os níveis de radicais livres e de outras espécies reativas no organismo. Em outras palavras, podem ser consideradas moléculas que protegem um alvo biológico contra danos oxidativos nas células e nos tecidos, causados principalmente pelas ERO.

De acordo com Halliwell (2007), a única maneira de organismos aeróbicos sobreviverem em contato com o oxigênio danoso, é devido a presença das defesas antioxidantes, que podem ser tanto sintetizadas *in vivo* ou através da dieta. Ainda, segundo o autor, antioxidantes, assim como o estresse e o dano oxidativo, são termos amplamente usados, mas surpreendentemente difíceis de definir com clareza.

Entretanto, embora seja de conhecimento que os antioxidantes combatem os radicais livres nas células e são fundamentais para uma via aeróbica, Halliwell (2011) alerta para a necessidade de se fazer um balanço dos princípios fundamentais entre as espécies reativas e os antioxidantes, uma vez que determinadas espécies reativas começam a aparecer com possíveis funções úteis ao organismo e devem ser uma das principais prioridades das pesquisas nos próximos anos.

Todavia, a utilização dos antioxidantes já podem ser observadas largamente na tecnologia de alimentos, como por exemplo, na inibição da peroxidação lipídica, e conseqüentemente, no ranço dos alimentos, por curadores em museus para a preservação de diferentes exposições, por cientistas para controlar a polimerização na fabricação de borrachas, plásticos e tintas e na proteção contra os raios ultravioletas, no desenvolvimento de melhores gasolinas e óleos lubrificantes, entre tantos outros. (Halliwell, 2011).

2.3 Metabólitos Secundários

Sabe-se que os vegetais possuem dois tipos de metabólitos: primários e secundários, e enquanto os metabólitos primários respondem pela sobrevivência do vegetal, exercendo função ativa nos processos de fotossíntese, respiração e assimilação de nutrientes; os metabólitos secundários estão intimamente associados à estratégias de defesa das plantas. (NASS, 2007). Como parte do metabolismo secundário das plantas encontram-se os compostos fenólicos, sendo estes os principais responsáveis em fornecer funções essenciais para o crescimento e a reprodução vegetal. (SONG et al., 2010).

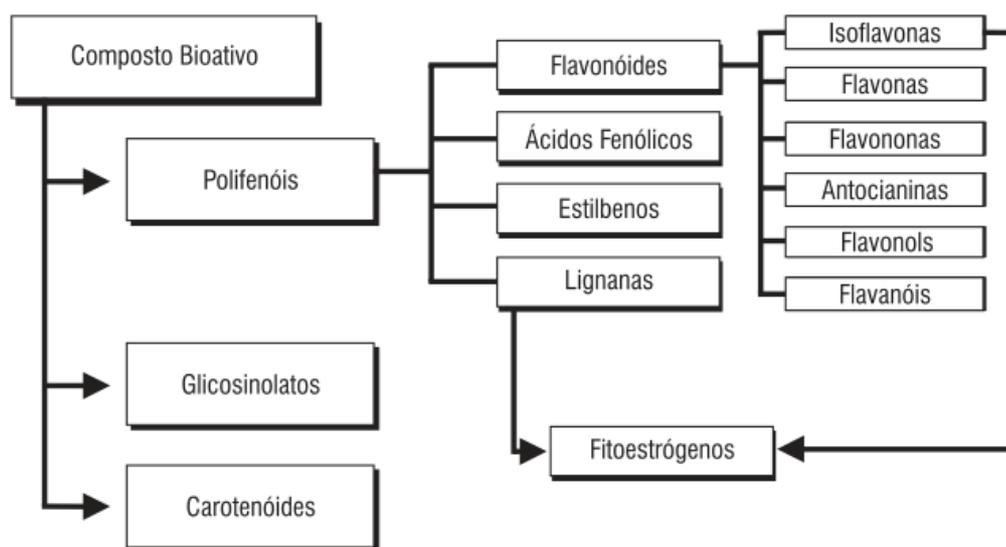
De acordo com Taiz e Zeiger (2009) os vegetais produzem grande variedade de compostos orgânicos que parecem não ter função direta no seu crescimento e desenvolvimento, e a estas substâncias denominam-se metabólitos secundários. Diferem dos metabólitos primários (aminoácidos, nucleotídeos, açúcares e lipídeos) por apresentarem distribuição restrita no reino vegetal, ou seja, metabólitos secundários específicos são restritos a uma espécie vegetal ou a um grupo de espécies relacionadas, enquanto os metabólitos primários são encontrados em todo o reino vegetal.

Em geral, os metabólitos secundários não apresentam papéis reconhecidos diretos nos processos de fotossíntese, respiração, assimilação de nutrientes, síntese de proteínas, carboidratos ou lipídeos, entre outros, e estão mais relacionados com funções ecológicas importantes nos vegetais, tais como proteger as plantas contra herbívoros e microorganismos patogênicos, agir como atrativos através do odor, cor e sabor, para animais polinizadores e dispersores de sementes, e também por apresentar funções importantes, como sustentação estrutural, no caso da lignina, ou pigmentos, como as antocianinas. Os três grupos principais conhecidos de metabólitos secundários são os terpenos, compostos fenólicos e os compostos nitrogenados. (TAIZ; ZEIGER, 2009).

2.4 Compostos Bioativos

Os compostos bioativos, dentre os quais encontram-se os polifenóis, fazem parte do extenso grupo presente em alimentos de origem vegetal (Figura 1), e possuem capacidade de agir tanto na etapa de iniciação como na propagação do processo oxidativo. (SHAHIDI et al., 1992). Recebem grande atenção nos estudos por seus numerosos efeitos biológicos, como o sequestro de espécies reativas de oxigênio, a modulação das atividades de enzimas específicas e a atuação como agente antibiótico, antialérgico e anti-inflamatório. (MANACH et al., 2005).

Figura 1. Subdivisão de compostos bioativos presentes em alimentos de origem vegetal.



Fonte: Horst e Lajolo, 2012.

Os ácidos fenólicos são, ao todo, responsáveis por cerca de um terço do consumo total da dieta, enquanto considera-se os flavonóides os responsáveis pelos dois terços restantes. (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000). Do ponto de vista químico, os ácidos fenólicos caracterizam-se por ter um anel benzênico, um grupamento carboxílico e um ou mais grupamentos de hidroxila e/ou metoxila na molécula, conferindo propriedades antioxidantes tanto para os alimentos como para o organismo. Já os flavonóides compõem o grupo mais comum de polifenóis vegetais, sendo fortemente conhecidos por fornecer sabor e cor à frutas e legumes. (ROSS, 2002). As principais classes de polifenóis são definidas de acordo com a natureza de seu esqueleto carbônico, e estão classificadas em ácidos fenólicos, flavonóides e os menos comuns estilbenos e lignanas. (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000).

As principais fontes alimentares dos polifenóis são encontradas em hortaliças, leguminosas, frutas, cereais, chás, cacau, vinho, suco de frutas e soja (HORST; LAJOLO, 2012; SCALBERT; WILLIAMSON, 2000), e em conjunto com outros agentes antioxidantes, como a vitamina C, a vitamina E e os carotenóides, protegem o organismo contra o estresse oxidativo, prevenindo-o de doenças como câncer, cardiovasculares, inflamação, entre outros. (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000).

Segundo Scalbert e Williamson (2000) a estrutura química dos polifenóis, por sua vez, afeta suas propriedades biológicas, tais como, biodisponibilidade, atividades antioxidantes, específicas interações com receptores celulares e enzimas, entre outras propriedades, e para compreender seu impacto na saúde humana, é essencial conhecer a natureza dos principais

agentes, sua origem alimentar, os valores consumidos em diferentes dietas, sua biodisponibilidade e os fatores que a controlam.

De acordo com Ross (2002), o interesse nos benefícios da saúde pelos flavonóides tem aumentado devido à sua potente capacidade antioxidante e atividades de eliminação de radicais livres. Há grandes evidências de que a absorção e biodisponibilidade de flavonóides específicos é muito maior do que se pensava originalmente, no entanto, estudos epidemiológicos que exploram o papel dos flavonóides na saúde humana até o momento foram inconclusivos, havendo muitas atividades biológicas atribuídas, que dependem de circunstâncias específicas para serem consideradas benéficas ou prejudiciais.

2.5 Biodisponibilidade dos Compostos Bioativos

Segundo Cozzoline (2012) a biodisponibilidade de um nutriente ingerido pode ser definida como sua acessibilidade aos processos metabólicos e fisiológicos normais. Da mesma forma, a biodisponibilidade influencia o efeito benéfico de um nutriente em níveis fisiológicos de ingestão, mas também pode afetar a natureza e a gravidade da toxicidade quando a ingestão for excessiva.

A eficácia da ação antioxidante destes compostos depende, por sua vez, da estrutura química e da sua concentração no alimento. Em concordância, o teor fitoquímico em hortaliças é amplamente influenciado por fatores genéticos, condições ambientais, sistema de produção, além do grau de maturação, variedade da planta, entre outros. (MELO et al., 2006; KOLEVA et al., 2002; KAUR; KAPOOR, 2001; KAHKONEN et al., 1999). Segundo Scalbert e Williamson (2000) estes polifenóis, não estão uniformemente distribuídos nos tecidos vegetais, e o fracionamento do alimento durante o processamento pode resultar em perda ou enriquecimento de alguns compostos fenólicos.

A ingestão excessiva de um nutriente pode interferir na absorção, excreção, transporte, armazenamento, função ou metabolismo de um nutriente, e fitatos, fosfatos e taninos estão entre os depressores mais potentes da biodisponibilidade, ao passo que os ácidos orgânicos, tais como o ácido cítrico e o ascórbico, estão entre os fortes promotores para alguns minerais e elementos-traço. (COZZOLINO, 2012).

Slywitch (2010) também explica que grãos são geralmente ricos em fitato, correspondendo a cerca de 80% do total existente em um grão, e são os principais responsáveis por conceder a energia necessária para que o grão possa germinar. Para afirmar alguns dos benefícios do consumo de alimentos germinados, o autor explica que a energia para a germinação é liberada através dos fósforos presentes nos grãos, através da ativação da enzima fitase, que em contato com a água reduz os teores de ácido fítico, disponibilizando ainda mais, minerais como ferro, zinco e cálcio.

Alonso (2010) também considera o fitato como um dos vilões, por ser o principal inibidor da absorção de ferro e zinco e ao se unir aos minerais abaixa sua biodisponibilidade. Desta maneira, segundo o autor, vêm-se estudando formas eficientes de eliminá-lo, sendo a germinação, o tratamento térmico e a fermentação, boas atividades para incrementar as atividades enzimáticas e conseqüentemente, reduzir os altos teores de fitato.

Sabe-se, ainda, que diferentes métodos de cocção, formas de transferência de calor, temperatura e duração do processo são também alguns dos fatores responsáveis pelas alterações químicas e físicas que podem modificar o valor nutricional dos alimentos. (GARCIA-ARIAS et al., 2003). De fato, Faller e Fialho (2009) afirmam que o cozimento pode levar a alterações no teor de compostos fenólicos, o que sugere que a ingestão dos fitoquímicos possa também vir a ser superestimada em vegetais crus (FALLER; FIALHO, 2009).

