



**ANA RITA
AMARAL SOARES**

**Caracterização de variedades de arroz – Aspectos
nutricionais**



**ANA RITA
AMARAL SOARES**

**Caracterização de variedades de arroz – Aspetos
nutricionais**

Relatório de estágio apresentado à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre de Biotecnologia – ramo Biotecnologia Alimentar, realizada sob a orientação científica da Doutora Ivonne Delgadillo, Professora Associada do Departamento de Química da Universidade de Aveiro, e orientação externa de Diogo Lemos, da empresa Novarroz – Produtos Alimentares, S.A.

o júri

presidente

Doutora Mara Guadalupe Freire Martins
Investigadora coordenadora do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Professora Doutora Ivonne Delgadillo Giraldo
Professora associada com agregação do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Doutor Jorge Manuel Alexandre Saraiva
Investigador auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

Agradecimentos

Em primeiro lugar, quero agradecer à minha orientadora, Dr.^a Ivonne Delgadillo, pela partilha de conhecimentos, pelo apoio e pelo entusiasmo ao longo deste percurso. Agradeço, também, ao Diogo Lemos pela sua orientação, pela confiança depositada, por toda a sua amizade e pelo apoio, que me ajudou quando as coisas não corriam da melhor maneira. Agradeço à empresa Novarroz – Produtos Alimentares, S.A. e a todos os colaboradores pela maneira acolhedora com que me recebeu.

Agradeço à Ana Catarina Moreirinha e à Ana Maria Costa por toda a ajuda que me deram, pelo tempo e paciência para o esclarecimento das dúvidas que me iam surgindo ao longo do trabalho prático e pelo apoio dado quando a prática laboratorial não corria da melhor forma.

Agradeço também à Inês Cardoso, pela partilha dos seus conhecimentos, pela sua amizade e pelo apoio que me foi dando ao longo deste ano, pelas conversas e boa disposição, que permitiu que este trabalho se realizasse da melhor forma.

Por último, e não menos importante, agradeço a todos os meus familiares, namorado e amigos, pelo apoio que me foram dando ao longo deste percurso.

palavras-chave

Diabetes Mellitus tipo II, ácido γ -aminobutírico (GABA), germinação, arroz, características nutricionais

resumo

Um dos principais problemas de saúde mais recorrente dos dias de hoje está associado à vida sedentária, à subnutrição e à obesidade, levando a inúmeros problemas nutricionais e a algumas doenças graves, nomeadamente a diabetes mellitus tipo II. Uma forma de auxiliar no tratamento dessa doença é a ingestão de alimentos ricos em ácido γ -aminobutírico (GABA), que ajuda a regular os níveis de glucose no sangue pela libertação de insulina. O arroz integral possui GABA, mas em baixas concentrações, sendo este aumentado pela germinação dos grãos.

Inicialmente, estudaram-se as características nutricionais do arroz, sendo então analisadas consoante as suas características biométricas, o *Kett*, o amido total, o índice glicémico, o teor de amilose aparente, o amido resistente e o teor proteico do arroz branqueado. Posteriormente, procedeu-se à escolha das amostras consoante o seu índice glicémico. Com isto, foram avaliadas as alterações da germinação no grão de arroz, de modo a estabelecer o tempo de germinação em que as concentrações de GABA sejam as mais elevadas, mas que outros componentes nutricionais no grão também estejam aumentados.

Para o índice glicémico, destacou-se uma amostra com um valor de índice glicémico muito baixo, *Japónica10*, inferior ao do pão. Nas amostras *Índicas*, houve uma correlação positiva entre o índice glicémico e o teor de amilose aparente, contrariamente ao que é documentado, e uma correlação fraca com o amido resistente. As amostras *Japónicas* possuem correlações muito fracas, abaixo de 0,30, entre as características nutricionais do arroz. Ao serem retiradas as amostras da variedade tipo *Risotto* das amostras *Japónicas*, obteve-se uma correlação negativa entre o índice glicémico e o amido resistente.

A germinação é um processo que permite aumentar e melhorar a qualidade biofuncional de qualquer cereal. A germinação das amostras de arroz promoveu a diminuição do amido total e o aumento do teor de açúcares redutores e do índice glicémico. As amostras *Japónica10*, *Japónica1* e *Japónica7* obtiveram maior quantidade de GABA às 24 h, sendo as amostras com melhor capacidade de germinação em relação às amostras analisadas.

keywords

Diabetes Mellitus type II, γ -aminobutyric acid (GABA), germination, rice

Abstract

Nowadays, one of the most common major health problems is associated with sedentary lifestyle, malnutrition and obesity, which leads to nutritional problems and to some serious diseases such as diabetes mellitus type II. One way to help in the treatment of this disease is the intake of food rich in γ -aminobutyric acid (GABA), which helps to regulate glucose levels in the blood by the release of insulin. Brown rice has GABA, but in low concentrations, being necessary to increase it by grain germination.

First of all, we studied the nutritional characteristics of the rice, being analysed according to their biometric characteristics, the *Kett*, the total starch, glycemic index, apparent amylose content, resistant starch and protein content of milled rice. Then we proceeded to the choice of the samples according to their glycemic index. After this, we studied the changes in the germination of rice grain, to establish the time of germination in which GABA concentration is higher, but in same way, other nutritional components remain increased in the grain.

In the glycemic index, a sample with very low glycemic index was highlighted, *Japonica10*, which had a below glycemic index comparing to bread. In the samples *Indica*, there was a positive correlation between the glycemic index and the apparent amylose content, contrary to what is documented. Also there was a weak correlation between the glycemic index and the resistant starch. The *Japonicas* samples had very weak correlations in the nutritional characteristics of rice, below to 0,30. When we withdrew the *Risotto* variety samples of the Japonica samples, we got a negative correlation between the glycemic index and resistant starch.

Germination is a process that allows the increase and improve of the biofunctional quality in cereals. The germination of rice samples, caused the total starch decrease and the reducing sugar content and glycemic index increase. The *Japonica10*, *Japonica1* and *Japonica7* samples, had higher amount of GABA at 24 h, being the best samples to germinate comparing to the others.

ÍNDICE

1. Contextualização e objetivos	1
2. Revisão Bibliográfica	5
2.1. Diabetes Mellitus	5
2.2. Ácido Gama-aminobutírico (GABA)	6
2.3. Germinação	8
2.3.1. Estrutura anatômica do grão de arroz.....	10
2.3.2. Composição química e nutricional.....	11
2.3.2.1. Amido	11
2.3.2.2. Proteínas.....	13
2.3.2.3. Lípidos	15
2.3.2.4. Polissacarídeos não amiláceos	16
2.3.2.5. Compostos antioxidantes e vitaminas.....	17
2.3.3. Índice Glicémico	18
2.3.4. Arroz integral vs arroz branqueado	19
2.4. Apresentação da empresa: Novarroz – Produtos alimentares, S.A.....	20
2.4.1. Processo industrial.....	21
2.4.2. Designações comerciais do arroz	24
3. Materiais e métodos	27
3.1. Amostras de arroz	27
3.2. Determinação das características Biométricas das amostras de arroz	28
3.3. Determinação do teor de humidade das amostras de arroz.....	30
3.4. Determinação do teor de amido	30
3.4.1. Soluções	30
3.4.2. Procedimento.....	30
3.5. digestão do amido para a determinação do índice glicémico	31
3.5.1. Soluções	31
3.5.2. Procedimento.....	31
3.6. Determinação do amido Resistente.....	32
3.6.1. Soluções	32
3.6.2. Procedimento.....	32

3.7.	Determinação do teor de amilose Aparente	33
3.7.1.	Soluções	33
3.7.2.	Procedimento.....	34
3.8.	Determinação do teor proteico.....	34
3.9.	Germinação	35
3.10.	Determinação do teor de GABA.....	35
3.10.1.	Soluções.....	35
3.10.2.	Procedimento	35
3.11.	Quantificação dos açúcares redutores	37
3.11.1.	Soluções.....	37
3.11.2.	Procedimento	38
3.12.	Quantificação dos compostos fenólicos solúveis.....	38
3.13.	Quantificação dos compostos fenólicos insolúveis	39
3.14.	Determinação do tempo de cozedura.....	39
3.15.	Análise estatística	40
4.	Resultados e Discussão	43
4.1.	Aspectos nutricionais do arroz branqueado	43
4.1.1.	Resultados das Características Biométricas das amostras de arroz.....	43
4.1.2.	Resultados do teor de humidade de amostras de arroz.....	48
4.1.2.1.	Otimização do procedimento	48
4.1.2.2.	Resultados do teor de humidade das amostras de arroz.....	48
4.1.3.	Resultados do teor de amido total	49
4.1.3.1.	Otimização do método para a determinação do teor de amido total.....	49
4.1.3.2.	Resultados do teor de amido total de amostras de arroz.....	54
4.1.4.	Resultados do Índice Glicémico de amostra de arroz	56
4.1.4.1.	Otimização do procedimento	56
4.1.4.2.	Valores de Índice Glicémico de amostras de arroz.....	57
4.1.5.	Resultados do amido resistente de amostras de arroz	60
4.1.5.1.	Otimização do procedimento	60
4.1.5.2.	Valores de amido resistente de amostras de arroz	62
4.1.6.	Resultados do teor de amilose aparente de amostras de arroz	64

4.1.7. Resultados do teor de proteína nas amostras de arroz.....	66
4.1.8. Correlações entre os parâmetros analisados anteriormente.....	67
4.2. Escolha de amostras para a germinação	75
4.2.1. Resultados do amido total das amostras germinadas	77
4.2.1.1. Alteração ao procedimento de amido total para as amostras germinadas .	77
4.2.1.2. Teor de amido total nas amostras germinadas	78
4.2.2. Resultados do índice glicêmico das amostras germinadas.....	79
4.2.3. Resultados do teor de GABA nas amostras germinadas	81
4.2.4. Resultados do teor de Ácido Glutâmico nas amostras germinadas.....	85
4.2.5. Resultados do teor de açúcares redutores nas amostras germinadas.....	87
4.2.6. Resultados dos compostos fenólicos solúveis nas amostras germinadas.....	88
4.2.7. Resultados dos compostos fenólicos insolúveis nas amostras germinadas.....	90
4.2.8. Escolha do tempo de germinação das amostras germinadas.....	92
4.2.9. Resultados do ensaio de cozedura das amostras germinadas.....	93
4.2.10. Resultados do teor de amilose aparente das amostras germinadas.....	95
4.2.11. Resultados do teor de amido resistente das amostras germinadas.....	96
4.2.12. Correlações entre os parâmetros analisados nas amostras germinadas	96
5. Conclusão.....	101
6. Bibliografia	103
7. Anexos	115

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação do arroz consoante o conteúdo de amilose aparente (%) [60].	12
Tabela 2 - Apresentação da lista de amostras analisadas da subespécie <i>Índica</i> , com o respetivo tipo, código e ano de colheita.	27
Tabela 3 - Apresentação das amostras analisadas da subespécie <i>Japónica</i> , com o respetivo código, tipo e ano de colheita.	28
Tabela 4 - Resultados da otimização da determinação da humidade.	48
Tabela 5 - Resultados do teor de amido, obtido usando o procedimento inicial, em que se recorria à gelatinização do amido, estes resultados não são apresentados em matéria seca.	51
Tabela 6 - Resultados do teor de amido total obtidos usando o procedimento baseado no procedimento para a quantificação de amido resistente, os resultados não são apresentados em matéria seca.	52
Tabela 7 - Resultados do teor de amido usando o procedimento em que a amostra é inicialmente colocada a dispersar com KOH, os resultados não são apresentados em matéria seca.	54
Tabela 8 - Resultados da otimização do procedimento para a quantificação do amido resistente e digerível, baseado no procedimento de Goñi.	61
Tabela 9 - Resultados do teor de amido resistente e amido digerível obtidos a partir do procedimento do kit da Megazyme para a quantificação de amido resistente.	62
Tabela 10 - Atribuição da classificação consoante o teor de amilose aparente às amostras analisadas.	65
Tabela 11 - Resultados das correlações obtidas para as amostras <i>Índica</i> analisadas.	68
Tabela 12 - Resultados das correlações obtidas para as amostras <i>Japónica</i> analisadas.	71
Tabela 13 - Resultados das correlações obtidas para as amostras <i>Japónica</i> sem a variedade tipo <i>Risotto</i>	74
Tabela 14 - Tempos de retenção dos parâmetros analisados.	83
Tabela 15 - Resultados da otimização do tempo de extração dos açúcares redutores.	87
Tabela 16 - Resultados da otimização da extração dos compostos fenólicos solúveis.	89
Tabela 17 - Resultados das correlações obtidas para as amostras germinadas.	97

Tabela 18 - Resultados das correlações obtidas para as amostras germinadas, exceto as amostras <i>Índica8</i> e <i>Japónica2</i>	98
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo do ácido γ -aminobutírico (GABA), a sua formação e a sua degradação.[26]	6
Figura 2 - Morfologia do grão de arroz (semente)[56].....	10
Figura 3 - Logotipo da empresa Novarroz – Produtos Alimentares, S.A[1].	20
Figura 4 - A) Receção do camião com arroz em casa, sendo neste local onde se processe à retirada de amostra para analisar no laboratório; B) Silos onde serão descarregados o arroz em casca, se este se encontrar de acordo com os parâmetros estabelecidos pela empresa. 21	
Figura 5 - Máquina polidora dos grãos de arroz.....	22
Figura 6 - A) Máquina responsável pela separação da trinca do grão inteiro; B) Silos de armazenamento do grão pronto a ser embalado.	23
Figura 7 - A) Máquina de detetor de metais, por onde as embalagens passam no final do embalamento; B) Armazenamento do arroz embalado.	24
Figura 8 – Vários tipos de arroz: A) Carolino; B) Agulha; C) Médio; D) Redondo; E) Risotto; F) Aromático; G) Glutinoso; H) Arroz integral; I) Arroz vaporizado; J) Arroz selvagem.	25
Figura 9 - Aparelho S21: A) Equipamento ligado ao computador; B) Sistema digital para a captura de imagens.	29
Figura 10 – Aparelho para a determinação do <i>Kett</i>	29
Figura 11 - Fotos dos grãos de arroz: A) Grãos de arroz com núcleo; B) Grãos de arroz com o núcleo gelatinizado.	40
Figura 12 - Resultados do comprimento e da largura em mm, valores representados no eixo da esquerda, e do rácio comprimento/largura (C/L), valores apresentados no eixo da direita.	44
Figura 13 - Resultados da brançura total e da brançura vítrea, no eixo da esquerda, e a % de área gessada, no eixo da direita, das amostras de arroz analisadas.	46
Figura 14 - Resultados do <i>Kett</i> para as amostras de arroz analisadas.	47
Figura 15 - Resultados do teor de humidade presente nas amostras analisadas.....	49
Figura 16 - Procedimento inicialmente usado para a determinação do teor de amido total.50	
Figura 17 - Segundo procedimento testado para a quantificação do amido total[62].	51
Figura 18 – Terceiro procedimento usado para a quantificação do amido total[96].	53

Figura 19 - Resultados da % do teor de amido total das amostras analisadas, apresentado em matéria seca.	55
Figura 20 - Procedimento inicialmente usado para a determinação do Índice Glicémico[96].....	56
Figura 21 - Curva de hidrólise de uma amostra com baixo índice glicémico (A) e outra com elevado índice glicémico (B), <i>Japónica4</i> e <i>Japónica5</i> , respetivamente, ou seja é a percentagem de amido hidrolisado durante as 3h de hidrólise analisadas.	57
Figura 22 - Curva de hidrólise de pão branco fresco, com um máximo de hidrólise de 68 % de amido hidrolisado.	58
Figura 23 - Resultado do Índice Glicémico das amostras analisadas.....	58
Figura 24 - Procedimento inicial usado para a quantificação do amido resistente e do amido digerível, baseado no procedimento de Goñi et al. (1996)[62].	60
Figura 25 - Resultados do teor de amido resistente, apresentado em % de matéria seca. ...	63
Figura 26 - Resultados da % de amilose aparente de cada amostra, em matéria seca.	64
Figura 27 - Resultados do teor de proteína nas amostras de arroz analisadas, em % de matéria seca.	66
Figura 28 - Amostras integrais escolhidas para germinar: A) <i>Japónica10</i> ; B) <i>Japónica1</i> ; C) <i>Japónica7</i> ; D) <i>Índica8</i> ; E) <i>Japónica2</i>	75
Figura 29 - Amostra <i>Índica8</i> germinada. A, B e C) Amostra com 24 h de germinação; D, E e F) Amostra com 48 h de germinação; G, H e I) Amostra com 72 h de germinação.	76
Figura 30 - Resultados do teor de amido total, em % de matéria seca, para cada amostra germinada.	78
Figura 31 - Resultados do valor do índice glicémico das amostras branqueadas e da amostra correspondente integral, codificada como tempo G0h.	80
Figura 32 - Resultados do índice glicémico das amostras germinadas, determinado para todos os tempos de germinação (0 h, 24 h, 48 h e 72 h).....	80
Figura 33 - Esquema do procedimento colorimétrico usado para quantificar o GABA.	82
Figura 34 - Exemplo de um cromatograma obtido para a amostra <i>Japónica10</i> G24 h: A) Pico do padrão interno (norleucina); B) Pico do GABA; C) Pico de Ácido Glutâmico/Glutamina.	83
Figura 35 - Resultados do teor de GABA nas amostras germinadas, analisado em todos os tempos de germinação e apresentado em % de matéria seca.	83

Figura 36 - Resultados do teor de Ácido glutâmico nas amostras germinadas, em % de matéria seca.	86
Figura 37 - Resultados do teor de açúcares redutores presentes nos grãos germinados, apresentado em % de matéria seca.	88
Figura 38 - Resultados do teor de compostos fenólicos solúveis presentes nas amostras germinadas, apresentados em % (mg/100g) em matéria seca.	89
Figura 39 - Resultados do teor de compostos fenólicos insolúveis presente nas amostras germinadas, apresentado em % (mg/100g) em amostra seca.	91
Figura 40 - Resultados do tempo de cozedura, quando o arroz se encontra 90 % cozido, para as amostras branqueadas, integrais (G0h) e as germinadas (G24h), das amostras em que se conseguiu definir o tempo de paragem da germinação.	93
Figura 41 - Resultados do teor de amilose aparente nas amostras integrais, tempo G0h, e nas amostras germinadas 24 h, apresentado em % de matéria seca.	95
Figura 42 - Resultado do teor de amido resistente de cada amostra, apresentado em % de matéria seca.	96

LISTA DE ABREVIATURAS

GABA – Ácido γ -aminobutírico

KOH – Hidróxido de potássio

HCl – Ácido clorídrico

NaOH – Hidróxido de sódio

KCl – Cloreto de potássio

BHT – Butilato de hidroxitolueno

GC-FID – Cromatografo de gás – equipado com detetor de ionização de chama

DNS – Ácido 3,5-dinitrossalicílico

C/L – comprimento/largura

G0h – Germinado 0 horas

G24h – Germinado 24 horas

G48h – Germinado 48 horas

G72h – Germinado 72 horas

mm – milímetros

min. – minutos

s – Segundos

h – horas

M – molar

mM - milimolar

kDa – kilodalton

ISO – International Organization for Standardization (Organização Internacional Padronizada)

mL – mililitro

μ L – microlitros

$^{\circ}$ C – graus celsius

g – gramas

mg – miligramas

rpm – rotações por minuto

U – unidades enzimáticas

AUC – Área debaixo da curva de hidrólise

IH – Índice de hidrólise

IG – Índice glicémico

nm – nanometro

Å – Angstrom

% – Percentagem

1. CONTEXTUALIZAÇÃO E OBJETIVOS

Este trabalho, realizado no âmbito da unidade curricular de projeto de estágio em parceria com a empresa Novarroz – Produtos Alimentares, S.A., tem como objetivo a aquisição de conhecimentos relacionados com a experiência laboratorial em contexto empresarial. A Novarroz, fundada em 1979, é uma empresa responsável pelo processamento de várias variedades de arroz de origem nacional e internacional, sendo este alimento a base do presente trabalho[1].

O arroz é um dos grãos de cereais mais comuns, sendo classificado como grãos de alimentos mais cultivados[2] e é uma das principais culturas alimentares do mundo[3]. Em todo o mundo, o arroz fornece cerca de 27 % da energia da dieta, cerca de 20 % da proteína ingerida[4] e 3 % da gordura dietética[5]. O arroz cultivado até ao presente sustenta dois terços da população mundial[6], e na Ásia, 60-70 % da energia consumida é obtida a partir do arroz, sendo a fonte mais rápida de alimento em África[4]. Uma pequena parte do arroz é usada como ingrediente em alimentos processados, sendo normalmente consumido como arroz cozido[7].

O arroz é rico em hidratos de carbono, contém quantidades moderadas de proteína e é uma boa fonte de vitaminas do complexo B. No entanto, contém pouca ou nenhuma quantidade de vitamina C ou D. Nenhum alimento pode fornecer todos os nutrientes necessários para manter uma dieta bem equilibrada, contudo, as dietas das pessoas economicamente mais desfavorecidas são fortemente dependentes de alimentos básicos, como o arroz, e aumentando o seu valor nutricional pode verificar-se um impacto favorável nos hábitos alimentares da população[4]. O principal constituinte do arroz é o amido, correspondendo a cerca de 75 % do grão de arroz branqueado[8]. É conhecido que este componente tem diferentes frações de digestão, sendo absorvido a diferentes velocidades

nas células do intestino dos humanos, levando a várias respostas no índice glicémico[9]. O amido de absorção rápida provoca um rápido e elevado pico dos níveis de glucose no sangue seguido de um rápido declínio, chegando abaixo dos níveis basais. Acredita-se que o amido de absorção lenta oferece uma grande extensão de benefícios na saúde devido ao efeito estabilizante e de sustentação dos níveis de glucose no sangue[10]. Deste modo, considera-se que, o arroz não é simplesmente um alimento[4], mas também uma fonte de controlo a certos distúrbios alimentares, nomeadamente a Diabetes Mellitus tipo II[10].

Diabetes mellitus é um síndrome caracterizado por uma absoluta ou relativa deficiência da insulina[11], ou seja, diabetes mellitus tipo I ou diabetes mellitus tipo II, respetivamente[12]. A diabetes mellitus tipo II está relacionada com a vida sedentária, a subnutrição e a obesidade, por isso, tendo atenção a estes pequenos fatores, pode-se reduzir a sua incidência e complicações[12]. Para os pacientes desta doença, é necessário ter em atenção a alimentação, uma vez que o consumo de alimentos com baixo índice glicémico proporciona respostas fisiológicas normais, diminuindo a saciedade, e permitindo uma melhor gestão da doença[10]. Alimentos com índice glicémico baixo são ricos em amidos de absorção lenta, reduzindo o risco de diabetes[10]. O índice glicémico é caracterizado pela resposta total da glicemia 2h após o consumo de 50 g de hidratos de carbono, relativamente ao pão branco ou glucose[13]. Em estudos recentes verificou-se que o ácido γ -aminobutírico (GABA) ajuda na modulação da libertação de insulina e glucagon[14]. Deste modo, regula os níveis de glucose no sangue como foi verificado por Gomez et al. (1999) em ratos diabéticos[15], sendo indicado no tratamento de pacientes de diabetes mellitus tipo II[16]. O ácido γ -aminobutírico (GABA) encontra-se no arroz integral e este é aumentado durante o processo de germinação do grão[17]. Apesar do GABA se encontrar no arroz integral a sua concentração não possui efeitos benéficos nem não benéficos, não apresentando a atividade nutricional esperada[18].

Este trabalho tem como principal objetivo o estudo das características do arroz branqueado, sendo analisadas várias variedades de arroz consoante as suas características biométricas, o *Kett*, o amido total, o índice glicémico, o teor de amilose aparente, o amido resistente e o teor proteico do arroz branqueado. Após estas determinações, proceder-se-á à escolha de algumas variedades para o desenvolvimento de um produto de arroz de elevado valor de mercado, ou seja, desenvolvimento de arroz germinado, com elevados índices de GABA. Para tal, o arroz será germinado durante várias horas e analisado consoante o teor

de amido total, o índice glicémico, o teor de GABA, os açúcares redutores e os compostos fenólicos solúveis e insolúveis. Após a análise destes resultados procede-se à seleção do melhor tempo de germinação, onde se irá analisar o tempo de cozedura, o teor de amilose aparente e o amido resistente, de modo a comparar com os dados do arroz antes de germinar. O desenvolvimento deste produto pretende que a empresa consiga colocar no mercado um produto de elevado valor acrescentado e, assim, destacar-se da concorrência.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. DIABETES MELLITUS

Diabetes mellitus é um síndrome caracterizado primeiramente por uma absoluta ou relativa deficiência da insulina e causado por vários mecanismos, resultando na hiperglicemia[11]. A diabetes mellitus subdivide-se, assim, em dois grupos distintos: em diabetes mellitus tipo I, caracterizado por ser dependente de insulina, e diabetes mellitus tipo II, podendo ter uma relativa dependência de insulina[12]. Cerca de 5 % do total de mortes que acontecem no mundo, em cada ano, são devidas à doença diabetes mellitus tipo 2, sendo quase 80 % destas ocorridas em países de baixo ou médio desenvolvimento. As complicações decorrentes desta doença são debilitantes e resultam num elevado gasto na saúde, por isso a prevenção seria primordial[11].

A diabetes mellitus tipo II subdivide-se em dois subtipos: os diabéticos não obesos e os diabéticos obesos. A baixa tolerância à glucose é uma categoria entre os valores normais de glicemia e de diabetes, com base nos níveis de glucose em jejum no sangue e os níveis 2h após a ingestão de glucose[11]. Esta doença parece estar ligada com a vida sedentária, subnutrição e obesidade, por isso, tendo atenção a estes pequenos fatores pode-se reduzir a incidência, prevalência e complicações da diabetes mellitus tipo II[12]. Tem-se verificado que a incidência da diabetes tipo II aumenta exponencialmente com o aumento da obesidade[19]. Alimentos com índice glicémico mais baixo permitem uma melhor gestão da diabetes mellitus tipo II, uma vez que possuem amido de absorção lenta e por isso, controla a saciedade, proporcionando respostas fisiológicas normais. O arroz é um desses alimentos que possui amido de absorção lenta, tendo a vantagem do aumento lento dos níveis de glucose no sangue, fornecendo energia durante mais horas. Alimentos com amido de absorção rápida além de provocarem um rápido e elevado pico dos níveis de glucose no

sangue, provocam também um rápido declínio dos níveis de glucose, ficando abaixo dos níveis basais. Logo, alimentos com amido de absorção lenta são indicados para pacientes de diabetes mellitus tipo II[10]. Estudos recentes, em tecidos humanos, mostram que o ácido γ -aminobutírico (GABA), quando libertado dentro das ilhotas do fígado, ativa canais e recetores do ácido γ -aminobutírico (GABA), que modulam a libertação de insulina e glucagon, as hormonas responsáveis pela regulação da glucose no sangue[14].

2.2. ÁCIDO GAMA-AMINOBTÚRICO (GABA)

O ácido γ -aminobutírico (GABA) é um ácido aminado não proteico[20]. É produzido em plantas, microrganismos e alguns mamíferos[21] [22] pela descarboxilação do ácido L-glutâmico, sendo catalisada pela enzima ácido glutâmico descarboxilase (Figura 1)[23] [24]. Esta reação leva a uma diminuição correspondente da concentração de L-ácido glutâmico[25].

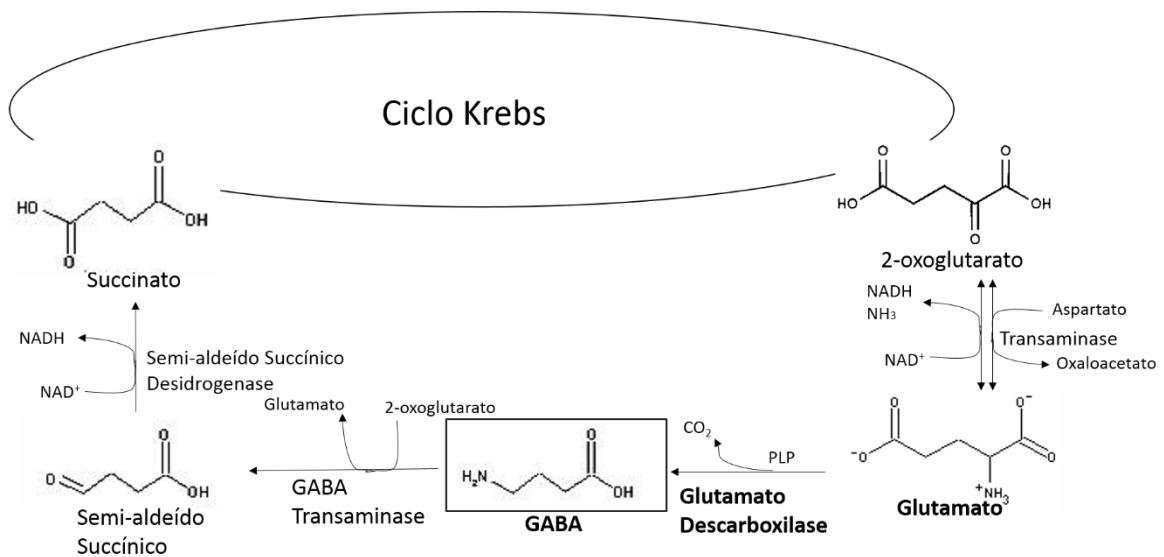


Figura 1 - Ciclo do ácido γ -aminobutírico (GABA), a sua formação e a sua degradação.[26]

A concentração do ácido γ -aminobutírico aumenta devido à ativação da enzima ácido glutâmico descarboxilase, que é, por sua vez, ativada pelos níveis citosólicos de H^+ ou Ca^{2+} [26]. Estes níveis podem ser aumentados em resposta à estimulação mecânica, dano mecânico, choque térmico, hipoxia, acidificação citosólica, stresse e fito-hormonas[26] [24]. O GABA pode ser metabolizado através de uma transaminação reversível, levando à formação do semi-aldeído succínico, catalisado pela GABA transaminase, apresentado a

negrito na Figura 1. Este produto é oxidado a succinato numa reação irreversível, catalisada pela semi-aldeído succínico desidrogenase, e o produto entra no ciclo de Krebs[26].

Como foi dito anteriormente, o GABA modula a libertação de insulina e glucagon, de modo a regular a quantidade de glucose no sangue[14]. Outro estudo, feito por Adeghate et al. (2002), mostra que o GABA pode aumentar significativamente a secreção de insulina do pâncreas de ratos normais, corrobora o que foi concluído por Cavagnini et al. (1982), que refere que o GABA aumenta significativamente os níveis de insulina no plasma de humanos[16]. Segundo Gomez et al. (1999), verifica-se uma diminuição da glucose no sangue de ratos diabéticos e o aumento da concentração de insulina no plasma[15]. Como a suplementação de GABA, os níveis de insulina no sangue aumentam, sendo indicada nos pacientes de diabetes mellitus tipo II[16].

O GABA, para além dos efeitos benéficos para quem sofre de diabetes mellitus tipo II, também tem outros benefícios para a saúde, tendo várias funções fisiológicas[27] [22]. Estudos concluíram que o GABA leva à diminuição da pressão arterial em ratos, usando arroz germinado, com elevadas concentrações de GABA[28], ou seja, induz os efeitos hipotensivos[29]. Além disso, ajuda também na recuperação dos principais sintomas relacionados com o problema de álcool em humanos[30] e controla o stresse, tendo efeitos tranquilizantes em animais[28]. Segundo Oh et al. (2004), através do uso de arroz germinado, o GABA inibe a proliferação de células cancerígenas, estimulando as células imunitárias[31]. Este estudo conseguiu inibir a proliferação de células cancerígenas usando células humanas com leucemia e cancro cervical[31]. Apesar do GABA ser um ácido aminado amplamente distribuído na natureza[32], encontrando-se no embrião de arroz, no chá verde e na soja, a sua concentração nestes produtos naturais é demasiado baixa para a sua atividade biofuncional esperada, não havendo efeitos benéficos nem não benéficos a partir do consumo de GABA nestes produtos[18]. A ingestão contínua de alimentos contendo GABA é bom para a aceleração do metabolismo do cérebro, prevenindo dores de cabeça, obstipação e mantendo os níveis de açúcares no sangue[33].

