



Diana Raquel Maia da Silva

Valorização de subprodutos da indústria do arroz no
desenvolvimento de bebidas de origem vegetal
como alternativas ao leite convencional

Orientador: Marta Helena Fernandes Henriques;

Coorientador: Ivo Manuel Mira Abreu Rodrigues

Coimbra, 2018



Diana Raquel Maia da Silva

**Valorização de subprodutos da indústria do arroz no
desenvolvimento de bebidas de origem vegetal
como alternativas ao leite convencional**

Dissertação apresentada à Escola Superior Agrária de Coimbra
para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau
de mestre em Engenharia Alimentar.

Orientador: Marta Helena Fernandes Henriques;

Coorientador: Ivo Manuel Mira Abreu Rodrigues

Coimbra, 2018

Agradecimentos

Para a realização deste mestrado foi muito importante ter o apoio, motivação, paciência e compreensão das pessoas que me rodeiam nomeadamente família e amigos.

Em particular quero agradecer à Raquel Borges, ao Paulo Dias e ao Tiago Madeira pela paciência que tiveram para me apoiar e ajudar ao longo deste estágio, e à Catarina Fonseca que esteve sempre presente e disponível para me ajudar a superar as minhas dificuldades académicas durante estes dois anos de mestrado. São pessoas que apesar de terem entrado há pouco tempo na minha vida fizeram toda a diferença pois sem elas teria sido mais difícil levar esta caminhada até ao fim.

Não menos importante foi o apoio e disponibilidade mostrada pelos funcionários desta escola que prontamente me acompanharam e ensinaram nos procedimentos técnicos necessários para o desenvolvimento desta tese. Nomeadamente a Sandrine Ressurreição do Departamento de Química, o Sr. Jorge Viegas, a D. Lurdes e a D. Adélia do Departamento de Ciências e Tecnologia Alimentar – Oficina Tecnológica de Lacticínios.

Como não poderia deixar de ser quero agradecer aos meus orientadores, a Professora Marta Henriques e o Professor Ivo Rodrigues por me terem acompanhado e orientado neste estágio.

Aprendi muito com todas estas pessoas e irei sempre lembrá-las pela diferença e importância que tiveram na minha vida académica.

Por último agradeço toda a paciência, compreensão e ajuda que os meus pais, irmã e marido tiveram comigo.

A todos o meu muito obrigado.

Resumo

O arroz (*Oryza sativa* L.) é o segundo cereal mais produzido e consumido mundialmente.

Este estudo teve como objetivo a valorização dos subprodutos da indústria arroseira (trinca e sêmola) através da produção de uma bebida de origem vegetal à base de arroz, através de hidrólise enzimática. As matérias primas foram analisadas nutricionalmente verificando-se que o principal constituinte da trinca é o amido e o da sêmola é a proteína.

Testaram-se duas enzimas comerciais, Termamyl 120L e AMG 300L, em diferentes concentrações e combinações. O acompanhamento da hidrólise enzimática foi efetuado pela avaliação da concentração de açúcares redutores ao longo do tempo de forma identificar as condições ótimas para o processo.

Verificou-se que a utilização da farinha de sêmea para a produção de bebidas à base de arroz não é apropriada, mas que a farinha de trinca conduz a resultados muito promissores. Assim as melhores condições processuais foram aplicadas a um ensaio à escala piloto com farinha de trinca e enzima Termamyl 120L com concentração de 4,0 $\mu\text{L/g}$.

As análises nutricionais e qualitativas indicam que bebidas produzidas quando comparadas com as bebidas comerciais apresentam valores de °Brix, turvação, proteína, concentração de açúcares redutores, sólidos totais e pH mais baixos. Relativamente à cor, as bebidas produzidas são mais escuras do que as comerciais e apresentam um maior contributo para o tom verde enquanto que as comerciais são apresentam um maior contributo para o tom amarelo.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L., trinca de arroz, sêmola, hidrólise enzimática, bebida vegetal

Abstract

Rice (*Oryza sativa* L.) is the second most produced and consumed cereal worldwide.

The objective of this study was to evaluate the by-products of the rice industry (broken rice and semolina) through the production of a rice-based vegetable beverage, using enzymatic hydrolysis. The raw materials were analyzed nutritionally verifying that the main constituent of the broken rice is the starch and the one of the semolina is the protein.

Two commercial enzymes, Termamyl 120L and AMG 300L, were tested at different concentrations and combinations. The follow up of the enzymatic hydrolysis was carried out by evaluating the concentration of reducing sugars over time in order to identify the optimum conditions for the process.

It has been found that the use of bran meal for the production of rice-based beverages is not appropriate, but that the broken rice meal results in very promising results. Thus, the best procedural conditions were applied to a pilot scale assay with a Termamyl 120L enzyme with a concentration of 4,0 µL/g.

Nutritional and qualitative analyzes indicate that the produced beverages, when compared to commercial beverages, show lower values of °Brix, turbidity, protein, concentration of reducing sugars, total solids and pH. Regarding color, the drinks produced are darker than the commercial ones and have a greater contribution to the green tone while the commercial ones present a greater contribution to the yellow tone.

Keywords: *Oryza sativa* L., broken rice, bran, enzymatic hydrolysis, vegetable beverage.

Índice

Agradecimentos.....	i
Resumo	ii
Abstract.....	iii
Lista de Tabelas.....	v
Lista de Figuras.....	vi
Financiamento	viii
1. Introdução	1
1.1. Arroz.....	2
1.2. Composição nutricional	3
1.3. Produção mundial e nacional	4
2. Processo produtivo do arroz	6
2.1. Subprodutos.....	8
3. Hidrólise enzimática	10
3.1. Termamyl 120L	11
3.2. AMG 300L.....	11
4. Bebida vegetal de arroz	12
5. Materiais e métodos.....	13
5.1. Matérias-primas.....	13
5.2. Composição da farinha de trinca e da farinha de sêmea de arroz.....	13
5.3. Hidrólise enzimática do amido da farinha de trinca de arroz	13
5.4. Hidrólise enzimática da farinha de sêmea de arroz	17
5.5. Produção da bebida de trinca de arroz à escala piloto	17
5.6. Análises à bebida de arroz e ao subproduto	19
6. Apresentação e discussão de resultados	21
6.1. Composição nutricional da sêmea e trinca de arroz	21

6.2.	Composição nutricional da bebida de arroz	23
6.2.1.	Hidrólise enzimática da bebida de trinca de arroz	23
6.2.2.	Hidrólise enzimática da bebida de sêmea de arroz	27
6.2.3.	Ensaio à escala piloto para a bebida de trinca de arroz	28
7.	Conclusão	38

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Composição nutricional do arroz (INSA, 2007)	4
Tabela 2 – Concentração e combinações das enzimas utilizadas nos ensaios de hidrólise com farinha de trinca de arroz	14
Tabela 3 - Composição nutricional da farinha de sêmea e farinha de trinca de arroz... 21	
Tabela 4 – °Brix e concentração de açúcares redutores durante o ensaio à escala piloto (média ± desvio-padrão).....	29
Tabela 5 - Balanço de massa ao ensaio à escala piloto	30
Tabela 6 – Valores médios de pH, turvação °Brix e [Açúcares] das bebidas à base de trinca de arroz produzidas à escala piloto e comparação com 2 bebidas comerciais.....	31
Tabela 7 – Valores médios da cor das bebidas à base de trinca de arroz produzidas à escala piloto e comparação com 2 bebidas comerciais	33
Tabela 8 – Teor de sólidos e proteína das bebidas à base de trinca de arroz produzidas à escala piloto e comparação com duas bebidas comerciais	34
Tabela 9 - Composição nutricional da fração insolúvel	36
Tabela 10 - Diluições de glucose a partir da solução-mãe	45
Tabela 11 - Concentração de glucose na bebida de trinca com 8 µL de enzima Termamyl 120L.....	47
Tabela 12 - Concentração de glucose na bebida de trinca com 80 µL de enzima Termamyl 120L.....	47
Tabela 13 - Concentração de glucose na bebida de trinca de arroz com 45 µL de enzima AMG 300L.....	48

Tabela 14 - Concentração de glucose na bebida de trinca de arroz com 450 μL de enzima AMG 300L.....	48
Tabela 15 - Concentração de glucose na bebida de trinca de arroz com 80 μL de enzima Termamyl 120L e 45 μL de AMG 300L.....	49
Tabela 16 - Concentração de glucose na bebida de sêmea de arroz com 80 μL de enzima Termamyl 120L e 45 μL de enzima AMG 300L	49
Tabela 17 - Concentração de glucose no ensaio controlo só com efeito da temperatura	50

Lista de Figuras

Figura 1 - Constituição do grão de arroz (WEBER, 2012)	3
Figura 2 - Diagrama do processo produtivo do arroz branqueado	8
Figura 3 – Esquema do ensaio da hidrólise a partir da farinha de trinca de arroz com adição de enzima Termamyl 120L na concentração de 0,4 $\mu\text{L/g}$ de farinha e de 4 $\mu\text{L/g}$ de farinha	15
Figura 4 – Esquema do ensaio da hidrólise a partir da farinha de trinca de arroz com adição de enzima AMG 300L na concentração de 2,25 $\mu\text{L/g}$ de farinha e 22,5 $\mu\text{L/g}$ de farinha	15
Figura 5 - Esquema do ensaio da hidrólise a partir da farinha de trinca de arroz com adição da enzima Termamyl 120L na concentração de 4 $\mu\text{L/g}$ de farinha e com adição de enzima AMG 300L na concentração de 2,25 $\mu\text{L/g}$ de farinha	16
Figura 6 - Esquema do ensaio da hidrólise a partir da farinha de trinca de arroz com adição da enzima Termamyl 120L na concentração de 4 $\mu\text{L/g}$ de farinha e com adição de enzima AMG 300L na concentração de 2,25 $\mu\text{L/g}$ de farinha	17
Figura 7 - Fluxograma do processo de fabrico da bebida de arroz a partir de farinha de trinca pela aplicação da hidrólise enzimática com Termamyl 120L.....	19
Figura 8 - Concentração de açúcares redutores na mistura à base de trinca de arroz com a ação da enzima Termamyl 120L (0,4 $\mu\text{L/g}$ de farinha) e de (4 $\mu\text{L/g}$ de farinha) e comparação com o controlo (0 $\mu\text{L/g}$) a 90 °C.....	24

Figura 9 - Concentração de açúcares redutores na mistura à base de trinca de arroz com a ação da enzima AMG 300L (2,25 µL/g de farinha) e de (22,5 µL/g de farinha) a 60 °C e comparação com o controle (0,0 µL/g de farinha) sujeito às mesmas condições.	25
Figura 10 - Concentração de açúcares redutores na farinha de trinca de arroz com a ação de Termamyl 120L (4,0 µL/g de farinha) a 90 °C e de enzima AMG 300L (2,25 µL/g de farinha) a 60 °C e comparação com o controle (0,0 µL/g de farinha) sujeito às mesmas condições.	26
Figura 11 - Concentração de açúcares redutores na farinha de sêmea de arroz com a ação de Termamyl 120L (4,0 µL/g de farinha) a 90 °C e de enzima AMG 300L (2,25 µL/g de farinha) a 60°C e comparação com o controle (0,0 µL/g de farinha) sujeito às mesmas condições.	28
Figura 12 - Rótulo nutricional da bebida de Rude Health	51
Figura 13 - Informação nutricional da bebida comercial Shoyce Arroz 0%.....	52

Financiamento

Este trabalho foi apoiado por

Fundos nacionais através da FCT – Fundação para a Ciência e a Tecnologia, e cofinanciado pelo Fundo Europeu de Desenvolvimento Regional (FEDER), através do Acordo de Parceria Portugal 2020 – Programa Operacional Regional do Centro (CENTRO 2020), no âmbito do projeto CENTRO-01-0145-FEDER-023631 SoSValor: Soluções Sustentáveis para a Valorização de Produtos Naturais e Resíduos Industriais de Origem Vegetal.

1. Introdução

O arroz (*Oryza sativa* L.) sendo o segundo cereal mais cultivado e consumido no mundo depois do trigo, constitui a base da alimentação de mais de metade da população mundial (BOTELHO, 2014). De acordo com os últimos dados estatísticos, referentes ao ano de 2017, Portugal registou uma produção de 179,8 mil toneladas de arroz. Esta produção deu origem aos subprodutos da transformação tais como a trinca e a sêmea de arroz, 1 000 ton e 8 122 ton respetivamente, cujo aproveitamento atualmente na sua maioria é a alimentação animal (INE, 2018).

As bebidas vegetais são cada vez mais uma alternativa ao leite de vaca, estando em constante crescimento no mercado das bebidas funcionais e especiais em todo o mundo. A escolha no consumo de bebidas vegetais tem na sua base diversos fatores como a alergia à proteína do leite de vaca, intolerância à lactose, questões éticas, dietas vegans, entre outros. No entanto, a base de algumas destas bebidas como a soja, amêndoa, aveia, amendoim e sésamo são alergénios (Regulamento UE nº 1169/2011) podendo tornar-se um perigo para a saúde de quem os consome. A bebida à base de arroz é uma escolha segura, porque para além de não ser considerado um alergénio tem componentes funcionais ou bioativos que trazem benefícios para a saúde de quem os consome, nomeadamente fitoesteróis (β -sitosterol e γ -orizanol) que reduzem o colesterol e a hipertensão e têm efeitos antidiabéticos, anti-inflamatórios e antioxidantes (SETHI, TYAGI e ANURAG, 2016).

Sendo o arroz constituído maioritariamente por amido a utilização de enzimas específicas permite a sua hidrólise enzimática por forma a elaborar uma bebida à base de arroz com uma concentração de açúcares redutores (glucose) que cativa o paladar dos consumidores. Neste caso não haverá a necessidade de se recorrer à adição do açúcar convencional (sacarose) tornando o produto mais natural.

Com este trabalho pretendeu-se valorizar os subprodutos resultantes da transformação do arroz, trinca e sêmea, para desenvolver bebidas vegetais através da hidrólise enzimática.

1.1. Arroz

O arroz é uma planta pertencente à família das gramíneas *Oryza sativa* L.. O início do cultivo desta planta é difícil de precisar, mas há registo de ter sido introduzido no Japão e na Coreia no ano 1000 a.C.. Foi conhecido na Europa após a expedição de Alexandre Magno à Índia, chegando à Península Ibérica pelos árabes após a sua conquista em 711 (NOVARROZ, sd).