3 FISIOLOGIA VEGETAL E O PROCESSO DE GERMINAÇÃO

3.1 Crescimento e Desenvolvimento Vegetal

Vale ressaltar que, a fase vegetativa do desenvolvimento de um vegetal começa com a embriogênese, que inicia o desenvolvimento e estabelece o plano corporal básico da planta e os órgãos adicionais no organismo adulto. Diferentemente do desenvolvimento animal, o desenvolvimento vegetal é um processo contínuo, altamente repetitivo, capaz de produzir reiteradamente estruturas iguais ou semelhantes, e sua atividade pode continuar indefinidamente. (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Todas as espermatófitas (plantas em que o embrião está protegido e nutrido dentro de uma semente - *angiospermas*¹ e *gimnospermas*²) passam por três estágios durante o desenvolvimento, sendo eles:

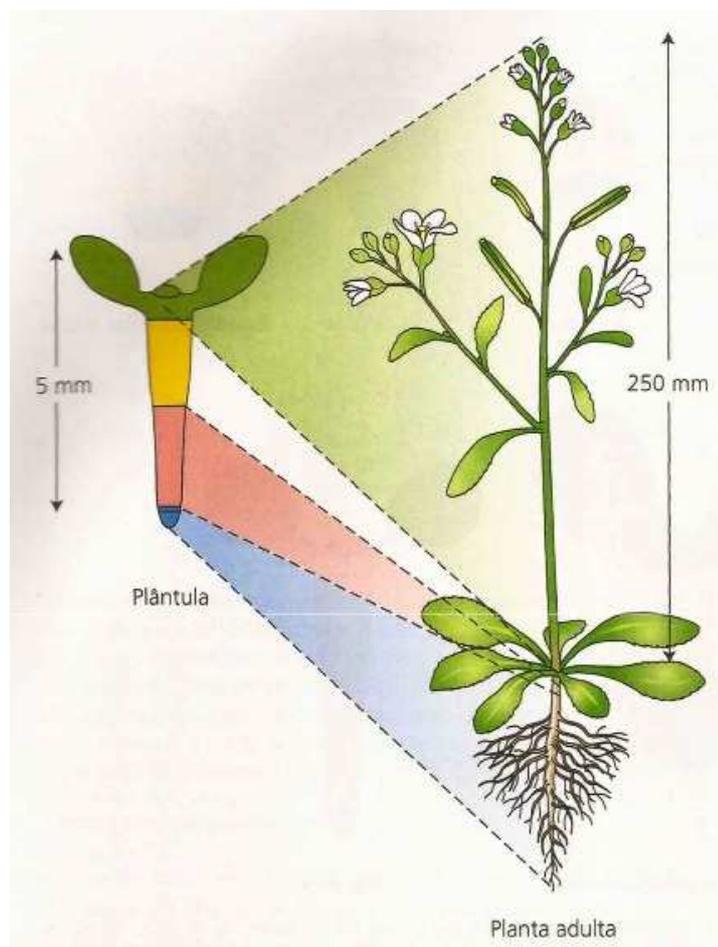
- a) *embriogênese*: processo pelo qual uma única célula é transformada em uma entidade multicelular com uma organização característica, mas tipicamente rudimentar;
- b) *desenvolvimento vegetativo*: quebra de seu estado de dormência, a partir da germinação, e mobilização das reservas armazenadas;
- c) *desenvolvimento reprodutivo*: combinação de fatores intrínsecos e extrínsecos, como no caso das angiospermas em que ocorre a formação de meristemas florais que originam as flores. (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Basicamente, o ciclo de vida nas plantas compreende o desenvolvimento de uma semente seguido por sua germinação e seu desenvolvimento pós-germinativo, por meio do crescimento da planta. Ambos os períodos são marcados por inúmeros eventos fisiológicos específicos relacionados à mudanças distintas de peso, conteúdo de água e expressões genéticas. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

¹ Plantas que apresentam as sementes encerradas em um recipiente, o ovário, que dará origem ao pericarpo (fruto), e que produzem flores. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

² Plantas vasculares cujas sementes não se encerram em um fruto.

Figura 2. Exemplo do desenvolvimento pós-embriônico de uma *Arabidopsis thaliana*. A maioria dos tecidos formados durante o crescimento pós-embriônico deriva de grupos pequenos de células dos meristemas apicais da raiz e do caule.



Fonte: Taiz e Zeiger (2009).

3.2 Dormência das Sementes

Segundo Guimarães, Dias e Loureiro (2008) a semente nada mais é do que o óvulo maduro das plantas já fecundado, sendo formada pelo tegumento ou casca, embrião e pelo endosperma que o envolve. Entre os eventos mais descritos na literatura encontram-se a dormência das sementes após dissipação da planta-mãe, seguido da mobilização das reservas para o início dos eventos metabólicos, e as fases gerais do período de embebição com o início da germinação. Cada um destes eventos tornam-se fundamentais e necessários para a conclusão do objetivo final da reprodução.

Uma vez dispersa da planta-mãe, a semente representa um organismo autônomo, sendo que a continuidade do desenvolvimento do embrião dependerá de uma série de fatores, seja da própria semente ou seja do ambiente. Para que o crescimento do embrião possa ser retomado, isto é, para que ocorra a germinação, primeiramente é preciso que as condições dos ambientes químico e físico sejam favoráveis a esse processo. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Chama-se de dormência o período ou condição em que uma semente viável fica sem germinar mesmo estando sob condições ambientais propícias à germinação. Há variados tipos de dormência embrionárias nas sementes, que em grande parte ocorre na natureza, e todos os eventos metabólicos envolvidos na manutenção das sementes durante a embebição também encontram-se desconhecidos, todavia, sabe-se que este mecanismo de controle da germinação, constitui-se de inúmeros mecanismos internos moduladores da germinação, que desempenham suas atividades tanto pelas condições ambientais vigentes como pelas características intrínsecas, permitindo que a germinação ocorra nos momentos mais apropriados para o desenvolvimento da planta. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

3.3 Reserva das Sementes

Acredita-se que as sementes de forma geral tenham surgido entre 360 a 340 milhões de anos atrás. As sequências de eventos que possibilitaram que um novo indivíduo pudesse se tornar independente da planta-mãe e se desenvolver em outro local às custas de suas próprias reservas de nutrientes, não é possível precisar, nem mesmo quando evolutivamente se deu origem à casca das sementes (responsável, entre outros, pelo armazenamento de nutrientes, maior proteção contra perda de água e ataques de herbívoros e patógenos), contudo, crê-se que a possibilidade das sementes em acumular reservas foi provavelmente um dos fatores importantes para o aparecimento e a evolução das sementes nas plantas. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Há enorme variação na composição das sementes, mas sabe-se que as substâncias armazenadas em grande quantidade constituem em carboidratos, lipídeos e proteínas. Carboidratos e lipídeos servem como fonte de energia e carbono para a germinação das sementes e o desenvolvimento das plântulas, enquanto as proteínas têm como função armazenar principalmente nitrogênio e enxofre, essências para a síntese de proteínas, ácidos

nucléicos e compostos secundários na plântula em crescimento. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

As reservas das sementes têm basicamente duas funções, que se relacionam com a manutenção e o desenvolvimento do embrião até a formação de uma plântula, podendo as reservas funcionarem como fonte de energia para manter os processos metabólicos em funcionamento e/ou como fonte de matéria para a construção de tecidos vegetais que irão constituir a plântula. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Quadro 1. Principais compostos de reserva e as características relevantes para as suas funções nas sementes.

Composto de reserva	Função principal como reserva	Fase de utilização	Funções secundárias	Outras características
SACAROSE E SÉRIE RAFINÓSICA	Fonte de carbono	Germinação	Manutenção da integridade de membranas	Reserva de uso rápido para produção de energia
AMIDO	Fonte de carbono	Desenvolvimento da plântula	—	Alto empacotamento e menor solubilidade
POLISSACARÍDEOS DE PAREDE CELULAR	Fonte de carbono	Desenvolvimento da plântula	Controle da embebição e propriedades mecânicas de cotilédones	Alto empacotamento e maior solubilidade
LIPÍDEOS	Fonte de carbono	Germinação e desenvolvimento da plântula	—	Insolúvel em água, mas produz mais energia por molécula
PROTEÍNAS	Fonte de carbono e nitrogênio	Germinação e desenvolvimento da plântula	—	Alto empacotamento, já possui aminoácidos que podem ser transportados diretamente
FITINA	Fonte de minerais	Germinação e desenvolvimento da plântula	—	Reserva essencial altamente empacotada

Fonte: Ferreira e Borghetti (2004).

Segundo Ferreira e Borghetti (2004) entende-se por plântula um indivíduo vegetal desenvolvido a partir de uma semente, e em um sentido estritamente fisiológico, um indivíduo será uma plântula (1) enquanto depender da reserva de sua semente, (2) enquanto uma porção

significativa de sua biomassa for oriunda das reservas da semente ou (3) quando apresentar alguma estrutura funcional produzida a partir das reservas da semente. Porém, na prática, nem sempre é possível identificar estas condições e como consequência, existe uma tendência a reconhecer como plântula os indivíduos jovens com até 50 cm de altura.

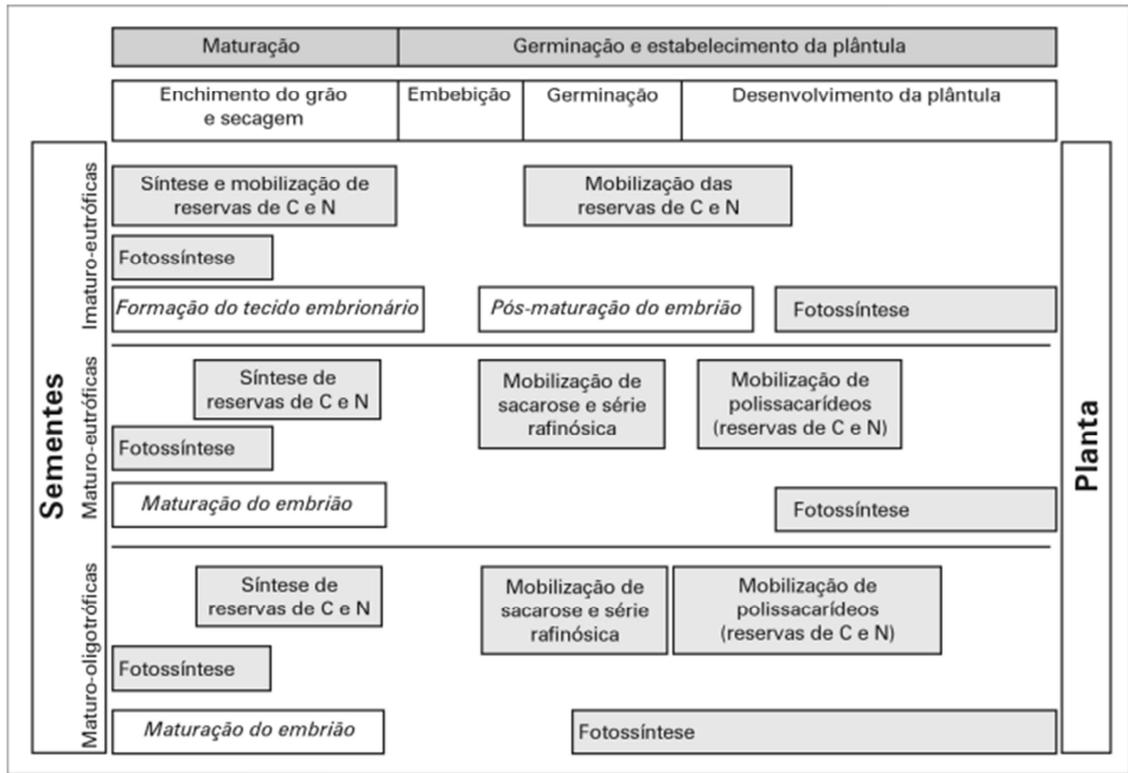
3.4 Mobilização das Reservas

As razões para as sementes mobilizarem suas reservas é a formação de uma nova planta, e as funções principais são fornecer energia e matéria para que o processo ocorra. A finalidade da mobilização das reservas é subsidiar o crescimento do embrião e o desenvolvimento da plântula, e para que isso ocorra é essencial que estes dois processos estejam sincronizados. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

No início da germinação, a reidratação dos tecidos da semente está normalmente relacionada ao reparo de estruturas que podem ter sido danificadas durante a secagem, como membranas e ácidos nucléicos, e envolve um gasto de energia considerável. Os eventos fisiológicos e bioquímicos que se iniciam, compreendem um sistema altamente sofisticado de comunicação, através de mecanismos sensores das condições ambientais vigentes capazes de efetuar a transmissão desses sinais para o metabolismo das sementes e das plântulas. Esta sincronização consiste, por fim, em produzir um indivíduo autotófrico capaz de se adaptar e responder às condições ambientais vigentes. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Apesar de existirem distintos compostos de reserva nas sementes, é possível visualizar a mobilização de reservas de uma forma genérica. Na Figura 3, são mostrados os eventos relacionados à maturação (fotossíntese da planta-mãe, síntese e mobilização de reservas e maturação do embrião), à germinação e ao estabelecimento da plântula (pós-maturação, mobilização de reservas e fotossíntese pela plântula formada).