Portanto, a procura de alimentos ricos em GABA torna-se um dos focos mais importantes na área de pesquisa de alimentos funcionais. As alterações no conteúdo de GABA são reforçadas no estado da germinação de grãos, permitindo assim melhorar a qualidade do arroz[17]. As diferenças no conteúdo de GABA que se podem encontrar nas

diferentes variedades de arroz são principalmente causadas pela composição genética do grão de arroz[34].

2.3. GERMINAÇÃO

A germinação é um processo pelo qual a qualidade do cereal pode ser melhorada na digestibilidade e função fisiológica[35] [36]. Os grãos germinados integrais, também chamados de grãos brotados[26], são produzidos embebendo-os em água para promover a germinação[24], sendo este processo chamado de pré-germinação[37]. É o primeiro passo para a penetração de água, que transforma o tecido inativo em tecido vivo[38], promovendo a deformação do embrião[33].

Durante o processo de germinação, as enzimas endógenas dos grãos de arroz são ativadas[39]. Estas enzimas decompõem grandes compostos moleculares, como proteínas, amido e polissacarídeos não amiláceos, em compostos moleculares menores[39], levando ao aumento de oligossacarídeos e aminoácidos[40]. Também há aumento da síntese de componentes celulares[38], que irão suportar a futura planta[41]. Este processo provoca alterações nas propriedades nutricionais e funcionais, bem como nas características texturais[39] [42], promovendo o aumento da qualidade organolética[40], levando, assim a uma maior biodisponibilidade dos nutrientes presentes nos grãos de arroz[43]. Apesar do ácido fítico ter um efeito quelante e provocar a não absorção de certos minerais, quando neutralizado, liberta as proteínas, vitaminas e enzimas, permitindo que estes nutrientes importantes sejam absorvidos durante a digestão[43], como as proteínas e o amido[44].

A mudança mais significativa durante a germinação ocorre no amido, que é quebrado em açúcares mais simples pelas amilases[45], sendo a α -amilase e β -amilase, enzimas com um papel preponderante na digestão do amido[36]. Estas enzimas não atuam no arroz seco, mas quando começa a germinação tornam-se ativas, uma vez que convertem o amido em açúcares num processo de sacarificação[36], tendo a α -glucosidase também um papel importante no processo de degradação do amido[46]. Os aminoácidos que são armazenados nos grãos como proteínas de armazenamento são decompostos, pela absorção de água durante a germinação pelas proteases, e, em seguida, transformados em amidas transportáveis e fornecidas para as partes em crescimento das plântulas do arroz[21]. Além disso, durante a imersão e germinação, a enzima ácido glutâmico descarboxilase é ativada, levando à produção de GABA[21].

Esperar-se-ia um aumento do índice glicémico neste tipo de produtos germinados, uma vez que há um aumento dos oligossacarídeos e açúcares redutores, mas tal não se verifica porque, por sua vez o teor de fibra dietética também aumenta[39]. A fibra dietética é conhecida por baixar o índice glicémico através da regulação da absorção de glucose nos intestinos[47].

O processo de germinação ou pré-germinação melhora o conteúdo em GABA e outros compostos biofuncionais, como a fibra dietética e compostos fenólicos[37]. Os níveis de GABA no arroz integral germinado são influenciados por muitos fatores, incluindo o tempo de duração da incubação das sementes[34, 40]. O seu aumento é devido às alterações bioquímicas que ocorrem durante o processo de germinação[39]. Estudos do efeito da imersão em água na distribuição dos aminoácidos no núcleo do arroz, indicam que o conteúdo em GABA no embrião aumenta significativamente durante a imersão em água, uma vez que é aí que ele é produzido[48, 49].

Kayahara et al. (2001) [50] mostrou que os teores de nutrientes existentes no grão de arroz aumentaram durante a germinação, mas também novos compostos químicos são libertados, como inositóis, ácido ferúlico, ácido fítico, tocotrienóis, zinco e γ -orizanól. Em particular, a quantidade de GABA foi quantificada como sendo dez vezes mais elevada no grão de arroz germinado do que no grão de arroz branqueado e duas vezes mais elevado do que no arroz integral[50]. Trachoo et al. (2006)[51] verificou que os grãos de arroz germinados apresentam um aumento de muitos nutrientes, como vitamina B, açúcares redutores e teores de proteína total.

Os grãos germinados contém vitaminas, minerais, fibras e outros componentes importantes, como o ácido fítico e o ácido ferúrico[24]. Os compostos fenólicos, para além de se encontrarem no arroz branqueado, no arroz integral e no arroz integral germinado, encontram-se aumentados no arroz integral germinado[43]. Isto explica o melhor valor nutritivo do arroz integral germinado em comparação com os outros[43]. Com o aumento da concentração dos compostos bio-funcionais no arroz germinado, estes podem interagir sinergicamente para produzir um melhor efeito funcional do que eles individualmente[52]. O arroz integral germinado pode oferecer vários aumentos metabólicos na diabetes tipo II e mesmo prevenir complicações[53].

Segundo Ohtsubo et al. (2005)[40], o valor dos produtos de arroz pré-germinado integral encontra-se mais elevado no mercado alimentar do Japão, porque contém grandes

quantidades de GABA e outros componentes nutricionais que os produtos de arroz normal branqueado não possuem. As propriedades texturais do arroz germinado após o cozimento são melhoradas, pois a germinação altera devido à decomposição dos polímeros de alto peso molecular, isto é, amido, proteínas e outros polissacarídeos[54].

2.3.1. Estrutura anatômica do grão de arroz

O arroz provém de um gênero *Oryza*, da qual são cultivadas apenas duas espécies: *Oryza sativa* e *Oryza glaberrima*. Atualmente quase todas as variedades de arroz cultivadas têm origem na espécie *Oryza sativa*[55]. Esta pode ser dividida em três subespécies: *Índica*, *Japônica* e *Javanica*, sendo as subespécies *Índica* e *Japônica* as mais comuns. A subespécie *Índica* é mais comum nas regiões tropicais, uma vez que são muito tolerantes à seca, no entanto não toleram temperatura mais frias. Esta subespécie é caracterizada por grãos de médio a longo comprimento, estreitos de largura e lisos. A subespécie *Japônica* é mais tolerante a temperaturas mais frias, sendo menos tolerante à seca, pragas e doenças. Esta subespécie é caracterizada por grãos curtos e largos[5]. A morfologia do grão de arroz é comum às várias variedades de arroz existentes no mercado, sendo apresentada na Figura 2[56].

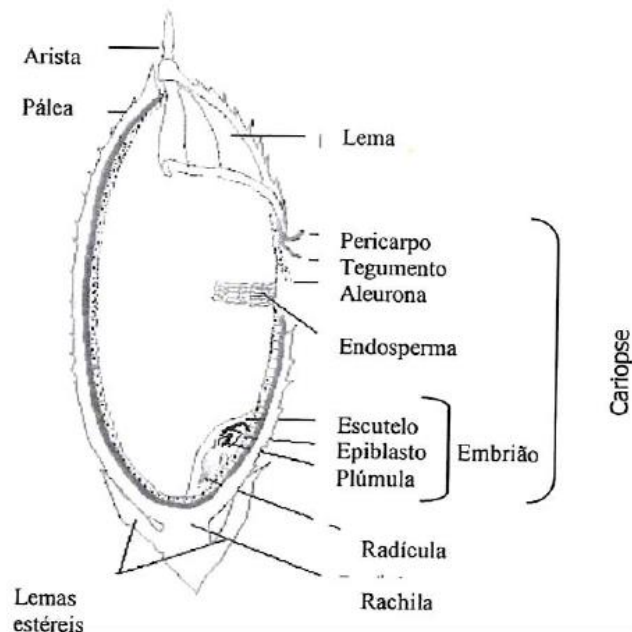


Figura 2 - Morfologia do grão de arroz (semente)[56].

As células do aleurona e do embrião são ricas em corpos proteicos, contendo globoides ou corpos de fitato, e corpos lipídicos. A camada de aleurona é composta por 1 a 5 camadas de células, sendo mais espessa na zona dorsal do que na zona ventral, parte em que se localiza o embrião, e é mais espessa no grão curto do que no grão longo. A camada de células mais interna da aleurona é rica em proteínas e lípidos, tendo amiloplastos e grânulos de amido mais pequenos do que os que se encontram no endosperma. O endosperma é composto por paredes finas que são embaladas com amiloplastos contendo os grânulos de amido, e também contém corpos proteicos. O amido encontra-se em maior quantidade no endosperma do que no resto do grão de arroz[56].

O grão de arroz ou a cariopse consiste no tegumento, embrião e endosperma como tecidos botânicos proeminentes. O tegumento é composto pela casca e tecidos do farelo, que são separados distintamente devido à sua integridade física, natureza morfológica e composição química. O núcleo, a partir do qual a casca é separada, é conhecido como arroz integral, o qual contém cerca de 5 % de farelo. O arroz integral contém camadas exteriores de pericarpo, tegumento e núcleo, o germe ou embrião e o endosperma. O farelo, que é composto pelo tegumento, pericarpo e aleurona, é uma boa fonte de proteína, fibras dietéticas, minerais, vitaminas e fitoquímicos, como ácidos fenólicos, orizanol e GABA[57].

2.3.2. Composição química e nutricional

2.3.2.1. Amido

O amido constitui aproximadamente 75 % do grão de arroz branqueado[8]. É composto por dois grandes polímeros de glucose, a amilose, que é uma cadeia longa com ligações $\alpha(1 \rightarrow 4)$, e a amilopectina, que possui além das ligações $\alpha(1 \rightarrow 4)$, também ligações $\alpha(1 \rightarrow 6)$, as ramificações[58].

O teor de amilose aparente é o ponto mais importante na qualidade de comer e cozinhar o arroz[59] e varia entre os 0 e 33 % [58], sendo o arroz caracterizado consoante o conteúdo de amilose (Tabela 1)[60]. Este conteúdo tem impacto na textura do arroz cozido e nas propriedades funcionais do amido do arroz[58]. Estas propriedades funcionais envolvem tanto a amilose como a amilopectina e a sua interação[58]. A proporção do teor de amilose e de amilopectina tem um efeito sobre as características funcionais e de inchamento do amido, solubilidade em água, capacidade de ligação à água, propriedades mecânicas e de barreira dos filmes de amido e as propriedades microscópicas de géis de

amido, tais como distorção granular e inchaço[8]. A amilose atua como um inibidor do inchaço, especialmente na presença de lípidos[6].

Tabela 1 - Classificação do arroz consoante o conteúdo de amilose aparente (%) [60].

Conteúdo de amilose aparente	Classificação	Arroz ceroso e não ceroso
0-2 %	Glutinoso	Ceroso
2-12%	Muito baixa	Não ceroso
12-20 %	Baixa	
20-25 %	Média	
25-33 %	Alta	

O amido é classificado como amido rapidamente digestível, amido lentamente digestível e amido resistente. O conteúdo de amido rapidamente digestível é relacionado positivamente com o índice glicémico dos alimentos ricos em amido. Muitos fatores, como a organização da superfície, a arquitetura e tamanho granular, a composição do amido, o tipo de cristal polimorfo e a presença de grânulos compostos, afetam a taxa e a extensão da digestão dos grânulos de amido[61].

O amido digestível lentamente é considerado benéfico para a gestão da dieta de desordens metabólicas, incluindo diabetes e hiperlipidemia. A captação seletiva de alimentos que induzem respostas de baixo índice glicémico, melhora o controle total de glucose no sangue em pacientes que sofrem de diabetes mellitus e também atenua os níveis séricos de colesterol total em indivíduos hiperlipidémicos[13].

O amido resistente é definido como a soma do amido e dos produtos da degradação do amido não absorvidos no intestino delgado de indivíduos saudáveis. A relação amilose-amilopectina, a forma física, o grau de gelatinização, os tratamentos térmicos, refrigeração e o armazenamento afetam o conteúdo em amido resistente nos alimentos. O amido resistente torna-se importante, uma vez que a ingestão de alimentos com elevadas quantidades pode provocar fermentação colónica, crescimento bacteriano, volume fecal e glicemia pós-prandrial, o que se torna indesejável para o consumidor[62].

As diferenças nas propriedades do amido de cereais em grãos e farinhas contribuem para as aplicações em diferentes alimentos e utilizações industriais, e a gelatinização (térmica) e propriedades de retrogradação estão entre as propriedades físico-químicas mais importantes do amido[59]. A temperatura à qual o amido inicia e finaliza a gelatinização é importante porque está relacionada com o tempo de cozedura[59]. A temperatura de

gelatinização é um importante indicador de cozimento e processamento da qualidade do arroz, ou seja, arroz cozido com alta temperatura de gelatinização possui uma textura mais dura do que o arroz cozido com menor temperatura de gelatinização[59]. Em alguns casos, a temperatura de gelatinização correlaciona-se negativamente com o índice glicêmico e positivamente com o amido resistente, um componente de fibra dietética solúvel[59]. A retrogradação descreve o processo no qual uma pasta de amido aquecida arrefece abaixo da temperatura de fusão dos cristais de amido e a estrutura da amilose e da amilopectina reassocia-se[59]. Além disso os grãos de amido inchados unem-se numa estrutura ordenada, o que resulta no aumento da viscosidade do gel de estruturas que contém amido[59].

O amido de arroz, na sua forma gelatinizada, tem um sabor suave e cremoso, o que o torna um bom creme de amido[60]. Uma vantagem do amido de arroz em relação aos outros amidos é a sua grande aplicação numa grande variedade de alimentos, devido à sua hipoalergenicidade da proteína associada, como o glutén que é encontrado nos restantes cereais[60]. Durante o armazenamento do arroz, verificam-se alterações mínimas na composição química do arroz, ocorrendo algumas alterações no amido, como alguma hidrólise ou degradação, levando, assim, ao aumento do teor de açúcares redutores e à diminuição do teor de açúcares não redutores e de amido. Não havendo indicações que ocorram alterações significativas na estrutura molecular do amido, devido à sua quantidade elevada e à pouca sensibilidade dos métodos[6].

Durante a germinação, ocorre aumento no teor de açúcares totais e açúcares redutores[21]. Este aumento é devido à degradação do amido presumivelmente envolvendo uma ação inicial da α -amilase nos grânulos de amido[21], que por sua vez provoca a diminuição do teor de amido no grão[46]. Outras hidrólases podem ajudar na completa hidrólise a açúcares simples e açúcares redutores, como a ação da invertase, que hidrolisa a sacarose em glucose e frutose[21].

2.3.2.2. Proteínas

As proteínas são componentes importantes de todas as células vivas que executam funções biológicas específicas[63]. As proteínas são encontradas em diferentes partes do grão de arroz, incluindo no endosperma e no farelo, mas no endosperma encontram-se as proteínas de reserva, situadas em corpos proteicos entre os grânulos de amido[64]. O teor

de proteína do arroz branqueado é aproximadamente 7% e a digestibilidade verdadeira da proteína do arroz cozido em humanos é 88 ± 4 % [56].

Nos cereais, tais como o arroz, existem dois tipos de proteínas: as proteínas biologicamente ativas, que são as enzimas, e as biologicamente inativas, as proteínas de armazenamento [65]. As proteínas de armazenamento são as albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas [65]. O arroz branqueado contém cerca de 3,8-8,8 % de albumina, com 18-20 kDa de massa molecular aparente [66], que é solúvel em água de acordo com o fracionamento de Osborne [67], 9,6-10,8 % de globulinas [66], solúvel em sal [67], 2,6-3,3 % de prolamina [66], solúvel em soluções etanólicas de 70 % [67], e 66-78 % de glutelina [66], insolúvel [67]. As globulinas do arroz são constituídas por α -, β -, γ - e δ -globulina com massa molecular aparente de 25,5, 15, 200 kDa e mais elevada, respetivamente [66]. As prolaminas são compostas por 3 subunidades de péptidos com 10, 13 e 16 kDa de massa molecular aparente [66]. A subunidade de 13 kDa é solubilizado em soluções alcoólicas, enquanto as outras com elevado nível de aminoácidos contendo enxofre, requerem um agente redutor para a solubilização em soluções alcoólicas [66]. A principal proteína de armazenamento do arroz é a glutelina. A glutelina é extremamente insolúvel em água, devido à sua hidrofobicidade, aos hidrogénios e às ligações de dissulfureto. A glutelina é em grande parte solúvel em ácido (pH inferior a 3,0) ou em soluções alcalinas (pH superior a 10,0), sendo constituída por duas grandes subunidades polipeptídicas classificadas como α ou ácida e β ou básica, com massa molecular aparente de 30-39 e 19-25 kDa, respetivamente [66].

As proteínas de armazenamento das sementes acumulam-se em dois tipos de grânulos, chamados de corpos proteicos. Tem sido demonstrado que o corpo proteico tipo I (PB-I) armazena prolaminas, como uma proteína solúvel em álcool, ao passo que o corpo proteico tipo II (PB-II) contém principalmente glutelina como uma proteína alcalina (e/ou ácida) solúvel. Os corpos proteicos tipo I (PB-I) não podem ser digeridos pelo sistema digestivo, mas os do tipo II são digestíveis. Geralmente, os corpos proteicos de arroz consistem em 20-30 % de PB-I e 70-80 % de PB-II [68].

Embora o arroz seja uma boa fonte de proteína, não é uma fonte completa, pois apenas contém, em pequenas quantidades, todos os aminoácidos essenciais necessários para uma boa saúde [25]. As proteínas de arroz são consideradas valiosas, porque são incolores, ricas em aminoácidos essenciais, possuem um sabor suave e são hipoalergénicas

e hipocolesterolémicas[64]. O teor de aminoácidos livres aumenta durante o armazenamento do arroz, contudo o teor de proteína não se altera. Durante o armazenamento do arroz, os teores de péptidos de baixo peso molecular diminuem e os de alto peso molecular aumentam, devido à proteólise. Estas alterações nos péptidos podem influenciar as forças de associação e, assim, desempenhar um papel importante no aumento do peso molecular aparente do conjunto[6].

Durante a germinação o conteúdo de proteínas totais aumenta e o teor de aminoácidos livres diminui. O teor de proteína aumenta porque há ativação de algumas enzimas e produção de compostos nitrogenados não proteicas, como os ácidos nucleicos, que pode causar o aumento dos níveis de proteínas de forma errada. O aumento do total de aminoácidos livres ocorre devido à degradação de proteínas por protéases e à síntese de novas enzimas, que ajudam a libertar os aminoácidos[21].

2.3.2.3. Lípidos

Os lípidos encontrados nos cereais são separados em lípidos neutros, glicolípidos e fosfolípidos[69]. O seu conteúdo no grão não é uniformizado, sendo os lípidos do endosperma constituídos por uma porção mais elevada de lípidos polares[70]. Os lípidos estão concentrados na fração do farelo, que poderá contribuir até 20 % de massa seca, na forma de corpos lipídicos ou esferossomas de 0,1-1,0 μm de tamanho, na camada de aleurona e farelo[71]. Ressurrección et al. (1979)[72] relataram que no arroz integral, o conteúdo de lípidos total era 2,9 %, dos quais 51 % encontravam-se no embrião, 32 % no farelo e 17% no endosperma. Dentro do endosperma, os lípidos estão distribuídos de forma desigual, encontrando-se em maior quantidade na camada externa e diminuindo progressivamente em direção ao centro do núcleo[73].

Os lípidos encontram-se em pequenas quantidades no arroz, representando cerca 0,8% no arroz branqueado[72]. Com base na distribuição celular dos lípidos e a sua associação, os lípidos de arroz são geralmente classificados como lípidos de amido, os quais estão associados aos grânulos de amido e lípidos não ligados ao amido, que estão distribuídos por todo o grão[74]. Os lípidos de amido correspondem normalmente a 0,5-1,0% do arroz branqueado e estão presentes em maiores quantidades do que os lípidos livres, mas não é universal para todas as variedades de arroz, variando entre os cerosos e não cerosos[74]. Os principais lípidos que não estão ligados ao amido são o ácido

linoleico, ácido oleico e ácido palmítico. Os lípidos de amido são principalmente monoglicerídeos, como ácidos gordos e fosfolípidos, complexados com a amilose[74]. A função dos monoglicerídeos é atribuída à formação dos complexos de inclusão helicoidal entre a amilose e a cadeia de hidrocarbonetos dos lípidos[75]. A existência de complexos entre o amido e os lípidos têm várias consequências, como o impacto da complexação na formação de amido resistente[76]. Outra consequência é o impacto dos complexos amilose-lípidos no comportamento da pasta, provocando a diminuição da solubilidade em água e o aumento da viscosidade[77].

Os lípidos são geralmente estáveis nos esferossomas intactos da célula[6]. Contudo, quando a membrana lipídica é destruída pelas fosfolipases, dano físico ou temperaturas elevadas, a hidrólise dos lípidos é iniciada pela ação das lipases[6], provocando a deterioração do sabor, paladar e da qualidade de alimentação[78].

Durante a germinação, espera-se que o teor de lípidos não sofra grandes alterações. Isto acontece porque alguns lípidos podem ser hidrolisados durante a germinação para a produção de energia necessária para as modificações bioquímicas e físico-químicas que ocorrem na semente[21].

2.3.2.4. Polissacarídeos não amiláceos

Os polissacarídeos não amiláceos derivados dos cereais são uma boa fonte quantitativa das fibras alimentares solúveis e insolúveis[79] e são os materiais da parede celular[80]. Os grãos de cereais são constituídos por microfibrilas de celulose, hemicelulose e materiais da matriz, tais como substâncias pécnicas[80]. Estes materiais oferecem estabilidade contra a cozedura e não são facilmente digeridos pelas secreções do sistema digestivo humano[57]. As paredes celulares dos grãos de arroz contém pequenas quantidades de polissacarídeos pécnicos e xiloglucanos, sendo os principais polímeros da parede celular as glucuronoarabinosilanas e uma mistura de ligações (1 →3), (1 →4)-β-D-glucanas (β-glucanas), que estão entrelaçadas com as microfibrilas de celulose[81]. As arabinosilanas e as β-D-glucanas, as mais importantes dos polissacarídeos não amiláceos, são parcialmente solúveis em água. Estas são também conhecidas por aliviar os sintomas de doenças, tais como a diabetes, aterosclerose e cancro do colon[79].

A fibra dietética tem importantes aplicações terapêuticas para certas condições, como a diabetes, hiperlipidemia e tem implicações preventivas para a hipertensão, doença

coronária do coração e desordens intestinais[82]. A quantidade de fibra dietética diminui da superfície para o interior do grão de arroz[83]. O endosperma do arroz ou arroz branqueado tem menor teor em fibra dietética do que o resto do arroz (0,7-2,3 %), encontrando-se em maior quantidade no arroz integral[56], sendo cerca de 5-8 %[84]. A fibra dietética do arroz pode complexar com o amido e assim ter um efeito hipocolesterolémico[56].

A germinação provoca o aumento do teor de fibra. Este aumento é devido à formação de parede celular primária, que será essencial para o crescimento da futura planta[33].

2.3.2.5. Compostos antioxidantes e vitaminas

O arroz é uma fonte rica de muitos compostos bioativos, incluindo os antioxidantes fenólicos, que têm o potencial de reduzir os riscos para certas doenças, tais como a inibição da agregação de plaquetas, redução do risco de doença cardíaca coronária e cancro. Além disso previne os danos oxidativos dos lípidos e lipoproteínas de baixa densidade[85]. Os grãos de arroz contêm compostos fenólicos especiais, como o ácido ferúlico, *p-cumárico* e diferulato. O farelo de arroz é uma fonte rica de orizanoles, tocoferóis, tocotrienóis e compostos fenólicos. Estes materiais têm mostrado um grande potencial para atividade antioxidante[85].

Os compostos fenólicos são de especial interesse devido ao seu envolvimento na parede celular das plantas, tendo atividade fisiológica e potencial uso em dietas[6]. Estes exercem um efeito significativo nas propriedades da parede celular que é mecanicamente fortalecido pelas ligações cruzadas. O conteúdo em ácidos fenólicos aumenta durante o armazenamento do arroz[6], sendo os mais abundantes o ácido ferúlico, o ácido *p-cumárico* e o ácido vanílico. A concentração dos compostos fenólicos é maior no arroz integral do que no arroz branqueado, aumentando do endosperma até à camada de aleurona. O principal componente encontrado no farelo é o ácido ferúlico, uma vez que este se encontra ligado ao arabinosilano na parede celular das camadas de aleurona[85]. Segundo Butsat et al. (2010)[85], a percentagem de ácidos fenólicos no arroz integral é de 0,6 – 1,3 %, sendo inferior no arroz branqueado.

As vitaminas mais importantes no arroz são as vitaminas do complexo B, como a tiamina, a niacina, a piridoxina[21] e riboflavina[5]. Estas vitaminas são importantes para o ser humano porque ajudam na manutenção da saúde emocional e mental[5]. Estas, após a

germinação, diminuem, uma vez que são vitaminas solúveis em água, então quando os grãos de arroz são embebidos para a germinação, pode haver lavagem e, possivelmente, perda[21].

Durante a germinação, para além de haver alterações nos níveis nutricionais, as atividades bioquímicas que ocorrem durante a germinação, podem gerar compostos bioativos e alguns deles com capacidade antioxidante, como o ácido ascórbico, tocoferóis, tocotrienóis e compostos fenólicos. Os níveis de compostos fenólicos como o ácido ferulico e o ácido sinapínico aumentam significativamente após a germinação[21]. Estes ácidos são compostos fenólicos solúveis presentes no arroz integral[43]. A tiamina, niacina e piridoxina também são compostos fenólicos solúveis presentes no arroz integral, no entanto, estes diminuem com a germinação, provocando uma diminuição do teor de compostos fenólicos solúveis totais no arroz germinado em relação ao arroz integral[43]. A concentração de α -tocoferóis e γ -orizanól, compostos fenólicos insolúveis, é afetada pela germinação, aumentando, sendo que no total do grão o teor de compostos fenólicos insolúveis é constante durante a germinação[43]. O GABA, que também aumenta durante a germinação, também é considerado importante para o seu efeito antioxidante[86]. O efeito da germinação no conteúdo de ácido fítico é a redução do seu teor. Esta redução pode ser atribuída ao aumento da atividade da fitase, que gera inositolis de baixo peso molecular[21].

2.3.3. Índice Glicémico

O índice glicémico é definido como a resposta total da glicemia a 2h imediatamente após o consumo de 50g de hidratos de carbono, sendo expresso como um valor relativo ao do pão branco ou glucose[13]. O amido obtido a partir do processo de germinação pode facilmente ser hidrolisado pela enzima amilase, após o consumo, o que pode resultar numa rápida subida dos níveis de glucose no sangue. A capacidade do amido ser convertido em glucose pode ser representada pelo índice glicémico. Em alimentos com elevado índice glicémico, o amido será convertido em glucose no sangue muito rapidamente, sendo isto, um aspeto indesejável nos consumidores com diabetes tipo II[39].

Antinutrientes, como o ácido fítico, polifenóis, lectinas, ácidos orgânicos e sais, alteram a estrutura do amido em alimentos em que foi utilizado processamento térmico, como por exemplo, a retrogradação do amido, que pode alterar a resposta pós-prandial[13].

O arroz é um alimento conhecido pelo seu índice glicêmico elevado quando comparado com outros alimentos de amido[87], variando entre 60 e 200[88]. Este alimento tem uma grande gama dos valores de índice glicêmico devido às diferenças botânicas e climáticas de país para país. As diferenças no teor de amilose aparente explicam as variações nos valores de índice glicêmico, uma vez que a amilose é digerida muito mais lentamente que a amilopectina[88]. Tanto o índice glicêmico como o amido resistente são importantes para estabelecer uma relação na digestibilidade do amido, uma vez que o amido resistente é digerido muito lentamente, provocando uma menor digestibilidade do amido[87]. Os lípidos podem também ajudar a retardar a digestão do amido devido à formação de complexos com as moléculas de amido, particularmente com a amilose[89]. Isto acontece porque os complexos formados entre a amilose e os monoglicéridos saturados de cadeia longa são mais resistentes à digestão do que os complexos com os monoglicéridos insaturados ou de cadeias mais curtas, sendo que arroz com elevados complexos amilose-lípidos possuem um baixo índice glicêmico[89]. A presença de fibra dietética em alimentos ricos em amido é relatado por reduzir a glicemia pós-prandial. A presença de uma rede de fibra ótica pode servir para diminuir a suscetibilidade ao ataque amilolítico, atenuando, assim, a taxa da digestão do amido intestinal, logo o arroz integral possui um menor índice glicêmico que o arroz branqueado[13].

2.3.4. Arroz integral vs arroz branqueado

O arroz integral é um arroz em casca que foi descascado[46], com a remoção do embrião e do farelo durante o processo de branqueamento dando origem ao arroz branco, que é o mais consumido[2]. Os grãos de arroz integral contêm mais componentes nutricionais, como as fibras dietéticas, ácido fólico, vitaminas E, GABA, lignanas, inulinas, amido resistente, esteróis e fitatos que os grãos de arroz branqueado[40] [45], uma vez que esses componentes nutricionais estão presentes no embrião, farelo (pericarpo) e na casca[34] [37]. Estes componentes são removidos pelo polidor ou branqueador[40] [37]. Apesar do elevado conteúdo de componentes biofuncionais, o arroz integral não é escolhido pelo consumidor, devido à sua aparência escura e textura dura[40] [41], sendo estas características atribuídas à dura camada de farelo fibroso[2].

O arroz integral contém amilose na gama de 12-17 %, que é um pouco mais baixa quando comparada com o arroz branqueado[89]. A quantidade de proteína é 6,6-7,3 % no arroz integral, sendo mais baixa no arroz branqueado (6,2-6,9 %)[90].

Uma característica que distingue o arroz integral do arroz branqueado é o tempo de cozedura, que é diferente entre ambos, sendo mais elevado no arroz integral do que no arroz branqueado[91]. O tempo requerido para o cozimento é determinado pela temperatura de gelatinização do amido. A temperatura de gelatinização, uma propriedade física do amido, é o intervalo de temperatura em que, pelo menos, 90 % dos grânulos de amido incham irreversivelmente em água quente com perda de cristalinidade. Variedades com elevada temperatura de gelatinização têm geralmente baixo conteúdo de amilose[92]. O arroz integral tem um maior tempo de cozedura devido à presença de fibra que dificulta a entrada de água no grão de arroz e, por isso, demora mais tempo a gelatinizar o amido[91].

2.4. APRESENTAÇÃO DA EMPRESA: NOVARROZ – PRODUTOS ALIMENTARES, S.A.

A Novarroz – Produtos Alimentares, S.A. é uma empresa familiar fundada em 1979, localizada em Oliveira de Azeméis, representada pelo logotipo da Figura 3. Faz o descasque, branqueamento e venda de arroz e seus subprodutos, operando 24h por dia com um total de 63 colaboradores[1].



Figura 3 - Logotipo da empresa Novarroz – Produtos Alimentares, S.A[1].

Esta empresa tem como missão a transformação, comercialização e colocação no mercado de produtos de qualidade, nomeadamente arroz, seguros do ponto de vista de Segurança Alimentar, e diversificados, no intuito da total satisfação das necessidades dos clientes e dos consumidores. Para isto, a Novarroz – Produtos Alimentares, S.A., está focada nos clientes e no mercado, tem garantia da qualidade e segurança alimentar,

promove uma melhoria contínua com critérios de qualidade, tem respeito pelo ambiente e respeita o código ético e legal[1].

