

LUDMILLA DE CARVALHO OLIVEIRA

ADUBAÇÃO NITROGENADA E SULFURADA NA QUALIDADE TECNOLÓGICA DO TRIGO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL

2010

LUDMILLA DE CARVALHO OLIVEIRA

ADUBAÇÃO NITROGENADA E SULFURADA NA QUALIDADE TECNOLÓGICA DO TRIGO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Aprovada: 26 de agosto de 2010.

Prof. José Benício Paes Chaves
(Co-orientador)

Prof. Moacil Alves de Souza
(Co-orientador)

Prof^ª. Edimar Ap. Filomeno Fontes

Prof. Renato Souza Cruz

Prof^ª. Mônica Ribeiro Pirozi
(Orientador)

Aos meus queridos pais, à Xi e à vovó Tita, que em mais um momento da minha vida foram perseverantes juntos a mim, zelando e apoiando, com muito amor e carinho. À vovó Amélia, que mesmo não mais presente, sempre foi uma grande incentivadora.

AGRADECIMENTOS

Ao finalizar este trabalho, reproduzido na dissertação que apresento, faço lembrança às pessoas, que antes de tudo amigas, contribuíram, colaboraram e facilitaram em algum momento para que as atividades envolvidas tivessem andamento e fossem finalizadas com êxito, em especial a algumas que serão citadas.

Agradeço à orientadora Mônica Pirozi pela amizade, atenção e apoio dispensados. Aos co-orientadores Moacil e José Benício pelo suporte.

Ao Departamento de Tecnologia de Alimentos (DTA), especificamente ao Programa de Pós-Graduação, junto à Universidade Federal de Viçosa (UFV), pelos recursos disponibilizados. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

Aos laboratórios de Amido e Farinha (LAFA), à Padaria, ao Laboratório de Análise de Alimentos, ao Laboratório de Biotecnologia e Melhoramento Vegetal.

Ao Laboratório de Moagem Experimental da Embrapa Agroindústria de Alimentos (CTAA) pela parceria, em especial à Adriana Minguita.

À equipe do Laboratório de Amido e Farinha (LAFA) pela intensa colaboração e carinho, principalmente à Ju, Hortência, Carol, Cileimar, Flávia e Marina que foram participativas e excepcionais.

Aos técnicos que em seus respectivos laboratórios foram extremamente receptivos a mim e às atividades de pesquisa, demonstrando sempre disposição e respeito ao trabalho. Ao querido e carismático Divino, que presente desde o início, teve contribuição estupenda durante todo o mestrado. Ao Pio, pelo grande apoio durante as análises. Aos demais funcionários do DTA.

À amiga Renata (Renatinha) pelo companheirismo, compreensão, ajuda e por dividir os momentos de experimento com tanto afinho.

Aos especiais amigos Gi, Chris e João, cuja convivência foi um presente durante todo este tempo.

E a Deus, pelas dificuldades superadas e acima de tudo, por permitir a concretização deste sonho.

BIOGRAFIA

Ludmilla de Carvalho Oliveira, natural de Lavras (MG), nascida no dia nove de abril de 1985, filha de José Carlos de Oliveira e Lúcia Aparecida de Carvalho Oliveira. Graduada em Engenharia de Alimentos pela Universidade Federal de Lavras no ano de 2008. Ingresso no programa de pós-graduação (Mestrado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Viçosa no segundo semestre de 2008.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS E TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
LISTA DE ABREVIATURAS	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Cultivares de trigo.....	4
2.2. Proteínas do endosperma do trigo.....	5
2.2.1. Composição das gluteninas.....	6
2.3. Qualidade tecnológica do trigo	7
2.4. Influência dos fatores ambientais na qualidade tecnológica do trigo	9
2.4.1. Adubação nitrogenada e sulfurada.....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1. Material.....	13
3.2. Métodos	13
3.2.1. Testes de qualidade dos grãos de trigo.....	13
3.2.1.1. Peso do hectolitro.....	13
3.2.1.2. Peso de mil grãos	14
3.2.1.3. Falling number	14
3.2.2. Moagem experimental	14
3.2.3. Caracterização da farinha de trigo quanto à composição.....	15
3.2.3.1. Teor de água.....	15
3.2.3.2. Minerais	15
3.2.3. Proteína	15
3.2.4. Determinação da composição e conteúdo protéico.....	15
3.2.4.1. Identificação das subunidades de glutenina de alta massa molecular (HMW-GS) nas farinhas de trigo por eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS (SDS-PAGE).....	15

3.2.4.2. Quantificação das frações protéicas da farinha por cromatografia líquida de alta eficiência por exclusão molecular (SE-HPLC).....	17
3.2.5. Teste de panificação.....	19
3.2.6. Análise estatística	20
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	22
4.1. Testes iniciais.....	22
4.2. ÉPOCA 1	27
4.2.1. Composição química da farinha de trigo	26
4.2.2. Identificação das subunidades de gluteninas de alta massa molecular (HMW-GS) por eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS (SDS-PAGE)	28
4.2.3. Quantificação das proteínas formadoras do glúten determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (SE-HPLC)	30
4.2.4. Teste de Panificação	32
4.3. ÉPOCA 2	36
4.3.1. Composição química da farinha de trigo	36
4.3.2. Identificação das subunidades de gluteninas de alta massa molecular (HMW-GS) por eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS (SDS-PAGE)	37
4.3.3. Quantificação das proteínas formadoras do glúten determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (SE-HPLC)	38
4.3.4. Teste de Panificação	41
5. CONCLUSÕES	46
6. BIBLIOGRAFIA	48
ANEXO 1	56
ANEXO 2	57
ANEXO 3	58
ANEXO 4	59
ANEXO 5	60
ANEXO 6	61

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1 - Subunidades de gluteninas de alta massa molecular dos padrões de SDS-PAGE.....	16
QUADRO 2 - Formulação dos pães para o teste de panificação	19
Tabela 1 – Peso do hectolitro e peso de mil grãos das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro em função da fonte de nitrogênio	22
Tabela 2 – Rendimento de moagem e <i>falling number</i> determinados para EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro	25
Tabela 3 – Conteúdo de água, minerais e proteínas da farinha de trigo das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro sob diferentes condições de adubação nitrogenada ..	27
Tabela 4 – Distribuição das proteínas poliméricas e proporção de gliadina:glutenina presente na farinha de trigo	31
Tabela 5 – Qualidade de panificação das farinhas de trigo EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro sob diferentes condições de adubação nitrogenada	33
Tabela 6 – Conteúdo de água, minerais e proteínas da farinha de trigo das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro sob diferentes condições de adubação nitrogenada ..	36
Tabela 7 – Distribuição das proteínas poliméricas e proporção de gliadina:glutenina presente na farinha de trigo	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Perfil de separação de proteína total, extraível e não extraível da farinha de trigo por SE-HPLC	18
Figura 2- Peso do hectolitro (PH) em função da dose de nitrogênio (ÉPOCA 1).....	23
Figura 3- Efeito da dose de nitrogênio na forma de ureia e sulfato de amônio sobre o rendimento de moagem.....	26
Figura 4- SDS-PAGE em uma dimensão de amostras de farinha de trigo das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro	30
Figura 5 – Aspectos da crosta e do miolo dos pães elaborados com farinha de trigo tratado com ureia e sulfato de amônio	33
Figura 6 – Variação do escore global dos pães para as cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro em função da dose de nitrogênio	34
Figura 7 – Variação do volume e volume específico com a dose de nitrogênio.....	35
Figura 8- Variação no teor de proteínas com a dose de nitrogênio.....	37
Figura 9– SDS-PAGE em uma dimensão de amostras de farinha de trigo das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro.	38
Figura 10 – Variação de UPP (%) com a dose de nitrogênio.....	38
Figura 11 – PPPF(%) e UPPF (%) em função da dose de nitrogênio	41
Figura 12 – Aspectos da crosta e do miolo dos pães elaborados com farinha de trigo tratado com ureia e sulfato de amônio.	42
Figura 13 – Variação do escore global em função da dose de nitrogênio para as cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro.	42
Figura 14 – Variação do escore global em função da dose de nitrogênio para as cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro.	43
Figura 15 – Volume e volume específico dos pães em função da cultivar e fonte de nitrogênio	44

LISTA DE ABREVIATURAS

RM – Redimento de Moagem

PH – Peso do Hectolitro/Peso Hectolítrico

PMG – Peso de Mil Grãos

LMW-GS (Glutenin subunit - Low Molecular Weight) – Subunidade de glutenina de baixa massa molecular

HMW-GS (Glutenin subunit – High Molecular Weight) – Subunidade de glutenina de alta massa molecular

PPT – Proteína Polimérica Total

PPE – Proteína Polimérica Extraível

PPNE – Proteína Polimérica Não Extraível

PPP – Porcentagem de Proteína Polimérica

PPPF – Porcentagem de Proteína Polimérica na Farinha

UPP – Porcentagem de Proteína Não Extraível

UPPF - Porcentagem de Proteína Não Extraível na Farinha

SDS-PAGE (Sodium Dodecil Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis) – Eletroforese em Gel de Poliacrilamida com Dodecil Sulfato de Sódio.

SE-HPLC (Size Exclusion High Performance Liquid Chromatography) – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência Por Exclusão Molecular.

A-PAGE (Acid- Polyacrylamide Gel Electrophoresis) - Eletroforese em Gel de Poliacrilamida em Meio Ácido

RESUMO

OLIVEIRA, Ludmilla de Carvalho, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2010. **Adubação nitrogenada e sulfurada na qualidade tecnológica do trigo.** Orientadora: Mônica Ribeiro Pirozi. Co-orientadores: José Benício Paes Chaves e Moacil Alves de Souza.

A qualidade industrial do trigo para a panificação é marcadamente influenciada pelo conteúdo e composição das frações de proteínas formadoras do glúten, em especial pelas subunidades de glutenina (HMW - High Molecular Weight e LMW - Low Molecular Weight), por conferirem propriedades viscoelásticas necessárias à massa, garantindo volume e textura adequados. A disponibilidade de enxofre (S) e nitrogênio (N) no solo influencia o conteúdo e composição protéica nos cereais de modo que a indução de um balanço adequado entre estes elementos por adubação pode melhorar as características do grão, da farinha e do pão. O objetivo geral do presente trabalho foi estudar o efeito da adubação sulfurada e nitrogenada, através do fornecimento de N com sulfato de amônio e uréia, nas doses de 35, 70 e 105 kg/ha de N, na composição das proteínas do endosperma e nas características tecnológicas das cultivares de trigo UFVT 1-Pioneiro e EMBRAPA-22, em duas épocas. Para tanto, as amostras de farinha de trigo tiveram as subunidades de gluteninas de alta massa molecular (HMW-GS) identificadas por eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS (SDS-PAGE) e as frações de proteínas poliméricas e a distribuição de massa molecular quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência por exclusão molecular (SE-HPLC). Os resultados das análises por SDS-PAGE e SE-HPLC foram comparados aos do teste de panificação para a verificação da qualidade tecnológica em relação à composição e conteúdo protéicos. Foram identificadas as subunidades 1, 7+8 e 5+10 para EMBRAPA 22 e 1, 17+18 e 5+10 para UFVT 1-Pioneiro. Para a época 1, o teor de proteínas foi maior com a aplicação de sulfato de amônio. A porcentagem de proteína polimérica total (PPP) foi maior com uréia, enquanto a porcentagem de proteína polimérica não extraível (UPP) não teve variação. Melhor score global, volume e volume específico foram observados para pães formulados com farinha de trigo que recebeu 105 kg de N/ha. As características dos pães não estiveram relacionadas com o teor de proteínas e nem com as frações de proteínas poliméricas. Para a época 2, maiores valores de proteína, porcentagem de proteína polimérica na farinha (PPPF), porcentagem de proteína não extraível (UPP) e porcentagem de proteína polimérica não extraível (UPPF)

estiveram associados com a cultivar EMBRAPA 22 e com a maior dose de N, independente da fonte de adubação utilizada. Pães com melhor escore foram obtidos com farinha de trigo da cultivar UFVT 1-Pioneiro tratada com uréia e com farinha resultante de trigo que recebeu a menor dose de N. Maior volume e volume específico estiveram relacionados com a cultivar UFVT 1-Pioneiro sob adubação com sulfato de amônio. Os resultados de panificação não tiveram relação concisa com os valores de PPP, PPPF, UPP e UPPF e teor de proteínas, assim como o escore não teve relação direta com volume e volume específico.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Ludmilla de Carvalho, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2010. **Nitrogen and sulphur fertilization on breadmaking quality of wheat.** Adviser: Mônica Ribeiro Pirozi. Co-advisers: José Benício Paes Chaves e Moacil Alves de Souza.

The breadmaking quality of wheat is strongly determined by the quantity and composition of the glutenin proteins, in particular, glutenin subunits (HMW - High Molecular Weight and LMW - Low Molecular Weight), which provide the unique viscoelastic properties needed to impart adequate volume and texture in bread doughs. The soil availability of sulfur (S) and nitrogen (N) may affect both the amount and composition of protein in the wheat grain, so that the induction to an optimal N/S ratio by fertilization can improve the characteristics of grain, flour and bread. The overall aim of this work was to study the effect of sulfur and nitrogen fertilization, through the supply of N as ammonium sulfate and urea at doses of 35, 70 and 105 kg N / ha, on the gluten protein composition and technological characteristics of wheat cultivars UFVT 1-Pioneiro and EMBRAPA 22, in two seasons. The high molecular weight glutenin subunits (HMW-GS) were identified using SDS-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and protein fractions and weight distribution determined by size exclusion high performance liquid chromatography (SE-HPLC). The results of SDS-PAGE and SE-HPLC were compared to the bread score, bread volume and specific volume in the bakery tests. It was identified the subunits 1, 7+8 e 5+10 for EMBRAPA 22 and 1, 17+18 e 5+10 for UFVT 1-Pioneiro. In the first season, the protein content was higher with the application of ammonium sulfate, percent of polymeric protein total (PPP) with urea, while percent of polymeric protein unextractable (UPP) did not change. The best overall bread score, volume and specific volume were observed with wheat flour treated with 105 kg N / ha. The characteristics of the breads were not related to the protein, nor with the protein polymer fractions. In the second season, higher amounts of protein, percent of polymeric protein on flour (PPPF), percent of polymeric protein unextractable (UPP) and percent of polymeric protein unextractable on flour (UPPF) were associated with EMBRAPA 22 and the highest N rate, regardless of source of fertilizer used. Breads with the best scores were obtained with wheat cultivar UFVT 1-Pioneiro treated with urea and wheat flour that received the lowest N rate. Higher volume and specific volume were related to cultivar UFVT 1-Pioneiro

under fertilization with ammonium sulfate. The baking test results did not relate to the values of PPP, PPPF, UPP and UPPF and protein content. In addition the bread score was not related to volume and specific volume.

1. INTRODUÇÃO

Desde os primórdios das civilizações que os grãos têm sua importância integrando os hábitos alimentares, principalmente na forma farinácea, como principal fonte de energia da dieta. Tal assertiva mostra que a produção de grãos é a chave para a alimentação da população humana crescente.

Nos últimos anos, desequilíbrios entre o consumo e a produção mundial de grãos são cada vez mais comuns, ameaçando o abastecimento mundial, situação agravada pelo crescente aumento da demanda e pela crise financeira. O fornecimento global de grãos vem apresentando uma redução significativa, situação diretamente afetada pelas variações climáticas, das quais dependem produção e produtividade agrícolas.

A solução para garantir o abastecimento de grãos passa por um conjunto de medidas, entre elas as pesquisas que visam aumento da produção e da produtividade. Comparado aos demais grãos, o cenário positivo para a produção de trigo fornece boas perspectivas na atenuação da crise de alimentos. Segundo o United States Department of Agriculture, a produção mundial de grãos esboçou uma reação em 2009 (USDA, 2009), fato que foi atribuído, conforme o governo brasileiro, ao expressivo aumento da produção mundial de trigo no período (MAPA, 2009). O incentivo ao aumento da produção e da produtividade de trigo no Brasil foi uma das bases para o presente trabalho.

No Brasil, os principais estados produtores de trigo, Paraná e Rio Grande Sul, enfrentam dificuldades climáticas que freqüentemente frustram as safras naqueles estados, acarretando grãos de qualidade inferior para a indústria de panificação. Para viabilizar o aumento da produção de trigo no país, são essenciais ações de pesquisa para a definição de técnicas culturais mais eficientes, a fim de reduzir os custos e aumentar a produtividade das lavouras. É alternativa também, diversificar as regiões produtoras, visando assegurar a estabilidade da produção, independente das adversidades climáticas que afetam freqüentemente as regiões tradicionais de cultivo no sul do Brasil.

O cerrado brasileiro reúne peculiaridades que o apropria à produção de grãos de trigo e, neste sentido, pesquisas correntes vêm contribuindo por meio do desenvolvimento de cultivares de trigo adaptadas à região e que apresentem alta produtividade. Práticas agrícolas, sustentadas pelo uso de adubação e irrigação,

aliadas ao desenvolvimento de cultivares comerciais, têm permitido a expansão desta cultura em regiões antes não tradicionais de cultivo, com ganho expressivo da produtividade e qualidade ao longo dos anos (ROSSI e NEVES, 2004). Isso mostra que as pesquisas no setor devem ser incentivadas, buscando o aprimoramento constante dos resultados obtidos.

Quanto ao aproveitamento industrial do trigo, o setor da panificação no Brasil vem se revelando de forma promissora tendo apresentado um crescimento de 12,61% nas vendas, segundo levantamento realizado pelo Programa de Apoio à Panificação, em 2009 (PROPAN, 2009). Com o impulso da indústria de panificação, as exigências quanto aos insumos devem adquirir um aspecto cada vez mais criterioso, sobretudo quanto à qualidade da farinha de trigo. Desta forma, as cultivares de trigo desenvolvidas por melhoramento genético ou cultivadas sob condições otimizadas de manejo devem ser adequadas à produção de farinha que confira ao produto final ótimas características de volume, textura e sabor.

A qualidade industrial do trigo para a panificação é marcadamente influenciada pelo conteúdo e composição das frações de proteínas formadoras do glúten, em especial pelas subunidades de glutenina (HMW - High Molecular Weight e LMW - Low Molecular Weight), as quais são essenciais à fabricação de pães por conferirem propriedades viscoelásticas necessárias à massa, garantindo volume e textura adequados. Resultados de pesquisas na área elucidam cada vez melhor a relação existente entre qualidade tecnológica do trigo e as proteínas presentes, e a forma como estas últimas podem ser alteradas por fatores ambientais. Para a obtenção de grãos com tal qualidade protéica é imprescindível, dentre outros, uma adubação mineral balanceada. A disponibilidade de enxofre (S) e nitrogênio (N) no solo influenciam o conteúdo e composição protéica nos cereais de modo que a indução de um balanço adequado entre estes elementos por adubação pode melhorar as características do grão, da farinha e do pão.

O objetivo geral do presente trabalho foi estudar o efeito da adubação sulfurada e nitrogenada na composição das proteínas do endosperma e nas características tecnológicas de duas cultivares de trigo nacionais. Os objetivos específicos foram:

- Estudar o efeito de três dosagens de nitrogênio, na forma de ureia e sulfato de amônio, na composição das proteínas do endosperma e nas características tecnológicas das duas cultivares de trigo;

- Investigar como as cultivares UFVT 1-Pioneiro e EMBRAPA 22 respondem à aplicação de fontes de nitrogênio quanto ao conteúdo e composição protéica;
- Identificar as possíveis alterações nas subunidades de glutenina de alta massa molecular por eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) da farinha de trigo de cada um dos tratamentos em estudo;
- Determinar a porcentagem do total de proteína polimérica, da fração polimérica não-extraível e da proporção de gliadina: glutenina na farinha de trigo por meio da distribuição molecular obtida pelo fracionamento por cromatografia líquida de alta eficiência por exclusão molecular;
- Comparar a qualidade dos grãos determinada por eletroforese em gel de poliacrilamida com dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE) e cromatografia líquida de alta eficiência por exclusão molecular (SE-HPLC) com os resultados do teste de panificação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Cultivares de trigo

A cultura do trigo vem alcançando maior importância no Brasil, tanto na produtividade, como na rentabilidade e na melhoria de sua qualidade industrial (ZAGONEL, 2002), devido ao elevado consumo de seus derivados, principalmente pão, macarrão e farinha (CARNEIRO, 2005).