Figura 3. Esquema hipotético contendo os principais eventos de germinação e os períodos de mobilização de reservas de espécies que adotam diferentes tipos de sistemas de desenvolvimento embrionário. O período para a ocorrência de cada fase varia conforme a espécie.



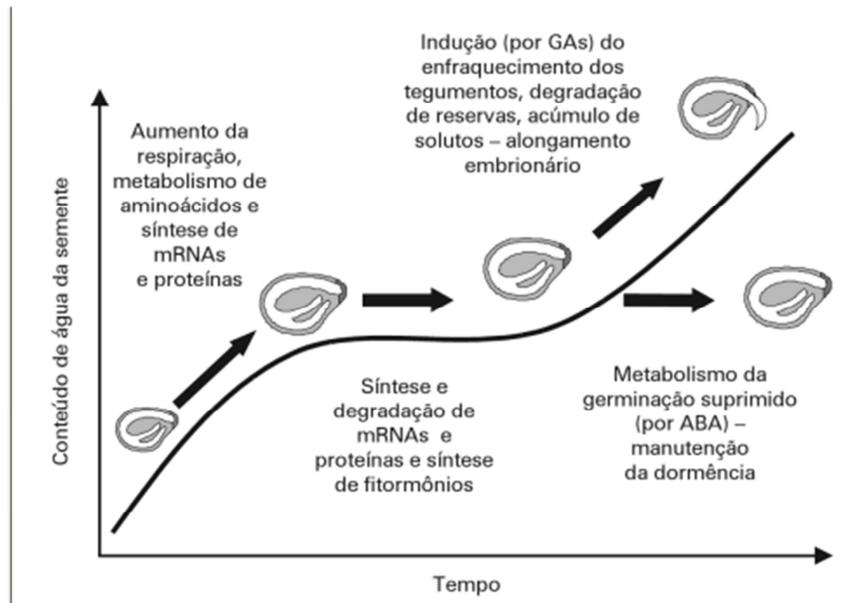
Fonte: Ferreira e Borghetti (2004).

3.5 Embebição

Considera-se embebição o processo inicial de absorção de água que antecede a germinação. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004). Sob baixos conteúdos de água, as sementes permanecem metabolicamente inativas com pouquíssimas alterações fisiológicas e químicas, deixando evidente que para recomeçar atividades a água precisa ser reabsorvida. Esta reidratação é essencial para colocar em marcha os eventos metabólicos fundamentais para a germinação iniciar. (NONOGAKIA, BASSELB, BEWLEYC, 2010).

A hidratação dos tecidos durante a embebição promove, entre outros eventos, a reorganização das membranas e organelas, o aumento na atividade respiratória, a síntese e o consumo de ATP, a síntese de proteínas e de mRNAs e a ativação de enzimas (Figura 4), num processo que engloba eventos bioquímicos diversos e que, conforme a espécie, pode se estender de horas a dias. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Figura 4. Eventos metabólicos associados à embebição da semente, resultando na germinação ou na manutenção da dormência no embrião.



Fonte: Ferreira e Borghetti (2004).

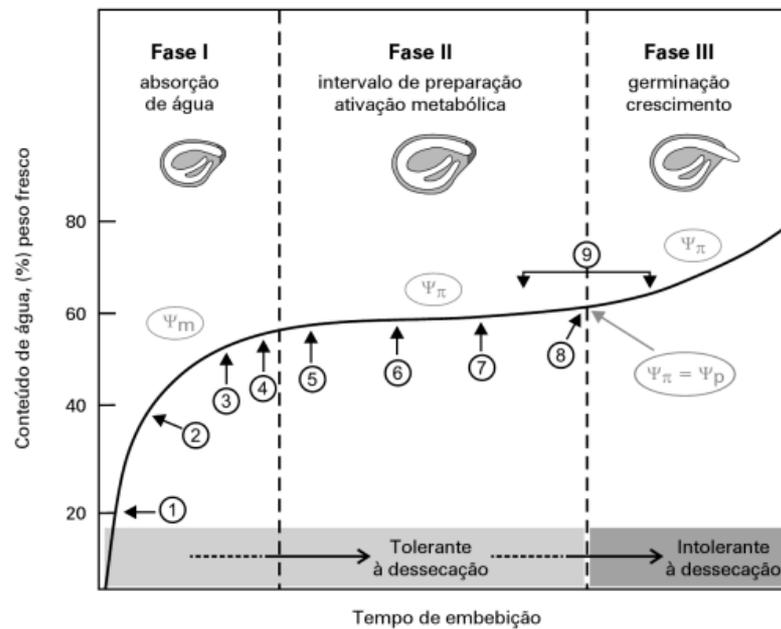
Segundo Ferreira e Borghetti (2004) ao monitorar o conteúdo de água de sementes secas submetidas a embebição em água, muito frequentemente se observa um padrão típico trifásico de absorção de água e hidratação (Figura 5).

1a. Fase - Fase de Embebição: a primeira fase é a fase inicial de absorção de água. É um processo puramente físico, que depende somente da ligação da água à matriz da semente. Em geral, esta fase é rápida em relação à duração total do processo de germinação.

2a. Fase - Fase de Ativação Metabólica: a segunda fase é quando ocorre a ativação de processos metabólicos pré-germinativos, pois enzimas, membranas e organelas, como as mitocôndrias, tornam-se funcionais, ocorrendo intensa digestão das reservas (carboidratos, proteínas e lipídios). É marcada pela emergência ou protusão da radícula, e trata-se, portanto, de uma fase em que se concentram eventos preparatórios para o crescimento do embrião.

3a. Fase - Fase de Germinação: a terceira fase é marcada pelo crescimento visível do eixo embrionário, ocorrendo a protusão da raiz primária, e pelo aumento no teor de água da semente. (GUIMARÃES; DIAS; LOUREIRO, 2008).

Figura 5. Representação esquemática do padrão trifásico de absorção de água durante a embebição de sementes, em relação aos conteúdos aproximados de água em que os diferentes eventos do processo germinativo são iniciados.



Legenda: (1) Respiração e acúmulo de ATP. (2) Síntese de mRNA e reparo de DNA. (3) Ativação dos polissomos. (4) Síntese de proteínas a partir de mRNAs recentemente sintetizados. (5) Síntese e duplicação de DNA. (6) Início da degradação de reservas (tecidos de revestimento começam a enfraquecer). (7) As células da radícula alongam-se. (8) Protusão da radícula. (9) Mitose (divisão celular não reducional).

Fonte: Ferreira e Borghetti (2004).

Segundo Ferreira e Borghetti (2004) a terceira fase marca um “ponto sem retorno” para a semente, visto que, a partir deste estágio a semente encontra-se comprometida com a germinação e o desenvolvimento da plântula, sendo um dos estágios mais críticos no ciclo de vida de uma planta, devido as plântulas estarem altamente vulneráveis aos estresses ambientais. A água acaba por ter um papel-chave em todos esses processos, na medida em que a semente muda de um estado metaforicamente ativo para um estado inativo após a maturação, por efeito da dessecação, retornando depois ao estado metabolicamente ativo durante a germinação.

Este evento fisiológico, dependerá por sua vez da qualidade da semente, das condições de germinação, além de fatores ambientais, tais como água, luz, temperatura e oxigênio. (BRASIL, 2009; CARVALHO; NAKAGAWA, 2000; CASTRO et al., 2004).

3.6 Germinação

Geralmente, a germinação envolve processos complexos, que muitas vezes abrange maturação, restabelecimento do metabolismo, em algumas espécies a superação da

dormência, e outras séries de alterações metabólicas. Apesar de muitas pesquisas serem observadas na área, ainda não se torna possível explicar definitivamente os principais eventos celulares e moleculares que ocorrem durante todos estes períodos. (NONOGAKIA, BASSELB, BEWLEYC, 2010).

A iniciação do ciclo celular é um processo metabólico afetado pela embebição de sementes e a germinação propriamente dita, ou emissão da radícula embrionária dentro da semente, ocorre, em geral por alongamento ou expansão das células, seguida pela diferenciação e pelo crescimento da plântula, como resultado tanto da expansão como de divisão celular. (GUIMARÃES; DIAS; LOUREIRO, 2008).

Segundo Bewley et al. (2001) a germinação inicia-se quando a semente seca começa a tomar a água e se completa quando o eixo embrionário se alonga. Neste ponto, as reservas dentro dos tecidos de armazenamento da semente são mobilizados para apoiar o crescimento das mudas. Por definição, a germinação da semente começa, então, com a absorção de água e completa-se com o surgimento do embrião, que na maioria das espécies dá-se pela radícula, através da estrutura que o circunda. (NONOGAKIA, BASSELB, BEWLEYC, 2010).

Segundo Ferreira e Borghetti (2004) é importante salientar que o termo germinação apresenta diferentes conceitos em função do campo de investigação. No conceito agrônomico e tecnológico, considera-se germinação a emergência de parte da planta no solo ou a formação de uma plântula vigorosa sobre algum tipo de substrato. Observa-se que tal critério mistura dois fenômenos fisiológicos: germinação e crescimento inicial da plântula. Já no critério botânico, considera-se germinadas as sementes em que uma das partes do embrião emergiu de dentro dos envoltórios, acompanhada de algum sinal de metabolismo ativo, como por exemplo, a curvatura da radícula. O critério botânico é mais apropriado para investigar aspectos metabólicos associados especificamente à germinação, sem envolver eventos relacionados ao crescimento inicial da plântula.

A partir de um ponto de vista metabólico, pode-se considerar, portanto, que o final da germinação se dá a partir da protusão de uma das partes do embrião para fora da semente, sendo, a germinação da semente e o desenvolvimento inicial da plântula processos fisiológicos distintos. Entretanto, embora a germinação *stricto sensu* termine com a protusão da radícula, o processo germinativo também pode envolver a preparação para o crescimento da plântula. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Os processos morfológicos e fisiológicos que ocorrem durante o desenvolvimento e a germinação da semente vêm sendo extensivamente estudados, descritos, e carecem ser desvendados, a fim de que se possa compreender melhor suas funções e comportamentos. Informações sobre os mecanismos regulatórios que controlam estes processos começam a surgir após a introdução das técnicas genéticas e moleculares, e estudos extensivos vêm sendo empreendidos para aprimorar a qualidade das sementes, tanto para melhorias com fins comerciais como para valores nutritivos. (FERREIRA; BORGHETTI, 2004).

Por fim, Mendonça et al. (2000) resume sucintamente o processo de germinação de sementes como uma sequência de eventos metabólicos que resulta na formação de uma plântula a partir de um embrião vegetal, e o Quadro 2 sintetiza as principais nomenclaturas aceitas para o tema.

Quadro 2. Glossário de termos envolvendo o processo de germinação.