2.4.1. Processo industrial

O arroz chega à fábrica seco, em que a humidade deve rondar os 11 %, encontrando-se no máximo a 14 %, valor considerado seguro nos cereais. Os camiões chegam carregados de arroz, sendo-lhes retiradas amostras que variam consoante o peso do camião (Figura 4A). Ou seja, uma máquina em que aspira amostras de arroz retira-as de vários pontos do camião e quanto mais pesado o camião for mais amostras retira de modo a obter uma amostra representativa. Esta amostra retirada do camião é levada para o laboratório e analisada do ponto de vista de controlo, segurança e qualidade alimentar, em parâmetros como a humidade, presença de parasitas (por exemplo o gorgulho), o rendimento do grão de arroz e a presença de outros cereais, como o milho. Se o arroz se encontrar dentro dos parâmetros estabelecidos pela empresa, este é descarregado dos meios de transporte e armazenado em silos que foram previamente limpos e desinfetados (Figura 4B). Os silos são devidamente ventilados, com monitorização da temperatura, humidade e, quando necessário, com medidas de proteção do grão contra o ataque de pragas. São feitas também análises à presença de organismos geneticamente modificados, pesticidas, entre outros, sendo estas análises efetuadas num laboratório certificado externo à empresa.

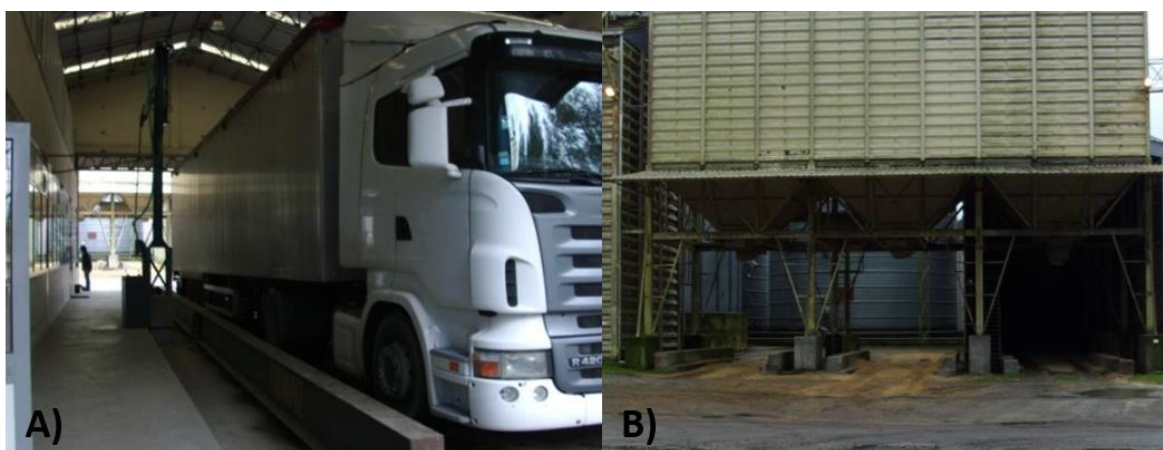


Figura 4 - A) Receção do camião com arroz em casa, sendo neste local onde se processe à retirada de amostra para analisar no laboratório; B) Silos onde serão descarregados o arroz em casca, se este se encontrar de acordo com os parâmetros estabelecidos pela empresa.

A produção industrial inclui a transformação de grãos em casca conforme o consumo humano, de acordo com o tipo de arroz comercial e com base na legislação aplicável. O arroz é submetido a processos de descasque e branqueamento, bem como a processos de limpeza e seleção dos grãos. A primeira etapa do processamento industrial é a limpeza do arroz, em que tem como principal objetivo a separação de todos os objetos estranhos presentes, tais como palhas, paus, pedras, entre outras coisas. Para retirar as palhas e paus, a matéria-prima passa por uma tarara de limpeza e segue para uma depredadora, para retirar as pedras.

Após isto, submete-se a matéria-prima a um processo de descasque, tendo, no final desta etapa, o arroz integral. O descasque é conseguido passando o arroz por dois rolos que se movimentam em sentido contrário e a velocidades diferentes. Daqui obtém-se um subproduto, a casca, que é vendida para produtores de animais.

Depois do descasque, os grãos de arroz são submetidos ao processo de branqueamento. Este processo proporciona cor ao grão, como é conhecido pelo consumidor, através da retirada do farelo. Os vários tipos de grãos existentes têm diferentes tipos de branqueamento. De seguida, os grãos de arroz são submetidos a um polimento (Figura 5) que tem dois objetivos, retirar partículas metálicas através de ímanes e conferir brilho aos grãos. No final destas últimas etapas, o branqueamento e polimento, são obtidos grãos inteiros, partidos, as trincas, e o farelo, que é utilizado para a produção de rações de animais.



Figura 5 - Máquina polidora dos grãos de arroz.

A partir deste processo, ocorre a separação dos grãos de arroz inteiros das trincas, sendo estas separadas consoante a sua dimensão em trinca miúda e trinca grada (Figura 6A). A trinca pode ser posteriormente incorporada em diferentes tipos de arroz, consoante

as dosagens estipuladas pelo Decreto-Lei n.º 63/2000 de 19 de Abril[93]. A trinca que não é incorporada é reutilizada para o consumo de animais. Nesta fase são também selecionados os grãos que não estão em condições de serem incorporados no produto final, como os grãos totalmente danificados, os grãos vermelhos, entre outros. Durante todo o processo, os ímanes permitem retirar qualquer objeto metálico presente no arroz, para garantir a qualidade do produto final e mantém-se os elevados padrões de segurança e qualidade alimentar. Depois de todos os processos finalizados, os grãos de arroz são armazenados em silos brancos até que se proceda ao seu embalamento (Figura 6B).

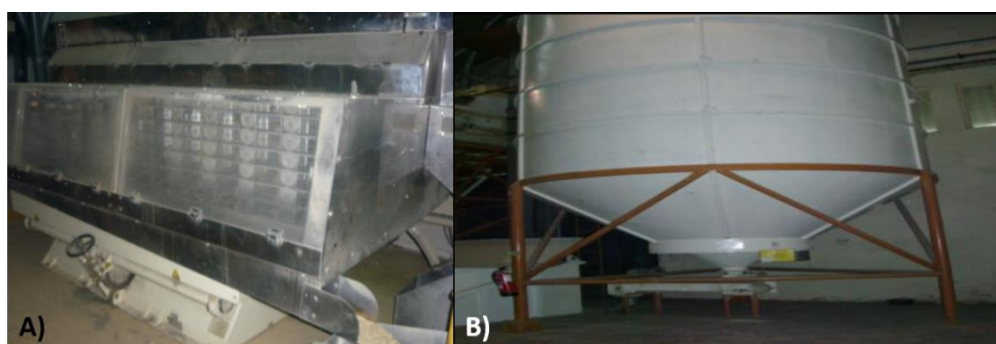


Figura 6 - A) Máquina responsável pela separação da trinca do grão inteiro; B) Silos de armazenamento do grão pronto a ser embalado.

Durante o embalamento do arroz, existem procedimentos que terão que ser controlados para que não haja enganar, como o lote, a validade e o peso do produto final. No final do embalamento, as embalagens são passadas pelo detetor de metais (Figura 7A), para garantir que não contém objetos metálicos. Por último, as embalagens são armazenadas em condições de temperatura e humidade controladas de modo a evitar o desenvolvimento de certas pragas comuns no arroz, até serem transportadas para os clientes (Figura 7B).



Figura 7 - A) Máquina de detetor de metais, por onde as embalagens passam no final do embalamento; B) Armazenamento do arroz embalado.

2.4.2. Designações comerciais do arroz

Existem vários tipos de arroz agrupados em várias características (Figura 8)[94]:

- Agulha – Arroz de grãos compridos e estreitos, depois de cozido e arrefecido a sua textura fica mais firme. Coze com facilidade e o arroz continua solto e tem dificuldade em absorver a água de cozedura.
- Carolino – O grão cru é longo e mais arredondado do que o arroz agulha, depois de cozido fica com uma textura menos firme. Absorve facilmente a água de cozedura, retendo todos os sabores que lhe são adicionados. É o arroz mais consumido em Portugal.
- Médio – É semelhante ao arroz carolino, este tipo de arroz é distinguido do arroz redondo pelas dimensões do grão.
 - Redondo – Quando cozinhado este tipo de arroz é pegajoso.
 - Risotto – Arroz de grão médio que absorve bem a água, formando uma massa cremosa depois de cozido, é muito utilizado na culinária Italiana.
 - Basmati – Esta variedade tem origem na Índia e no Pasquitão. É um arroz aromático de grão longo, geralmente usado em pratos indianos, sendo considerado um arroz de elevada qualidade.
 - Jasmin – Tem origem na Tailândia. É um arroz aromático, semelhante ao Basmati, mas com uma textura mais gomosa, sendo muito utilizado na culinária Chinesa.

- Glutinoso – É um tipo de arroz de grão curto, com origem na Ásia e torna-se pegajoso após a cozedura.
- Arroz integral – Qualquer tipo de variedade de arroz descascado e limpo que não sofreu nenhum processo de branqueamento. Este arroz é rico em fibras, vitaminas e sais minerais, devido ao seu elevado teor de fibras tem um longo tempo de cozedura, cerca de 30 minutos.
- Arroz vaporizado – É um arroz parcialmente fervido, ou seja, arroz em casca ou integral que foi submerso em água acima dos 60 °C, seguido de gelatinização parcial do amido e secagem do arroz. O arroz sofre um pré-cozimento e os nutrientes do pericarpo são parcialmente passados para a cariopse do grão.
- Arroz selvagem – Não se trata na realidade de arroz, mas de sementes de uma erva aquática selvagem da América do Norte. Os grãos são longos, esguios e negros, ricos em vitaminas do complexo B. Este tipo de arroz é muita vez utilizado em saladas, e misturado com arroz Basmati.



Figura 8 – Vários tipos de arroz: A) Carolino; B) Agulha; C) Médio; D) Redondo; E) Risotto; F) Aromático; G) Glutinoso; H) Arroz integral; I) Arroz vaporizado; J) Arroz selvagem.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. AMOSTRAS DE ARROZ

As amostras de arroz usadas neste trabalho encontram-se apresentadas na Tabela 2, as amostras da subespécie *Índica*, e na Tabela 3, as amostras da subespécie *Japónica*, encontrando-se codificadas. Os códigos destas amostras são diferentes dos apresentados no relatório de estágio de Cardoso (2013)[95], com o título “Caracterização de diferentes variedades de arroz – Efeito de diferentes métodos de cozedura”, de modo a não induzir as conclusões em engano.

Tabela 2 - Apresentação da lista de amostras analisadas da subespécie *Índica*, com o respetivo tipo, código e ano de colheita.

Tipo	Código	Subespécie	Ano
Agulha Aromático	<i>Índica1</i>	<i>Índica</i>	2013
Agulha Aromático	<i>Índica2</i>	<i>Índica</i>	2013
Agulha Aromático	<i>Índica3</i>	<i>Índica</i>	2013
Agulha Aromático	<i>Índica4</i>	<i>Índica</i>	2012
Agulha América Sul	<i>Índica5</i>	<i>Índica</i>	2013
Agulha América Sul	<i>Índica6</i>	<i>Índica</i>	2013
Agulha	<i>Índica7</i>	<i>Índica</i>	2013
Agulha	<i>Índica8</i>	<i>Índica</i>	2013
Agulha Integral	<i>Índica8 G0h</i>	<i>Índica</i>	2013
Agulha	<i>Índica9</i>	<i>Índica</i>	2013
Agulha	<i>Índica10</i>	<i>Índica</i>	2013
Agulha	<i>Índica11</i>	<i>Índica</i>	2013
Agulha	<i>Índica12</i>	<i>Índica</i>	2013
Agulha	<i>Índica13</i>	<i>Índica</i>	2012
Agulha Vaporizado	<i>Índica14</i>	<i>Índica</i>	2013
Agulha Vaporizado Integral	<i>Índica14 Integral</i>	<i>Índica</i>	2013

Tabela 3 - Apresentação das amostras analisadas da subespécie *Japónica*, com o respetivo código, tipo e ano de colheita.

Tipo	Código	Subespécie	Ano
Carolino	<i>Japónica1</i>	Japónica	2013
Carolino Integral	<i>Japónica1 G0h</i>	Japónica	2013
Carolino	<i>Japónica2</i>	Japónica	2013
Carolino Integral	<i>Japónica2 G0h</i>	Japónica	2013
Médio	<i>Japónica3</i>	Japónica	2013
Médio	<i>Japónica4</i>	Japónica	2013
Médio	<i>Japónica5</i>	Japónica	2013
<i>Risotto</i>	<i>Japónica6</i>	Japónica	2013
<i>Risotto</i>	<i>Japónica7</i>	Japónica	2013
<i>Risotto</i>	<i>Japónica8</i>	Japónica	2013
<i>Risotto</i> Integral	<i>Japónica8 G0h</i>	Japónica	2013
<i>Risotto</i>	<i>Japónica9</i>	Japónica	2013
Redondo	<i>Japónica10</i>	Japónica	2013
Redondo Integral	<i>Japónica10 G0h</i>	Japónica	2013
Redondo	<i>Japónica11</i>	Japónica	2013

3.2. DETERMINAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS BIOMÉTRICAS DAS AMOSTRAS DE ARROZ

A determinação das características biométricas refere a determinação do comprimento, largura, do rácio comprimento/largura, brancura total, brancura vítrea, % de área gessada e *Kett*. Estas características, exceto o *Kett*, são determinadas recorrendo a um aparelho *AgroMay Statistic Analyzer S21*, que possui um software de inspeção visual para os grãos de arroz (Figura 9A). Este aparelho possui um sistema digital de captura de imagens (Figura 9B), responsável pelo envio das imagens para o software, que as analisa individualmente. A massa de amostra para analisar, cerca de 60-70 g, foi colocada no dispensador vertical e foi primido o botão para capturar imagens. O sistema de vibração é ligado e abre o mecanismo que permite passar os grãos de arroz para a rampa. A captura de imagens é feita usando um disparo contínuo de alta velocidade a cada grão que se move na rampa. Após a tiragem das imagens, estas são analisadas individualmente e são rejeitados os grãos que se encontram sobrepostos, sendo os dados apresentados automaticamente.

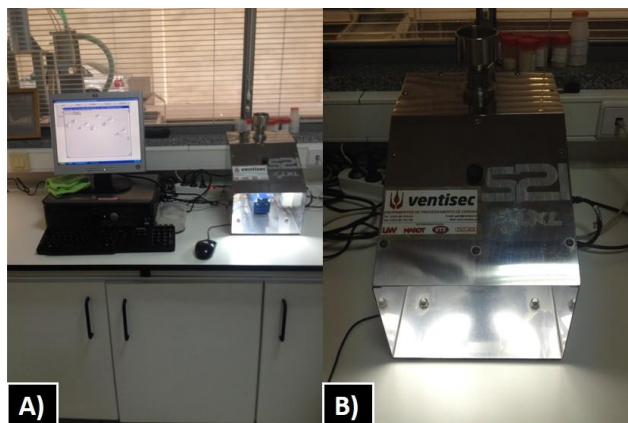


Figura 9 - Aparelho S21: A) Equipamento ligado ao computador; B) Sistema digital para a captura de imagens.

A determinação do *Kett* é feito num aparelho *Kett Eletric Laboratory, model C-300-3* (Figura 10), este aparelho mede a brancura do arroz instantaneamente. Inicialmente o instrumento é calibrado recorrendo a uma “disquete” referencial, onde o valor do *Kett* = 0. Após a calibração, a amostra colocou-se no recipiente, fechou-se e inseriu-se no sistema. O padrão de cores é exibido em aproximadamente 2 segundos, dando, assim o grau de brancura por *Kett*, em que os valores são fornecidos numa gama de valores entre os 0 e 100. Assim, quanto maior for o valor de *Kett* maior será a brancura do grão de arroz analisado.



Figura 10 – Aparelho para a determinação do *Kett*.

3.3. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE HUMIDADE DAS AMOSTRAS DE ARROZ

A determinação da humidade foi feita usando um liofilizador *VisTis – benchtop K*. Inicialmente, as amostras foram moídas, peneiradas por um peneiro de 1 mm, pesadas, cerca de 5 g e congeladas em porta-amostras previamente pesados, para posteriormente serem colocadas no liofilizador. Após a liofilização, estas foram pesadas e a diferença entre os pesos corresponde à humidade presente na amostra inicial.

3.4. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AMIDO

3.4.1. Soluções

Tampão Tris-Maleato 0,6 M a pH 6,9: Pesou-se ácido málico e tris(hidroximetil)aminoetano, de modo a que a concentração fique 0,6 M, e dissolveu-se em água destilada. Acertou-se o pH com NaOH (Hidróxido de sódio) 5 M e perpez-se a solução com água destilada.

Tampão acetato de sódio 0,4 M a pH 4,75: Pesou-se o acetato de sódio anidro, de modo a que fique com concentração 0,4 M, e dissolveu-se em água destilada. O pH da solução foi acertado com uma solução de ácido acético 0,4 M e perpez-se a solução com água destilada.

3.4.2. Procedimento

O procedimento de amido total foi feito baseado no procedimento de Goñi, et al. (1997)[96], mas com algumas alterações. As amostras de arroz foram moídas e passadas por um peneiro de 0,500 mm. Para isso foram usadas entre 5 a 7 grãos de arroz, moídos na totalidade, passados pelo peneiro, sendo depois pesados para tubos de rosca cerca de 25 a 35 mg de arroz moído. A isto foram adicionados 2 mL de KOH (hidróxido de potássio) 2 M e deixado a dispersar durante aproximadamente 72 h à temperatura ambiente. Após a dispersão, a amostra foi neutralizada com HCl (ácido clorídrico) 2 M até que o pH se encontre próximo de 6,9, sendo de seguida adicionado 3 mL de tampão Tris-Maleato 0,6 M a pH 6,9 e 1 mL de α -amilase (40 mg/mL em tampão Tris-Maleato 0,6 M a pH 6,9 – Sigma-Aldrich – A3176), e deixou-se a reagir durante 48 h à temperatura ambiente.

Da solução anterior foram retiradas alíquotas de 100 μ L para eppendorfs. A estas alíquotas adicionaram-se 1 mL de tampão acetato de sódio 0,4 M a pH 4,75 e 21 U de

amiloglucosidase (Sigma-Aldrich – 10115), ficando a reagir durante 24 h num banho a 60 °C. As amostras foram centrifugadas a 10 000 rpm durante 1 min. A glucose foi quantificada usando o Kit GOD-POD (Ref.: AK00161, NZTech), num leitor de microplacas *Termo Scientific – Multiskan Go*, a 510 nm. A quantidade de glucose foi analisada em triplicado e convertida em amido pelo fator de conversão 0,9.

3.5. DIGESTÃO DO AMIDO PARA A DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE GLICÉMICO

3.5.1. Soluções

Tampão HCl-KCl 25 mM a pH 1,5: Foram feitas separadamente as soluções de HCl e KCl 25 mM. O acerto do pH foi feito adicionando a solução de HCl 25 mM à solução de KCl 25 mM até que o pH esteja próximo de 1,5.

Tampão Tris-Maleato 0,6 M a pH 6,9: Tampão preparado como em 3.4.1.

Tampão acetato de sódio 0,4 M a pH 4,75: Tampão preparado como em 3.4.1.

3.5.2. Procedimento

O procedimento da digestão do amido para a determinação do índice glicémico foi baseado no procedimento de Goñi, et al. (1997)[96], mas com algumas alterações. Em erlenmeyers de 30 mL, pesaram-se aproximadamente 50 mg, correspondendo a 2 ou 3 grãos. A estes grãos de arroz adicionaram-se 4 mL de água destilada e a mistura foi colocada num banho em ebulição durante 30 min. Após este tempo, a água foi escorrida e os grãos foram colocados num copo de plástico, ao qual foram adicionados 10 mL de tampão HCl-KCl 25 mM a pH 1,5. Estes foram moídos durante 2 min. no Ultra Turrax (*T25, Ika werke*), na velocidade 5 (21500 rpm).

Esta amostra foi novamente colocada em erlenmeyers de 30 mL e adicionaram-se 200 µL de pepsina (1g/10mL de tampão HCl-KCl 25 mM a pH 1,5 – Riedel-de Haën - 20895) e deixou-se a reagir com agitação durante 1 h, num banho a 40 °C. Após a digestão com a pepsina, a solução foi neutralizada com NaOH 3 M até que o pH se encontre próximo de 6,9, sendo, de seguida, adicionado tampão Tris-Maleato 0,6 M a pH 6,9 até perfazer o volume final de 15 mL e 5 mL de α -amilase (2,6 U em tampão Tris-Maleato 0,6 M a pH 6,9 – Sigma A3176). Colocou-se sob agitação durante 3h à temperatura ambiente, aproximadamente 20 °C.

De 30 em 30 min., até perfazer as 3 h, foram retiradas alíquotas de 100 µL e colocadas em eppendorfs. Estes foram colocados num banho em ebulição para desnaturar a enzima durante 5 min. e após isto, adicionou-se 1 mL de Tampão Acetato de Sódio 0,4 M a pH 4,75. Após a última alíquota retirada e o tampão Acetato de Sódio adicionado, adicionaram-se, também, 4,2 U de amiloglucosidase (Sigma 10115) a todos os eppendorfs e deixou-se reagir durante 45 min, num banho a 60 °C. As amostras foram centrifugadas a 10 000 rpm durante 1 min. e a glucose foi quantificada usando o Kit GOD-POD (Ref.: AK00161, NZTech), num leitor de microplacas *Termo Scientific – Multiskan Go*, a 510 nm. A quantidade de glucose foi analisada em triplicado e convertida em amido pelo fator de conversão 0,9.

Para calcular os valores de índice glicémico das variedades foram efetuadas curvas de hidrólise para cada uma das amostras. A área debaixo da curva (AUC) foi calculada por integração numérica recorrendo à regra de Simpson composta. O valor do índice de hidrólise (IH) obteve-se dividindo a AUC de cada amostra pela AUC da amostra padrão, o pão branco fresco, multiplicando por 100 de modo obter o valor em percentagem. O índice glicémico (IG) esperado foi então estimado usando o modelo de Goñi:

$$IG = 39.71 + (0.549 * IH).$$

3.6. DETERMINAÇÃO DO AMIDO RESISTENTE

3.6.1. Soluções

Tampão HCl-KCl 25 mM a pH 1,5: Tampão preparado como em 3.5.1.

Tampão Tris-Maleato 0,6 M a pH 6,9: Tampão preparado como em 3.4.1.

Tampão acetato de sódio 0,4 M a pH 4,75: Tampão preparado como em 3.4.1.

3.6.2. Procedimento

A determinação do amido resistente foi baseada no procedimento de Goñi et al. (1996)[62] e de um kit da Megazime para a quantificação do amido resistente[97], mas com algumas alterações. As amostras de arroz foram moídas na totalidade, com cerca de 7-10 grãos de arroz, passadas por um peneiro de 1 mm. Foram pesadas aproximadamente 100 mg de arroz moído em tubos de rosca. Foram adicionados aos tubos 2 mL de tampão HCl-KCl 25 mM a pH 1,5 e 200 µL de uma solução de pepsina (1 g/10 mL de tampão HCl-KCl 25 mM a pH 1,5 – Riedel-de Haën - 20895). Deixou-se reagir durante 60 min.

num banho a 40 °C, em agitação constante. Retiraram-se os tubos do banho, deixaram-se arrefecer. Em agitação, adicionaram-se, aos tubos, NaOH 3 M para acertar o pH a 6,9, Tampão Tris-Maleato 0,6 M a pH 6,9 até ao volume final de 3 mL e 1 mL de α -amilase (40 mg/mL em tampão Tris-Maleato 0,6 M a pH 6,9 – Sigma-Aldrich – A3176), e deixado a reagir durante 72 h à temperatura ambiente. Adicionaram-se 600 μ L de HCl 6 M, para que o pH fique próximo de 4,75, e 2,8 mL de tampão acetato de sódio 0,4 M a pH 4,75 e 168 U de amiloglucosidase (Sigma-Aldrich – 10115), ficando a reagir durante 24 h num banho a 60 °C. Os tubos foram centrifugados a 3000 rpm durante 10 min., sendo o sobrenadante descartado e o resíduo lavado com etanol 50 %. Este processo foi repetido 3 vezes de modo a garantir que o resíduo esteja isento açúcares que foram digeridos e que poderia levar a uma quantificação por excesso de amido resistente.

De seguida, o resíduo foi deixado a reagir com 1,2 mL de KOH 2 M, de modo a solubilizar todo o amido que não foi digerido pelas enzimas, durante 30 min. à temperatura ambiente. Esta solução foi neutralizada com 0,907 μ L de HCl 2 M e foram retiradas alíquotas para eppendorfs de 300 μ L, às quais foram adicionados 700 μ L de tampão acetato de sódio 0,4 M a pH 4,75 e 21 U de amiloglucosidase (Sigma-Aldrich – 10115), deixando-se a reagir durante 24 h num banho a 60 °C. As amostras foram centrifugadas a 10 000 rpm durante 1 min. e a glucose foi quantificada usando o Kit GOD-POD (Ref.: AK00161, NZTech), num leitor de microplacas *Termo Scientific – Multiskan Go*, a 510 nm. A quantidade de glucose foi analisada em triplicado e convertida em amido pelo fator de conversão 0,9.

3.7. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE AMIOSE APARENTE

3.7.1. Soluções

Solução de Iodo: Pesaram-se $2\text{g} \pm 5\text{ mg}$ de iodeto de potássio, dissolveu-se em água destilada de forma a obter uma solução saturada. Adicionaram-se $200\text{ mg} \pm 1\text{ mg}$ de iodo deixou-se a dissolver no escuro e colocou-se num balão de 100 mL, perfazendo-se a solução com água destilada.

3.7.2. Procedimento

A determinação do teor de amilose aparente foi baseada no método ISO CD 6647[98], mas com algumas alterações. As amostras de arroz foram moídas na totalidade e peneiradas num peneiro de 180 nm, das quais foram pesadas $100 \text{ g} \pm 0,5 \text{ g}$ para tubos de ensaio. Adicionaram-se 1 mL de etanol 96 % e 9 mL de NaOH 1 M. As amostras foram colocadas num agitador orbital (*Agitorb 200 ICP*) a 180 rpm a 20 °C durante 2-3 dias.

A seguir, os tubos de ensaio foram tapados com parafilm, agitados com o vortex e foram colocados num banho em ebulição durante 10 min. Retirou-se o parafilm e deixou-se arrefecer as amostras. Estas foram transferidas para balões de 100 mL e a solução foi acertada com água destilada.

Em tubos de ensaio, foram adicionados 0,5 mL da solução anterior, 5 mL de água destilada, 0,1 mL de ácido acético 1 M, 0,2 mL de solução de iodo e 4,2 mL de água destilada. Os tubos foram agitados no vortex e a absorvância foi lida num espectrofotómetro *Jenway – 6405UV/Vis*, a 620 nm.

Branco: Idêntico às amostras, mas foram adicionados 0,5 mL de NaOH 0,09 M na vez da amostra.

Padrões: Feitos com amostras de arroz com concentrações de amilose conhecidas (0,00; 12,10; 14,10; 14,25; 22,80 %). Estas levaram o mesmo tratamento que as amostras e foram todos analisados em triplicado.

3.8. DETERMINAÇÃO DO TEOR PROTEICO

As amostras de arroz foram moídas e secas usando um liofilizador *VirTis – Benchtop K*, durante 72 h. Após a secagem das amostras, o teor de proteína foi quantificado por análise elementar, *TruSpec 630-200-200 CNHS Analyser*. A análise elementar usa um analisador que opera na base da combustão dinâmica da amostra. Inicialmente, a amostra é pesada numa cápsula de estanho, em que a quantidade de amostra não ultrapassa as 3 mg. De seguida, a amostra é introduzida no reator de combustão juntamente com uma quantidade de oxigénio, essencial para a combustão. Após a combustão, os gases produzidos (N_2 , CO_2 , H_2O , SO_2) são transportados por uma corrente de hélio através de uma superfície de cobre no interior do reator, sendo depois separados e, finalmente, detetados por condutividade térmica. Assim, é determinada a percentagem de carbono, nitrogénio, hidrogénio e enxofre existentes na amostra[99]. Este método permite

quantificar o teor de proteína pelo teor de nitrogénio presente na amostra, através do fator de conversão de 5,95[100], as amostras foram analisadas em duplicado.

3.9. GERMINAÇÃO

A germinação foi realizada com base o procedimento de Ohtsubo (2005)[40], mas com algumas alterações. Os grãos de arroz integral foram selecionados, sendo eliminados as trincas e os grãos de arroz danificados e deformados. Estes foram pesados, mais ou menos 10 g para cada tempo (24 h, 48 h e 72 h) e colocados nas caixas de petri respetivas. Após a pesagem, procedeu-se à lavagem do arroz com uma solução de 0,1 % de hipoclorito de sódio durante 30 min. para remover qualquer tipo de microrganismos que pudessem estar presentes no arroz. Passaram-se os grãos de arroz por água destilada fervida em abundância de modo a remover todo o hipoclorito de sódio. Sendo, estes cobertos com água destilada fervida e deixados, assim, durante um máximo de 72 h à temperatura ambiente. A cada 24 h, ou seja, às 24 h, às 48 h e às 72 h, foram retiradas amostras de arroz e colocadas a secar numa estufa com circulação de ar a 45 °C até que as amostras percam a maior parte da água absorvida, de modo a parar a germinação, ou seja, até que a massa seja semelhante à massa inicialmente pesada, os cerca de 10 g.

3.10. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GABA

3.10.1. Soluções

Isobutanol-HCl: Foram adicionados 270 µL de cloreto de acetilo por mL de isobutanol seco. O isobutanol foi seco com hidreto de cálcio, destilado e armazenado com crivos moleculares de 4 Å.

BHT (Butilado de hidroxitolueno): Solução de BHT 0,2 mg/mL em acetato de etilo (Ref.: 442377 – 1000 mg – Sigma-Aldrich).

3.10.2. Procedimento

A determinação do teor de GABA foi baseada no procedimento de Coimbra et al. (2011)[101], mas com algumas alterações. Este procedimento foi usado para quantificar os teores de GABA e de ácido glutâmico/glutamina. Moeram-se grãos de arroz integral e germinado que, a seguir, foram liofilizados. Foram pesados 30-40 mg de amostra de arroz

liofilizado em tubos próprios para usar no evaporador centrífugo (Speedvac), adicionou-se 1 mL de HCl 6 M para hidrolisar as ligações peptídicas dos aminoácidos. A seguir, os tubos foram colocados em atmosfera de azoto e deixou-se a reagir durante 24h a 110 °C num bloco de aquecimento (banho seco).

Após as 24h, arrefeceram-se os tubos à temperatura ambiente e adicionaram-se 150 µL de padrão interno, solução de norleucina 5,0 µmol/mL em HCl 0,1 M. Evaporou-se no evaporador centrífugo (Speedvac), com temperatura.

Os resíduos obtidos foram dissolvidos com 1 mL de HCl 0,1 M e filtrados com filtros de 0,45 µL. Voltou-se a secar a amostra no evaporador centrífugo (Speedvac). Para o processo da derivatização, juntaram-se 200 µL da solução de isobutanol-HCl. Aqueceu-se esta solução num bloco de aquecimento a 120 °C durante 40 min, ao fim de 10 min agitou-se no vortéx. Arrefeceu-se à temperatura ambiente e evaporou-se novamente o excesso de solvente no evaporador centrífugo (Speedvac). Adicionaram-se 200 µL BHT (Butilado de hidroxitulueno) em acetato de etilo. Evaporou-se outra vez o excesso de solvente no evaporador centrífugo (Speedvac).

Juntaram-se 100 µL de anidrido heptafluorobutírico (ref.: 394912 – 5 mL – Sigma-Aldrich) e aqueceu-se esta mistura a 150 °C durante 10min. Voltou a deixar-se arrefecer à temperatura ambiente e a evaporar o excesso de reagente no evaporador centrífugo (Speedvac). Por último, foram adicionados 50 µL de acetato de etilo, para dissolver os compostos anteriormente formados, tendo que ser analisado de imediato por cromatografia de gás, uma vez que o composto que se forma é muito instável. Para a análise pela cromatografia de gás injetaram-se 2 µL de amostra numa coluna DB-1 com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,1 mm de espessura do filme. Usou-se como fase móvel o hidrogénio.