A abertura da economia brasileira em 1990 e a saída do Governo Federal da comercialização do trigo fez com que os moinhos passassem a ser mais exigentes quanto ao aspecto qualidade industrial do trigo, tornando-se esta característica uma das mais importantes a ser observada no momento do lançamento ou recomendação de uma nova cultivar direcionada à produção de grãos para o mercado (ANDRADE et al., 1999).

O cultivo de trigo no cerrado brasileiro se apresenta como uma alternativa para a produção de grãos (*Triticum aestivum* L.) em cultivo de sequeiro ou irrigado, pois é a primeira região a ser colhida no Brasil, o que pode garantir ao produtor melhor renda (SILVA et al., 2001). Instituições de pesquisa têm desenvolvido genótipos de trigo adaptados à região e que apresentem elevadas produtividades. É necessário buscar novas tecnologias de cultivo, de sistema de produção e a caracterização destes genótipos, a fim de se utilizar em produtos de panificação (BRAZ e BRAGA, 1997).

Visando atender às exigências dos moageiros e, ao mesmo tempo, oferecer aos tricultores cultivares melhores que as atuais, com maior resistência às doenças e estabilidade de rendimento, foram aprovadas propostas para recomendação de cultivares como a EMBRAPA 22, sendo esta, para plantio em áreas irrigadas por aspersão situadas nos estados de Minas Gerais e de Goiás e no Distrito Federal (ANDRADE et al., 1999).

A cultivar EMBRAPA 22 é considerada de glúten forte, classificada como trigo de qualidade superior para uso industrial. Outras características importantes da EMBRAPA 22 são: alto teor de proteínas nos grãos; elevado peso de mil grãos e do hectolitro, e grãos do “tipo duro” (ANDRADE et al., 1999).

A cultivar UFVT 1-Pioneiro também foi desenvolvida com indicação para cultivo na região do Brasil-Central, dado seu bom desempenho produtivo e

adaptação. Testes laboratoriais revelam boa força de glúten, alto teor de proteínas e bom rendimento industrial. De acordo com a classificação comercial, enquadra-se como trigo para pão (PROGRAMA DE MELHORAMENTO DO TRIGO).

Além do melhoramento genético do trigo tendo como objetivos as características agronômicas, é necessário avaliar a qualidade tecnológica de sua farinha, o que possibilita conhecer as linhagens de potencial para serem lançadas e recomendadas aos tricultores (CAMARGO e CAMARGO, 1987). A característica produtividade, ligada à qualidade industrial em diferentes regiões, é uma das exigências não só das indústrias moageiras e panificadoras, mas também, dos produtores de grãos de trigo (SMANHOTTO et al., 2006).

Tomando como base o destino de grãos de trigo para fins de fabricação de farinha, e seu subsequente uso na indústria alimentícia, a qualidade da matéria-prima utilizada na elaboração da farinha de trigo exerce interferência direta sobre as suas características finais.

2.2. Proteínas do endosperma do trigo

O grão de trigo maduro contém de 8-20% de proteínas, incluindo as proteínas de reserva do glúten (gliadina e glutenina), as quais são ricas em prolina e glutamina. As principais classes de proteínas presentes na farinha, de acordo com sua solubilidade, são as albuminas, solúveis em água, as globulinas, solúveis em solução salina, as prolaminas (gliadinas), solúveis em álcool e as glutelinas (gluteninas), solúveis em ácido ou base diluídos (OSBORNE, 1907). As albuminas e as globulinas constituem de 15 a 20% do total de proteína na farinha (SINGH e SKERRIT, 2001). As proteínas do glúten constituem mais de 80% do total de proteínas da farinha e conferem propriedades essenciais à funcionalidade da farinha de trigo (SHEWRY et al., 1995), pela habilidade em formar uma rede contínua na massa desenvolvida (rede de glúten), conferindo viscoelasticidade (MacRITCHIE e LAFIANDRA, 1997).

As proteínas do glúten consistem de gliadinas monoméricas e gluteninas poliméricas. Enquanto as gliadinas são simples cadeias polipeptídicas, as gluteninas são estruturas de multicadeias de polipeptídios unidas por ligações dissulfídicas (GIANIBELLI et al., 2001).

As gliadinas constituem de 30 a 40% do total de proteína da farinha e são uma mistura heterogênea de simples cadeias polipeptídicas, as quais são solúveis em

álcool 70%. Elas possuem um tamanho aproximado na faixa de 30 a 60 kDa e sob eletroforese em géis de poliacrilamida em meio ácido (A-PAGE) podem ser separadas nas frações α / β (grupos com características estruturais similares), γ e ω -gliadinas (MacRITCHIE e LAFIANDRA, 1997).

Os polímeros de glutenina consistem de subunidades de baixa massa molecular (LMW-GS), com massa molecular de 20 a 45kDa, e de subunidades de glutenina de alta massa molecular (HMW-GS), com massa molecular de 70 a 90kDa, as quais estão unidas por ligações dissulfídricas intermoleculares e intramoleculares (DuPONT e ALTENBACH, 2003). As LMW-GS correspondem a aproximadamente 20 a 30% do total de proteínas (GUPTA et al., 1992), enquanto as HMW-GS a 5 a 10% (PAYNE, 1986). Com base na mobilidade das LMW-GS em SDS-PAGE, distinguem-se três grupos: B, C e D LMW-GS (PAYNE e CORFIELD, 1979; JACKSON et al., 1983).

As HMW-GS e LMW-GS são solúveis em soluções alcoólicas como monômeros, dímeros ou pequenos polímeros, mas estão presentes na farinha principalmente como agregados poliméricos insolúveis, circundando os grânulos de amido (DuPONT et al., 2005).

2.2.1. Composição das gluteninas

O *Triticum aestivum* (conhecido como trigo para pão), é uma espécie hexaplóide contendo três genomas relacionados, AABBDD. A constituição genética do trigo é importante porque todas as características de qualidade exibidas resultam da expressão dos genes e da interação deles com o ambiente (GIANIBELLI et al., 2001).

As HMW são codificadas nos *loci* Glu-1, nos braços longos dos cromossomos do grupo 1 (1A, 1B e 1D). Cada *locus*, Glu-A1, Glu-B1 e Glu-D1, inclui dois genes ligados que codificam dois tipos de HMW-GS, subunidades do tipo x e do tipo y (PAYNE et al., 1987). As subunidades do tipo x geralmente têm uma mobilidade mais baixa em SDS-PAGE e mais elevada massa molecular que as subunidades do tipo y.

O trigo comum poderia, em teoria, conter seis diferentes HMW-GS, mas devido ao silenciamento de alguns dos genes, muitas cultivares de trigo comum possuem de três a cinco HMW-GS (GIANIBELLI et al., 2001).

O par de HMW-GS 5+10, codificado no Glu-D1 está associado com maior força da massa, enquanto o par alélico variante 2+12 está associado com menor força (GUPTA e MACRITCHIE 1994). A presença de um resíduo extra de cisteína em Dx5 é sugerida como a possível explicação para a diferença entre os alelos (KASARDA, 1999), o que promove uma alteração no comportamento de polimerização por ligações dissulfídricas intermoleculares e, assim, responsabilizando pelas diferenças na qualidade (KÖHLER et al., 1997).

Outros pares alélicos variantes tiveram resultados similares: subunidade 17+18 do Glu-B1, forte, versus subunidades 20x+20y, fraca. Estas diferenças na força da massa foram devido à diferenças no tamanho molecular da glutenina, deduzidas de medidas de solubilidade (GUPTA e MACRITCHIE 1994).

2.3. Qualidade tecnológica do trigo

O processamento do trigo para diferentes alimentos vem sendo praticado por milhares de anos. Entretanto, ainda é grande a necessidade de se entender a relação entre a composição da proteína de trigo e a funcionalidade da farinha. Pesquisas com base na funcionalidade podem ser diretamente aplicadas para otimizar processos em situações comerciais ou produzir variedades de trigo que apresentem propriedades compatíveis com os requerimentos específicos do uso (MacRITCHIE e LAFIANDRA, 1997).

A qualidade do grão de trigo pode ser definida como resultado da interação entre as características genéticas da cultivar, das condições de cultura tais como solo, clima, incidência de pragas e moléstias e manejo da cultura, bem como das operações de colheita, secagem, armazenamento e moagem (POMERANZ, 1987). Pode-se também discriminar a qualidade do trigo em função dos setores envolvidos: produtivo, moageiro, industrial e consumidores finais, além dos pesquisadores. A principal preocupação dos produtores de trigo é quanto ao rendimento, enquanto os moageiros e panificadores citam a variabilidade nas propriedades funcionais da farinha como um dos maiores problemas. Apesar dos anos de pesquisa, ainda há uma lacuna no entendimento sobre os fatores que controlam o rendimento e qualidade.

Para avaliar a qualidade dos grãos e da farinha de trigo, sugere-se, dentre outras, análises físicas, como o peso hectolítrico e a massa de mil grãos, e físico-químicas, como o teor de proteína e o número de queda (MANDARINO, 1993).

De todos os cereais, o trigo é o único cuja farinha tem a habilidade de formar uma massa que exhibe propriedades reológicas requeridas para a produção de pão, propriedades estas determinadas pela formação do glúten (GIANIBELLI et al., 2001). Entre os caracteres que influem marcadamente na qualidade de panificação, encontram-se o teor de proteína e a variação tanto qualitativa, em termos da composição de subunidades, como quantitativa, em relação às diferentes frações protéicas que compõem o glúten, especialmente as gluteninas. A máxima resistência da massa e do glúten é fortemente determinada pelas subunidades de glutenina e pela proporção de gliadinas:gluteninas (WIESER e KIEFFER, 2001). Tanto o fator genético, quanto as condições ambientes influenciam a quantidade total de proteína na farinha, quantidade e tamanho da glutenina e as proporções de subunidades de glutenina, gliadinas, albuminas e globulinas (DuPONT et al., 2005).

As propriedades da massa são, antes de tudo, orientadas pela estrutura do glúten e pelas interações envolvidas na formação do complexo protéico, particularmente, pelo macropolímero de glutenina consolidado por ligações dissulfídicas entre suas subunidades (LINDSAY e SKERRIT, 1999). A inerente habilidade das subunidades de glutenina para formar ligações dissulfídicas é definida pela estrutura primária e secundária das proteínas, as quais determinam se resíduos de cisteínas estão presentes e disponíveis para tais interações, pela capacidade da subunidade envolver-se do modo requerido para formar a ligação e pela elasticidade da subunidade (SHEWRY et al., 1995).

Tanto as ligações covalentes quanto as não covalentes são importantes na formação do glúten. As subunidades de glutenina formam ligações dissulfídicas intramoleculares e intermoleculares, enquanto as gliadinas são capazes de formar apenas ligações intramoleculares. Variações nas propriedades destas ligações entre as subunidades de glutenina interferem na sua associação no macropolímero glutenina e no seu papel na estabilização da estrutura do glúten e subsequente função (WIESER e KIEFFER, 2001).

As HMW-GS constituem não mais que 10% do total de proteínas na farinha, entretanto, são as principais determinantes da qualidade de panificação ao conferirem elasticidade e pela importância que têm na formação do polímero glutenina (DuPONT e ALTERBACH, 2003). As HMW-GS exercem papel chave na estrutura e função do glúten e, conseqüentemente, estão relacionadas à qualidade do trigo.

As gliadinas são importantes por contribuírem para a viscosidade e extensibilidade do glúten. Embora alguns autores tenham associado alelos específicos de gliadina com a qualidade de panificação, estas proteínas podem não ter efeito direto na qualidade do trigo em termos de força da massa. Este papel pode ser devido às LMW-GS, em função de sua forte ligação genética com as gliadinas (GIANIBELLI et al., 2001).

Como é quase impossível extrair glutenina na forma intacta, é difícil obter uma verdadeira estimativa da quantidade e tamanho deste polímero. Entretanto, a quantidade de proteína não extraível, composta principalmente por glutenina, a quantidade de polímeros extraídos por sonicação e a quantidade de HMW-GS contida nos polímeros de glutenina foram correlacionadas com a qualidade de panificação (GUPTA et al, 1992). A qualidade de panificação também correlaciona-se com a presença ou ausência de variantes alélicas específicas de HMW-GS (WIESAR e ZIMMERMANN, 2000).

2.4. Influência dos fatores ambientais na qualidade tecnológica do trigo

As condições ambientais, particularmente adubação e temperatura, afetam a quantidade e a composição e/ou polimerização das proteínas do glúten (GRAYBOSCH, 1995).

As propriedades da massa e a qualidade de panificação diferem em função das condições de crescimento e regime de adubação do trigo (TEA et al., 2007). Neste contexto, a disponibilidade de enxofre (S) e nitrogênio (N) no solo pode afetar tanto a quantidade, quanto a composição das proteínas formadoras do glúten (GROVE et al., 2009). Respostas das várias classes de proteínas de reserva à adubação com nitrogênio e enxofre podem estar relacionadas à composição de seus aminoácidos (DuPONT e ALTENBACH, 2003).

2.4.1. Adubação nitrogenada e sulfurada

A relação entre nutrição e produção é de fundamental importância para todas as culturas agrícolas, mas é particularmente importante quando se refere à nutrição nitrogenada em trigo. O nitrogênio tem grande importância para a cultura o trigo devido a sua participação nas funções metabólicas de síntese e constituição das

proteínas (VIEIRA et al. 1995), cujo conteúdo e composição determinam a adequabilidade e qualidade para a produção de pães e outros produtos alimentícios (GODFREY et al., 2010).

As fontes de nitrogênio para as culturas podem ser tanto na forma nítrica (NaNO_3 , KNO_3), amoniacal [$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$], nítrico-amoniacal (NH_4NO_3) e amídica (ureia) (MIELNICZUK, 1982 citado por YANO et al., 2005). Entre essas, a ureia é a mais utilizada na agricultura brasileira, sendo a mais concentrada (45% de N) e conseqüentemente de menor custo. O sulfato de amônio apesar de ser menos concentrado (21% de N), e de maior custo, tem algumas vantagens como o fornecimento adicional de enxofre (YANO et al., 2005).

O evidente efeito do aumento do nível de fertilizante à base de nitrogênio é o aumento do conteúdo de proteína de trigo, resultante da maior síntese e acúmulo de proteínas de reserva, correspondentes às gliadinas e gluteninas (GODFREY et al., 2010). De qualquer forma, a composição protéica também é alterada com a mudança do nível de proteína do grão. Em geral, quando o nível aumenta para uma dada cultivar, a proporção de gliadina aumenta, enquanto a proporção de albuminas/globulinas (proteínas monoméricas) decresce; já a proporção de proteínas poliméricas permanece praticamente constante (GUPTA et al., 1992). Em função da mudança no balanço de proteínas provir do aumento do conteúdo de gliadina, a resistência da massa nem sempre aumenta com o aumento do nível de proteína total; quase sempre a resistência da massa diminui (MacRITCHIE e LAFIANDRA, 1997).

Enxofre (S) é um nutriente essencial requerido para todos os organismos vivos. É constituinte essencial para a cisteína, metionina, muitas coenzimas tioredoxinas e todas as proteínas que contêm cisteína ou metionina. Algumas das mais importantes funções do enxofre incluem seu papel em peptídeos especializados, tais como glutatona, em reações de oxiredução, e o papel de formação das ligações dissulfídicas na estabilização da estrutura da proteína (SAITO, 2000).

O enxofre afeta a utilização do nitrogênio e a qualidade do grão, além de exercer papel importante na determinação da qualidade de panificação (RYANT e HRIVNA, 2004 citado por JÄRVAN, 2008). Embora o requerimento de enxofre pelo trigo seja relativamente baixo, o suprimento abaixo do ótimo e a deficiência podem causar variações indesejáveis na qualidade do trigo, ocasionando dificuldades de comercialização para a indústria de moagem e panificação (FLÆTE et al., 2005).

Tratando-se do aspecto na indústria de panificação, a variação na disponibilidade de fertilizantes sulfurados produz grandes mudanças nas propriedades da massa. A deficiência de enxofre, por exemplo, pode exercer uma grande influência nas propriedades tecnológicas do trigo, com aumento excessivo na força da massa, decréscimo da extensibilidade e células do miolo de menor volume e textura inferior (MacRITCHIE e LAFIANDRA, 1997; ZHAO et al., 1999a; ZHAO et al., 1999b). No caso de severa deficiência de enxofre, o volume do pão resultante torna-se significativamente menor (MOSS et al., 1983 e BYERS et al., 1987 citados por ZHAO et al., 1999b).

A importância dos aminoácidos sulfurados na qualidade de panificação deve-se à formação das ligações dissulfídicas formadas pelos grupos sulfidrila da cisteína, essenciais à viscoelasticidade da massa e afetada pela deficiência de enxofre (GYÖRI, 2005 citado por JÄRVAN, 2008). Estes efeitos indesejáveis nas propriedades reológicas da massa e na qualidade de panificação, oriundos da deficiência de S, foram associados com mudanças na distribuição dos diferentes grupos de proteínas da farinha, mostradas em estudos de eletroforese e análises de HPLC (WIESAR et al., 2004). A proporção de proteínas pobres em S tais como as ω -gliadinas e as HMW-GS aumentou e a das proteínas ricas em S, incluindo as LMW-GS α e γ -gliadinas diminuiu (ZHAO et al., 1999c; FLÆTE et al., 2005).

A mudança na proporção de subunidades de glutenina HMW para LMW parece ser um fator adicional na mudança das propriedades da massa causadas pela variação na disponibilidade de enxofre. Um decréscimo no conteúdo de S no grão tem sido associado com aumento da proporção de glutenina HMW /LMW, assim resultando na mudança na distribuição da massa molecular das proteínas poliméricas em direção à subunidade de maior massa (MacRITCHIE e GUPTA, 1993 citado por FLÆTE et al., 2005). Quantitativamente, como as subunidades LMW são os principais componentes da glutenina, a proporção de proteína polimérica para monomérica decresce com a diminuição do conteúdo de S no grão (ZHAO et al., 1999b).

A interação entre nitrogênio e enxofre também é importante. Altos níveis de fertilizante nitrogenado, por exemplo, podem acentuar os efeitos da deficiência em enxofre, os quais não são tão evidentes com níveis mais baixos de nitrogênio (MacRITCHIE e LAFIANDRA, 1997). Sem o suprimento adequado de S, o trigo não pode alcançar seu potencial máximo em termos de rendimentos, qualidade ou

conteúdo de proteínas, nem mesmo consegue eficiente aproveitamento do nitrogênio aplicado (SAHOTA, 2006 citado por JÄRVAN, 2008). Quando N e S são aplicados simultaneamente e em balanço, pode-se observar aumento mais expressivo no conteúdo destes nutrientes no grão de trigo, sugerindo um efeito sinérgico entre os fertilizantes. Além disso, a fertilização simultânea pode melhorar a qualidade da massa de pão (TEA et al., 2007).

A despeito do metabolismo do nitrogênio e enxofre estar relacionado e uma ótima proporção N/S no grão tenha melhorado a qualidade de panificação, interação entre os fertilizantes não tem sido extensivamente estudada. Variações no fornecimento de N e S e a redistribuição destes no grão podem influenciar o conteúdo e composição de proteína tão bem quanto as características do grão e propriedades da massa (ZHAO et al., 1997; ZHAO, 1999a; RUITER e MARTIN, 2001).

A importância alcançada pelo consumo de trigo e seus derivados tem feito aumentar a preocupação com a qualidade deste grão, buscando mantê-la ou melhorá-la baseado em técnicas de melhoramento e práticas de fertilização. O pão, dentre os derivados, requer qualidade protéica específica para que exibam características desejáveis. Além disso, o nitrogênio e enxofre são nutrientes cujo nível de fornecimento à planta afeta tanto o conteúdo quanto a composição das proteínas de reserva do trigo e assim as propriedades da massa. Entender o comportamento das proteínas da farinha de trigo, sobretudo das envolvidas na formação da rede glúten, em condições ambientais fixas é um ponto de partida interessante para a obtenção de farinha e pão de qualidade superior.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

O experimento foi instalado no Campo Experimental Diogo Alves de Melo da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa-MG, com semeadura das cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.) EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro, em duas épocas distintas, época 1 e época 2, sendo ambas no mês de maio de 2009, com intervalo de 15 dias entre elas. A adubação de semeadura foi com 250 kg/ha da fórmula 8-28-16 (NPK). Nas condições de cultivo, as plantas receberam nitrogênio em cobertura na forma de ureia ou sulfato de amônio, nas seguintes dosagens: a) normal (70 kg de N/ha); metade da dose normal (35 kg de N/ha); e dose normal mais 50% (105 kg de N/ha).