A cultura deste cereal foi-se espalhando pelo resto do mundo, tendo como último destino a América do Sul (no início do século XVIII). Em Portugal verificou-se o incentivo da sua cultura no século XVIII nas zonas limítrofes do estuário do Rio Tejo (NOVARROZ, sd). Segundo o decreto-lei nº157/2017 de 28 de Dezembro, o arroz apresenta diferentes características dependendo do seu estado físico, nomeadamente:

- Arroz em casca (*paddy*), em que o arroz está envolvido pela casca após a debulha;
- Arroz descascado, em que o arroz apenas sofreu o processo de descasque resultando assim um arroz sem casca só envolvido na película, também chamado de arroz integral;
- Arroz semi-branqueado, em que é removida a casca, a totalidade das camadas interiores e exteriores do pericarpo e a totalidade do gérmen, ou pelo menos uma parte. No entanto, as camadas internas são mantidas intactas;
- Arroz branqueado, em que é removida a casca ao arroz (*paddy*), a totalidade das camadas exteriores e interiores do pericarpo, a totalidade do gérmen (no caso de grãos longos e grãos médios) ou pelo menos uma parte (no caso de arroz de grãos redondos) mas em que podem subsistir estrias brancas longitudinais em 10% dos grãos, no máximo.

A figura 1 indica a constituição mais pormenorizada do grão de arroz e o aproveitamento que é dado a cada tipo de constituinte do grão.

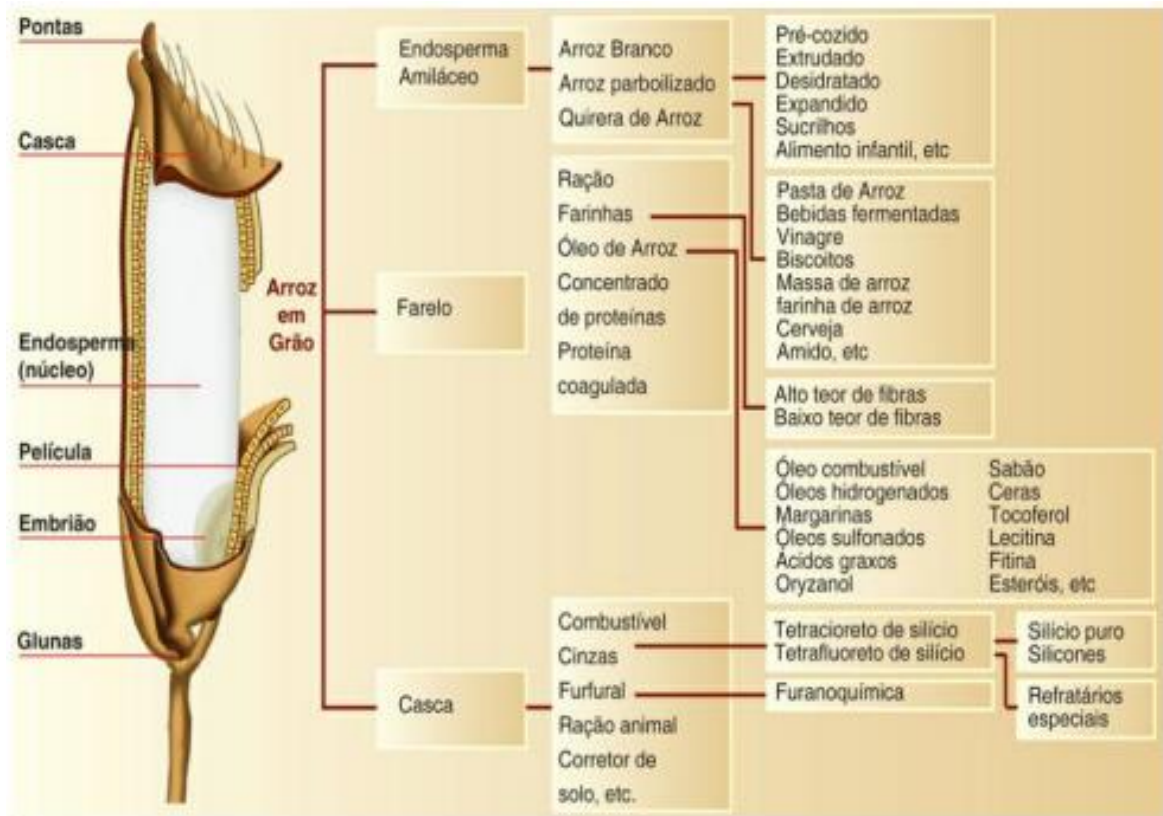


Figura 1 - Constituição do grão de arroz (WEBER, 2012)

1.2. Composição nutricional

O arroz polido é constituído essencialmente por amido (hidrato de carbono) correspondendo a cerca de 90% da sua matéria seca. Nutrientes como a fibra, proteína, lípidos e minerais encontram-se presentes em maior quantidade no farelo, que representa 8,5 a 14,8% do arroz integral (WALTER, MARCHEZAN e AVILA, 2008). Durante o polimento do grão de arroz, quanto maior for a intensidade, maior é a remoção das camadas externas e consequente perda dos nutrientes que o compõem (STORCK, SILVA e COMARELLA, 2005). Por esta razão, quando comparados os valores destes nutrientes entre o arroz integral e o arroz branqueado, o arroz integral apresenta valores mais elevados. Na tabela 1, encontram-se os valores nutricionais de referência para o arroz integral e para o arroz branqueado (INSA, 2007).

Tabela 1 - Composição nutricional do arroz (INSA, 2007)

		Integral Cru	Carolino Branqueado Cru
		Por 100 g de parte edível	Por 100 g de parte edível
Energia	(kcal)	352	363
	(kJ)	1474	1517
Lípidos (g)		2,5	0,5
	Saturados (g)	0,5	0,1
Hidratos de carbono (g)		71,6	79,6
Amido (g)		71,6	79,6
Fibra (g)		3,8	2,2
Proteína (g)		8,6	7,4
Água (g)		12,2	10,7

1.3. Produção mundial e nacional

O arroz é um dos cereais mais consumidos mundialmente, e consequentemente um dos mais produzidos. Segundo dados fornecidos pela FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), em 2016, os países que tiveram uma maior produção de arroz a nível mundial foram a China e a Índia com aproximadamente 210 e 159 milhões de toneladas, respetivamente. A nível Europeu os maiores produtores foram a Itália e a Rússia com 1 587 e 1 081 mil toneladas, respetivamente (FAO, 2017).

Em Portugal, a produção de arroz no século XX cingia-se às “terras alagadiças dos vales do Vouga, Mondego, Sado, Mira e Guadiana”. No entanto, meio século depois verificou-se o alargamento do seu cultivo em vários locais do nosso país. A elaboração de algumas regras no cultivo deste cereal, nomeadamente a gestão da água e a preparação dos terrenos, permitiu o cultivo de diferentes variedades de arroz. Atualmente, as principais zonas de produção de arroz em Portugal são o Vale do Tejo, Sado e Mondego. O arroz do tipo Carolino (característico pelo seu grão arredondado) é o mais cultivado. Este arroz tem duas variedades, a Aríete e a Euro, sendo a de maior

produção a Aríete com 70%. No entanto, o arroz do tipo Agulha, característico por ter um grão alongado, também é produzido no nosso país (NOVARROZ, sd).

A produção de arroz depende de três fatores cruciais para ser bem-sucedida, nomeadamente a temperatura (se for extremamente baixa pode afetar o desenvolvimento da planta), a água disponível (que determina a extensão de superfície que pode ser semeada e que influencia o aparecimento de possíveis doenças) e a quantidade de radiação solar que os arrozais recebem (NOVARROZ, sd).

Os últimos dados estatísticos do INE (Instituto Nacional de Estatística) de que se tem registos são de 2017. Através destes, é possível afirmar que a superfície de cultivo de arroz em Portugal no ano de 2017 foi afetada quando comparada com o ano 2016 devido à diminuição da disponibilidade hídrica observada nas albufeiras da bacia hidrográfica do Sado, onde se situa a maior plantação de arroz do Alentejo (INE, 2018).

Nas principais regiões produtoras como Lezíria, Grande Lisboa e Baixo Sorraia registaram-se produções superiores comparativamente ao ano de 2016 apesar do número de grãos inteiros ser menor devido à baixa humidade do grão. Na região do Vale do Sado, a escassez de água na bacia hidrográfica obrigou a uma diminuição na área semeada tendo consequências na produção obtida (INE, 2018).

No Baixo Mondego verificou-se uma elevada percentagem de grãos falidos por panícula, devido à ação conjunta de fatores adversos como elevadas temperaturas na fase de enchimento do grão, forte presença de infestantes e focos de periculária não controlados (INE, 2018), causada pelo fungo *Pyricularia grisea* cujos sintomas se revelam maioritariamente na espiga, nomeadamente o branqueamento total ou parcial na porção superior à lesão provocada pela penetração do fungo que levam à esterilidade ou murchamento do grão (CRUZ e PRESTES, sd).

Apesar dos fatores adversos indicados anteriormente e da superfície cultivada em 2017 ser inferior à de 2016 (28.944 ha face a 29.149 ha), a produção em 2017 foi superior à de 2016 (179,8 mil toneladas e 169,3 mil toneladas, respetivamente). A maior área de cultivo e de produção de arroz em 2017, situou-se na zona do Alentejo com 17.116 ha e 112,4 mil toneladas (INE, 2018).

Relativamente à transformação do arroz nos processos de descasque, branqueamento e outros tratamentos, pode concluir-se que houve um aumento entre 2015 e 2016, sendo estes de 135,1 mil toneladas e 140,6 mil toneladas, respetivamente. Em relação ao arroz branqueado, a quantidade produzida nos anos de 2015 e 2016 foi de 107,1 e 111,6 mil toneladas (INE, 2018).

Uma parte dos produtos resultantes da transformação do arroz (trinca e sêmea) são aproveitados para a alimentação animal. Segundo os dados fornecidos pelo INE (2018) a quantidade utilizada de trinca de arroz para alimentação animal manteve-se constante nos últimos anos (1000 toneladas). Relativamente à sêmea, verificou-se um aumento na quantidade aproveitada para alimentação animal, tendo sido no ano de 2017 utilizadas 8122 toneladas.

2. Processo produtivo do arroz

O conhecimento do processo produtivo do arroz permite conhecer a origem dos subprodutos utilizados para o fabrico da bebida vegetal.

Inicialmente é feita a colheita do arroz quando este se encontra no estado de maturação pretendido e com uma humidade entre os 21% e 22%. Posteriormente à colheita é necessário fazer uma limpeza aos grãos ainda verdes para retirar as impurezas tais como palhas, pedras, grãos defeituosos, partículas metálicas e terra através da crivagem. Após a limpeza, é feita a secagem dos grãos a uma temperatura entre os 35 °C e 53 °C tendo como objetivo a redução do teor de humidade para valores iguais ou inferiores a 13%, para que seja garantindo um armazenamento seguro que previna o crescimento de fungos e bactérias, a descoloração do grão e a infestação por insetos. No caso do arroz ser de origem nacional normalmente já chega à empresa seco, em casca, sendo a secagem feita no produtor. Apesar de já ter sido feita uma primeira limpeza ao grão de arroz, após chegada deste à empresa é feita novamente a limpeza para retirar grãos malformados e outras impurezas. De seguida é feito o descasque através de um processo físico que envolve descascadores, separadores e ciclones de aspiração para retirar a casca do grão originando como produto o arroz integral (80%) e

subproduto a casca (20%) (TECNOALIMENTAR, 2015). Posteriormente é feito o branqueamento que consiste num processo físico com abrasão/fricção em pedras de esmeril havendo a separação da película, também conhecida como sêmea do grão. Assim obtém-se como produto o arroz branqueado e como subproduto a sêmea. Este processo de branqueamento leva a que surjam grãos de arroz partidos, também conhecidos como trinca de arroz, que necessitam de ser separados do arroz branqueado inteiro por alveolometria passando por criveiras. Daqui obtém-se como produto final o arroz branqueado e como subproduto a trinca de arroz. Por último procede-se ao embalamento do arroz, que ocorre em embaladoras com doseadores automáticos (PIRES, 2014). Na figura 2 está representado o fluxograma do processo de fabrico do arroz.

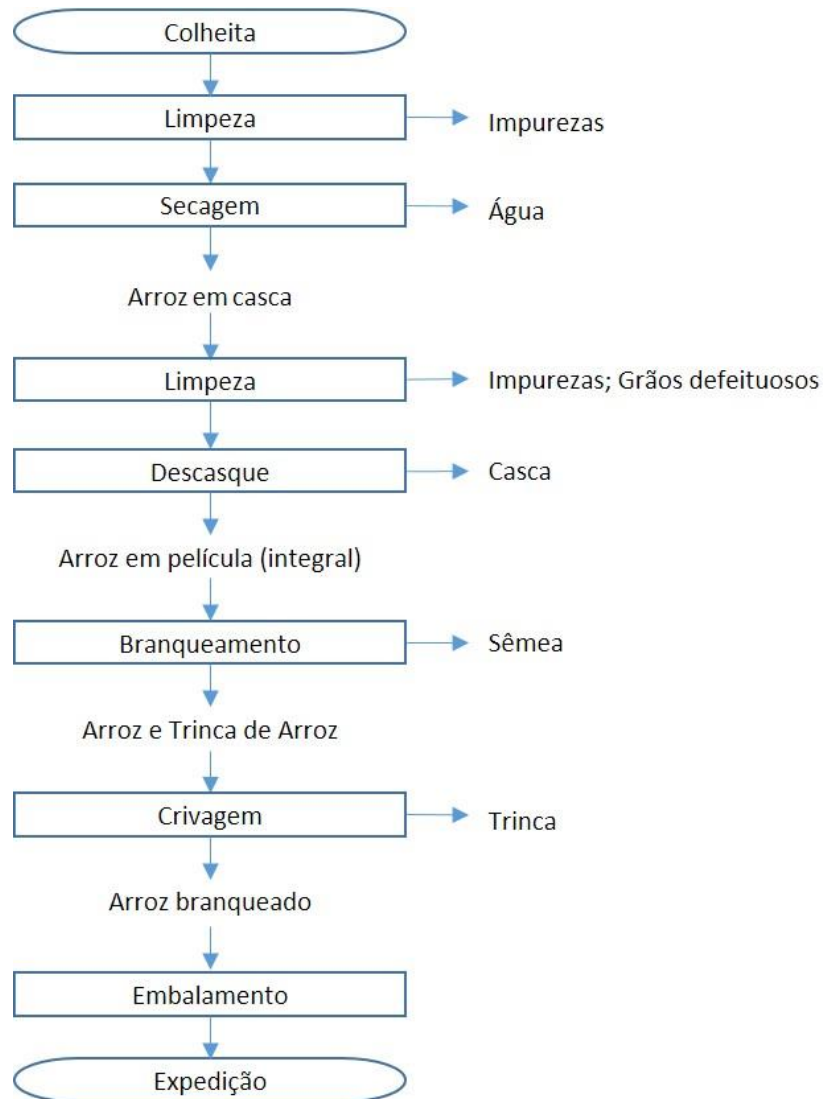


Figura 2 - Diagrama do processo produtivo do arroz branqueado

2.1. Subprodutos

De acordo com o Decreto-lei nº157/2017 de 28 de Dezembro, os subprodutos resultantes da transformação do arroz são:

- ✓ Casca, que é constituído pelas glumas e glumelas que envolvem a cariopse;
- ✓ Farelo de casca, é obtido na operação de descasque e resultante da trituração da casca;

- ✓ Sêmea, é constituída pelos resíduos das camadas do pericarpo, resultante da ação de desgaste provocada pela operação de branqueio.