Uma característica do gás de arraste é que este deve ser inerte, ou seja, tem que ser um gás que não reaja nem com a amostra nem com a fase estacionária, não interferindo assim com os resultados. No GC-FID (Cromatógrafo de Gás – equipado com Detetor de ionização de chama), as amostras são injetadas em pequenas quantidades para não encharcar a coluna e por intermédio de uma seringa. A amostra é arrastada pela fase móvel (gás de arraste) ao longo da coluna. É aplicado um programa em que a temperatura vai-se alterando gradualmente, separando, assim, os diferentes compostos da mistura em análise, os aminoácidos. Estes compostos saem da coluna dissolvidos no gás de arraste e passam

pelo detetor FID onde irão sofrer pirólise à temperatura da chama de ar, pela ação do hidrogénio, produzindo iões e eletrões que conduzem eletricidade através da chama. No detetor, o hidrogénio é misturado com gases que saem da coluna e são queimados numa atmosfera de oxigénio. Os iões produzidos conduzem uma corrente, desde a chama que serve de elétrodo ate outro que a envolve, sendo em seguida amplificada e registada. A altura do sinal é proporcional à quantidade de eluído que entra na chama. O detetor é insensível, ou fracamente sensível, aos gases inertes[99].

A resposta do detetor é linear para a maioria dos compostos orgânicos e é dependente não só da quantidade de compostos orgânicos na chama, mas também do número de átomos de carbono por molécula do composto, desde que as substancias apresentem o mesmo tipo de átomos. Este detetor tem como vantagens a grande sensibilidade, linearidade e pode ser utilizada uma pequena quantidade de amostra[99].

Para os padrões, fizeram-se 4 a 5 diferentes soluções padrão com diferentes concentrações de GABA (numa gama de concentrações entre 0,05-0,25 mg/mL) e adicionaram-se 150 µL de padrão interno (solução de norleucina 5,0 µmol/mL em HCl 0,1 M) e depois derivatiza-se como descrito anteriormente.

O programa usado neste trabalho para a separação de aminoácidos foi o seguinte:

- Temperatura inicial a 70°C durante 1min.
- Aumento de 2°C/min até aos 170°C.
- 2ª rampa sobe 16°C/min até aos 250°C.
- Permanece durante 5 min a 250°C.

A identificação do GABA e do Ácido glutâmico/Glutamina foi feita pela comparação dos tempos de retenção dos respetivos padrões, sendo a quantificação destes efetuada usando retas de calibração.

3.11. QUANTIFICAÇÃO DOS AÇÚCARES REDUTORES

3.11.1. Soluções

Solução DNS (ácido 3,5-dinitrossalicílico): Para um volume final de 100 mL, fez-se uma solução de 20 mL de NaOH 2 M, com 1,6 g de Hidróxido de Sódio dissolvidos em 20 mL de água destilada, na qual se dissolveu 1 g de reagente DNS. Em 50 mL de água

destilada morna foram dissolvidos 30 g de Tartarato de sódio e potássio. As duas soluções anteriores foram juntas num balão de 100 mL e a solução foi perfeita com água destilada.

3.11.2. Procedimento

A extração dos açúcares redutores foi baseada no procedimento de Ohtsubo (2005)[40], e a quantificação foi baseada no procedimento de Miller (1959)[102], mas com algumas alterações. Foram moídos grãos de arroz e passados por um peneiro de 1 mm, pesando-se 2,5 g de arroz moído para tubos de rosca. Adicionaram-se 4 mL de etanol 80%, sendo deixado a extrair durante 1h. Após a extração, centrifugou-se a amostra a 3000 rpm durante 10 min. e recolheu-se o sobrenadante. Do sobrenadante, foram retirados 500 µL para tubos de ensaio e juntaram-se 500 µL de Reagente DNS. Estes foram colocados num banho em ebulição durante 5min., sendo de seguida colocados num banho frio e acrescentados 4 mL de água destilada, perfazendo um total de 5 mL. Os tubos foram agitados no vortéx e sendo as amostras lidas num espectrofotómetro *Jenway – 6405UV/Vis*, a uma absorvância de 540 nm e quantificadas usando padrões de glucose em etanol 80 %, com concentrações que variaram entre 0,2 e 1,0 mg/mL.

3.12. QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS SOLÚVEIS

A quantificação dos compostos fenólicos solúveis, a parte da extração foi baseada no procedimento de Lin (2011)[103] e a parte da quantificação foi baseada no procedimento de Moongngarm et al. (2011)[21], mas com algumas alterações. Foram moídos grãos de arroz e passados por um peneiro de 1 mm, pesando-se 2,5 g de arroz moído para tubos de rosca e adicionando-se 4 mL de etanol 80 %, deixando-se a extrair durante 1h. Após a extração, a amostra foi centrifugada a 3000 rpm durante 10 min. e recolhido o sobrenadante. Do sobrenadante, foram retirados 125 µL para um tubo de rosca e adicionado 500 µL de água destilada e 125 µL de Reagente de Folin-Ciocalteu (VWR – 31360.264). Agitou-se no vortéx e deixando-se reagir durante 5 min. Acrescentaram-se 2,5 mL de Carbonato de Sódio 10 % e 1 mL de água destilada, voltou a agitar-se e a deixou-se a reagir, no escuro, durante 90 min. As amostras foram lidas num espectrofotómetro *Jenway – 6405UV/Vis*, a uma absorvância de 760 nm e quantificadas usando padrões de ácido gálico em etanol 80%, com concentrações que variaram entre 50,00 e 300,00 mg/L.

3.13. QUANTIFICAÇÃO DOS COMPOSTOS FENÓLICOS INSOLÚVEIS

A quantificação dos compostos fenólicos solúveis, a parte da extração foi baseada no procedimento de Lin (2011)[103] e a parte da quantificação foi baseada no procedimento de Moongngarm et al. (2011)[21], mas com algumas alterações. Foram moídos grãos de arroz e passados por um peneiro de 1 mm, pesando-se 0,5 g de arroz moído para tubos de rosca e adicionados 4 mL de etanol 80 %, foi deixado a extrair durante 1h. Após a extração, a amostra foi centrifugada a 3000 rpm durante 10 min. e descartado o sobrenadante. Ao resíduo juntaram-se 800 µL de KOH 1 M e deixado a dispersar durante a noite. Foi centrifugado novamente a 3000 rpm durante 10 min. e recolhido o sobrenadante. Estas amostras foram diluídas 10 vezes, ou seja, retiraram-se 100 µL do sobrenadante e foram adicionados 900 µL de água destilada. Daqui foram retirados 125 µL para um tubo e adicionados 500 µL de água destilada e 125 µL de Reagente de Folin-Ciocalteu (VWR – 31360.264). Agitou-se no vortéx e deixou-se reagir durante 5 min. Acrescentaram-se 2,5 mL de Carbonato de Sódio 10 % e 1 mL de água destilada, voltou a agitar-se e a deixou-se a reagir, no escuro, durante 90 min. As amostras foram lidas num espectrofotómetro *Jenway – 6405UV/Vis*, a uma absorvância de 760 nm e foram quantificadas usando padrões de ácido gálico em KOH 0,1 M, com concentrações que variaram entre 150,00 e 750,00 mg/L.

3.14. DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE COZEDURA

A determinação do tempo de cozedura do arroz foi baseada no método da tese de Sérgio (2012)[104], mas com algumas alterações. Foram usados cerca de 10 difusores para a cozedura do arroz, nos quais foram colocadas cerca de 2 g de arroz. Foi colocado um tacho com água num disco de aquecimento com a temperatura no máximo. Quando a água entrou em ebulição foram colocados os difusores e o tempo começou a ser contado de imediato.

O arroz foi deixado a cozer durante 10 min. ou o tempo adequado a cada variedade analisada. Após esse tempo, foram retirados difusores de minuto a minuto, sempre deixando o tacho tapado. Os difusores retirados foram colocados numa tina com água fria cerca de 10-20 s, de modo a parar a cozedura e secos o máximo possível com papel

absorvente. Os grãos de arroz foram retirados dos difusores e espalhados por pratos previamente identificados com o minuto de tiragem.

Depois de serem retirados todos os difusores, verificou-se a cozedura do arroz, no qual para cada minuto retiram-se 20 grãos de arroz e colocaram-se, dispersos, numa placa de petri. Estes foram esmagados com outra caixa de petri e contaram-se os grãos que ainda apresentavam núcleo (Figura 11).

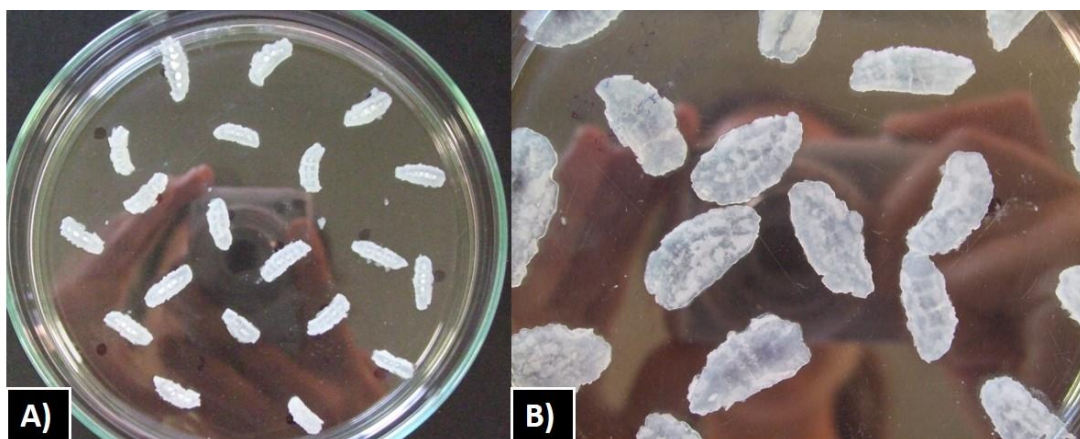


Figura 11 - Fotos dos grãos de arroz: A) Grãos de arroz com núcleo; B) Grãos de arroz com o núcleo gelatinizado.

Para cada amostra foram realizados 3 ensaios de cozedura, onde foi calculada a mediana dos grãos gelatinizados, sendo convertida em percentagem para cada minuto de cozedura, nas quais foram feitas 2 equalizações, obtendo-se medianas equalizadas. Através da interpolação polinomial, utilizando-se a adaptação de uma função de 2ª ordem das medianas equalizadas em função do tempo de cozedura onde foram calculados os valores do tempo de cozedura necessário para que 90 % de grãos de arroz ficassem totalmente gelatinizados[104].

3.15. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as análises foram feitas em triplicado e os resultados encontram-se expressos em média \pm desvio padrão, encontrando-se no Anexo A, B, C e D. Estes resultados foram analisados estatisticamente usando um software Microsoft Office Excel 2013 de modo a verificar se existiam diferenças significativas entre as amostras analisadas. Usou-se um intervalo de confiança de 90 %, uma vez que o procedimento usado para quantificar o

amido total é feito com a dispersão do amido em KOH. Este procedimento, segundo Batey (1982)[105], tem mais variabilidade de resultados, do que um em que use enzimas termoestáveis, obtendo-se desvios padrões maiores. Segundo as conclusões deste estudo, resolveu-se utilizar um intervalo de confiança de 90 %. Para as análises estatísticas, foram feitas a ANOVA de modo a se saber se os resultados seriam estatisticamente diferentes e o teste t para se descobrir essas diferenças.

Foram, também, calculadas as correlações, para 90 % de confiança, entre os parâmetros analisados anteriormente, de modo a se perceber quais se relacionam e qual o grau de correlação. Inicialmente, fez-se uma tabela de correlações com todos os dados de todas as amostras analisados (Anexo E). Os resultados obtidos das correlações foram analisados ao longo da discussão.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. ASPECTOS NUTRICIONAIS DO ARROZ BRANQUEADO

4.1.1. Resultados das Características Biométricas das amostras de arroz

Os aspetos físicos das amostras de arroz são importantes de modo a perceber as diferenças de grãos de arroz que existem e como isso pode influenciar as componentes nutricionais presentes. Os aspetos físicos das amostras analisadas pertencem aos parâmetros de qualidade do arroz[106], ou seja, estes parâmetros são caracterizados consoante a composição nutricional, características sensoriais, a saúde pública e os atributos relacionados com a adequação do arroz para determinados processos industriais. Por isso, a qualidade do arroz pode ser caracterizada do ponto de vista do tamanho, da forma e da aparência do grão de arroz[92]. A aparência é determinada, principalmente, pela forma do grão, sendo especificado pelo comprimento dos grãos, pela largura, pela relação entre o comprimento e a largura e pela translucidez do endosperma[107]. Na Figura 12 encontram-se os dados relativos ao comprimento, largura e o rácio comprimento/largura (C/L) dos grãos de arroz analisados.

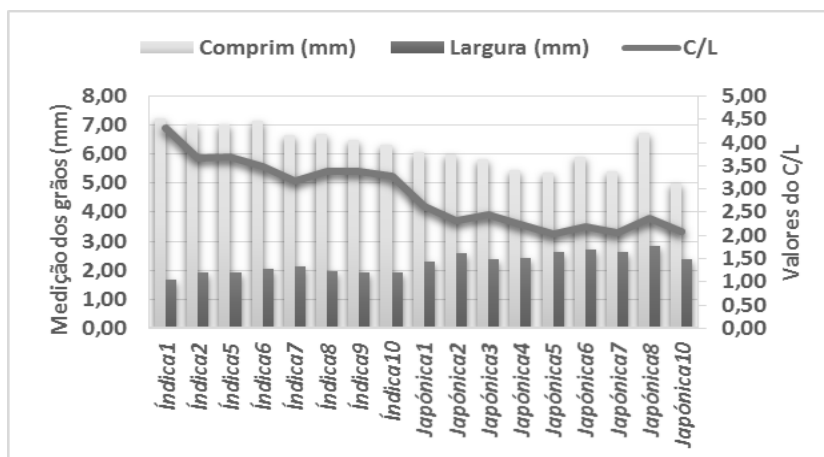


Figura 12 - Resultados do comprimento e da largura em mm, valores representados no eixo da esquerda, e do rácio comprimento/largura (C/L), valores apresentados no eixo da direita.

Ao se analisarem os resultados, conclui-se que as amostras *Índica* são semelhantes a nível de comprimento e largura do grão, variando pouco no rácio comprimento/largura. As amostras *Japónica* possuem uma maior largura que as amostras *Índica*, mas o comprimento diminui, exceto a amostra *Japónica8*. A variação do rácio comprimento/largura, dentro das amostras *Japónica* não é significativa, mas comparando com as amostras *Japónica* e *Índica*, verifica-se que as amostras *Índica* possuem um rácio comprimento largura superior ao das amostras *Japónica*. Este parâmetro é considerado como primeiro critério de qualidade do arroz, pois cada tipo de grão tem as suas características, ou seja, é dependente de cada variedade de arroz[108].

Segundo o Decreto-Lei n.º 62/2000 de 19 de Abril[93], o comprimento dos grãos têm várias caracterizações, sendo caracterizados por arroz de grão redondo, o arroz com grãos de comprimento inferior ou igual a 5,2 mm e a relação C/L inferior a 2. A amostra *Japónica10*, que corresponde à variedade tipo redondo, é a única amostra analisada que possui um comprimento inferior a 5,2 mm, contudo a relação C/P é ligeiramente superior a 2, sendo 2,08. O arroz é caracterizado como grãos médios, aquele que possua um comprimento que varia entre 5,2 e 6,0 mm e a sua relação C/L é inferior a 3. Todas as amostras *Japónicas* analisadas possuem estas características, exceto a amostra *Japónica1*, que possui um comprimento de 6,07, ultrapassando o limite superior estabelecido, e a amostra *Japónica8*, em que o comprimento ultrapassa o limite superior, 6,75 mm, contudo a relação C/L, destas amostras, encontra-se dentro desta gama. Por último, temos os grãos longos, que têm duas categorias. Na primeira, os grãos têm um comprimento superior a 6,0 mm e a relação C/L encontra-se entre 2 e 3. Todas as amostras *Índicas* e as amostras

Japónica1 e *Japónica8* possuem comprimentos superiores a 6,0 mm, contudo simplesmente as amostras *Japónica1* e *Japónica8* é que têm uma relação C/L entre 2 e 3. As restantes amostras, *Índicas*, entram na segunda categoria dos grãos longos, em que o comprimento é superior a 6,0 mm e a relação C/L é superior ou igual a 3.

Analisando as correlações entre os dados obtidos, percebe-se que a relação C/L correlaciona-se negativamente com a largura e positivamente com o comprimento, com uma correlação de -0,93 e 0,88, respetivamente. Havendo, também, uma correlação moderada entre a largura e o comprimento, de -0,66, ou seja, quanto maior for a largura menor é o comprimento dos grãos de arroz analisados.

Outra característica de qualidade do arroz e que pertence à aparência do arroz branqueado, é também dependente da brancura, da brancura vítrea e da % de área gessada dos grãos de arroz (Figura 13)[92]. A brancura total e a brancura vítrea relacionam-se com a capacidade de produção de arroz moído. A brancura total é influenciada pela humidade, pragas e tempo de armazenamento. A brancura total é medida através da luz refletida na amostra de arroz, a partir de uma fonte de luz, enquanto a brancura vítrea é a quantidade de luz que passa através da amostra, a partir da mesma fonte de luz usada para a medição da brancura total. A brancura vítrea é caracterizada pelo arranjo mais cristalino e mais compacto do amido[108]. A área gessada no arroz é causada por muitos fatores e ocorre quando o arroz é colhido a um nível muito elevado de humidade, sendo caracterizada pelo arranjo mais amorfo do amido e, encontrando-se por isso mais disponível para a atuação das enzimas. As condições climatéricas adversas e certas práticas culturais também influenciam a quantidade de área gessada presente no grão[107].

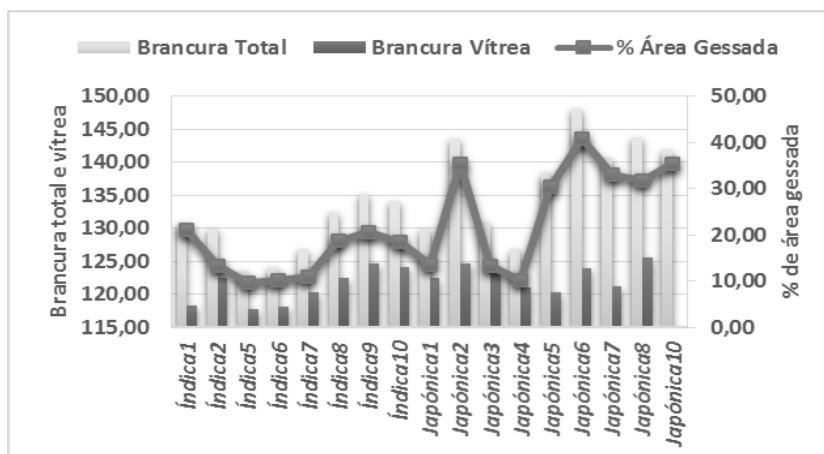


Figura 13 - Resultados da brancura total e da brancura vítrea, no eixo da esquerda, e a % de área gessada, no eixo da direita, das amostras de arroz analisadas.

Pela análise dos resultados (Figura 13), percebe-se que as amostras que possuem maior brancura total são as *Japónicas*, variando entre 126 e 148. Em relação à percentagem de brancura vítrea, não se verifica grandes variações entre as amostras analisadas, exceto na amostra *Japónica10*, que se verifica que tem uma brancura vítrea de quase do dobro das outras amostras. Verifica-se que as amostras analisadas possuem grande variação nesta componente, sendo as amostras *Japónica* as que têm maior variação e uma percentagem mais elevada. Os valores da área gessada são mais elevados para a subespécie *Japónica* do que para a subespécie *Índica*, estes resultados são corroborados pela literatura[107].

A brancura total relaciona-se fortemente com a largura dos grãos, em 0,70. As amostras da subespécie *Japónica* são as que possuem maior brancura total e comparativamente maior largura também. A brancura total também se relaciona moderada e negativamente com o comprimento e a relação C/L, em -0,50 e -0,63, respetivamente. Este resultado é corroborado com o que foi explicado anteriormente, uma vez que, neste caso, as amostras *Índica* são as que têm menor brancura total, no entanto, possuem maiores valores de comprimentos e relação C/L. A brancura vítrea também se relaciona moderada e negativamente com o comprimento, ou seja, quanto maior for a brancura vítrea de um grão menor é o seu comprimento.

A % de área gessada tem uma correlação muito forte com a brancura total, em 0,97. Esta correlação indica que quanto maior é a % de área gessada de um grão, maior é a sua brancura total. Por outro lado, também se relaciona moderada e negativamente com a relação C/L (-0,59) e positivamente com a largura (0,65). Pelos resultados obtidos, percebe-se que as amostras da subespécie *Japónica* são as que têm maior % de área

gessada, variando entre 10 e 40, maior largura dos grãos, variando entre 2,3 e 2,8, e menor relação C/L, variando entre 2,0 e 2,6.

O grau de brancura, principalmente a brancura total e a área gessada, são parâmetros que estão envolvidos na aceitabilidade do produto por parte do consumidor[109]. Por isso, arroz que apresente grãos gessados costumam ser rejeitados, mesmo estes estando presentes em pequena quantidade. Os grãos que apresentam uma maior área gessada estão relacionados com desordens estruturais do amido, podendo, assim, refletir-se na qualidade de cozedura do arroz e estes tipos de grãos são considerados mais frágeis que os com menor área gessada[110]. A última análise relativa à aparência do grão de arroz é a determinação do *Kett* (Figura 14).

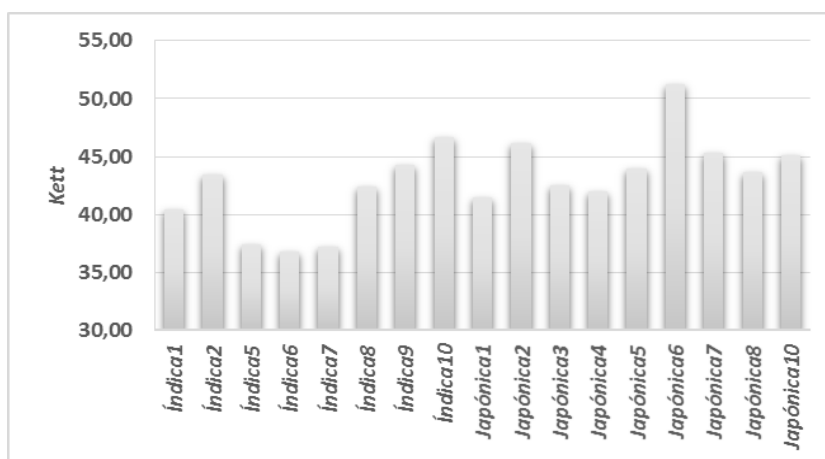


Figura 14 - Resultados do *Kett* para as amostras de arroz analisadas.

Pela análise dos resultados presentes na Figura 14, percebe-se que as amostras que possuem um menor *Kett* são *Índica6*, *Índica7* e *Índica5*, tendo valores por volta dos 37. A amostra *Japónica6* destaca-se como sendo a amostra que possui um *Kett* maior, cerca de 51, variando as restantes amostras entre os 40 e os 47 de *Kett*. O *Kett* possui uma correlação forte e positiva com a brancura total e com a % de área gessada, em 0,86 e 0,77, respetivamente. Além disso, o *Kett* relaciona-se moderada e negativamente com o comprimento e com a relação C/L, e positivamente com a largura, em -0,53, -0,54 e 0,51, respetivamente.

4.1.2. Resultados do teor de humidade de amostras de arroz

4.1.2.1. Otimização do procedimento

As amostras de arroz moídas foram deixadas num liofilizador durante 72 h, apresentando-se secas ao fim desse tempo. As mesmas amostras foram secas usando uma estufa a 130 ± 2 °C [111]. O processo de secagem na estufa é mais demorado do que a liofilização, uma vez que, as amostras são retiradas muitas vezes para serem pesadas e demoram muito tempo a arrefecer num exsiccador, ficando também limitado a quantidade de amostra que seriam secas. Como o teor de humidade obtido foi relativamente o mesmo entre os dois procedimentos (Tabela 4), aproveitou-se a secagem das amostras por liofilização para a determinação da proteína para também determinar a humidade das amostras analisadas. Estas amostras não foram feitas em duplicado devido ao aproveitamento para a quantificação de proteína, que só se secou uma vez.

Tabela 4 - Resultados da otimização da determinação da humidade.

Amostra	Estufa	Liofilizador
<i>Índica2</i>	11,38	11,37
<i>Índica9</i>	12,57	12,59
<i>Japónica3</i>	12,30	12,27
<i>Japónica10</i>	12,00	11,95

4.1.2.2. Resultados do teor de humidade das amostras de arroz

O teor de humidade é essencial para se proceder à determinação dos componentes nutricionais do arroz em matéria seca. Os resultados do teor de humidade das amostras de arroz encontram-se na Figura 15.

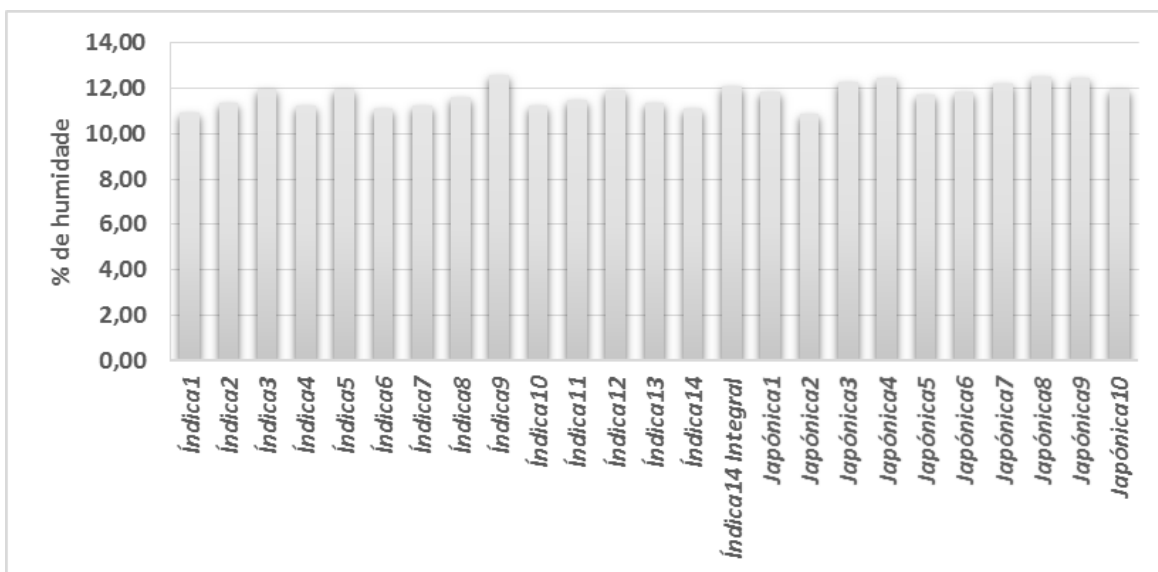


Figura 15 - Resultados do teor de humidade presente nas amostras analisadas.

Os resultados do teor de humidade presente nas amostras analisadas estão situadas entre os 10 e 13 %, encontrando-se abaixo do valor máximo estabelecido para o arroz no decreto de lei nº 63-2000 de 19 de Abril. A humidade correlaciona-se fraca e negativamente com o comprimento e a relação C/L, e positivamente com a largura, tendo correlações de -0,39, -0,45 e 0,41, respetivamente.

4.1.3. Resultados do teor de amido total

4.1.3.1. Otimização do método para a determinação do teor de amido total

Inicialmente o teor de amido total foi quantificado usando o procedimento descrito na tese de Teixeira (2012)[112], como mostra a Figura 16.

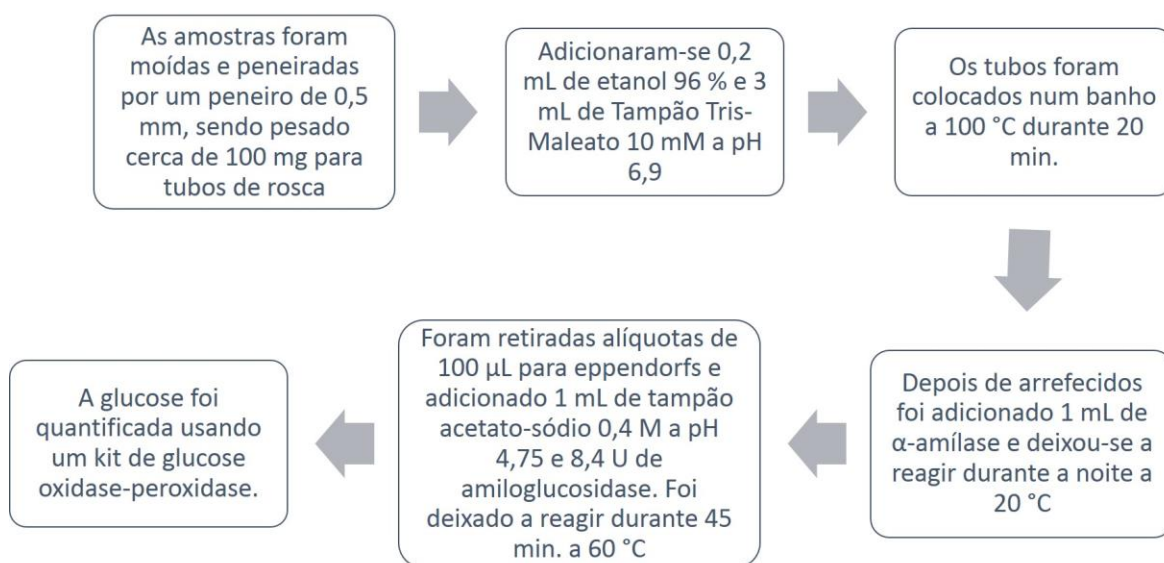


Figura 16 - Procedimento inicialmente usado para a determinação do teor de amido total.

Com este procedimento obtiveram-se valores de amido total de aproximadamente de 60 % (Tabela 5), o que ficava ligeiramente abaixo dos valores relatados na literatura[8] e os valores dos desvios padrões estavam altos, provocando grandes erros. Sendo assim, decidiu-se diminuir o teor de amostra colocada, passando de 100 mg para 25 a 35 mg de amostra, aumentou-se o tempo de hidrólise da α -amilase, que passou de 16 h para 24 h, aumentou-se, também, para o dobro (90 min.), o tempo de atuação da amiloglucosidase e a quantidade de amiloglucosidase adicionada, passando das 8,4 U para as 21 U. Aumentou-se para 21 U de amiloglucosidase, uma vez que ao se fazer os cálculos de modo a se saber quantas unidades de enzima eram necessárias para degradar todo o amido, obteve-se aproximadamente esse valor. Com estas alterações percebeu-se que a diminuição da quantidade de amostra permitiu um menor desvio padrão, uma vez que diminuía os erros de pipetagem, pois quanto maior o teor de amostra mais viscosa a solução se torna e mais erros tem de pipetagem, no entanto os teores de amido continuaram com os mesmos valores, cerca de 60 % (Tabela 5). Assim, percebeu-se que a alteração dos tempos de atuação das enzimas não foi suficiente para a hidrólise total do amido e, por isso, o amido era quantificado por defeito, resolveu-se rejeitar este procedimento.

Tabela 5 - Resultados do teor de amido, obtido usando o procedimento inicial, em que se recorria à gelatinização do amido, estes resultados não são apresentados em matéria seca.