CONCEITO	DEFINIÇÃO
Amostra de sementes	<i>Quantidade limitada de sementes retirada de um lote capaz de representar, com segurança, os atributos de qualidade do lote.</i>
Dormência	<i>Período ou condição em que uma semente viável fica sem germinar mesmo estando sob condições ambientais propícias à germinação.</i>
Embebição	<i>Processo inicial de absorção de água que antecede a germinação.</i>

CONCEITO	DEFINIÇÃO
Fase 1 de embebição	<i>Fase inicial de absorção de água antes da germinação.</i>
Fase 2 de embebição	<i>Fase da embebição de sementes na qual são ativados os processos metabólicos em preparação para a profusão radicular ou germinação.</i>
Fase 3 de embebição	<i>Fase posterior a profusão radicular ou germinação.</i>
Germinação	<i>Conjunto de processos fisiológicos no embrião que se inicia na embebição e culmina na profusão da radícula dos envoltórios da semente.</i>
Cotilédones	<i>Corresponde às folhas do embrião.</i>
Dicotiledônea	<i>Caracterizam-se por ter normalmente dois cotilédones, folhas com venação reticulada e partes florais em múltiplos de quatro ou cinco.</i>
Monocotiledônea	<i>Planta cujo embrião tem apenas um cotilédone.</i>
Radícula	<i>Porção do eixo embrionário que após a germinação se desenvolve na raiz primária da planta.</i>
Evento pós-germinativo	<i>Que acontece após a germinação ou protusão radicular.</i>
Protusão radicular	<i>Quando a radícula do embrião rompe a testa ou integumentos, germinação.</i>
Plântula	<i>Planta pequena ou jovem, muda, oriunda de uma semente recém-germinada.</i>
Planta-mãe	<i>A planta onde está acontecendo o desenvolvimento do fruto e da semente.</i>

Fonte: Ferreira e Borghetti (2004) adaptado pelo autor.

É importante ressaltar que muito comumente, se observa na literatura científica a terminologia em inglês “*sprouts*” para designar as sementes recém germinadas. No entanto, em botânica, a nomenclatura de brotos serve também para designar novos ramos em uma planta já adulta, como aqueles que sucedem uma poda, por exemplo. No presente estudo, optou-se por utilizar o termo “brotos” para designar as plantas provenientes a partir da protusão da radícula, considerando-os do crescimento inicial da plântula até o comprimento máximo de 50 cm, de acordo com os autores Ferreira e Borghetti (2004).

3.7 Fotossíntese

Em suma, o processo de fotossíntese pode ser caracterizado como a conversão de energia luminosa em energia química por pigmentos fotossintéticos, usando água e CO₂ e produzindo carboidratos para as sínteses de ATP e NADPH. O mais ativo dos tecidos

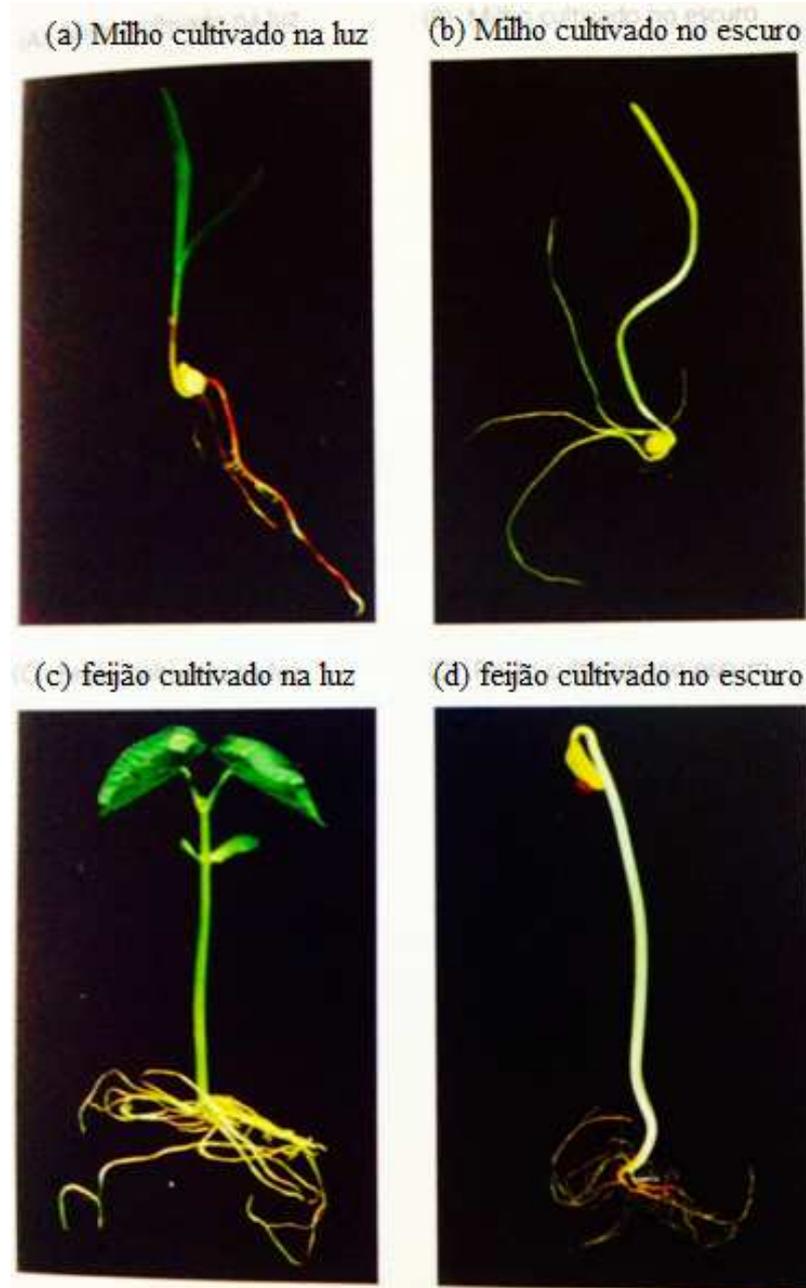
foto-sintéticos das plantas superiores é o mesófilo, e suas células possuem inúmeros cloroplastos, dos quais contêm pigmentos verdes especializados na absorção da luz e que são conhecidos como clorofilas. (TAIZ; ZEIGER, 2009).

A luz é também uma partícula denominada fóton, unidade física distinta de energia radiante, e cada fóton possui uma quantidade de energia chamada de quantum. A luz solar acaba sendo como uma chuva de fótons de diferentes frequências, sendo primeiramente absorvida pelos pigmentos da planta. Outro pigmento foto-sintético bastante conhecido nas plantas são os carotenóides com sua coloração alaranjada bastante característica e estão, em geral, intimamente associados às proteínas que formam o aparelho foto-sintético. A saber, a luz que é absorvida pelos carotenóides é transferida à clorofila para o processo conhecido como foto-síntese. (TAIZ; ZEIGER, 2009).

3.8 Escotomorfogênese

Os brotos comestíveis são, em sua maioria, germinados e cultivados no escuro, e passam por um tipo especial de desenvolvimento denominado escotomorfogênese. Tais plântulas possuem caules alongados, cotilédones dobrados, e não conseguem acumular clorofila (Figura 6). Quando plântulas germinadas em ambientes naturais emergem do solo, suas reservas encontram-se geralmente esgotadas, e a partir daí é necessário a produção de seu próprio alimento. Esta transição dos estágios da escotomorfogênese para a fotomorfogênese, embora extremamente rápida, é considerada bastante complexa e horas após os primeiros feixes de luz em uma plântula de feijão cultivada no escuro, por exemplo, é possível perceber alterações no seu desenvolvimento, tais como, redução na taxa de alongamento do caule, iniciação do endireitamento do gancho plumular, e início da síntese dos pigmentos característicos das plantas verdes. (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Figura 6. Plântulas de milho (*Zea mays*) (A e B) e feijão (*Phaseolus vulgaris*) C e D) cultivadas à luz (A e C) ou no escuro (B e D).



Fonte: Taiz e Zeiger (2009)

Os sintomas de definhamento no milho, uma monocotiledônea, incluem a ausência de esverdeamento, redução na largura e falha no desenrolamento das folhas, e alongamento do coleótilo e mesocótilo, já no feijoeiro, os sintomas incluem ausência de esverdeamento, tamanho reduzido das folhas, alongamento do hipocótilo e manutenção do gancho plumular. (TAIZ; ZEIGER, 2009).

3.9 Enzimas

De acordo com Taiz e Zeiger (2009) transformações de energia desempenham um papel-chave em todos os processos físicos e químicos que ocorrem nos sistemas vivos, entretanto esta energia sozinha é insuficiente para dirigir o crescimento e o desenvolvimento de organismos. Para tal, proteínas catalisadoras, denominadas enzimas, são necessárias para garantir que as taxas de reações bioquímicas sejam suficientemente rápidas para sustentar a vida.

De fato, as enzimas são conhecidas como “agentes da vida” por controlar quase todos os processos vitais e é possível observar em uma única célula típica milhares de enzimas diferentes capazes de executar uma diversidade de ações, entre elas, a capacidade de distinguir moléculas muito similares com enorme eficiência catalítica. (TAIZ; ZEIGER, 2009).

Segundo Taiz e Zeiger (2009) diferentemente da maioria dos outros catalisadores, as enzimas funcionam em temperatura e pressão atmosférica ambiente e geralmente em uma faixa estreita de pH. Porém, atualmente, é possível observar algumas poucas enzimas capazes de funcionar em condições extremamente adversas, como a exemplo da enzima pepsina, degradadora de proteína do estômago, cujo pH ideal situa-se ao redor de 2,0. Outra característica distinta das enzimas é que elas estão sujeitas a diversos tipos de controles reguladores, que variam desde efeitos sutis sobre a atividade catalítica por moléculas efetoras (inibidoras ou ativadoras) até a regulação da síntese e destruição das mesmas.

Fahey, Zhang e Talalay (1997) sugeriram que grandes quantidades de enzimas indutoras que protegem contra os agentes cancerígenos podem ser adquiridas na dieta através de pequenas quantidades de brotos de crucíferas jovens (por exemplo, em rebentos de brócolis com três dias de idade), podendo conter atividade indutora 10-100 vezes maiores do que em vegetais maduros. Sugere-se, também, que os benefícios gerados pelos fitoquímicos presentes em brotos de sementes germinadas de brócolis e de couve-flor foram aumentados significativamente após a germinação, proporcionando potente atividade antitumoral.

Segundo Meyer e Isaksen (1995) por vários motivos, as enzimas antioxidantes não despertam importância comercial na indústria de alimentos, possivelmente porque alguns resultados promissores destacavam apenas benefícios a uma pequena parte dos sistemas enzimáticos, a saber, glicose oxidase, e apenas algumas das muitas aplicações sugeridas vêm

sendo tecnicamente comprovadas. Entretanto, há muito ainda para aprender sobre quais aplicações de enzimas podem, de fato, ser mais adequadas para a contribuição antioxidante em sistemas alimentares.

4 PESQUISAS EM GERMINAÇÃO

Price (1988) demonstrou a possibilidade de encontrar alta capacidade antioxidante em sementes germinadas, oferecendo o consumo de brotos proporções substanciais das recomendações dietéticas de ácido ascórbico, tiamina, ácido fólico e riboflavina, bem como uma grande gama de minerais. Todavia, estas qualidades pareciam estar bastante influenciadas pelo comprimento da raiz, espessura, cor, textura e perda mínima de água após a colheita. De fato, atualmente é possível perceber que a germinação de sementes aumenta os valores nutritivos (HUNG, HATCHER, BARKER, 2011), sendo que, em determinados estudos, níveis mais elevados de nutrientes e menores teores de antinutrientes podem ser observados em sementes germinadas quando comparadas à sementes não-germinadas. (MARTINEZ-VILLALUENGA et al., 2010; ZIELINSKI et al., 2005; OLOYO, 2004).

Segundo Paško et al. (2009), sementes germinadas são excelentes fontes de antioxidantes, tais como, ácidos fenólicos, flavonóides, oligoelementos e vitaminas. Ao verificar brotos de quinoa e amaranto recém-germinados, o autor presenciou quantidades significativas de antocianinas, polifenóis totais e atividades antioxidantes quando comparados às sementes não germinadas, e valores de pico nas análises foram atingidos no sexto dia de desenvolvimento pela quinoa, e no quarto dia pelo amaranto. Assim, o autor sugere que o uso de brotos em uma dieta tradicional possa ser uma fonte benéfica de alimentos com altos valores nutricionais.

