

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

JULIANA ALVES DINIZ

**EFEITO DA GERMINAÇÃO NOS TEORES E ATIVIDADES DE
COMPOSTOS BIOATIVOS SOLÚVEIS EM ÁGUA DOS GRÃOS DE
BICO (*Cicer arietinum*) DO TIPO DESI, CULTIVAR GB CAPPUCCINO.**

Alfenas/MG

2025

**EFEITO DA GERMINAÇÃO NOS TEORES E ATIVIDADES DE
COMPOSTOS BIOATIVOS SOLÚVEIS EM ÁGUA DOS GRÃOS DE
BICO (*Cicer arietinum*) DO TIPO DESI, CULTIVAR GB CAPPUCCINO.**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Nutrição e Longevidade pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Nutrição e Longevidade

Orientador: Prof^a. Dr^a.: Olga Luisa Tavano

Alfenas/MG

2025

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Diniz, Juliana Alves.

Efeito da germinação nos teores e atividades de compostos bioativos solúveis em água dos grãos de bico (*Cicer arietinum*) do tipo desi, cultivar GB cappuccino / Juliana Alves Diniz. - Alfenas, MG, 2023.

56 f. : il. -

Orientador(a): Olga Luisa Tavano.

Dissertação (Mestrado em Nutrição e Longevidade) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2023.

Bibliografia.

1. Germinação. 2. Peptídeos bioativos. 3. Proteínas vegetais. 4. Bebidas protéicas. 5. Longevidade humana. I. Tavano, Olga Luisa, orient. II. Título.

**EFEITO DA GERMINAÇÃO NOS TEORES E ATIVIDADES DE COMPOSTOS
BIOATIVOS SOLÚVEIS EM ÁGUA DOS GRÃOS DE BICO (CICER ARIETINUM) DO
TIPO DESI, CULTIVAR GB CAPPUCCINO**

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Nutrição e Longevidade pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Nutrição e Longevidade.

Aprovada em: 27 de março de 2023

Profa. Dra. Olga Luisa Tavano
Instituição: Universidade Federal de Alfenas Profa.

Dra. Tássia Batista Pessato
Instituição: Universidade de São Francisco

Profa. Dra. Veymar Guadalupe Tacias-Pascacio
Instituição: Universidade de Ciências e Artes de Chiapas - UNICACH - Mx



Documento assinado eletronicamente por **Olga Luisa Tavano, Professor do Magistério Superior**, em 27/03/2023, às 15:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Veymar Guadalupe Tacias Pascacio, Usuário Externo**, em 27/03/2023, às 15:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Tássia Batista Pessato, Usuário Externo**, em 27/03/2023, às 16:43, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0950836** e o código CRC **8571A16F**.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por me dar equilíbrio e força para chegar até aqui. Nada foi fácil, sei que ao longo desse processo o Senhor me fez compreender que, quando damos tudo de si, podemos chegar a lugares além do imaginado.

Agradeço imensamente a minha família, em especial minha mãe Roseli Alves, minha avó Rosa Alves, meu esposo Matheus Diniz e meus filhos Davi e Sophia Diniz, pois parte dessa conquista devo a vocês. Obrigada pelo incentivo, por acreditarem no meu potencial, mesmo quando nem eu acreditava. Obrigada por estarem do meu lado, me auxiliando e me compreendendo. Vocês são a maior inspiração de que através de muito esforço, persistência e coragem, podemos fazer dos sonhos realidade. Amo vocês, sei que desde o início fizeram o melhor por mim.

Agradeço a minha orientadora querida Olga Luisa Tavano, por confiar em mim e me incentivar. Sem você não chegaria aonde estou. Obrigada pela paciência, pelo carinho, pela preocupação e por trazer paz e leveza nos momentos conturbados. Sua companhia nessa trajetória foi uma honra. O conhecimento adquirido ao seu lado neste processo não se pode mensurar. Você é, certamente, o melhor exemplo de profissional, além de amar o que faz, compartilha as experiências e sabedoria da melhor forma.

Meu muito obrigada a todos os professores que me auxiliaram, principalmente ao professor Sinézio Inácio da Silva Júnior, por generosamente contribuir com todo este trabalho.

Obrigada a todos os técnicos de laboratório do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Alfenas e a todos os alunos de Iniciação Científica que gentilmente me auxiliaram nas análises, especialmente as alunas Sara Diniz e Ana Carolina Lemos.

Muito obrigada à FAPEMIG pela bolsa de estudos e principalmente ao Programa de Pós-graduação em Nutrição e Longevidade por toda experiência vivida e conhecimento adquirido.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001; e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de

Minas Gerais (FAPEMIG) – APQ-01240-21.

Meu muito obrigada à todos!

*“Não se acomode diante das situações,
coloque dedicação e tenha força de vontade
Esse é o segredo do sucesso.”*

Genildo Lopes

RESUMO

O processo de germinação de grãos pode modificar o perfil de seus componentes, refletindo em melhorias de sua composição em seus aspectos nutricionais e de bioatividade, por exemplo, modificando o perfil de proteínas, podendo agregar valor ao produto gerado por estas matérias primas diferenciadas. As proteínas apresentam inúmeros benefícios para a saúde e a longevidade humana. Suas características vão além do seu valor nutricional, apresentando bioatividades importantes. Este trabalho se propões avaliar características bioativas de extratos aquosos produzidos com grão de bico (*Cicer arietinum* L.), tipo Desi (GB Cappuccino) em comparação ao do tipo Kabuli (BRS Cristalino) após processo de germinação dos grãos. Para tanto, foram estudadas as variedades obtidas de produtor brasileiro do tipo. Os grãos foram submetidos ao processo de germinação e, então, os extratos aquosos produzidos, submetidos aos ensaios de: teor de percentual de solubilização de proteína, amino grupos livres, perfil eletroforético, fenólicos totais, flavonoides totais, capacidade de inibição da enzima conversora de angiotensina e potencial antioxidante. O total de proteínas solúveis sofreu pouca variação e praticamente nenhum aumento, mas o perfil do material proteico ao longo da germinação se alterou, com presença de maior número de unidades de material hidrolisado ao final do processo. As duas cultivares apresentaram aumento de flavonóides solúveis em água, mas o mesmo não foi observado para os totais de fenólicos ao longo das germinações. A amostra GB Cappuccino demonstrou uma oscilação maior perante os tempos de germinação para fenólicos. O potencial de inibição da ECA da amostra BRS Cristalino não apresentou alterações, mas, a GB Cappuccino diminuição. Portanto, as amostras apresentaram perfis de proteínas muito semelhantes e seus componentes bioativos não tiveram aumento significativo. Já sobre o efeito do processo de germinação, não é possível traçar conclusões sobre a aplicação destes curtos períodos com os dados aqui obtidos. Sendo assim, novos trabalhos com tempos de germinação mais longos precisam ser realizados para melhor entendimento de todas as modificações que acontecem no grão.

Palavras-chave: germinação, peptídeos bioativos, proteínas vegetais, bebidas proteicas, longevidade humana

ABSTRACT

The grain germination process can modify the profile of its components, reflecting improvements in its composition in its nutritional and bioactivity aspects, for example, modifying the protein profile, which can add value to the product generated by these differentiated raw materials. Proteins have numerous benefits for human health and longevity. Its characteristics go beyond its nutritional value, presenting important bioactivities. Therefore, this work proposes to evaluate bioactive characteristics of aqueous extracts produced with chickpea (*Cicer arietinum* L.), Desi type (GB Cappuccino) compared to Kabuli type (BRS Cristalino) after the grain germination process. For this purpose, the varieties obtained from a Brazilian producer of the type were studied. The grains were submitted to the germination process and, then, the aqueous extracts produced were submitted to the tests of: percentage content of protein solubilization, free amino groups, electrophoretic profile, total phenolics, total flavonoids, ability to inhibit the enzyme-converting enzyme angiotensin and antioxidant potential. The total of soluble proteins suffered little variation and practically no increase, but the profile of the proteinaceous material during germination changed, with the presence of a greater number of units of hydrolyzed material at the end of the process. The two cultivars showed an increase in water-soluble flavonoids, but the same was not observed for total phenolics during germination. The GB Cappuccino sample showed a greater oscillation in relation to the germination times for phenolics. The ACE inhibition potential of the BRS Cristalino sample did not change, but the GB Cappuccino decreased. Therefore, the samples showed very similar protein profiles and their bioactive components did not have a significant increase. As for the effect of the germination process, it is not possible to draw conclusions about the application of these short periods with the data obtained here. Therefore, new works with longer germination times need to be carried out for a better understanding of all the modifications that occur in the grain.

Keywords: germination, bioactive peptides, plant proteins, protein drinks, human longevity

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1	Grão de bico.....	13
2.2	Proteínas do grão de bico.....	14
2.3	Proteínas e longevidade humana.....	15
2.4	Processo de germinação.....	16
3	OBJETIVOS.....	20
3.1	Objetivo geral.....	20
3.2	Objetivos específicos.....	20
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	21
4.1	Materiais.....	21
4.2	Métodos.....	22
4.2.1	Composição centesimal.....	22
4.2.2	Processo de hidratação e germinação.....	22
4.2.3	Preparo dos extratos aquosos.....	22
4.2.4	Determinação de proteínas.....	22
4.2.5	Mensuração dos aminos grupos livres.....	23
4.2.6	Análise do perfil eletroforético.....	23
4.2.7	Mensuração de glicose livre.....	23
4.2.8	Determinação de fenólicos e flavonoides totais.....	23
4.2.9	Determinação de potencial antioxidante.....	23
4.2.10	Atividade de inibição da enzima conversora de angiotensina.....	24
4.2.11	Análise estatística.....	24
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	25
5.1	Características gerais dos grãos	25
5.2	Ensaio de germinação dos grãos.....	27
6	CONCLUSÕES	45
	REFERÊNCIAS.....	46

1 INTRODUÇÃO

O grão de bico (*Cicer arietinum* L.) é uma das leguminosas mais consumidas no mundo (Idate *et al.*, 2021). Boa fonte de carboidratos e proteínas, cerca de 80% do grão seco é composto por esses dois nutrientes (Kishor *et al.*, 2017). Diante das alterações na dieta e da busca por produtos mais saudáveis, as proteínas de vegetais, como o grão de bico, possuem papel importante. As proteínas dessa leguminosa possuem alta qualidade nutricional, com capacidade de liberar peptídeos bioativos. Além disso, pode ser empregado como ingrediente em diferentes produtos alimentícios, devido as suas funções tecnológicas (Thushan *et al.*, 2011).

O aumento do consumo de alimentos à base de proteínas vegetais vem sendo muito destacado no meio científico, sendo associada a promoção de saúde e a longevidade. Sua incorporação na dieta, aumenta significativamente teores de substâncias importantes para o organismo, como flavonoides, ácidos fenólicos, lignina e carotenoides (Arooj *et al.*, 2021).

Algumas características notáveis estão associadas às proteínas do grão de bico, dentre elas: a composição de aminoácidos equilibrada e diferenciada, apresentando quantidades limitadas de aminoácidos sulfurados, como metionina e cisteína (Yegrem, 2021), onde pesquisas demonstram benefícios de dietas com restrição de metionina para a saúde, contribuindo com o aumento da expectativa de vida (Hoffman, 2019). Os inibidores de Bowman-Birk presentes no grão de bico, também vêm causando interesse dos estudiosos. Antigamente, esses inibidores eram vistos como fatores que causavam prejuízos como, por exemplo, a inibição da atividade das enzimas digestivas tripsina e quimotripsina. Contudo, estudos já demonstram aspectos positivos nesses inibidores de proteases, auxiliando na prevenção de doenças, como câncer de colorretal (Clemente; Arques, 2014).

Existem duas variedades de grão de bico, desi e kabuli. A variedade desi possui os grãos menores e de coloração marrom. Já a variedade kabuli possui os grãos mais largos e de coloração bege (Idate *et al.*, 2021). O cultivar BRS Cristalino é um representante da variedade kabuli. Esse cultivar é registrado pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) desde 20/09/2016 pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

(EMBRAPA). Recentemente, foi registrado, também pelo MAPA, o primeiro cultivar da variedade desi do Brasil. Denominado GB Cappuccino, esse cultivar foi registrado em 18/01/2023 pelo produto Osmar Pereira Artiaga (Mapa, 2023). Alguns processos modificam a solubilização dos constituintes do material vegetal, alterando as características nutricionais, bio e tecnofuncionais do produto final. Assim, processos que potencializem a solubilidade de fenólicos, proteínas, peptídeos bioativos, dentre outros compostos, podem proporcionar um extrato aquoso diferenciado com características nutricionais e nutracêuticas aumentadas. Dito isso, os grãos após passarem pelo processo de germinação, por exemplo, podem tornar-se potenciais promotores da saúde, viabilizando à produção de novos alimentos, especialmente os extratos aquosos vegetais (Bueno *et al.*, 2020).

Portanto, bebidas à base de vegetais como leguminosas, cereais ou sementes de plantas comestíveis estão se tornando uma alternativa e ganhando destaque pelo seu alto teor de proteínas (Sethi; Tyagi; Anurag, 2016; Cortes *et al.*, 2015; Kim *et al.*, 2012). Especialmente as bebidas produzidas à base de grão de bico ou “chickpea milk”, pois além de apresentar grandes benefícios nutricionais, também apresentam vantagens nutracêuticas (Kishor *et al.*, 2017) dependendo da forma de preparo, da variedade e dos processos que os grãos são submetidos.