Amostra	Alteração	% Amido total	Desvio padrão
<i>Índica5</i>	100 mg de amostra + α -amilase durante a noite + amiloglucosidase durante 45 min.	57,93	3,06
<i>Índica8</i>		57,43	3,47
<i>Japónica1</i>		57,70	1,46
<i>Japónica2</i>		60,42	1,60
<i>Índica5</i>	25-35 mg de amostra + α -amilase durante 24 h + amiloglucosidase durante 90 min.	58,96	2,11
<i>Índica8</i>		59,40	2,45
<i>Japónica1</i>		60,48	0,83
<i>Japónica2</i>		61,35	0,26

Para a quantificação do amido total, a metodologia usada foi baseada no procedimento de Goñi (1996)[62], como mostra a Figura 17.

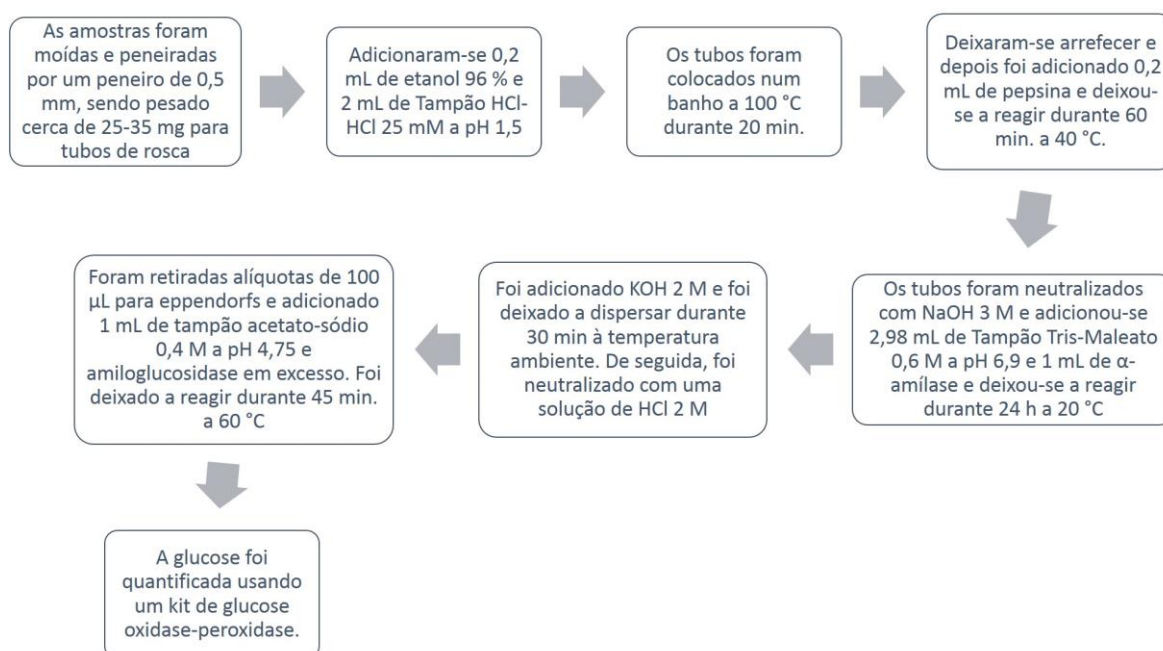


Figura 17 - Segundo procedimento testado para a quantificação do amido total[62].

A adição da pepsina faz com que a α -amilase fique com uma maior disponibilidade para degradar o amido, pois, com a proteína, o amido fica encapsulado, tornando-se inacessível às enzimas[62]. O mesmo acontece com o KOH, que é usado para dispersar e solubilizar o amido, destruindo a sua estrutura. Com este procedimento obtiveram-se valores de amido total entre 50 e 60 % para as mesmas amostras analisadas (Tabela 5), sendo ainda mais baixas que no procedimento anterior, decidiu-se fazer algumas alterações

a este procedimento. Voltando a analisar as mesmas amostras, aumentou-se o tempo de hidrólise de α -amilase para as 72 h e da amiloglucosidase para os 90 min.

Ao serem analisados os resultados verificou-se que estes variavam dentro da mesma gama, entre os 50 e 60 % (Tabela 6), por isso a alteração dos tempos de atuação das enzimas usadas não provocou alterações. Resolveu-se então não se proceder à adição do etanol 96 %, porque foi visto que poderia dificultar o acesso das enzimas ao amido resistente[62], pois poderia influenciar a atuação das enzimas usadas[113], e alterou-se também o tempo de atuação do KOH, passando de 30 min. para 24 h. Com estas alterações, os resultados subiram ligeiramente, por volta dos 60 % (Tabela 6), mas encontrando-se ainda abaixo das referências da literatura. Com estes resultados conclui-se que a adição do etanol influenciava a atuação das enzimas, não voltando a ser adicionado nas próximas alterações.

Decidiu-se alterar a temperatura da dispersão do KOH, deixando-se a dispersar durante 24 h a 4 °C, pois no procedimento da Megazime para o amido total[114] e para o amido resistente[97] o KOH é usado frio. Esta alteração voltou a dar resultados por volta dos 60 % (Tabela 6), concluindo-se que a temperatura de atuação do KOH não influenciou os resultados, assim, decidiu-se rejeitar este procedimento.

Tabela 6 - Resultados do teor de amido total obtidos usando o procedimento baseado no procedimento para a quantificação de amido resistente, os resultados não são apresentados em matéria seca.

Amostra	Alteração	% Amido total	Desvio padrão
<i>Índica5</i>	25 - 35 mg de amostra + Etanol + Gelatinização (100°C) + α -amilase (24 h) + KOH (30 min.) + amiloglucosidase (45 min.)	54,09	0,31
<i>Índica8</i>		57,93	0,04
<i>Japónica1</i>		55,81	0,31
<i>Japónica2</i>		61,16	0,35
<i>Índica5</i>	25 - 35 mg de amostra + Etanol + Gelatinização (100°C) + α -amilase (72 h) + KOH (30 min.) + amiloglucosidase (90 min.)	55,57	0,36
<i>Índica8</i>		58,60	0,44
<i>Japónica1</i>		54,74	0,28
<i>Japónica2</i>		62,38	0,15
<i>Índica5</i>	Não se adicionou o Etanol e colocou-se o KOH durante 24 h à temperatura ambiente	57,32	0,69
<i>Índica8</i>		62,41	0,39
<i>Japónica1</i>		59,93	0,06
<i>Japónica2</i>		60,41	0,10
<i>Índica5</i>	Colocou-se o KOH durante 24 h a 4 °C	60,67	1,31
<i>Índica8</i>		57,58	1,70
<i>Japónica1</i>		60,32	0,50
<i>Japónica2</i>		61,52	0,16

O procedimento seguinte a ser testado foi baseado no procedimento de Goñi (1997)[96], como mostra a Figura 18.

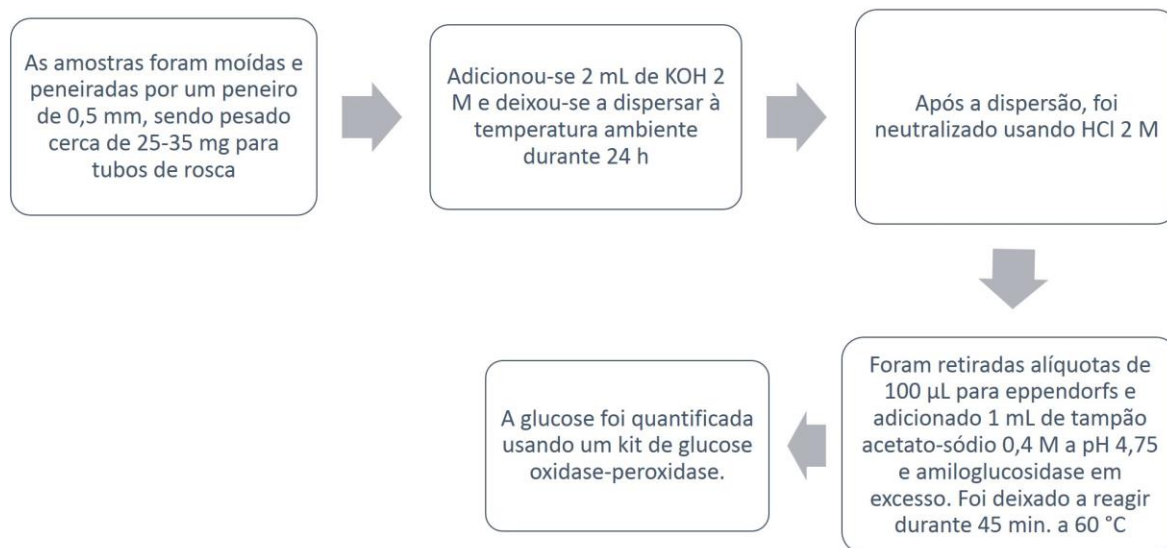


Figura 18 – Terceiro procedimento usado para a quantificação do amido total[96].

Com este procedimento os resultados de amido total também foram cerca de 60 % (Tabela 7). Pensou-se que só uma enzima pudesse ter mais dificuldade para conseguir hidrolisar todo o amido. Decidindo-se, assim, adicionar a α -amilase. Após o passo da neutralização com o HCl, foi adicionado Tampão Tris-Maleato 0,6 M a pH 6,9 e α -amilase, sendo deixado a reagir durante 24 h a 20 °C. Os resultados voltaram a ser de cerca de 60 % (Tabela 7), ainda abaixo dos valores esperados, contudo encontram-se próximos dos obtidos anteriormente.

Deste modo, após a adição da enzima α -amilase adicionou-se etanol absoluto, pois ajuda na extração dos açúcares, e foi colocado num banho em ebulição durante 20 min. para gelatinizar o amido em falta. Os resultados do amido total com esta alteração deram ainda mais baixos dos que os anteriores, dando cerca de 50 % (Tabela 6). A adição do etanol poderia estar a influenciar a atuação da enzima amiloglucosidase, resolvendo-se fazer o mesmo procedimento, mas sem a adição do etanol absoluto. Verificou-se que o etanol influenciou, porque os resultados voltaram aos 60 % (Tabela 6) como tinha sido explicado anteriormente. Contudo, estes resultados ainda se encontram abaixo do esperado,

pois ao gelatinizar o amido pode ocorrer retrogradação, levando à formação de amido resistente.

Tabela 7 - Resultados do teor de amido usando o procedimento em que a amostra é inicialmente colocada a dispersar com KOH, os resultados não são apresentados em matéria seca.

Amostra	Alteração	% Amido total	Desvio padrão
<i>Índica5</i> <i>Índica8</i> <i>Japónica1</i> <i>Japónica2</i>	25 - 35 mg de amostra + KOH (24 h) + amiloglucosidase (45 min.)	59,69 61,23 60,80 58,34	0,66 0,57 0,61 0,25
<i>Índica5</i> <i>Índica8</i> <i>Japónica1</i> <i>Japónica2</i>	25 - 35 mg de amostra + KOH (24 h) + α -amilase (24 h) + amiloglucosidase (45 min.)	55,84 68,74 60,67 64,88	0,20 0,52 1,31 0,47
<i>Índica5</i> <i>Índica8</i> <i>Japónica1</i> <i>Japónica2</i>	25 - 35 mg de amostra + KOH (24 h) + α -amilase (24 h) + Etanol + gelatinização (100 °C) + amiloglucosidase (45 min.)	51,25 51,17 53,76 51,47	0,29 2,27 0,34 0,32
<i>Índica5</i> <i>Índica8</i> <i>Japónica1</i> <i>Japónica2</i>	Não se adicionou o Etanol, mas colocou-se na mesma a gelatinizar a 100 °C	61,03 63,84 59,57 59,61	0,42 0,37 0,68 0,64

Ao serem analisados todos os resultados, decidiu-se experimentar prolongar mais tempo, tanto a hidrólise com as enzimas como a dispersão feita com o KOH. O KOH foi deixado a dispersar durante 72 h, a α -amilase foi deixada a reagir durante 48 h e a amiloglucosidase durante 24 h. Com estas alterações, o teor de amido total deu valores entre os 60 e 71 % (Figura 19), o que em matéria seca deu entre os 70 e 81 %, dentro dos valores estabelecidos pela literatura.

4.1.3.2. Resultados do teor de amido total de amostras de arroz

O amido é o principal constituinte dos grãos de arroz. É um hidrato de carbono que consiste num largo número de unidades de glucose ligadas por ligações glicosídicas[8]. Neste procedimento procede-se, primeiramente, à dispersão do amido com hidróxido de potássio 2 M, que permite desorganizar as estruturas cristalinas do amido, permitindo a atuação das enzimas. Esta dispersão feita com o hidróxido de potássio só é eficaz quando deixado muitas horas, de modo a permitir que este chegue a toda a quantidade de arroz

moído colocado nos tubos de rosca, por isso foi deixado a dispersar pelo menos 72 h. A quebra das ligações glicosídicas foi feita pelo uso de enzimas, a α -amilase, que quebra ligações $\alpha(1\rightarrow4)$, e a amiloglicosidase, que para além de quebrar as ligações $\alpha(1\rightarrow4)$, também quebra as ligações $\alpha(1\rightarrow6)$ [115], libertando monossacarídeos de glucose, que foram quantificados usando o Kit GOD-POD (Ref.: AK00161, NZTech). A α -amilase é uma enzima endógena, quebrando o amido em polissacarídeos de cadeia curta e dextrinas, ficando, estes, mais disponíveis para a atuação da amiloglicosidase, que é uma enzima exógena[115]. Os resultados de amido total das amostras analisadas encontram-se na Figura 18, são apresentados em % de matéria seca.

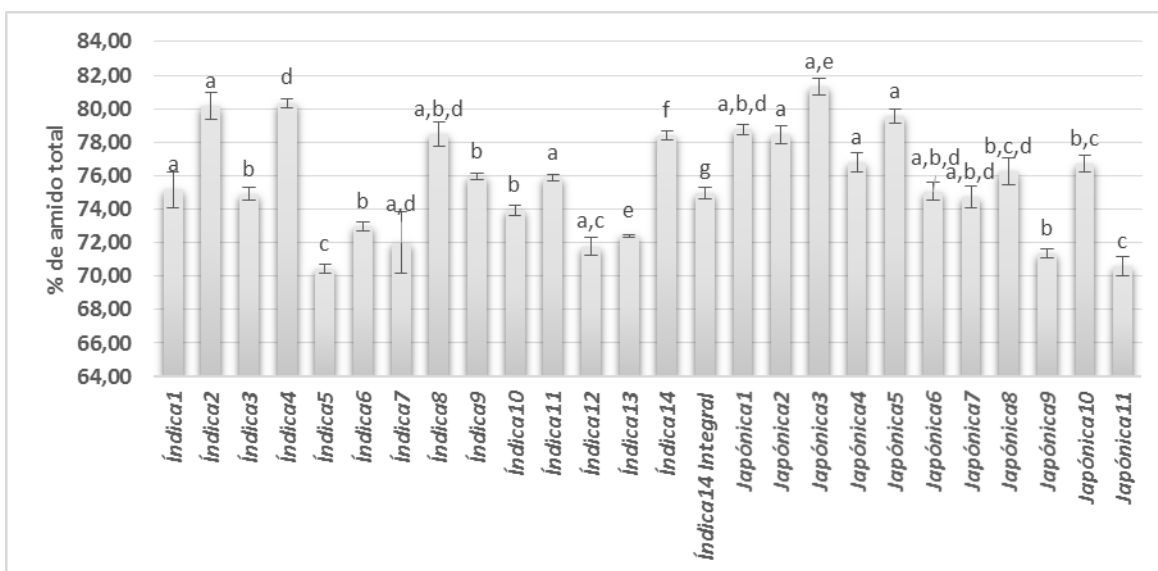


Figura 19 - Resultados da % do teor de amido total das amostras analisadas, apresentado em matéria seca.

Analisando os resultados, apresentados na Figura 19, percebe-se que as amostras de arroz que possuem menor teor de amido total são o *Índica5*, *Japónica11*, *Japónica 9* e *Índica12*, apresentando valores entre 70 e 73 % em matéria seca. Os que contêm maior teor de amido total são o *Japónica3*, *Índica4*, *Índica2* e *Japónica5*, apresentando valores que variam entre 79 e 82 % em matéria seca. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$. Estes valores de % de amido total encontram-se dentro dos valores da literatura, pois variam entre 70 e 82 % e a literatura diz que o teor de amido total é cerca 75 % [8]. O teor de amido total correlaciona-se fraca e negativamente com o comprimento e a relação C/L, e positivamente com o *Kett*, em -0,36, -0,35 e 0,36, respetivamente. Deste modo, o teor de amido total aumenta com a diminuição do

comprimento e da relação C/L, verificando-se que as amostras *Japônicas*, no seu todo, possuem maior teor de amido e menor comprimento e relação C/L, e aumenta com o aumento do *Kett*. As amostras que possuem maior *Kett* são as da subespécie *Japônica*.

4.1.4. Resultados do Índice Glicêmico de amostra de arroz

4.1.4.1. Otimização do procedimento

O procedimento inicial, Figura 20, baseado no procedimento de Goñi et al. (1997)[96], utilizava a temperatura de 37 °C para a atuação da enzima α -amilase, a mesma α -amilase utilizada neste relatório de estágio. Ao serem lidas as especificações desta enzima, a temperatura ótima de atuação é de 20 °C e o pH ótimo é 6,9, por isso foi alterada a temperatura da enzima.

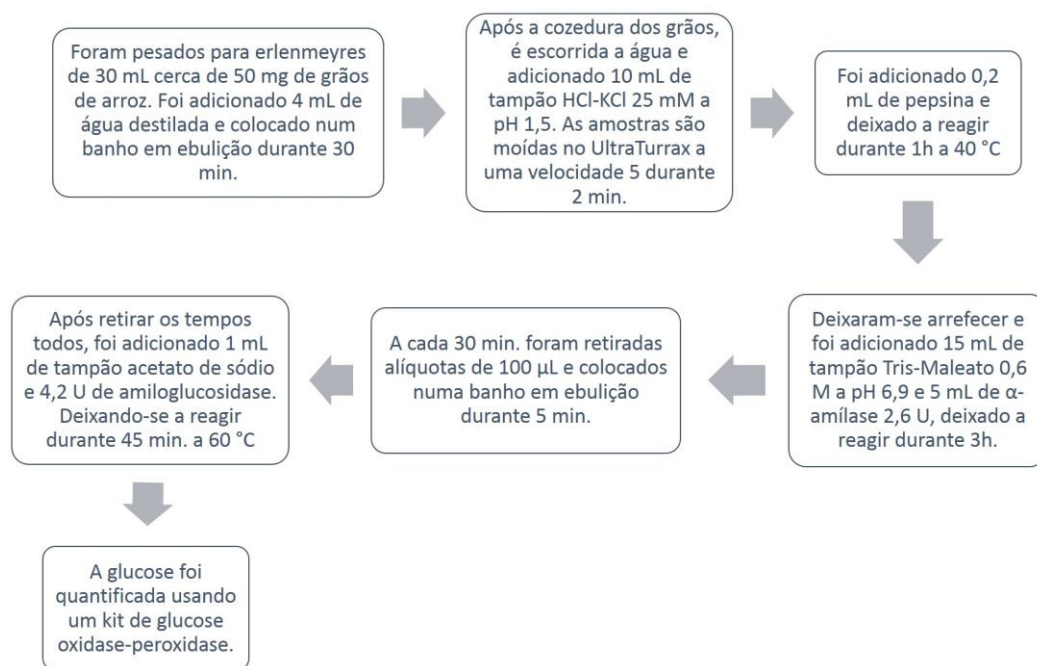


Figura 20 - Procedimento inicialmente usado para a determinação do Índice Glicêmico[96].

Outra alteração em relação ao procedimento inicial, é a adição de NaOH 3 M, uma vez que ao ser medido o pH das soluções, o tampão Tris-Maleato 0,6 M a pH 6,9 não era capaz de tamponizar a amostra de modo a que o pH ficasse próximo de 6,9. A adição do NaOH 3 M é meramente para que a solução fique com um pH próximo de 6,9 e assim a enzima já está próximo do seu pH ótimo.

4.1.4.2. Valores de Índice Glicémico de amostras de arroz

A capacidade do amido ser convertido em glucose pode ser representada pelo Índice Glicémico[39]. Para se calcular o Índice glicémico é necessário, primeiramente, fazer uma curva de hidrólise do amido para cada amostra, na Figura 21, que corresponde à percentagem de amido hidrolisado em cada tipo de arroz. Esta curva de hidrólise do amido permite estabelecer uma relação com o que acontece *in vitro*[96]. Obtiveram-se as curvas de hidrólise das 26 amostras fornecidas pela empresa. As amostras que obtiveram curvas de hidrólise mais baixas (Figura 21A), atingiu um máximo de cerca de 80 %, para as amostras de hidrólise mais elevadas, chegaram a atingir cerca de 100 % de hidrólise de amido (Figura 21B). Estes resultados são concordantes, uma vez que o arroz possui uma boa digestibilidade[9].

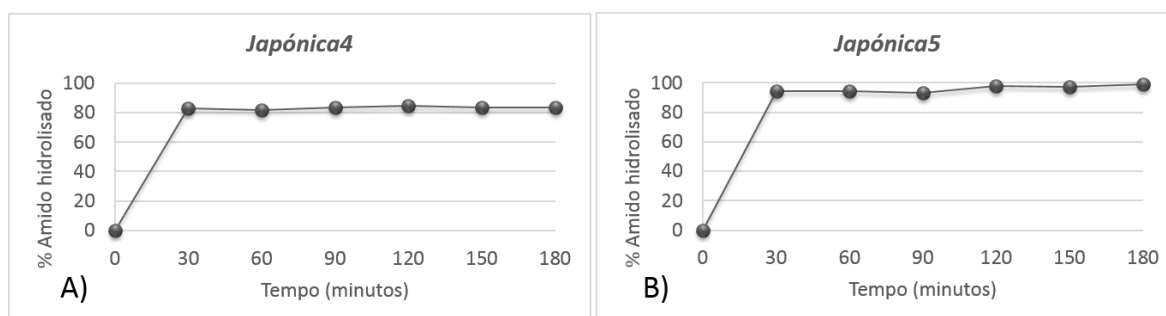


Figura 21 - Curva de hidrólise de uma amostra com baixo índice glicémico (A) e outra com elevado índice glicémico (B), *Japónica4* e *Japónica5*, respetivamente, ou seja é a percentagem de amido hidrolisado durante as 3h de hidrólise analisadas.

As curvas de hidrólise são comparadas com as curvas de hidrólise do pão branco fresco, que obteve um máximo de hidrólise de cerca de 68 %, como mostra a Figura 22. As referências encontradas mostram uma % de hidrólise de amido para o pão branco fresco de cerca de 50 %. O resultado obtido encontra-se ligeiramente acima do valor obtido na literatura, podendo estar relacionado com o tipo e quantidade de farinha usada e das condições de cozedura durante o fabrico do pão branco[96]. Outra razão para a hidrólise do pão branco ter dado ligeiramente acima do referenciado na literatura, é o facto da enzima α -amilase ter sido colocada a hidrolisar a 37 °C, enquanto a sua temperatura ótima encontra-se aos 20 °C.

Depois das curvas calculadas para cada amostra procede-se ao cálculo do Índice glicémico para as amostras de arroz tendo em conta o modelo de Goñi, explicado

anteriormente. Os resultados de Índice Glicémico das amostras analisadas encontram-se na Figura 23.

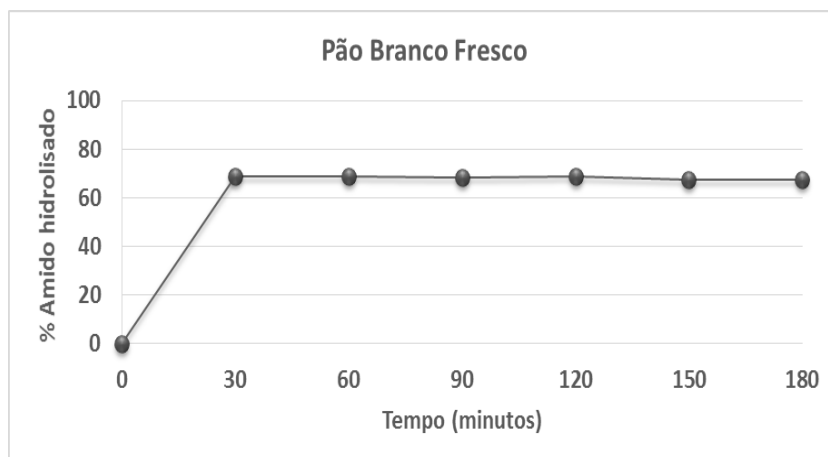


Figura 22 - Curva de hidrólise de pão branco fresco, com um máximo de hidrólise de 68 % de amido hidrolisado.

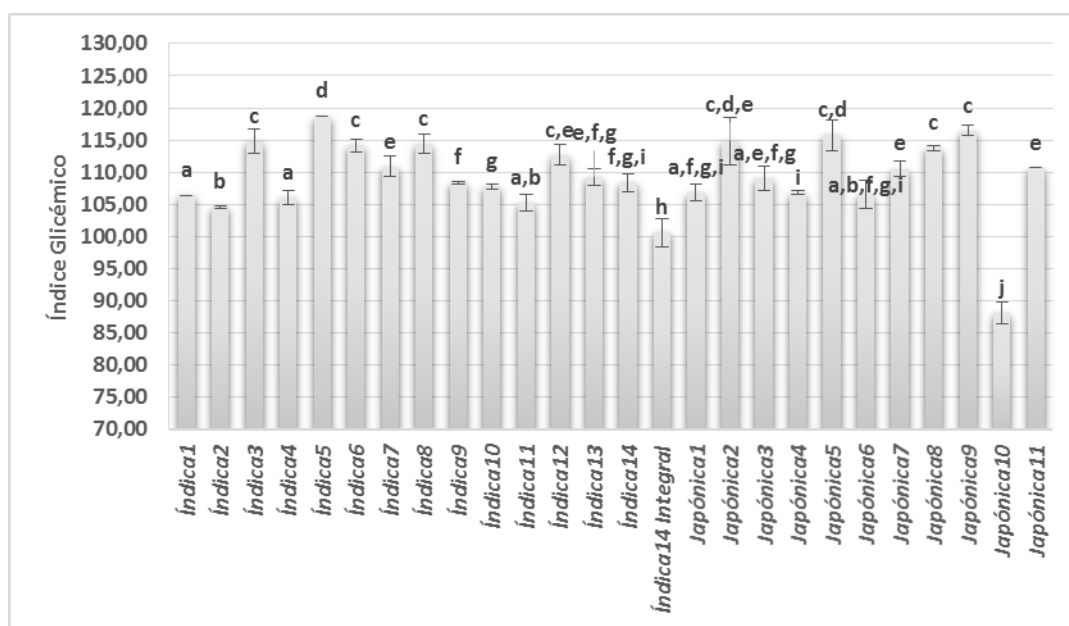


Figura 23 - Resultado do Índice Glicémico das amostras analisadas.

Analisando os resultados, apresentados na Figura 23, pode concluir-se que a amostra que possui menor índice glicémico é a amostra *Japónica10*, destacando-se das restantes amostras analisadas com um teor de índice glicémico de 88. Este valor de índice glicémico está abaixo do valor obtido para o pão (94,61). As restantes amostras com baixo índice glicémico são as *Índica14 Integral*, *Índica2*, *Índica11* e *Índica1*, tendo valores de índice glicémico que variam entre 100 a 106. As amostras que possuem um valor de Índice Glicémico mais elevado são *Índica5*, *Japónica9*, *Japónica5* e *Japónica2*, tendo valores que

variam entre 114 e 118. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$. Estes resultados apresentam-se dentro dos valores da literatura (60-200). Vários fatores afetam o índice glicémico, como a informação genética dos grãos e as condições climáticas a que foram sujeitos[88].

Foram analisadas duas amostras comerciais que são estabelecidas como amostras com baixo índice glicémico, sendo *Índica4* e *Índica13*, com valores de índice glicémico de 106 e 109, respetivamente. Assim, todos os resultados obtidos que se encontram abaixo destes valores são consideradas amostras com baixo índice glicémico, e as amostra que se encontram acima destes valores são consideradas amostras com alto índice glicémico. Comparando os valores de índice glicémico destas amostras e das amostras analisadas, percebe-se que as amostras estabelecidas como amostra de baixo índice glicémico estão de acordo com os padrões comerciais, sendo as indicadas para pacientes que sofrem de diabetes mellitus tipo II. No arroz com índice glicémico elevado, como o amido é convertido em glucose no sangue muito rapidamente, correspondendo a amido de absorção rápida, é indesejável para paciente que sofram de diabetes mellitus tipo II[39]. As amostras de arroz que mostram um Índice Glicémico mais elevado, *Índica5*, *Japónica9*, *Japónica5* e *Japónica2*, não devem ser consumidas por este tipo de pacientes, uma vez que o amido é de absorção rápida e os níveis de glucose subem muito e rapidamente, seguindo-se de uma descida rápida, mesmo abaixo dos níveis basais. Assim, as amostras com baixo índice glicémico são mais adequadas, pois possuem amido de absorção lenta, que tem um efeito estabilizante e de sustentação dos níveis de glucose no sangue[10].

O índice glicémico possui uma correlação muito forte e negativa com a brancura vítrea, em $-0,82$, indicando que quanto maior for o índice glicémico menor será a brancura vítrea do arroz analisado. Quanto mais organizado se encontra o amido, maior teor de brancura vítrea, este torna-se mais resistente à ação das enzimas, levando a um menor índice glicémico. Para além de se correlacionar com a brancura vítrea também se correlaciona moderada e positivamente com a largura do grão de arroz, em $0,42$. Esta correlação indica que quanto maior for o índice glicémico maior será a largura. Por exemplo, a amostra *Japónica8* possui uma largura medianamente alta, quando comparada com as restantes amostras e possui um índice glicémico também medianamente alto, comprovando estes resultados.

4.1.5. Resultados do amido resistente de amostras de arroz

4.1.5.1. Otimização do procedimento

A diferença da quantificação do amido total para o amido resistente é a remoção do amido digerível. O teor de amido resistente descrito na literatura varia entre os 5 e 10 % em matéria seca[62]. Inicialmente, o procedimento para a determinação do amido resistente era baseado unicamente no procedimento de Goñi et al. (1996)[62], como está apresentado na Figura 24.

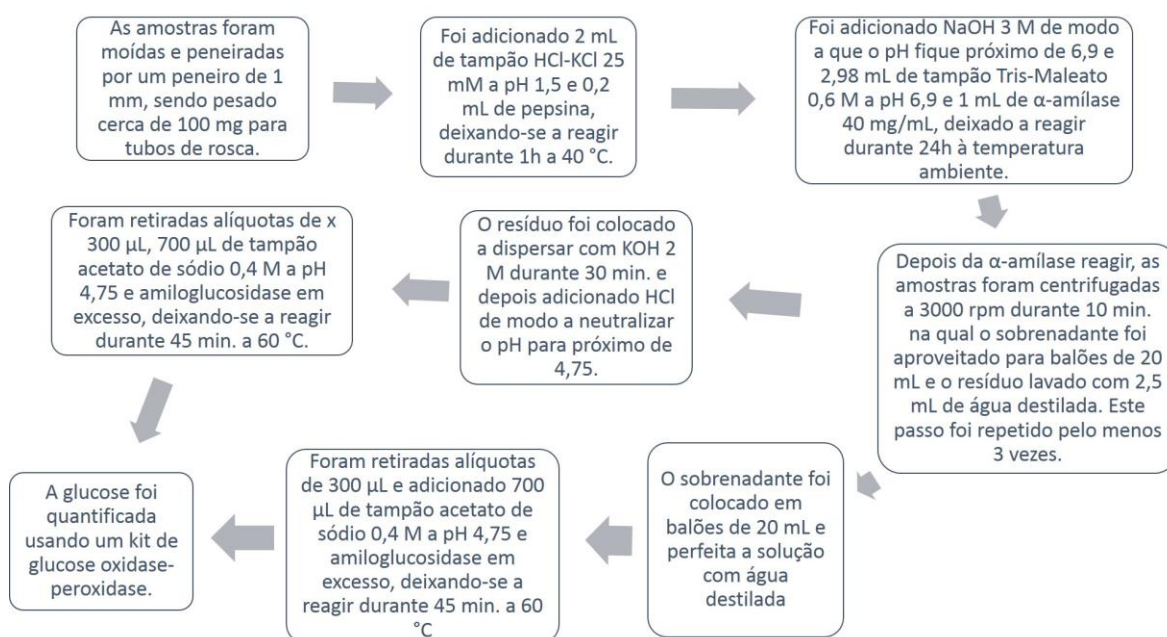


Figura 24 - Procedimento inicial usado para a quantificação do amido resistente e do amido digerível, baseado no procedimento de Goñi et al. (1996)[62].