Outros ensaios também demonstram grandes capacidades antioxidantes, registrando períodos de pico de acordo com o tempo de germinação. Benguo et al. (2011) ao analisar sementes de gergelim concluiu que além de excelentes fontes alimentares de antioxidantes naturais, estas podem conter quantidades significativas de aminoácidos livres, ácido gama-aminobutírico e compostos fenólicos totais, que passaram a progredir enquanto os dias de semeadura avançavam. Embora a análise da composição de ácidos graxos mostrou que os brotos de gergelim foram abundantes em ácidos graxos insaturados, o teor de gordura bruta foi reduzido gradualmente do início da protusão radícula ao crescimento inicial da plântula.

Associações pontuais entre as saponinas do feijão preto e concentrações de flavonóides para a capacidade antioxidante e as atividades antiproliferativa foram encontradas entre sementes de feijão preto germinadas. O teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante dos

extratos de feijão (*Phaseolus vulgaris L.*) foram maiores quando obtidos, principalmente, a partir do terceiro de germinação (GUAJARDO-FLORES; SERNA-SALDÍVAR; GUTIÉRREZ-URIBE, 2013). A concentração de compostos fenólicos totais em brotos de feijão mungo após oito dias de germinação foi semelhante as de brócolis, couve de bruxelas e espinafre, que continham os níveis mais altos de compostos fenólicos entre as 27 hortaliças mais consumidas nos Estados Unidos. (GUO et al. 2012).

Recentes estudos relatam efeitos benéficos em pão de trigo fortificado com brotos de trigo sobre a homeostase da glicose. De acordo com o estudo, o consumo de um alimento fortificado com brotos de trigo por um período de nove dias revelou um efeito na redução da glicose em jejum, assim como na fase de pós-prandial de voluntários saudáveis. Segundo os autores, geralmente, esses efeitos estão principalmente relacionados ao aumento na ingestão de fibras alimentares, no entanto, as evidências indicam que não somente as fibras dietéticas seriam responsáveis por esses efeitos, mas também a presença de compostos fenólicos em brotos de trigo germinados por apenas 4,25 dias (102 horas). (ANDERSEN; KOEHLER; SOMOZA, 2011).

Sabe-se que brotos de trigo contêm um alto nível de fosfatos orgânicos e é um poderoso coquetel de moléculas diferentes, tais como enzimas, glicosídeos reduzidos e polifenóis. As propriedades antioxidantes de brotos de trigo têm sido amplamente documentadas e relacionadas com a capacidade de proteger o DNA contra os radicais livres, além de evidenciar efeitos benéficos de vários polifenóis como antioxidantes na proteassoma 20S. (AMICI et al., 2008).

Bonfili et al. (2009) também atribuiu atividades sequestradoras de radicais aos brotos de trigo devido ao alto teor de fosfatos orgânicos, enzimas, glicosídeos redutores e polifenóis. Segundo o autor, as moléculas antioxidantes dos brotos é maior do que aquelas encontradas nas sementes não germinadas ou em plantas jovens, e podem, ao serem isoladas, proteger o DNA contra o estresse oxidativo, e, em extratos aquosos, possuir propriedades antimutagênicas.

Grãos de cevada liofilizados também já foram substancialmente notificados como uma boa fonte de fortificação de ferro com aumento na disponibilidade a partir de sementes germinadas (ALEXANDER, 1986). Alexander e Cudjoe (1989) também observaram na época

aumentos acentuados nos níveis de ferro em farinha de cevada germinadas quando comparados à farinha de semente de cevada não germinadas.

Segundo Pajak et al. (2014) a germinação aumenta significativamente os níveis de ácidos fenólicos e flavonóides, bem como a sua atividade antioxidante, e sementes germinadas comestíveis podem ser uma fonte muito valiosa de antioxidantes naturais, bem como, brotos liofilizados utilizados como componentes em alimentos funcionais. Ao investigar o efeito da germinação sobre os perfis de ácidos fenólicos e flavonóides e a atividade antioxidante em sementes comestíveis de feijão verde, rabanete, brócolis e girassol, o autor afirma aumentos dos níveis fenólicos totais e flavonóides, bem como na atividade antioxidante, e a influencia no perfil de compostos fenólicos livres e conjugadas em sementes germinadas.

Nonogakia, Basselb e Bewleyc (2010) relataram que sementes embebidas geram espécies reativas de oxigênio (ROS) durante a embebição, sendo proposto em determinados estudos um papel positivo na oxidação durante a liberação de sementes dormentes. No entanto, em sementes não-dormentes, os radicais livres passam a ser prejudiciais para as proteínas e demais componentes celulares, sendo as enzimas superóxido dismutase, catalase, peroxidase do ascorbato, desidroascorbato redutase e glutathione redutase, encontradas em sementes secas de ervilha, por exemplo, possíveis responsáveis por contribuir para a reparação e/ou proteção de proteínas e outros compostos poliméricos durante a embebição.

5 ALIMENTAÇÃO VIVA

5.1 Crudivorismo

Crudivorismo, ou *raw food*, como é conhecido nos Estados Unidos, é um sistema alimentar que só admite o consumo de alimentos crus, como frutas, verduras, legumes, castanhas, cereais e sementes germinadas e a ausência de produtos de origem animal, processados ou refinados. Os praticantes do crudivorismo adotam a técnica de não aquecimento extremo, optando por desidratar ou cozinhar os alimentos, muitas vezes apenas ao sol, até a temperatura máxima de 42°C, evitando, segundo eles, a destruição de vitaminas, minerais, enzimas e a desnaturação de proteínas. (REIS, 2010).

5.2 Alimentação Viva

Sem reconhecimento científico para o termo, a chamada "Alimentação Viva" é, de certa forma, semelhante ao crudivorismo, e consiste basicamente em uma dieta vegana crua, a base de frutas, legumes, grãos, raízes e oleaginosas, porém com mais ênfase às sementes germinadas, ricas em fontes de carotenóides e vitaminas C e E. (HÄNNINEN et al., 2000).

É uma dieta rica em fibras, com itens fermentados, isenta de colesterol, com níveis baixíssimos de sódio e grande quantidade de lactobacilos, e que parece proporcionar diminuição de vários fatores de risco de saúde para câncer e doenças cardiovasculares. (HÄNNINEN et al., 1999). Segundo o autor, percebe-se na dieta com estes alimentos, ricos em antioxidantes, carotenóides e flavonóides, um aumento dos níveis de carotenóides e vitaminas C e E, e a redução na concentração de colesterol. Pacientes com artrite reumatóide que consumiram a dieta relataram melhora na dor, inchaço das articulações e rigidez matinal, e um quadro pior se registrou com o fim da dieta. Todos os resultados quanto à rigidez articular e dor (escala visual analógica), qualidade de sono, questionário de avaliação de saúde, questionário de saúde geral e análises fecais, tiveram registros de melhoras.

De acordo com Hänninen et al. (2000) estudos em indivíduos que consomem uma dieta vegana crua, chamada de alimentação viva (do termo em inglês *Living Food*), foram realizados e demonstraram grande eficácia no tratamento de doenças reumatóides com aumento nos níveis de β/α -carotenos, licopenos e luteína, vitamina C e vitamina E. Como a

ingestão de grãos foi três vezes superior ao grupo controle de onívoros, maiores níveis de compostos polifenólicos, como a quercetina, miricetina e kaempferol também foram registradas. Em conclusão, os pacientes com artrite reumatóide beneficiaram-se com a dieta vegana rica em antioxidantes, lactobacilos e fibras.

Cousens (2011), também garantiu que através da alimentação viva foi possível confirmar a supressão e a liberdade completa da necessidade de medicamentos em 53% dos casos de diabetes tipo 2 (não insulino dependente) e 30% dos casos de diabetes do tipo 1 (insulino dependente). Para diabéticos tipo 1, foi possível observar uma queda de 11,8% para 6% nos níveis de HbA1c (hemoglobina glicada) em apenas 3 meses. E para a diabetes tipo 2 uma redução nas taxas de glicose de 292 mg/dL para 113 mg/dL em apenas 9 dias. Entretanto, o autor admite que mais ensaios conclusivos serão necessários para que possa haver uma objetiva confirmação científica. Mais efeitos desta dieta crua também podem ser observados no documentário "Raw for 30: reversing diabetes naturally", onde cada caso é demonstrado.

Em concordância com os possíveis malefícios para a dieta com comida cozida em excesso, na década de 30, o pesquisador Kuschakoff (1930) observou que ao preparar uma refeição comum, composta de alimentos expostos a temperatura elevadas, consideradas críticas pelo autor, aumentava-se consideravelmente o número glóbulos brancos no sangue, voltando a um estado normal ao fim de 90 minutos. Este fenômeno ficou conhecido como leucemia ou leucocitose digestiva. As experiências de Kouchakoff permitiram compreender que frutos e legumes verdes não geravam este fenômeno, ao passo que legumes cozidos a vapor e frutos cozidos sem açúcar a menos de 100°C, provocavam um pequeno e curto aumento dos glóbulos brancos. Já, ao contrário dos frutos e legumes crus, alimentos como leite fervido, frituras, pães brancos, massas alimentares, carnes cozidas, chocolate e alimentos desequilibrados por cozimentos excessivos, acarretavam, sem tardar, em uma elevada "leucocitose digestiva".

Os adeptos mais fervorosos defendem uma alimentação vegetariana crua, não cozida, livres de toxinas, agrotóxicos e produtos industrializados, e garantem o benefícios à saúde humana através da presença de micromoléculas provenientes da ação solar. Uma teoria que ganha forças com as descobertas de Fritz-Albert Popp que demonstrou em seus experimentos a possibilidade de comunicação celular de todos os organismos vivos através de bioinformação eletromagnética através de fótons, conhecidos como pequenas partículas

responsáveis pelas manifestações quânticas dos fenômenos eletromagnéticos e transportadoras de todas as formas de radiação eletromagnética. (DALMAU-SANTAMARIA, 2013).

Evidentemente, a associação entre sementes germinadas ao sol, bem como os benefícios gerados pelo consumo de alimentos crus, ou aqueles cultivados na presença direta de luz solar, entre tantas outras teorias sugeridas, devem ser analisadas em futuros estudos para que se possa ter evidências concretas sobre estas possíveis relações. Quanto às diferentes dietas praticadas, Robbs (2005) também afirma que maiores pesquisas serão necessárias em maiores populações para validar os resultados e determinar a extensão dos benefícios para a saúde que relatam sobre uma dieta vegana crua, quando comparada as demais dietas vegetarianas.

6 MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 Materiais

As amostras de trigo *Triticum aestivum* L. e cevada *Hordeum vulgare* analisadas neste estudo foram gentilmente doadas pelo Centro Nacional de Pesquisa de Trigo da Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), e são provenientes das cultivares BRS Parrudo para trigo e BRS Cauê para cevada.

6.1.1 Processo de Germinação das Sementes

O processo de germinação das sementes de trigo e cevada foram realizados de acordo com Pajak et al. (2014). As sementes foram esterilizadas durante 1 minuto por imersão em etanol para evitar o crescimento microbiano. Em seguida, foram mergulhadas em água deionizada por 12 horas para o início do processo de embebição. Depois de escorrida a água da imersão, as sementes foram espalhadas em peneiras plásticas estéreis e lavadas duas vezes por dia, utilizando água deionizada. Por se tratar de um teste colorimétrico, todas as sementes foram germinadas no escuro. A germinação das sementes foi realizada à temperatura ambiente e as coletas foram realizadas no dias 0, 2, 4, 6, 8 e 10 durante o período de germinação.

As sementes e os brotos foram secas em estufa de esterilização e secagem (400D-5ND, Ethik Technology, Brasil) a temperatura constante de $40^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$ durante 72 horas, e armazenadas a vácuo até o dia da obtenção dos extratos.

6.2 Obtenção do Extrato Metanólico

A obtenção do extrato metanólico foi realizada de acordo com o método de Khattak et al. (2007). As sementes (5g) e os brotos (3g) triturados foram extraídos durante 20 minutos por agitação em agitador magnético (Modelo 114, Ethik Technology, Brasil) a 55 ciclos/min com 20 mL de metanol (99,8%) em Beckers. As extrações foram realizadas em três etapas e os extratos combinados foram centrifugados a 7.000 rpm durante 15 minutos. O solvente orgânico foi removido a $35 \pm 3^{\circ}\text{C}$ utilizando aparelho evaporador rotativo (Rotavapor MA-

120, Marconi, Brasil). O resíduo obtido foi dissolvido em 10 mL de metanol (99,8%) e armazenado em congelador até o momento das análises.