Adotou-se para os tratamentos um esquema fatorial 2x3x2 em parcela subdividida, disposto no delineamento em blocos casualizados, sendo nas parcelas fontes de adubação (ureia ou sulfato de amônio) e as doses de nitrogênio (35, 70 e 105 kg de N/ha) e nas subparcelas as cultivares (EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro), em dois blocos na época 1 e três blocos na época 2. As parcelas foram dimensionadas com 5,0 m de comprimento e dois metros de largura. As subparcelas foram constituídas de cinco linhas de 5,0 m de comprimento, semeadas no espaçamento de 20 cm entre linhas. Na colheita, foram consideradas como parcela útil as três linhas do centro da parcela, correspondendo a 3 m².

Os grãos de trigo foram colhidos manualmente quando atingiram a maturação no campo, com umidade aproximada de 15%, e secos ao sol até atingirem 13% de umidade. A limpeza dos grãos foi, inicialmente, realizada em um equipamento de sopro de ar. Os grãos limpos foram armazenados em sacos de polietileno até o momento da moagem.

3.2. Métodos

3.2.1. Testes de qualidade dos grãos de trigo

3.2.1.1. Peso do hectolitro

O peso do hectolitro (PH) foi determinado em aparelho Dalle Molle, de acordo com as Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 1992), tendo seu valor expresso em kg.hL⁻¹.

3.2.1.2. Peso de mil grãos

O peso de mil grãos (PMG) foi determinado de acordo com as Regras de Análise de Sementes (BRASIL, 1992), pela contagem manual de 100 grãos de trigo, em quadruplicada, e expresso pela massa média (g) multiplicada por 10.

3.2.1.3. *Falling number*

O número de queda foi determinado no aparelho *Falling Number* modelo 1600 fabricado pela *Perten Instruments*, de acordo com o método 56-81B da AACC (1995), utilizando sete gramas de amostra, ajustados para 14% (m/m) de umidade, em duplicata. Os resultados foram expressos em segundos.

3.2.2. Moagem Experimental

Os procedimentos de moagem e pré-moagem foram feitos no Laboratório de Reologia de Cereais do Centro Nacional de Pesquisa de Tecnologia Agroindustrial de Alimentos (CTAA- EMBRAPA). Os grãos foram submetidos à limpeza em um separador de impurezas, modelo Sintel, e sua umidade foi determinada por secagem por radiação infravermelha em balança de umidade da marca Shimadzu série MOC-120H, tomando-se 2 g da amostra integral de trigo, previamente moído em moinho de cone Brabender.

Os grãos de trigo foram condicionados para 15% de umidade (bu) por um tempo de 16 h.

Após o condicionamento, procedeu-se a moagem dos grãos em moinho de rolos Brabender, modelo Quadrumat® Junior, segundo o método da AACC 26-50 (2000), utilizando-se velocidade 2. Com o emprego da moagem e da tamisação (50 mesh) obtiveram-se farinha e farelo. O rendimento da moagem (RM) foi determinado pela razão entre a massa da farinha extraída e a massa total de grãos alimentada ao moinho.

$$\text{RM (\%)} = \frac{\text{Massa de farinha de trigo (g)}}{\text{Massa de grãos de trigo (g)}} \times 100$$

A farinha de trigo foi armazenada em câmara de armazenamento a -18 °C, por 1 e 2 meses, para as épocas 1 e 2, respectivamente, até o início das análises.

Para os testes de qualidade dos grãos de trigo (peso do hectolitro, peso de mil grãos e *Falling Number*), análises de composição química da farinha de trigo (umidade, cinzas e proteínas), determinação da composição protéica (SDS-PAGE e SE-HPLC) e teste de panificação foram utilizados o Laboratório de Amido e Farinha, Laboratório de Panificação e Laboratório de Análise de Alimentos do Departamento de Tecnologia de Alimentos da UFV.

3.2.3. Caracterização da farinha de trigo quanto à composição

3.2.3.1. Teor de água

O teor de água na farinha de trigo foi determinado em estufa com circulação forçada de ar a 130 °C por 1 h, de acordo com o método 44-15A da AACC (1995).

3.2.3.2. Minerais

O teor de minerais na farinha de trigo foi determinado segundo o método 08-01 da AACC (1995), por incineração em mufla a 600 °C até peso constante e expresso em base seca (% m/m).

3.2.3.3. Proteína

O conteúdo de proteína bruta na farinha de trigo foi determinado pelo método de Micro-Kjeldahl (AOAC, 1995), utilizando-se 0,7 g de amostra e selênio e sulfato de cobre como mistura catalítica. Para a conversão do teor de nitrogênio para proteína utilizou-se o fator de multiplicação 5,7. O teor de proteína foi expresso em base seca (% m/m).

3.2.4. Determinação da composição e conteúdo protéico

3.2.4.1. Identificação das subunidades de glutenina de alta massa molecular (HMW-GS) nas farinhas de trigo por eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS (SDS-PAGE)

A técnica de eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS (SDS-PAGE) em uma dimensão foi utilizada para identificação das subunidades de gluteninas de

alta massa molecular (HMW-GS) e o seu procedimento, bem como o preparo das amostras e do gel, seguiram conforme o descrito por Pirozi et al. (2008), com modificação para 4%T de acrilamida para o gel de empilhamento e 12%T para o gel de separação. As amostras foram preparadas pela extração das proteínas a partir de 50 mg de farinha de trigo pesadas em microtubos, adicionadas de 1mL de tampão (água destilada, 0,5M Tris HCl - pH 6,8, glicerol, 10% SDS, β -mercaptoeranol e 0,5% de azul de bromofenol) e agitadas em vórtex até completa dispersão da farinha. Na sequência, as amostras foram colocadas em banho a $95\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ por cinco minutos, resfriadas em banho de gelo por cinco minutos e, então, centrifugadas em microcentrífuga Eppendorf a $8225,28 \times g$ por cinco minutos. A separação de proteínas foi feita em mini-géis de poliacrilamida com 1,5 mm de espessura, aplicando-se de 5 μL de amostra. A corrida ocorreu em um sistema SIGMA sob a aplicação de um campo elétrico fornecido por uma fonte de potencial elétrico de 100 V, por um período de quatro horas.

Os géis recuperados foram imersos em solução de coloração (0,025% azul Brillhante de Comassie- R, CBB-R; 40% de metanol e 7% de ácido acético) e deixados por 18 horas para a revelação das bandas de proteínas separadas. O excesso do corante foi removido pela imersão do gel por aproximadamente 30 minutos em solução fixadora contendo 40% (v/v) de ácido acético e 7% (v/v) de metanol, seguida pela imersão em solução fixadora contendo 7% (v/v) de ácido acético e 5% (v/v) de metanol, até que o fundo do gel tornasse claro em contraste com as bandas coradas das frações protéicas.

QUADRO 1 – Subunidades de gluteninas de alta massa molecular dos padrões de SDS-PAGE

Padrão	Glu-A1	Glu-B1	Glu-D1
BRS220	Nulo	7+8	2+12
IPR85	1	17+18	5+10
IAPAR78	Nulo	7+9	2+12
IPR87	2*	17+18	2+12
SHANGAI	Nulo	17+19	5+10
BRS210	1	7+8	5+10
IAPAR6	2*	7+8	5+10

Os padrões de eletroforese foram preparados com farinha de trigo das cultivares BRS220, IPR85, IAPAR78, IPR87, SHANGAI, BRS210 e IAPAR6, das quais se conhecia as HMW-GS (QUADRO 1).

3.2.4.2. Quantificação das frações protéicas da farinha por cromatografia líquida de alta eficiência por exclusão molecular (SE-HPLC)

Cromatografia líquida de alta eficiência por exclusão molecular (SE-HPLC) foi utilizada para a quantificação das frações de proteínas da farinha de trigo, de acordo com o método descrito por Rubio et al. (2005) e Pirozi et al. (2008).

A extração das proteínas foi feita em três etapas para cada amostra a fim de obter as seguintes frações protéicas: proteína polimérica total (PPT), proteína polimérica extraível (PPE) e proteína polimérica não extraível (PPNE). A sequência para extração referente à PPT consistiu da adição de 1 mL de solução tampão-SDS (0,5% de SDS em 0,05 mol/L de fosfato, pH 6,9) num microtubo contendo 10 mg de amostra, agitação em vórtex por 5 minutos e tratamento da suspensão em sonicador de haste (Ultrasonic Homogeneizer 4710, Parmer Instrumentos, Chicago Illinois) na potência de 8 W por 16 segundos (4 pulsos de 4s). A suspensão foi centrifugada a 10.483,2 x g por 20 minutos em microcentrífuga Eppendorf e o sobrenadante filtrado em filtro de nylon de 45 µm para vials de 2 mL, os quais foram aquecidos a 80°C ± 1°C por dois minutos e imediatamente resfriados em banho de gelo.

A PPE foi recuperada no sobrenadante obtido do procedimento anterior, no entanto, sem sonicação. Após adição do tampão-SDS, a suspensão foi centrifugada a 10.483,2 g por 20 minutos. O sobrenadante foi filtrado em um filtro de nylon de 45 µm para vials de 2 mL, que foram aquecidos a 80°C ± 1°C por dois minutos e resfriados em banho de gelo. O sedimentado foi reservado para a extração da PPNE.

Ao resíduo da extração correspondente à PPE foi adicionado 1 mL da solução tampão-SDS, que foram agitados em vórtex por 10 minutos, até completa dispersão. A suspensão foi tratada em sonicador de haste por 24 segundos (6 pulsos de 4s) e centrifugada a 10.483,2 x g por 20 minutos. O sobrenadante foi filtrado em filtro de nylon de 45 µm para vials de 2 mL, aquecidos e resfriados da mesma forma que para extração da PPT, obtendo assim a fração PPNE.

As amostras extraídas foram analisadas por SE-HPLC em um sistema SHIMADZU LC-20A Prominence, com injeção automática de 20 µL em uma coluna de exclusão molecular Phenomenex BioSep-SEC S4000 (300 x 7,8 mm). Solução contendo acetonitrila e água na proporção de 1:1 e 0,05% de ácido trifluoracético (TFA) foi utilizada como fase móvel. O tempo de eluição e o comprimento de onda

empregados foram de 15 minutos e 214 nm, respectivamente. A quantificação foi obtida pelo uso de um detector espectrofotométrico (UV-VIS).

O cromatograma obtido para a fração PPT foi dividido em três picos principais correspondentes, em ordem crescente do tempo de eluição, às proteínas poliméricas (pico 1), gliadinas (pico 2) e albuminas/globulinas (pico 3). O perfil do cromatograma para a fração PE mostra um pico de proteína polimérica extraível (pico 1), seguido pelo pico de gliadinas (pico 2) e por último o de albuminas e globulinas (pico 3). Já o perfil para a fração PNE mostra uma maior concentração de proteínas no pico 1, condizente com a fração polimérica não extraível (Figura 1).

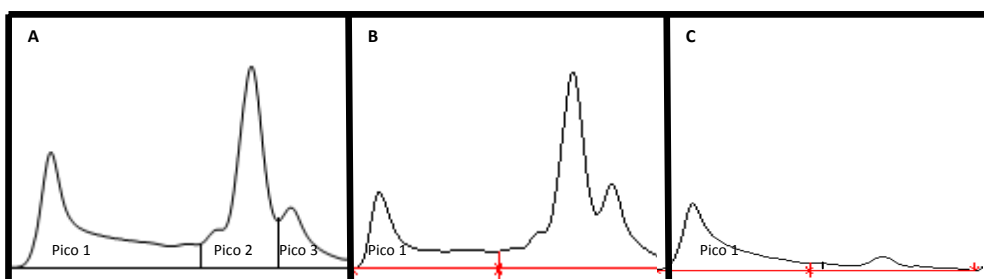


Figura 1- Perfil de separação de proteína total - PPT (A), extraível - PE (B) e não extraível - PNE (C) da farinha de trigo por SE-HPLC.

A quantidade (%) de PPT no total de proteína (PPP) e a quantidade (%) de PNE no total de proteína polimérica (UPP) foram calculadas pelas seguintes equações:

$$PPP = \frac{(\text{Área Pico1}_{PPT})}{\text{Área Pico1}_{PPT} + \text{Área Pico2}_{PPT} + \text{Área Pico3}_{PPT}} \times 100$$

$$UPP = \frac{(\text{Área Pico1}_{PPNE})}{\text{Área Pico1}_{PPNE} + \text{Área Pico1}_{PPE}} \times 100$$

A UPP foi calculada para estimar sua distribuição de massa molecular em relação à fração polimérica total, parâmetros relacionados com a funcionalidade da farinha.

A quantidade de proteína polimérica total na farinha (PPPF) e a porcentagem de proteína polimérica não extraível na farinha (UPPF) foram calculadas pelas equações a seguir:

$$PPPF = \frac{(PPP*PF)}{100}$$

$$UPPF = \frac{(UPP*PF)}{100}$$

onde, PF é a porcentagem de proteína total (bruta) na farinha de trigo.

A proporção de gliadina:glutenina foi calculada pela razão entre a área do pico 2 e a área do pico 1 do cromatograma de PPT.

3.2.5. Teste de panificação

O teste de panificação foi feito em microescala, conforme descrito por Santos (2008), com algumas modificações. Os pães foram elaborados de acordo com o método 10-10B da AACC (1995), com modificações, utilizando-se para cada amostra 35 g de farinha de trigo (14% bu) e os demais ingredientes em Baker's %, ou seja, corresponderam a um percentual da massa (g) de farinha de trigo (considerada 100%), conforme QUADRO 1.

QUADRO 2 - Formulação dos pães para o teste de panificação

INGREDIENTE	FORMULAÇÃO (BAKER'S %)
Sacarose	6,0
Fermento biológico	5,5
Sal	1,5
Gordura vegetal hidrogenada	1,0

A quantidade de água adicionada, baseada em 60% de absorção, foi calculada de acordo com o teor de proteína e água da farinha de trigo.

A massa foi formada em uma batedeira da marca Arno, adaptada para trabalhar com pequena quantidade de amostra, com misturador do tipo garfo de dois dentes. Inicialmente, foram misturados os ingredientes secos até completa homogeneização (1 minuto). Na sequência, adicionou-se o fermento biológico

instantâneo diluído em água e a mistura continuou até total incorporação. Por último, adicionou-se gordura hidrogenada e manteve a mistura até desenvolvimento da massa (5 minutos). A massa desenvolvida foi boleada, deixada em repouso por 20 minutos sob proteção de um plástico, e então divididos em porções de 10 g cada. As alíquotas de massa foram modeladas manualmente, dispostas em formas de alumínio com 52,8 X 15,6 X 23,8 mm de dimensão, fermentadas por 40 minutos e assadas em forno elétrico a 230 °C por 10 minutos.

Para a elaboração das amostras referência foram utilizados 35 g farinha de trigo comum (100%), glúten vital (3%) e as mesmas proporções dos demais ingredientes utilizadas para os pães do teste de panificação (QUADRO 1). Os padrões foram utilizados como referência na avaliação dos pães testados.

Os pães foram avaliados objetivamente quanto ao volume e volume específico. O volume foi determinado após 25 minutos do término do assamento, pelo método de deslocamento de sementes (modificado de AACC 10-05, 2000), e a sua massa em balança analítica. O volume específico foi calculado pela razão entre o volume do pão assado (cm^3) e sua massa (g) e os resultados expressos em $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$.

Os pães foram armazenados sob congelamento a -18 °C e descongelados a temperatura ambiente no dia da avaliação sensorial.

Os pães foram avaliados subjetivamente por uma equipe de provadores em relação às características externas (cor da crosta, quebra e simetria) e internas (cor do miolo, estrutura das células do miolo e espessura da crosta). Para cada característica as amostras receberam notas de 1 a 10, tanto maior quanto melhor a qualidade comparada ao padrão, o qual recebeu nota 10 para todos os atributos avaliados. As amostras receberam nota máxima (10) quando apresentaram qualidade equivalente ou superior a da referência. Considerou-se como escore global o somatório das pontuações das características internas e externas, com pontuação máxima igual a 60.

Volume e volume específico foram estatisticamente avaliados considerando os dias de elaboração dos pães como blocos, enquanto que para o escore global foram considerados blocos os provadores.

3.2.6. Análise estatística

O delineamento experimental seguiu o de campo, em esquema fatorial (2x3x2) e parcela subdividida, em blocos casualizados, sendo as parcelas as doses de

N ou as fontes e as subparcelas as cultivares, em dois blocos por tratamento na primeira época e três blocos na segunda. Cada época foi analisada de forma independente.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA), utilizando-se o programa estatístico SAS[®], versão 9.1. A significância dos efeitos principais foi testada pelo teste F a 5% de probabilidade, e quando significativo, as médias foram comparadas uma contra a outra, por se tratarem de dois níveis (para fonte de N e cultivares).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados e discussão serão apresentados para os testes iniciais e separadamente, por época, para composição química, identificação e quantificação das frações protéicas e teste de panificação das farinhas de trigo obtidas das cultivares de trigo EMBRAPA 22 e UFVT 1- Pioneiro tratadas com uréia e sulfato de amônio em três doses de N.

4.1. Testes iniciais

Os resultados das análises de PH e PMG dos grãos de trigo das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro tratadas com ureia ou sulfato de amônio nas épocas 1 e 2 estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Peso do hectolitro e peso de mil grãos das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro em função da fonte de nitrogênio

Cultivar	Fonte N	ÉPOCA 1		ÉPOCA 2	
		PH ¹	PMG ²	PH ¹	PMG ²
EMBRAPA 22	UREIA	78,27	41,95	76,09	37,33
	SULFATO DE AMÔNIO	77,53	39,37	75,56	36,54
UFVT 1- PIONEIRO	UREIA	77,47	44,03	73,95	35,63
	SULFATO DE AMÔNIO	78,00	42,79	73,56	34,68

¹Peso do hectolitro (kg hL⁻¹); ²Peso de mil grãos (g).

Na época 1, o PH foi afetado pela dose de N ($p < 0,05$). O que se observou foi um comportamento similar entre cultivares, de forma que o PH decresceu com o aumento da dose de N (Figura 2), tendo apresentado maior valor na dose de 35 kg de N/ha. Trabalhos relatam tanto a redução do PH com o incremento da dose de N (COELHO et al., 1998), quanto também demonstram que a intensificação da fertilização do trigo com N resulta em maior peso do hectolitro (SZENTPETERY et al., 2005; SVEÈNJAK et al. 2007).

Mesmo que não tenha havido diferença significativa entre cultivares, na época 1, o PH médio observado para a cultivar EMBRAPA 22 (77,9 kg hL⁻¹) foi inferior ao sugerido por ALBRECHT et al. (2006) em documento de caracterização da nova cultivar (80 kg hL⁻¹), assim como foi o PH da UFVT 1-Pioneiro (77,73 kg hL⁻¹) em relação ao citado pelo Programa de Melhoramento de Trigo/UFV (79,4 kg

hL⁻¹). Os grãos de ambas as cultivares podem ser classificados como “pesados”, ou seja, com valores de PH entre 76 e 79 kg hL⁻¹ (GUARIENTI, 1993).

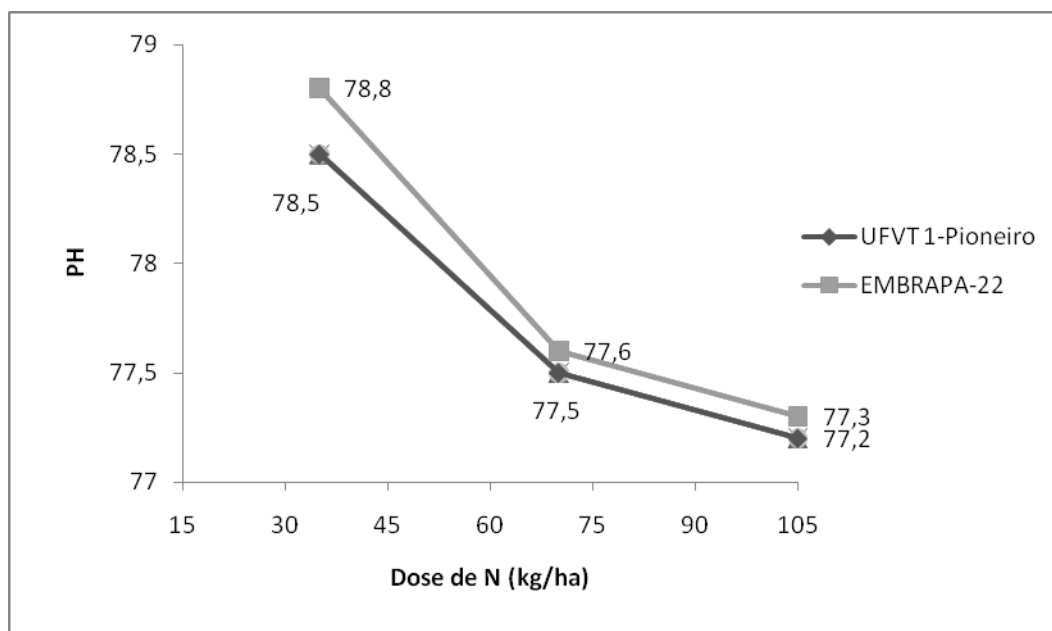


Figura 2- Peso do hectolitro (PH) em função da dose de nitrogênio (Época 1).