O presente Decreto-lei, não classifica a trinca de arroz como sendo um subproduto. No entanto, o mesmo define a trinca de arroz como sendo um fragmento de grão cujo comprimento é inferior a três quartos do comprimento médio do grão inteiro e pode ser classificada como:

- ✓ Trinca grada, em que o comprimento do fragmento do grão é superior a metade do comprimento de um grão despontado (foi removida a totalidade do dente apical ou ponta, durante a operação de branqueio, tendo um comprimento igual ou superior a três quartos do comprimento médio do grão inteiro);
- ✓ Trinca média, em que o comprimento do fragmento do grão é superior a um quarto do comprimento do grão, mas não atinge o tamanho da trinca grada;
- ✓ Trinca miúda, em que o comprimento do fragmento do grão é igual ou inferior a um quarto do comprimento do grão e que fica retido num crivo de malhas de 1,4 mm;
- ✓ Migalha ou fragmento, em que um pequeno fragmento ou partícula de um grão pode passar através de um crivo de malhas de 1,4 mm, sendo equiparado a fragmentos de grãos fendidos (provocados por uma fenda longitudinal no grão).

A sêmea e a trinca representam uma proporção aproximada de 8% e 14% respetivamente resultante da transformação do arroz (SILVA, BECKER, SILVA, SOARES JÚNIOR, CALIARI e DAMIANI, 2015). A constituição da sêmea abrange três camadas sendo estas o pericarpo, o tegumento, a camada de aleurona e o gérmen/embrião tendo assim a maior concentração de proteínas, lípidos, fibra, minerais e vitaminas que se encontra no grão de arroz após o descasque. As três camadas representam 5% a 8% do arroz integral e o gérmen/embrião representa 2% a 3% do arroz integral. No global, a sêmea constituiu 8,5% a 14,8% do arroz integral. A trinca resultando diretamente do branqueamento do arroz é constituída maioritariamente por amido, aproximadamente

90%, podendo ainda assim apresentar quantidades menores dos nutrientes já referidos anteriormente (WALTER, MARCHEZAN e AVILA, 2008).

3. Hidrólise enzimática

O amido é um polissacarídeo e um importante hidrato de carbono composto por amilose e a amilopectina. Encontra-se sob a forma de grânulos insolúveis em água, sendo estes característicos da planta onde se encontram. Os grânulos, quando submetidos a um aumento de temperatura, começam a inchar e a gelatinizar devido ao enfraquecimento das ligações de hidrogénio que os mantêm unidos formando uma pasta, como no caso do arroz, ou podem dispersar-se dependendo da concentração do polissacarídeo.

A hidrólise do amido pode ser feita pela utilização de um meio ácido (hidrólise ácida) ou por utilização de enzimas como catalisador da reação, sendo que a via enzimática detém como vantagens ser mais específica, formar menos subprodutos, ter um maior rendimento e ser mais ecológica, o que leva a que seja praticada à escala industrial há vários anos a esta parte substituindo gradualmente a tradicional hidrólise ácida.

A produção industrial de dextrose em pó e de cristais de dextrose a partir de amido utilizando α - amílases e amiloglucosidases começou em 1959. Desde então as amílases têm sido utilizadas para transformar o amido através da degradação em açúcar, dextrinas, xaropes e posteriormente introduzi-los nos produtos e bebidas alimentares como fonte de açúcar ou fonte de carbono nas fermentações (AIYER, 2005).

Uma vez que a hidrólise enzimática é a melhor escolha para a obtenção de açúcares através do amido, utilizando enzimas específicas é possível fazer a degradação do amido e transformá-lo em açúcares simples como glucose. As enzimas comerciais utilizadas neste trabalho no fabrico da bebida vegetal à base de arroz foram a α -amilase Termamyl 120L e a amiloglucosidase AMG 300L.

3.1. Termamyl 120L

A Termamyl 120L (Novozymes) é a marca comercial de uma α -amílase estável ao calor produzida por uma estirpe geneticamente modificada da bactéria *Bacillus licheniformis* que hidrolisa ligações glucosídicas α -1,4 das moléculas amilose e amilopectina. Desta forma o amido é rapidamente decomposto em dextrinas solúveis e oligossacarídeos, tornando a solução menos viscosa através da sua liquefação. A concentração de sólidos solúveis e de açúcares redutores presentes em solução aumenta ao longo do tempo de reação.

De acordo com o fornecedor, a Termamyl 120L apresenta uma atividade de 120 KNU/g, sendo 1 KNU a quantidade de enzima que decompõe 5,26 g de amido por hora (NOVOZYMES, s.d.). Dada a sua grande estabilidade à temperatura, esta α -amílase pode ser usada a temperaturas até 110 °C tendo o seu pico ótimo de atuação aos 90 °C a pH=7 (NCBE,2018). A sua utilização pode ser encontrada em indústrias como a de produção de amido, cerveja, açúcar, álcool e têxtil (NCBE, 2018).

3.2. AMG 300L

A AMG 300L, marca comercial da Novozymes, é uma amiloglucosidase obtida de uma estirpe selecionada do fungo *Aspergillus niger*, que remove unidades de glicose no amido liquefeito de forma gradual a partir da extremidade não redutora da molécula de substrato produzindo glicose (NCBE, 2018). A hidrólise com esta enzima acontece nas ligações α -1,4 e α -1,6 do amido liquefeito. A taxa de hidrólise depende do tipo de ligações e do comprimento da cadeia, sendo as ligações α -1,4 mais facilmente quebradas do que as ligações α -1,6 (NOVOZYMES, s.d.).

De acordo com a ficha técnica do fornecedor, a AMG 300L apresenta uma atividade 300 AGU/mL, indicando assim que 1 AGU é a quantidade de enzima que hidrolisa uma μ mol de maltose por minuto (NOVOZYMES, s.d.). Esta amiloglucosidase, apresenta uma temperatura ótima de funcionamento aos 75°C e um pH ótimo de 4. No entanto, a reação a esta temperatura só pode ocorrer por um tempo máximo de 30

minutos porque para tempo superior a enzima é desnaturada. Se a temperatura utilizada for entre 60°C - 70°C a enzima não será desnaturada (NCBE, 2018).

A sua grande utilização verifica-se nas indústrias panificadoras, uma vez que reduz o tempo de cozedura, auxilia na obtenção da cor e no crocante da crosta, tendo um impacto limitado nas massas mesmo com doses elevadas. É também usada para a produção de álcool, bebidas alcoólicas e degradação rápida e eficiente do amido e dextrinas em açúcares fermentescíveis (NOVOZYMES, s.d.).

4. Bebida vegetal de arroz

Cada vez mais se verifica que as bebidas de origem vegetal estão a ser uma alternativa ao leite convencional, atingindo um crescimento rápido em todo o mundo. Este crescimento pode ser explicado por mudanças de hábitos alimentares devido a problemas de saúde como alergia à proteína do leite de vaca, a intolerância à lactose ou porque simplesmente não querem consumir produtos de origem animal (SETHI, TYAGI e ANURAG, 2016).

A bebida à base de arroz é caracterizada pelo seu sabor suave e levemente adocicado resultante da hidrólise do amido em maltose e outros açúcares, pela ação das enzimas. Sendo esta uma tecnologia passível de implementação, a sua produção é favorecida em regiões onde a produção do arroz é significativa aumentando e diversificando o consumo deste cereal (JAEKEL, RODRIGUES e SILVA, 2010).

Assim, a utilização dos subprodutos resultantes da transformação do arroz para o fabrico de uma bebida vegetal iria enriquece-la em nutrientes e não teria um potencial alergénio comparativamente às outras bebidas vegetais que têm como base a soja, a aveia ou a amêndoa.

5. Materiais e métodos

5.1. Matérias-primas

Para o desenvolvimento da bebida de arroz neste trabalho foram utilizados, subprodutos da indústria arroseira fornecidos pela Cooperativa Agrícola de Montemor-o-Velho, nomeadamente a trinca de arroz e a sêmea. A sêmea foi rececionada em farinha razão pela qual não foi necessário fazer a moagem da mesma. No caso da trinca de arroz, esta foi rececionada em grão sendo assim necessário proceder à sua moagem recorrendo ao robô de cozinha Bimby TM31 Vorwerk (França).

Para assegurar boa uma conservação das propriedades das matérias-primas traduzida numa maior eficiência do processo de hidrólise, as farinhas foram armazenadas em frascos de vidro herméticos em local fresco, seco e isento da luz solar.

5.2. Composição da farinha de trinca e da farinha de sêmea de arroz

A composição das farinhas foi avaliada de acordo com o esquema de Weende (Lloyd et al., 1978), tendo sido determinada a gordura bruta, proteína bruta, fibra bruta, humidade e cinzas. A humidade, a fibra bruta e as cinzas foram determinadas pelo método Weende (AOAC, 1997). O teor de proteína bruta foi determinado pelo método de Kjeldahl nº 979.09 (AOAC, 2005) e a gordura bruta de acordo com o método Soxhlet 920.39C (AOAC, 1995). Os carboidratos totais foram calculados por diferença entre o extrato seco e os restantes componentes (gordura, proteína, cinzas e fibra). Foi também determinado o teor de amido (NP-2245, 1985) e açúcares redutores (NP1419, 1987). Todas as análises foram feitas em pelo menos duplicado.

5.3. Hidrólise enzimática do amido da farinha de trinca de arroz

No estudo da hidrólise do amido a partir da farinha de trinca de arroz foram realizados 5 ensaios com adição de enzimas e um controlo para comparação. De forma a avaliar o melhor rendimento em termos de hidrólise enzimática, foram testados dois tipos de enzimas, a Termamyl 120L e a AMG 300L (Novozymes, Dinamarca) em diferentes quantidades e combinações como se pode verificar na tabela 2.

Tabela 2 – Concentração e combinações das enzimas utilizadas nos ensaios de hidrólise com farinha de trinca de arroz

	Termamyl 120L μL/g de farinha	AMG 300L μL/g de farinha
Ensaio 1	0,4	—
Ensaio 2	4,0	—
Ensaio 3	—	2,25
Ensaio 4	—	22,50
Ensaio 5	4,0	2,25
Controlo	—	—

Para todos os ensaios laboratoriais realizados foi feita a diluição de 20 g de farinha em 180 g água na proporção de 1:10. A mistura foi aquecida em banho maria com agitação até às temperaturas ótimas de atuação de cada enzima (90 °C para Termamyl 120L e 60 °C para AMG 300L). Ao longo dos ensaios monitorizou-se a concentração de glucose pelo método colorimétrico dos açúcares redutores com o reagente DNS (anexo 1). Para o ensaio controlo todas as etapas foram realizadas da mesma forma, exceto a adição da enzima que não se efetuou, e foram retiradas amostras para os mesmos tempos de amostragem.

Em dois dos ensaios realizados foi utilizada apenas a enzima Termamyl 120L (figura 3), cujas concentrações foram respetivamente: 0,4 μL/g de farinha (indicada pelo fornecedor) e de 4,0 μL/g de farinha (10 vezes superior à recomendada) (Tabela 2). A amostragem para a avaliação da concentração de açúcares redutores foi feita antes da adição da enzima, logo após a adição da enzima (t=0) e passados 20, 45, 60, 90 e 120 min.

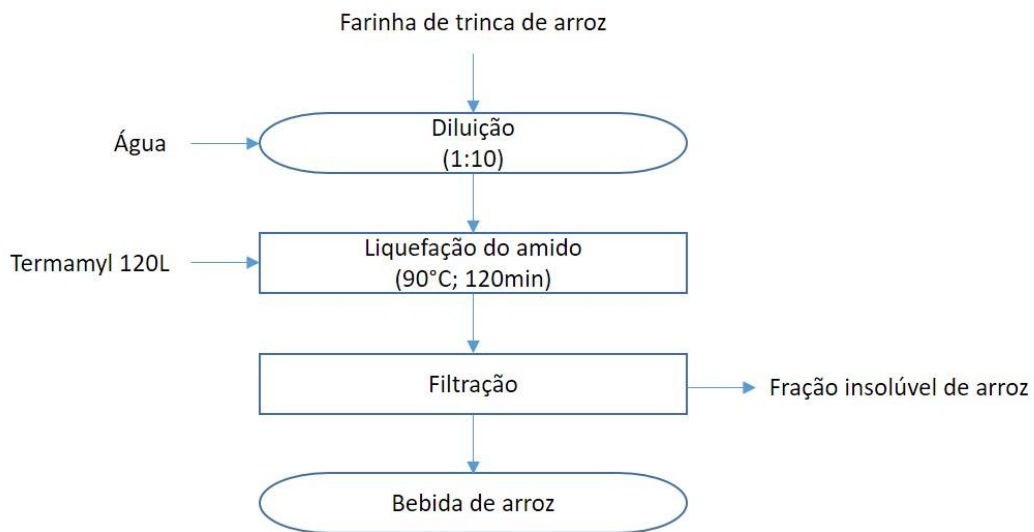


Figura 3 – Esquema do ensaio da hidrólise a partir da farinha de trinca de arroz com adição de enzima Termamyl 120L na concentração de 0,4 $\mu\text{L/g}$ de farinha e de 4 $\mu\text{L/g}$ de farinha

Para a enzima AMG 300L, foram realizados também dois ensaios (figura 4). Num foi adicionada uma concentração de 2,25 $\mu\text{L/g}$ de farinha (indicada pelo fornecedor) e no outro uma concentração 10 vezes superior 22,5 $\mu\text{L/g}$ de farinha. A amostragem para a avaliação da concentração de açúcares redutores foi feita antes da adição da enzima, depois da adição da enzima ($t=0$) e após 20, 45, 60, 90 e 120 min.