Por fim, é extremamente importante conhecer a solubilidade dos componentes do grão de bico, especialmente as proteínas e o peptídeos, para fabricação de bebidas vegetais com potencial promotor da saúde humana. Além disso, compreender as etapas de processamento que consigam melhorar a extração desses componentes se faz necessário, para que assim, seja possível aumentar a oferta de alimentos que contribuam com a saúde e a longevidade dos indivíduos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Grão de bico

A Índia é o maior produtor de grão de bico (*Cicer arietinum* L.) no mundo, seguido pela Turquia, Paquistão, Austrália, Rússia, Mianmar, Etiópia e Irã. Além disso, essa leguminosa ocupa a terceira colocação de área de cultivo e representa a segunda maior cultura no mundo (Soto *et al.*, 2021; Thushan *et al.*, 2011; Yegrem *et al.*, 2021, Martinez; Yang; Mejia, 2021).

Nutricionalmente, o grão de bico é constituído por cerca de 41% a 50% de carboidrato, onde o amido se destaca; o conteúdo de proteína bruta representa 12,4% a 31,5%; os lipídeos, compostos por ácidos graxos insaturados como ácidos linoleico e oleico, estão presentes em menores quantidades, cerca de 6%. Entre as vitaminas destacam-se a riboflavina, niacina, tiamina, folato, vitamina A e seu precursor β -caroteno; e nos micronutrientes magnésio, cálcio, fósforo e potássio. Além disso, outros componentes compõem essa leguminosa como: fitoesteróis β -sitosterol, campesterol e stigmasterol (Hirdyani, 2014).

No mercado, existem duas variedades de grão de bico, desi e kabuli. A variedade desi possuem os grãos menores, em forma agulhada, com a superfície estriada e rugosa, densa pelagem e valor energético em torno de 327 kcal por 100 gramas. Já variedade kabuli possuem as sementes mais largas, com superfície lisa, arredondada, de cor bege e possui valor energético por volta de 365 kcal por 100 gramas (Idate *et al.*, 2021).

A forma que o grão de bico é usado nas preparações pelo mundo depende dos fatores étnicos e regionais, onde essas diferentes formas garantem aos indivíduos nutrição e potenciais benefícios para a saúde. Na Índia, por exemplo, o grão de bico é moído para fazer farinha (besan) onde é incrementado em diferentes tipos de lanches. Já na Ásia e na África esses grãos são consumidos em forma de ensopados, saladas, sopas, na forma assada, fervida, fermentada e salgada (Hirdyani, 2014).

No que diz respeito às características tecno-funcionais, as duas variedades de grão de bico apresentam diferenças. Em um estudo realizado por Kaur e Singh (2006), foi demonstrado que as proteínas isoladas da

variedade Kabuli (L-550) e Desi (PBG-1, PDG-4, PDG-3, GL-769 e GPF-2) são diferentes na capacidade hidros-cópia, de formação de gel e espuma, além de temperatura de desnaturação distinta. Essas características segundo Hernandez e Mejia (2019) são extremamente importantes para a escolha da matéria prima dos produtos que são formados à base de grão de bico. Além disso, os autores destacam em seu trabalho, que ainda não está descrito na literatura de forma clara, as diferenças no conteúdo de proteína das duas variedades, onde essas variações foram observadas com base em genótipos específicos.

Outro aspecto importante é o aumento da demanda por “leite” de origem vegetal que está ocorrendo por diversos motivos, dentre eles a preocupação com a sustentabilidade e o meio ambiente, alterações na saúde como a intolerância à lactose e alergias a proteínas do leite animal (Zhang *et al.*, 2021). Pensando nisso, a bebida a base de grão de bico se apresenta como uma alternativa interessante. Pois, além dos benefícios citados, apresenta alto teor de proteínas e, conseqüentemente, de aminoácidos essenciais. Além disso, pode torna-se uma alternativa ao “leite” de soja para desenvolvimento de fórmulas infantis para crianças que necessitam de formulas isentas de lactose (Kishor *et al.*, 2017).

O grão de bico é uma leguminosa que contém compostos bioativos com funções importantes e benéficas. Dentre essas funções pode-se destacar suas propriedades anti-hipertensiva, anti-inflamatória e anticancerígena (Hernandez; Mejia, 2019). Estudos destacam que os hidrolisados de grão de bico podem inibir a enzima conversora de angiotensina 1 (ECA-1) (Chang; Alli, 2012), contudo faltam estudos que caracterizem e avaliem seus efeitos *in vivo*, bem como seus mecanismos moleculares que fazem a interação com a ECA-1 (Arámburo-Gálvez *et al.* 2022).

Arámburo-Gálvez *et al.* (2022), avaliaram em seu estudo as interações dos peptídeos bioativos do grão de bico com os sítios ativos da ECA-1 por meio de docking molecular. Como resultado foi destacado que os hidrolisados gerados a partir da alcalase, pepsina, quimiotripsina e tripsina são potentes inibidores da ECA-1. Além disso, a interação peptídeo e enzima se dá por meio de fortes interações com resíduos dos sítios ativos da ECA-1 através ligações de hidrogênio e pontes salinas. Por fim, autores

demonstraram que os peptídeos são potencialmente absorvidos no intestino, sendo biodisponíveis, e adequadamente distribuídos na circulação sistêmica, além de não apresentar toxicidade.

Além dos peptídeos bioativos, o grão de bico possui outros componentes que podem ter função nutracêutica. Flavonoides e compostos fenólicos, por exemplo, possuem ação significativa como agentes antioxidantes. Além disso, outros compostos fenólicos como cafeico, clorogênico e p-cumárico são destacados na literatura pelo potencial de inibição da ECA por dose dependência (Gupta *et al.*, 2017).

2.2 Proteínas do grão de bico

As proteínas do grão de bico são constituídas por globulinas, representando de 53% a 60% do grão seco, glutelinas de 18 a 24%, albuminas de 8% a 12% e prolaminas de 3% a 7%. Entre as globulinas, as mais abundantes são legumina, vicilina e convicilina (Hernandez; Mejia, 2019).

O grão de bico possui um perfil de aminoácidos interessante, uma vez que essa leguminosa possui níveis balanceados de aminoácidos essenciais, segundo as recomendações da FAO/WHO/UNU (2013) para crianças pré-escolares e adultos. Contudo, há exceção dos aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína) que estão presentes em menores quantidades, mas que podem atingir os níveis ideais com implementação de cereais na dieta. Além disso, essa combinação positiva entre cereais e leguminosas auxilia, também, no perfil do aminoácido lisina, visto que os cereais possuem pequenas quantidades e o grão de bico grande quantidade (Thushan *et al.*, 2011; hirdyani, 2014; Rachwa-Rosiak; Nebesny; Budryn, 2015).

Os peptídeos das proteínas de grão de bico podem ser liberados pela hidrólise enzimática. Na literatura, as enzimas mais comumente utilizadas são: alcalase, α -quimiotripsina, flavorzima, papaína, bromelina, pepsina e tripsina, que podem ser usadas de forma isolada ou em combinações (Hernandez; Mejia, 2019).

A solubilidade das frações proteicas é um fator importante para aplicação das proteínas na indústria de alimentos. As bebidas à base de vegetais, como as leguminosas, possuem como característica a solubilidade

em água das albuminas (Yust *et al.*, 2010). Ainda, segundo Yust *et al.* (2010), a hidrólise por alcalase das proteínas de grão de bico, aumentou a solubilidade. Sendo assim, eles destacam a importância de se incluir o processo de hidrólise enzimática na produção de alimentos que possuem alto teor proteico, potencializando o rendimento da extração e aumentando a oferta de peptídeos bioativos nos produtos.

A albumina do grão de bico pode ser uma fonte de peptídeos bioativos. Um estudo realizado Kou *et al.* em 2013, demonstrou que após a extração de peptídeos bioativos da albumina, o peptídeo RQSHFANAQP destacou-se como um possível redutor dos níveis de colesterol total e triglicerídeos, além inibir a proliferação de células cancerígenas na mama em ratos.

A fração globulina do grão de bico pode liberar peptídeos com capacidade antioxidante, uma vez que, eles removem os radicais livres e protegem as células Caco-2 dos agentes oxidantes (Torres-Fluentes *et al.*, 2015). Além disso, a proteína do grão de bico hidrolisada pela pepsina e bromelina podem ser utilizados como ingredientes funcionais a serem incluídos na dieta para a prevenção do diabetes, uma vez que agiu de forma significativa na inibição das enzimas α -amilase e DPP4 (dipeptidil peptidase-4). Os autores destacaram seis peptídeos em seu trabalho: PHPATSGGGL, YVDGSGTPLT, SPQSPPFATPLW, KMTAGSGVT, GKAAPGSGGGTKA e GLTQGASLAGSGAPSPLF (Chandrasekaran *et al.*, 2020).

2.3 Proteínas e longevidade humana

Os peptídeos bioativos do grão de bico e suas propriedades benéficas para a saúde são destaques em muitos trabalhos científicos. Dentre essas propriedades a atividade antioxidante, anti-hipertensiva, hipocolesterolêmica, anti-inflamatória, anticarcinogênica, antifúngica, hipoglicemiante, anti-obesogênica e hipocolesterolêmica são as mais citadas (Barbana; Boye, 2010; del Mar Yust *et al.*, 2012; Milan-Noris *et al.*, 2018; Torres-Fuentes *et al.*, 2015; Xue *et al.*, 2015).

Estudos demonstram que dietas com restrição metionina estão relacionadas ao aumento dos níveis de glutathione, melhorando a resistência ao estresse oxidativo e diminuindo os níveis séricos de insulina e IGF-1

(Green; Laming, 2019; Swaminathan *et al.*, 2021). Já a cisteína abaixo da recomendação proposta pela FAO/WHO/UNU em 2013 favorece os efeitos da restrição de metionina, pois a sua suplementação é relacionada à reversão das mudanças genéticas e metabólicas proporcionadas pela restrição de metionina (Green; Laming, 2019).

Em contrapartida, os aminoácidos de cadeia ramificada, também conhecidos como BCAA's, em concentração acima da recomendada pela FAO/WHO/UNU (2013), podem trazer benefício em determinadas fases de vida. A leucina, um exemplo dos BCAA's, participa de forma importante do processo de síntese muscular através da ativação da via mTOR (*mammalian target of rapamycin*), podendo influenciar na liberação de hormônios reguladores de apetite e estimular a secreção de insulina pelas células beta do pâncreas (Sener; Malaisse, 1980; Yang *et al.*, 2010, 2012; Neinast *et al.*, 2019; Mu *et al.*, 2018; Solon-Biet *et al.*, 2019; Tian *et al.*, 2019; Tavano *et al.*, 2008).

Algumas dessas características de aminoácidos são encontradas em proteínas de grãos de bico, a depender da fração proteica destacada. Portanto, esse equilíbrio no perfil dos aminoácidos do grão de bico, torna-o uma boa alternativa de consumo, e, além disso, suas características auxiliam na promoção de saúde e aumento da expectativa de vida, diminuindo o risco do desenvolvimento das doenças crônicas não transmissíveis.

2.4 Processo de germinação

A germinação provoca inúmeras mudanças bioquímicas, além de trazer vantagens sensoriais e nutricionais. As primeiras mudanças podem ser observadas com no início da embebição das sementes, pois é nesta etapa que ocorre a absorção de água, dando início as atividades celulares e metabólicas. Fatores como temperatura, umidade e luz, são importantes para o processo, uma vez que, quando estão presentes de forma adequada, auxiliam na transição do grão do estado de dormência para início do metabolismo ativo, ou seja, ativação de enzimas e hormônios hidrolíticos. Visualmente, a germinação é detectada pelo rompimento grão, após o surgimento da radícula (Rosera; Castro, 2020).

O processo de germinação de grãos, como o grão de bico, pode contribuir para melhorar o perfil do material vegetal na produção de novos alimentos, como os extratos aquosos vegetais. A germinação provoca mudanças no perfil de componentes do broto como mobilização de materiais proteicos e de carboidratos, além de aumentar a atividade metabólica, ocasionando a liberação de diversos compostos solúveis. O processo de germinação é considerado como um mecanismo molecular que concentra os compostos bioativos presentes nas sementes comestíveis. Além disso, o processo de germinação melhora a biodisponibilidade de glicose e aminoácidos, por meio da hidrólise de carboidratos e proteínas (Bueno *et al.*, 2020).

Em relação ao tempo de germinação, estudos demonstram a sua ocorrência entre 3 e 5 dias. Além disso, é destacado que tempos curtos de germinação, podem auxiliar tanto no aspecto econômico, quanto na parte de prevenção a possíveis contaminações durante o processo (Lemmens *et al.*, 2018).

Diante disso, a germinação do grão de bico pode ocasionar as mais diversas variações no grão. Dentre elas, alterações na estrutura principal da globulina, onde ela torna-se mais vulnerável a ação de enzimas (Portiari *et al.*, 2005). Um estudo realizado por Mesfin, Belay e Amare (2021) demonstrou que os isolados da proteína do grão de bico, preparados a partir da farinha, tiveram resultados promissores nos fatores tecno-funcionais, antinutricionais e antioxidante após o processo de germinação. Além disso, os autores destacaram que os hidrolisados podem ser um ingrediente para a indústria de alimentos funcionais.