Os valores de amido resistente, obtidos através do procedimento apresentado na Figura 24, deram entre 17 e 25 % e os valores de amido digerível entre 25 e 35 % (Tabela 8). Percebeu-se que o amido resistente ficou contaminado com amido digerível, logo a α-amilase não estava a degradar o amido suficiente, aumentando-se o tempo de atuação da α-amilase para as 72 h. O teor de amido digerível também não estava na sua totalidade uma vez que a soma do amido digerível com o amido resistente deu entre 44 e 54 % (Tabela 8), valores que deveriam rondar os 60 – 75 %, correspondente ao teor de amido total. No entanto, para a quantificação do amido digerível há bastantes perdas, uma vez que ao se retirar o sobrenadante com pipetas de Pasteur, fica sempre restos nas pipetas, mesmo que sejam bem lavadas, e o resíduo não fica colado ao fundo do tubo, sendo difícil a remoção

total do sobrenadante. Por isso, não se esperava quantificar o amido digerível na sua totalidade.

Uma das alterações feitas a este procedimento foi o aumento do tempo de atuação da α -amilase e o teor de amostra inicial, passando-se para os 25 a 35 mg de amostra inicial. Com estas alterações obtiveram-se teores de amido total de 5 % e de amido digerível de 55 % (Tabela 8), sendo que a soma destes dois valores correspondendo a cerca de 60 %, próximo dos valores de amido total, mas ainda ligeiramente abaixo, o que indica que o amido digerível ainda não estaria a ser quantificado na sua totalidade. Com estes resultados supõe-se que o KOH não estaria a dispersar todo o amido ainda presente, por isso aumentou-se o tempo de atuação do KOH para as 24 h. Os resultados com esta alteração deram os mesmos que anteriormente, embora o teor de amido resistente tendo dado mais elevado, indicando que ficou contaminado com amido digerível (Tabela 8). Estes resultados mostram que o KOH não precisa de mais de 30 min. para dispersar o amido restante presente no resíduo.

Tabela 8 - Resultados da otimização do procedimento para a quantificação do amido resistente e digerível, baseado no procedimento de Goñi.

Código	Alteração	% Amido Resistente	Desvio padrão	% Amido Digerível	Desvio padrão
<i>Índica5</i>	100 mg de amostra + α -amilase (24 h) + centrifugação + lavagens com água destilada + resíduo e sobrenadante com amiloglucosidase (45 min.)	21,43	1,43	34,83	0,98
<i>Índica8</i>		16,97	1,92	30,83	1,18
<i>Japónica1</i>		21,33	0,61	23,15	0,81
<i>Japónica2</i>		25,38	2,52	27,40	0,79
<i>Índica5</i>	Alterou-se a quantidade de amostra para 25 - 35 mg e o tempo de reação da α -amilase para 72 h	4,82	0,05	56,27	0,42
<i>Índica8</i>		5,46	0,02	55,48	0,25
<i>Japónica1</i>		3,81	0,03	45,05	0,02
<i>Japónica2</i>		4,14	0,04	42,51	0,16
<i>Índica5</i>	Alterou-se o tempo de dispersão com o KOH para 24 h	21,61	0,21	42,79	0,41
<i>Índica8</i>		19,16	0,14	38,29	0,44
<i>Japónica1</i>		18,16	0,11	38,87	0,27
<i>Japónica2</i>		19,90	0,11	26,70	0,52

Ao ser lida a ficha técnica para a quantificação do amido resistente da Megazyme[97], percebeu-se que certos passos poderiam ser acrescentados a este procedimento. A seguir a atuação da α -amilase foi adicionado um passo em que se neutraliza a solução com HCl, adiciona-se tampão acetato de sódio e amiloglucosidade e deixou-se a reagir durante aproximadamente 24 h a 60 °C. A reação com a

amiloglucosidase faz com que se formem glucoses, que possuem um peso molecular mais baixo que os oligossacarídeos e as dextrinas, que são obtidas quando o amido é degradado simplesmente pela α -amilase. A adição deste passo, facilita o processo da centrifugação e, assim, separação do amido digerível do amido resistente, uma vez que poderiam haver dextrinas longas que ficariam no resíduo, contaminando o teor de amido resistente. Após a reação com a amiloglucosidase, as amostras são centrifugadas, e o resíduo é lavado com etanol 50 %, repetindo-se o processo 3 vezes. A lavagem com o etanol permite que o sobrenadante se separe do resíduo sem quase provocar perturbações no mesmo, sendo possível a sua remoção vertendo o tubo. Esta alteração ao procedimento permitiu quantificar o teor de amido resistente, encontrando-se dentro dos valores esperados (Tabela 9), no entanto, obteve-se um desvio padrão muito elevado. Para diminuir o desvio padrão decidiu-se aumentar o teor de amostra inicial. O teor de amido digerível encontrava-se abaixo do esperado (Tabela 9).

Tabela 9 - Resultados do teor de amido resistente e amido digerível obtidos a partir do procedimento do kit da Megazyme para a quantificação de amido resistente.

Código	Alteração	% Amido Resistente	Desvio padrão	% Amido Digerível	Desvio padrão
<i>Índica5</i>	25-35 mg de amostra + α -amilase (24 h) +	2,69	0,40	49,53	1,47
<i>Índica8</i>	amiloglucosidase (24 h) + centrifugação +	7,49	2,23	41,78	0,77
<i>Japónica1</i>	lavagens com etanol + resíduo e	2,69	0,17	49,53	0,44
<i>Japónica2</i>	sobrenadante com amiloglucosidase (24 h)	4,58	1,13	49,64	1,67

Decidiu-se não quantificar o amido digerível das amostras porque este estava a ser quantificado por defeito, uma vez que a soma do amido digerível com o amido resistente não dava o mesmo valor que no amido total. Contudo, o uso desta pequena quantidade de amostra provocava um aumento no desvio padrão e consequentemente um aumento no erro de quantificação, por isso, decidiu-se voltar a aumentar o teor de amostra para 100 mg. Esta alteração permitiu quantificar o amido resistente com menores erros e os resultados encontravam-se dentro dos valores da literatura (Figura 25).

4.1.5.2. Valores de amido resistente de amostras de arroz

O amido resistente é caracterizado pelos produtos da degradação do amido que não são absorvidos no intestino delgado de indivíduos saudáveis. A quantificação do amido resistente é importante devido aos efeitos que este possa provocar na saúde[62]. Os

resultados de amido resistente encontram-se na Figura 25, apresentado em valores de matéria seca.

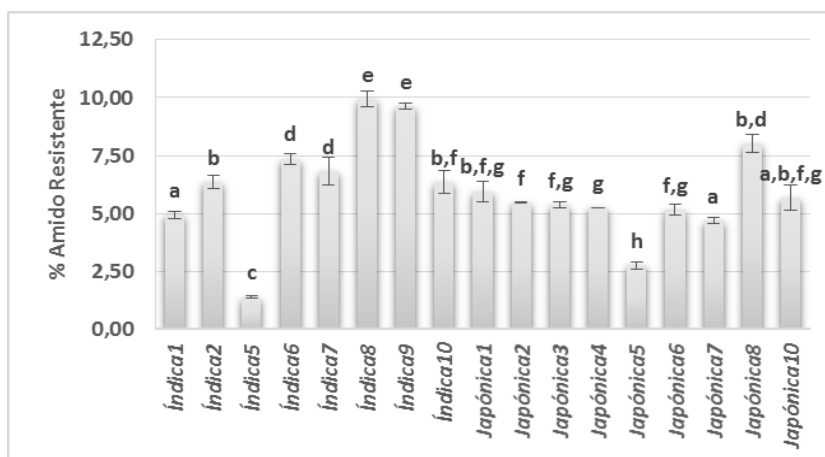


Figura 25 - Resultados do teor de amido resistente, apresentado em % de matéria seca.

As amostras em que o teor de amido resistente se encontra mais baixo são *Índica5*, *Japónica5*, *Japónica7* e *Índica1*, tendo valores que variam entre 1,4 e 5,0 % em matéria seca. As amostras que possuem um teor de amido resistente mais elevado são *Índica8*, *Índica9*, *Japónica8* e *Índica6*, nas quais os valores encontram-se entre os 7,4 e 10,0 % em matéria seca. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$. Segundo Jaisut et al. (2008)[89], o arroz que possui elevados complexos amilose-lípidos e amido resistente, apresenta baixos valores de índice glicémico. Comparando os valores de amido resistente com os de índice glicémico, percebe-se que, por exemplo, as amostras *Índica5* e *Japónica 5* são as que apresentam valores de índice glicémico mais elevadas, quando comparado com o baixo valor de amido resistente. O contrário não se verifica, porque as amostras *Índica8* e *Índica9*, que são aquelas que apresentam maior teor de amido resistente, no entanto não apresentam menor índice glicémico. As amostras com índice glicémico mais baixo possuem teores medianos de amido resistente, indo contra ao que é encontrado na literatura. Os resultados da literatura indicam que amostras com elevado índice glicémico possuem pouco amido resistente, uma vez que o amido se encontra mais indisponível para hidrólise[87].

As correlações do amido resistente foram analisadas em matéria seca e no amido total, obtendo-se semelhantes valores para ambas. Contudo, o amido resistente unicamente possui correlações muito fracas ou inexistentes com os parâmetros analisados

anteriormente, sendo a correlação mais alta com o comprimento de cerca 0,27 e 0,24, em matéria seca e no amido total, respetivamente. Este valor de correlação não permite estabelecer qualquer tipo de conclusão. Seria de esperar que se obtivesse uma correlação negativa entre o amido resistente e o índice glicémico, uma vez que quando este aumenta, o índice glicémico diminui, como no estudo feito por Hu et al. (2004)[87]. Apesar de apresentar um valor de correlação negativo (-0,11), este não possui importância de modo conclusivo. Provavelmente necessitaria de uma maior amostragem para se poder observar esta correlação.

4.1.6. Resultados do teor de amilose aparente de amostras de arroz

O teor de amilose aparente é importante, uma vez que tem um impacto na textura do arroz cozido e nas propriedades funcionais do amido de arroz[58]. Estudos indicam que há uma relação entre o teor de amilose e o índice glicémico, sendo as amostras com elevado teor de amilose as que apresentam um índice glicémico mais baixo. Isto acontece devido aos complexos formados entre a amilose e os monoglicéridos saturados de cadeia longa que são resistentes à digestão[89]. Os resultados do teor de amilose aparente das amostras de arroz analisadas apresentam-se na Figura 26, expressos em % de matéria seca.

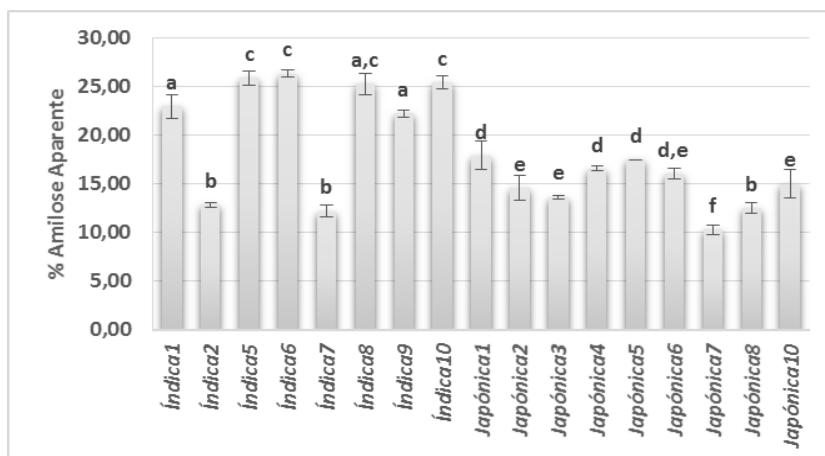


Figura 26 - Resultados da % de amilose aparente de cada amostra, em matéria seca.

Pela análise dos resultados, conclui-se que as amostras que contêm menor teor de amilose aparente são *Japónica7*, *Índica7*, *Japónica8* e *Índica2*, tendo valores que variam entre 10 e 13 % em matéria seca. As amostras com teor de amilose aparente mais elevada são todas amostras *Índica*, ou seja, *Índica6*, *Índica5*, *Índica10* e *Índica8*, com valores que

variam entre 25 e 26 % em matéria seca. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$. Estas amostras de arroz podem ser classificadas consoante o teor de amilose aparente, como glutinoso, muito baixo, baixo, médio e alto seguindo a ordem da Tabela 10.

Tabela 10 - Atribuição da classificação consoante o teor de amilose aparente às amostras analisadas.

Gama de teor de amilose	Classificação	Amostra analisada
0 – 3 %	Glutinoso	-
3 – 12 %	Muito Baixo	<i>Japónica7</i>
12 – 20 %	Baixo	<i>Índica7</i> <i>Japónica8</i> <i>Índica2</i> <i>Japónica3</i> <i>Japónica2</i> <i>Japónica10</i> <i>Japónica6</i> <i>Japónica4</i> <i>Japónica5</i> <i>Japónica1</i>
20 – 25 %	Médio	<i>Índica9</i> <i>Índica1</i>
25 – 33 %	Alto	<i>Índica8</i> <i>Índica10</i> <i>Índica5</i> <i>Índica6</i>

Como se pode ver na Tabela 10, as amostras que pertencem à espécie *Japónica* são as que apresentam menores teores de amilose aparente, enquanto as amostras *Índica* são as que possuem um maior teor de amilose aparente. Estes resultados estão de acordo com os obtidos por Koutroubas et al. (2004)[107]. Segundo Singh (2000)[92], o conteúdo de amilose corresponde negativamente com a textura do arroz, tais como a coesividade e a tenrura, a cor e o brilho do arroz cozido. Assim, grãos de arroz com baixa amilose, quando cozinhados, são húmidos e pegajosos. O arroz da espécie *Japónica* é conhecido como um arroz húmido e pegajoso quando cozinhado[116], o que corrobora o que foi dito por Singh (2000).

As preferências dos consumidores em relação a cozinhar, comer e à qualidade de processamento são voláteis durante o tempo e diferem muito de país para país. Este estudo,

devido à diversidade de resultados obtidos para o teor de amilose, permite oferecer oportunidades à empresa de direcionar as matérias-primas consoante as necessidades do consumidor.

As correlações da amilose aparente foram analisadas em matéria seca e no amido total, obtendo-se semelhantes valores para ambas. Assim, a amilose aparente correlacionou-se moderada e positivamente com a relação C/L, em 0,63, e negativamente com a largura, em -0,66. A amilose aparente também se correlaciona fraca e positivamente com o comprimento e negativamente com a brancura total, em 0,47 e -0,45, respetivamente. Estes resultados indicam que quanto maior for o teor de amilose aparente maior será o comprimento e a relação C/L e menor será a largura e a brancura total do grão de arroz. Contudo, obtém-se correlação entre o teor de amilose aparente e o amido total, em -0,37, uma correlação baixa, indicando que quanto maior o teor de amilose menor será o teor de amido total.

4.1.7. Resultados do teor de proteína nas amostras de arroz

As proteínas são componentes importantes de todas as células vivas, uma vez que executam funções biológicas[63]. A qualidade nutricional do arroz é determinada principalmente pelo teor de proteína, uma vez que é de particular importância para a saúde de pessoas que recorrem ao arroz como fonte maioritária de alimento[107]. Os resultados do teor de proteína nas amostras de arroz analisadas encontram-se na Figura 27.

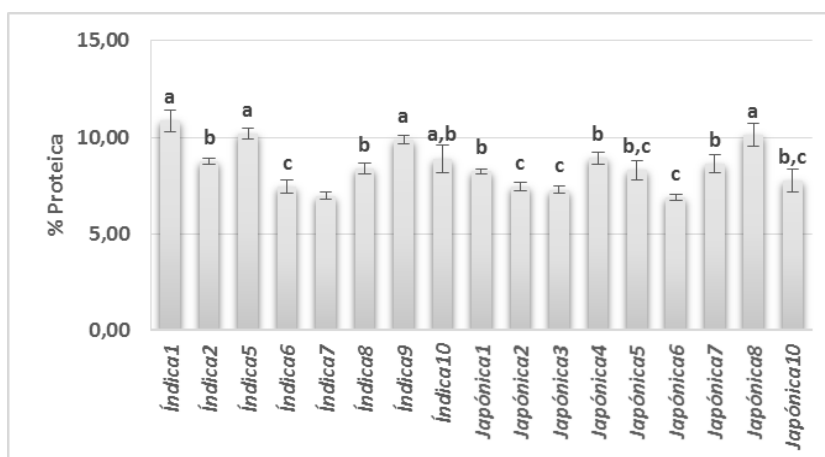


Figura 27 - Resultados do teor de proteína nas amostras de arroz analisadas, em % de matéria seca.

Pela análise dos resultados, as amostras de arroz que contêm menor teor de proteína são *Japónica6*, *Índica7*, *Japónica3* e *Índica6*, com valores que variam entre 6,9 e 7,4 % em matéria seca. As amostras de arroz que contêm maior teor de proteína são *Índica1*, *Índica5*, *Japónica8* e *Índica9*, variando entre 9,8 e 11 % em matéria seca. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$. Segundo Ohtsubo et al. (1993)[117], o arroz com elevado teor de proteína, quando cozinhado, tende a ser mais duro e não pegajoso, tornando-se um grão cozido solto. Segundo Koutroubas et al. (2004)[107], o teor de proteína é mais elevado nas amostras *Índicas*, que nas amostras *Japónicas*, contudo isso não se verifica neste estudo. O teor de proteína é afetado pela localização, adubação nitrogenada, gestão de água e controle de plantas daninhas durante o crescimento da planta. A melhoria do teor de proteína pode ser feito através da criação de culturas de alta proteína ou através de manipulação do ambiente e práticas culturais[107].

Analisando as correlações obtidas entre o teor proteico e os restantes parâmetros analisados anteriormente, percebe-se que estas são unicamente baixas, sendo correlações negativas com a largura, e positivas com o comprimento, a relação C/L e o teor de amilose, em -0,38, 0,41, 0,48 e 0,34, respetivamente. Estes resultados demonstram que o teor de proteína aumenta com a diminuição da largura dos grãos e com o aumento do comprimento, da relação C/L e do teor de amilose aparente. Nas amostras analisadas, são as da subespécie *Índica* que possuem maior comprimento, maior relação C/L, maior teor de amilose aparente e também são as que apresentam, com algumas exceções, maior teor de proteína. No entanto, não se encontra estudos em que se observe uma correlação entre o teor proteico e o teor de amilose aparente.

4.1.8. Correlações entre os parâmetros analisados anteriormente

Devido à pouca existência de correlações fortes, decidiu-se dividir as amostras em *Índicas* e *Japónicas* e analisar, assim, as correlações. Calculando as correlações para todos os parâmetros analisados mas usando, unicamente as amostras *Índica* (Tabela 11), obtiveram-se correlações mais altas.

Tabela 11 - Resultados das correlações obtidas para as amostras *Índica* analisadas.

	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Relação C/L	Brancura total	Brancura vítrea	% Área Gessada	Kett	Humidade	Proteína (% de matéria seca)	Amido total (% de matéria seca)	Índice Glicémico	Amido resistente (% de matéria seca)	Amilose aparente (% de matéria seca)
Comprimento (mm)	1,00												
Largura (mm)	-0,38	1,00											
Relação C/L	0,76	-0,88	1,00										
Brancura total	-0,66	-0,28	-0,13	1,00									
Brancura vítrea	-0,83	0,14	-0,53	0,86	1,00								
% Área Gessada	-0,35	-0,59	0,24	0,89	0,54	1,00							
Kett	-0,63	-0,27	-0,15	0,90	0,88	0,71	1,00						
Humidade	-0,40	0,09	-0,30	0,28	0,43	0,14	0,23	1,00					
Proteína	0,20	-0,90	0,71	0,28	-0,05	0,52	0,28	0,30	1,00				
Amido total (% de matéria seca)	-0,04	-0,21	0,11	0,59	0,54	0,48	0,60	0,03	0,06	1,00			
Índice Glicémico	0,13	0,37	-0,21	-0,61	-0,49	-0,53	-0,61	0,24	-0,15	-0,57	1,00		
Amido resistente (% de matéria seca)	-0,49	0,34	-0,47	0,61	0,64	0,46	0,40	0,20	-0,41	0,56	-0,27	1,00	
Amilose aparente (% de matéria seca)	-0,01	-0,25	0,14	0,02	-0,16	0,23	0,05	0,14	0,36	-0,27	0,50	-0,07	1,00

A relação C/L correlaciona-se forte e positivamente com a proteína, em 0,71. Este resultado indica que a relação C/L aumenta com o aumento do comprimento dos grãos de arroz e com o teor de proteína, e com a diminuição da largura dos grãos de arroz. No entanto, correlaciona-se moderada e negativamente com a brancura vítrea, em -0,53, e fraca e negativamente com a humidade e com a amido resistente, em -0,30 e -0,47. Estes dados indicam que quando a relação C/L aumenta, o teor de brancura vítrea do grão de arroz diminui, a correlação com a humidade e o amido resistente é fraca, não dando uma conclusão muito importante.

A brancura total das amostras *Índica* tem uma correlação muito forte com o *Kett*, 0,90, e como *Kett* corresponde a brancura do grão, esta correlação comprova que os resultados se encontram concordantes. Este parâmetro também se correlaciona fortemente

com a brançura vítrea e a % de área gessada, em 0,86 e 0,89, respetivamente, uma vez que com o aumento da brançura total também aumenta a brançura vítrea e a % de área gessada nas amostras. Para as amostras *Índica*, a brançura total correlaciona-se modera e positivamente com o amido total e com o amido resistente, e negativamente com o índice glicémico, em 0,59, 0,61 e -0,61, respetivamente. Assim, as amostras *Índicas* que apresentam uma brançura total elevado, apresentam, também um amido total alto e um alto teor de amido resistente, no entanto apresentam baixo índice glicémico.

A brançura vítrea correlaciona-se forte e negativamente com o comprimento, e positivamente com o *Kett*, em -0,83 e 0,88, respetivamente. Possui, também, correlações moderadas e negativas com a relação C/L (-0,53) e com o índice glicémico (-0,49), e positivas com a % de área gessada (0,54), o amido total (0,54) e com o amido resistente (0,64). Estas correlações indicam que quando a brançura vítrea aumenta, a relação C/L e o índice glicémico diminuem, e a % de área gessada, amido total e amido resistente aumentam.

A % de área gessada correlaciona-se forte e positivamente com o *Kett*, em 0,71, e correlaciona-se moderada e negativamente com a largura e com o índice glicémico, e positivamente com a proteína, -0,59, -0,53 e 0,52, respetivamente. Contudo, também se correlaciona fracamente com o amido resistente, em 0,40. Estes resultados são concordantes com as correlações da brançura vítrea.

O *Kett* correlaciona-se moderada e negativamente com o comprimento e índice glicémico, e positivamente com o amido total, em -0,63, -0,61 e 0,60, respetivamente. Estes resultados indicam que o *Kett* aumenta com a diminuição do comprimento dos grãos e o índice glicémico, e com o aumento do amido resistente.

O teor de humidade das amostras unicamente possui correlações baixas, com o comprimento dos grãos, com a relação C/L e com a brançura vítrea, em -0,40, -0,30 e 0,43, respetivamente. No entanto, estas correlações obtidas são de valores baixos não permite estabelecer conclusões. Era de esperar que o teor de humidade não estivesse correlacionado, uma vez que este parâmetro é controlado de modo a se encontrar dentro dos valores estabelecidos pela legislação.

O teor proteico correlaciona-se fortemente com a largura dos grãos de arroz, em -0,90, ou seja, nas amostras *Índica*, o seu teor proteico aumenta com a diminuição da largura dos grãos de arroz. A proteína também se correlaciona fraca e positivamente com o

teor de amilose aparente, e negativamente com o amido resistente, em 0,36 e -0,41, respectivamente.

O amido total correlaciona-se moderada e positivamente com o amido resistente, e negativamente com o índice glicémico, em 0,56 e -0,57, respectivamente, ou seja, o amido total aumenta com o aumento do teor de amido resistente e aumenta com a diminuição do índice glicémico. Não se encontram estudos em que se verifica a existência de uma correlação entre estes dois parâmetros analisados nas amostras, no entanto, nestas amostras isso verifica-se.

O índice glicémico correlaciona-se fraca e positivamente com a largura dos grãos, e negativamente com o amido resistente, em 0,37 e -0,27, respectivamente, ou seja, o índice glicémico aumenta com o aumento da largura dos grãos e aumenta com a diminuição do amido resistente. Correlaciona-se, também, moderada e positivamente com o teor de amilose aparente em 0,50. Estes resultados vão contra o que é descrito na literatura, uma vez que a amilose forma complexos com os lípidos, o que provoca o aumento do amido resistente, levando assim a uma diminuição do índice glicémico[88]. No entanto, para estas amostras, verifica-se fracamente que o aumento do amido resistente provoca a diminuição do índice glicémico, mas o aumento do teor de amilose aparente aumenta também o índice glicémico. Isto pode acontecer se, a amilose presente nos grãos de arroz não formou complexos com os lípidos presentes e assim não provocou a diminuição do índice glicémico ou se o teor de lípidos presentes nestas amostras é muito baixo e os complexos formados entre a amilose e os lípidos não são suficientes para formar amido resistente e, por isso, para diminuir o índice glicémico. Um estudo feito por Miller (1992)[118], concluiu que a relação entre o teor de amilose e o índice glicémico por ser exponencial na vez de linear. Obteve valores de índice glicémico elevado para amostras com cerca de 20 % de teor de amilose aparente, uma vez que a resposta glicémica atinge um máximo fisiologicamente possível.

Por último, o amido resistente correlaciona-se fraca e positivamente com a largura, e negativamente com o comprimento, em 0,34 e -0,49, respectivamente. Estes resultados apesar da correlação fraca, indicam que o amido resistente aumenta com o aumento da largura dos grãos de arroz e aumenta com a diminuição do comprimento dos grãos de arroz.

Tabela 12 - Resultados das correlações obtidas para as amostras *Japónica* analisadas.

	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Relação C/L	Brancura total	Brancura vítrea	% Área Gessada	Kett	Humidade	Proteína (% de matéria seca)	Amido total (% de matéria seca)	Índice Glicémico	Amido resistente (% de matéria seca)	Amilose aparente (% de matéria seca)
Comprimento (mm)	1,00												
Largura (mm)	0,44	1,00											
Relação C/L	0,67	-0,37	1,00										
Brancura total	0,17	0,73	-0,44	1,00									
Brancura vítrea	-0,52	-0,31	-0,31	0,22	1,00								
% Área Gessada	-0,03	0,67	-0,58	0,98	0,29	1,00							
Kett	-0,01	0,52	-0,44	0,83	0,08	0,82	1,00						
Humidade	0,09	0,05	0,04	-0,36	-0,02	-0,41	-0,37	1,00					
Proteína	0,34	0,35	0,05	-0,15	-0,16	-0,18	-0,51	0,57	1,00				
Amido total (% de matéria seca)	0,02	-0,48	0,43	-0,52	-0,15	-0,53	-0,54	-0,22	-0,26	1,00			
Índice Glicémico	0,54	0,51	0,17	0,01	-0,90	-0,06	-0,07	-0,15	0,26	0,22	1,00		
Amido resistente (% de matéria seca)	0,69	0,13	0,58	0,11	0,13	-0,05	-0,12	0,33	0,42	-0,24	-0,14	1,00	
Amilose aparente (% de matéria seca)	-0,15	-0,41	0,20	-0,33	0,00	-0,30	-0,11	-0,28	-0,27	0,37	-0,11	-0,32	1,00

Analisando as correlações entre os parâmetros obtidos para as amostras *Japónicas*, apresentadas na Tabela 12, percebe-se que são mais fracas que as obtidas para as amostras *Índicas*. Nas amostras *Japónicas*, a relação C/L correlaciona-se moderada e positivamente com o comprimento dos grãos e com o amido resistente, e negativamente com a % de área gessada, em 0,67, 0,58 e -0,58, respetivamente. Isto indica que quanto maior for a relação C/L maior é o comprimento dos grãos e do teor de amido resistente e menor é a % de área gessada dos grãos.

A brancura total correlaciona-se muito fortemente e positivamente com a % de área gessada, em 0,98, o mesmo se verificava para as amostras *Índicas*. Possui também uma correlação alta com a largura dos grãos e com o *Kett*, em 0,73 e 0,83, respetivamente, uma correlação moderada e negativa com o amido total (-0,52), e uma fraca com o amido resistente (-0,33).

A brançura vítrea correlaciona-se muito forte e negativamente com o índice glicémico, em -0,90, indicando que os grãos que possuem uma brançura vítrea elevada têm baixo índice glicémico, como a brançura vítrea é caracterizada pelo arranjo mais cristalino e mais compacto do amido, encontrando-se o amido menos disponível para as enzimas atuarem e, por isso, dará menor índice glicémico. Por exemplo, a amostra *Japónica10* é a que apresenta um valor de brançura vítrea mais elevado (212,2), no entanto é a amostra que possui o índice glicémico mais baixo (88,1). A brançura vítrea, também, se correlaciona mediana e negativamente com o comprimento dos grãos de arroz, em -0,52, indicando que amostras com brançura vítrea elevada, têm grãos curtos.

A % de área gessada possui uma correlação forte e positiva com o *Kett*, em 0,82. Como a brançura total também se correlaciona com a % de área gessada, também tem que se correlacionar com o *Kett*. A % de área gessada correlaciona-se moderada e positivamente com a largura dos grãos, e negativamente com o amido total, em 0,67 e -0,53, respetivamente, ou seja, em amostras com uma % de área gessada elevada possuem uma grande largura dos grãos e têm menor teor em amido total.

O *Kett* correlaciona-se moderada e positivamente com a largura dos grãos, e negativamente com o teor proteico e com o teor de amido total, em 0,52, -0,51 e -0,54, respetivamente. Estes resultados indicam que, as amostras *Japónicas*, com *Kett* elevado possuem uma largura elevada, um baixo teor proteico e um baixo teor de amido total.

Contrariamente ao que foi visto nas amostras *Índica*, a humidade das amostras *Japónicas* correlaciona-se moderadamente com o teor proteico, em 0,57, onde as amostras contendo um maior teor de humidade possuíam maior teor proteico. A humidade também se correlaciona fraca e positivamente com o teor de amido resistente, em 0,33, indicando que amostras com alto teor de humidade possuem alto teor de amido resistente. No entanto, o valor desta correlação é baixo, o que indica que a correlação que existe entre estes dois parâmetros é fraca.

O teor proteico correlaciona-se moderadamente com o comprimento, com a largura e com o teor de amido resistente, em 0,34, 0,35 e 0,42, respetivamente, indicando que as amostras com maior teor proteico possuem maior comprimento e largura dos grãos de arroz e maior teor de amido resistente. Nas amostras *Japónicas*, o teor proteico correlaciona-se positivamente com o teor de amido resistente, no entanto nas amostras *Índicas*, o teor proteico correlaciona-se negativamente com o teor de amido resistente.

O amido total das amostras *Japónicas* correlaciona-se fraca e negativamente com a largura dos grãos, e positivamente com o teor de amilose aparente, em -0,48 e 0,37, respetivamente, contudo, ambas são correlações fracas.

Com o que é referenciado na literatura[87], o índice glicémico aumenta nas amostras em que é menor o teor de amilose aparente, no entanto, nestas amostras analisadas efeito não se verifica. O índice glicémico correlaciona-se moderada e positivamente com o comprimento e com a largura dos grãos, em 0,54 e 0,51, respetivamente, indicando que, as amostras *Japónicas* com índice glicémico alto, possuem também grandes comprimentos e larguras de grãos de arroz.