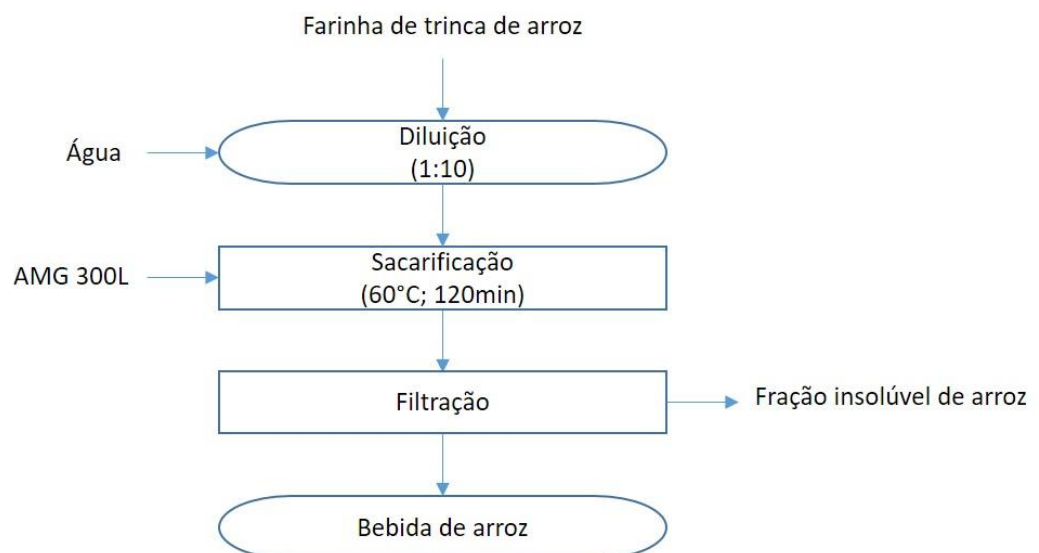


Figura 4 – Esquema do ensaio da hidrólise a partir da farinha de trinca de arroz com adição de enzima AMG 300L na concentração de 2,25 $\mu\text{L/g}$ de farinha e 22,5 $\mu\text{L/g}$ de farinha

Por último, foi realizado um ensaio no qual foram utilizadas as duas enzimas (figura 5). As concentrações utilizadas foram as que obtiveram melhores resultados nos ensaios onde foram usadas isoladamente sendo estas, 4 $\mu\text{L/g}$ de farinha para o caso da Termamyl 120L e 2,25 $\mu\text{L/g}$ de farinha para a AMG 300L. Uma vez que a AMG 300L atua mais facilmente no amido liquefeito e a temperaturas mais baixas que a Termamyl 120L, esta foi adicionada 75 min após a adição da Termamyl 120L e foi deixada a atuar durante 180 min. Neste ensaio também foram retiradas amostras para análise de açúcares redutores (glucose) antes da adição da Termamyl 120L, e depois da sua adição ($t=0$), após 20, 45, 75 min (adição da AMG 300L), 135, 195 e 255 min.

A análise da concentração dos açúcares redutores foi realizada pelo método colorimétrico com o reagente DNS (Anexo 1). A concentração de açúcares redutores foi calculada através da seguinte equação da reta de calibração para a glicose ($[\text{Açúcares Redutores}] \text{ g/L} = 1,5723 \times \text{Abs}_{540} + 0,0631$).

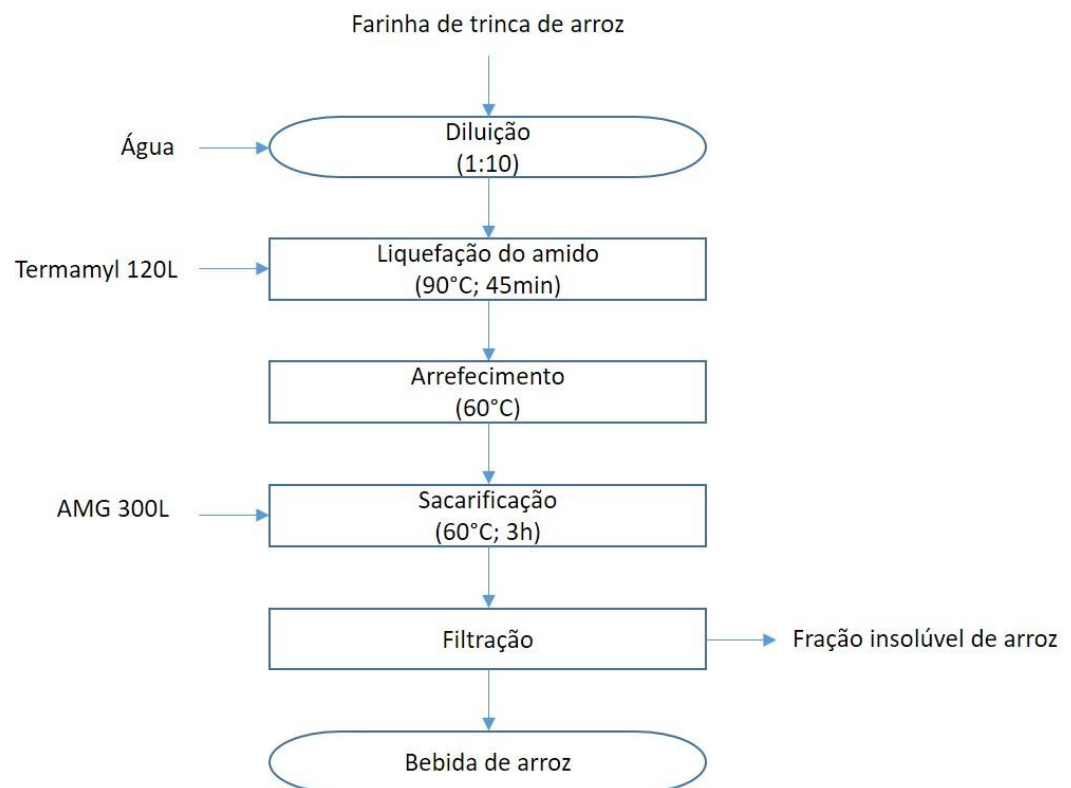


Figura 5 - Esquema do ensaio da hidrólise a partir da farinha de trinca de arroz com adição da enzima Termamyl 120L na concentração de 4 $\mu\text{L/g}$ de farinha e com adição de enzima AMG 300L na concentração de 2,25 $\mu\text{L/g}$ de farinha

5.4. Hidrólise enzimática da farinha de sêmea de arroz

À semelhança do estudo da hidrólise enzimática do amido da farinha de trinca de arroz, foram utilizadas as mesmas enzimas Termamyl 120L e AMG 300L em conjunto e nas mesmas condições processuais para a hidrólise enzimática do amido da farinha de sêmea de arroz (figura 6). A monitorização da concentração de açúcares redutores ao longo do processo foi feita da mesma forma descrita para a farinha de trinca de arroz.

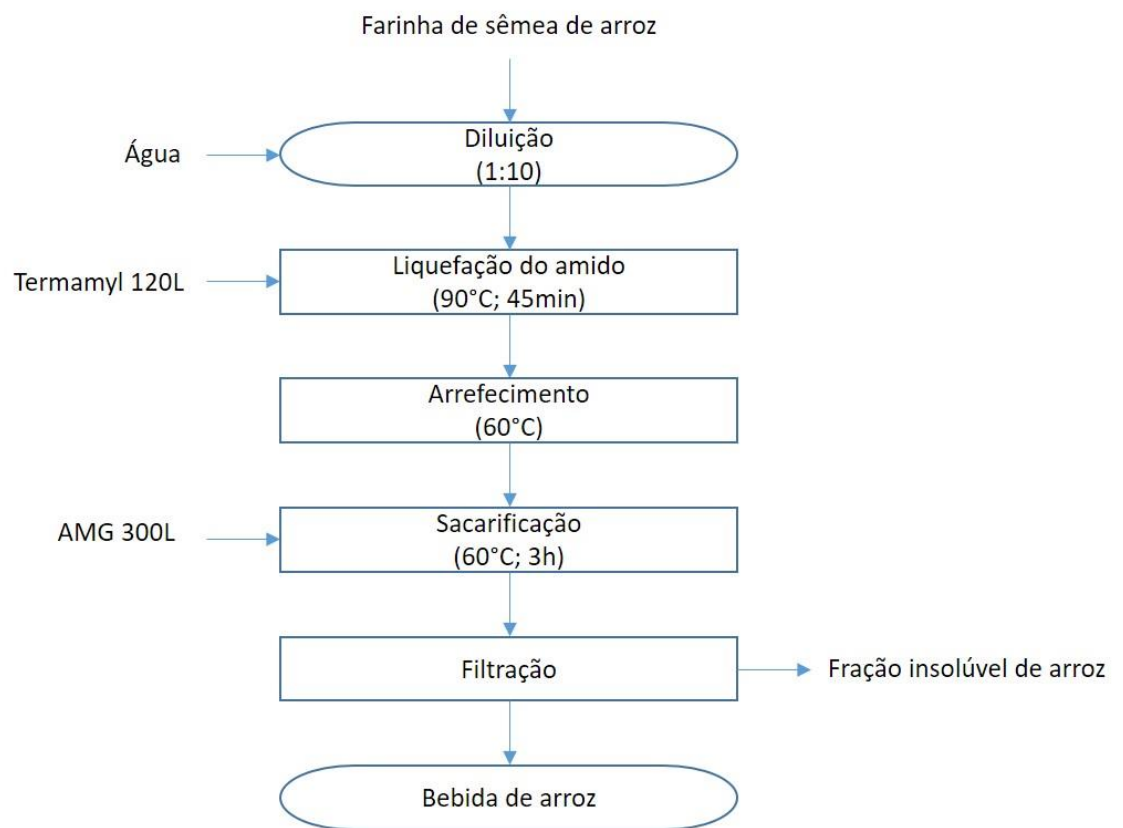


Figura 6 - Esquema do ensaio da hidrólise a partir da farinha de trinca de arroz com adição da enzima Termamyl 120L na concentração de 4 μ L/g de farinha e com adição de enzima AMG 300L na concentração de 2,25 μ L/g de farinha

5.5. Produção da bebida de trinca de arroz à escala piloto

Após a realização dos ensaios laboratoriais, passou-se à produção da bebida à base de farinha de trinca de arroz à escala piloto. Foi aplicado o processo de hidrólise

em que a enzima utilizada foi apenas a Termamyl 120L na quantidade que obteve melhores resultados à escala laboratorial.

Começaram-se por pesar 2 kg de farinha de trinca de arroz à qual se adicionaram 18 L de água na proporção de 1:10. É importante salientar que quando foi feita a mistura destes dois ingredientes, a água já se encontrava a uma temperatura de 90 °C para ser feita a adição da enzima Termamyl 120L na concentração de 4 µL/g de farinha.

A hidrólise enzimática foi levada a cabo durante 120 minutos, durante os quais foi monitorizada a percentagem de sólidos solúveis (açúcares) pela leitura do °Brix da bebida. Esta não foi feita pelo método de DNS uma vez que este se torna moroso. Neste caso a concentração de açúcares redutores foi calculada pela curva de calibração ($[Açúcares\ Redutores]\ g/L = 5,173 \times \text{°Brix} + 9,6129$) com $r^2 = 0,9911$, que havia sido determinada previamente no ensaio à escala laboratorial. Uma vez que se verificaram perdas de água por evaporação foi necessário adicionar 8,2 L de água à bebida durante o processo. Assim garantiu-se que o eventual aumento da concentração de açúcares não era devido ao processo de concentração por evaporação de água, mas sim à hidrólise do amido.

Ao fim de 120 minutos deu-se por concluída a etapa de hidrólise do amido e foi necessário proceder à filtração da mistura, para separar a bebida (líquido), dos sólidos insolúveis resultantes da hidrólise/cozimento. A filtração foi feita com pano TV (vulgarmente utilizado na produção de queijo) com 0,5 mm de diâmetro médio de poro. De seguida pesaram-se os sólidos insolúveis e calculou-se o rendimento do processo. Guardou-se esta amostra congelada para posterior determinação da sua composição nutricional. A bebida produzida foi dividida em três lotes. Em dois não foi adicionado qualquer tipo de aroma ou outro ingrediente, no outro foi adicionado aroma de avelã. As bebidas foram de seguida sujeitas ao engarrafamento em garradas de vidro. Posteriormente, um dos lotes sem aroma e o lote com aroma foram sujeitos ao tratamento de esterilização a 120 °C durante 20 min em autoclave (Raypa, modelo AES-75, Espanha). A figura 7 ilustra o processo de fabrico da bebida de arroz à escala piloto.

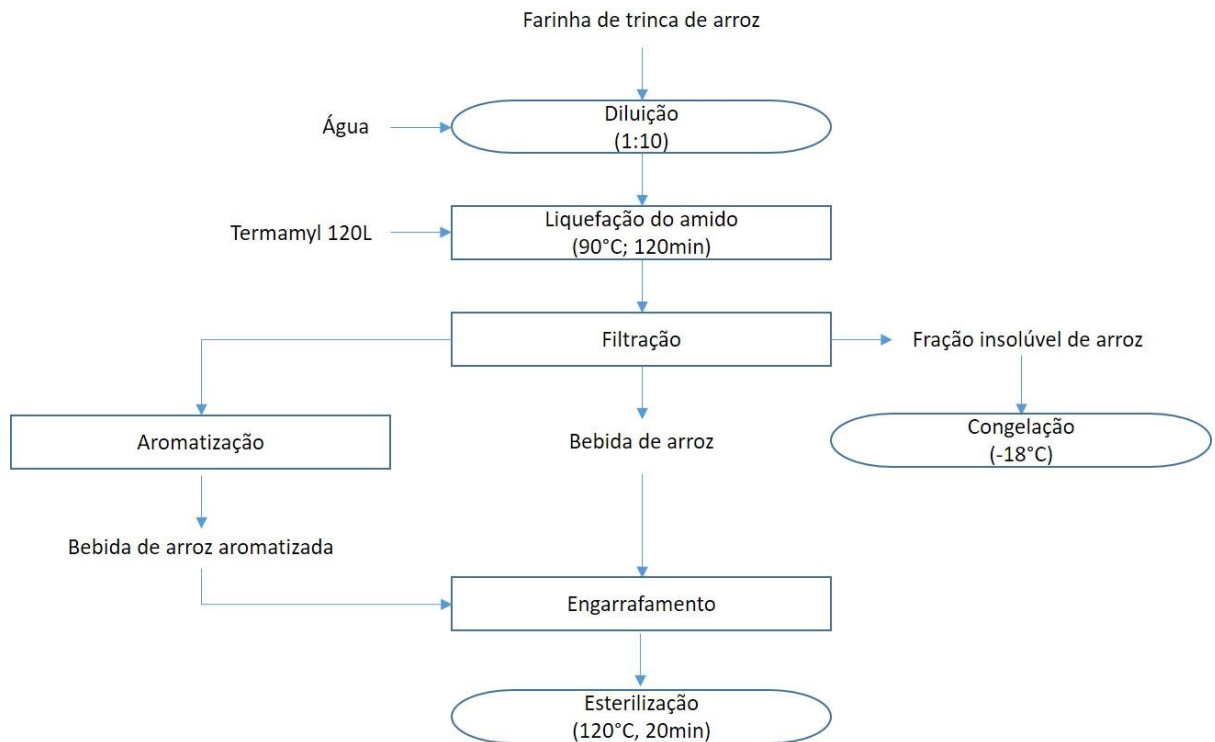


Figura 7 - Fluxograma do processo de fabricação da bebida de arroz a partir de farinha de trinca pela aplicação da hidrólise enzimática com Termamyl 120L

5.6. Análises à bebida de arroz e ao subproduto

Os produtos obtidos durante as várias fases do processo produtivo à escala piloto, nomeadamente a bebida não esterilizada sem aroma, as bebidas esterilizadas com e sem aroma, e ainda duas bebidas comerciais utilizadas para comparação (Arroz 0% da marca Shoyce e Brown Rice Drink Organic da marca Rude Health) foram caracterizadas relativamente ao pH, cor, turvação, °Brix, concentração de açúcares redutores, matéria seca e proteína.