A digestibilidade proteica também sofre efeitos positivos durante o processo de germinação, uma vez que ocorre aumento da hidrólise e que origina material de baixo peso molecular como aminoácidos livres e pequenos peptídeos. Esse fenômeno demonstra que pode haver melhor captação desses materiais proteicos pelos enterócitos, aumentando a digestibilidade (Bueno *et al.*, 2020). Foi demonstrado que 18 horas de germinação já são suficientes para melhorar o valor nutricional e nutracêutico dos grãos, tendo em vista que nesses fragmentos liberados contém aminoácidos e os peptídeos com atividades biofuncionais que trazem benefícios para a saúde dos indivíduos

(Bueno *et al.*, 2020).

Outro ponto importante que deve ser ressaltado é o aumento da solubilização das proteínas durante a germinação. Esse é um ponto bastante explorado nos extratos aquosos vegetais, pois fornecem estabilidade para a bebida (Sethl; Tyagi; Anurag, 2016). Alguns autores, portanto, citam que essa alteração de solubilidade pode se dar pela síntese de enzimas e novos tecidos que ocorrem através da mobilização do material proteico. Todos esses processos hidrolíticos que ocorrem de forma natural, tornam o material derivado da germinação interessante em termos de melhorar no valor nutricional e rendimento (Kim *et al.*, 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar características bioativas de extratos aquosos produzidos com grão de bico (*Cicer arietinum* L.), tipo Desi (GB Cappuccino) em comparação ao do tipo Kabuli (BRS Cristalino) após processo de germinação dos grãos.

3.2 Objetivo Específicos

Este trabalho teve como objetivos específicos:

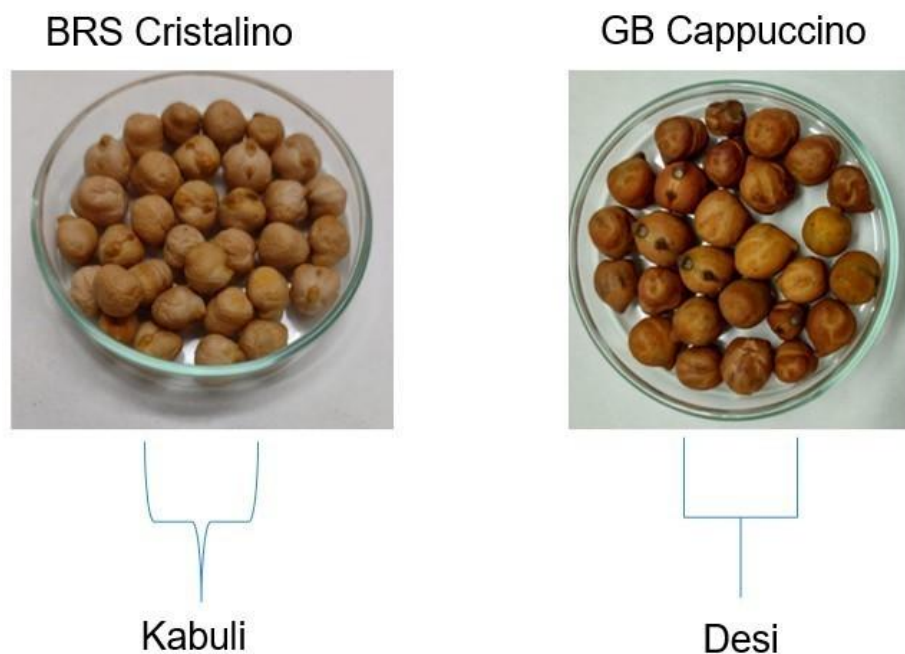
- a) avaliar os efeitos do processo de germinação, por diferentes tempos, em grãos da cultivar GB Cappuccino, em comparação à BRS Cristalino;
- b) analisar a alteração propiciada pelo processo de germinação nos teores componentes solúveis em água e que podem ter bioatividades, como proteínas e peptídeos, fenólicos totais e flavonóides;
- c) analisar a presença e alteração em bioatividades, a partir dos extratos aquosos produzidos com os grãos germinados e não germinados, verificando-se o potencial para inibição da enzima conversora de angiotensina e a capacidade antioxidante.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Foram utilizados cultivares de grão de bico (*Cicer arietinum* L.) cedidos pela Agro Garbanzo Produção Agrícola LTDA. (Cristalina, GO), das variedades Kabuli (BRS Cristalino) e do tipo Desi (GB Cappuccino) como demonstrado na Figura 1.

Figura 1 – Amostras de cultivares de grão de bico



Fonte: A autora.

4.2 Métodos

4.2.1 Composição centesimal

A caracterização da composição centesimal dos grãos in natura (umidade, cinzas, lipídeos e proteínas) foi realizada de acordo com o proposto pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (Horowitz, 2000). Carboidratos totais foram determinados por diferença, diminuindo-se a soma dos demais componentes de 100. Para a determinação proteínas, realizada de acordo com o método de Kjeldahl (AOAC, 1990), utilizou-se o fator de conversão N (nitrogênio) \times 6.25.

4.2.2 Processo de hidratação e germinação

O processo de germinação foi realizado de acordo com Amistá e Tavano (2013), com modificações. A germinação foi realizada simulando-se um procedimento caseiro, onde os grãos foram lavados com água destilada, imersos por 1 minuto em solução de hipoclorito de sódio 0,07% (v/v) e, então, colocados imersos em 50 ml água destilada por 12 horas.

Após drenagem da água, as sementes foram colocadas em uma peneira em temperatura ambiente (24°C), em local iluminado por luz natural, embora abrigado da incidência direta de raios solares cobrindo-se o material com papel alumínio. As sementes foram umedecidas diariamente utilizando-se água destilada.

As coletas das amostras foram realizadas após as 12 horas de hidratação e então a cada 24 horas, representando 1, 2 e 3 dias de germinação. A cada coleta, os grãos foram imediatamente pesados e armazenados sob congelamento para futuras análises.

4.2.3 Preparo dos extratos aquosos

Os grãos *in natura* e germinados tiveram seus componentes solúveis em água extraídos, conforme descrito em Bueno *et al.* 2020. Amostras de 1 grama de grãos foram triturados em Ultraturrax por 20 segundos, com água destilada na proporção de 1:20 m/v. As amostras foram então centrifugadas por 20 min/7000g/5°C e os sobrenadantes reservados. Os resíduos foram re-extraídos por mais duas vezes, mantendo-se a proporção de 1:20 (m/v). Os sobrenadantes foram reunidos e assim considerados os extratos aquosos para os demais ensaios.

4.2.4 Determinação de proteínas

A determinação foi realizada de acordo com o método de Kjeldahl (Aoac, 1990), utilizando o fator de conversão $N \times 6.25$.

4.2.5 Mensuração dos aminos grupos livres

Os aminos grupos livres nos extratos foram mensurados usando o-phthaldialdehyde (OPA), como descrito por Church *et al.* (1983).

4.2.6 Análise do perfil eletroforético

As eletroforeses SDS-PAGE foram realizadas como descrito por Laemmli (1970), usando géis de poliacrilamida de 12% e 15%, com gel de concentração de 4%.

4.2.6 Determinação de glicose livre

Para determinação da concentração de glicose livre nos extratos aquosos será utilizado o kit monoreagente (Bioclin®) com leituras em espectrofotômetro a 505 nm, contra branco da reação e utilização de curva analítica de glicose como padrão.

4.2.7 Determinação de fenólicos e flavonóides totais

Para determinação de fenólicos e flavonóides totais das amostras, além dos extratos aquosos preparados conforme descrito no item 4.2.3, uma extração com acetona 50% foi também realizada, sendo um solvente de maior eficiência na extração desses compostos, conforme Segev *et al* (2010). A concentração de fenólicos totais foi determinada espectrofotometricamente, utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, de acordo com a Singleton e Rossi (1965). Utilizando uma curva padrão de ácido gálico e os resultados foram expressos como ácido gálico equivalente por grama de amostras. Já os conteúdos de flavonóides foram determinados usando ensaio espectrofotométrico de cloreto de alumínio, conforme descrito por Boateng *et al.* (2008). Uma curva de catequina foi usada como padrão e os resultados expressos como mg equivalente de catequina por grama de amostras.

4.2.8 Determinação do potencial antioxidante

A determinação do potencial antioxidante dos extratos foi estimada pelo método de captura de elétrons com uso de reagente ABTS (2,2'-azino-bis (3- ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)) e DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) como descrito por Brand-Williams, Cuvelier e Berset (1995) e modificado por Pereira e Tavano (2014). Uma curva padrão de TROLOX foi utilizada como padrão e os resultados foram expressos em equivalentes de TROLOX/unidade

de amostra.

4.2.9 Atividade de inibição da enzima conversora de angiotensina

Para atividade de inibição de enzima conversora de angiotensina foi utilizado método descrito por Murray *et al.* (2004). Foi utilizado o substrato furanacryloyl- prolyl-glycyl-glycine (FAPGG) e extrato de pulmões de rato contendo a ECA (Protocolo CEUA nº 38/2018).

4.2.10 Análise Estatística

Considerando o nível de significância de $p < 0,05$, foram utilizados o teste de Shapiro-Wilk para verificação de normalidade e para comparação de médias os testes de: Teste t (duas amostras independentes com distribuição normal), Teste de Mann-Whitney (duas amostras independentes sem distribuição normal), ANOVA para medidas repetidas com teste de Tukey (para 3 ou mais amostras dependentes com distribuição normal). Os dados foram tabulados em Excel e processados no software livre PAST.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Características gerais dos grãos

As amostras são representadas por dois cultivares já registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), sendo as amostras identificadas como BRS Cristalino e GB Cappuccino. As cultivares são do tipo kabuli, de coloração creme da casca, e do tipo desi, com grãos de tegumento marrom (Figura 1).

Atualmente, há 11 cultivares cadastradas no Registro Nacional de Cultivares – RNC, do MAPA, sendo que a cultivar GB Cappuccino é a primeira cultivar do tipo desi registrada, e cujo registro data de 18/01/2023 (Mapa, 2023).

Os grãos apresentaram peso médio de $0,39 \pm 0,017$ g/grão e $0,50 \pm 0,018$ g/grão, respectivamente para as cultivares BRS Cristalino e GB Cappuccino. Sendo que deste peso, em média, os grãos apresentaram 5,41 % e 9,21 % de cascas, respectivamente.

Na tabela 1 foram reunidos os dados referentes a composição centesimal destas amostras.

Tabela 1- Composição centesimal das amostras de grãos de bico (*Cicer arietinum* L.) in natura sem germinar.

Cultivar	Componentes (%) *				
	Umidade	Cinzas	Lipídeos	Proteínas	Carboidratos **
BRS Cristalino	$8,78^a \pm 0,04$	$2,5^a \pm 0,04$	$5,68^a \pm 0,28$	$23,73^a \pm 0,15$	59,31
GB Cappuccino	$8,32^b \pm 0,07$	$2,44^a \pm 0,08$	$5,35^a \pm 0,03$	$21,89^b \pm 0,51$	62

Fonte: A autora.

Legenda: *Resultados apresentam médias \pm desvio padrão de três determinações, em base úmida.
 **Carboidratos totais estimados por diferença dos demais componentes. Médias seguidas da mesma letra indicam que não há diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$).

Os valores para composição centesimal estão próximos ao encontrado por Milan-Carillo *et al.* (2000) para cultivares de grão de bico tipo desi, onde o valor médio para proteína ficou em 22,5%, lipídios 5,01% e cinzas 2,98%. Destacando o teor de proteína, assim como apresentado na tabela 1, Saini e Knights (1984) demonstraram em seu estudo ao comparar sete variedades de desi e sete variedades de kabuli que não existe diferenças nos teores da proteína entre os dois tipos de grão de bico.

Em contrapartida, Fernandes *et al.*, (2022) encontraram em seu trabalho de caracterização da farinha do grão de bico BRS Cristalino valores distintos. Lipídeos, por exemplo, 1,9% e proteínas 15,74%. Segundo os autores essa oscilação não ocorre somente entre as variedades, mas também com as condições de cultivo do grão.

O teor de cinzas de cerca de 2,5 % representa o teor de minerais do alimento. Esses componentes são peças chaves para o bom funcionamento do metabolismo. Gupta *et al.* (2017) reforça que os componentes minerais do grão de bico são de grande importância, o que também foi abordado por Kishor *et al.* (2017), com destaque para ferro, zinco, cálcio e magnésio.

A tabela 2 apresenta a composição de fenólicos totais e flavonoides totais dos grãos, dois componentes constantemente relacionados à ação antioxidante de alimentos e que vêm despertando interesse por conta de suas ações positivas para a saúde (Ferrera *et al.*, 2016). Esses componentes podem atuar como agentes redutores, sequestrantes de radicais livres, desativadores do oxigênio singlete ou quelantes de metais (Taiz; Zeiger, 2013).

Tabela 2 – Teores de fenólicos e flavonóides totais e atividade antioxidante de amostras de grão de bico sem germinação

Determinações*	Amostras	
	BRS Cristalino	GB Cappuccino
Flavonoides Totais**	0,31 ^b ± 0,07	0,72 ^a ± 0,04
Fenólicos Totais***	0,59 ^b ± 0,038	1,22 ^a ± 0,028
ABTS****	7,86 ^b ± 0,02	21,21 ^a ± 1,73
DPPH****	1,27 ^b ± 0,03	3,65 ^a ± 0,28

Fonte: A autora

Legenda: *Resultados apresentam médias ± desvio padrão de três determinações, a partir dos extratos de acetona 50%, conforme Material e Métodos.