Na época 2, os valores médios de PH e PMG sofreram o efeito da cultivar ($p < 0,05$), tendo a EMBRAPA 22 sobressaído em relação à UFVT 1-Pioneiro em ambos os aspectos de qualidade. Os grãos de trigo das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro (época 2) tiveram médias de PH iguais a 75,82 e 73,74 kg hL⁻¹, respectivamente, sendo classificados como de peso médio (72 a 75 kg/hL⁻¹) (WILLIAMS et al., 1988). Embora UFVT 1-Pioneiro seja uma cultivar que apresenta, marcadamente, boas características agronômicas refletidas nos grãos, a EMBRAPA 22 também é caracterizada pelo elevado peso de mil grãos e peso do hectolitro (ALBRECHT et al., 2006).

Trindade et al. (2006) ao estudar o efeito de doses de nitrogênio sob duas formas de manejo de irrigação na produtividade de duas cultivares de trigo, verificaram para EMBRAPA 22 um PH médio de 78,70 kg hL⁻¹, enquanto Megda et al. (2009) em avaliação do efeito de fontes de nitrogênio e épocas de aplicação em cultivares de trigo, encontrou um PH médio iguala a 77 kg hL⁻¹. Gutkoski (2007) encontrou ainda um PH de 79,45 kg hL⁻¹, enfatizando a variabilidade dos resultados entre os trabalhos.

Segundo Mandarino (1993), a disponibilidade de N está entre os fatores ambientais que favorecem um longo período de enchimento de grãos, elevando a

massa hectolétrica, porém, as doses de nitrogênio foram expressivas apenas para os resultados da época 1.

O PH é utilizado como medida tradicional da comercialização em vários países, e expressa indiretamente atributos de qualidade dos grãos relacionados à moagem, havendo uma depreciação do trigo quando o PH encontra-se abaixo de 78 kg hL⁻¹ (GUARIENTI, 1993; TRINDADE et al., 2006). Seguindo este padrão comercial, os grãos das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro das épocas 1 e 2 desfavorecem o produtor em termos de pagamento pelo trigo, no entanto, esta constatação isolada não indica que o grão apresente pior qualidade.

Constatou-se diferença significativa ($p < 0,05$) entre as cultivares para o PMG (época 1), sendo que a cultivar UFVT 1-Pioneiro (43,41g) teve maior valor comparado à EMBRAPA 22 (40,66 g). Na segunda época o PMG foi de 36,93g para EMBRAPA 22 e de 35,15 g para UFVT 1-Pioneiro. Os valores de PMG deste trabalho não coincidem com os propostos em publicações nas quais é feita a caracterização e definição dos parâmetros de qualidade dos grãos de ambas as cultivares, aproximadamente 40 e 44 g, respectivamente, para as cultivares UFVT 1-Pioneiro (Programa de Melhoramento de Trigo/UFV) e EMBRAPA 22 (ALBRECHT et al., 2006). Entretanto, Gutkoski et al. (2007) encontrou resultado próximo para a cultivar EMBRAPA 22 (41,6 g).

A fonte de nitrogênio também teve efeito significativo ($p < 0,05$) sobre os valores médios de PMG na época 1, exibindo maior valor quando se utilizou uréia como fonte de N. Ao contrário do PH, a dose de N não teve efeito sobre PMG ($p > 0,05$) como também verificado por Olesen et al. (2003).

Pelos valores médios de PMG para a EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro, os grãos das épocas 1 e 2 são classificados como de tamanho médio, ou seja, com PMG situado entre 35 e 45 g (WILLIAMS et al., 1988), adequado aos requerimentos para o processamento do trigo.

O PMG é utilizado para classificar o trigo pelo tamanho, onde grãos de tamanho excessivo não são desejados pela indústria, pois podem provocar perdas devido às dificuldades de regulagem dos equipamentos de limpeza e moagem, enquanto grãos pequenos podem passar pelas peneiras de limpeza e causar perdas na produção de farinha pela diminuição da quantidade de trigo moído (GUARIENTI, 1996). Por esta razão, nos programas de melhoramento devem ser priorizados grãos

de tamanho médio (GUARIENTI, 1993). A uniformidade também é requerida para melhor aproveitamento industrial.

Tabela 2 – Rendimento de moagem e *falling number* determinados para EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro

Cultivar	Fonte N	Dose N	ÉPOCA 1		ÉPOCA 2	
			RM ¹	FN ¹	RM ¹	FN ²
EMBRAPA 22	URÉIA	35	61,45	398,0	71,16	434,3
		70	58,02	404,3	67,86	392,0
		105	61,70	387,3	70,18	419,2
	SULFATO DE AMÔNIO	35	47,56	402,3	68,96	419,8
		70	58,85	404,5	71,06	395,2
		105	63,40	393,3	70,37	448,5
UFVT 1 PIONEIRO	URÉIA	35	57,77	389,0	55,95	429,8
		70	61,90	385,3	76,31	444,8
		105	62,41	411,5	65,63	434,3
	SULFATO DE AMÔNIO	35	62,77	409,5	68,46	456,0
		70	59,79	336,5	66,41	434,3
		105	59,22	371,5	65,02	392,0

¹Rendimento de moagem (%); ²*Falling number* (s).

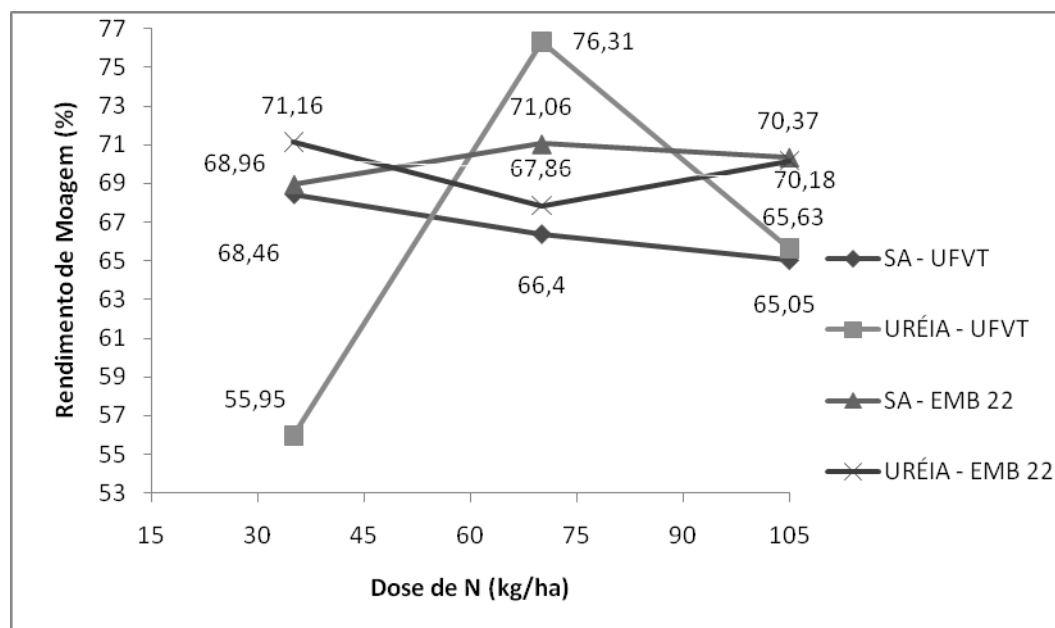
O rendimento de moagem (RM) não foi alterado por nenhuma das variáveis avaliadas na época 1, tendo apresentado uma média de 58,50% para EMBRAPA 22 e 60,65% para UFVT 1-Pioneiro (Tabela 2). A diferença entre os RM obtidos em trabalhos distintos pode estar associada à eficiência intrínseca de cada tipo de moinho. Para o mesmo tipo de moinho, o RM obtido por Don et al. (2005) foi de aproximadamente 70%. GUTKOSKI et al. (1999) tiveram 62,54% de RM em moinho experimental Brabender, modelo Quadrumat Senior. Ao utilizar o moinho piloto marca Chopin, Gutkoski et al. (2007) obteve rendimento de extração variando de 65,02 a 69,11% para grãos de genótipos de trigo obtidos em áreas de cerrado brasileiro, dentre os quais EMBRAPA 22.

Na época 2, a interação entre dose e fonte de N foi significativa ($p < 0,05$) para o RM. Com sulfato de amônio o RM da EMBRAPA 22 foi superior ao da UFVT 1-Pioneiro nas três dosagens de N, tendo apresentado valor máximo na dose de 70 kg de N/ha (Figura 3). A aplicação de ureia mostrou comportamentos opostos entre as cultivares, de modo que na dose normal o RM foi máximo para UFVT 1-Pioneiro (76,31%) e mínimo para EMBRAPA 22 (67,86%). Na dose de 105 kg de N/ha, os RM observados entre as fontes para uma mesma cultivar foram muito próximos, implicando que nesta dose o mesmo rendimento pode ser alcançado independente da fonte de N utilizada. Com 30 kg de N/ha o RM das cultivares EMBRAPA 22 e

UFVT 1-Pioneiro foi praticamente o mesmo, quando utilizou-se sulfato de amônio como fonte de N.

Um dos critérios mais antigos e mais frequentemente utilizados para a avaliação da qualidade de moagem para trigo comum é o peso do hectolitro (PH), uma vez que este pode indicar o potencial de rendimento de farinha (FINNEY et al., 1957 citado por SVEËNJAK et al., 2007). Embora não tenha sido constatado neste trabalho, grãos com maior PH deveriam favorecer maior RM.

De fato, o rendimento de moagem não é diretamente afetado pela fonte e dose de nitrogênio, mas como apresentado pelos resultados, o efeito decorre de alterações na formação e composição dos grãos. A adequação do trigo quanto ao PH, PMG e RM deve ser priorizada, uma vez que está relacionada com a valorização comercial do produto.



*SA: sulfato de amônio; EMB 22: EMBRAPA 22; UFVT: UFVT 1-Pioneiro.

Figura 3- Efeito da dose de nitrogênio na forma de ureia e sulfato de amônio sobre o rendimento de moagem.

O número de queda (*Falling Number*) não foi significativo em nenhuma das duas épocas, tendo apresentado médias iguais a 398,5 s e 384,1 s (época 1) e 418,4 e 436,4s (época 2), respectivamente para EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro, valores estes que enquadram os grãos na classificação de baixa atividade enzimática (PERTEN, 1967). O número de queda é usado para avaliar a atividade da enzima α -amilase de grãos e farinhas, a fim de detectar danos causados pela germinação na espiga (GUTKOSKI et al., 2007). Assim, pode-se dizer que os grãos foram colhidos

sem comprometimento da qualidade por manifestação de germinação e, embora para utilização industrial a baixa atividade enzimática seja negativa, não constitui um problema de difícil solução.

4.2. Época 1

4.2.1. Composição química da farinha de trigo

Na Tabela 3 encontram-se os resultados do teor de água, minerais e proteínas da farinha de trigo. Pode-se observar uma variação no teor de água de 11,69 a 12,18% e no de cinzas de 0,68 a 0,82% em função da cultivar e fonte de N (Tabela 3).

Os minerais concentram-se principalmente nas camadas mais externas do grão de trigo, de modo que sua maior concentração na farinha indica maior grau de extração, ou seja, maior quantidade de farelo incorporada à farinha, com conseqüente diminuição na qualidade tecnológica (GUTKOSKI et al., 1999). De acordo com a Instrução Normativa n. 8 (BRASIL, 2005) a farinha de trigo para ser caracterizada como Tipo 1 deve conter no máximo 0,8% de cinzas (bs). A farinha é considerada do Tipo 2 quando apresentar teores de cinzas entre 0,8% e 1,4% (bs) e integral entre 1,4 e 2,5% de cinzas.

Tabela 3 – Conteúdo de água, minerais e proteínas da farinha de trigo das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro sob diferentes condições de adubação nitrogenada

Cultivar	Fonte N	TEOR DE ÁGUA	MINERAIS ¹	PROTEÍNAS ²
EMBRAPA 22	UREIA	11,87	0,82	10,17
	SULFATO DE AMÔNIO	11,69	0,72	11,83
UFVT 1-PIONEIRO	UREIA	11,81	0,68	10,02
	SULFATO DE AMÔNIO	12,18	0,76	10,25

¹Minerais (%bs); ²Proteínas (%bs).

O teor de proteína variou em relação à fonte de nitrogênio, sendo que a utilização de sulfato de amônio correspondeu a um maior conteúdo de proteínas ($p < 0,05$). Mesmo que sulfato de amônio possua uma menor concentração de nitrogênio na molécula comparado à ureia, e considerando a importância deste nutriente na síntese de proteínas, o enxofre presente no sulfato de amônio, potencializa o aproveitamento do nitrogênio, o que pode explicar o maior teor de

proteína. Tea et al. (2007) ao aplicar fertilizantes à base de nitrogênio e enxofre, simultaneamente, teve o conteúdo de proteína aumentado.

A utilização da ureia em cobertura sem incorporação pode reduzir a eficiência da adubação, pois se sabe que suas perdas por volatilização da amônia são certamente maiores que outras fontes como o sulfato de amônio e nitrato de amônio. A eficiência da uréia como fonte de N depende muito do ambiente, principalmente precipitação e temperatura, fatores não controláveis a campo para essa condição experimental (YANO, 2005).

O fato da adubação do trigo com enxofre e nitrogênio afetar a proporção de N:S no grão (PODLESNA e CACAK, 2008) e de haver uma forte interdependência no metabolismo de enxofre e nitrogênio da planta (FLÆTE et al. 2005), complementa o entendimento acerca da variação no teor de proteínas. As proteínas são constituídas de aproximadamente 80% do enxofre orgânico, e as proteínas do trigo requerem 1:15 de enxofre por partes de nitrogênio (por massa), fazendo necessário um balanço entre disponibilidade de nitrogênio e enxofre para incrementar a síntese de proteínas (GODFREY et al., 2010).

4.2.2. Identificação das subunidades de gluteninas de alta massa molecular (HMW-GS) por SDS-PAGE

As HMW-GS foram consistentes para todos os blocos de um mesmo tratamento, exceto para EMBRAPA 22 com sulfato de amônio e ureia na dose de 70 kg de N/ha e para UFVT 1-Pioneiro com sulfato de amônio nas doses de 35 e 70 kg de N/ha. Para estes tratamentos foram identificadas em Glu-B1 tanto subunidades 17+18 quanto 7+8, nos respectivos blocos. Nas demais amostras, as subunidades verificadas para EMBRAPA 22 foram 1, 7+8 e 5+10, enquanto 1, 17+18 e 5+10 para UFVT 1-Pioneiro (Figura 4).

Conforme descrito pelo Programa de Melhoramento de Trigo/UFV, a cultivar UFVT 1-Pioneiro expressa as subunidades 1, 17+18 e 5+10 e EMBRAPA 22 as subunidades 2*, 7+8 e 5+10 (ALBRECHT et al., 2006). Santos (2008) identificou as subunidades 2*, 7+8 e 5+10 para UFVT 1-Pioneiro e 1, 7+8 e 5+10, para EMBRAPA-22.

De forma geral, a expressão dos genes para as HMW-GS não foram alteradas pelos tratamentos, como já esperado. A composição das proteínas e das subunidades

de gluteninas é geneticamente determinada (PAYNE, 1987 citado por KUKTAITE et al., 2004).

Foi detectada uma inesperada sexta banda em uma das repetições da EMBRAPA 22 (ureia e sulfato de amônio - 70 kg de N/ha), da UFVT 1-Pioneiro (ureia e sulfato de amônio – 70 kg de N/ha e sulfato de amônio - 105 kg de N/ha), em que 17+18 aparecem, a qual se assemelha com a subunidade 7 (Figura 4). Foram averiguadas a possibilidade de contaminação entre amostras na moagem, sem detectar nenhuma falha.

Para as subunidades de gluteninas de alta massa molecular foram estipulados escores de 1 a 4, com base na correlação com os valores de sedimentação da farinha, sendo que um genótipo pode apresentar escore mínimo de 4 e máximo de 10 pontos, de acordo com o eletroforegrama proposto por Zanatta (2002). Pontuação igual a 10 é indicativa de germoplasma com glúten forte, enquanto a somatória igual a 4 sugere germoplasma de glúten fraco (ZANATTA, 2002). Considerando a relação das HMW-GS com os respectivos escores para aptidão de panificação, as cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro, com escore igual a 10, são classificadas como trigo de qualidade superior.

Estudos revelam que a presença das subunidades 5 e 10 codificadas no cromossomo 1D estão associadas com alta qualidade de panificação. Provavelmente, essa qualidade diferencial esteja relacionada ao comportamento das ligações dissulfídicas intermoleculares (PAYNE et al., 1987 citado por WIESER e ZIMMERMANN, 2000). Os pares de alelos 1Dx5 e Dy10 e 1Bx17 e 1By18 têm muito mais efeito positivo nas propriedades da massa que outros pares como 1Dx2 e 1Dy12.

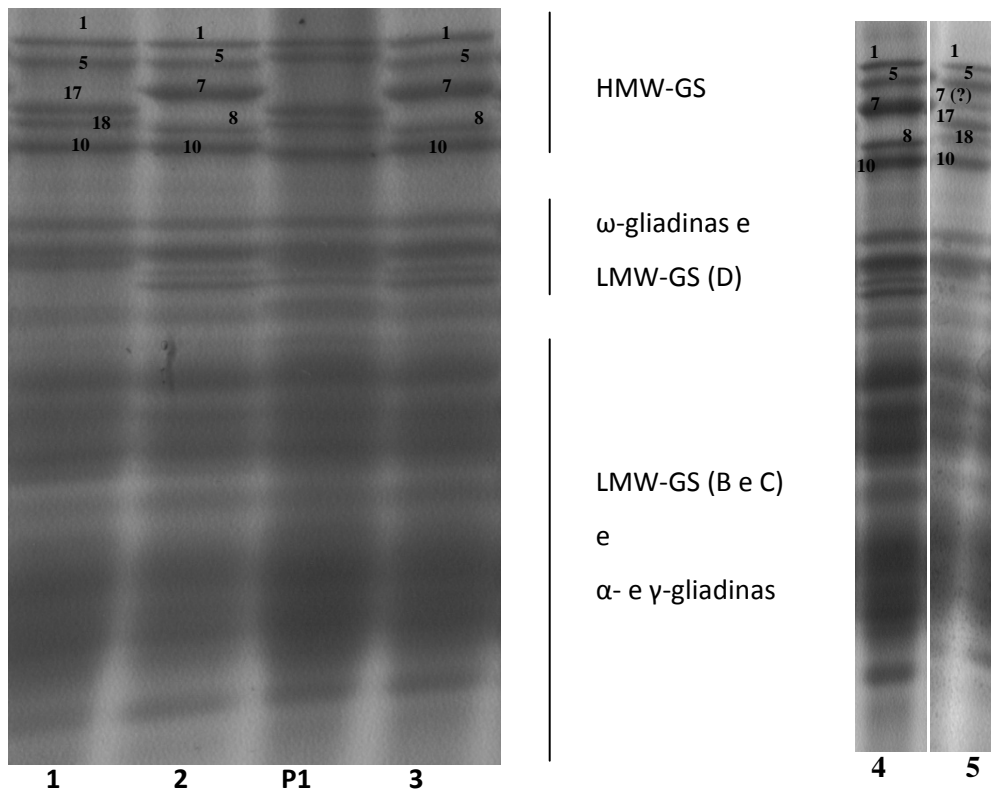


Figura 4- SDS-PAGE em uma dimensão de amostras de farinha de trigo das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro: **1-** UFVT 1-Pioneiro tratada com ureia na dose de 70 kg de N/ha de N ; **2-** EMBRAPA 22 tratada com ureia na dose de 35 kg de N/ha de N; **3-** EMBRAPA 22 tratada com sulfato de amônio na dose de 105 kg de N/ha de N;**P1-** Padrão (IPR 87); **4-** e **5-** EMBRAPA 22 tratada com sulfato de amônio na dose de 70 kg de N/ha de N (repetições 1 e 2).