A determinação do pH foi feita através de leitura direta utilizando um potenciómetro (Hanna Instruments, modelo HI9025, Portugal) com sonda FC200. Na análise da cor recorreu-se à utilização do colorímetro Minolta CR200 (Japão) utilizando o sistema $L^*a^*b^*$, onde L^* (luminosidade), a^* (coordenada vermelho/verde) e b^*

(coordenada amarelo/azul). Para a análise da turvação recorreu-se ao medidor de Turvação & Bencotest (Hanna Instruments, modelo HI83749, Portugal). A determinação do índice refratométrico ou °Brix, foi feita com um refratômetro digital Palette 100 (Atago, Japão). A análise da concentração dos açúcares redutores foi realizada seguindo o método colorimétrico com o reagente DNS (Anexo 1). A matéria seca foi determinada por secagem das amostras em estufa a 105 °C até peso constante. Para a análise de proteína foi utilizado o método de Bradford (Bio-Rad, sd).

Foi também realizada uma prova de estabilidade às bebidas produzidas de acordo com a NP 2309-1 (1988), a 30 °C e 55 °C, durante 21 e 7 dias respetivamente. Foram avaliados sinais de fuga e outras anomalias na embalagem e ainda características organolépticas do produto, como formação de bolhas e saída de gás, aspeto, cor e cheiro.

A caracterização do subproduto do processo (sólidos insolúveis) foi feita ao nível da humidade, proteína bruta, fibra bruta, cinza e gordura bruta. Estes parâmetros foram determinados seguindo o esquema de Weende (Lloyd *et al.*, 1978) utilizando os mesmos métodos que para o caso das farinhas de sêmola e de trinca. Foi também analisado o amido segundo a NP 2245 (1985). Todas as análises foram realizadas em triplicado.

6. Apresentação e discussão de resultados

6.1. Composição nutricional da sêmea e trinca de arroz

A análise da composição nutricional da farinha de sêmea e da farinha de trinca de arroz permite-nos conhecer quais são os seus principais constituintes. A tabela 3 apresenta os resultados médios obtidos, em base seca e base húmida.

Tabela 3 - Composição nutricional da farinha de sêmea e farinha de trinca de arroz

%	Sêmea		Trinca de Arroz	
	Base seca	Base húmida	Base seca	Base húmida
<i>Humidade</i>	-	3,46±0,01	-	6,37±0,01
<i>Extrato seco</i>	96,54±0,01	-	93,63±0,01	-
<i>Cinzas</i>	9,32±0,00	9,00±0,00	0,60±0,03	0,56±0,03
<i>Gordura</i>	19,84±0,12	19,16±0,11	0,50±0,11	0,47±0,10
<i>Proteína</i>	22,32±0,26	21,54±0,25	10,90±0,35	10,21±0,32
<i>Fibra</i>	12,24±0,10	11,81±0,10	0,37±0,08	0,35±0,07
<i>Carboidratos totais</i>	36,29±0,48	35,03±,46	87,63±0,35	82,05±0,32
<i>Amido</i>	12,36±5,77	11,93±5,57	60,50±2,76	56,65±2,58

É possível constatar que a humidade da farinha de trinca de arroz é mais elevada (6,37%) que o teor de humidade da farinha de sêmea (3,46%). Estes resultados fazem sentido uma vez que a trinca de arroz, ao contrário da farinha de sêmea, advém do processo de branqueamento do arroz ainda em grão. Segundo o Decreto-Lei nº157/2017 de 28 de dezembro, o arroz depois de seco e embalado não pode ultrapassar um teor de humidade de 14%, indo de encontro aos resultados obtidos.

No caso das cinzas, a Portaria nº254/2003 de 19 de março estabelece um valor limite de 1% para cinza total na farinha de arroz. Esse valor é cumprido pela farinha de trinca de arroz que tem uma quantidade de cinza de 0,60% (bs), mas a farinha sêmea ultrapassa largamente esse valor 9,32% (bs). Uma vez que as cinzas se referem ao teor

de resíduo inorgânico que permanece após a incineração da amostra ou completa oxidação da matéria orgânica do alimento, e que os minerais não são destruídos pelo calor (MIRANDA, 2014), constata-se que a farinha de sêmea apresenta um conteúdo mineral muito maior quando comparado com a farinha de trinca de arroz.

Quanto ao teor de gordura, a farinha de sêmea revela uma percentagem muito superior (19,84%, bs) à farinha de trinca de arroz (0,50%, bs). Considerando o valor de referência para o arroz branqueado (0,5%) (INSA, 2007), o resultado obtido para a farinha de trinca de arroz é semelhante, enquanto que o obtido para a farinha de sêmea é muito mais elevado. Tendo em conta que o valor de referência para o arroz integral (2,5%) (INSA, 2007) é superior ao do arroz branqueado, a diferença entre o teor de gordura da farinha de sêmea e de trinca de arroz é admissível. Esta diferença é também justificável pela composição do grão de arroz. Isto é, para a obtenção do arroz semi-branqueado é necessário fazer a remoção da película do arroz integral, resultando desta transformação a sêmea, cuja composição nutricional é bastante rica em gordura insaturada e oxidável (podendo conter mais de 20% do seu peso em óleo) (FEDDERN, FURLONG e SOARES, 2007). Já a trinca (grãos quebrados) resultante do branqueamento do arroz perdeu a maior parte da gordura.

No que diz respeito ao teor de proteína, os valores obtidos para a sêmea (22,32%, bs) são bastante superiores aos valores da trinca de arroz (10,90%, bs). Uma vez que é no gérmen que se encontram a grande parte dos nutrientes, faz sentido o valor de proteína da sêmea ser superior ao da trinca. Quando comparados os resultados obtidos com os valores de referência para o arroz integral (8,6%) e para o arroz branqueado (7,4%) (INSA, 2007), estes aproximam-se dos valores obtidos para a trinca. Da comparação do arroz integral com arroz branqueado podemos verificar que a película que envolve o grão de arroz (presente no grão integral) contribui com cerca de 1% de proteína o que é um valor bastante significativo. A sêmea é de facto muito rica em proteínas e apresenta mais do dobro da trinca.

Relativamente à percentagem de fibra, é possível verificar que a sêmea é muito mais rica neste nutriente do que a trinca de arroz, 12,24% e 0,37%, respetivamente. Comparando com os valores de referência para o arroz integral (3,8%) e para o arroz

branqueado (2,2%) (INSA, 2007) verificamos que no caso da sêmea os valores são largamente superiores, mas para a trinca os valores são significativamente mais baixos. Embora o arroz integral não possa ser equiparado à sêmea, uma vez que contém ainda a película, torna-se o produto mais semelhante.

Quanto aos valores de amido das duas farinhas, é possível constatar que a trinca atinge valores mais elevados quando comparados com a sêmea sendo de 60,50% e 12,36%, respetivamente. É aceitável que assim seja uma vez que é no endosperma (interior do grão) que se localiza a maior parte do amido. Comparando com os valores para o arroz branqueado (79,6%), verificamos que o amido obtido para a trinca de arroz é ainda inferior.

6.2. Composição nutricional da bebida de arroz

6.2.1. Hidrólise enzimática da bebida de trinca de arroz

Os resultados dos ensaios de produção da bebida vegetal feita com a farinha de trinca de arroz encontram-se nas tabelas do anexo 2 e nos gráficos das figuras seguintes.

Na figura 8 podemos observar a evolução da concentração de glucose na bebida à base de arroz pela utilização da enzima Termamyl 120L em função da sua concentração (0,4 $\mu\text{L/g}$ ou 4,0 $\mu\text{L/g}$), face ao controlo.

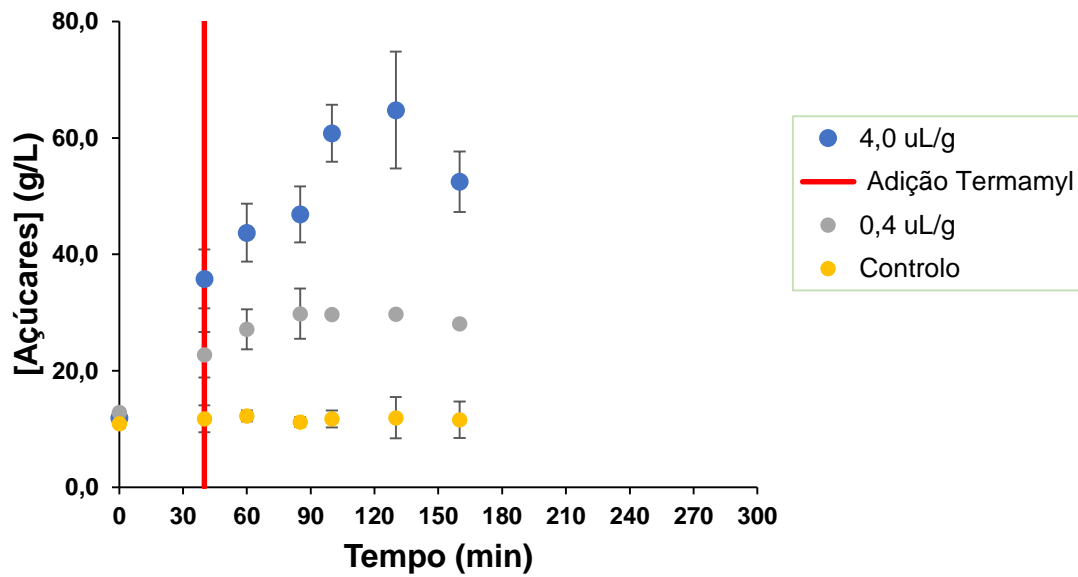


Figura 8 - Concentração de açúcares reductores na mistura à base de trinca de arroz com a ação da enzima Termamyl 120L (0,4 µL/g de farinha) e de (4 µL/g de farinha) e comparação com o controlo (0 µL/g) a 90 °C

Pelo gráfico da figura 8 é possível constatar que os açúcares reductores presentes na bebida logo após diluição da farinha de trinca de arroz em água é cerca de 10 g/L, e que esta se mantém constante no ensaio controlo. Ou seja, o facto da temperatura se manter nos 90°C durante o ensaio não influencia esta concentração. Podemos afirmar que a utilização da maior concentração da enzima Termamyl 120L (4,0 µL/g) conduz a concentrações de glucose na ordem dos 52,5-64,80 g/L, enquanto que a utilização da quantidade recomendada pelo fornecedor (0,4 µL/g) só proporciona a obtenção de uma bebida com cerca de 30 g/L. Esta diferença observa-se logo após o início da hidrólise. Os máximos de concentração de açúcares reductores são atingidos aos 90 min para ambas as concentrações testadas. É possível concluir que a enzima Termamyl 120L deve ser utilizada na concentração de 4,0 µL/g uma vez que permite obter uma bebida com o dobro da concentração de açúcares reductores relativamente à obtida com uma concentração de enzima recomendada pelo fornecedor. Por outro lado, também vemos que a hidrólise estará concluída ao fim de 90 minutos após a adição da enzima, uma vez

que o prolongamento da reação não traz qualquer benefício para o aumento da concentração de açúcares na bebida.

A Figura 9 compara os ensaios de hidrólise realizados com diferentes concentrações de enzima AMG 300L (2,25 $\mu\text{L/g}$ - quantidade recomendada pelo fornecedor - e 22,5 $\mu\text{L/g}$) e compara-a com o controlo.

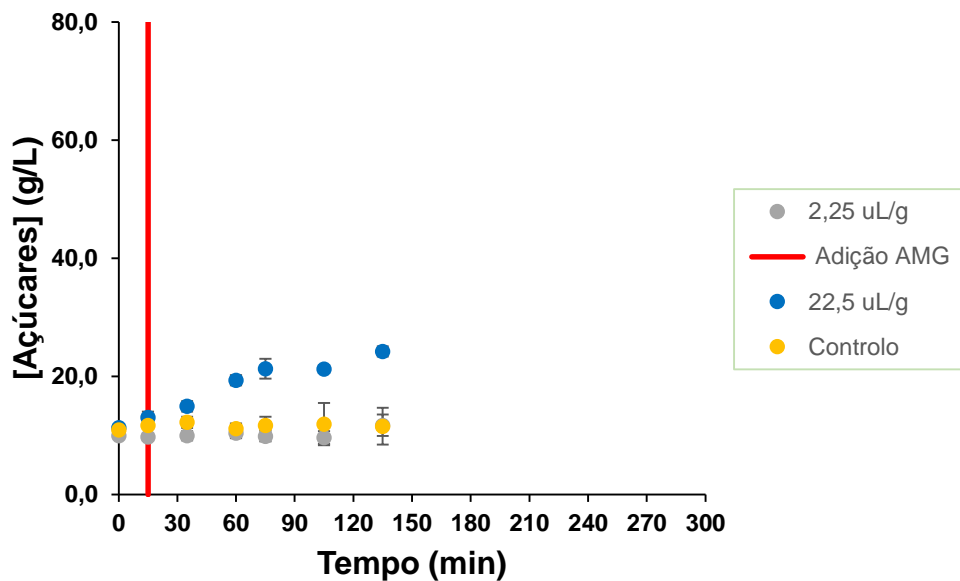


Figura 9 - Concentração de açúcares redutores na mistura à base de trinca de arroz com a ação da enzima AMG 300L (2,25 $\mu\text{L/g}$ de farinha) e de (22,5 $\mu\text{L/g}$ de farinha) a 60 °C e comparação com o controlo (0,0 $\mu\text{L/g}$ de farinha) sujeito às mesmas condições.

Através da análise do gráfico é possível observar que praticamente não existem diferenças entre o ensaio com AMG 300L com concentração mais baixa (2,25 $\mu\text{L/g}$) e o controlo, e que a concentração de açúcares redutores se manteve aproximadamente constante (10 g/L) durante todo o ensaio. Quando a enzima é utilizada na concentração de 22,5 $\mu\text{L/g}$ a concentração máxima de glucose (24,23 g/L) é atingida aos 13 min. Neste caso pode concluir-se que, apesar da enzima AMG 300L ter ação sobre o amido presente na farinha de trinca, ela tem dificuldade na degradação do amido disponível porque sendo uma amiloglucosidase necessita que o amido esteja liquefeito para poder atuar. Assim a sua utilização não é justificável de forma individual pelos valores de concentração de glucose obtidos serem baixos, quando comparados com os obtidos com a enzima Termamyl 120L, nas mesmas condições.