** Flavonoides totais expressos em mg equivalentes de catequinas/g de amostra.

***Fenólicos totais expressos em mg equivalentes de ácido gálico/g de amostra.

****Resultados expressos em nmol equivalente de Trolox/g de amostra apresentando ABTS= 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) e DPPH = 2,2-difenil-1-picril- hidrazila. Médias seguidas da mesma letra indicam que não há diferença significativa entre as amostras ($p < 0,05$).

Os dados da tabela 2 indicam que a amostra de tegumento marrom, a amostra GB Cappuccino como de destaque. Isso pode indicar que a coloração da casca se relaciona com a presença de componentes antioxidantes. Quintero-Soto *et al.* (2018) analisaram perfis fenólicos e sua contribuição para a atividade antioxidante de dezoito genótipos (nove do tipo desi e nove do tipo kabuli) do grão- de-bico. Como conclusão, foi destacado que a atividade antioxidante do grão de bico do tipo desi foi até seis vezes maior comparado ao tipo kabuli. Pasqualone *et al.* (2021), também demonstraram em seu trabalho melhores resultados do tipo desi em relação ao kabuli para atividade antioxidante analisada pelo ensaio do DPPH. Os mesmos relacionam essa diferença com a pigmentação das cascas que os grãos do tipo desi possuem.

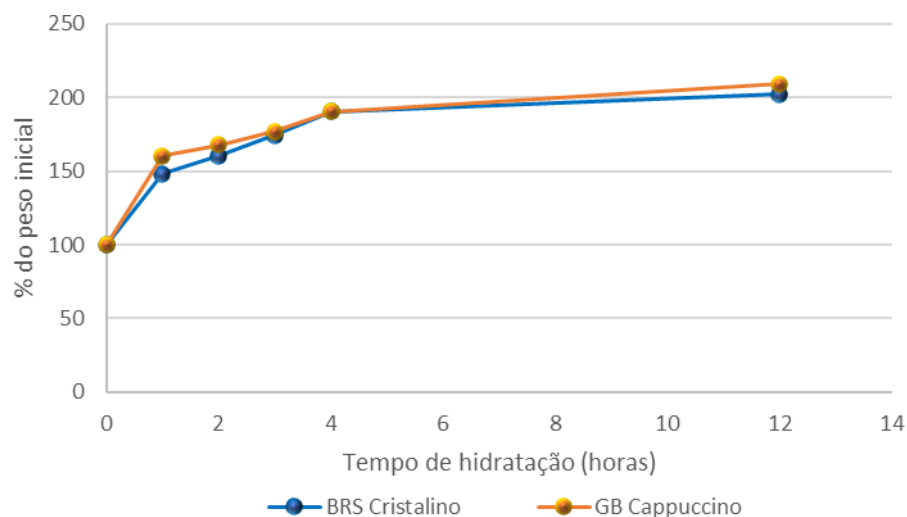
5.2 Ensaio de germinação dos grãos

A expressão “grãos germinados” pode ser confusa em sua definição, sendo que, embora muitos trabalhos apresentem dados para grãos que já estejam com radículas visíveis, como destacado por Lemmens *et al.* (2018), as alterações fisiológicas dos grãos podem se iniciar antes disso. Kim *et al.* (2011)

consideram que a germinação deve ser considerada iniciada quando os grãos param de absorver água, e destacam ser este o momento em que as primeiras transformações nos grãos se iniciam. A mobilização de proteínas para a liberação ou produção de enzimas necessárias para a transformação de componentes de reserva é apontada na literatura como primeira modificação detectada nos grãos (Bueno *et al.*, 2020). Desta forma, iniciou-se este estudo pelo acompanhamento da etapa de hidratação dos grãos.

A Figura 2 apresenta o comportamento de hidratação dos grãos. Observa-se que, embora sejam amostras distintas, suas curvas, em percentual de ganho de peso, se mostram muito semelhantes.

Figura 2 – Ganho de peso durante o processo de hidratação das amostras de grão de bico.



Fonte: A autora.

De acordo com os dados de absorção de água, ao final do ensaio, um máximo de ganho de peso dos grãos foi atingido com cerca de o dobro de seu peso inicial (202% do peso inicial para a amostra de BRS Cristalino e 209% para o GB Cappuccino, conforme dados da Figura 2).

A Figura 3 apresenta a aparência desses grãos, que embora tenham aumentado visivelmente seu volume, mantiveram integras suas cascas e sem aparente presença de radículas.

Figura 3 – Amostras de grão de bico hidratadas 12 horas



Fonte: A autora

Embora se tenha observado a absorção de água por período total de 12 horas, intervalos menores foram considerados, conforme apresentado na Figura 2, buscando-se identificar o tempo mínimo necessário para o processo. O uso de um tempo menor de hidratação, além de representar menor custo de processo, colaboraria para que se evitasse a ocorrência de contaminações microbiológicas, uma vez que a hidratação pode ser realizada a temperatura ambiente.

Estudos de He *et al.* (2019) demonstram que em 6 horas de embebição a água absorvida chegou a 90% do peso seco de 6 diferentes cultivares de grão de bico. Após esse tempo, há uma diminuição na taxa de absorção de água e o peso do grão hidratado alcança 2,06 vezes o peso do grão sem hidratação. Este comportamento foi muito semelhante ao observado neste estudo (Figura 2). He *et al.* (2019) relatam que a capacidade do grão de absorver água está associada com as propriedades físicas das sementes. Tendências semelhantes de embebição foram destacadas por outros autores (Clemente *et al.*, 1998; Turhan *et al.*, 2002; Patane` *et al.*, 2004; Gowen *et al.*, 2007).

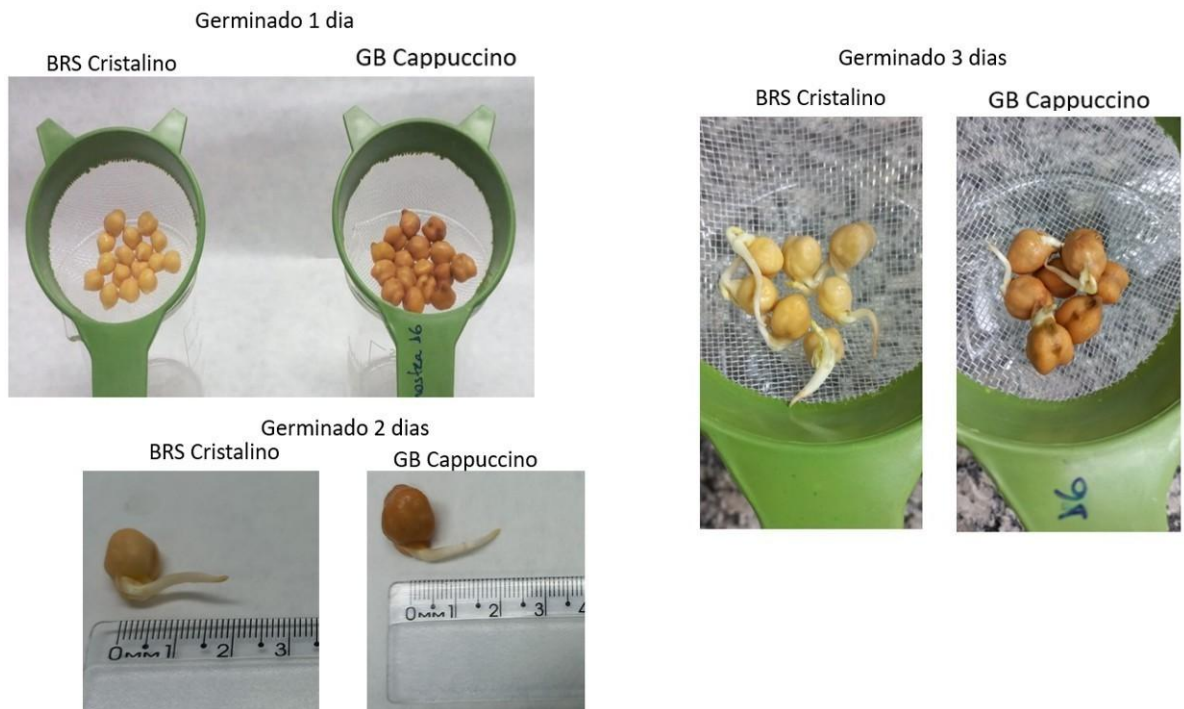
Embora na literatura se observe a citação de germinados de 3 a 5 dias em média (Lemmens *et al.*, 2018), buscou-se observar os curtos tempos, na hipótese de se poder alcançar benefícios já nos primeiros momentos da transformação dos grãos, seguindo-se o mesmo princípio de menor custo-

benefício.

É importante ressaltar que um objetivo desta proposta de método de germinação se refere a possível adoção desta prática em ambiente doméstico, onde o controle microbiológico é ainda mais dificultado. Sendo assim, os dados do trabalho, focaram em tempos curtos de germinação (máximo de 3 dias).

A Figura 4 apresenta as imagens dos grãos nos diferentes tempos de germinação, onde se nota a alteração e surgimento gradual de radícula, especialmente a partir do dia 2 dos processos.

Figura 4 – Imagens de dois cultivares de grãos de bico (*Cicer arietinum*) em processo de germinação de 1, 2 e 3 dias.

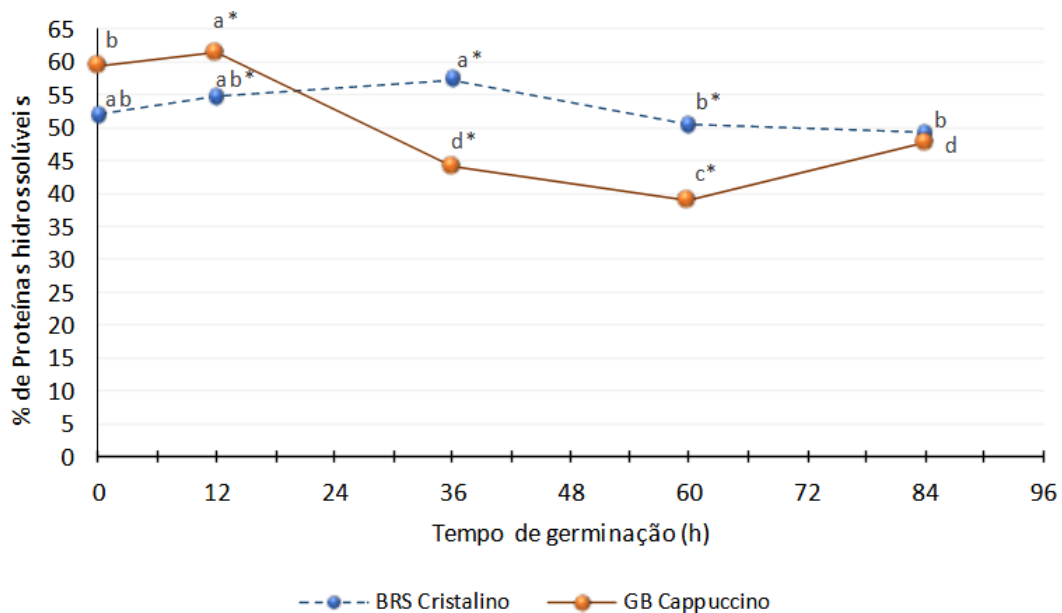


Fonte: A autora.

Após 12 horas de hidratação, nenhum dos grãos apresentava surgimento visível de radícula (Figura 3), mas, após 1 dia de germinação (adicionais 24 horas após final do processo de hidratação), já era possível se verificar vários grãos com pequeno surgimento. Aos dois dias já era possível a visualização clara das radículas, chegando a alcançar cerca de 2 cm em alguns grãos, para ambas as amostras (Figura 4).

Os grãos coletados em cada tempo de germinação foram utilizados em preparos de extratos aquosos, e estes tiveram seus componentes solúveis e bioatividades determinados. A Figura 5 apresenta dados dos percentuais de solubilização de proteínas totais dos grãos nesses extratos.

Figura 5 – Percentual de proteínas solúveis em água de dois cultivares de grãos de bico (*Cicer arietinum*), antes e após diferentes tempos de germinação.



Fonte: A autora

Legenda: Os valores representam as médias de três determinações. Dados com letras distintas sobrescritas, para uma mesma amostra, apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$). Dados identificados com asterisco apresentam diferença significativa entre as duas amostras no mesmo tempo ($p < 0,05$).

Uma primeira observação é que, embora a literatura aponte para uma melhoria na solubilidade de proteínas com a germinação de grãos (BUENO *et al.*, 2020), as amostras pouco diferiram ou tiveram uma pequena redução nos seus percentuais de proteínas solúveis em água (Figura 5) como consequência das suas germinações.

Um outro fato que chama a atenção na Figura 5 é que os percentuais de extração proteica dos dois grãos, em todos os tempos, se mostram altos. Isso por se considerar que a fração albumina representa cerca de 20% e seria aquela naturalmente solúvel em água (Hernandez; Mejia 2019), ou seja, os

percentuais aqui observados foram elevados (acima de 45% para o BRS Cristalino e 36% para o GB Cappuccino). Isto indica que outras frações proteicas devem estar se solubilizando conjuntamente às albuminas.

Uma observação do comportamento dos extratos nos reforça a hipótese de se tratarem de globulinas sendo conjuntamente solubilizadas num primeiro momento. Os extratos, ao serem refrigerados, e, especialmente congelados e descongelados, passavam a apresentar um precipitado bastante evidente (dados não apresentados). Indicando haver proteínas que haviam se solubilizado a princípio, quando extraídas em temperatura ambiente, mas que ao serem refrigeradas passavam a perder essa solubilidade.