O teor de amido resistente correlaciona-se moderada e positivamente com o comprimento dos grãos de arroz, em 0,69, ou seja, as amostras *Japónicas* com alto teor de amido resistente, possuem grande comprimento dos grãos de arroz. No entanto, apesar de fracamente, o teor de amido resistente correlaciona-se fraca e negativamente com a amilose, em -0,32. O teor de amilose aparente correlaciona-se fraca e negativamente com a largura dos grãos de arroz, em -0,41, indicando que o arroz com elevado teor de amilose aparente possui uma largura dos grãos pequena.

Retirando as amostras da variedade tipo *Risotto* das amostras *Japónicas*, que em relação às restantes amostras *Japónicas* são as que possuem maior área gessada e poderiam estar a “mascarar” alguns valores, assim verificam-se que as correlações entre os parâmetros alteraram-se ligeiramente. Nesta tabela de correlações (Tabela 13), a humidade correlaciona-se forte e negativamente com a brancura total, a % de área gessada e o *Kett*, em -0,78, -0,73 e -0,76, respetivamente. A proteína correlaciona-se moderada e negativamente com a brancura total e com o amido total, em -0,52 e -0,51, respetivamente, indicando que as amostras que possuem elevado teor de proteína possuem baixa brancura total e baixo teor de amido total. Contudo, o teor de proteína correlaciona-se forte e positivamente com o teor de amilose no grão, em 0,79. Esta correlação tinha-se observado, embora sendo fraca, quando se analisaram todos os parâmetros juntos, o que indica que as amostras da variedade tipo *Risotto*, estavam a “mascarar” esta correlação forte. Não se encontra na bibliográfica uma explicação para este facto, no entanto, as proteínas de reserva encontram-se situadas em corpos proteicos entre os grânulos de amido[64], podendo ser estabelecida alguma ligação com o teor de amilose aparente presente no amido e, por isso, uma relação entre o teor de proteína e o teor de amilose aparente.

Tabela 13 - Resultados das correlações obtidas para as amostras *Japónica* sem a variedade tipo *Risotto*.

	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Relação C/L	Brancura total	Brancura vítrea	% Área Gessada	Kett	Humidade	Proteína (% de matéria seca)	Amido total (% de matéria seca)	Índice Glicémico	Amido resistente (% de matéria seca)	Amilose aparente (% de matéria seca)
Comprimento (mm)	1,00												
Largura (mm)	-0,15	1,00											
Relação C/L	0,86	-0,63	1,00										
Brancura total	-0,27	0,56	-0,51	1,00									
Brancura vítrea	-0,71	-0,26	-0,43	0,48	1,00								
% Área Gessada	-0,38	0,59	-0,61	0,99	0,52	1,00							
Kett	-0,28	0,60	-0,55	0,96	0,43	0,95	1,00						
Humidade	-0,33	-0,56	0,04	-0,78	0,06	-0,73	-0,76	1,00					
Proteína	-0,25	-0,02	-0,16	-0,52	-0,23	-0,40	-0,50	0,44	1,00				
Amido total (% de matéria seca)	0,51	0,13	0,34	-0,14	-0,52	-0,22	-0,21	-0,03	-0,51	1,00			
Índice Glicémico	0,62	0,59	0,19	-0,11	-0,92	-0,15	-0,08	-0,36	0,05	0,56	1,00		
Amido resistente (% de matéria seca)	0,33	-0,79	0,64	-0,19	0,28	-0,26	-0,14	0,07	-0,25	-0,28	-0,48	1,00	
Amilose aparente (% de matéria seca)	0,00	0,04	0,01	-0,30	-0,28	-0,21	-0,44	0,12	0,79	-0,23	0,18	-0,36	1,00

O teor de amido total das amostras *Japónicas*, exceto as amostras da variedade tipo *Risotto*, possui uma correlação moderada e negativa com a brancura vítrea e positiva com o índice glicémico. Este resultado indica que as amostras que possuem maior teor de amido total têm baixa brancura vítrea e alto índice glicémico.

Ao serem retiradas as amostras da variedade tipo *Risotto* das amostras da subespécie *Japónica*, obteve-se uma correlação moderada e negativa entre o índice glicémico e o amido resistente, em -0,48, indicando que amostras que possuem alto índice glicémico têm pouco amido resistente, como é concluído na literatura[87]. No entanto, não se observa correlação entre o teor de amilose aparente e o índice glicémico, como era esperado.

Por último, o teor de amido resistente possui uma correlação forte e negativa com a largura dos grãos, em -0,79, indicando que as amostras *Japónica* contendo um baixo teor de amido resistente possuem grandes larguras do grão de arroz. Este resultado corrobora o que é observado para o índice glicémico, que possui uma correlação moderada e positiva com a largura do grão de arroz.

4.2. ESCOLHA DE AMOSTRAS PARA A GERMINAÇÃO

A escolha destas amostras foi feita tendo em atenção o índice glicémico das mesmas, de modo a ser possível perceber se este parâmetro poderia ter uma influência na germinação do arroz e tendo também em atenção a disponibilidade das amostras pela empresa. Deste modo, tendo em conta as amostras analisadas, foram escolhidas duas com índice glicémico mais baixo, *Japónica10* (Figura 38A) e *Japónica1* (Figura 28B), duas com índice glicémico mais elevado, *Índica8* (Figura 28D) e *Japónica2* (Figura 28E), e uma amostra que se encontra com um valor de índice glicémico intermédio, *Japónica7* (Figura 28C).

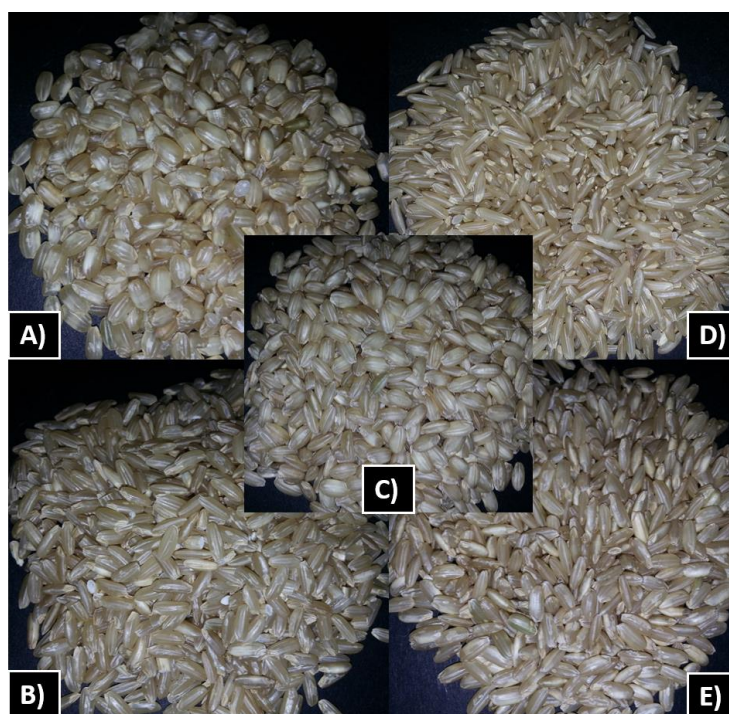


Figura 28 - Amostras integrais escolhidas para germinar: A) *Japónica10*; B) *Japónica1*; C) *Japónica7*; D) *Índica8*; E) *Japónica2*.

Inicialmente, foram germinadas três amostras – *Japónica10*, *Japónica1* e *Japónica2* –, em condições de temperatura de aproximadamente 25 °C e com bastante sol direto. As restantes amostras foram germinadas com a mesma temperatura, em dias de chuva, estando da mesma forma próximo da janela, levando com a luz exterior, que era menor, quando comparada com as outras amostras. Em todas as amostras germinadas verifica-se uma maior absorção de água durante as primeiras 24 h, pois teve-se que acrescentar mais água

aos grãos a germinar ao fim de algumas horas após o início da germinação. Nos restantes tempos, 48 e 72 h, não houve necessidade de fazer esse acrescento de água.

As amostras escolhidas foram germinadas até às 72h, sendo retiradas amostras a cada 24h de cada arroz usado para germinar. Na Figura 29 encontra-se o exemplo de uma amostra germinada, a *Índica8*, sendo apresentada aos vários tempos de germinação, antes de ser seca na estufa (Figura 29A, D e G) e depois da secagem (Figura 29B, C, E, F, H e I), da paragem da germinação. Como se pode observar, pela Figura 29A, B e C, não se verifica alteração entre o arroz antes de germinar e com 24 h de germinação. Às 48 h, como se pode ver pela Figura 29D, E e F, que o local onde se situa o gérmen começou a sofrer algumas alterações, uma vez que se verifica a presença de pequenos brotos nos grãos de arroz, sendo ainda muito pequenos. Contudo, às 72 h, Figura 29G, H e I, observam-se os brotos nitidamente na parte do gérmen do grão de arroz.



Figura 29 - Amostra *Índica8* germinada. A, B e C) Amostra com 24 h de germinação; D, E e F) Amostra com 48 h de germinação; G, H e I) Amostra com 72 h de germinação.

A amostra *Japónica7*, às 72h, não apresentava radículas em nenhum dos grãos, como as observadas na Figura 29I. Isto pode ter a ver com o tamanho do grão que dificulta a penetração de água e, por isso, demora mais tempo a germinar ou pode simplesmente ter a ver com o tipo de arroz usado, que pode ter um desenvolvimento mais lento.

Ao serem analisados os grãos germinados percebe-se que as fissuras aumentam com o tempo de germinação, ou seja, os grãos de arroz com 72 h de germinação apresentam maior quantidade de fissuras que os grãos com 24 h de germinação (Figura 29C, F e I). Às 48 h (Figura 29F), verificam-se a presença de fissuras nos grãos, mas estas apresentam-se em maior quantidade nos grãos germinados 72 h (Figura 29I). Estas fissuras fazem com que os grãos se partam com mais facilidade, tendo um aspeto mais frágil[91], às 72 h os grãos de arroz germinado partem-se com mais facilidade que os grãos germinados apenas 24 h. Para além do aspeto frágil, esses grãos têm um aspeto amolecido, o que pode estar relacionado com o teor de humidade no grão. A cor dos grãos de arroz germinado diminui de intensidade quando comparado com a cor do arroz integral, ou seja, perde a cor amarelada característica dos grãos integrais, ficando mais clara, mais parecida com os grãos branqueados.

As amostras germinadas foram analisadas, em todos os tempos, tempo 0 h, correspondendo ao arroz integral (G0h), 24 h (G24h), 48 h (G48h) e 72 h (G72h), consoante o teor de amido total, o índice glicémico, teor de GABA e teor de Ácido Glutâmico, açúcares redutores e compostos fenólicos solúveis e insolúveis. Após estas análises foi escolhido o tempo de germinação e foram efetuados um ensaio de cozedura, determinação do teor de amilose aparente e o teor de amido resistente, ao tempo escolhido e à amostra sem ser germinada, de modo a se ver as alterações provocadas pela germinação.

4.2.1. Resultados do amido total das amostras germinadas

4.2.1.1. Alteração ao procedimento de amido total para as amostras germinadas

As amostras germinadas possuem açúcares redutores, por isso para a determinação de amido total ser feita de forma correta os açúcares redutores têm que ser extraídos, de modo a que não haja uma quantificação por excesso de amido total. Após as amostras de arroz serem moídas e pesadas, os açúcares redutores foram extraídos pela adição de 2 mL de etanol 80 %. Foi deixado a extrair durante 1h e depois as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm durante 10 min., o sobrenadante foi descartado e o resíduo foi colocado a reagir com o KOH. Este passo no procedimento é essencial para que o amido não seja calculado por excesso.

4.2.1.2. Teor de amido total nas amostras germinadas

Os resultados de amido total das amostras germinadas encontram-se na Figura 30. O amido total foi quantificado para cada tempo de germinação, às 0 h, que corresponde ao arroz integral, às 24 h, 48 h e 72 h para cada amostra.

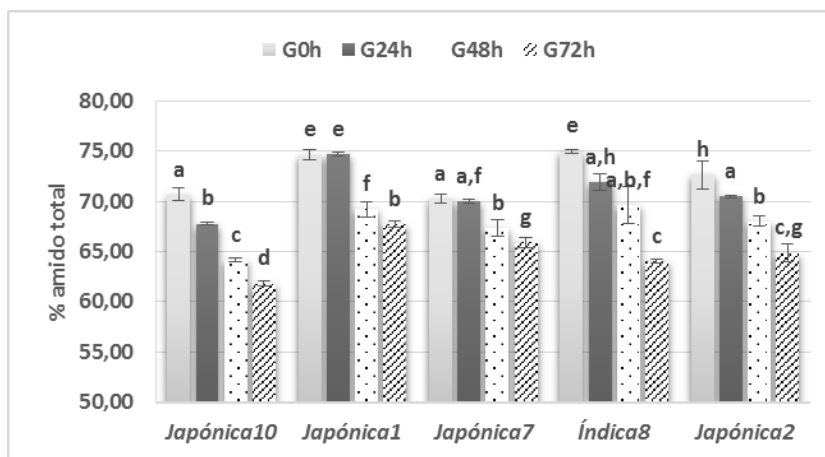


Figura 30 - Resultados do teor de amido total, em % de matéria seca, para cada amostra germinada.

Pela análise dos resultados, conclui-se que o teor de amido diminui com o aumento do tempo de germinação. Estes resultados são concordantes com os da literatura[46], uma vez que o grão de arroz, quando colocado em água, e a germinação iniciada, precisa de produzir energia. Para tal, recorre ao amido como fonte de energia, por ser a fonte mais rápida para a produção da mesma[21]. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$. A amostra *Japónica10* tem um teor de amido diferente em todos os tempos de germinação, o que pode sugerir que vai sempre utilizando o amido como fonte de energia ao longo de toda a germinação, pois até às 72h gastou cerca de 12,6 % de amido total presente.

Nas amostras *Japónica1* e *Japónica7*, entre as 0 h e as 24 h não se verifica variação do teor de amido total, pode ser por ter uma germinação mais lenta ou pode não usar só o amido total como fonte de energia, podendo estar a usar o GABA ou outros aminoácidos. Estas duas amostras, *Japónica 1* e *Japónica7* foram as que degradaram menor teor de amido, degradando cerca de 9,3 e 6,2 %, respetivamente.

Nas amostras *Índica8* e *Japónica2*, o teor de amido total variou muito significativamente durante todos os tempos de germinação. Esta elevada variação pode ser explicada pela elevada utilização do amido como fonte de energia. A amostra *Índica8* foi a

que apresentou maior degradação de amido, degradando cerca de 14,7 % e amostra *Japónica2* degradou cerca de 10,7 % até ao final da germinação, as 72 h.

4.2.2. Resultados do índice glicémico das amostras germinadas

Ao comparar-se o valor do índice glicémico ao tempo G0h, correspondendo à amostra integral, com os resultados para a mesma amostra, mas branqueada (Figura 31), analisados anteriormente, observa-se que na amostra *Japónica 10* e *Japónica2*, o índice glicémico não aumenta significativamente, quando se compara o valor do arroz branqueado e do arroz integral. Esta semelhança do índice glicémico das amostras branqueadas para as integrais pode ser explicada pela elevada presença de fibras nas amostras branqueadas, ou seja, as amostras branqueadas podem ter sido pouco branqueadas e ainda se verifica a influência das fibras na resposta do índice glicémico. Uma vez que quando as amostras são pouco branqueadas, não ocorre remoção na totalidade da parte do farelo, rica em fibra, explicando, assim, o facto do índice glicémico dar igual nas amostras branqueada e integral.

Nas amostras *Japónica7* e *Índica8*, o índice glicémico das amostras G0h, as integrais, é menor do que as amostras branqueadas. A diminuição do índice glicémico nas amostras integrais é explicada pela influência da fibra no ataque amilolítico ao amido, diminuindo-o e, por isso, levando a um menor índice glicémico[39].

Na amostra *Japónica1*, o índice glicémico aumenta, entre a amostra branqueada e a integral, sendo contra os estudos feitos, uma vez que o teor de fibra provoca uma diminuição no índice glicémico. Não se consegue encontrar qualquer explicação para este tipo de resultado obtido. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$.

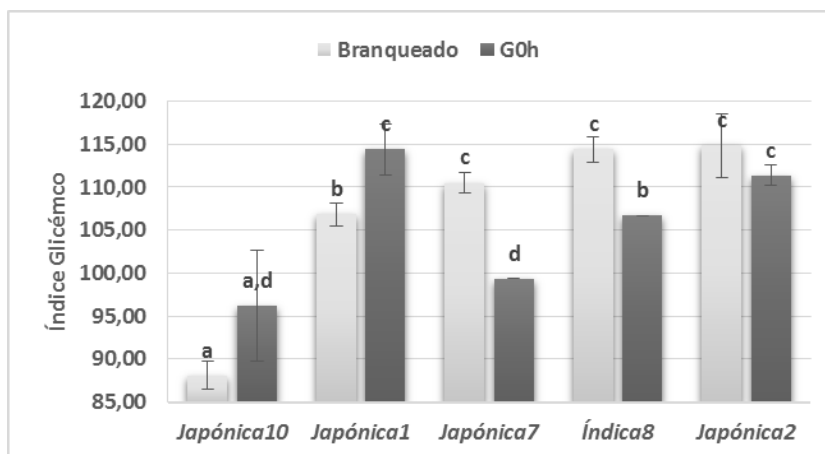


Figura 31 - Resultados do valor do índice glicémico das amostras branqueadas e da amostra correspondente integral, codificada como tempo G0h.

A germinação do arroz provoca a alteração no teor de amido total, como foi visto anteriormente, e, por consequente, a disponibilidade do amido também será afetada, podendo aumentar com a germinação. Os resultados do índice glicémico das amostras germinadas encontram-se na Figura 32.

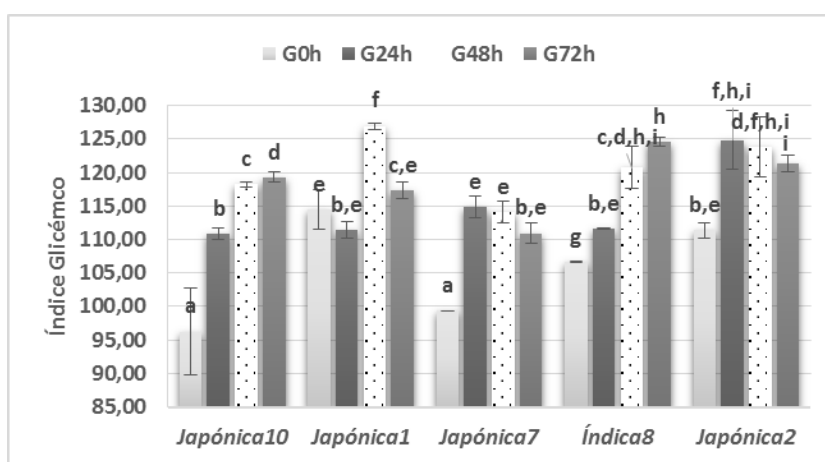


Figura 32 - Resultados do índice glicémico das amostras germinadas, determinado para todos os tempos de germinação (0 h, 24 h, 48 h e 72 h).

Nas amostras analisadas, verifica-se um aumento significativo no índice glicémico logo após as 24 h de germinação, exceto na amostra *Japónica1*. Nesta amostra, o índice glicémico é constante até às 24 h, aumentado muito significativamente, após esse tempo de germinação. Ao relacionar-se este resultado com os resultados do amido total para a amostra *Japónica1*, percebe-se que este é constante até às 24 h, por isso, como não há degradação também não se verifica aumento no índice glicémico até às 24 h.

Nas amostras *Japónica10* e *Índica8*, o índice glicémico aumenta até às 48 h de germinação, sendo depois constante até às 72 h. Isto acontece porque o amido presente nos grãos de arroz germinados pode ser facilmente hidrolisado após o consumo, pelas enzimas responsáveis pela degradação do amido, como a α -amilase e a amiloglicosidase, o que pode resultar numa rápida subida dos níveis de glucose no sangue, resultando num aumento do índice glicémico[39]. Estes resultados são esperados uma vez que ocorre hidrólise do amido e por consequente ocorre libertação de açúcares redutores, que provocam aumento do índice glicémico nas amostras. Após as 48 h, o índice glicémico torna-se constante, isto pode ser devido à produção de fibra, que ajuda a impedir a hidrólise do amido pelas enzimas, não aumentando, assim, o índice glicémico. Estudos indicam que a fibra aumenta durante a germinação e por consequência influencia a disponibilidade de glucose, pois irá diminuir a suscetibilidade do amido ao ataque amilolítico, como foi dito anteriormente[39]. Estas duas amostras apresentam um comportamento semelhante durante a germinação em relação ao índice glicémico, sendo também semelhante em relação ao amido total, uma vez que foram estas duas amostras que apresentaram maior teor de hidrólise de amido total durante a sua germinação.

As amostras *Japónica7* e *Japónica2* têm uma subida do índice glicémico até as 24 h, mas após este tempo, torna-se constante. Para a amostra *Japónica2*, ocorre uma subida às 24 h devido à degradação de amido. Na amostra *Japónica7*, ao se embeber os grãos de arroz em água durante 24 h[39], ocorrem alterações estruturais que podem colocar o amido mais disponível para o ataque das enzimas[43] e, por isso, se verificar o aumento do índice glicémico às 24 h, mesmo sem que ocorra degradação de amido. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$.

4.2.3. Resultados do teor de GABA nas amostras germinadas

Pelo estudo feito na literatura, só 3 métodos descritos são usados para a quantificação de GABA, sendo um usando o método HPLC, outro colorimetricamente, pela reação com o grupo amino do GABA, e o último que é feito recorrendo ao uso de enzimas. O primeiro, recorrendo à técnica de HPLC ficaria muito dispendioso, por isso, foi rejeitada esta análise. O segundo método, método colorimétrico, era quantificado através de uma reação com o grupo amino do GABA, como se encontra no esquema da Figura 33. O grupo amino presente no GABA reage com o fenol 6 % a pH aproximadamente 10 na presença de

hipoclorito de sódio, dando origem em compostos ciânicos[119]. Com um estudo mais aprofundado apercebeu-se que para além de reagir com o grupo amina do GABA também poderia reagir com outros aminoácidos livres presentes[119], como estes aumentam durante a germinação[21], poderíamos estar a quantificar o GABA por excesso. Então, resolveu-se rejeitar o uso deste método.

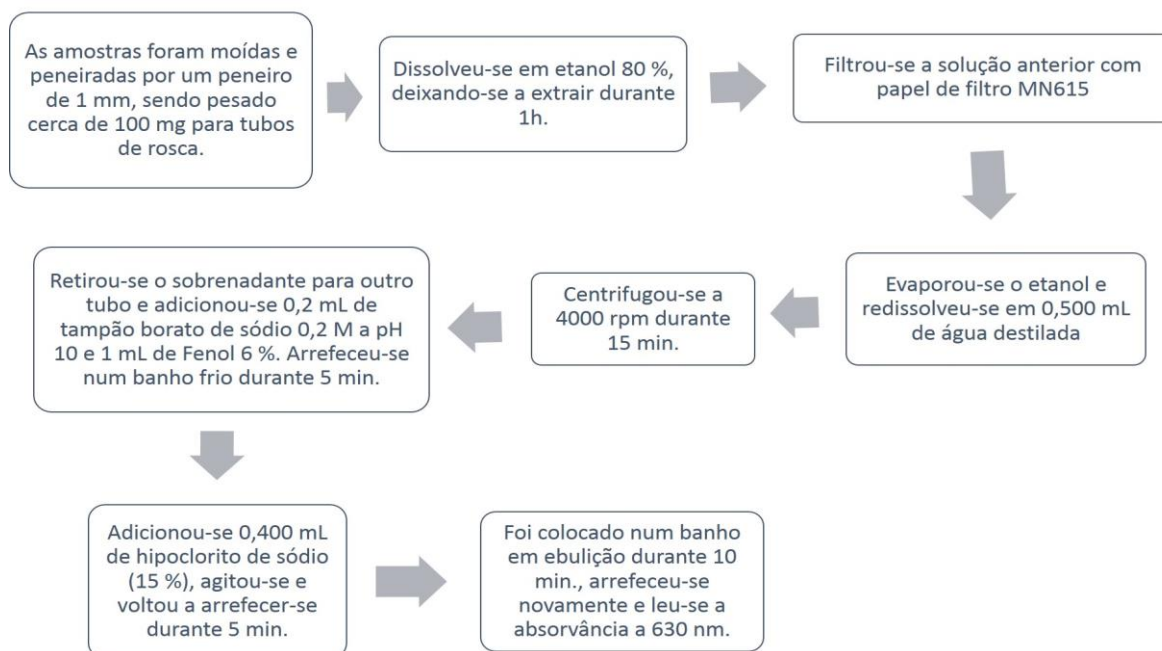


Figura 33 - Esquema do procedimento colorimétrico usado para quantificar o GABA.

O último método encontrado na pesquisa foi a quantificação de GABA pelo uso de enzimas, no qual o GABA seria extraído, seria convertido em Semi-aldeído Succínico e este seria convertido em succinado. Este procedimento quantifica o GABA pela quantificação do teor de NADH formado, uma vez que uma molécula de GABA dá origem a uma molécula de NADH. Este procedimento nunca foi experimentado por falta das enzimas e do material necessário à reação. Decidiu-se experimentar determinar o GABA usando o procedimento para quantificar os aminoácidos em GC-FID, uma vez que se tinha todos os reagentes necessários.

O analito, o GABA, foi quantificado usando uma reta de calibração, feita com soluções padrões de GABA com várias concentrações, em que se obteve a reta $y=0,0796x+0,0515$, com um $R^2=0,9774$. Nesta reta o y significa Área do analito (GABA) / Área do padrão interno (norleucina) e o x significa Massa do analito (GABA) / Massa do

padrão interno (norleucina). O uso do padrão interno ajuda a diminuir o erro, referente às perdas da amostra, durante todo o procedimento, e permite uma quantificação mais rigorosa do GABA. As áreas das amostras foram obtidas através de cromatogramas (Figura 34), onde foram identificados pelos tempos de retenção, apresentados na Tabela 14, os compostos a analisar.

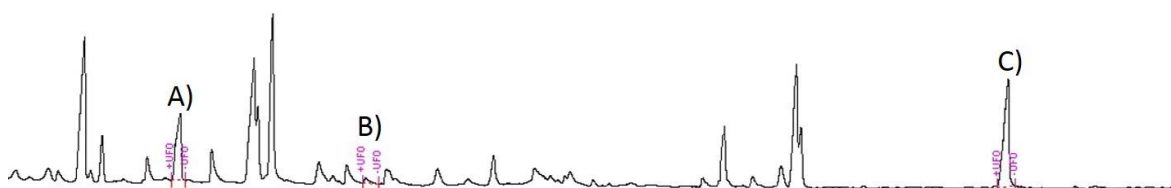


Figura 34 - Exemplo de um cromatograma obtido para a amostra *Japónica10* G24 h: A) Pico do padrão interno (norleucina); B) Pico do GABA; C) Pico de Ácido Glutâmico/Glutamina.

Tabela 14 - Tempos de retenção dos parâmetros analisados.

Tempo de retenção (min.)	Pico
14,1	Padrão interno (norleucina)
18,2	GABA
32,4	Ácido Glutâmico/Glutamina

O teor de GABA foi quantificado para todos os tempos de germinação de todas as amostras germinadas e são apresentados na Figura 35.

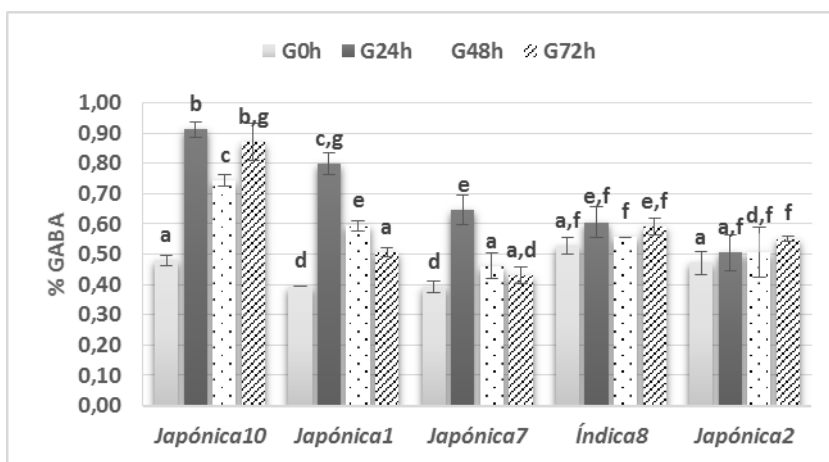


Figura 35 - Resultados do teor de GABA nas amostras germinadas, analisado em todos os tempos de germinação e apresentado em % de matéria seca.

Pela análise dos resultados, percebe-se que nas amostras *Japónica10* e *Japónica1*, o teor de GABA aumenta quase para o dobro às 24 h de germinação passando dos 0,39 – 0,52 % para 0,80 – 0,85 %, como é observado na literatura[48, 50]. Na amostra *Japónica10* e *Japónica1*, o teor de GABA diminui às 48 h de germinação, indicando que foi consumido para a produção de energia. Na amostra *Japónica10*, o teor de GABA volta a subir às 72 h para valores de cerca de 0,87 %, voltando a ser produzido, por outro lado, a amostra *Japónica1* sofre uma diminuição de GABA até ao final da germinação, ficando, às 72 h, com 0,51 % de GABA. Estudos indicam que o GABA tanto pode ser produzido como consumido consoante as necessidades da planta, uma vez que a sua degradação produz quantidades de energia mais elevadas quando comparada com a que é produzida pela degradação do amido[26]. Segundo Sirisoontarak et al. (2014)[91], o conteúdo de GABA diminui devido ao aumento excessivo do teor de água nos grãos germinados e, posteriormente, provoca a diminuição da taxa de germinação.

Na amostra *Japónica7*, verifica-se um aumento do teor de GABA às 24 h, passando dos 0,39 % para os 0,63 %, não aumentando duas vezes em relação ao tempo inicial (G0h), como é visto na literatura, e o teor de GABA é significativamente diferente das amostras *Japónica10* e *Japónica1*. Este pequeno aumento às 24 h, pode ser explicado devido à amostra ter uma rápida germinação e, por isso, o pico de GABA encontrar-se-ia entre as 0 h e as 24 h, ou, então pode ter uma germinação lenta, obtendo-se o pico entre as 24 h e as 48 h. Para se confirmar, teria que se analisar esta amostra com intervalos de tempo de germinação menores.

Nas amostras *Índica8* e *Japónica2*, não se verifica variação no teor de GABA, sendo semelhante em todos os tempos de germinação analisados, encontrando-se entre 0,53 % e 0,61 % para a amostra *Índica8*, e 0,47 % e 0,55 % para a amostra *Japónica2*. Para estas amostras, também teria que se analisar o teor de GABA em intervalos de tempo menores, para se poder dizer se a germinação ocorre rápida ou lentamente e, devido a isso, não se estar a visualizar nenhum pico no teor de GABA. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$. Como as amostras *Japónica7* e *Índica8* foram germinadas em dias de chuva, diminuindo assim a sua exposição à luz solar, esta diferença em relação às restantes amostras, pode explicar o facto de o teor de GABA não aumentar, na amostra *Índica8*, e não aumentar o teor de GABA para o dobro, na amostra *Japónica7*.

Contudo, para se poder concluir que a luz solar influencia a germinação ter-se-ia que analisar a mesma amostra nas duas condições, num dia de sol e num dia chuvoso.