Neste sentido foi realizado um outro ensaio onde foram usadas as duas enzimas cujas concentrações utilizadas foram aquelas que proporcionaram os melhores resultados de hidrólise para a Termamyl 120L (4,0 $\mu\text{L/g}$) e de 2,25 $\mu\text{L/g}$ para a AMG 300L. A ordem de adição das enzimas prendeu-se com o facto da enzima Termamyl 120L apresentar a sua temperatura ótima aos 90 °C e a enzima AMG 300L aos 60 °C. Se a adição fosse iniciada com a enzima AMG 300L, esta iria desnaturar quando fosse adicionada a enzima Termamyl 120L que por sua vez também consegue trabalhar com temperaturas mais baixas (60 °C). No caso da AMG 300L usou-se a menor concentração uma vez que, como o amido já sofre um processo de hidrólise a temperaturas mais elevadas inferiu-se que neste caso estivesse mais suscetível à hidrólise pela AMG 300L e por isso não se justificava a maior utilização da concentração de enzima mais elevada.

A figura 10 mostra a evolução da concentração de glucose para o ensaio com as duas enzimas ao longo do tempo. A maior duração deste ensaio comparativamente com os anteriores é justificada pela necessidade de perceber se o aumento do tempo de hidrólise influenciava a concentração de glucose obtida.

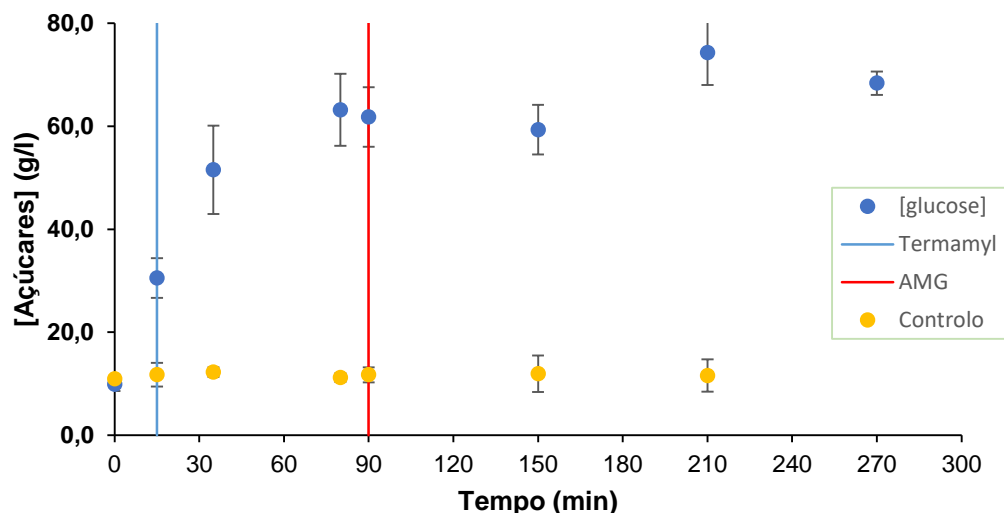


Figura 10 - Concentração de açúcares reductores na farinha de trinca de arroz com a ação de Termamyl 120L (4,0 $\mu\text{L/g}$ de farinha) a 90 °C e de enzima AMG 300L (2,25 $\mu\text{L/g}$ de farinha) a 60 °C e comparação com o controlo (0,0 $\mu\text{L/g}$ de farinha) sujeito às mesmas condições.

Analisando o gráfico da figura 10, verifica-se que após a adição da enzima Termamyl 120L a concentração de glucose tem um aumento muito significativo (de 10 g/L para 30,52 g/L). Observa-se também que a ação conjunta das enzimas Termamyl 120L e AMG 300L é bastante satisfatória uma vez que é atingindo o valor mais alto da concentração de glucose de todos os ensaios (74,27 g/L). No entanto podemos verificar que a adição da enzima AMG 300L não proporciona um aumento assim tão significativo na concentração dos açúcares redutores face à Termamyl 120L.

Podemos inferir que a adição da enzima AMG 300L, não apresenta um grande aporte ao processo pois não contribui significativamente para a hidrólise enzimática do amido apesar de este já ter passado por um processo térmico mais severo. Podemos ainda mencionar que o tempo de duração deste processo é bastante mais logo aproximadamente 4h/4h30, que implica um gasto maior de energia devido à necessidade de manter as temperaturas ótimas de atuação das enzimas.

6.2.2. Hidrólise enzimática da bebida de sêmea de arroz

No ensaio realizado com a farinha de sêmea de arroz (figura 11), que é significativamente mais pobre em amido que a trinça, foi utilizada a mesma combinação e quantidade das duas enzimas testadas em conjunto: 4,0 $\mu\text{L/g}$ de Termamyl 120L adicionada em primeiro lugar e 2,25 $\mu\text{L/g}$ de AMG 300L adicionada posteriormente, já que foi neste ensaio onde se obteve maior concentração de açúcares.

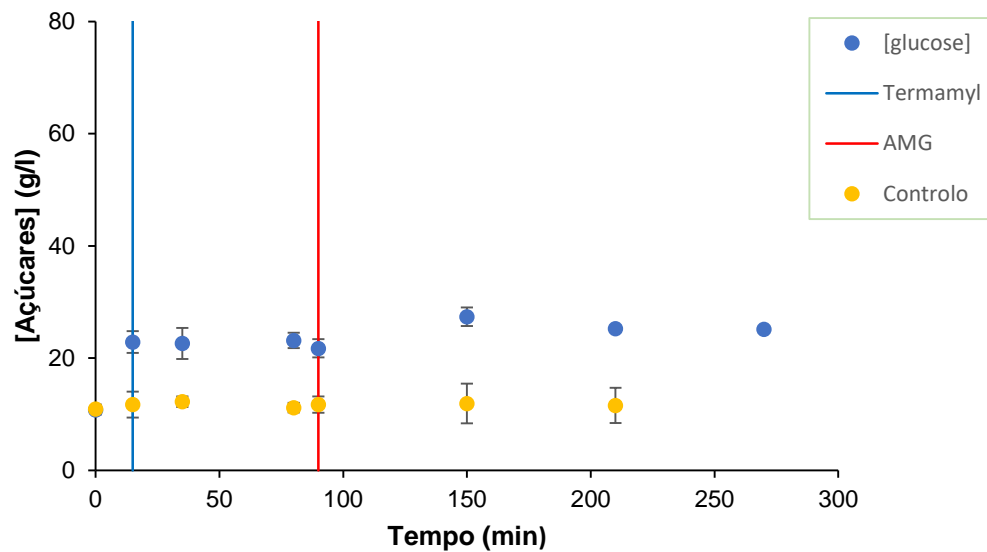


Figura 11 - Concentração de açúcares reductores na farinha de sêmea de arroz com a ação de Termamyl 120L (4,0 $\mu\text{L/g}$ de farinha) a 90 °C e de enzima AMG 300L (2,25 $\mu\text{L/g}$ de farinha) a 60°C e comparação com o controlo (0,0 $\mu\text{L/g}$ de farinha) sujeito às mesmas condições.

Através da figura 11 é possível constatar que a quantidade de açúcares reductores obtidos neste ensaio (máximo de 27,38 g/L) é claramente inferior à obtida para o caso da farinha de trinca (74,7 g/L). De alguma forma isto já seria previsível uma vez que a sêmea é 5 vezes mais pobre em amido do que a trinca (tabela 3). Pode concluir-se que existe hidrólise do amido disponível na farinha de sêmea já que se conseguem valores praticamente 2 vezes superiores aos obtidos para o ensaio controlo. Como os resultados obtidos em termos de concentração de açúcares não eram tão interessantes como no caso da farinha de trinca apenas se procedeu ao ensaio à escala piloto com esta matéria prima.

6.2.3. Ensaio à escala piloto para a bebida de trinca de arroz

Durante o ensaio a escala piloto foram recolhidas amostras para acompanhar a evolução do °Brix na bebida e calculada a correspondente concentração de açúcares reductores através da curva de calibração apresentada no ponto 5.5 (Tabela 4). Analisando os mesmos verifica-se que ao fim de 20 minutos a concentração de açúcares

é de 55,83 g/L. De acordo com os ensaios laboratoriais realizados anteriormente, este valor só se atingia ao fim 60 minutos, indicando que a concentração de açúcares se deve à concentração da bebida por evaporação de água e não pela hidrólise do amido. Com isto foi necessário ir adicionando água ao longo do processo para compensar as perdas de água por evaporação.

Tabela 4 – °Brix e concentração de açúcares redutores durante o ensaio à escala piloto (média ± desvio-padrão)

	°Brix	[Açúcares redutores] (g/L)
Sem enzima	1,10 ± 0,24	15,30 ± 1,27
Adição de enzima (t=0)	4,67 ± 0,40	33,75 ± 2,08
t = 20 min	8,93 ± 0,25	55,83 ± 1,29
t = 35 min	8,13 ± 0,73	51,69 ± 3,79
t = 42 min	8,57 ± 0,48	53,93 ± 2,47
t = 45 min	7,07 ± 0,40	46,17 ± 2,08
t = 55 min	7,63 ± 0,25	49,10 ± 1,29
t = 65 min	6,47 ± 0,29	43,06 ± 1,48
t = 70 min	7,43 ± 0,52	48,07 ± 2,72
t = 85 min	6,63 ± 0,41	43,93 ± 2,13
t = 95 min	7,20 ± 0,22	46,86 ± 1,12
t = 120 min	6,90 ± 0,43	45,31 ± 2,23

Na tabela 5 apresenta-se o balanço de massa global ao processo de fabrico da bebida, considerando que grande parte das perdas se devem à evaporação da água e o balanço parcial aos açúcares redutores admitindo que estes resultam da hidrólise do amido contido na farinha utilizada no ensaio. Podemos verificar que o rendimento do processo de hidrólise do amido foi de 61,7%.

Tabela 5 - Balanço de massa ao ensaio à escala piloto

Corrente de entrada	m (kg)	Corrente de saída	m (kg)	η (%)
Farinha de trinca	2	Bebida	21,48	
Água (inicial)	18	Fração insolúvel	0,99	
Água (adicionada)	8,2	Perdas (água evaporada)	5,74	
Amido na farinha inicial	56,65*2000 (1133,00 g)			
[Açúcares redutores] na solução inicial	18,00*15,3 (275,4 g)	[Açúcares redutores] na solução final	21,48*45,31 (973,0 g)	(973- 275,4) /1133 (61,7%)

A partir da bebida vegetal à base de trinca de arroz à escala piloto resultaram três bebidas com e sem aroma e esterilização. Estas foram caracterizadas relativamente ao °Brix, pH, turvação e concentração de açúcares redutores (tabela 6), cor (tabela 7), extrato seco e proteína (tabela 8). Foram também analisadas duas bebidas comerciais à base de arroz servindo como referência para comparação com as bebidas obtidas à escala piloto.

Tabela 6 – Valores médios de pH, turvação °Brix e [Açúcares] das bebidas à base de trinca de arroz produzidas à escala piloto e comparação com 2 bebidas comerciais

Bebida	pH	Turvação (FTU)	°Brix	[açúcares] (g/L)
Experimental				
Sem esterilização e sem aroma	6,85 ±	1206,67 ±	8,33 ±	43,31 ± 0,87
	0,02	28,67	0,05	
Com esterilização e sem aroma	5,56 ±	883,00 ±	8,17 ±	44,44 ± 2,41
	0,03	9,93	0,05	
Com esterilização e com aroma	5,56 ±	909,00 ±	8,47 ±	43,57 ± 0,45
	0,05	11,43	0,05	
Comercial				
Rude Health	7,03 ±	23033,33 ±	14,10 ±	92,47 ± 0,16
	0,01	2217,11	0,08	
Shoyce Arroz 0%	6,59	45200,00 ±	13,13 ±	87,28 ± 3,46
	±0,03	3470,83	0,05	

Relativamente aos valores do pH, não existem grandes diferenças entre as bebidas produzidas e as comerciais. No entanto as bebidas submetidas à esterilização têm valores mais baixos de pH (5,56) do que as restantes, sendo uma possível consequência do próprio processo térmico. A bebida comercial Rude Health é a que apresenta um pH mais elevado de 7,03.

A bebida que apresentou uma maior turvação foi a Comercial Shoyce Arroz 0% (45200,00 FTU) e com menor turvação foi a com esterilização e sem aroma (883,00 FTU). Este resultado é justificado pela composição da bebida Comercial Shoyce Arroz 0%, uma vez que a mesma tem um estabilizador conhecido como goma gelana cujas propriedades consistem em suspender partículas e formar um gel em bebidas de cereais sem aumentar muito a sua viscosidade das mesmas (NICROM, sd). A bebida produzida, com esterilização e sem aroma, como não tem qualquer aditivo alimentar tem tendência a criar um sedimento no fundo da garrafa, resultante da separação de fases líquida

(bebida) e sólida (vestígios de fração insolúvel de arroz). Analisando a tabela 6 é possível verificar que as bebidas comerciais têm valores de °Brix superiores ao das bebidas produzidas. As primeiras entre 13,13 e 14,10 °Brix, e as segundas entre 8,17 e 8,47 °Brix mantendo um °Brix muito semelhante entre elas como seria de esperar. Uma das possíveis explicações para a diferença de valores entre as bebidas comerciais e as produzidas poderia ser a adição de açúcar na forma de sacarose (o que levaria ao aumento do °Brix). No entanto segundo a informação nutricional de ambas as bebidas (anexo 3) estas não contêm açúcares adicionados. Podemos deduzir que não foi adicionada sacarose na formulação, mas por exemplo glucose já poderia ter sido adicionada (pois enquadra-se num tipo de açúcar naturalmente presente neste tipo de alimento tal como referido para o produto Rude Integral). Relativamente ao produto Shoyce Arroz 0% a sua rotulagem indica que não contém açúcares adicionados. Contudo, a declaração nutricional da bebida Rude Health indica que dos 11,9 g de hidratos de carbono presentes em 100 mL de bebida, 4,8 g são açúcares. A da bebida Shoyce Arroz 0% refere que 8,3 g de hidratos de carbono, 4,6 g são açúcares (anexo 3).

Os resultados obtidos para os açúcares redutores vão de encontro aos obtidos na análise do °Brix, isto é, as bebidas comerciais têm uma concentração de açúcares redutores praticamente duas vezes mais elevada (87,28 g/L e 92,47 g/L) do que as bebidas produzidas (43,31 g/L - 44,44 g/L).