Considerando que globulinas são insolúveis em água, necessitando de presença de sais para sua solubilização (Neves *et al.*, 2003), uma hipótese para estas observações seria que os próprios minerais dos grãos, ao se solubilizarem nos extratos, funcionariam como sais que em um primeiro momento propiciaram a solubilização de grande parte das globulinas, conforme indica Liu, Hung e Bennett (2008). Os autores avaliaram a extração de globulinas e albuminas de três variedades de grão de bico, com uso de solução salina e de água. Nesse estudo, quando a extração foi em água, assim como neste trabalho, houve uma extração de proteínas totais que variou entre 43 e 49%. Destas proteínas, houve detecção de globulinas após processo de diálise, para todas as amostras testadas, sendo que o % de globulinas foi ainda muito variável, representando de 10 a 48% da proteína total que se solubilizou em água, a depender da amostra de grão.

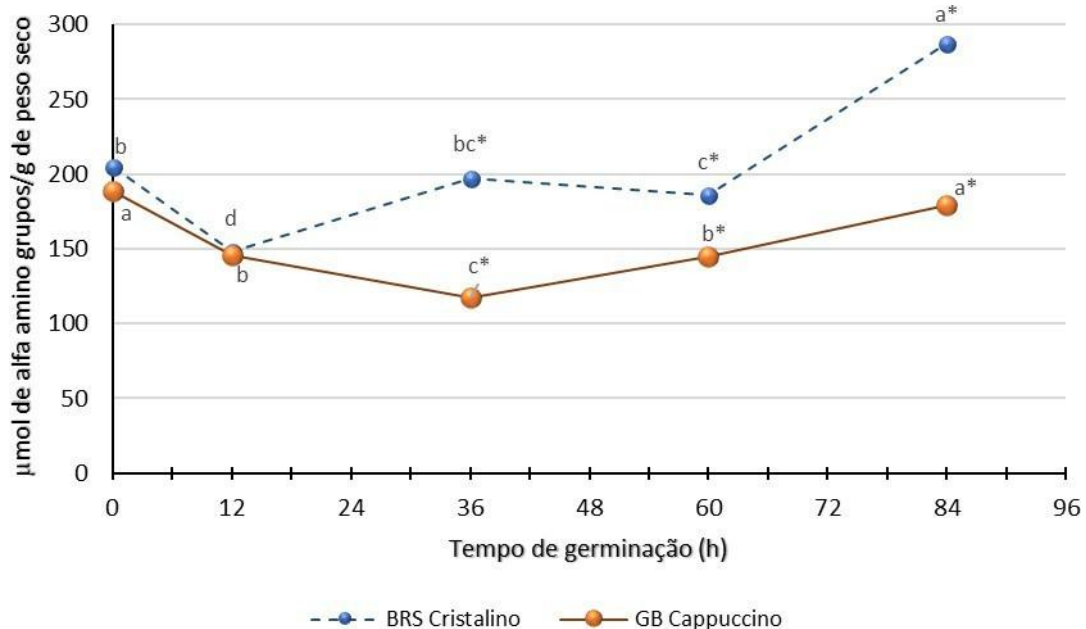
Em nosso estudo, talvez por ser baixa a concentração destes sais, ou seja, a força iônica exercida ser frágil, essa solubilização inicial logo se reverteria ao se resfriar ou congelar o material, gerando o precipitado observável (dados não apresentados).

Sendo o perfil de frações de proteínas no produto final (extrato aquoso) o que define seu perfil de aminoácidos, é muito importante que se compreenda o que propicia a definição das características alcançadas no produto final. Os perfis de aminoácidos de frações albuminas e globulinas de leguminosas são conhecidamente distintos e, especialmente, podem conter percentuais de sulfurados bastante diferentes. A presença do globulinas em altas

quantidades no produto final, embora possa acrescentar proteína total ao extrato, também altera esse perfil de aminoácidos, podendo, inclusive, se sobressair na composição do produto.

Além dos percentuais de proteínas extraídas em solução, observou-se também a possível alteração no perfil desse material em função dos tempos de germinação dos grãos. A concentração de α -amino grupos livres presentes nas soluções foi acompanhada e os dados foram apresentados na Figura 6.

Figura 6 - Efeito do tempo de germinação na concentração de α -aminogrupos solúveis de dois cultivares de grãos de bico (*Cicer arietinum*) expresso por gramas de sólidos dos grãos.



Fonte: A autora

Legenda: Os valores representam as médias de três determinações. Dados com letras distintas sobrescritas, para uma mesma amostra, apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$). Dados identificados com asterisco apresentam diferença significativa entre as duas amostras no mesmo tempo ($p < 0,05$).

Embora a solubilidade proteica total não tenha apresentado aumento para os grãos germinados, os dados da Figura 6 indicam que as amostras estão sofrendo modificações em suas proteínas ao longo de todo o processo. Interessante destacar que já para os grãos que sofreram apenas as 12h de hidratação, houve alteração em seu material proteico, sendo que nesse caso observou-se uma redução de alfa amino grupos livres solubilizados. Ainda que de princípio observe-se redução nos teores de alfa-amino grupos, nos tempos finais do processo há uma elevação para ambas as amostras (Figura

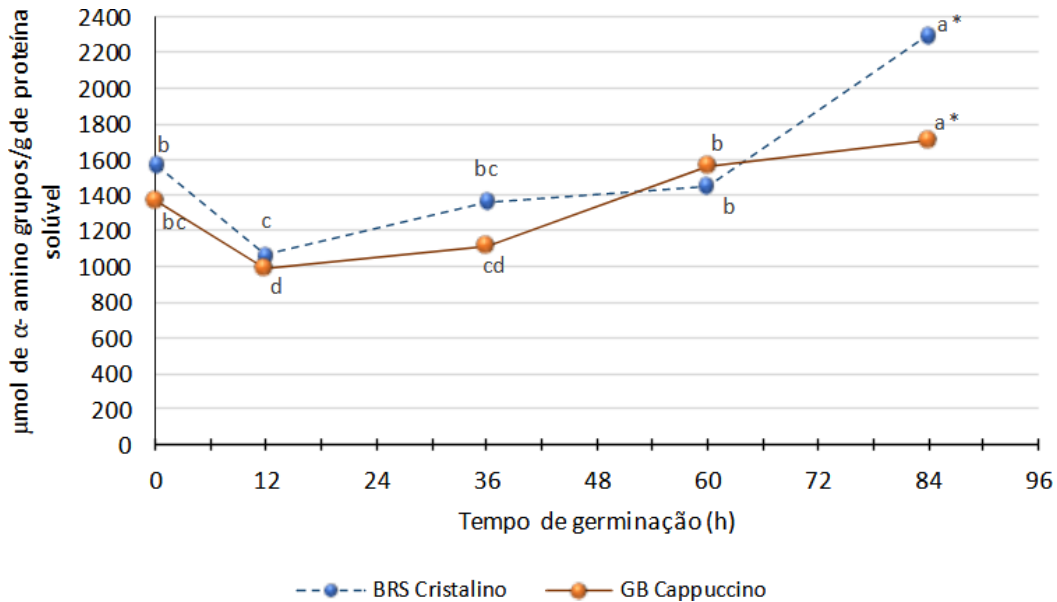
6).

Esta observação pode ser reflexo de processos, tanto de síntese como de degradação, que possam ter se iniciado nos grãos. As mobilizações de proteínas podem incluir de princípio a expressão de enzimas para as transformações dos grãos, seguidas de processos de ação dessas enzimas, propiciando degradações e novas liberações de peptídeos e aminoácidos para serem utilizados em novas proteínas necessárias ao processo de transformação dos grãos. Outros autores relataram essas oscilações entre componentes mobilizados em germinados de grão de bico ou outros grãos (Huang; Cai; Xu, 2017; González-Montoya *et al.*, 2018)

Segundo demonstrado pelos autores Bueno *et al.* (2020), a oscilação na solubilidade do nitrogênio durante o processo de germinação, pode estar relacionada com a mobilização de material proteico para sintetizar novos tecidos e enzimas. Além disso, os autores detectaram um constante aumento e redução na concentração dos aminoácidos livres em seus extratos aquosos, indicando a frequente variação entre a hidrólise de proteínas de reserva e síntese de novas proteínas, por exemplo. Embora este estudo tenha sido realizado com germinação de soja, um perfil semelhante pode ser observado no grão de bico, tendo que em vista que ambos fazem parte do grupo das leguminosas.

Uma vez que o ensaio de determinação de amino grupos com o reagente OPA é específico para α -amino grupos, excluindo-se, por exemplo, os ϵ -amino de cadeias laterais de aminoácidos, pode-se considerar que cada aminoácido, peptídeos ou cadeia proteica, terá apenas um terminal alfa amino em sua estrutura. Assim, o surgimento de novos alfa-amino grupos em solução podem indicar rompimento de ligações peptídicas, e, a redução, indicar síntese proteica. Além da expressão de alfa-amino grupos solúveis por grama de sólidos dos grãos, os dados foram também expressos por grama de proteínas totais solúveis, pois, desta forma, podem indicar, ainda mais propriamente, o quão hidrolisado o material proteico solubilizado está. A Figura 7 traz esses dados.

Figura 7 - Efeito do tempo de germinação na concentração de α -aminogrupos solúveis expressos por grama de proteínas totais dos grãos de dois cultivares de grãos de bico (*Cicer arietinum*).



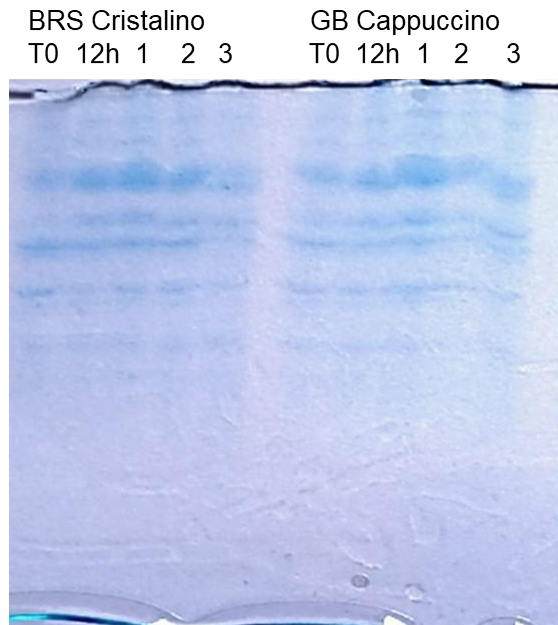
Fonte: A autora

Legenda: Os valores representam as médias de três determinações. Dados com letras distintas sobrescritas, para uma mesma amostra, apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$). Dados identificados com asterisco apresentam diferença significativa entre as duas amostras no mesmo tempo ($p < 0,05$).

Os perfis dos dados apresentados nas figuras 6 e 7 são muito parecidos. Os dados da forma expressa na Figura 7 reforçam a percepção de que, embora o total de proteínas solúveis tenha sofrido pouca variação e praticamente nenhum aumento, o perfil do material proteico ao longo da germinação se altera, com presença de maior número de unidades, ou seja, mais material hidrolisado, ao final do processo.

Ainda que estas alterações tenham sido detectadas, os perfis de eletroforese dos extratos apresentaram pouca variação (Figura 8).

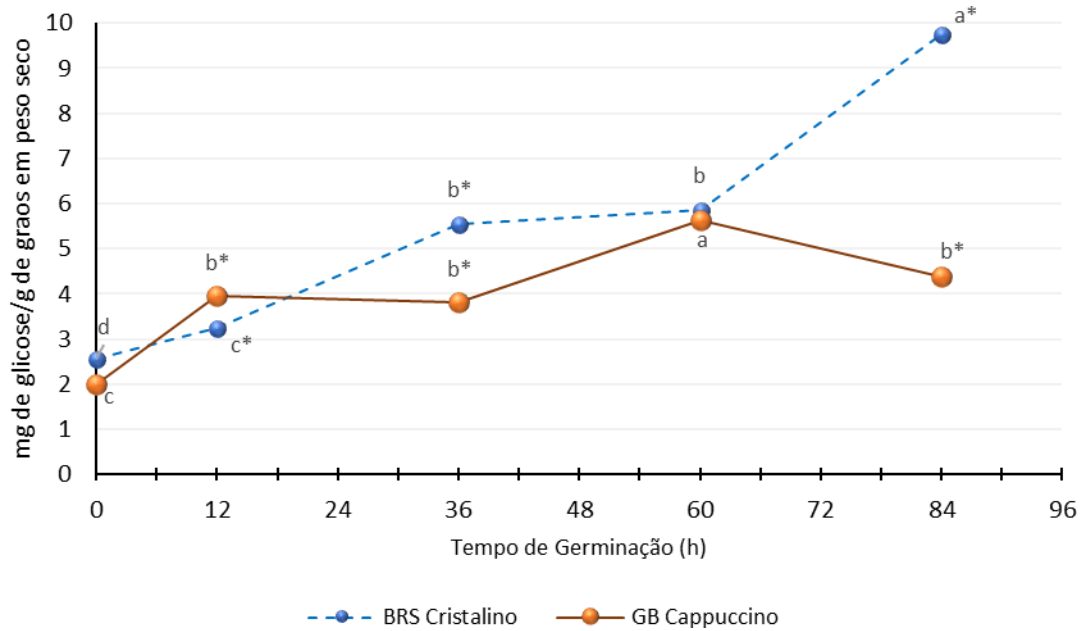
Figura 8 - Perfis eletroforéticos (SDS-PAGE) de amostras de extrato aquoso de dois cultivares de grãos de bico (*Cicer arietinum*) produzidos com grãos antes e após processo de germinação e centrifugados após congelar



Fonte: A autora

Os valores de glicose livre também foram acompanhados e os dados reunidos na Figura 9.