4.2.3. Quantificação das proteínas formadoras do glúten determinadas por SE-HPLC

As porcentagens das frações poliméricas de proteínas (PPP, PPPF, UPP e UPPF) e a proporção GLI:GLU determinadas por SE-HPLC são mostradas na Tabela 4.

A porcentagem de proteína polimérica (PPP) teve resposta significativa em relação à fonte de N ($p < 0,05$), com maior valor associado à ureia, independente da dose, enquanto PPPF não variou. Esperava-se que o uso de sulfato de amônio fosse incrementar a PPP em relação à ureia, visto o papel do enxofre na polimerização das proteínas, uma vez que HMW-GS e LMW-GS são estabilizadas por pontes dissulfeto, resultantes das ligações dos resíduos de cisteínas.

Enquanto o uso de sulfato de amônio aumentou o teor de proteína bruta na farinha de trigo, PPP foi maior com a aplicação de ureia. Portanto, a ocorrência de maior conteúdo de proteína polimérica em relação ao total de proteína não esteve ligada ao maior teor de proteína bruta na farinha. Assim como encontrado por Zhao

et al. (1999), a dose de nitrogênio não teve efeito significativo ($p>0,05$) na proporção de gluteninas, mostrada pelos valores de PPP.

Os efeitos da fonte de nitrogênio, dose de nitrogênio e a cultivar não foram significativos ($p>0,05$) sobre a UPP e UPPF. Assim como para PPP e PPPF, UPP e UPPF não aumentaram quando o teor de proteína aumentou. O total de proteína polimérica e a quantidade relativa de proteína polimérica não extraível, não relacionaram com o teor de proteína bruta. As proteínas não extraíveis têm uma alta proporção de HMW-GS e estas são as principais contribuintes para a força da massa e qualidade de panificação (FISICHELLA et al., 2003).

Tabela 4 – Distribuição das proteínas poliméricas e proporção de gliadina:glutenina presente na farinha de trigo

Cultivar	Fonte N	PPP ¹	PPPF ²	UPP ³	UPPF ⁴	GLI:GLU ⁵
EMBRAPA 22	UREIA	39,50	4,03	43,19	4,39	1,15
	SULFATO DE AMÔNIO	37,21	4,41	45,97	5,45	1,27
UFVT 1-PIONEIRO	UREIA	39,56	3,96	41,18	4,13	1,18
	SULFATO DE AMÔNIO	34,42	3,53	44,75	4,56	1,28

¹Porcentagem de proteína polimérica (%); ²Porcentagem de proteína polimérica na farinha (%); ³Porcentagem de proteína polimérica não extraível(%); ⁴Porcentagem de proteína polimérica não extraível na farinha; ⁵Proporção de gliadinas para gluteninas (adimensional).

Os efeitos da fonte de nitrogênio, dose de nitrogênio e a cultivar não foram significativos ($p>0,05$) sobre a UPP e UPPF. Assim como para PPP e PPPF, UPP e UPPF não aumentaram quando o teor de proteína aumentou. O total de proteína polimérica e a quantidade relativa de proteína polimérica não extraível, não relacionaram com o teor de proteína bruta. As proteínas não extraíveis têm uma alta proporção de HMW-GS e estas são as principais contribuintes para a força da massa e qualidade de panificação (FISICHELLA et al., 2003).

As proteínas do glúten têm dois níveis de agregação antes de formar o polímero. No primeiro nível, HMW-GS e LMW-GS formam polímeros covalentes e no segundo agregações maiores chamadas de UPP (GUPTA et al., 1993) ou macropolímeros de gluteninas (WEEGELS et al., 1996) são formadas e estabilizadas por ligações de hidrogênio e dissulfídricas (HARASZI et al., 2008). Os tratamentos aqui estudados provavelmente não promoveram mudanças no processo de formação dos polímeros em nenhum destes níveis, já que UPP e UPPF não foram alteradas.

A proporção GLI:GLU na farinha de trigo não foi alterada pela cultivar, nem pelas variantes de adubação, fonte e nível de nitrogênio, com valor médio de 1,21

para EMBRAPA-22 e 1,23 para UFVT 1-Pioneiro. A relação GLI:GLU expressa a contribuição dos polímeros de gluteninas (maior massa molecular), os quais desempenham papel crítico nas propriedades tecnológicas da farinha, mais que as gliadinas (menor massa molecular), ao conferir elasticidade e resistência à massa.

Considerando que as gluteninas são as principais proteínas poliméricas presentes na farinha para panificação e a principal fração contabilizada na PPP, o fato da PPP ter sido maior com a aplicação de ureia não tornou menor a proporção GLI:GLU, comparado ao uso de sulfato de amônio. Por este resultado, tem-se que a distribuição de massa molecular das proteínas formadoras do glúten não foi modificada pelo trato cultural e foi equivalente entre as cultivares.

Recentes investigações têm mostrado que variação na dose de N influencia as quantidades dos diferentes grupos de proteínas. No entanto, no presente estudo, as respostas de UPP (UPPF) e GLI:GLU não confirmaram essa influência. Adubação do trigo com enxofre e nitrogênio afeta o conteúdo de enxofre e a proporção de N/S no grão (PODLESNA e CACAK, 2008). Seria importante avaliar o balanço N/S nos grãos em decorrência da fonte e nível de N utilizados, para uma previsão mais consistente do efeito deste na qualidade da farinha de trigo.

4.2.4. Teste de panificação

O resultado da avaliação dos pães elaborados com farinha de trigo tratada com sulfato de amônio ou ureia é mostrado na Tabela 5 e Figuras 5 e 6, expresso pelo escore global, volume total (cm³) e volume específico (cm³/g).

O escore global variou de 44,7 a 53,8 (Tabela 5), com efeito significativo ($p < 0,05$) para as interações entre cultivar e dose de N e entre fonte e dose de N.

Para as duas fontes de N o escore dos pães da cultivar UFVT 1-Pioneiro diminuiu quando a dose foi da menor (35 kg de N/ha) para a normal (70 kg de N/ha) e aumentou da normal para a de 105 kg de N/ha. Esse comportamento foi também observado para a fonte ureia aplicada à EMBRAPA 22. Características mais satisfatórias foram obtidas para os pães formulados com farinha de trigo tratados com ureia na dose de 105 kg de N/ha (Tabela 5).

Tabela 5 – Qualidade de panificação das farinhas de trigo EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro sob diferentes condições de adubação nitrogenada

Cultivar	Fonte N	Dose N	Escore global ¹
EMBRAPA 22	UREIA	35	51,8
		70	47,7
		105	53,8
	SULFATO DE AMÔNIO	35	50,0
		70	52,2
		105	48,5
UFVT 1-PIONEIRO	UREIA	35	49,8
		70	46,3
		105	53,0
	SULFATO DE AMÔNIO	35	50,8
		70	44,7
		105	52,0

¹Escore Global (máximo de 60): somatória das notas das características internas e externas (adimensional);

A resposta do escore às cultivares em relação às doses de N foi semelhante à acompanhada para as fontes de N em relação às doses. O escore diminuiu quando a dose foi de 35 para 70 kg de N/ha, com uma redução mais pronunciada para a cultivar UFVT 1-Pioneiro. Comparada à avaliação dos pães quando dose normal e metade da dose normal de N foram utilizadas, as características dos pães foram mais desejáveis com farinha em que o trigo recebeu uma dose de 105 kg de N/ha, para a qual a cultivar UFVT 1-Pioneiro apresentou escore igual a 52,5 e a EMBRAPA 22 escore igual a 51,2 (Figura 6).

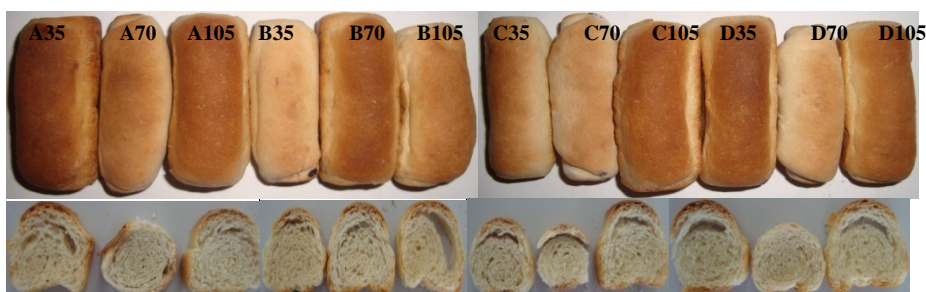


Figura 5- Aspectos da crosta e do miolo dos pães elaborados com farinha de trigo tratado com ureia e sulfato de amônio. A - EMBRAPA 22/Ureia; B - EMBRAPA 22/Sulfato de Amônio; C - UFVT 1-Pioneiro/Ureia; D - UFVT 1-Pioneiro/Sulfato de Amônio.

Pela inclinação das retas que acompanham a variação no escore com o nível de N (Figura 6), observa-se que a qualidade dos pães elaborados com farinha de trigo da cultivar UFVT 1-Pioneiro sofreram mais com o efeito da dose do que os com farinha de trigo da cultivar EMBRAPA 22. Este comportamento mostra que a alteração na dose de N no tratamento do trigo UFVT 1-Pioneiro teve uma influência mais pronunciada nas características dos pães do que na cultivar EMBRAPA 22. Provavelmente, o efeito do N sobre as proteínas de reserva deva ter sido diferente

entre as variedades, resultando em pães com características expressas em intensidades distintas.

De todos os tratamentos, a farinha de trigo da cultivar UFVT 1-Pioneiro que recebeu ureia foi mais desejável às características interna e externa dos pães quando a dose foi de 105 kg de N/ha. O fornecimento simultâneo de enxofre e nitrogênio através do sulfato de amônio teve efeito positivo ao escore apenas na dose normal, onde a avaliação foi superior à dos pães com farinha tratada com ureia (Tabela 5).

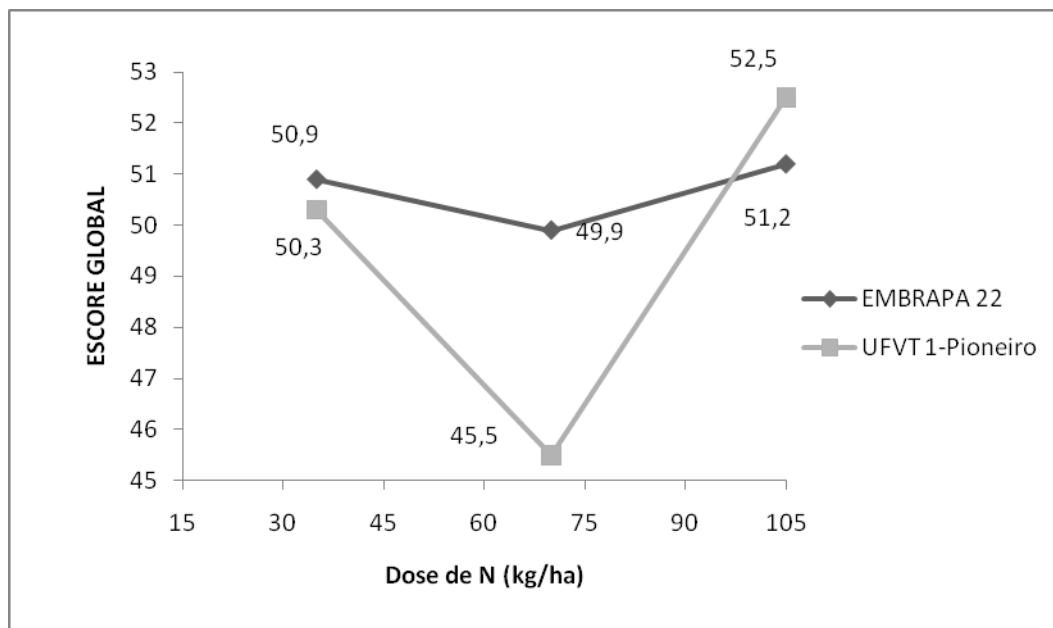


Figura 6 – Variação do escore global dos pães para as cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro em função da dose de nitrogênio

O volume e volume específico dos pães foram significativamente ($p < 0,05$) afetados pelas doses de N (35, 70 e 105 kg de N/ha), para os quais obtiveram-se maiores valores na maior dose de N. Johansson e Svensson (1999) também relatam maior volume com maior dose de N. O aumento do N no grão, esperado com uma maior disponibilidade de N para a planta, está associado com o aumento de gliadinas, resultando no aumento da extensibilidade da massa (KINDRED, 2008), propriedade associada com o volume do pão.

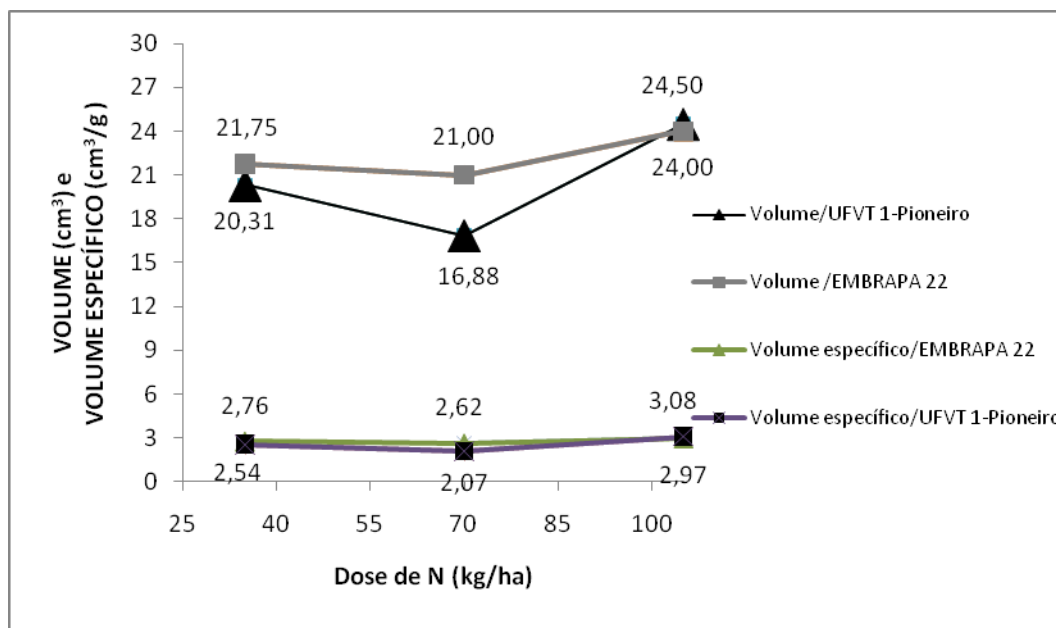


Figura 7 – Variação do volume e volume específico com a dose de nitrogênio.

A dose normal de N foi a menos satisfatória quanto ao volume e volume específico, conforme pode ser visto na Figura 7.

As observações mostram que com a dose de 105 kg de N/ha os pães apresentaram maior volume (29,6 cm³), volume específico (3,08 cm³/g) (Figura 7) e escore global (52,5) (Tabela 5 e Figura 6). Nesta dose, pode-se dizer que volume e qualidade dos pães foram relacionados. Uma maior resistência à extensibilidade (elasticidade) foi positivamente associado com a granulometria do miolo, mostrando boa aparência e elevado volume (FÆRGESTAD et al., 2000). Assim, espera-se que um melhor balanço entre extensibilidade e elasticidade tenha ocorrido com a dose de 105 kg de N/ha, o que resultou em maior volume e melhores características de panificação.

Muitos autores têm relatado a relação positiva entre UPP e força do glúten (JOHANSSON et al., 2008; SINGH e MacRITCHIE, 2001; GUPTA et al., 1993). Visto que UPP não foi alterada pela fertilização nitrogenada, tampouco variou entre cultivares, a qualidade dos pães e seu volume e volume específico não podem ser explicados pelas propriedades de panificação associadas às proteínas não extraíveis. Também a relação GLI:GLU não foi determinante na qualidade de panificação, já que foi inalterada pelos tratamentos.

4.3. ÉPOCA 2

4.3.1. Composição química da farinha de trigo

Os teores de umidade, cinzas e proteínas das farinhas podem ser vistos na Tabela 6, através dos quais observa-se uma variação de 11,29 a 12,29% para o teor de água e de 0,58 a 0,79% no teor de minerais.

Tabela 6 – Conteúdo de água, minerais e proteínas da farinha de trigo das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro sob diferentes condições de adubação nitrogenada

Cultivar	Fonte N	TEOR DE ÁGUA	MINERAIS ¹	PROTEÍNAS ²
EMBRAPA 22	UREIA	11,29	0,69	14,23
	SULFATO DE AMÔNIO	11,65	0,79	13,74
UFVT 1-PIONEIRO	UREIA	12,29	0,79	11,63
	SULFATO DE AMÔNIO	12,27	0,58	11,99

¹Minerais(%bs); ²Proteínas(%bs).

O teor de proteínas foi superior para a cultivar EMBRAPA 22 (13,98%), independente da fonte de nitrogênio utilizada. Estudos disponibilizam conteúdos de proteínas de 15,86 e 13,85% (bs) (CAZETTA et al., 2008) e 17,61% (bs) (GUTKOSKI et al., 2007) para a mesma cultivar. No presente trabalho, a cultivar EMBRAPA 22 proporcionou farinha mais rica em proteínas, assim como seus grãos foram os que apresentaram mais elevados PH e PMG, quando comparado com a UFVT 1-Pioneiro.

O teor de proteína foi também responsivo às doses de nitrogênio. Pode-se observar que o aumento na dose de nitrogênio fez com que o teor de proteína aumentasse, tendo a 105 kg de N/ha a melhor resposta (Figura 8). Embora a interação dose de N e cultivar não tenha sido significativa, pôde-se observar o mesmo efeito crescente para ambas cultivares (Figura 9). FLÆTE et al. (2005) obteve médias de proteínas iguais a 12,7% e 15,1% ao aplicar dois níveis de nitrogênio na forma de nitrato de amônio, os quais chamou de baixo (150 + 50 kg N/ha) e alto (220 + 80 kg de N/ha), respectivamente.

Outros trabalhos têm demonstrado efeito positivo da adubação nitrogenada sobre o incremento no teor de proteína no grão. Cazetta et al. (2008), ao trabalhar com cinco cultivares de trigo em duas safras, observou um aumento linear no teor de

proteínas com a adubação nitrogenada a base de nitrato de amônio, cujas doses foram de 0, 30, 60, 90 e 120 kg de N/ha. Soares Sobrinho (1999) também verificou aumento no teor de proteína nos grãos, passando de 10,76 para 13,01 %, quando a dose de N variou de 0 a 120 kg de N/ha. Vários outros autores tiveram aumento do teor protéico nos grãos com o aumento das doses de N (GUARIENTI et al., 1994 e KINDRED et al., 2008).

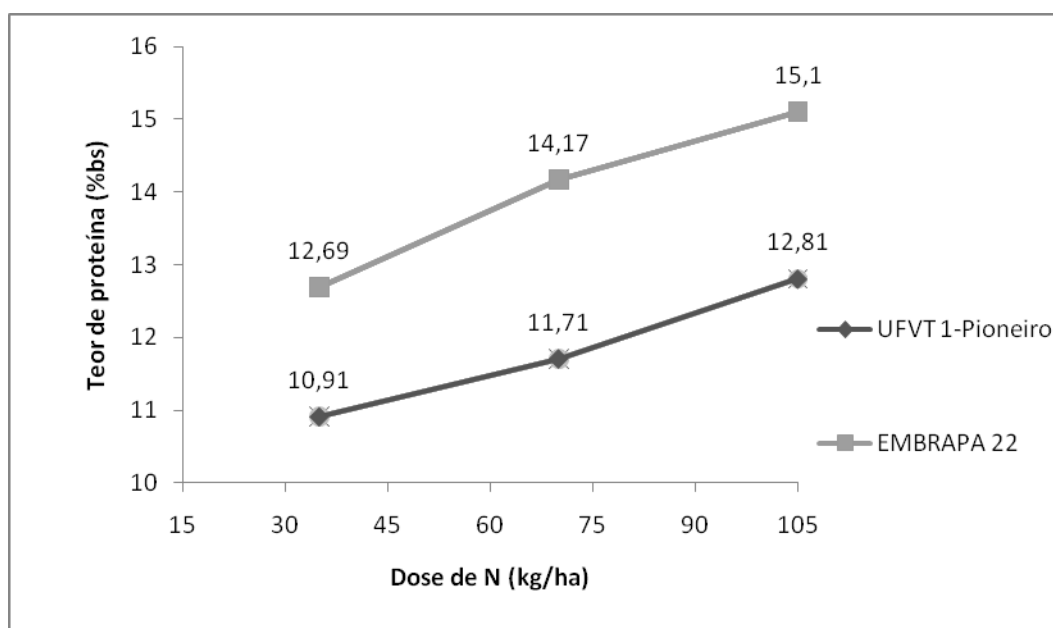


Figura 8– Variação no teor de proteínas com a dose de nitrogênio.