6.2.1 Determinação do Teor de Compostos Fenólicos Totais

O teor de fenólicos totais dos extratos foi determinado como descrito por Albarici, Freitas e Pessoa (2009), utilizando o reagente Folin-Ciocalteu com medições realizadas a 760 nm. Uma alíquota de 0,05 mL do extrato metanólico foi diluída com 0,2 mL de água deionizada, em seguida, a solução obtida foi misturada com 1,25 mL de 0,2 M de Folin-Ciocalteu e 1 mL de solução de carbonato de sódio a 7,5% (m/v). Após 2 horas de incubação, a absorvância foi medida utilizando espectrofotômetro UV/Vis UV-2600 (Shimadzu, Japão). O teor de fenólicos totais foi expresso em mg de fenólicos totais em equivalente de ácido gálico (EAG) por g de matéria seca (m.s.) de sementes e brotos.

6.2.2 Determinação da Atividade de Captura do Radical ABTS

A determinação da atividade do radical ABTS (ácido 2,2-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfônico) baseou-se na redução do cátion ABTS segundo o método descrito por Rufino et al. (2007). O preparo do radical ABTS foi obtido através da reação com persulfato de potássio, cuja mistura foi deixada em repouso durante 16 horas até a reação estar completa. Em seguida, a solução ABTS foi diluída com etanol até se obter uma absorvância de $0,700 \pm 0,05$ em $\lambda = 734$ nm. Logo após, 30 μ L de extrato metanólico das sementes e brotos foi misturado com 3 mL de solução ABTS.⁺ e a absorvância da solução resultante foi medida após 6 minutos a 734 nm. A atividade antioxidante foi expressa como equivalente de mg de Trolox por g de m.s. de sementes e brotos.

6.2.3 Determinação da Atividade de Captura do Radical DPPH

Para a determinação da atividade de DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) foi utilizado o método descrito por Rufino et al. (2007). Uma alíquota de 3,9 mL de 0,1 mM de solução DPPH em metanol foi misturada com 0,1 mL de extrato metanólico de amostra. Após 60 minutos de incubação, a absorvância da amostra foi medida a 515 nm em espectrofotômetro UV/Vis (UV-26000; Shimadzu, Japão). A atividade de captura do radical DPPH nos extratos foi expressa como equivalente de mg de Trolox por g de m.s. de sementes e brotos.

6.3 Análise Estatística

Para avaliar as possíveis diferenças na quantidade de compostos fenólicos e na atividade antioxidante, os dados obtidos foram analisados através da análise de variância de uma via (ANOVA), seguida por teste de Tukey quando o valor de F for significativo ($P < 0,05$), através do software GraphPad Prism.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Compostos Fenólicos Totais

Sabe-se que os compostos fenólicos são fitoquímicos onipresentes em alimentos vegetais, com inúmeras atividades biológicas incluindo propriedades antioxidantes. Tem sido demonstrado que dietas ricas em antioxidantes podem reduzir o dano oxidativo ao DNA, evitando assim um passo crítico para o início da carcinogênese. (ZHANG et al., 2008).

Cereais, incluindo grãos recém germinados, são boas fontes de compostos fenólicos. De acordo com a literatura, grandes teores de compostos fenólicos totais podem ser encontrados em diversificadas sementes germinados (GUO et al., 2012; LIU et al., 2011; PAŠKO et al., 2009), e as relações entre compostos fenólicos totais parecem ser estreitamente relacionadas e significativas com a capacidade da atividade antioxidante. (GORINSTEIN et al., 2007; ZIELIŃSKI; KOZŁOWSKA, 2000). A Tabela 1, mostra os resultados sobre o teor total de compostos fenólicos encontrados em sementes e brotos germinados de trigo (BRS Parrudo) e cevada (BRS Cauê).

Tabela 1. Teor total de compostos fenólicos em sementes e brotos de trigo (*Triticum eastivum*) e cevada (*Hordeum vulgare*), expressos em equivalentes de ácido gálico (mg) por g de matéria seca.

Dias de germinação	Compostos fenólicos	
	Trigo	Cevada
	[mg EAG/g m.s.]	[mg EAG/g m.s.]
Dia 0	0,064±0,005 ^a	0,2584±0,01 ^a
Dia 2	0,079±0,003 ^a	0,3673±0,03 ^a
Dia 4	0,41±0,04	0,7730±0,08 ^b
Dia 6	1,38±0,09 ^b	1,499±0,04 ^c
Dia 8	1,21±0,08	0,8127±0,12 ^b
Dia 10	1,48±0,06 ^b	1,378±0,07 ^c

Resultados expressos em média±desvio padrão para o teor total de compostos fenólicos em sementes e brotos de trigo e cevada durante os dias 0 (zero), 2, 4, 6, 8 e 10 de germinação. Dentro da própria coluna, os valores com as mesmas letras superescritas não diferem significativamente entre si a $P < 0,05$.

Segundo a Tabela 1, podemos observar que a germinação gerou um aumento significativo no teor de compostos fenólicos totais a partir do quarto dia de germinação para as amostras de trigo e cevada, e que, atingiram um período de pico no sexto dia nos brotos de cevada e no décimo dia de germinação, seguido do sexto dia para as sementes de trigo, registrando um aumento estatisticamente significativo quando comparadas principalmente às sementes cruas não germinadas. Por ser o método de medição colorimétrico, o valor de pico para o décimo dia de germinação das sementes de trigo parece estar associado com a clara presença da clorofila na amostra, que demonstrou-se notavelmente visível.

Paško et al. (2009) também relataram maior teor de compostos fenólicos totais em brotos em comparação com sementes cruas, sugerindo que possa ocorrer durante a germinação a síntese de antioxidantes fenólicos. Estes autores encontraram também conteúdos superiores de polifenóis em sementes germinadas cultivadas à luz, quando comparados as sementes germinadas cultivadas no escuro, porém sem diferenças significativas.

7.2 Atividade Antioxidante

Segundo Pajak et al. (2014) um aumento no teor de compostos fenólicos totais junto com a germinação das sementes pode influenciar a atividade sequestradora de radicais livres. Os extratos metanólicos das sementes e brotos estudados foram analisados em relação à sua atividade antioxidante contra o radical ABTS.⁺ e DPPH e podem ser observadas nas Tabelas 2 e 3.

Tabela 2. Atividade antioxidante do radical ABTS.⁺ e do radical DPPH em sementes e brotos de trigo (*Triticum aestivum*) expressos em mg de Trolox por g de matéria seca.

Dias de germinação	Atividade antioxidante	
	TRIGO	
	<i>ABTS. [mg trolox/g m.s.]</i>	<i>DPPH. [mg trolox/g m.s.]</i>
Dia 0	86,42±5,40 ^a	15,33±0,25
Dia 2	106,6±3,63 ^a	22,12±0,94
Dia 4	257,3±10,71	61,42±1,80
Dia 6	448,2±26,85 ^{bc}	110,6±1,06 ^a
Dia 8	395,6±33,68 ^{bd}	87,40±3,74
Dia 10	425,6±7,90 ^{cd}	112,3±1,72 ^a

Resultados expressos em média±desvio padrão para o teor total de compostos fenólicos em sementes e brotos de trigo e cevada durante os dias 0 (zero), 2, 4, 6, 8 e 10 de germinação. Dentro da própria coluna, os valores com as mesmas letras superescritas não diferem significativamente entre si a $P < 0,05$.

Tabela 3. Atividade antioxidante do radical ABTS.⁺ e do radical DPPH em sementes e brotos de cevada (*Hordeum vulgare*) expressos em mg de Trolox por g de matéria seca.

Dias de germinação	Atividade antioxidante	
	CEVADA	
	<i>ABTS. [mg trolox/g m.s.]</i>	<i>DPPH. [mg trolox/g m.s.]</i>
Dia 0	181,5±8,62 ^a	54,71±0,54
Dia 2	210,3±4,9 ^{ab}	70,83±1,33 ^a
Dia 4	338,3±20,78 ^c	94,21±0,77
Dia 6	386,5±104,2 ^c	116,8±2,21
Dia 8	309,2±2,82 ^{bc}	72,39±0,25 ^a
Dia 10	363,5±34,09 ^c	83,38±0,99

Resultados expressos em média±desvio padrão para o teor total de compostos fenólicos em sementes e brotos de trigo e cevada durante os dias 0 (zero), 2, 4, 6, 8 e 10 de germinação. Dentro da própria coluna, os valores com as mesmas letras superescritas não diferem significativamente entre si a $P < 0,05$.

O processo de germinação das sementes alterou significativamente os extratos a partir do quarto dia de germinação das sementes. As atividades antioxidantes foram encontradas em

proporções significativamente maiores em brotos de trigo e cevada de acordo com os dias de germinação. Brotos de trigo e cevada demonstram altos índices de capacidade antioxidante quando comparados com as sementes cruas não germinadas, sendo observado período de pico nas capacidades antioxidantes de trigo e cevada durante o sexto dia de germinação, com pequeno decréscimo a partir do dia 8, e pequena elevação registrada no décimo dia para ambas amostras. Por, também, se tratar de um método colorimétrico, para esta diferença encontrada entre os dias 6, 8 e 10, sugere-se que possa estar relacionada com a presença de clorofila, que ficou mais evidenciada nos últimos dias de germinação, provavelmente devido as pequenas partículas indiretas de luz solar adquiridas entre a coleta das amostras.

Segundo Pajak et al. (2014) o aumento dos valores da atividade antioxidante durante a germinação parece estar relacionado com o aumento do conteúdo de compostos antioxidantes, tais como vitaminas e polifenóis, no entanto, esses autores também registraram queda na atividade antioxidante com a sequência da germinação.

O aumento da atividade antioxidante de sementes é geralmente encontrado durante a germinação. Brotos de trigo e cevada apresentaram maior atividade antioxidante, utilizando os métodos DPPH e ABTS, o que é também relatado em diferentes sementes pelos autores Pajak et al. (2014) e Paško et al. (2009). O processo de germinação gerou aumento estatisticamente significativo nas amostras do dia 6, tanto para trigo como para cevada, em comparação com as análises na semente crua. Os extratos metanólicos dos brotos de ambas as sementes demonstraram forte atividade sequestradora de radicais livres, reduzindo levemente a potência a partir do oitavo dia.

Kulkarni (2006) também observou maiores capacidades antioxidantes em brotos de trigo cultivados em solo enriquecido com nutrientes, em comparação com brotos cultivados em diferentes condições, a saber, (1) água da torneira, (2) a água da torneira com nutrientes e (3) solo com água da torneira, levando a crer que, de acordo com as condições que as plantas são submetidas, diferentes valores de compostos bioativos também possam ser observados.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo, observou-se aumentos significativos nos teores de compostos fenólicos totais e na atividade antioxidante em sementes de trigo e cevada, de acordo com os dias de germinação. Houve períodos de grandes picos, em especial para a ação antioxidante em ambas as amostras, havendo indícios de que haja maiores concentrações entre os sexto e décimo dias após a embebição. De fato, Ren e Sun (2014), também demonstram maiores capacidades antioxidantes entre os dias 7 e 9 de germinação em sementes de trigo sarraceno, e já é possível observar a preferência de alguns autores para análises de diferentes sementes durante este período germinativo.

As amostras de trigo e cevada não demonstraram graus elevados nos teores de compostos fenólicos, em comparação com as análises de sementes germinadas de brócolis, girassol, radite e feijão mungo realizadas por Pajak et al. (2014), entretanto, para a atividade antioxidante nas cultivares de trigo e cevada do presente estudo, os resultados demonstraram elevada capacidade antioxidante. Pode-se sugerir que o resultado possa ser característico de cada espécie, por tratarem-se de grãos melhorados geneticamente, através de longa reprodução artificial controlada.