Figura 9 - Efeito do tempo de germinação de dois cultivares de grãos de bico (*Cicer arietinum*) na concentração de glicose solúvel.



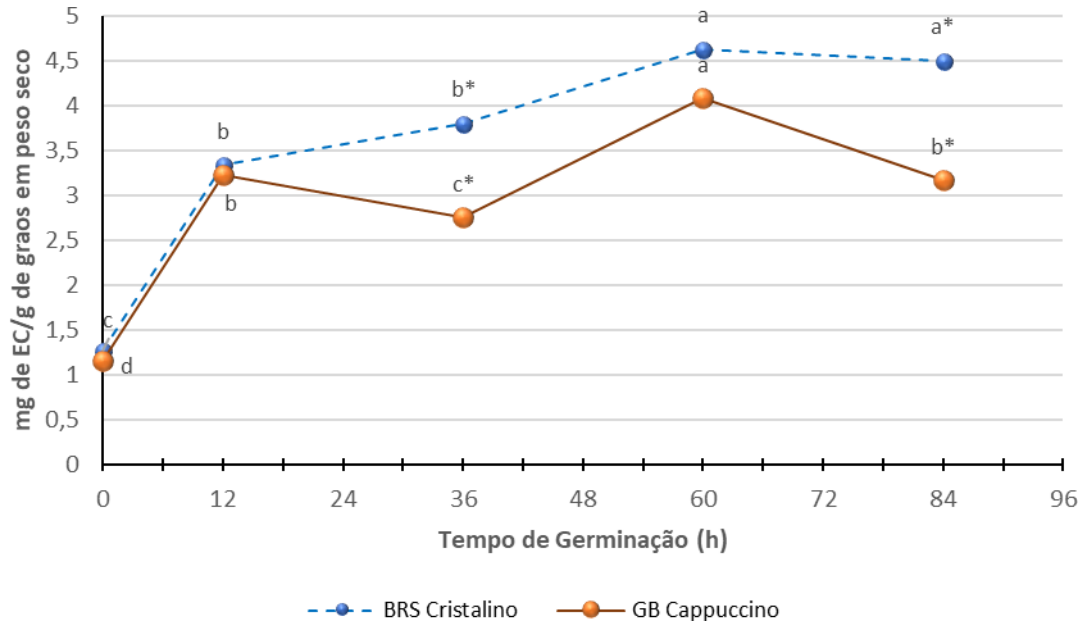
Fonte: A autora

Legenda: Os valores representam as médias de três determinações. Dados com letras distintas sobrescritas, para uma mesma amostra, apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$). Dados identificados com asterisco apresentam diferença significativa entre as duas amostras no mesmo tempo ($p < 0,05$).

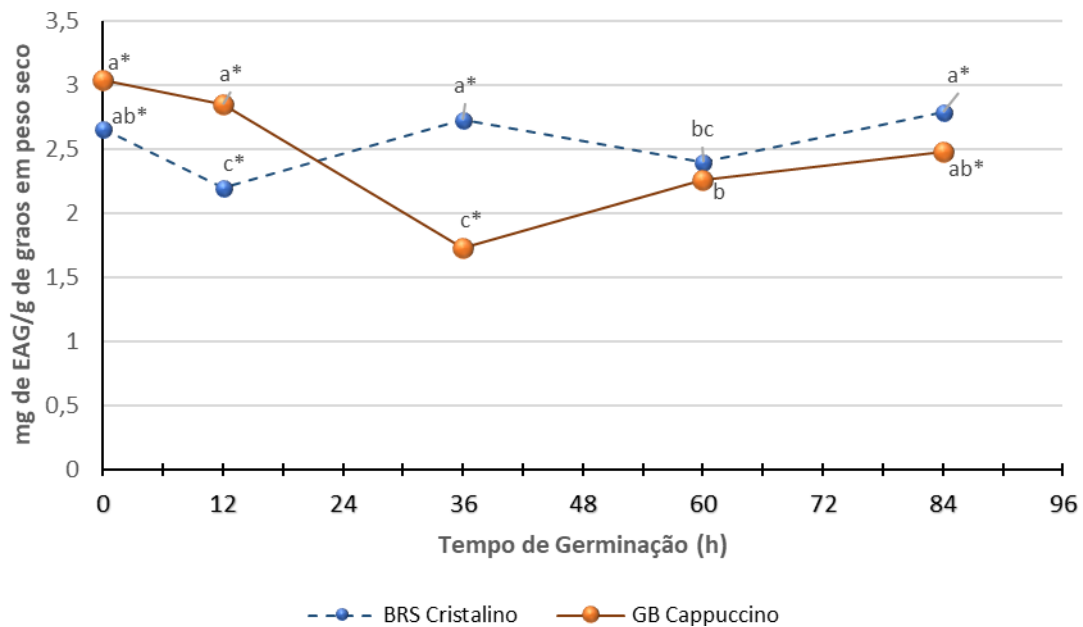
Como demonstrado na Figura 9 as duas amostras demonstraram comportamento distinto. Enquanto a BRS Cristalino apresentou aumento gradual na glicose solúvel com processo de germinação empregado, a cultivar GB Cappuccino também apresentou aumento em comparação ao tempo zero, mas, sem um pico de elevação como apresentado para a BRS Cristalino no terceiro dia de germinação (84 horas).

Figura 10 - Efeito do tempo de germinação de grãos de bico (*Cicer arietinum*) na concentração de flavonoides e fenólicos totais.

A



B



Fonte: A autora

Legenda: Flavonóides totais solúveis em água (A) expressos como mg de equivalentes de catequinas (EC)/g de grãos em base seca. Fenólicos totais solúveis (B) em água expressos como mg de equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de grãos em peso seco.

Os valores representam as médias de três determinações. Dados com letras distintas sobrescritas, para uma mesma amostra, apresenta diferenças significativas ($p < 0,05$).

Dados identificados com asterisco apresentam diferença significativa entre as duas amostras ($p < 0,05$).

De acordo com os dados da Figura 10 as duas cultivares apresentaram aumento de flavonóides solúveis em água (Figura 10A), mas o mesmo não foi observado para os totais de fenólicos ao longo das germinações (Figura 10B). A BRS Cristalino teve uma crescente seguida de uma pequena diminuição dos flavonoides totais (Figura 10A). Já a amostra GB Cappuccino (Figura 10B) demonstrou uma oscilação maior perante os tempos de germinação.

Os flavonoides são amplamente conhecidos por possuem atividades benéficas para a saúde humana (Xu *et al.*, 2015). Ullah e colaboradores (2020) demonstraram que os flavonoides possuem atividade antifúngica, antidiabética, neuroprotetora, cardioprotetora, anticancerígena antibacteriana, antimalárica e anti- inflamatória. Sendo assim, a inclusão diária de alimentos ricos em flavonoides como grão de bico, contribui para manter o indivíduo saudável, diminuindo o risco de doenças como diabetes e câncer (Heiras-Palazuelos *et al.*, 2012).

Além disso, são frequentemente associados à pigmentação dos tecidos vegetais (Xu *et al.*, 2015). Mas, ao contrário do esperado, os grãos GB Cappuccino, de cor marrom da casca, não apresentaram maior teor de flavonoides solúveis em comparação aos grãos BRS Cristalino, de cor clara. Esta observação pode ser decorrente dos tipos de flavonoides compõem o conjunto desses compostos nos grãos. Os dados da Figura 10 representam os componentes solúveis em água desses grãos. Quando os grãos sofreram extração com solvente (acetona), o conjunto de flavonoides dos grãos marrons apresentou maiores quantidades, assim como para os fenólicos totais, conforme demonstraram os dados da tabela 2.

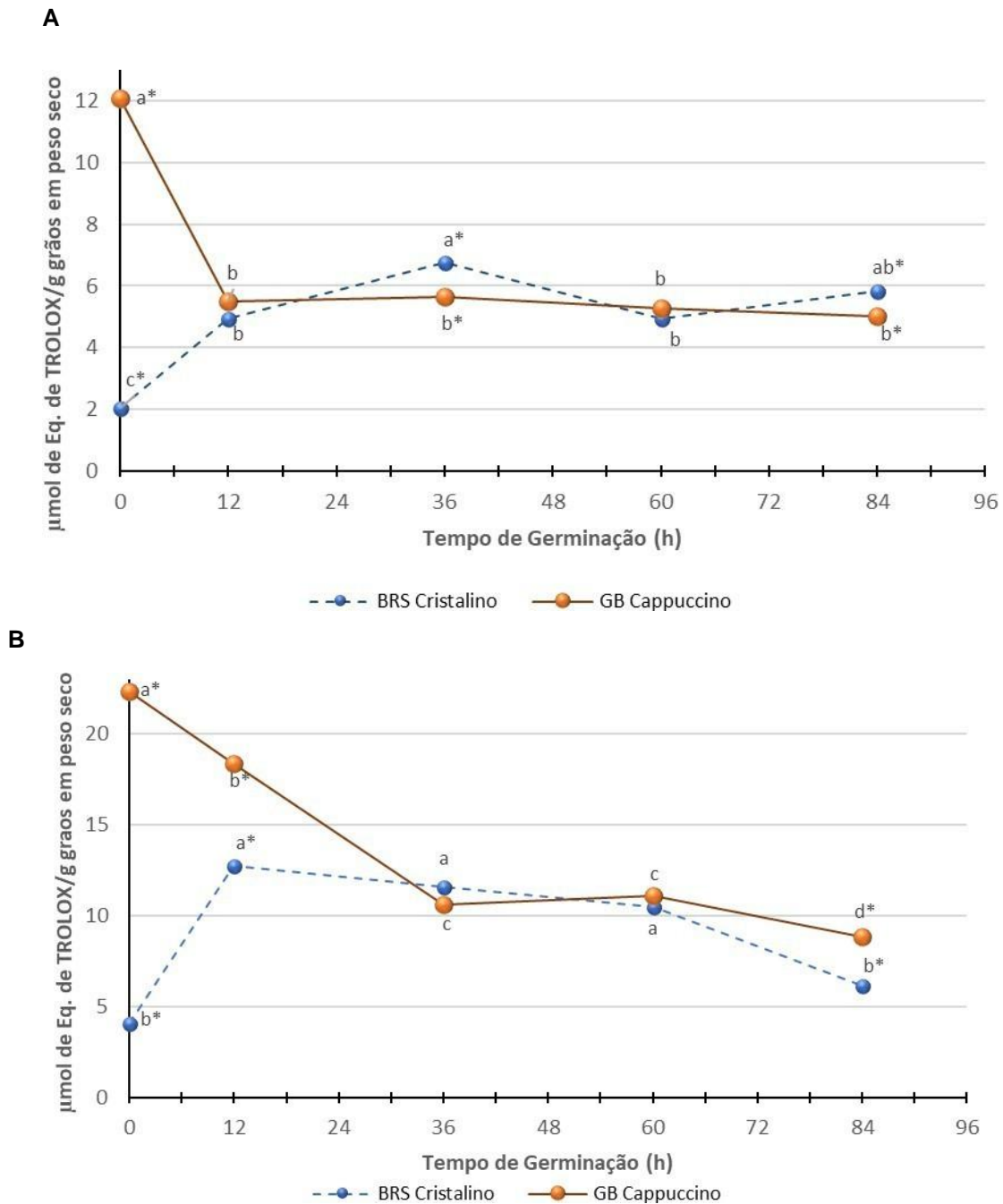
Interessante também observar que, embora os flavonoides tenham apresentado um aumento com o processo de germinação, os fenólicos totais, por sua vez, demonstraram uma certa oscilação, com queda em determinados pontos quando comparado com o tempo zero (Figura 10B).

A redução dos teores de fenólicos também foi demonstrado por Mamilla e Mishra (2017). Esses autores, ao comparar os efeitos da temperatura na germinação de diferentes leguminosas, apontaram para uma redução nos teores de determinados componentes, como o ácido cumárico e o pro-catequínico, que só foram detectados nos grãos não germinados. Nesse mesmo estudo, os autores observaram que as concentrações dos diferentes

fenólicos encontrados nos grãos, quando individualmente considerados, pode variar de maneira distinta ao longo da germinação, e que ainda podem variar de acordo com a temperatura, umidade e luminosidade em que a germinação é realizada. Sofi *et al.* (2023) também encontraram variações entre diferentes fenólicos de grãos de bico de duas cultivares antes e após serem germinados. Esses autores encontraram redução nas quantidades de ácido elágico, clorogênico e cinâmico, em ambas as cultivares. Já para ácido gálico e p-cumarico, um aumento foi observado. Destacaram também diferenças entre as cultivares, como para o ácido ferúlico que não pode ser detectado na cultivar GNG 469 após germinação, enquanto que para a GNG 1581 esse componente teve aumento de teores. Esse tipo de oscilação entre compostos nos diferentes tempos de germinação pode estar influenciando e gerando os dados aqui apresentados (Figura 10A e B).