O aumento da proteína no grão e na farinha de trigo sob níveis elevados de fertilizantes nitrogenados resulta da grande síntese e acúmulo de proteínas de reserva, as quais correspondem às formadoras do glúten (CAZETTA et al., 2008).

A quantidade de N absorvido durante o ciclo da planta exerce influência na determinação do teor protéico do grão; o nitrogênio desempenha a função de aumentar o teor de proteína nas plantas (SOUSA e LOBATO, 2004). Em cereais, as sínteses de proteína e de amido competem por fotossintetizados durante o período de enchimento de grãos e quando a necessidade de N para o rendimento é satisfeita, o N é usado para aumentar a concentração de proteína. Desta forma, em carência de N, os fotossintetizados que seriam convertidos em proteínas são usados na síntese de carboidratos (RIBEIRO JÚNIOR et al., 2007).

4.3.2. Identificação das subunidades de gluteninas de alta massa molecular por eletroforese em gel de poliacrilamida com SDS (SDS-PAGE)

Por SDS-PAGE foram identificadas as subunidades de gluteninas 1, 7+8 e 5+10 para A EMBRAPA 22 e as subunidades 1, 17+18 e 5+10 para a UFVT 1-Pioneiro, associadas ao locus Glu-A1, Glu-B1 e Glu-D1, respectivamente.

A fonte de N e nas diferentes doses não alteraram a expressão gênica das HMW-GS, confirmando o já esperado. As frações de glutenina são quase totalmente dependentes do genótipo (GRAYBOSCH et al., 1996).

Semelhante à época 1, notou-se a presença de uma sexta banda de HMW-GS em todas as repetições das amostras de UFVT Pioneiro, cuja posição no gel coincide com a da subunidade 7 (Glu-D1) (Figura 9).

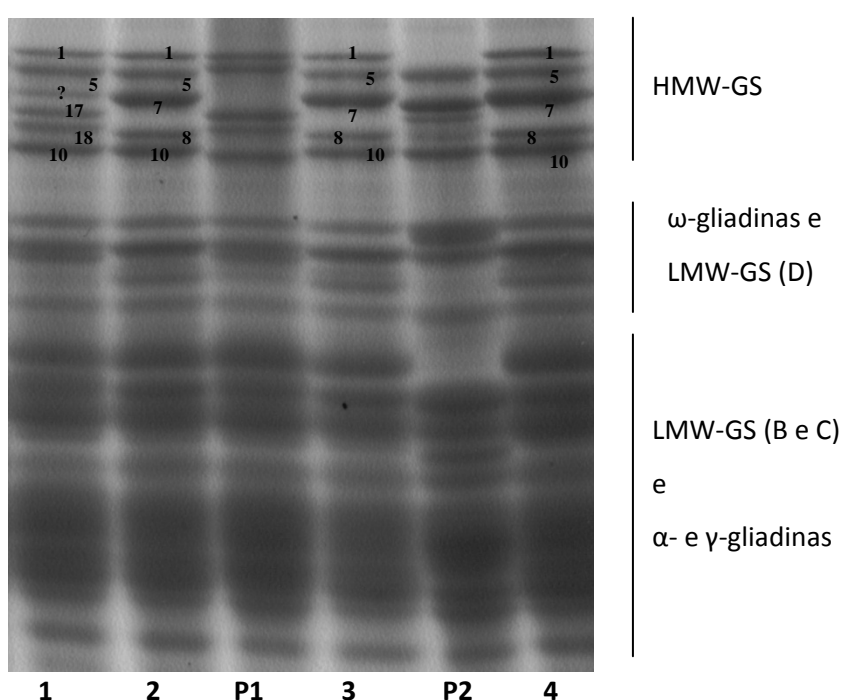


Figura 9 – SDS-PAGE em uma dimensão de amostras de farinha de trigo das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro: **1**- UFVT 1 Pioneiro tratada com ureia na dose de 105 kg de N/ha de N; **2**- EMBRAPA 22 tratada com ureia na dose de 70 kg de N/ha de N; **P1**- Padrão IPR 87; **3**- EMBRAPA 22 tratada com ureia na dose de 35 kg de N/ha de N; **P2**-Padrão Shangai; **4**- EMBRAPA 22 tratada com sulfato de amônio na dose de 70 kg de N/ha de N.

4.3.3. Quantificação das proteínas formadoras do glúten determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (SE-HPLC)

Na Tabela 7 encontra-se a distribuição das proteínas formadoras do glúten e das proteínas poliméricas.

Os valores encontrados para PPP não foram significativos ($p > 0,05$) em relação a nenhuma das variáveis em estudo. Em contraposição, as cultivares diferenciaram-se quanto ao PPPF ($p < 0,05$), tendo a EMBRAPA 22 apresentado

maior percentual (5,14%). A cultivar EMBRAPA 22 também teve os maiores valores ($p < 0,05$) de UPP (42,57%) e UPPF (5,94%) comparada à UFVT 1-Pioneiro (Tabela 7).

Tabela 7 – Distribuição das proteínas poliméricas e proporção de gliadina:glutenina presente na farinha de trigo

Cultivar	PPP ¹	PPPF ²	UPP ³	UPPF ⁴	GLI:GLU ⁵
EMBRAPA 22	36,84	5,14	42,57	5,94	1,32
UFVT 1-PIONEIRO	38,03	4,49	35,25	4,16	1,22

¹Porcentagem de proteína polimérica (%); ²Porcentagem de proteína polimérica na farinha (%); ³Porcentagem de proteína polimérica não extraível(%); ⁴Porcentagem de proteína polimérica não extraível na farinha; ⁵Proporção de gliadinas para gluteninas (adimensional)

A dose de N foi também significativa ($p < 0,05$) para a UPP. A dose normal levou a um valor relativamente menor de UPP em relação às de 35 e 105 kg de N/ha (Figura 10). Mesmo que a interação dupla de cultivar e dose de N não tenha sido significativa, maiores valores de UPP foram observados para a cultivar EMBRAPA 22 comparada à UFVT 1-Pioneiro, para as três doses de N. Maior UPP foi verificada na dose de 35 kg de N/ha para EMBRAPA 22 e na dose de 105 kg de N/ha para UFVT 1-Pioneiro. O efeito da dose de N sobre a UPP já foi constatado (JOHANSSON et al., 2008), em que maior UPP foi encontrada para a dose mais alta de N.

A cultivar EMBRAPA 22 teve com 105 kg de N/ha maior UPP e teor de proteína. Geralmente, o conteúdo de proteínas de reserva é maior com um maior teor de proteína bruta, sendo assim, maior também o conteúdo das subunidades de glutenina (LABUSCHAGNE et al., 2006).

Diferença na extratibilidade de proteínas poliméricas em diferentes variedades pode ser atribuída a diferenças no grau de polimerização, resultante da disponibilidade de resíduos de cisteínas. Quanto maior a disponibilidade de resíduos de cisteínas, mais as proteínas polimerizam, aumentam seu tamanho e tornam-se insolúveis (DON et al, 2005).

O maior teor de proteína para a cultivar EMBRAPA 22 comparado à UFVT 1-Pioneiro, foi acompanhado por maiores PPPF, UPP e UPPF, indicando bons parâmetros de qualidade de panificação para esta cultivar, justificados pela dependência das propriedades da massa em relação às proteínas poliméricas, especificamente as HMW-GS. A relação inversa entre a extratibilidade e a massa

molecular das proteínas poliméricas inclui as HMW-GS, insolúveis em SDS, como a principal fração das proteínas poliméricas não extraíveis (GUPTA et al., 1993).

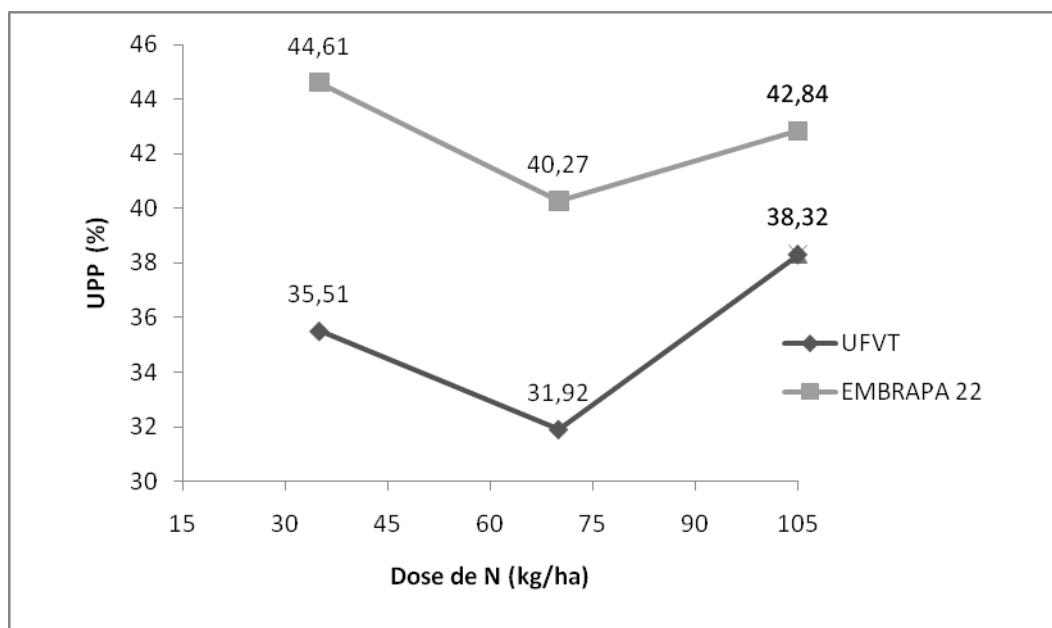


Figura 10 – Variação de UPP (%) com a dose de nitrogênio.

Além do efeito da cultivar, já comentado, as doses de nitrogênio exerceram influência sobre PPPF e UPPF, para as quais a dose de 105 kg de N/ha apresentou maior valor (Figura 11). Com isso, o teor de proteína, PPPF, UPP e UPPF remetem a relação entre seus valores, tendo todos apresentado maior resposta com a dose mais elevada de N. Assim, o aumento da dose de N é recomendável ao conteúdo relativo de proteína polimérica total e de proteína polimérica não extraível na farinha de trigo, independente da fonte de N.

A distribuição da massa molecular das proteínas formadoras do glúten, expressa pela relação GLI:GLU, foi afetada pela cultivar, com menor valor para UFVT 1-Pioneiro (Tabela 7). Quanto menor a proporção GLI:GLU maior a contribuição das proteínas poliméricas (gluteninas), o que leva à proposição de melhor resposta do ponto de vista tecnológico, uma vez que gluteninas são consideradas as principais responsáveis pelas propriedades de panificação em função das ligações intermoleculares que realizam. As gliadinas atuam como “solventes” para as gluteninas; alta proporção GLI:GLU leva a uma massa mais viscosa (WIESAR e KIEFFER, 2001). Assim, a distribuição de massa molecular observada para as proteínas de reserva da UFVT 1-Pioneiro parece favorecer a qualidade tecnológica do trigo para panificação.

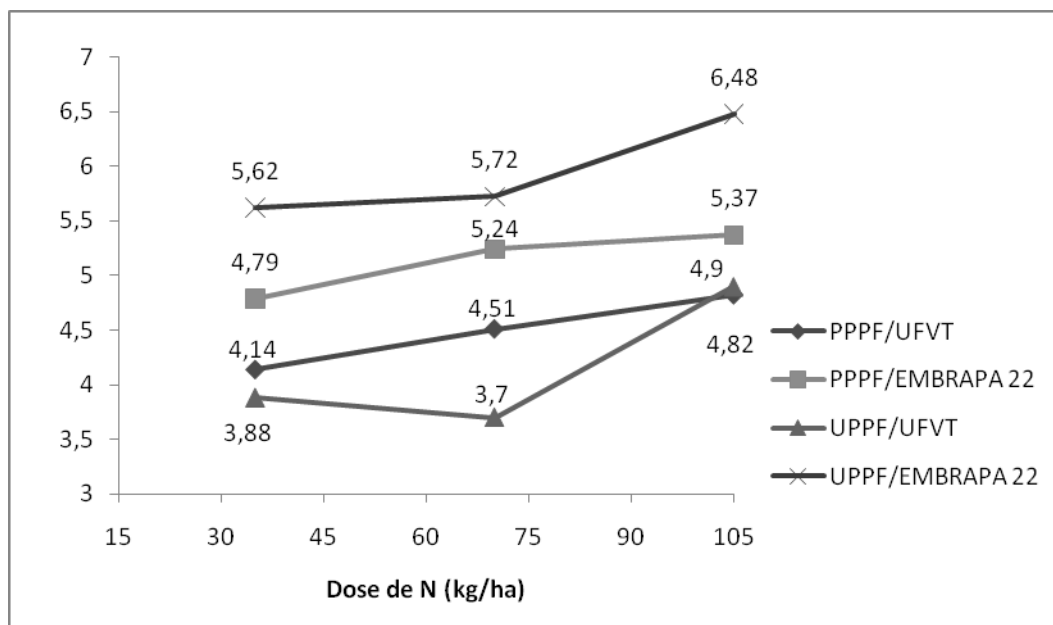


Figura 11 – PPPF(%) e UPPF (%) em função da dose de nitrogênio

Apesar da dose de nitrogênio não ter promovido diferença na relação GLI:GLU, muitos estudos têm mostrado que o aumento de nitrogênio no grão está associado com o aumento na proporção de gliadinas e tem efeito negativo na qualidade protéica por aumentar esta proporção. No entanto, ressaltam que este efeito pode diferir entre cultivares (KINDRED et al., 2010; GODFREY et al., 2010). Johansson et al. (2008) tiveram menor GLI:GLU associada à dose mais elevada de fertilizante nitrogenado. Acredita-se, nestas circunstâncias, que a distribuição de massa molecular foi determinada pelos fatores genéticos antes que pelos ambientais (adubação nitrogenada).

4.3.4. Teste de panificação

Os resultados do teste de panificação, dados pelo escore global, o volume (cm^3) e o volume específico (cm^3/g) são mostrados nas Figuras 13, 14 e 15.

A interação entre cultivar e dose de N foi significativa ($p < 0,05$) para escore global. Desta, observou-se para a cultivar EMBRAPA 22 uma redução no escore quando a dose aumentou de 35 para 70 kg de N/ha e um ligeiro aumento desta para 105 kg de N/ha. Quanto à cultivar UFVT 1 Pioneiro, houve uma redução no escore com o aumento da dose de N. Pelos escores atribuídos, os pães elaborados com farinha de trigo da cultivar UFVT 1-Pioneiro foram de qualidade superior aos da cultivar EMBRAPA 22 com as doses de 35 e 70 kg de N/ha, invertendo esse comportamento entre as cultivares com a dose de 105 kg de N/ha (Figura 13).

Embora as cultivares tenham apresentado tendências de comportamento distintas quanto ao efeito da dose de N no escore global, para ambas as cultivares o trato com metade da dose normal de N correspondeu a pães com melhores características (Figura 13).

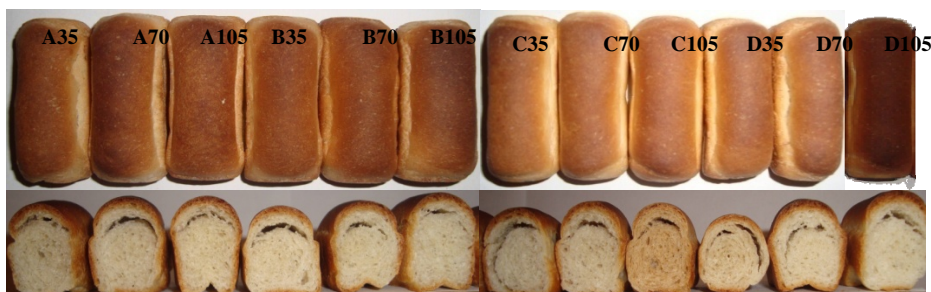


Figura 12 - Aspectos da crosta e do miolo dos pães elaborados com farinha de trigo tratado com ureia e sulfato de amônio. A - EMBRAPA 22/Ureia; B - EMBRAPA 22/Sulfato de Amônio; C - UFVT 1-Pioneiro/Ureia; D - UFVT 1-Pioneiro/Sulfato de Amônio.

As características dos pães não foram melhores com o aumento no teor de proteínas na farinha, o qual foi tanto maior quanto maior a dose de N. A porcentagem de proteína polimérica não extraível (UPP), de UPPF e PPPF não explicam o escore global dos pães, já que maior conteúdo relativo dessas frações de proteínas não coincidiu com o melhor escore.

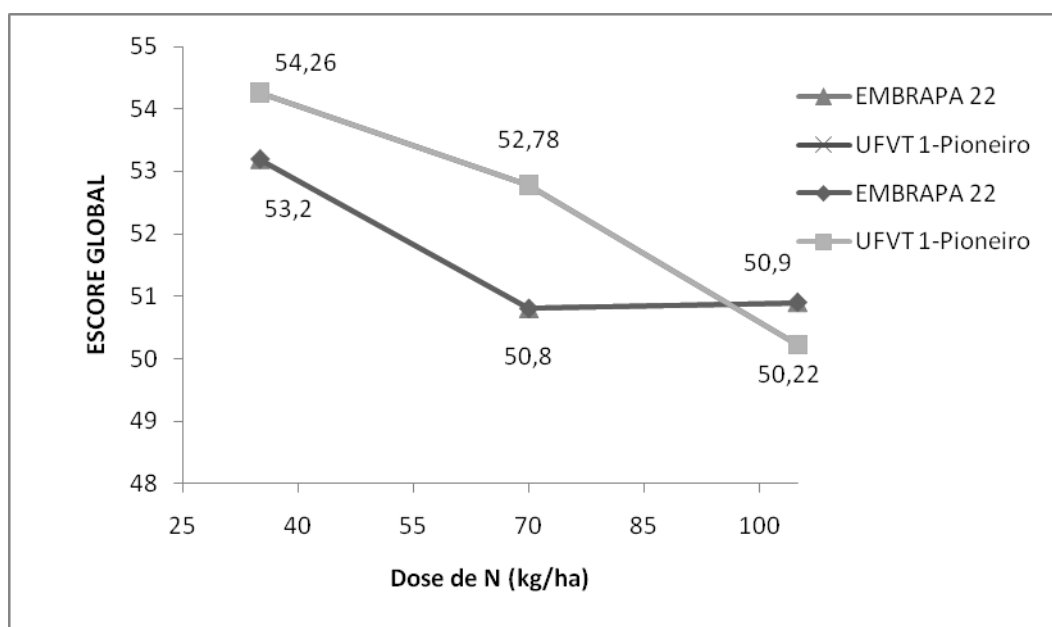


Figura 13 – Variação do escore global em função da dose de nitrogênio para as cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro.

Para o escore global foi também significativo ($p < 0,05$) o efeito da interação entre cultivar e fonte de nitrogênio. Maior escore (53,1) foi verificado para os pães elaborados com farinha trigo da cultivar UFVT 1-Pioneiro fertilizado com ureia. No geral, os pães com farinha de trigo da EMBRAPA 22, tanto com ureia quanto com sulfato de amônio, foram menos apreciados do que aqueles com farinha da UFVT 1-Pioneiro (Figura 14).