De acordo com os resultados pode-se considerar também que o processo de germinação possa vir acarretar em uma ferramenta eficaz para o sequestro dos radicais livres através da dieta, e possivelmente contribuir para a redução do dano oxidativo e de doenças relacionadas, através da significativa presença de atividades antioxidantes e elevação nos teores de compostos fenólicos, de acordo com os dias de germinação.

Maiores estudos devem ser realizados para determinar os compostos e as vitaminas em questão presentes nas amostras, bem como, investigar possíveis associações das altas capacidades antioxidantes com a presença de enzimas ativas. Assim como, num futuro próximo, a análise de sementes e grãos germinados, em comparação com vegetais e cereais maduros, crus e cozidos, e a observação dos benefícios da ingestão destes alimentos para a saúde humana também mereça ser observada.

Ainda, novos estudos na área que possam investigar distintas cultivares, orgânicas e não-orgânicas, utilizando diversificadas técnicas de germinação, tais como, o cultivo à luz solar, ou a aplicação de diferentes tipos de substratos para a nutrição das sementes, podem,

também, vir a garantir uma otimização no processo de germinação, e conseqüentemente, melhorias na biodisponibilidade natural dos compostos fitoquímicos.

Por fim, técnicas como a liofilização dos brotos para o isolamento destes compostos, a fortificação de determinados alimentos com sementes germinadas desidratadas à temperaturas relativamente baixas, ou o simples processo de germinação em si, podem contribuir para uma obtenção significativa de antioxidantes, beneficiando indústrias de alimentos e farmacêutica no desenvolvimento de novos produtos, além de alertar setores específicos da área da alimentação, profissionais relacionados e a população, à novas possibilidades de manipulação nas plantas e alimentos, que garantam maiores coeficientes nutricionais de forma prática, sustentável, econômica e saudável.

REFERÊNCIAS

- ALBARICI, Tatiane Regina; FREITAS, Danieli Melo de; PESSOA, José Dalton Cruz. **Protocolos de análises para polpa de açaí: um guia prático de consulta**. São Paulo: Embrapa Instrumentação Agropecuária, 2009.
- ALEXANDER, J. Craig. Iron Fortification of Barley Sprouts. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal**, v. 19, n. 4, p. 38, 1986.
- ALEXANDER, J. Craig.; CUDJOE, A. Iron Fortified Hydroponically-Grown Barley-Sprout Flour. **Canadian Institute of Food Science and Technology Journal**, v. 22, n. 2, p. 124-128, 1989.
- ALMEIDA, João Ferreira de. Trad. **A Bíblia Sagrada** (revista e atualizada no Brasil) 2.ed. São Paulo: Sociedade Bíblica Brasileira, 1993.
- ALONSO, Begoña Olmedilla; ROVIRA, Rosaura Farré; VEGAS, Carmen Asensio ; PEDROSA, Mercedes Martín. Papel de las leguminosas en la alimentación actual. **Actividad Dietética**, v. 14, n. 2, p. 72-76, 2010.
- AMICI, M. et al. Wheat sprout extract induces changes on 20S proteasomes functionality, *Biochimie*, v. 90, n. 5, p. 790–801, 2008.
- ANA BRANCO. **Alimentação Viva: Ana Branco at TEDxCampos**. 2012. (17 min 46 s). Disponível em: <<http://www.youtube.com/watch?v=ly3-0Z8FjdY>>. Acesso em: 5 mar. 2014.
- ANDERSEN, Gaby; KOEHLER, Peter; SOMOZA, VERONIKA. Chapter 46 – Metabolic Effects of Bread Fortified with Wheat Sprouts and Bioavailability of Ferulic Acid from Wheat Bran. *Flour and Breads and their Fortification in Health and Disease Prevention*, p. 507-517, 2011.
- ARAÚJO, J. M. A. **Química dos alimentos: teoria e prática**. 5.ed. Minas Gerais: Editora UFV, 2001.
- ARBOS, K. A.; FREITAS, R. J. S.; STERTZ, S. C.; DORNAS, M. F. Atividade antioxidante e teor de fenólicos totais em hortaliças orgânicas e convencionais. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, n. 2, p. 501-506, 2010.
- BARREIROS, André L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006.
- BEWLEY, J. D.; HEMPEL, F. D.; McCORMICK, S.; ZAMBRYSKI, P. Reproductive development. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R.L. *Biochemistry & Molecular Biology of Plants*. **American Society of Plant Phytologist**, Rockeville, 2001. p.988-1043.
- BOIVIN, D.; LAMY, S.; LORD-DUFOUR, S.; JACKSON, J.; BEAULIEU, E.; COTE, M.; MOGHRABI, A.; BARRETTE, S.; GINGRAS, D.; BELIVEAU, R. Antiproliferative and antioxidant activities of common vegetables: a comparative study. **Food Chemistry**, v. 112, p. 374–380, 2009.
- BONFILI, Laura et al. Wheat sprout extract-induced apoptosis in human cancer cells by proteasomes modulation, *Biochimie*, v. 91, n. 9, p. 1131–1144, 2009.
- BONTEMPO, Márcio. **Alimentação para um novo mundo: a consciência ao se alimentar como garantia para a saúde e o futuro da vida na Terra**. 2.ed. Rio de Janeiro: Record, 2006.

- BOUTENKO, Victoria. **12 passos para o Crudivorismo**. Ashland, USA: Raw Family Publish, 2001.
- BRAND-WILLIAMS W.; CUVELIER M. E.; BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensm-Wiss U Technol**, v. 28, p. 25-30, 1995.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Brasília: Secretaria de Defesa Agropecuária. Mapa/ACS, 2000.
- BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, New York, v. 56, n. 11, p. 317-333, 1998.
- CARVALHO, N. M.; NAKAGAWA, J. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. 4.ed. Jaboticabal: Funep, 2000.
- CASSILETH, B. Gerson regimen. **Oncology**, v. 24, n. 2, p. 201, 2010.
- CERNY, Jan; ROSMARIN, Alan G. Why Does My Patient Have Leukocytosis? **Hematology Oncology Clinics of North America**, v. 26, p.303-319, 2012.
- COUSENS, Gabriel. **Nutrição evolutiva: fundamentos para a evolução individual e do planeta**. Tradução de Cátia Simionato. São Paulo: Alaude Editorial, 2011.
- COZZOLINO, Silvia M. F. (Org.) **Biodisponibilidade de nutrientes**. 4.ed. Barueri: Manole, 2012.
- CRAIG, Winston J. Phytochemicals: Guardians of our Health. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 97, n. 10, p. S199-S204, 1997.
- CROFT, K. D. The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids. **Annals of the New York Academy of Science**, New York, v. 854, p. 435-442, 1998.
- DING, Hongliu; FU, Tong-Jen; SMITH, Michelle A. Microbial Contamination in Sprouts: How Effective Is Seed Disinfection Treatment? **Journal of Food Science**, v. 78, n. 4, 2013.
- F. BRAS. **Farmacopéia Brasileira**, Anvisa, 5.ed., 2010.
- FAHEY, Jed W.; ZHANG Y.; TALALAY, Paul. Broccoli sprouts: An exceptionally rich source of inducers of enzymes that protect against chemical carcinogens. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, USA, v. 94, p. 10367-10372, 1997.
- FALLER, A. L. K.; FIALHO, E. Polyphenol content and antioxidant capacity in organic and conventional plant foods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 6, p. 561-568, 2010.
- _____. The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. **Food Research International**, v. 42, n. 1, p. 210-215, 2009.
- FANTE, L.; NOREÑA, C. P. Z. Enzyme inactivation kinetics and colour changes in Garlic (*Allium sativum* L.) blanched under different conditions. **Journal of Food Engineering**, v. 108, n. 3, p. 436-443, 2012.
- FERGUSON, L. R.; HARRIS, P. J. Protection against cancer by wheat bran: role of dietary fibre and phytochemicals. **European Journal of Cancer Prevention**, Oxford, v. 8, n. 1, p. 17-25, 1999.
- FERREIRA, A. G.; BORGHETTI, F. (Org.) **Germinação: do básico ao aplicado**. Porto Alegre: Artmed, 2004.
- FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 43, n. 1, p. 61-68.

- FERREIRA, Isabel C.F.R.; ABREU, Rui M.V. Stress Oxidativo, Antioxidantes e Fitoquímicos. **Sociedade Portuguesa de BioAnalistas da Saúde**, ano. IV, n. 2, 2007.
- GARCIA-ARIAS, M. T.; PONTES, E. A.; GARCIA-LINHARES, M. C.; FERNANDEZ, M. C. G.; SANCHEZ-MUNIZ, F. J. Cooking-freezing-reheating (CFR) of sardine(*Sardina pilchardus*) fillets: effect of different cooking and reheating procedures on the proximate and fatty acid compositions. **Food Chemistry**, Great Britain, v. 83, n. 3, p. 349-356, 2003.
- GERSON, Marx. **A Cancer Therapy: Results of 50 Cases**. 3.ed. Califórnia: Totality Books, 1977.
- GERSON, Marx. The cure of advanced cancer by diet therapy: a summary of 30 years of clinical experimentation. **Physiological chemistry and physics**, v. 10, n. 5, p. 449-464, 1978.
- GORINSTEIN, S. et al. The total polyphenols and the antioxidant potentials of some selected cereals and pseudocereals. **European Food Research and Technology**, v. 225, p. 321–328, 2007.
- GUAJARDO-FLORES, D.; SERNA-SALDÍVAR, S. O.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A. Evaluation of the antioxidant and antiproliferative activities of extracted saponins and flavonols from germinated black beans (*Phaseolus vulgaris* L.). **Food Chemistry**, v. 141, p. 1497–1503, 2013.
- GUIMARÃES, M. A.; DIAS, D. C. F. S.; LOUREIRO, M. E. Hidratação de sementes. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 2, n. 1, p. 39, 2008.
- GUTTERIDGE, John M. C.; HALLIWELL, Barry. Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 393, p. 561–564, 2010.
- HALLIWELL, Barry. Free radicals and antioxidants – quo vadis? **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 32, n. 3, p. 125-130, 2011.
- HALLIWELL, Barry. The antioxidant paradox. **The Lancet**, v. 355, n. 9210, p. 1179-1180, 2000.
- HALLIWELL, Barry; GUTTERIDGE, John M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4.ed. Oxford: Clarendon Press, 2007.
- HALLIWELL, B.; AESCHBACH, R.; LOLIGER, J.; AROUMA, O. I. The characterization of antioxidants. **Food and Chemical Toxicology**, v. 33, n. 7, p. 601, 1995.
- HALLIWELL, B.; MURCIA, M. A.; CHIRICO, S.; ARUOMA, O. I. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Cleveland, v. 35, n. 1/2, p.7-20, 1995.
- HÄNNINEN, O. et al. Vegan diet in physiological health promotion. **Acta Physiologica Hungarica**, v. 86, n. 3-4, p. 171-180, 1999.
- HÄNNINEN, O. et al. Antioxidants in vegan diet and rheumatic disorders. **Toxicology**, v. 155, p. 45-53, 2000.
- HORST, Maria Aderuza; LAJOLO, Franco Maria. Biodisponibilidade de Compostos Ativos de Alimentos. In: COZZOLINO, Silvia M. F. (Org.) **Biodisponibilidade de nutrientes**. 4.ed. Barueri: Manole, 2012. cap. 37, p. 879-914.
- HOURMANT, A.; PRADET, A. Oxidative phosphorylation in germinating lettuce seeds (*Lactuca sativa*) during the first hours of imbibition. **Plant Physiol**, v. 68, p. 631–635, 1981.