A Figura 11 demonstra o potencial antioxidante das amostras, onde é possível analisar que tanto pelo método ABTS (Figura 11A), quanto pelo método DPPH (Figura 11B), observa-se alteração nas atividades dos grãos com o processo de germinação.

Figura 11 – Efeito do tempo de germinação de grãos de bico (*Cicer arietinum*) no potencial antioxidante.



Fonte: A autora

Legenda: (A) Determinação por uso de ABTS; (B) Determinação por uso de DPPH. Os valores representam as médias de três determinações. Dados com letras distintas sobrescritas, para uma mesma amostra, apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$). Dados identificados com asterisco apresentam diferença significativa entre as duas amostras ($p < 0,05$).

As amostras demonstram comportamento semelhante entre as duas determinações, onde a BRS Cristalino teve um pequeno aumento no seu potencial antioxidante e a GB Cappuccino diminuição em comparação ao grão in natura (Figura 11). Resultados semelhantes foram encontrados por Mesfin, Belay e Amare (2021), onde ao comparar a atividade antioxidante de duas variedades de grão de bico, a Arerti (tipo Kabuli) e Natoli (tipo Desi), os autores descreveram um o aumento da atividade detectada pelo método DPPH na variedade do tipo kabuli em germinados de 72 horas.

Mas, os dados aqui encontrados não coincidem com os de outros autores, que indicam aumento no conjunto dos fenólicos e, associado a isso, aumento nas atividades antioxidantes com o decorrer da germinação. Domínguez-Arispuro *et al.* (2017) investigaram em seu trabalho várias condições para uma germinação com grão ricos em antioxidante, fenólicos e proteína. Os autores destacaram que a melhor temperatura é a de 33,7°C e com tempo de 171 horas, e quanto maior o tempo de germinação, maior foi a capacidade antioxidante. Isso pode estar associado ao aumento de fenólicos totais, que são os compostos antioxidantes bastante potentes em plantas (James *et al.*, 2020; Saleh *et al.*, 2019).

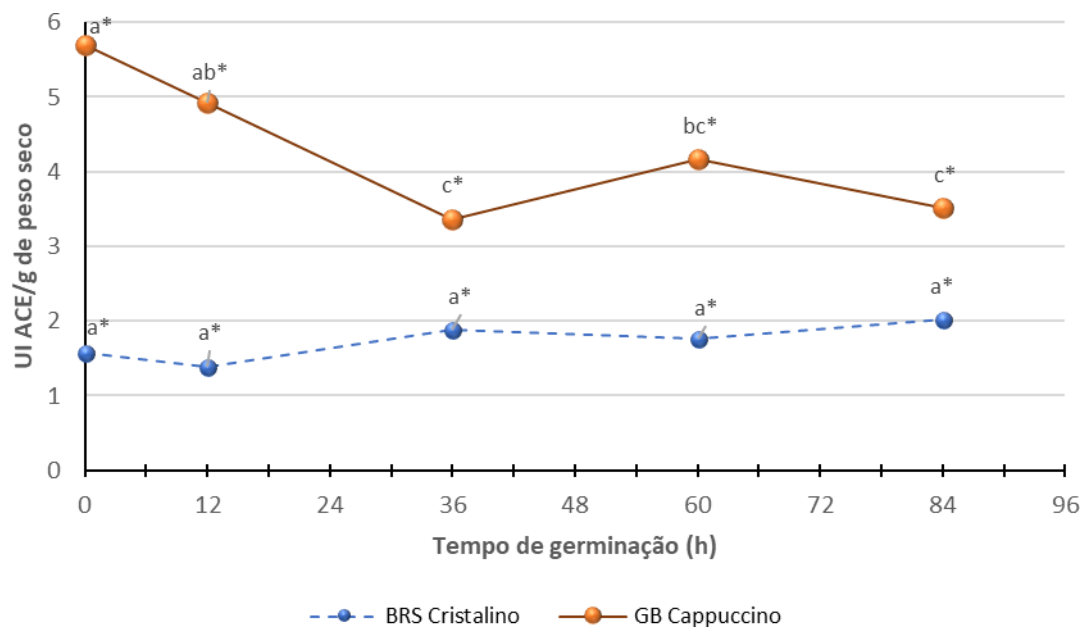
Mas, novamente é importante destacar que neste trabalho, apenas os compostos solúveis em água estão sendo avaliados. E, também, destaca-se que não somente os compostos fenólicos apresentam atividade antioxidante. Outros componentes, também solúveis em água, podem estar relacionados às atividades antioxidantes aqui detectadas e suas oscilações, como as vitaminas A e E, carotenoides e peptídeos (Silva *et al.* 2010).

Os antioxidantes contribuem de forma importante para o bom funcionamento do organismo. Embora as espécies reativas de oxigênio sejam um importante meio de autoproteção e imunidade nas células, o excesso de radicais livres danifica as macromoléculas biológicas e, eventualmente, leva à morte celular. Os antioxidantes podem eliminar os radicais livres que conferem fortes propriedades cancerígenas, e podem inibir o crescimento de células tumorais. Além disso, tornam-se um excelente complemento para o tratamento da hiperglicemia, hiperlipidemia e suas complicações (Lu *et al.*,

2021).

Além das atividades antioxidantes dos componentes solúveis em água, uma outra medida de bioatividade determinada foi a capacidade de inibição da enzima conversora de angiotensina (Figura 12).

Figura 12 - Capacidade de inibição da enzima conversora de angiotensina (ECA) de grãos de bico (*Cicer arietinum*)



Fonte: A autora

Legenda: Os valores representam as médias de três determinações. Dados com letras distintas sobrescritas, para uma mesma amostra, apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$). Dados identificados com asterisco apresentam diferença significativa entre as duas amostras no mesmo tempo ($p < 0,05$)

Os dados da Figura 12 demonstra que grãos não germinados já possuem como considerável inibição da ECA, sendo a amostra GB Cappuccino com valores ainda maiores. Ao empregar os tempos de germinação, o potencial de inibição da amostra BRS Cristalino não apresentou alterações, mas, a GB Cappuccino diminuiu. Outro fator que chama atenção é que o potencial de inibição não está diretamente relacionado com a quantidade de alfa aminogrupos livres. Esse fenômeno pode estar relacionado ao fato de que a inibição da ECA não esteja acontecendo somente por meio dos peptídeos, e sim, a outros componentes como os compostos fenólicos. Chen e colaboradores (2021) destacaram em sua revisão que além dos peptídeos derivados de alimentos, os compostos fenólicos isolados dos alimentos podem agir de forma efetiva na inibição da ECA *in vitro*.

Experimentos em ratos hipertensos já demonstram que compostos fenólicos, incluindo quercetina, ácido ferúlico e ácido clorogênico, possuem efeito anti-hipertensivo significativa *in vivo* (Guerrero *et al.*, 2012).

Outros estudos demonstram que as antocianinas e proantocianidinas, compostos fenólicos extraídos de plantas que são utilizadas como anti-hipertensivas apresentam atividade inibitória sobre a enzima conversora de angiotensina I (ECA). Esta enzima tem um importante papel na regulação da pressão sanguínea (Lacaille-Dubois; Franck; Wagner 2001).

Embora neste trabalho as propriedades bioativas dos grãos não tenham mostrado um ganho evidente com o processo de germinação, outras características nutricionais podem ser beneficiadas. O aumento de alfa amino grupos livres, por exemplo, podem ser associados ao aumento da digestibilidade proteica das amostras (Portier; Tomé, 2008).

6 CONCLUSÕES

Os ensaios de hidratação demonstraram que com seis horas de embebição os grãos já tinham dobrado o seu peso inicial. Embora, o total de proteínas solúveis sofra pouca variação e praticamente nenhum aumento, o perfil do material proteico ao longo da germinação se alterou, com presença de maior número de unidades de material hidrolisado ao final do processo. Os α -aminogrupos solúveis de ambas as amostras apresentaram um pequeno aumento com 60 horas de germinação

As duas cultivares apresentaram aumento de flavonóides solúveis em água, mas o mesmo não foi observado para os totais de fenólicos ao longo das germinações. A amostra GB Cappuccino demonstrou uma oscilação maior perante os tempos de germinação para fenólicos.

O potencial de inibição de enzima conversora de angiotensina (ECA) da amostra BRS Cristalino não apresentou alterações, mas, a GB Cappuccino diminuição. Outro fator que chama atenção é que o potencial de inibição não está diretamente relacionado com a quantidade alfa aminogrupos livres. Esse fenômeno pode estar relacionado ao fato de que a inibição da ECA não esteja acontecendo somente por meio dos peptídeos, e sim, a outros componentes como os compostos fenólicos.

Portanto, as duas cultivares apresentaram perfis de proteínas muito semelhantes e seus componentes bioativos não tiveram aumento significativo. Já sobre o efeito do processo de germinação demonstrou que com curtos períodos já se é possível observar variações nos componentes dos grãos. Sendo assim, novos trabalhos com tempos de germinação mais longos precisam ser realizados para melhor entendimento de todas as modificações que acontecem no grão

REFERÊNCIAS

- AMISTÁ, M. J. de M.; TAVANO, O. L. Influência da germinação e do processamento térmico na digestibilidade proteica e atividade de inibição de tripsina de grãos de quinoa. **Brazilian Journal of Food Technology**, [s. l], v. 16 n. 1, p. 52– 58, 2013.
- ARÁMBURO-GÁLVEZ, J. G. *et al.* Prediction of ACE-I inhibitory peptides derived from chickpea (*Cicer arietinum L.*): in silico assessments using simulated enzymatic hydrolysis, molecular docking and ADMET evaluation. **Foods**, [s. l], v. 11, n. 11, p.1576, 2022.
- AROOJ, A. *et al.* Technological, processing and nutritional aspects of chickpea (*cicer arietinum*). **Saudi Journal of Pathology and Microbiology**, [s. l], v. 6, p. 150-155, 2021.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. Washington DC: AOAC, 1990.
- BARBANA, C.; BOYE, J. I. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity of chickpea and pea protein hydrolysates. **Food Res. Int.**, [s. l], v. 43, n. 6, p. 1642–1649, 2010.
- BOATENG, J. *et al.* Effect of processing on antioxidant contents in selected dry beans (*Phaseolus spp. L.*). **LWT**, [s. l], v. 41, p. 1541–1547, 2008.
- BUENO, D. B. The germination of soybeans increases the water-soluble components and could generate innovations in soy-based foods, **LWT**, [s. l], v. 117, p. 1-8, 2020.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantifications of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analitical Biochemistry**, [s. l], v. 72, p. 248-254, 1976.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER M. E.; BERSET C. Use of a free radical method to evaluate antioxidante activity. **LWT**, [s. l], v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. **Agronegócio brasileiro: desempenho do comércio exterior**. 2. ed. Brasília, DF: MAPA, 2023.

CHANDRASEKARAN, S.; LUNA-VITAL, D.; MEJIA, E. G. Identification and comparison of peptides from chickpea protein hydrolysates using either bromelain or gastrointestinal enzymes and their relationship with markers of type 2 diabetes and bitterness. **Nutrients**, [s. l], v. 12, p. 3843, 2020.

CHANG, Y. W.; ALLI, I. In silico assessment: suggested homology of chickpea (*cicer arietinum l.*) Legumin and prediction of ace-inhibitory peptides from chickpea proteins using blast and biopep analyses. **Food Research International**, [s. l], v. 49, n. 1, p. 477–48, 2012.

CHEN, L. *et al.* Antihypertensive potential of plant foods: research progress and prospect of plant-derived angiotensin-converting enzyme inhibition compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l], v. 69, n. 18, p. 5297–5305, 2021.

CHURCH, F. C. C. *et al.* Spectrophotometric assay using o-phthaldialdehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. **J. of Dai. Sci.**, [s. l], v. 66, p. 1219–1227, 1983.

CORTES, C. *et al.* Quality characteristics of horchata (a Spanish vegetable beverage) treated with pulsed electric fields during shelf-life. **Food Chem.**, [s. l], v. 91, n. 2, p. 319–325, 2015.

CLEMENTE, A; ARQUES M. D. C. Bowman-Birk inhibitors from legumes as colorectal chemopreventive agents. **World J Gastroenterol**, [s. l], v. 20, p. 10305-10315, 2014.

CLEMENTE, A. *et al.* Effect of processing on water absorption and softening kinetics in chickpea (*Cicer arietinum* L) seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s. l], v. 78, p. 169–174, 1998.

del MAR YUST, M. *et al.* Hypocholesterolaemic and antioxidant activities of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein hydrolysates. **J. of the Sci. of Food a Agri.**, [s. l], v. 92, p. 1994–2001, 2012.

DOMÍNGUEZ-ARISPURO, D. M. *et al.* Optimal germination condition impacts, on the antioxidant activity and phenolic acids profile in pigmented desi chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. **Journal of Food Science and Technology**, [s. l], v. 552, 2017.

FERNANDES, T. C. R. *et al.* Caracterização tecnológica da farinha de grão-de-bico variedade BRS cristalino. **Brazilian Journal of Food Technology**, [s. l], v. 25, 2022.

FERRERA, T. S. *et al.* Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em erva-de-são-joão sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, [s. l], v. 18, p. 588–596, 2016.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Dietary protein quality evaluation in human nutrition**, [s. l], Rome: FAO, 2013.

GONZÁLEZ-MONTOYA, M. *et al.* Peptides derived from in vitro gastrointestinal digestion of germinated soybean proteins inhibit human colon cancer cells proliferation and inflammation. **Food Chemistry**, [s. l], v. 242, p. 75–82, 2018.