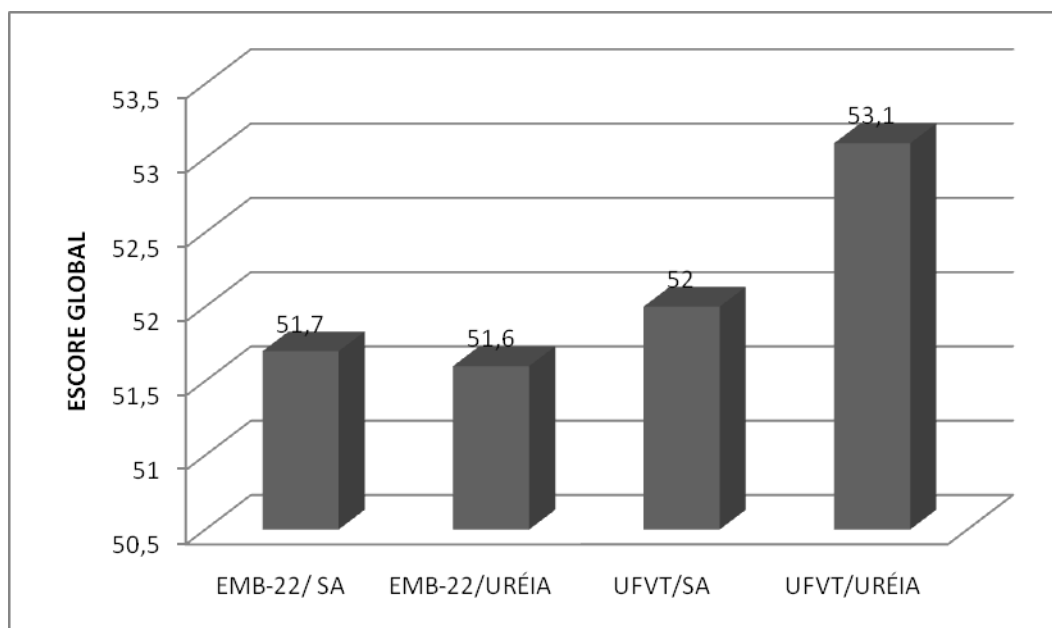


Figura 14 – Variação do escore global em função da dose de nitrogênio para as cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro.

O volume e volume específico dos pães não foram afetados pela dose de N ($p > 0,05$), embora possa observar uma tendência de aumento com o aumento da dose. Por outro lado, a interação cultivar e fonte de N foi significativa ($p < 0,05$). Tanto para a cultivar EMBRAPA 22, quanto para a UFVT 1-Pioneiro, o uso de sulfato de amônio contribui para maiores resultados, ainda que UFVT 1-Pioneiro tenha resultado em pães com maior volume ($29,7 \text{ cm}^3$) e volume específico ($3,9 \text{ cm}^3/\text{g}$) (Figura 15).

Dos resultados, o volume dos pães não teve relação consistente com o escore recebido. A cultivar UFVT 1-Pioneiro apresentou maior escore global e maior volume e volume específico, no entanto, sob utilização de fontes de N distintas. Pães com melhor escore não tiveram correspondência com maior volume.

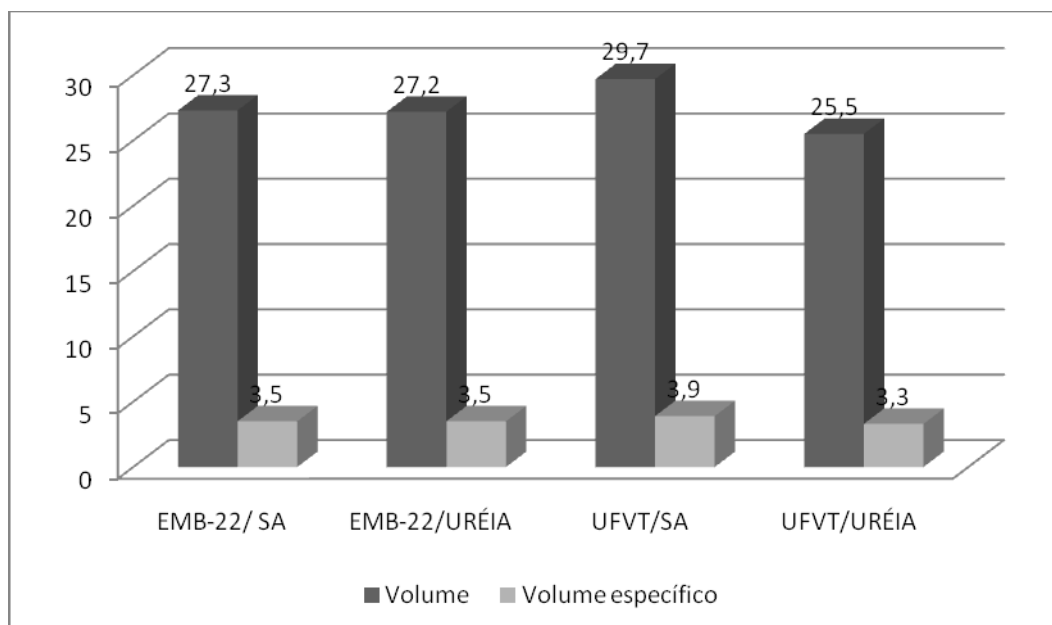


Figura 15 – Volume e volume específico dos pães em função da cultivar e fonte de nitrogênio

Estudo anterior mostra que a qualidade de panificação do trigo foi melhor com a aplicação de enxofre, mostrando alta correlação entre o volume e o conteúdo de enxofre do grão (SINGH, 2003 citado por JÄRVAN et al., 2008). Estudos (ZHAO et al., 1999c) mostraram também que a qualidade de panificação correlacionou mais com a concentração de enxofre no grão do que com a concentração de nitrogênio. Segundo Järvan et al. (2008), o volume dos pães feitos com farinha de trigo que foi fertilizado apenas com nitrogênio foi inferior ao daqueles feitos com farinha de trigo fertilizado com enxofre e nitrogênio.

O teor de proteína bruta na farinha de trigo provocou variação nos escores e no volume. As proteínas poliméricas, em especial, devem ser mais influentes nas características de qualidade dos pães do que o total de proteína, possivelmente refletida pela força da massa a elas associada.

Os resultados de panificação não tiveram relação concisa com os valores de PPP, PPPF, UPP e UPPF. Enquanto a cultivar UFVT 1-Pioneiro apresentou melhor escore, EMBRAPA 22 teve as maiores porcentagens relativas de proteínas poliméricas. Quanto à dose de N, melhores escores foram obtidos na dose de 35 kg de N/ha, já UPP, PPF e UPPF foram maiores na dose de 105 kg de N/ha (exceto UPP da cultivar EMBRAPA 22).

UPP tem mais expressiva correlação com a força da massa do que PPP (GUPTA et al., 1993), ainda que seus resultados não tenham fornecido

embasamento para explicar a qualidade dos pães aqui avaliados. De qualquer forma, não é possível afirmar em relação à cultivar UFVT 1-Pioneiro fertilizada com sulfato de amônio (maior volume e volume específico) que a resposta do volume foi em função de maior força da massa, já que UPP foi superior para a EMBRAPA 22.

Por fim, considera-se que as HMW-GS expressas pelos genes do GLU-1 para as cultivares UFVT 1-Pioneiro e EMBRAPA 22, sobretudo a 5+10, adicional ao escore que as classificam como de qualidade para panificação, foram fatores de contribuição positiva para escore global e volume específico dos pães.

5. CONCLUSÕES

Nestas condições experimentais foi possível concluir:

ÉPOCA 1

- A resposta das cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro em relação à fonte de nitrogênio foi verificada para o teor de proteínas e PPP. Fertilização com sulfato de amônio resultou em farinha com maior teor protéico, enquanto maior conteúdo relativo de proteína polimérica total (PPP) foi obtido com a aplicação uréia.
- As subunidades de gluteninas de alta massa molecular (HMW-GS) identificadas para EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro não foram alteradas pelas condições de adubação, fonte e dose de nitrogênio.
- As frações UPP, UPPF, PPPF e a relação GLI:GLU não tiveram seus valores afetados por nenhuma das variáveis.
- Os escores para os pães, no geral, revelaram qualidade satisfatória. Pães com melhores características internas e externas foram obtidos com farinha de trigo da cultivar UFVT 1-Pioneiro fertilizado com ureia na dose mais elevada de nitrogênio. O conteúdo total de proteína, UPP e distribuição de massa molecular das proteínas de reserva não justificaram as variações observadas na qualidade de panificação.
- As doses de nitrogênio, tanto uréia quanto como sulfato de amônio, não tiveram efeito sobre a composição das proteínas do endosperma. Escore global e volume específico dos pães foram melhores com a maior dose de nitrogênio;

ÉPOCA 2

- O efeito da dose de N e da cultivar foram confirmados para o teor de proteína, UPP, UPPF, PPPF e escore global.
- As cultivares EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro responderam diferentemente às fontes de N, uréia e sulfato de amônio, para escore global, volume e volume específico. UFVT 1-Pioneiro teve melhores resultados, sendo com ureia para escore global e sulfato de amônio para volume e volume específico.
- A cultivar EMBRAPA 22 apresentou melhor conteúdo protéico expresso pelo maior teor de proteínas e maior PPPF, UPP e UPPF. Enquanto melhor

distribuição de massa molecular (GLI:GLU) para panificação esteve associada à cultivar UFVT 1-Pioneiro.

- As subunidades de gluteninas de alta massa molecular (HMW-GS) identificadas para EMBRAPA 22 e UFVT 1-Pioneiro não foram alteradas pelas condições de adubação, fonte e dose de nitrogênio.
- O desempenho de panificação variou entre cultivares e fonte de nitrogênio. No entanto, escore global e volume não tiveram associação entre si. As proteínas poliméricas e a distribuição de massa molecular não justificaram as variações observadas na qualidade de panificação.

Geral:

Mais estudos serão necessários para que se possa definir a melhor fonte e dose de nitrogênio a fim de obter trigo e farinha de trigo com melhor qualidade de panificação.

Sugestões:

- Avaliação do efeito da adubação na composição de nitrogênio e enxofre dos grãos e da farinha de trigo.
- Avaliação da composição de aminoácidos na farinha de trigo.
- Avaliação das propriedades reológicas da massa.

6. BIBLIOGRAFIA

AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved Methods**. 10th ed. St. Paul, Minnesota, 2000.

AACC - AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved Methods**. 9th ed. St. Paul, 1995.

ABIMA – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE MASSAS ALIMENTÍCIAS. Mercado de Trigo: **produção e consumo de trigo**. Disponível em: <http://www.abima.com.br/est_mtrigo.asp>. Acesso em 27 jun. 2010.

ALBRECHT, J. C.; SILVA, M. S.; ANDRADE, J. M. V.; SOARES SOBRINHO, J.; SOUSA, C. N. A.; SOUZA, M. A.; BRAZ, A. J. B. P.; RIBEIRO JÚNIOR, W. Q.; TRINDADE, M. G.; YAMANAKA, H. C. **EMBRAPA 22: cultivar de trigo irrigado para Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso, Bahia e Distrito Federal, Planaltina, DF: Embrapa Cerrados**, 2006. 16 p.

ANDRADE, J. M. V.; ALBRECHT, J. C.; SOUSA, C. N. A.; BRAZ, A. J. B. P. **EMBRAPA 22: nova cultivar de trigo para Minas Gerais, Goiás e Distrito Federal. Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 34, n. 4, Apr. 1999.

AOAC – ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16th ed. Washington: Wovirtz, W., 1995.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. **Regras para Análise de Sementes**. Brasília, 1992. 365p.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 8 de 2 de junho de 2005. Aprova o regulamento técnico de identidade e qualidade da farinha de trigo Diário **Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, 3 de junho de 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). **Produção mundial de grãos aumenta em quase 5%**, jan. 2009. Disponível em: <http://www.fomezero.gov.br/noticias/producao-mundial-de-graos-aumenta-em-quase-5>. Acesso em: 22 fev. 2010.

BRAZ, A. J. B. P. e BRAGA, F. M. Avaliação de cultivares e linhagens do ensaio do centro brasileiro de trigo irrigado. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE TRIGO, 18., 1997, Rio Verde. **Anais...** Passo Fundo: Embrapa Trigo, 1997.

CAMARGO, C. R. O. e CAMARGO, C. E. O. Trigo: avaliação tecnológica de novas linhagens. **Bragantia**, Campinas, v. 46, n. 2, p. 169-181. 1987.

CARNEIRO, L.M.T.A.; BIAGI, J. M.; FREITAS, J. G.; CARNEIRO, M.C.; FELÍCIO, J. C. Diferentes épocas de colheita, secagem e armazenamento na qualidade de grãos de trigo comum e duro. **Bragantia**, v.64, n.1, p.127-137. 2005.

CAZETTA, D. A.; FORNASIERI FILHO, D.; ARF, O.; GERMANI, R. Qualidade industrial de cultivares de trigo e triticales submetidos à adubação nitrogenada no sistema de plantio direto. **Bragantia**, .V. 67, n.3, p. 741-750. 2008.

COELHO, M. A. O.; SOUZA, M. A.; SEDIYAMA, T.; RIBEIRO, A. C.; SEDIYAMA, C. S. Resposta da produtividade de grãos e outras características agrônômicas do trigo EMBRAPA 22 irrigado ao nitrogênio em cobertura. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, Viçosa, v.22, n.3, p.555-561. 1998.

DON, C.; LOOKHART, G.; NAEEM, H.; MACRITCHIE, F.; HAMER, R. J. Heat stress and genotype affect the glutenin particles of the glutenin macropolymer- gel fraction. **Journal of Cereal Science**, v.42,p. 69-80. 2005.

DuPONT, F. M.; ALTERBACH, S. B. Molecular and biochemical impacts of environmental factors on wheat grain development and protein synthesis. **Journal of Cereal Science**, v. 38, p. 133-146, 2003.

DuPONT, F.M. CHAN,R.; LOPEZ, R.; VENSEL, W. H. Sequential extraction and quantitative recovery of gliadins, glutenins, and other proteins from small samples of wheat flour. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** , v. 53, p. 1575–1584. 2005.

FISICHELLA, S.; ALBERGHINA, G.; AMATO, M. E.; LAFIANDRA, D.; MANTARRO, D.; PALERMO, A.; SAVARINO, A.; SCARLATA, G. Purification of wheat flour high-Mr glutenin subunits by Reactive Red 120-Agarose and reactive yellow 86-Agarose resins. **Journal of Cereal Science**, v. 38, p. 77–85. 2003.

FÆRGESTAD, E. M.; MOLTEBERG, E. L.; MAGNUS, E. M. Interrelationships of protein composition, protein level, baking process and the characteristics of hearth bread and pan bread. **Journal of Cereal Science**, v. 31, p. 309–320. 2000.

FLÆTE, N.E.S.; HOLLUNG, K.; RUUD, L.; SOGNA, T.; FÆRGESTAD, E.M.; SKARPEIDB, H.J.; MAGNUS, E.M.; UHLEN, A.K. Combined nitrogen and sulphur fertilisation and its effect on wheat quality and protein composition measured by SE-FPLC and proteomics. **Journal of Cereal Science**, v. 41, p. 357–369. 2005.

GIANIBELLI, M.C.; LARROQUE, O.R.; MACRITCHIE, F.; WRIGLEY, C.W. Biochemical, genetic, and molecular characterization of wheat, endosperm proteins, **Cereal Chemistry**,v.78, pp. 635–646. 2001.

GODFREY, D.; MALCOLM, J.H.; POWERS, S.J.; MILLAR,,S.; SHEWRY, P. Effects of Crop Nutrition on Wheat Grain Composition and End Use Quality. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 3012–3021. 2010.

GRAYBOSCH; R. A.; PETERSON, C. J.; BAENZIGER, P. S.; SHELTON, D. R. Environmental modification of hard red winter wheat flour protein composition. **Journal of Cereal Science**, v. 22, p. 45–51. 1995.

GRAYBOSCH, R.A., PETERSON, C.J., SHELTON, D.R., BAENZIGER, P.S. Genotypic and environmental modification of wheat flour protein composition in relation to end-quality. **Crop Science**, v. 36, p. 296–300. 1996.

GROVE, H.; HOLLUNG, K.; MOLDESTAD, A.; FÆRGESTAD, A. M.; UHLEN, A. K. Proteome changes in wheat subjected to different nitrogen and sulfur fertilizations. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 57, 4250–4258. 2009.

GUARIENTI, E. M. **Qualidade industrial do trigo**. Passo Fundo: EMBRAPA/CNPT, 1993. 27p. (EMBRAPA – CNPT Documentos, 8).

GUARIENTI, E. M. **Qualidade industrial de trigo**. Passo Fundo: Embrapa-CNPT, 1996. 36 p.

GUPTA, R.B., BATEY, I.L., MACRITCHIE, F. Relationships between protein composition and functional properties of wheat flours. **Cereal Chemistry**, v. 69, p. 125–131, 1992.

GUPTA RB, KHAN K, MACRITCHIE F. Biochemical basis of flour properties in bread wheats. I. Effects of variation in quantity and size distribution of polymeric protein. **Journal of Cereal Science**, v.17, p. 23-41. 1993.

GUPTA, R. B.; MacRITCHIE, F. Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, *Glu-1*, *Glu-3* and *Gli-1* of common wheats. II. Biochemical basis of the allelic effects on dough properties. **Journal of Cereal Science**, v.19, p. 19-29. 1994.

GUTKOSKI, L. C., ANTUNES, E., ROMAN, I. T. Avaliação do grau de extração de farinhas de trigo e de milho em moinho tipo colonial. **Boletim Ceppa**, Curitiba, v.17, n.2, p.153-166, 1999.

GUTKOSKI, L. C.; KLEIN, B.; PAGNUSSATT, F. A.; PEDÓ, I.. Desenvolvimento de barras de cereais à base de aveia com alto teor de fibra alimentar. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 02, p. 355-363, 2007.

HARASZI, R.; LARROQUE O. R.; BUTOW B. J.; GALE K. R.; BEKES F. Differential mixing action effect on functional properties and polymeric protein size distribution of wheat dough. **Journal of Cereal Science**, v. 47, p.41–51. 2008.

JACKSON, E.A., HOLT, L.M. AND PAYNE, P.E. Characterisation of high molecular weight gliadin and lowmolecular- weight glutenin subunits of wheat endosperm by two-dimensional electrophoresis and the chromosomal location of their controlling genes. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 66 , p. 29-37. 1983.

JÄRVAN, M.; EDESI, L.; ADAMSON, A.; , LUKME, L.; AKK, A. The effect of sulphur fertilization on yield, quality of protein and baking properties of winter wheat. **Agronomy Research**, v. 6, n. 2, p. 459–469. 2008.

JOHANSSON, E. e SVENSSON G. Influences of yearly weather variation and fertilizer rate on bread-making quality in Swedish grown wheats containing HMW glutenin subunits 2+12 or 5+10 cultivated during the period 1990–96. **Journal Agricultural Science**, v.132, p.13–22. 1999.

JOHANSSON, E.; PRIETO-LINDE, M. L. e GISSÉN, C. Influences of weather, cultivar and fertiliser rate on grain protein polymer accumulation in field-grown winter wheat, and relations to grain water content and falling number. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n.11, p. 2011–2018. 2008.

KASARDA, D. D. Glutenin polymers: The in vitro to in vivo transition. **Cereal Foods World**, v. 44, p. 566-571. 1999.

KINDRED, D. R.; VERHOEVEN, T. M. O.; WEIGHTMAN, R. M.; SWANSTON, J. S.; AGU, R. C.; BROSNAN, J. M.; SYLVESTER-BRADLEY, R. Effects of variety and fertiliser nitrogen on alcohol yield, grain yield, starch and protein content, and protein composition of winter wheat. **Journal Cereal Science**, v. 48, p. 46–57. 2008.

KÖHLER, P.; KECK-GASSENMEIER, B.; WIESER, H.; KASARDA, D. D. Molecular modeling of the N-terminal regions of high molecular weight glutenin subunits 7 and 5 in relation to intramolecular disulfide bond formation. **Cereal Chemistry**, v. 74, p.154–158. 1997.

KUKTAITE R, LARSSON H.; JOHANSSON E. Variation in protein composition of wheat flour and its relationship to dough mixing behaviour. **Journal Cereal Science**, v.40, p.31–39. 2004.

LABUSCHAGNE, M.T.; MEINTJES, G.; GROENEWALD, F. P. C. The influence of different nitrogen treatments on the size distribution of protein fractions in hard and soft wheat. **Journal of Cereal Science**, v.43, p. 315-321. 2006.

LINDSAY, M. P. e SKERRITT, J. H. The glutenin macropolymer of wheat flour dough: Structure-function perspectives. **Trends Food Science Technology**, v. 10, p. 247-253. 1999.

MacRITCHIE, F. e LAFIANDRA, D. 'Structure-function Relationships of Wheat Proteins' in **Food Proteins and their Applications** (Damodaran, S. and Paraf, A., eds), pp. 293–324, Marcel Dekker, Inc., New York. 1997.

MANDARINO, J.M.G. Aspectos importantes para a qualidade do trigo. Londrina: EMBRAPA/CNPSo, 1993. 32p. (EMBRAPA/ CNPSo. Documentos, 60).

MEGDA, M. M.; BUZETTI, S.; ANDREOTTI, M.; TEIXEIRA FILHO, M. M. C. VIEIRA, M. X. Resposta de cultivares de trigo ao nitrogênio em relação às fontes e épocas de aplicação sob plantio direto e irrigação por aspersão. **Ciência e Agrotectenologia**, Lavras, v. 33, n. 4, p. 1055-1060, jul./ago. 2009.