Na tabela 7 estão indicados os valores obtidos nas coordenadas da cor. Relativamente à coordenada L* existe uma grande diferença de valores entre as bebidas comerciais e as produzidas. Enquanto que os valores de luminosidade para as comerciais variam entre 71,67 e 77,97, as produzidas são muito mais escuras (30,23 -36,37). De entre as produzidas as mais escuras são as que sofrem o processo térmico de esterilização.

Tabela 7 – Valores médios da cor das bebidas à base de trinca de arroz produzidas à escala piloto e comparação com 2 bebidas comerciais

Bebida	Cor		
	L*	a*	b*
Experimental			
Sem esterilização e sem aroma	36,37 ± 1,73	-0,73 ± 0,05	-0,5 ± 0,54
Com esterilização e sem aroma	30,23 ± 1,32	0,0 ± 0,24	5,03 ± 0,69
Com esterilização e com aroma	31,20 ± 1,70	-0,30 ± 0,22	5,83 ± 0,75
Comercial			
Rude Health	71,67 ± 1,60	-1,33 ± 0,05	-0,77 ± 0,05
Shoyce Arroz 0%	77,97 ± 1,13	-4,50 ± 0,08	6,83 ± 0,05

Relativamente à coordenada a*, apesar dos valores das bebidas comerciais serem ligeiramente mais negativos (sentido da cor verde) todos os valores são bastante próximos. Por último, os valores de b* indicam que a bebida Comercial Shoyce Arroz 0% e as variedades de bebida com esterilização têm maiores contribuições do tom amarelo provavelmente resultados dos processos térmicos em causa.

A tabela 8 mostra os valores obtidos os sólidos totais e proteína das diferentes variedades de bebida produzidas.

Tabela 8 – Teor de sólidos e proteína das bebidas à base de trinca de arroz produzidas à escala piloto e comparação com duas bebidas comerciais

Bebida	Sólidos Totais %	Proteína (g/100 mL)
Experimental		
Sem esterilização e sem aroma	8,01±0,01	—
Com esterilização e sem aroma	8,03±0,01	0,31 ± 0,00
Com esterilização e com aroma	8,22±0,01	0,28 ± 0,00
Comercial		
Rude Health	13,70	1,09 ± 0,01
Shoyce Arroz 0%	11,30	0,63 ± 0,11

Analisando os valores descritos na tabela 8, é possível concluir que todas as variedades de bebida produzidas têm valores de sólidos totais muito semelhantes (8,01 – 8,22%). As bebidas comerciais, têm uma percentagem de sólidos totais superior à bebida produzida devido à sua composição nutricional (anexo 3), destacando-se a bebida comercial Rude Integral com o valor mais alto (13,70%).

Relativamente à proteína, foram analisadas apenas as duas amostras de bebida produzida que tinham sofrido a esterilização, com e sem aroma, e os valores obtidos foram 0,28 e 0,31 g/100 mL, respetivamente. Quando comparados com as bebidas comerciais, Rude Health e Shoyce 0%, é notória a diferença tendo estas uma maior concentração de proteína, 1,09 e 0,63 g/100 mL, respetivamente. No entanto, comparativamente com os valores descritos nos rótulos das bebidas comerciais (anexo 3), verifica-se nestes que a bebida Rude Health tem um teor proteico bastante inferior (0,1g/100 mL). Esta diferença pode ser explicada pelo tipo de método que é utilizado para quantificar o teor de proteína. No caso da bebida Shoyce Arroz 0%, o valor indicado no rótulo (0,4 g/100mL) é semelhante ao obtido (0,63 g/mL).

Foi também efetuada uma prova de estabilidade das bebidas ao fim de 7 dias a 55 °C. O exame externo que consistiu em avaliar possíveis alterações na embalagem, não revelou sinais de fuga ou outras anomalias. O exame de conteúdo indicou que a cor e depósito da bebida se mantiveram iguais comparativamente ao início da prova, que houve

formação de cristais de açúcar na zona da cápsula e que o cheiro da bebida com aroma se manteve intensa, no entanto houve libertação de gás quando foi aberta. Para a bebida sem aroma notou-se a formação de cristais de açúcar na zona da rolha, a libertação de gás, devido à garrafa ser submetida a 55 °C, e alteração do cheiro (tipo mofo/fermentado).

A prova de estabilidade ao fim de 21 dias a 30 °C não revelou sinais de fuga nem outras anomalias. Quanto ao exame de conteúdo, a cor e depósito mantiveram-se iguais comparativamente ao início da prova. Este resultado era o esperado uma vez que para o fabrico da bebida vegetal, não foram utilizados estabilizantes, como goma gelana, que evitariam que a fração sólida da bebida de arroz presente na garrafa ficasse depositada, mas sim em suspensão. Nas bebidas com e sem aroma houve libertação de gás, no entanto ambas mantiveram o seu cheiro característico a avelã e a arroz, respetivamente.

6.2.4. Caracterização nutricional da fração insolúvel resultante do fabrico da bebida de arroz

A composição nutricional da fração insolúvel resultante do fabrico da bebida de arroz (subproduto do fabrico da bebida vegetal) permite fazer a comparação da quantidade de macronutrientes que ficaram na bebida e os que por sua vez ainda constituem a fração insolúvel após a hidrólise. Permite também a sua comparação com os valores obtidos da análise nutricional à matéria-prima (farinha de trinca de arroz) (tabela 9).

Tabela 9 - Composição nutricional da fração insolúvel

%	Fração Insolúvel		Trinca de Arroz	
	Base seca	Base húmida	Base seca	Base húmida
<i>Humidade</i>	-	78,75±0,19	-	6,37±0,01
<i>Extrato seco</i>	21,25±0,19	-	93,63±0,01	-
<i>Cinzas</i>	1,42±0,02	0,30±0,01	0,60±0,03	0,56±0,03
<i>Gordura</i>	1,40±0,20	0,30±0,04	0,50±0,11	0,47±0,10
<i>Proteína</i>	4,17±0,19	0,89±0,04	10,90±0,35	10,21±0,32
<i>Fibra</i>	5,12±0,01	1,09±0,00	0,37±0,08	0,35±0,07
<i>Carboidratos totais</i>	87,89 ± 0,01	18,27 ± 0,60	87,63 ± 0,35	82,05 ± 0,32
<i>Amido</i>	10,84±0,11	2,30±0,02	60,50±2,76	56,65±2,58

Analisando a tabela 9, verifica-se que a fração insolúvel tem uma maior percentagem de humidade (78,75%) quando comparada com a farinha de trinca de arroz (6,37%) o que é natural uma vez que a farinha de trinca não esteve em contacto com a água ao contrário da fração insolúvel que devido ao processo de fabrico absorveu água. Consequentemente o extrato seco da farinha de trinca é maior (93,63%) do que o da fração insolúvel (21,25%).

Relativamente às cinzas e à gordura (base seca), o subproduto tem uma percentagem mais elevada (1,42% e 1,40%, bs, respetivamente) quando comparada com as da farinha de trinca (0,60% e 0,50%, bs, respetivamente).

Em relação à proteína a percentagem na fração insolúvel (4,17%, bs) é bastante menor do que a obtida na farinha de trinca (10,90%, bs). Esta diferença pode ser justificada pela solubilização de algumas proteínas na bebida vegetal. No caso da fibra, a percentagem aumentou bastante na fração insolúvel (5,12%) quando comparada com a percentagem presente na farinha de trinca (0,37%, bs) uma vez que esta não solúvel em água.

A concentração de amido teve uma diferença bastante significativa entre os dois produtos (60,50%, bs) para a farinha de trinca comparativamente com a 10,84%, bs para a fração insolúvel). É notória a atuação da enzima Termamyl 120L durante a hidrólise do

amido. No entanto a hidrólise não foi completa pois ainda se encontrou amido no subproduto.

Por último podemos constatar também que ainda existe uma concentração de açúcares reductores bastante elevada no subproduto, derivada da hidrólise do amido, mas que ainda ficou agregada ao subproduto depois da separação da parte líquida (bebida).

7. Conclusão

A realização deste trabalho permitiu verificar que a ação das enzimas Termamyl 120L juntamente com AMG 300L para hidrolisar o amido transformando-o em açúcares simples, é uma opção viável não sendo assim necessária a adição de sacarose para atribuir o sabor adocicado à bebida. No entanto a utilização de uma quantidade de enzima Termamyl 120L dez vezes superior à recomendada pelo fornecedor, permite reduzir aproximadamente para metade o tempo necessário de fabrico da bebida obtendo-se uma concentração de açúcares muito semelhante à obtida pela junção das enzimas Termamyl 120L com AMG 300L. Perante este facto é possível confirmar que a utilização de uma dosagem superior de enzima Termamyl 120L leva a uma poupança de energia (porque só é necessário uma temperatura durante o processo), de recursos (uma vez que só é necessário investir numa enzima), a uma maior produtividade (porque em metade do tempo é possível alcançar a quantidade de açúcar que se pretende) e à preservação das características organoléticas da bebida vegetal. E para além destas mais valias, o subproduto trinca de arroz resultante da transformação do arroz pode ser utilizado para o desenvolvimento de uma bebida vegetal ao invés de ser utilizado apenas para a alimentação animal.

Relativamente à caracterização nutricional e qualitativa das bebidas obtidas neste trabalho quando comparadas com os valores obtidos e de referência das bebidas comerciais as conclusões são: o valor °Brix das bebidas desenvolvidas (8,17 – 8,47) é menor do que o das bebidas comerciais (13,13 e 14,10); o valor da turvação para as bebidas comerciais (23033,33 e 45200,00 FTU) é maior do que o valor das bebidas obtidas (883,00 - 1206,67 FTU); o valor obtido de proteína para as bebidas produzidas é menor (0,28 - 0,31 g/mL) do que o obtido para as bebidas comerciais (0,63 e 1,09 g/mL). No entanto, quando comparados os valores de proteína dos rótulos comerciais com os obtidos, verifica-se que existem diferenças mais significativas principalmente na bebida comercial Rude Health onde a justificação se pode prender pelo tipo de método utilizado para fazer a análise; o valor dos açúcares redutores das bebidas comerciais (87,28 e 92,47 g/L) é superior ao das bebidas produzidas (43,31 – 44,44 g/L); os sólidos totais das bebidas comerciais (11,3 e 13,7%) são superiores aos das bebidas obtidas (8,01 – 8,22%);

o valor de Ph para as bebidas comerciais (6,59 e 7,03) é superior ao das bebidas produzidas (5,56 – 6,85); por último no parâmetro da cor as bebidas produzidas são mais escuras, nomeadamente as que sofreram tratamento térmico, quando comparadas com as comerciais. Relativamente à coordenada a*, as bebidas comerciais são ligeiramente mais negativas (sentido da cor verde) e na coordenada b* a bebida comercial Shoyce Arroz 0% e as bebidas produzidas com esterilização têm um maior contributo do tom amarelo.

No futuro, seria interessante utilizar a fração insolúvel resultante da bebida vegetal para o fabrico de uma sobremesa. O estudo de uma maneira de aumentar a concentração de proteína para que se aproximasse mais dos valores do leite de vaca também seria uma mais valia.

Bibliografia

AIYER, Prasanna V. – **Amylases and their applications**. African Journal of Biotechnology, 2005. Vol.4(13), pp.1525-1529. [Consul. Agos. 2018]. Disponível em <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/viewFile/71631/60593>

AOAC – **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16ª edição, volume 2. Washington DC: AOAC, 1997.

AOAC – **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16ª edição, volume 2. Washington DC: AOAC, 1995.

AOAC – **Official Methods of Analysis of AOAC International**. 16ª edição, volume 2. Washington DC: AOAC, 2005.

BOTELHO, Nuno – **Tecnologias pós-colheita de arroz** – Agronegócios: Cerealicultura, 2014. [Consul. Set. 2018]. Disponível em <http://www.agronegocios.eu/noticias/tecnologias-pos-colheita-de-arroz/>.

CRUZ, Maria Fernanda Antunes da; PRESTES, Ariano Moraes – **Esporulação e Crescimento Vegetativo da *Pyricularia grisea* em Diferentes Meios de Cultura**. Passo Fundo – RS, sd. [Consult. Jul. 2018]. Disponível em http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do71_tc21-1.PDF.

Decreto-Lei nº157/2017 de 28 de dezembro – **Diário da República, 1ª série – Nº248**. Lisboa: Ministérios da Agricultura, Florestas e Desenvolvimento Rural. [Consult. Fev. 2018]. Disponível em <https://dre.pt/application/file/a/114405427>.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations - **Rice production quantity**. [S.l.]: FAO,2017. [Consult. Jul. 2018]. Disponível em <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.

FEDDERN, Vivian; FURLONG, Eliana Badiale; SOARES, Leonor Almeida de Souza – **Efeitos da fermentação nas propriedades físico-químicas e nutricionais do farelo de arroz**.

Ciência e Tecnologia de Alimentos: Campinas, 2007. [Consult. Nov. 2018]. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v27n4/20.pdf>.

INE, Instituto Nacional de Estatística, I.P. – **Estatísticas Agrícolas 2017**. Lisboa, 2018. [Consult. Agosto 2018]. Disponível em file:///C:/Users/User/Desktop/EA_2017.pdf. ISSN 0079-4139.

INSA, Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge – **Tabela da Composição de Alimentos**. 1ª ed. (Reimpressão) Lisboa: INSA, 2007. [Consult. Abr. 2018]. ISBN 978-972-8643-19-5.

JAEKEL, Leandra Zafalon; RODRIGUES, Rosane da Silva; SILVA, Amanda Pinto da – **Avaliação físico-química e sensorial de bebidas com diferentes proporções de extratos de soja e de arroz**. Ciência e Tecnologia de Alimentos: Campinas, 2010. 30(Abril-Junho), p.342-348. [Consul. Fev. 2018]. Disponível em <http://www.redalyc.org/html/3959/395940100009/>. ISSN 0101-2061.

MIRANDA, Sofia Alexandra Duarte – **Memória Final de Curso**. Universidade Atlântica: Barcarena, 2014. [Consul. Set. 2018]. Disponível em https://repositorio-cientifico.uatlantica.pt/bitstream/10884/866/2/Mem%C3%B3ria%20Final%20de%20Curso_Sofia%20Miranda.pdf

NCBE – **Enzymes for education amiloglucosidase Novozymes AMG**. University of Reading: National Centre For Biotechnology Education, 2018. [Consul. Fev. 2018]. Disponível em <http://www.ncbe.reading.ac.uk/MATERIALS/Enzymes/amyloglucosidase.html>

NCBE – **Enzymes for education α -amilase Novozymes Termamyl**. University of Reading: National Centre For Biotechnology Education, 2018. [Consul. Fev. 2018]. Disponível em <http://www.ncbe.reading.ac.uk/MATERIALS/Enzymes/termamyl.html>

NICROM – **Aditivos&ingredientes: Goma gelana um hidrocolóide multifuncional**. Sanatana de Parnaíba, sd. [Consult. Nov. 2018]. Disponível em: http://aditivosingredientes.com.br/upload_arquivos/201610/2016100124622001477573388.pdf

NOVARROZ – **A produção de arroz em Portugal**. Oliveira de Azeméis, sd. [Consult. Maio 2018]. Disponível em <http://www.novarroz.pt/pt/mundo-do-arroz/arroz-em-portugal/1-a-producao-de-arroz-em-portugal>.