GOWEN, A. *et al.* Modeling the water absorption process in chickpeas (*Cicer arietinum* L.). The effect of blanching pretreatment on water intake and texture kinetics. **Journal of Food Engineering**, [s. l], v. 78, p. 810–819, 2007.

GREEN, C. L.; LAMMING, D. W. Regulation of metabolic health by essential dietary amino acids. **Mech. of Age. and Dev.**, [s. l], v. 177, p. 186-200, 2019.

GUERRERO, L. *et al.* Inhibition of Angiotensin-Converting Enzyme Activity by Flavonoids: Structure-Activity Relationship Studies. **Plos One**, [s. l], v. 7 n. 11, 2012.

GUPTA, R. K. *et al.* Health Risks and Benefits of Chickpea (*Cicer arietinum*) Consumption. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l], v. 65, n. 1, p. 6–22, 2017.

HE, Y. *et al.* Chickpea Cultivar Selection to Produce Aquafaba with Superior Emulsion Properties. **Foods**, [s. l], v. 8, n. 12, p. 685, 2019.

HEIRAS-PALAZUELOS, M. *et al.* Technological properties, antioxidant activity and total phenolic and flavonoid content of pigmented chickpea (*Cicer arietinum*L.) cultivars. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, [s. l], v. 64, n. 1, p. 69–76, 2012.

HERNANDERZ, L. M. R.; MEJIA, E. G. Enzymatic production, bioactivity, and bitterness of chickpea (*Cicer Arietinum*) peptides. **Inst. of Food Tech.**, [s. l], v.18, 2019.

HIRDYANI, H. Nutritional composition of Chickpea (*Cicer arietinum*-L) and value added products - a review. **Indian J. Comm. Health**, [s. l], v. 26, p. 102-106, 2014.

HOFFMAN, M. R. Methionine restriction and life-span extension. **Methods Mol Bio**, [s. l], v. 1866, p. 263-266., 2019.

HOROWITZ, W. **Official methods of analysis of the association of official analytical chemists**. 17th ed. Washington DC: AOAC. 1980.

HUANG, G.; CAI, W.; XU, B. Improvement in beta-carotene, vitamin B2, GABA, free amino acids and isoflavones in yellow and black soybeans upon germination. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, [s. l], v.75, p. 488–496, 2017.

IDATE, A. *et al.* A comprehensive review on antinutritional factors of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Pharma Innovation*, [s. l], v. 10, p. 816-823, 2021.

JAMES, S. *et al.* Influence of fermentation and germination on some bioactive components of selected lesser legumes indigenous to Nigeria. *Journal of Agriculture and Food Research*, [s. l], v.2, 2020.

KAUR, M.; SINGH, N. Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. *Food Chem.*, [s. l], v. 102, p. 366–374, 2006.

KENNEDY, A. R.; BILLINGS, P. C.; WAN, X. S. Effects of Bowman–Birk inhibitor on rat colon carcinogenesis. *Nutr. Cancer*, [s. l], v. 43, p. 174–186, 2002.

KIM, H. *et al.* Reduction of *Bacillus cereus* spores in sikhye, a traditional Korean rice beverage, by modified tyndallization processes with and without carbon dioxide injection. *Let. in Appl. Microb.*, [s. l], v. 55, n. 3, p. 218–223, 2012.

KIM, H. T. *et al.* Mobilization of storage proteins in soybean seed (*Glycine max* L.) during germination and seedling growth. *Biochimica et Biophysica Acta*, [s. l], p. 1814, 1178–1187, 2011.

KISHOR, K. *et al.* Nutritional composition of chickpea (*Cicer arietinum*) milk. *Int. J. of Chem. Studies*, [s. l], v. 5, p. 1941-1944, 2017.

KOU, X. *et al.* Purification and identification of antioxidant peptides from chickpea (*Cicer arietinum* L.) albumin hydrolysates. **LWT**, [s. l], v. 50, p. 591–598, 2013.

LACAILLE-DUBOIS, M. A.; FRANCK, U.; WAGNER, H. Search for potential angiotensin converting enzyme (ACE)-inhibitors from plants. **Phytomedicine**, [s. l], v.8, p. 47-52, 2001.

LAEMMLI, U. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. **Nature**, [s. l], v. 227, p. 680–685, 1970.

LEMMENS, E. *et al.* Impact of cereal seed sprouting on its nutritional and technological properties: a critical review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [s. l], v.18, 2018.

LIU, L. H.; HUNG, T. V.; BENNETT, L. Extraction and characterization of chickpea (*Cicer arietinum*) albumin and globulin. **Journal of Food Science**, [s. l], v. 73, n. 5, p. C299–C305, 2008.

LU, W., *et al.* Antioxidant activity and healthy benefits of natural pigments in fruits: a review. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l], v. 22, n.9, p. 494, 2021.

MAMILLA, R. K.; MISHRA, V. K. Effect of germination on antioxidant and ACE inhibitory activities of legumes. **LWT**, [s. l], v. 75, p. 51–58, 2017.

MARTINEZ, K. A. A.; YANG, M. M.; MEJIA, E. G. Technological properties of chickpea (*Cicer arietinum*): Production of snacks and health benefits related to type-2 diabetes. **Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety**, [s. l], v. 20, p. 3762– 3787, 2021.

MESFIN, N.; BELAY, A.; AMARE E. Effect of germination, roasting, and variety on physicochemical, techno-functional, and antioxidant properties of chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein isolate powder. **Heliyon**, [s. l], v. 7, p. 1-8, 2021.

MILAN-CARILLO, J.; REYES-MORENO, C.; ARMIENTA-RODELO, E. Physicochemical and nutritional characteristic of fresh and hardened chickpeas (*Cicer arietinum*). **LWT**, [s. l], v. 33, p117-123, 2000.

MILAN-NORIS, A. *et al.* Peptides and isoflavones in gastrointestinal digests contribute to the anti-inflammatory potential of cooked or germinated Desi and Kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Food Chem.**, [s. l], v. 268, p. 66–76, 2018.

MU, W. C. *et al.* Long-term effects of dietary protein and branched-chain amino acids on metabolism and inflammation in mice. **Nutrients**, [s. l], v. 10, p. 918, 2018.

MURRAY, B. A. *et al.* Hypotensive peptides from milk proteins. **T. J. Nutr.**, [s. l], v. 134, p, 980S-988S, 2004.

NEINAST, M.; MURASHIGE, D.; ARANY, Z. Branched chain amino acids. **Annu. Rev. Physiol.**, [s. l], v. 81, p. 139–164, 2019.

NEVES, V.A. *et al.* Isolation and characteristics of the protein fractions of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp), var. BR-14-Mulato. **Alim. Nutr.**, [s. l], v.14, n.1, p. 47-55, 2003.

PATANE`, C. *et al.* Physico-chemical characteristics, water absorption, soaking and cooking properties of some Sicilian populations of chickpea (*Cicer arietinum* L.). **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, [s. l], v. 55, p. 547, 2004.

PASQUALONE, A. *et al.* Effect of mineral and organic fertilization on desi and kabuli chickpea (*Cicer arietinum* L.): plant growth and production, hydration properties, bioactive compounds, and antioxidant activity. **Plants**, [s. l], v. 10, n.7, p. 1441, 2021.

PEREIRA, M. P.; TAVANO, O. L. Use of different spices as potential natural antioxidant additives on cooked beans (*Phaseolus vulgaris*). Increase of

DPPH radical scavenging activity and total phenolic content. **Plant Foods for Human Nutr.**, [s. l], v. 69, n. 4, p. 337-343, 2014.

PORTIARI, G. V. *et al.* Effect of chickpea (*Cicer arietinum L.*) Germination on the major globulin content and in vitro digestibility. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, [s. l], v. 25, p. 807-812, 2005.

POTIER, M.; TOMÉ, D. Comparison of digestibility and quality of intact proteins with their respective hydrolysates. **Journal of International**, [s. l], v. 91, n. 4, p. 1002–1006, 2008.

QUINTERO-SOTO, M. F. *et al.* Phenolic profiles and their contribution to the antioxidant activity of selected chickpea genotypes from Mexico and ICRISAT collections. **Plant Foods for Human Nutrition**, [s. l], v. 73, p. 122–129, 2018.

RACHWA-ROSIK, D.; NEBESNY, E.; BUDRYN, G. Chickpeas composition, nutritional value, health benefits, application to bread and snacks: a review . **Crit. Rev. in Food Sci. and Nutr.**, [s. l], v. 55, n. 8, p. 1137–1145, 2015.

ROSEIRA, G. B.; CASTRO, R. J. S. Germinação de grãos: uma revisão sistemática de como os processos bioquímicos envolvidos afeta o conteúdo e o perfil de compostos fenólicos e suas propriedades antioxidantes. **Brazilian Journal of Natural Sciences**, [s. l], v. 3, p. 287-300, 2020.

SAINI, H. S KNIGHTS, E. J. Chemical constitution of starch and oligosaccharide components of Desi and Kabuli chickpea (*Cicer arietinum*) seed types. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s. l], v. 32, p. 940-944, 1984.

SEGEV, A. *et al.* Determination of polyphenols, flavonoids, and antioxidant capacity in colored chickpea (*Cicer arietinum L.*). **Journal of Food Science**, [s. l], v. 75, n. 2, p. S115–S119, 2010.

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

Society of Agricultural Sciences, [s. l], v. 18, n.3, p.294–301, 2019.

SENER, A.; MALAISSE, W.J. L-leucine and a nonmetabolized analogue activate pancreatic islet glutamate dehydrogenase. **Nature**, [s. l], v. 288, p. 187–189, 1980.

SETHI, C.; TYAGI, S. K.; ANURAG, R. K. Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. **Journal of Food Sci. and Tech.**, [s. l], v. 53, n. 9, p. 3408–3423, 2016.

SILVA, L. C. M. *et al.* Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, [s. l], v. 31, n.30, p. 669- 681, 2010.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. **American Journal of Enology and Viticulturv.**, [s. l], v. 16, p. 144–158, 1965.

SOFI, S. A. *et al.* Impact of germination on structural, physicochemical, techno- functional, and digestion properties of desi chickpea (*Cicer arietinum* L.) flour. **Food Chemistry**, [s. l], v. 405, p. 135011, 2023.

SOLON-BIET, S. M. *et al.* Branched chain amino acids impact health and lifespan indirectly via amino acid balance and appetite control. **Nat. Metab.**, [s. l], v. 1,p. 532–545, 2019.

SWAMINATHAN, A. *et al.* Methionine restriction plus overload improves skeletal muscle and metabolic health in old mice on a high fat diet. **Sci. Rep.**, [s. l], v.11, p. 1260, 2021.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TAVANO, O. L. *et al.* Nutritional Responses of Rats to Diets Based on Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Seed Meal or Its Protein Fractions. **Journal Agric. Food. Chem.**, [s. l], v. 56, p. 11006–11010, 2008.

THUSHAN, S. W. G. *et al.* Physicochemical, thermal and functional characterization of protein isolates from Kabuli and Desi chickpea (*Cicer arietinum* L.): a comparative study with soy (*Glycine max*) and pea (*Pisum sativum* L.). **Journal Sci. Food. Agric.**, [s. l], v. 91, p. 1022–1031, 2011

TIAN, M. *et al.* Dietary branched-chain amino acids regulate food intake partly through intestinal and hypothalamic amino acid receptors in piglets. **J. Agric. Food Chem.**, [s. l], v. 67, p. 6809–6818, 2019.

TORRES-FUENTES, C. *et al.* Identification and characterization of antioxidant peptides from chickpea protein hydrolysates. **Food Chem.**, [s. l], v. 180, p. 194–202, 2015.

TURHAN, M. *et al.* Application of Peleg model to study water absorption in chickpea during soaking. **Journal of Food Engineering**, [s. l], v. 53, p. 153–159, 2002.

ULLAH, A. *et al.* Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent. **Molecules**, [s. l], v. 25, n. 22, p. 5243, 2020.

XUE, Z. *et al.* Antioxidant activity and anti-proliferative effect of a bioactive peptide from chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Food Res. Int.**, [s. l], v. 77, p. 75–81, 2015.

YANG, J. *et al.* Leucine metabolism in regulation of insulin secretion from pancreatic beta cells. **Nutr. Rev.**, [s. l], v. 68, p. 270–279, 2010.

YANG, J. *et al.* Leucine stimulates insulin secretion via down-regulation of surface expression of adrenergic alpha2A receptor through the mTOR (mammalian target of rapamycin) pathway: implication in new-onset diabetes in renal transplantation. **J. Biol. Chem.**, [s. l], v. 287, p. 24795–24806, 2012.

YEGREM, L. Nutritional composition, antinutritional factors, and utilization trends of Ethiopian Chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Int. J. of Food Sci.**, [s. l], v. 2021, p. 1-10, 2021.

Xu, W. *et al.* Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB–bHLH–WDR complexes. **Trends in Plant Science**, [s. l], v. 20, n. 3, p. 176–185, 2015.

YUST, M. *et al.* Improvement of functional properties of chickpea proteins by hydrolysis with immobilised Alcalase. **Food Chem.**, [s. l], v. 122, n. 4, p. 1212–1217, 2010.

ZHANG, X. *et al.* Influence of lactic acid bacteria fermentation on physicochemical properties and antioxidant activity of chickpea yam milk. **J. of Food Qual.**, [s. l], v. 2021, p. 1-9, 2021.