OLESEN, J.E., L.N. JORGENSEN, J. PETERSEN, J.V. MORTENSEN. Effects of rate and timing of nitrogen fertilizer on disease control by fungicides in winter wheat. I. Grain yield and foliar disease control. **Journal Agricultural Science**, v.140, p. 1–13. 2003.

OSBORNE, T. B. The protein of the wheat kernel. Publication No. 84. Carnegie Institute: Washington, DC. 1907.

PAYNE, P.I. e CORFIELD, K.G. Subunit composition of glutenin proteins, isolated by gel filtration in a dissociating medium. **Planta**, v. 145. 1979.

PAYNE, P.I., Endosperm proteins. In: BLENSTEIN, A.D., KING, P.J. (Eds.), *Plant Gene Research: a Genetic Approach to Plant Biochemistry*, Springer, New York, pp. 207–301, 1986.

PAYNE, P.I., SEEKINGS, J.A., WORLAND, A.J., JARVIS, M.G., HOLT, L.M. Allelic variation of glutenin subunits and gliadins and its effect on breadmaking quality in wheat: Analysis of F5 progeny from Chinese Spring × Chinese Spring (Hope 1A). **Journal of Cereal Science**, v.6, p. 103–118. 1987.

PIROZI, M. R.; B. MARGIOTTA, D. LAFIANDRA; F. MacRITCHIE. Composition of polymeric proteins and bread-making quality of wheat lines with allelic HMW-GS differing in number of cysteines. **Journal of Cereal Science**, v. 48, n. 1, p. 117-122, Jul. 2008.

PODLESNA, A. e CACAK-PIETRZAK, G. Effects of Fertilization with Sulfur on Quality of Winter Wheat. In Khan, A. N., Singh, S. e Umar, S. (eds.): **Sulfur Assimilation and Abiotic Stress in Plants**, Springer Berlin Heidelberg, p. 355–365.2008.

POMERANZ, Y. **Modern cereal science and technology**. New York: VHC, 1987. 486p.

PROPAN - PROGRAMA DE APOIO A PANIFICAÇÃO. **Indicadores 2009**. Disponível em: <<http://www.propan.com.br/noticia.php?id=431>>. Acesso em 23 jul. 2010.

RIBEIRO JÚNIOR, W. Q.; RAMOS, M. L. G.; AMÁBILE, R. F.; FERRAZ, D. M. M.; CARVALHO, A. M. de; CARVALHO, J. G.; ALBRECHT, J. C.; SÓ E SILVA, M.; GUERRA, A. F. **Efeito da fertirrigação nitrogenada no rendimento de grãos de genótipos de trigo, no cerrado**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 17 p. HTML (Embrapa Trigo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento Online, 50). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/bp/p_bp50.htm>. Acesso em 12 jul. de 2010.

ROSSI, R. M. e NEVES, M. F. **Estratégias para o trigo no Brasil**. São Paulo: Atlas S/A, 2004.

RUBIO, A. I.; MACHRITCHIE, F.; GANDIKOTA, S.; HOU, G. Relaciones de La composición proteínica y mediciones reológicas em masa com La calidade panadera de harinas de trigo. **Revista Fitotecnia Mexicana**, v. 28, n. 3, p. 243-251. 2005.

RUITER, J.M. e MARTIN R.J. Management of nitrogen and sulphur fertiliser for improved bread wheat (*Triticum aestivum*) quality. **New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science**, v.29, p.287–299. 2001.

SAITO, K. Regulation of sulfate transport and synthesis of sulfur-containing amino acids. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 3, p.188–195. 2000.

SANTOS, L. S. **Perfil protéico e qualidade de panificação em linhagens de trigo desenvolvidas para a região do cerrado brasileiro**. 2008, 65p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2008.

SHEWRY, P.R., NAPIER, J.A., TATHAM, A.S. Seed storage proteins: structures and biosynthesis. **Plant Cell**, v. 7, p. 945–956. 1995.

SILVA, M.; ANDRADE, J. M. V.; ALBRECHT, J. C.; SOBRINHO, J. S.; CANOVAS, A. **No Brasil central também dá trigo**. 2001. Disponível em: <<http://www.portaldoagronegocio.com.br/conteudo.php?id=22960>>. Acesso em 28 jun. 2010.

SINGH, H. e MACRITCHIE, F. Application of polymer J.A. Correlations between the inheritance of certain high molecular weight subunits of glutenin and bread-making science to properties of gluten. **Journal of Cereal Science**, v. 33, p. 231–243. 2001.

SINGH, J. e SKERRITT, J. Chromosomal control of albumins and globulins in wheat grain assessed using different fractionation procedures. **Journal of Cereal Science**, v. 33, p. 163-181. 2001.

SMANHOTTO, A; NÓBREGA, L. H. P.; OPAZO, M. A. U.; PRIOR, M. Características físicas e fisiológicas na qualidade industrial de cultivares e linhagens de trigo e triticale. **Revista Brasileira Engenharia Agrícola Ambiental**, Campina Grande, v.10, n.4, p.867-872. 2006.

SOARES SOBRINHO, J. **Efeito de doses de nitrogênio e de lâminas de água sobre as características agrônômicas e industriais em duas cultivares de trigo (*Triticum aestivum* L.)**. 102p. Tese (Doutorado em Produção Vegetal) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 1999.

SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E. Adubação com nitrogênio. In: SOUSA, D.M.G.; LOBATO, E. (Ed.). **Cerrado: correção do solo e adubação**. 2.ed. Brasília: Embrapa Cerrados, 2004. p.129-146.

SVEÈNJAK, Z.; BUJAN, M.; VEDRINA DRAGOJEVIÆ, I.; VITAL, D.; ÈEBUŠNIK, A.; JENEL, M. Nitrogen and phosphorus content, hectoliter weight and yield variations of wheat grain as affected by cropping intensity. **Agriculturae Conspectus Scientificus**, v. 72, n. 3, p. 251-255. 2007.

SZENTPETERY, Z., JOLANKAI M., KLEINHEINCS C., SZOLLOSI G. Effect of nitrogen top-dressing on winter wheat. **Cereal Research Commun.** v. 33, p.619–626. 2005.

TEA, I.; GENTER, T.; NAULET, N.; LUMMERZHEIM, M.; KLEIBER, D. Interaction between nitrogen and sulfur by foliar application and its effects on flour bread-making quality. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 87, p. 2853–2859, 2007.

TRINDADE, M.G.; STONE, L.F.; HEINEMANN, A.B.; CÃNOVAS, A.D.; OREIRA, J.A.A. Nitrogênio e água como fatores de produtividade do trigo no cerrado. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.10, n.1, p.24-29, 2006.

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE **Foreign Agricultural Service - World Crop Production Summary**, 2009. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdreport.aspx?hidReportRetrievalName=BVSeh>>

idReportRetrievalID=425ehidReportRetrievalTemplateID=2>. Acesso em: 22 fev. 2010.

VIEIRA, R. D.; FORNASIERI FILHO, D.; MINOHARA, L.; BERGAMASCHI, M. C. M. Efeito de doses e de épocas de aplicação de nitrogênio em cobertura na produção e na qualidade fisiológica de sementes de trigo. **Científica**, São Paulo, v.23, n.2, p.257-264. 1995.

WEEGELS, P.L., VAN DE PIJPEKAMP, A.M., GRAVELAND, A., HAMER, R.J., SCHOFIELD, J.D. Depolymerisation and repolymerisation of wheat gluten during dough processing. 1. Relationships between GMP content and quality parameters. **Journal of Cereal Science**, v. 23, p. 103–111. 1996.

WIESER, H., KIEFFER, R. Correlations of the amount of gluten protein types to the technological properties of wheat flours determined on a micro-scale. **Journal of Cereal Science**, v. 34, p. 19-27. 2001.

WIESER, H. e ZIMMERMANN, G. Importance of amounts and proportions of high molecular weight subunits of glutenin for wheat quality. **European Food Research and Technology**, v.210, p. 324–330. 2000.

WIESER, H.; GUTSER, R.; VON TUCHER, S. Influence of sulphur fertilization on quantities and proportions of gluten protein types in wheat flour. **Journal Cereal Science**, v. 40, p. 239–244. 2004.

WILLIAMS, P.; EL-HARAMEIN, F. J.; NAKKOUL, H.; RIHAWI, S. **Crop quality evaluation methods and guidelines**. 2.ed. Aleppo, Syria: ICARDA, 1988. 145p.

YAN, Y.; JIANG, Y.; SUN, M.; YU, J.; XIAO, Y.; ZHENG, J.; HU, Y.; CAI, M.; LI, Y.; HSAM, S. L. K.; ZELLER, F. J. Rapid identification of HMW glutenin subunits from different hexaploid wheat species by acidic capillary electrophoresis. **Cereal Chemistry**, v. 81, p. 561–566. 2004.

YANO, G. T.; TAKAHASHI, H. W.; WATANABE, T.S. Avaliação de fontes de nitrogênio e épocas de aplicação em cobertura para o cultivo do trigo. **Ciências Agrárias**, Londrina, v.26, n.2, p.141-148. 2005.

ZAGONEL J.; VENÂNCIO, W. S.; KUNZ, R. P.; TANAMATI, H. Doses de nitrogênio e densidades de plantas com e sem regulador de crescimento afetando o trigo, Cultivar OR-1. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.1, p.25-29. 2002.

ZANATTA, A. C. A.; SILVA, S. D. dos A. e; MILANI, W.; LUZA, J.; ARENDT, P. **Uso de marcadores protéicos na seleção de trigo (*Triticum aestivum* L. em. Thell.) com qualidade tecnológica superior na Embrapa Trigo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. 6 p. html. (Embrapa Trigo. Comunicado técnico online, 85). Disponível em: <http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/p_co85.htm>. Acesso em: 26 jul. 2010.

ZHAO, F.J.; WITHERS, P.J.A.; SALMON, S.E.; EVANS, E.J.; BARRO, F.; ROOKE, L.; BEKES, F.; GRAS, P.; TATHAM, A.S.; SHEWRY, P.R.; McGRATH, S.P. Sulphur nutrition: An factor for the quality of wheat and rapeseed. **Soil Science and Plant Nutrition**, v. 43, p. 1137-1142. 1997.

ZHAO, F. J.; HAWKESFORD, M. J.; MCGRATH, S. P. Sulphur assimilation and effects on yield and quality of wheat. **Journal of Cereal Science**, v. 30, n.1, p. 1–17.1999a.

ZHAO, F. J.; SALMON, S. E.; WITHERS, P. J. A.; MONAGHAN, J. M.; EVANS, E. J.; SHEWRY, P. R.; MCGRATH, S. P. Variation in the breadmaking quality and rheological properties of wheat in relation to sulphur nutrition under field conditions. **Journal of Cereal Science**, v. 30, p. 19–31. 1999b.

ZHAO, F.J., SALMON, S.E., WITHERS, P.J.A., EVANS, E.J., MONAGAN, J.M., SHEWRY, P.R., MC GRATH, S.P. Responses of breadmaking quality to sulphur in three wheat varieties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, p. 1865–1874. 1999c.

ANEXO 1: Quantidade de farinha de trigo e água utilizados na formulação dos pães.

Época	Cultivar	Fonte N	Dose N	Bloco	Umidade (%)	Proteína bruta (%bu)	Farinha (g)	Água (mL)
1	EMB-22	UREIA	35	1	11,12	10,30	33,82	18,8
				2	9,08	11,95	33,08	20,2
			70	1	12,97	10,58	34,20	18,7
				2	13,72	10,85	34,60	19,2
			105	1	13,68	8,50	34,60	17,5
				2	10,65	8,84	33,44	18,6
		SULFATO DE AMÔNIO	35	1	11,57	10,87	34,05	19,2
				2	12,07	10,16	34,20	19,4
			70	1	12,13	12,69	34,20	19,7
				2	11,39	10,48	33,82	19,5
			105	1	11,04	13,30	33,82	20,3
				2	11,93	13,46	33,82	20,9
	UFVT	UREIA	35	1	11,64	8,42	33,82	17,8
				2	12,08	9,75	34,20	18,9
			70	1	11,45	10,13	33,82	18,8
				2	12,47	9,38	34,20	18,9
			105	1	11,48	10,39	33,82	18,8
				2	11,72	12,02	33,82	20,4
		SULFATO DE AMÔNIO	35	1	11,96	8,43	33,82	17,8
				2	11,44	12,14	33,82	20,4
			70	1	12,41	9,18	34,20	18,2
				2	12,26	10,89	34,20	19,4
			105	1	13,16	10,05	34,60	18,5
				2	11,83	10,82	33,82	19,5
2	EMB-22	UREIA	35	1	11,25	13,82	33,82	20,9
				2	10,19	12,71	33,44	20,5
			70	3	9,58	13,19	33,08	21,1
				1	12,66	14,35	34,20	21,4
				2	11,47	14,52	33,82	21,4
				3	12,47	14,76	34,20	21,4
		105	1	11,55	14,41	33,82	21,4	
			2	11,67	14,42	33,44	21,5	
		SULFATO DE AMÔNIO	35	1	11,20	13,35	33,82	20,9
				2	12,24	11,33	34,20	19,9
			70	3	11,79	11,74	33,82	20,0
				1	13,06	12,71	34,60	20,3
	2			12,55	14,58	34,20	21,4	
	3			10,63	14,08	33,44	21,5	
	105	1	10,68	15,32	33,44	22,0		
		2	10,44	14,81	33,44	21,5		
	UFVT	UREIA	35	1	12,78	12,24	34,20	20,4
				2	11,34	9,38	33,82	19,0
			70	3	12,15	9,92	34,20	18,9
				1	11,44	10,35	33,82	19,5
				2	11,53	10,21	34,60	19,2
				3	13,25	13,36	34,60	20,8
		105	1	12,06	12,61	34,20	20,4	
			2	13,11	12,90	34,60	20,3	
SULFATO DE AMÔNIO		35	1	12,50	10,72	34,20	19,4	
			2	12,69	11,63	34,20	19,9	
		70	3	12,53	11,58	34,20	19,9	
			1	11,81	12,97	33,82	20,4	
	2		13,46	10,42	34,60	19,2		
	3		13,08	12,94	34,60	20,3		
105	1	11,27	13,56	33,82	20,9			
	2	11,50	12,67	33,82	20,4			
			3	11,59	11,43	33,82	20,0	

ANEXO 2: Ficha de avaliação dos pães do teste de panificação.

Nome: _____							Data: ____/____/____						
As amostras deverão ser avaliadas quanto aos atributos internos e externos, conforme especificado no quadro abaixo, sempre em comparação ao padrão. Admitir-se-á nota 10 para o padrão em relação a todos os atributos, enquanto às amostras serão designadas n													
ATRIBUTOS		AMOSTRAS											
E X T E R N O S	<u>Simetria</u>												
	<u>Quebra</u>												
	<u>Cor da crosta</u>												
I N T E R N O S	<u>Cor do miolo</u>												
	<u>Granulometria do miolo</u>												
	<u>Espessura da crosta</u>												
TOTAL													

ANEXO 3: Resumo do quadro de análise de variância para proteínas, PH, PMG, *Falling Number*, RM, PPP, PPPF, UPP, UPPF e proporção gliadina:glutenina (ÉPOCA 1)

FV	GL	PH	PMG	RM	FN	Proteína	GLI:GLU	PPP	PPPF	UPP	UPPF
		QUADRADO MÉDIO									
Bloco	1	4,86	1,5	8,81	1488,38	3,02	0,026	37,33	0,007	32,25	0,0009
Fonte de N	1	2,41	21,98**	22,66	570,38	7,07**	0,078	82,61**	0,004	60,62	3,31
Dose de N	2	4,35**	9,2	36,88	586,54	1,4	0,005	4,88	0,031	7,03	0,28
Dose de N*Fonte de N	2	0,83	0,04	9,43	754,13	2,02	0,038	9,45	0,563	18,73	0,76
Bloco(Fonte de N*Dose de N)(Erro a)	5	0,75	1,92	10	1228,88	0,73	0,018	6,65	0,149	41,45	0,71
Cultivar	1	0,17	45,4**	27,69	1247,04	5,42	0,001	11,18	1,354	15,69	1,96
Cultivar*Fonte de N	1	0,06	2,71	20,46	1027,04	3,58	0,001	12,21	0,999	0,94	0,61
Cultivar*Dose de N	2	0,03	0,96	28,27	1272,54	0,91	0,021	0,69	0,158	20,59	0,63
Bloco(Dose N*Cultivar*Fonte de N) (Erro b)	8	1,02	4,88	33,04	813,04	3,55	0,011	6,03	0,603	20,34	0,57
CV (%)		1,46	5,88	8,16	7,78	13,45	11	8,85	16,09	11,39	18,78

**Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05)

ANEXO 4: Resumo do quadro de análise de variância para proteínas, PH, PMG, *Falling Number*, RM, PPP, PPPF, UPP, UPPF e proporção gliadina:glutenina (ÉPOCA 2)

FV	GL	PH	PMG	RM	FN	Proteína	GLI:GLU	PPP	PPPF	UPP	UPPF
Bloco	2	5,59	9,56	19,17	24,25	2,33	0,063	21,28	0,186	3,47	0,19
Fonte de N	1	1,79	6,86	2,54	78,03	0,03	0,018	1,68	0,014	0,58	0,03
Dose de N	2	0,41	2,92	55,74**	698,25	17,88**	0,008	6,88	1,218**	72,28**	3,71**
Dose de N*Fonte de N	2	1,27	2,52	55,49**	24,53	0,05	0,027	8,17	0,136	16,91	0,39
Bloco(Fonte de N*Dose de N)(Erro a)	10	0,84	2,43	13,6	1036,52	1,23	0,01	4,17	0,242	16,82	0,39
Cultivar	1	36,3**	28,55**	118,96	2934,03	48,86**	0,092**	12,75	3,754**	482,61**	28,51**
Cultivar*Fonte de N	1	0,06	0,05	0,16	90,25	1,79	0,01	10,98	0,007	72,61	0,33
Cultivar*Dose de N	2	0,65	3,55	75,39	3227,19	0,69	0,013	2,73	0,023	18,13	0,14
Bloco(Dose N*Cultivar*Fonte de N) (Erro b)	14	0,4	2,24	36,2	753,63	1,58	0,009	3,27	0,184	58,22	1,05
CV (%)		1,92	5,31	8,51	7,9	13,02	7,07	6,24	12,11	18,23	25,1

**Significativo a 5% de probabilidade (p<0,05)

ANEXO 5: Resumo do quadro de análise de variância para avaliação dos pães (Ecore Global)

FV	ÉPOCA 1		ÉPOCA 2	
	GL	Quadrado Médio (Escore)	GL	Quadrado Médio (Escore)
Bloco	1	25,84	2	45,68
Provador	5	241,7	5	310,95
Fonte de N	1	18,06	1	12,01
Dose de N	2	213,52	2	153,79**
Dose de N*Fonte de N	2	62,65**	2	2,54
Bloco(Fonte de N*Dose de N)(Erro a)	60	7,85	95	4,25
Cultivar	1	56,25	1	44,95**
Cultivar*Fonte de N	1	1	1	21,67**
Cultivar*Dose de N	2	101,27**	2	18,93**
Bloco (Cultivar*Fonte de N*Dose de N)	68	8,36	98	3,67
CV (%)		9,31		7,13

**Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$)

ANEXO 6: Resumo do quadro de análise de variância para volume e volume específico dos pães.

FV	GL	ÉPOCA 1		GL	ÉPOCA 2	
		Volume	Volume específico		Volume	Volume específico
		QUADRADO MÉDIO			QUADRADO MÉDIO	
Bloco	1	125,13	3,01	2	56,05	1,14
Fonte de N	1	0,03	0,01	1	38,53	0,75
Dose de N	2	57,27**	0,92**	2	33,85	0,56
Dose de N*Fonte de N	2	8,61	0,25	2	14,1	0,4
Bloco(Fonte de N*Dose de N)(Erro a)	5	9,46	0,16	10	8,8	0,23
Cultivar	1	17	0,31	1	1,03	0,02
Cultivar*Fonte de N	1	10,4	0,15	1	35,42**	0,67**
Cultivar*Dose de N	2	10,8	0,21	2	14,87	0,27
Bloco (Cultivar*Fonte de N*Dose de N)	8	8,6	0,2	13	4,84	0,09
CV (%)		19,99	22,99		13,59	15,09

**Significativo a 5% de probabilidade ($p < 0,05$)