NOVARROZ – **História do arroz em Portugal**. Oliveira de Azeméis, sd. [Consult. Maio 2018]. Disponível em <http://www.novarroz.pt/pt/mundo-do-arroz/arroz-em-portugal/3-historia-do-arroz-em-portugal>.

NOVOZYMES – **Enzyme information**. S.d. [Consul. Jan. 2018]. Disponível em https://bioenv.gu.se/digitalAssets/1608/1608318_enzyme-information.pdf

NP 2309-1 – **Microbiologia Alimentar. Conservas. Apreciação de estabilidade. Provas de estufa**. 1988. [Consul. Fev. 2018]

NP 2245 – **Carnes, derivados e produtos cárneos. Determinação do teor de amido. Processo de referência**. 1985. [Consul. Fev. 2018]

PIRES, Cristiana Loureiro – **Desenvolvimento de um preparado fermentado com base em subprodutos da transformação do arroz**. Instituto Politécnico de Coimbra: Escola Superior Agrária de Coimbra, 2014. [Consul. Fev. 2018]. Disponível em https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/16667/1/Cristiana_Pires_21223014_MEAL_Relat%C3%B3rio_2014.pdf

Portaria nº254/2003 de 19 de março – **Diário da República, I série-B – Nº66**. Lisboa: Ministérios da Economia, da Agricultura, Desenvolvimento Rural e Pescas, da Saúde e das Cidades, Ordenamento do Território e Ambiente. [Consult. Fev. 2018]. Disponível em <https://dre.pt/application/file/a/215437>

Regulamento (UE) nº1169/2011 de 25 de Outubro – **Jornal Oficial da União Europeia** – Estrasburgo. [Consult. Set. 2018]. Disponível em [http://www.cvrdao.pt/images/documentos/Regulamento%20\(UE\)%201169-2011%20-%20de%2025%20de%20Outubro.pdf](http://www.cvrdao.pt/images/documentos/Regulamento%20(UE)%201169-2011%20-%20de%2025%20de%20Outubro.pdf).

SETHI, S.; TYAGI, S. K.; ANURAG, R.K. – **Plant-based milk alternatives an emerging segmento of functional beverages: a review**. Journal of Food Science and Technology,

2016. V.53, ed. 9, p. 3408-3423. [Consult. Jul. 2018]. Disponível em <https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-016-2328-3>.

SILVA, Edson Pablo; BECKER, Fernanda Salamoni; SILVA, Flávio Alves da; SOARES JÚNIOR, Manoel Soares; CALIARI, Márcio; DAMIANI, Clarissa – **Bebidas mistas de extratos de arroz com maracujá e mamão**. Rev Inst Adolfo Lutz, 2015. 74(1): p.49-56. [Consul. Agos. 2018]. Disponível em <https://repositorio.bc.ufg.br/xmlui/bitstream/handle/ri/14306/Artigo%20-%20Edson%20Pablo%20da%20Silva%20-%202015.pdf?sequence=5&isAllowed=y>.

STORCK, Cátia Regina; SILVA, Leila Picolli da; COMARELLA, Carine Gláucia – **Influência do Processamento na Composição Nutricional de Grãos de Arroz**. Alim. Nutr: Araraquara, 2005. V.16, n.3, p.259-264. [Consult. Maio 2018]. Disponível em <http://serv-bib.fcfar.unesp.br/seer/index.php/alimentos/article/viewFile/477/444>. ISSN 0103-4235.

TECNOALIMENTAR – **Ernesto Morgado, S.A.: Arroz que nasce nas margens do Mondego**. Porto, 2015. [Consult. Jul. 2018]. Disponível em <http://www.tecnoalimentar.pt/noticias/ernesto-morgado-s-a-arroz-que-nasce-nas-margens-do-mondego/>

WALTER, Melissa; MARCHEZAN, Enio; AVILA, Luis Antonio de – **Arroz: composição e características nutricionais**. Ciência Rural. V.38, n.4 (2008), p.1184-1192. [Consult. Fev. 2018]. Disponível em <http://www.scielo.br/pdf/cr/v38n4/a49v38n4.pdf>. ISSN 0103-8478.

WERBER, Jéssica – **Arroz: Características Químicas, Culinárias e Nutricionais das Diferentes Variedades Consumidas no Brasil**. Brasília – DF, 2012. [Consult. Jul. 2018]. Disponível em http://bdm.unb.br/bitstream/10483/6333/1/2012_JessicaMunizWeber.pdf.

ANEXOS

Anexo 1 – Quantificação dos açúcares redutores pelo método DNS

Para a aplicação deste método, é necessário fazer o reagente DNS, uma solução padrão de glucose de concentração conhecida de forma a contruir a respetiva curva de calibração. Após a realização destas etapas faz-se a determinação dos açúcares redutores presentes nas amostras alimentares que se pretendem analisar. (autor, data).

O protocolo de preparação do reagente DNS e preparação da curva padrão encontra-se no anexo.

O reagente DNS é feito a partir da dissolução, à temperatura ambiente, de 5 g de ácido 3,5 – Dinitrossalicílico em 100 ml de NaOH 2N e 250 ml de água destilada. De seguida junta-se 150 g de tartarato duplo de sódio e potássio e perfaz-se o volume de 500 ml com água desmineralizada (a dissolução é facilitada se a solução for submetida a um ligeiro aquecimento).

Para a preparação da solução padrão (solução-mãe) de glucose a 1,0 g/L, pesa-se na balança analítica 0,1000 g de glucose e dissolve-se em aproximadamente 20 ml de água destilada sob agitação constante. Transferir esta solução para um balão volumétrico de 100 ml, completar o volume com água destilada e homogeneizar vigorosamente. Esta solução deve ser preparada e utilizada no dia da análise.

A etapa seguinte consiste em preparar diluições de glucose de 0 (água) a 0,6 g/L com intervalos de 0,1 a partir da solução-mãe (Tabela 10).

Tabela 10 - Diluições de glucose a partir da solução-mãe

Concentração de glucose (g/L)	Volume de solução padrão de glucose (ml)	Volume de água destilada (ml)
0,1	1,0	9,0
0,2	2,0	8,0
0,3	3,0	7,0
0,4	4,0	6,0
0,5	5,0	5,0
0,6	6,0	4,0

Após a preparação das diluições de glucose, identifica-se um tubo para cada uma das diluições e em cada um junta-se 0,5 ml da diluição com 0,5 ml do reagente DNS e fecha-se com uma tampa metálica. Mergulham-se os tubos em água fervente durante 5 minutos, retiram-se do banho e após o arrefecimento dos mesmos adiciona-se 5 ml de água destilada. De seguida transfere-se as amostras para as cuvetes apropriadas e mede-se a absorvência a 540 nm.

Antes de fazer as leituras é necessário calibrar o espectrofotómetro como o zero (5 ml de água destilada com 0,5 ml de reagente DNS).

Traça-se o gráfico de calibração Concentração de Glucose vs Absorvência numa folha de cálculo do Excel e calcula-se a equação da reta.

A partir daqui, para a determinação dos açúcares redutores nas amostras alimentares coloca-se 0,5 ml de reagente DNS com 0,5 ml de amostra (que deve ser diluída de forma a que a concentração de glucose esteja compreendida entre os 0,1 e 0,6 g/L), fechando com tampa metálica. Mergulha-se o tubo em banho fervente durante 5 minutos, retira-se do banho e após arrefecimento adiciona-se 5mL de água destilada, coloca-se em cuvetes e mede-se a absorvência a 540 nm. Na eventualidade do valor de absorvência se encontrar fora dos limites da curva de calibração (0,6 g/L) é necessário fazer uma nova diluição a partir da amostra inicial (HENRIQUES, 2017).

Anexo 2 – Tabelas da concentração de glucose dos ensaios laboratoriais

Nas tabelas seguintes estão indicados os tempos em que foram retiradas as amostras, o fator de diluição utilizado para as leituras de absorvância e a concentração média de açúcares em cada amostra.

Tabela 11 - Concentração de glucose na bebida de trinca com 8 μ L de enzima Termamyl 120L

Retirada de amostra	Fator de diluição	Concentração média de glucose (g/L)
Diluição inicial	1:100	12,835
Adição de Termamyl 120L		22,741
Após 20min		27,143
Após 45min		29,816
Após 60min		29,659
Após 90min		29,737
Após 120min		28,086

Tabela 12 - Concentração de glucose na bebida de trinca com 80 μ L de enzima Termamyl 120L

Retirada de amostra	Fator de diluição	Concentração média de glucose (g/L)
Diluição inicial	1:100	11,892
Adição de Termamyl 120L		35,791
Após 20min		43,731
Após 45min		46,875
Após 60min		60,830
Após 90min		64,800
Após 120min		52,496

Tabela 13 - Concentração de glucose na bebida de trinca de arroz com 45 μ L de enzima AMG 300L

Retirada de amostra	Fator de diluição	Concentração média de glucose (g/L)
Diluição inicial	1:100	9,966
Adição de AMG 300L		9,769
Após 20min		9,966
Após 45min		10,398
Após 60min		9,887
Após 90min		9,651
Após 120min		11,734

Tabela 14 - Concentração de glucose na bebida de trinca de arroz com 450 μ L de enzima AMG 300L

Retirada de amostra	Fator de diluição	Concentração média de glucose (g/L)
Diluição inicial	1:100	11,341
Adição de AMG 300L		13,071
Após 20min		14,958
Após 45min		19,360
Após 60min		21,325
Após 90min		21,247
Após 120min		24,234

Tabela 15 - Concentração de glicose na bebida de trinca de arroz com 80 µL de enzima Termamyl 120L e 45 µL de AMG 300L

Retirada de amostra	Fator de diluição	Concentração média de glicose (g/L)
Diluição inicial	1:100	9,848
Adição de Termamyl 120L		30,523
Após 20min		51,553
Após 45min		63,188
Adição de AMG 300L		61,812
Após 60min		59,336
Após 120min		74,273
Após 180min		68,377

Tabela 16 - Concentração de glicose na bebida de sêmea de arroz com 80 µL de enzima Termamyl 120L e 45 µL de enzima AMG 300L

Retirada de amostra	Fator de diluição	Concentração média de glicose (g/L)
Diluição inicial	1:100	10,752
Adição de Termamyl 120L		22,858
Após 20min		22,623
Após 45min		23,173
Adição de AMG 300L		21,758
Após 60min		27,379
Após 120min		25,256
Após 180min		25,138

Tabela 17 - Concentração de glucose no ensaio controlo só com efeito da temperatura

Retirada de amostra	Fator de diluição	Concentração média de glucose (g/L)
Diluição inicial	1:100	10,948
T=0 min		11,734
Após 20min		12,245
Após 45min		11,184
Após 60min		11,734
Após 90min		11,931
Após 120min		11,577

ANEXO 3 – Composição e declaração nutricional das bebidas comerciais Shoyce 0% e Rude Health



Informações ▾

Bebida de arroz integral biológica. Isento de glúten.

Ingredientes: água de nascente, arroz integral biológico (17%), óleo de girassol de pressão a frio biológico, sal marinho.

IT-BIO-006 Agricultura União Europeia / não União Europeia

Sem adição de açúcares. Contém açúcares naturalmente presentes.

Agitar antes de usar.

Conservar em local fresco e seco. Depois de aberto, conservar no frigorífico e consumir no prazo de 5 dias. Não congelar.

Consumir de preferência antes de: (ver parte superior da embalagem)

Peso líquido: 1 L

DECLARAÇÃO NUTRICIONAL	POR 100 ml
ENERGIA	257 kJ / 60 kcal
LÍPIDOS	1,4 g
DOS QUAIS SATURADOS	0,4 g
HIDRATOS DE CARBONO	11,9 g
DOS QUAIS AÇÚCARES	4,8 g
FIBRA	0,2 g
PROTEÍNAS	0,1 g
SAL	0,1 g

Figura 12 - Rótulo nutricional da bebida de Rude Health



Shoyce Arroz 0% é uma bebida leve e de sabor suave indicado para intolerâncias alimentares. Pode também ajudar a reduzir o risco de doenças cardiovasculares dado o seu baixo teor de gorduras saturadas. É uma fonte de fibra e de vitamina D: contém 15% da dose diária necessária de vitamina D, por 100 ml.

Benefícios

- 0% lactose
- 0% açúcares adicionados
- Sem glúten
- Fonte de cálcio e vitamina D
- Baixa em gorduras saturadas
- Ideal para intolerâncias alimentares

Ingredientes:

Água, arroz (12%), inulina, óleo de girassol, sais de cálcio do ácido ortofosfórico, sal marinho, estabilizador (goma gelana), vitaminas (riboflavina (B2), cianocobalamina (B12), ergocalciferol (D), aroma.

Informação Nutricional/Nutritional Information

Por/By/Par/Por	100 ml	%DR por 100
Energia/Energy/Énergie/Valor Energetico	194 KJ/46 Kcal	2%
Lípidos/Fat/Graisses/Grasas	1,0 g	1%
Dos quais/Of which/Dont/De las cuales:		
Saturados/Saturates/Saturés/Saturadas	0,1 g	1%
Hidratos de Carbono/Carbohydrate/Glucides/Hidratos de Carbono	8,3 g	3%
Dos quais/Of which/Dont/De las cuales:		
Açúcares/Sugares/Sucres/Azúcares	4,6 g	5%
Fibra/Fibre/Fibre Alimentaires/Fibra Alimentaria	1,5 g	
Proteínas/Protein/Protéines/Proteínas	0,4 g	1%
Sal/Salt/Sel/Sal	0,10 g	2%
Vitaminas e Sais Minerais/Vitamins and Minerals/ Vitamines et Sels Minéraux/Vitamins Y Sais Mineraies		
	Por/By/Par/Po	%VRN**
Cálcio/Calcium/Calcium/Calcio	120 mg	15%
Riboflavina (B2)/Riboflavin (B2)/Riboflavine (B2)/Riboflavina (B2)	0,21 mg	15%
Vitamina B12/Vitamin B12/Vitamine B12/Vitamina B12	0,38 µg	15%
Vitamina D/Vitamin D/Vitamine D/Vitamina D	0,75 µg	15%

Figura 13 - Informação nutricional da bebida comercial Shoyce Arroz 0%