- HOWELL, Edward. **Food enzymes for health and longevity**. Woodstock Valley, CT: Omangod Press, 1946.
- KAHKONEN, M. P.; HOPIA, A. I.; VUORELA, H. J.; RAUHA, J. P.; KUJALA, T. S.; HEINONEN, M. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 47, n. 10, p. 3954-3962, 1999.
- KAUR, C.; KAPOOR, H. C. Antioxidants in fruits and vegetables – the millennium’s health. **International Journal Food Science Technology**, v. 36, n. 7, p. 703–725, 2001.
- KERRY, N. L.; ABBEY, M. Red wine and fractionated phenolic compounds prepared from red wine inhibit low density lipoprotein oxidation in vitro. **Atherosclerosis, Limerick**, v. 135, n. 1, p. 93-102, 1997.
- KHOLE, Swati; CHATTERJEE, Suchandra; VARIYAR, Prasad; SHARMA, Arun; DEVASAGAYAM, T. P. A.; GHASKADBI, Saroj. Bioactive constituents of germinated fenugreek seeds with strong antioxidant potential. **Journal of Functional Foods**, v. 6, p. 270-279, 2014.
- KOLEVA, L. I.; VAN BEEK, T. A.; LINSSEN, J. P.; GROOT, A.; EVSTATIEVA, L. N. Screening of plant extracts for antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. **Phytochemical Analysis**, v. 13, n. 1, p. 8-17, 2002.
- KROSCHER, Steve. **Dying To Have Know - Morrendo por não saber**. (80 min). Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=coLiaOX4ZqQ>>. Acesso em: 21 abr. 2014.
- KRISHNAIAH, Duduku; SARBATLY, Rosalam; NITHYANANDA, Rajesh. A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, p. 217–233, 2011.
- KULKARNI, Sunil D. et al. Evaluation of the Antioxidant Activity of Wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) as a Function of Growth under Different Conditions. **Phytotherapy Research**, v. 20, p. 218–227, 2006.
- LAFIANDRA, Domenico; RICCARDI, Gabriele; SHEWRY, Peter R. Improving cereal grain carbohydrates for diet and health. **Journal of Cereal Science**, p. 1-15, 2014.
- LAGUERRE, M.; LECOMTE, J. VILLENE’VE, P. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Progress in Lipid Research**, v. 46, n. 5, p. 244-282, 2007.
- LAIR RIBEIRO. **Água alcalina**. 2013. (15 min 12 s). Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=oeWTVF3Aal4>>. Acesso em: 21 abr. 2014.
- LÓPEZ-AMORÓS, M. L.; HERNÁNDEZ, T.; ESTRELLA, I. Effect of germination on legume phenolic compounds and their antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 4, p. 277-283, 2006.
- LIU, Benguo; GUO, Xiaona; ZHU, Kexue; LIU, Yang. Nutritional evaluation and antioxidant activity of sesame sprouts. **Food Chemistry**, v. 129, p. 799–803, 2011.
- MA, Tingting; TIAN, Chengrui; LUO, Jiyang; ZHOU, Rui; SUN, Xiangyu; MA, Jinjin. Influence of technical processing units on polyphenols and antioxidant capacity of carrot (*Daucus carrot* L.) juice. **Food Chemistry**, v. 141, n. 3, p. 1637-1644, 2013.
- MAEKAWA, L; ALBUQUERQUE, M. C. F.; COELHO, M. F. B. Germinação de sementes de *Aristolochia esperanzae* O. Kuntze em diferentes temperaturas e condições de luminosidade. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 12, n. 1, 2010.

- MENDONÇA, E. A. F.; RAMOS, N. P.; FESSEL, S. A.; SADER, R. Teste de deterioração controlada em sementes de brócolis (*Brassica olericola*) var. italiana. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v. 22, n. 1, p. 280-287, 2000.
- MEYER, Anne S.; ISAKSEN, Anette. Application of enzymes as food antioxidants. **Trends in Food Science & Technology**, v. 61, 1995.
- MOLAIOTIS, A.; PEAT, P. Surviving Against All Odds: Analysis of 6 Case Studies of Patients With Cancer Who Followed the Gerson Therapy. **Integrative Cancer Therapies**, v. 6, n. 1, p. 80-88, 2007.
- MOREIRA, D. L.; LEITÃO, S. G.; GONÇALVES, J. L. S.; WIGG, M. D.; LEITÃO, G. G. Antioxidant and antiviral properties of *Pseudopiptadenia contorta* (leguminosae) and of quebracho (*Schinopsis sp.*) extracts. **Química Nova**, n. 28, p. 421-425, 2005.
- NACZK, Marian; SHAHIDI, Fereidoon. Corrigendum to “Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis”. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43. p. 798, 2007.
- NASS, L. L. **Recursos genéticos vegetais**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos Vegetais e Biotecnologia, 2007.
- NONOGAKIA, Hiroyuki; BASSEL, George W.; BEWLEY, J. Derek. Germination—Still a mystery. **Plant Science** v. 179, p. 574-581, 2010.
- PAJAŁ, Paulina; SOCHA, Robert; GALKOWSKA, Dorota; ROZNOWSKI, Jacek; FORTUNA, Teresa. Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. **Food Chemistry**, v. 143, p. 300–306, 2014.
- PAŚKO, Paweł; BARTON, Henryk; ZAGRODZKI, Paweł; GORINSTEIN, Shela; FOLTA, Maria; ZACHWIEJA, Zofia. Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. **Food Chemistry**, v. 115, p. 994–998, 2009.
- PEÑAS, Elena; GÓMEZ, Rosario; FRÍAS, Juana; VIDAL-VALVERDE, Concepción. Effects of combined treatments of high pressure, temperature and antimicrobial products on germination of mung bean seeds and microbial quality of sprouts. **Food Control**, Madrid, v. 21, p. 82–88, 2010.
- PIETTA, P.; Flavonoids as Antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, 2000.
- PRABHUPADA, A. C. Bhaktivedanta Swami (trad). **O Bhagavad-Gita Como Ele é**. Edição completa, com texto em sânscrito e transliteração latina. São Paulo: Bhaktivedanta Book Trust, 1976.
- PRICE, T. V. Seed sprout production for human consumption - a review. **Canadian Institute of Food Science and Technology**, v. 21, n. 1, p.57-65, 1988.
- REIS, Fernando Lyra. **Anorexia e Bulimia Nova Visão: comunidade virtual como veículo para a divulgação científica**. 2010. 125f. Dissertação (Mestrado em Ensino de Ciências da Saúde e do Ambiente) - Programa de Pós-Graduação e Extensão em Ensino de Ciências da Saúde e do Ambiente, Centro Universitário Plínio Leite. Niterói, 2010.
- REN, Shun-Cheng; SUN, Jun-Tao. Changes in phenolic content, phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity, and antioxidant capacity of two buckwheat sprouts in relation to germination. **Journal of Functional Foods**, v. 7, p. 298–304, 2014.
- RICCARDI, G.; AGGETT, P.; BRIGHENTI, F.; DELZENNE, N.; FRAYN, K.; NIEUWENHUIZEN, A.; PANNEMANS, D.; THEIS, S.; TUIJTELAARS, S.; VESSBY,

- B. PASSCLAIM - body weight regulation, insulin sensitivity and diabetes risk. **European Journal of Nutrition**, v. 43, p. II7-II46, 2004.
- RICCARDI, G.; RIVELLESE, A.A.; GIACCO, R. Role of glycemic index and glycemic load in the healthy state, in prediabetes, and in diabetes. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 87, p. 269S-274S, 2008.
- ROSS, J. A.; KASUM, C.M. Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Review of Nutrition**, v. 22, p/19-34, 2002.
- RUFINO, Maria do Socorro Moura, et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre DPPH. **EMBRAPA**, Comunicado Técnico 127, 2007.
- RUFINO, Maria do Socorro Moura, et al. Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela Captura do Radical Livre ABTS^{□+}. **EMBRAPA**, Comunicado Técnico 128, 2007.
- SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agricultur**, v. 76, p. 270-276, 1998.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary Intake and Bioavailability of Polyphenols. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 8, p. 2073S-2085S, 2000.
- SENSOY, İlkay; ROSEN, Robert T.; HO, Chi-Tang; KARWE, Mukund V. Effect of processing on buckwheat phenolics and antioxidant activity. **Food Chemistry**, v. 99, n. 2, p. 388-393, 2006.
- SHAHIDI, F.; JANITHA, P. K.; WANASUNDARA, P. D. Phenolic antioxidants. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 32, p. 67-103, 1992.
- SILVA, Marília Lordêlo; COSTA, Renata Silva; SANTANA, Andréa dos Santos; KOBLITZ, Maria Gabriela Bello. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, 2010.
- SMITH, Colleen; MARKS, Allan D.; LIEBERMAN, Michael. **Bioquímica médica básica de Marks**. 2.ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.
- SOARES, Sérgio E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, 2002.
- SOLER-RIVAS, C.; ESPIN, J. C.; WICHERS, H. J. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. **Phytochemical Analysis**, v. 11, p.330-338, 2000.
- SONG, W.; DERITO, C. M.; LIU, M. K.; HE, X. J.; DONG, M.; LIU, R. H. Cellular antioxidant activity of common vegetables. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 6621-6629, 2010.
- SOUSA, Anete Araújo d'; AZEVEDO, Elaine de; LIMA, Elinete Eliete de; SILVA, Ana Paula Ferreira da. Alimentos orgânicos e saúde humana: estudo sobre as controvérsias. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 31, n. 6, p. 513-517, 2012.
- SZEKELY, Edmond. **O Evangelho Essênio da Paz**. 6.ed. São Paulo: Pensamento, 1997.
- SWAUN, T.; HILLIS, W. E. The phenolic constituents of *Prunus domestica*. The quantitative analysis of phenolic constituents. **Journal of the Science of Food and Agricultural**, v. 10, p. 63-68, 1959.

- TANG, Soon Yew; HALLIWELL, Barry. Medicinal plants and antioxidants: What do we learn from cell culture and *Caenorhabditis elegans* studies? **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 394, p. 1-5, 2010.
- VADIVEL, V.; STUETZ, W.; SCHERBAUM, V.; BIESALSKI, H. K. Total free phenolic content and health relevant functionality of Indian wild legume grains: Effect of indigenous processing methods. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 24, n. 7, p. 935-943, 2011.
- VERZA, S. G.; KREINECKER, M. T.; REIS, V.; HENRIQUES, A. T. ; ORTEGA, G. G. Avaliação das variáveis analíticas do método de folin-ciocalteu para determinação do teor de taninos totais utilizando como modelo o extrato aquoso de folhas de *Psidium guajava* L. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 815-820, 2007.
- WAŚKIEWICZ, Agnieszka; BESZTERDA, Monika; GOLÍŃSKI, Piotr. Chapter 7 – Nonenzymatic Antioxidants in Plants. **Oxidative Damage to Plants - Antioxidant Networks and Signaling**, p. 201–234, 2014.
- WETTASINGHE, M.; SHAHIDI, F. Evening primrose meal: a source of natural antioxidants and scavenger of hydrogen peroxide and oxygen-derived free radicals. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 47, n. 5, p. 1801-1812, 1999.
- WINTER, C. K.; DAVIS, S. F. Organic foods. **Journal of Food Science**, v. 71, p.117-124, 2006.
- WOESE, K.; LANGE, D.; BOESS, C.; BOGL, K. W. A comparison of organically and conventionally grown foods – results of a review of the relevant literature. **Journal of the Science of Food and Agricultural**, v. 74, p. 281–293, 1997.
- XU, Baojun; CHANG, Sam K. C. Effect of soaking, boiling, and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food legumes. **Food Chemistry**, v. 110, n. 1, p. 1-13, 2008.
- YEN G. C.; DUH P. D. Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 42, p. 629, 1994.
- ZHANG, Y. et al. Isolation and identification of strawberry phenolics with antioxidant and human cancer cell antiproliferative properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 670–675, 2008.
- ZIELIŃSKI, H.; KOZŁOWSKA, H. Antioxidant activity and total phenolics in selected cereal grains and their different morphological fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 388–393, 2000.
- ZIELIŃSKI, H.; KOZŁOWSKA, H. The content of tocopherols in *Cruciferae* sprouts. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 4, p. 25–31, 2003.