Segundo a literatura, o teor de GABA aumenta com o aumento do tempo de germinação. Isto ocorre devido à síntese de GABA aumentar rapidamente em resposta às variações dos sinais ambientais, principalmente ao pH do meio.[26] Num estudo feito por Charoenthaikij et al. (2009)[36], o teor de GABA aumentava mais rapidamente quando o arroz era colocado a germinar em ambientes ácidos, pH aproximadamente 3, uma vez que a redução do pH citosólico ativa a enzima responsável pela produção de GABA. Estas amostras foram germinadas em água destilada fervida, em que o pH varia entre 5 e 6. A este pH também ocorre o processo de fermentação, o que faz com que o teor de GABA não aumente tanto durante as 48 e 72 h[36]. Isto pode explicar o que acontece com as amostras germinadas, em que nas amostras *Japónica10*, *Japónica1* e *Japónica7*, apesar de aumentar às 24 h. Após esse tempo ocorre declínio do teor de GABA, indicando que o ambiente se encontra mais favorável para a sua degradação do que para a sua formação. Nas amostras *Índica8* e *japónica2*, o teor de GABA não se alterou, indicando que o pH possa ter influenciado a formação de GABA.

A idade do grão, a variedade, a temperatura e o tempo de germinação são relatados como os principais fatores que afetam a síntese de GABA no arroz integral durante o processo de germinação. Segundo Ng (2013)[120], devem-se usar grãos de arroz com menos de 4-6 meses após a colheita, uma vez que após esse tempo o conteúdo de compostos bioativos diminui e os grãos podem perder a capacidade para aumentar o teor de GABA através da germinação[121]. As amostras usadas neste estudo tinham mais de 6 meses quando foram usadas para germinar, por isso, esta causa pode explicar os resultados obtidos para as amostras *Índica8* e *Japónica2*, explicando, também, o porquê de não aumentar o teor de GABA com o aumento do tempo de germinação para as amostras *Japónica10*, *Japónica1* e *Japónica7*.

4.2.4. Resultados do teor de Ácido Glutâmico nas amostras germinadas

O ácido glutâmico é usado como indicador da produção de GABA, uma vez que este diminui, quando o teor de GABA aumenta e vice-versa. Foi quantificado usando o mesmo procedimento para a quantificação do GABA, como este método não consegue fazer a distinção entre o ácido glutâmico e a glutamina, estes aminoácidos são quantificados

juntos[101], sendo apresentados os resultados na Figura 36. A sua quantificação foi feita usando uma reta de calibração $y=1,2177x$, com um $R^2=0,9894$. Nesta reta o y significa Área do analito (Ácido glutâmico) / Área do padrão interno (norleucina) e o x significa Massa do analito (Ácido glutâmico) / Massa do padrão interno (norleucina).

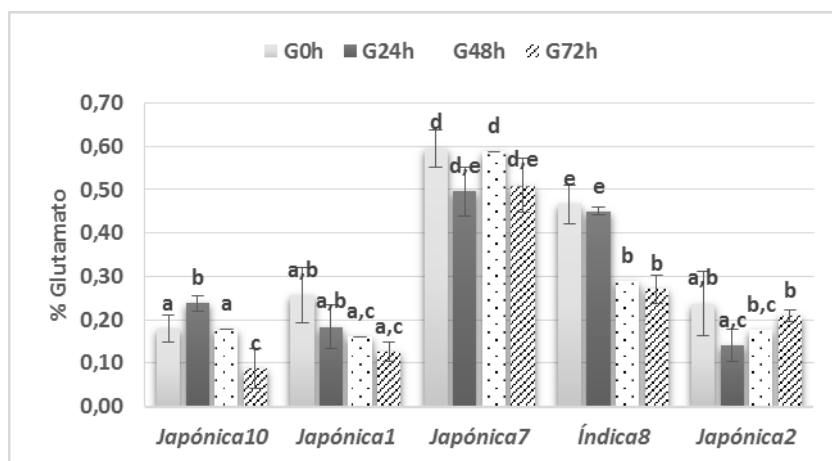


Figura 36 - Resultados do teor de Ácido glutâmico nas amostras germinadas, em % de matéria seca.

Pela análise dos resultados, não se verifica alteração do teor de ácido glutâmico durante os tempos de germinação, exceto na amostra *Índica8*, na qual se verifica uma diminuição do seu teor, e na amostra *Japónica10*, que aumenta às 24 h. Nas restantes amostras, observa-se uma diminuição do seu teor embora que não significativa. Como este método não consegue fazer a separação entre o ácido glutâmico e a glutamina, nas amostras *Japónica1*, *Japónica7* e *Japónica2*, a não alteração do teor de ácido glutâmico durante todos os tempos de germinação pode ser explicada pela libertação e/ou produção de glutamina, adulterando assim o valor.

Na amostra *Índica8* verifica-se uma diminuição no teor de ácido glutâmico, quando comparado com os valores de GABA analisados anteriormente, no qual não se verificou alteração no seu teor durante todos os tempos de germinação. Estes resultados vão contra ao que é dito na literatura[25] e podem ser explicados pelo consumo de ácido glutâmico e de glutamina para a produção de energia que possa ser necessária para o grão germinado. O aumento do teor de ácido glutâmico na amostra *Japónica10* pode ser explicado pela libertação de glutamina, que pode estar a ser libertada em maior quantidade que nos outros grãos germinados e, por isso, provocar um aumento às 24 h. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p>0,10$.

4.2.5. Resultados do teor de açúcares redutores nas amostras germinadas

Um das otimizações do procedimento foram feitas consoante o tempo de extração, em que se experimentou 30 min., 1 h e 2 h para as mesmas amostras, resultados apresentados na Tabela 15. Pela análise dos resultados obtidos conclui-se que entre os 30 min. e a 1 h ainda se verificam diferenças no teor extraído, sendo ligeiramente superior à 1 h. Contudo, entre a 1 h e as 2 h não se verificaram alterações no teor extraído, por isso determinou-se que o melhor tempo para a extração dos açúcares redutores seria a 1 h.

Tabela 15 - Resultados da otimização do tempo de extração dos açúcares redutores.

Amostra	Tempo de extração	Média	Desvio Padrão
<i>Japónica10</i> G0h	2h	0,03	1,82E-03
<i>Japónica10</i> G0h	1h	0,03	2,62E-03
<i>Japónica10</i> G0h	30 min.	9,04E-04	1,28E-04
<i>Japónica1</i> G0h	2h	0,02	2,11E-03
<i>Japónica1</i> G0h	1h	0,02	1,01E-03
<i>Japónica1</i> G0h	30 min.	1,50E-03	1,69E-04

Durante a germinação, ocorre o aumento no teor de açúcares redutores, devido à degradação do teor de amido presente no grão de arroz[21]. Os açúcares redutores foram quantificados usando uma curva de calibração, feita com padrões de várias concentrações de glucose. Cada vez que foram quantificadas as amostras, foi feita a reta de calibração, para que tanto as amostras como os padrões estivessem sujeitos às mesmas condições e, por isso, levando a uma diminuição do erro na quantificação. Assim, obteve-se várias retas, sendo uma delas $y=0,8048x-0,0095$, sem que o y corresponde à absorvância a 540 nm e o x corresponde à concentração em mg/mL, com um $R^2 = 0,9994$. Os resultados do teor de açúcares redutores presentes nos grãos de arroz germinados encontram-se na Figura 37.

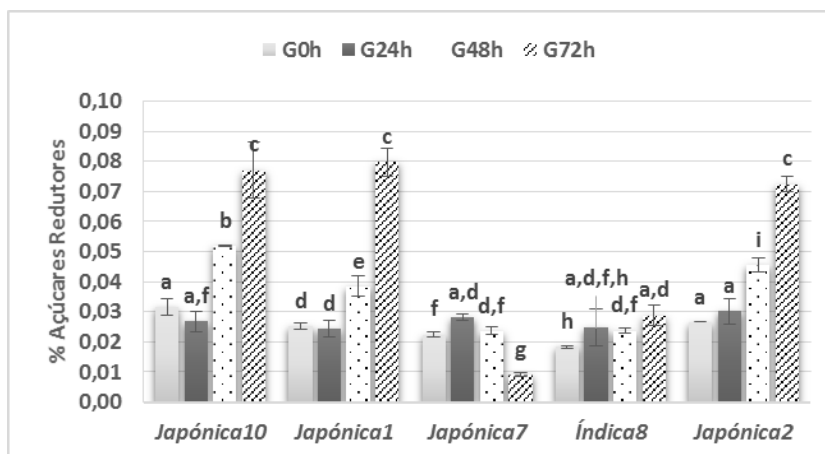


Figura 37 - Resultados do teor de açúcares redutores presentes nos grãos germinados, apresentado em % de matéria seca.

Analisando os resultados obtidos, percebe-se que ocorre um aumento do teor de açúcares redutores, como é descrito na literatura[21], exceto para as amostras *Japónica7* e *Índica8*. Nestas duas amostras germinadas, o teor de açúcares redutores é mais ou menos constante durante todos os tempos de germinação, havendo pequenas variações ao longo do tempo de germinação. Durante a germinação destas duas amostras, o tempo a que elas estiveram expostas tinha pouca luz solar, devido a estar a chover, e a pequena variação no teor de açúcares redutores pode ser explicada pelo rápido consumo dos mesmos para a produção de energia.

Nas restantes amostras, *Japónica10*, *Japónica1* e *Japónica2*, observa-se um pico no teor de açúcares redutores às 72 h, passando dos 0,03 % para os 0,07 – 0,08 %. Estes valores de açúcares encontram-se abaixo dos valores descritos na literatura, embora que com um padrão semelhante do que acontece durante o tempo de germinação[21]. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$.

4.2.6. Resultados dos compostos fenólicos solúveis nas amostras germinadas

Uma das otimizações do procedimento foi feito consoante o tempo de extração, em que se experimentou 30 min., 1 h e 2 h para as mesmas amostras, apresentando os resultados na Tabela 16. Pela análise dos resultados obtidos conclui-se que entre os 30 min. e a 1 h não se verificaram diferenças no teor de compostos fenólicos solúveis extraídos e o mesmo se verificou às 2 h. Por isso determinou-se que o melhor tempo para a extração dos

compostos fenólicos seria a 1 h, uma vez que a parte da extração dos compostos fenólicos solúveis é a mesma que a extração dos açúcares redutores.

Tabela 16 - Resultados da otimização da extração dos compostos fenólicos solúveis.

Amostra	Tempo de extração	Média	Desvio Padrão
Japónica10 G0h	2h	34,68	1,01
Japónica10 G0h	1h	34,74	1,93
Japónica10 G0h	30 min.	34,89	0,35
Japónica1 G0h	2h	41,58	1,52
Japónica1 G0h	1h	41,14	2,52
Japónica1 G0h	30 min.	41,45	1,13

Os compostos fenólicos solúveis foram quantificados recorrendo a uma curva de calibração feita com padrões de várias concentrações de ácido gálico. Cada vez que se procedeu à quantificação dos compostos fenólicos foi, também feita uma nova reta de calibração e um exemplo de uma das retas de calibração foi $y=0,0032x+0,0103$, em que o y corresponde à absorvância a 760 nm e o x à concentração em mg/L, com um $R^2=0,9994$. Os resultados do teor de compostos fenólicos solúveis das amostras germinadas são apresentados na Figura 38.

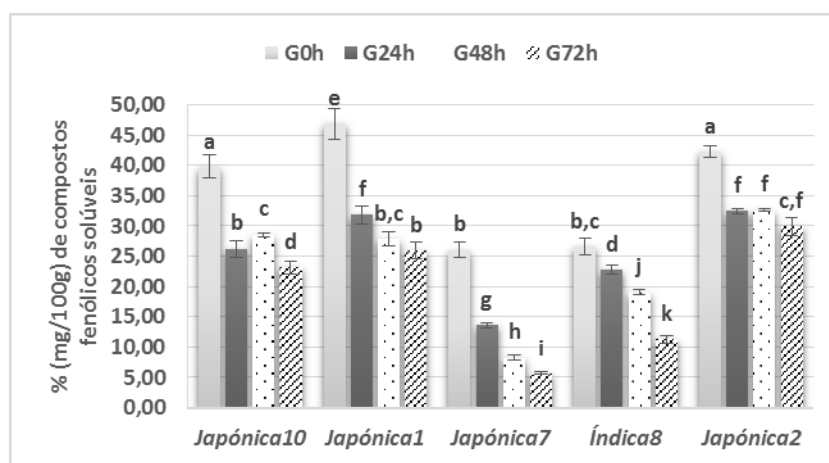


Figura 38 - Resultados do teor de compostos fenólicos solúveis presentes nas amostras germinadas, apresentados em % (mg/100g) em matéria seca.

Pela análise dos resultados presentes na Figura 38, percebe-se que o teor de compostos fenólicos diminui com o tempo de germinação, passando de 26 – 46 mg/100g para 5 – 23 mg/100g. Esta diminuição é devida ao consumo de compostos fenólicos durante a germinação para a produção de energia[103] e, também, pode ser explicada pela

perda dos mesmos[21], uma vez que o arroz é germinado em água destilada e estes compostos são solúveis na mesma. A partir das 24 h, o teor de compostos fenólicos torna-se constante até ao fim da germinação na amostra *Japónica2*.

As amostras *Japónica7* e *Índica8* possuem menor teor de compostos fenólicos, sendo ao tempo G0h cerca de 26 mg/100g comparado com cerca de 40 – 46 mg/100g das restantes amostras analisadas. No entanto possui um comportamento semelhante ao descrito na literatura, ou seja, uma diminuição do teor de compostos fenólicos solúveis ao longo do tempo de germinação[103]. A germinação em água provoca a diminuição do teor de compostos fenólicos solúveis, estes são um dos pigmentos do arroz integral, responsável pela sua cor amarelada[91]. Devido à sua perda na água de germinação resulta uma diminuição da cor amarelada nos grãos germinados, como visto anteriormente.

Na amostra *Japónica1*, observa-se uma diminuição às 24 h, passando de 46,90 para 31,80 mg/100g de compostos fenólicos solúveis. Às 48 h ocorre um pequena descida novamente e depois torna-se constante até ao final da germinação. Isto pode acontecer devido ao uso para produção de energia e após as 48 h recorre a outra fonte para a produção de energia, como por exemplo o GABA e amido.

Na amostra *Japónica10*, verifica-se uma diminuição do teor de compostos fenólicos solúveis às 24 h, passando dos 39,79 para os 26,26 mg/100g. Após esse tempo, o teor de compostos fenólicos sofre uma pequena subida às 48 h, passando para 28,58 mg/100g, voltando a descer novamente. Esta subida pode ser explicada pela produção de compostos fenólicos solúveis pelo grão, que seguidamente os usa para a produção de energia ou os perde na água usada para germinar. Os valores de compostos fenólicos solúveis destas amostras encontram-se mais abaixo dos valores descritos na literatura, contudo a composição dos grãos de arroz é influenciada pelas condições climatéricas a que estão sujeitos e aos fatores genéticos dos grãos[103]. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$.

4.2.7. Resultados dos compostos fenólicos insolúveis nas amostras germinadas

Os compostos fenólicos insolúveis foram quantificados através de uma reta de calibração feita com padrões de ácido gálico com várias concentrações. Por cada vez que se quantificou efetuou-se a reta de calibração, sendo um exemplo dessas retas de calibração

é $y=0,0008x-0,0111$, em que o y corresponde à absorvância a 760 nm e o x à concentração em mg/L, com um $R^2=0,9945$. Os resultados do teor de compostos fenólicos insolúveis encontram-se na Figura 39, sendo analisado para todas as amostras germinadas.

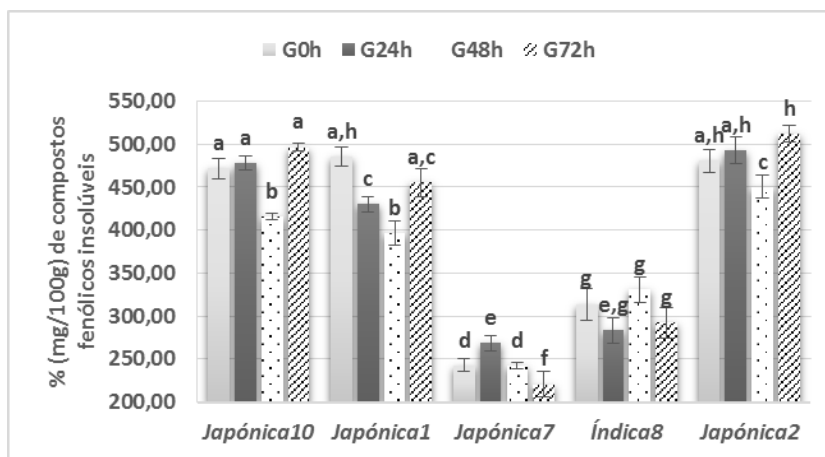


Figura 39 - Resultados do teor de compostos fenólicos insolúveis presente nas amostras germinadas, apresentado em % (mg/100g) em amostra seca.

Analisando os resultados presentes na Figura 39, conclui-se que o teor de compostos fenólicos insolúveis sofre pequenas variações durante os tempos de germinação analisados, exceto na amostra *Índica8*. Nesta amostra o teor de compostos fenólicos insolúveis é constante em todos os tempos de germinação, não sofrendo qualquer tipo de variação.

Nas restantes amostras ocorrem pequenas variações no teor de compostos fenólicos insolúveis. Nas amostras *Japónica10* e *Japónica2*, verifica-se uma diminuição do teor de compostos fenólicos insolúveis às 48 h, na amostra *Japónica1*, esta diminuição ocorre às 24 h, contudo às 72 h volta aos valores iniciais de compostos fenólicos insolúveis. Na amostra *Japónica7*, verifica-se um aumento às 24 h, seguido de diminuição até ao final da germinação. Estas diminuições ou aumentos podem ser explicados pela taxa de desenvolvimento do endosperma que pode exceder ou ser mais baixa que a taxa de síntese de farelo durante a germinação dos grãos ou pelo aumento da formação de ligações entre os compostos fenólicos insolúveis e os materiais presentes na parede celular[103].

As amostras *Japónica7* e *Índica6* possuem menor quantidade de compostos fenólicos insolúveis, apresentando cerca de 300 mg/ 100g para os cerca de 480 mg/100g das outras amostras analisadas, no entanto possuem um comportamento semelhante às restantes amostras durante o tempo de germinação. Esta variação pode ser explicada pelo tipo de amostra analisado e pela influência tanto climatérica como biológica que as amostras têm.

Estes valores de compostos fenólicos insolúveis encontram-se abaixo do que é descrito na literatura, no entanto este teor pode ser influenciado pelas condições climáticas a quando do desenvolvimento da planta, alterando a composição do grão de arroz, e pelas condições genéticas dos grãos[103]. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$.

4.2.8. Escolha do tempo de germinação das amostras germinadas

Tendo em conta que se tem como objetivo produzir arroz germinado, e sendo este especialmente produzido para pessoas que sofrem de diabetes mellitus tipo II, a escolha da paragem do tempo de germinação tem que ter em conta vários fatores, tais como o índice glicémico, o teor de GABA e os compostos fenólicos solúveis e insolúveis, conjugando com o fator tempo, importante na indústria. Apesar de se ter em conta todos estes fatores, o mais importante é o GABA, uma vez que ajuda a regularizar os níveis de glucose no sangue, indicado para pacientes que sofrem de diabetes mellitus tipo II.

Começando pelo índice glicémico, ao serem analisados os resultados obtidos para as amostras *Japónica9*, *Japónica10*, *Japónica1*, *Índica8* e *Japónica2* o melhor tempo para a paragem da germinação seria às 24 h, uma vez que o índice glicémico aumenta ao longo da germinação e nesse tempo é em que se encontra mais baixo. Na amostra *Japónica1* não se verifica alteração entre o arroz integral (G0h) e o arroz germinado 24 h, o que mostra uma vantagem em relação às restantes amostras analisadas.

No teor de GABA, percebe-se que para as amostras *Japónica9*, *Japónica1* e *Japónica7*, o melhor tempo para parar a germinação seria às 24 h, pois é quando o teor de GABA é mais elevado em menor tempo. Para as restantes amostras germinadas não se consegue estabelecer uma paragem no tempo de germinação baseado no teor de GABA, uma vez que é constante durante toda a germinação.

Em relação aos compostos fenólicos solúveis, o melhor tempo para parar a germinação seria às 24 h para todas as amostras germinadas, uma vez que ele diminui às 24 h e depois torna-se constante ou diminui ainda mais durante o resto da germinação, exceto para a amostra *Japónica10*. Assim, há menos perdas nutricionais em termos de compostos fenólicos solúveis e, também em termos de tempo. Para a amostra *Japónica10*, o melhor tempo, tendo em conta o teor de compostos fenólicos solúveis, seria as 48 h, uma vez que se verifica um pequeno aumento no seu teor nesse tempo.

Nos compostos fenólicos insolúveis, para as amostras *Japónica10*, *Japónica7*, *Índica8* e *Japónica2* seria rentável parar a germinação às 24 h, pois é constante ou diminui durante o resto do tempo da germinação. Na amostra *Japónica1*, o melhor tempo seria as 72 h, que é quando volta a subir, pois nos restantes tempos o valor encontra-se baixo.

Analisando a totalidade dos resultados, percebe-se que o melhor tempo para a paragem da germinação seria as 24 h para as amostras *Japónica10*, *Japónica1* e *Japónica7*. Nas restantes amostras não se consegue estabelecer um tempo de paragem porque o teor de GABA não se altera durante todos os tempos e o índice glicémico também não é o mais favorável para pacientes de diabetes mellitus tipo II. Para estas amostras procedeu-se à determinação do tempo de cozedura para 90 % dos grãos cozidos, a determinação do teor de amilose aparente e de amido resistente, de modo a se verificar se ocorrem alterações nestes nutrientes.

4.2.9. Resultados do ensaio de cozedura das amostras germinadas

A temperatura de gelatinização do arroz relaciona-se positivamente com o seu tempo de cozedura, ou seja, para arroz com elevada temperatura de gelatinização irá demorar mais tempo a ficar cozido do que um arroz com baixa temperatura de gelatinização[122]. Para as amostras em que se conseguiu decidir qual seria o melhor tempo de germinação foram feitos ensaios de cozedura, sendo estes resultados apresentados na Figura 40.

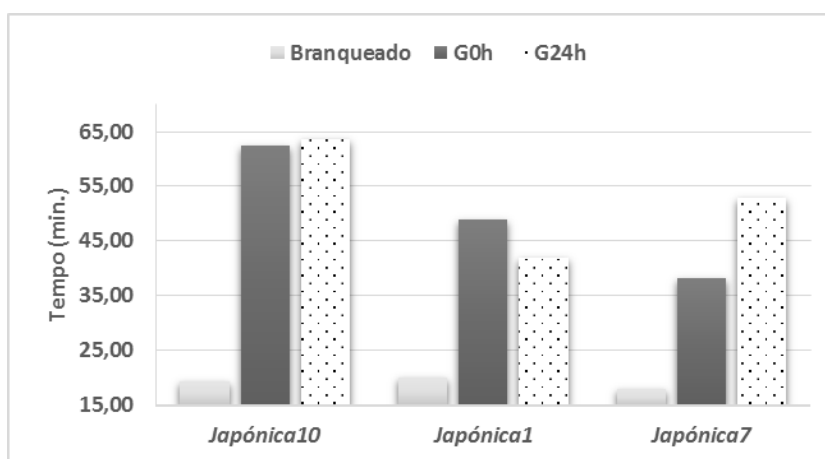


Figura 40 - Resultados do tempo de cozedura, quando o arroz se encontra 90 % cozido, para as amostras branqueadas, integrais (G0h) e as germinadas (G24h), das amostras em que se conseguiu definir o tempo de paragem da germinação.

Pela análise dos resultados presentes na Figura 40, percebe-se que para a amostra *Japónica9* o tempo de cozedura não varia muito entre o arroz integral e o arroz germinado 24 h, passando dos 62,38 min. para 63,72 min. Esta variação não é muito significativa, pois o consumidor não irá sentir diferença na variação de aproximadamente 1 min. no tempo de cozedura. Contudo, a amostra *Japónica1*, diminui o tempo de cozedura quando é germinada, havendo uma diminuição de aproximadamente 8 min., sendo uma variação mais significativa para o consumidor. Este resultado é corroborado pelos resultados obtidos por Wu et al. (2013)[123], em que concluiu que havia uma diminuição significativa na temperatura de gelatinização após a germinação.

A amostra que tem um comportamento completamente diferente é a *Japónica7*, em que o tempo de cozedura da amostra germinada aumenta de forma muito significativa, aumentando cerca de 15 min., não sendo uma vantagem para o consumidor.

O arroz germinado cozinhado tinha um aspeto amolecido, que pode ser provocado pela hidrólise de polímeros de elevado peso molecular, por enzimas que foram ativadas durante a germinação. Com esta hidrólise, resultam um aumento do teor de açúcares redutores, pela degradação do amido, e uma alteração do teor de proteína, que coincide com o aumento do teor de aminoácidos livres. Podem ocorrer também modificações no endosperma dos grãos de cereais devido à degradação parcial de paredes celulares por xilanases e proteases. Além das alterações na composição química, a imersão dos grãos em água provoca pequenas fissuras, que altera a velocidade de cozimento dos grãos de arroz germinado. Estas alterações nos grãos germinados fazem com que os grãos se tornem amolecidos, tanto crus como depois de cozidos[91].

Ao serem comparados os resultados da cozedura do arroz branqueado do arroz integral (G0h), percebe-se se existe uma diferença muito grande. O arroz branqueado possui um tempo de germinação inferior ao arroz integral e ao arroz germinado. Estes resultados encontram-se dentro dos encontrados na literatura, uma vez que o arroz integral demora mais tempo a ser cozinhado, porque a penetração de água neste é mais lenta que no grão branqueado, levando assim a um aumento do tempo de cozedura[91].

4.2.10. Resultados do teor de amilose aparente das amostras germinadas

Os resultados do teor de amilose aparente encontram-se na Figura 41 para as amostras germinadas, nas quais se conseguiu estabelecer um tempo para a paragem da germinação.

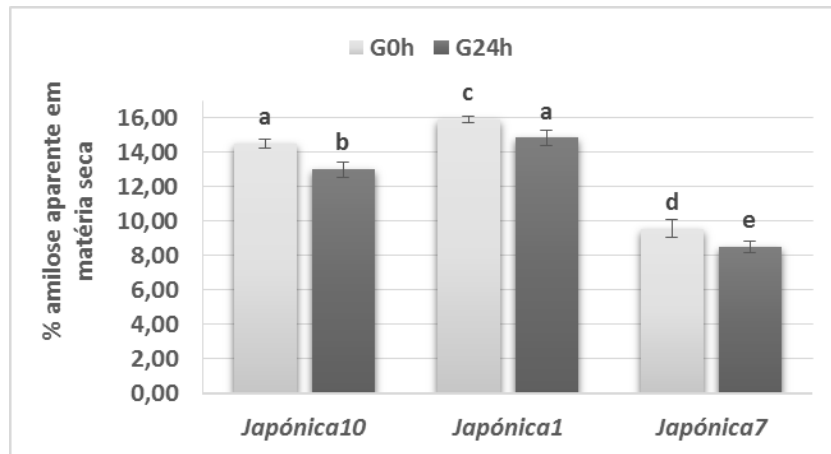


Figura 41 - Resultados do teor de amilose aparente nas amostras integrais, tempo G0h, e nas amostras germinadas 24 h, apresentado em % de matéria seca.

Pela análise dos resultados verifica-se uma diminuição no teor de amilose aparente durante as primeiras 24 h de germinação, uma diminuição significativa que mostra que o arroz está a ser degradado, como analisado na literatura[46]. Contudo, este facto não indica que o amido está a ser degradado pela amilose, permanecendo intacta a amilopectina, pois, segundo Wu et al. (2013)[123], ocorre degradação do amido por ambas as partes, pela amilose e pela amilopectina, verificando-se uma diminuição significativa de ambas. A amostra que apresenta menor degradação da amilose aparente é a *Japónica1*, em que teve uma degradação de cerca de 5,4 %. A amostra que possui maior degradação de amilose aparente é a amostra *Japónica7*, de cerca de 11,2 % de degradação. A amostra *Japónica10* possui menor teor de degradação, cerca de 8,4 %. Estas variações no teor de degradação da amilose aparente podem ter influência dos fatores genéticos e ambientais em que o grão se desenvolveu. As amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$.

4.2.11. Resultados do teor de amido resistente das amostras germinadas

Os resultados do teor de amido resistente presente no grão de arroz encontram-se na Figura 42, as amostras analisadas apresentam diferenças estatísticas com um $p > 0,10$. Pela sua análise não se verifica alteração no teor de amido resistente em todas as amostras germinadas analisadas, como é amido resistente, amido que resiste à digestão das enzimas, é normal que não se observe variação no teor de amido resistente. As enzimas presentes no grão de arroz começam a degradar pela parte mais fácil e mais rápida para a produção de energia necessária para a planta. Apesar de existir degradação do amido presente nos grãos germinados, esta degradação não foi suficiente para poder aumentar, proporcionalmente, o teor de amido resistente presente no grão e no amido total presente. Contudo, ter-se-ia de fazer uma análise do amido resistente com mais tempo, de modo a se perceber se este iria aumentar ou diminuir com o tempo de germinação.

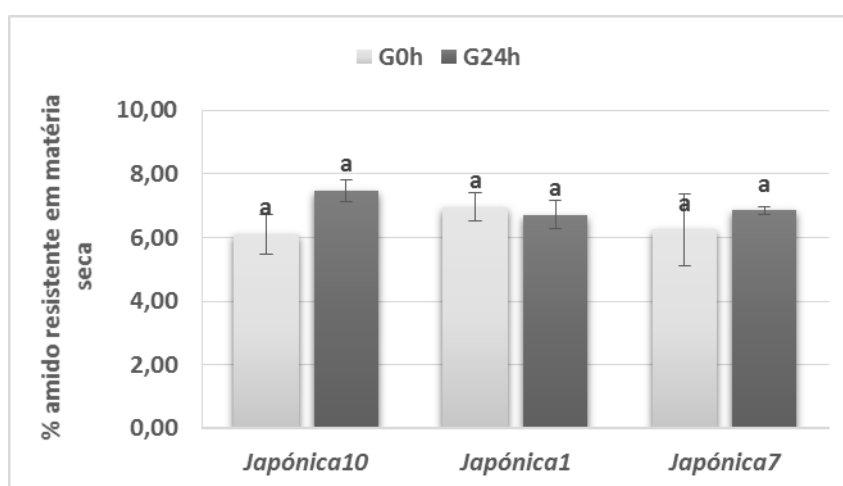


Figura 42 - Resultado do teor de amido resistente de cada amostra, apresentado em % de matéria seca.

4.2.12. Correlações entre os parâmetros analisados nas amostras germinadas

Analisando as correlações obtidas para as amostras germinadas (Tabela 17), observam-se correlações entre o índice glicémico e o teor de amido total, uma correlação fraca e negativa, em $-0,42$, indicando que para as amostras germinadas com elevado índice glicémico possuem baixo teor de amido. Esta conclusão é observada nos resultados obtidos, uma vez que o amido é degradado ao longo do tempo de germinação e o índice glicémico aumenta, embora em algumas amostras, como *Japónica2*, que se manteve constante ao longo do tempo de germinação. O índice glicémico também se correlaciona

fraca e negativamente com o Ácido glutâmico, em -0,46, indicando que as amostras que possuem índice glicêmico elevado, possuem baixo Ácido glutâmico, como é observado durante a germinação.

Tabela 17 - Resultados das correlações obtidas para as amostras germinadas.

	Amido	Índice Glicêmico	GABA	Ácido Glutâmico	Acúcares Redutores	Compostos Fenólicos Solúveis (mg/100g de matéria seca)	Compostos Fenólicos Insolúveis (mg/100g de matéria seca)
Amido	1,00						
Índice Glicêmico	-0,42	1,00					
GABA	-0,31	0,19	1,00				
Ácido Glutâmico	0,20	-0,46	-0,39	1,00			
Acúcares Redutores	-0,56	0,39	0,29	-0,62	1,00		
Compostos Fenólicos Solúveis (mg/100g de matéria seca)	0,49	-0,16	-0,10	-0,55	0,16	1,00	
Compostos Fenólicos Insolúveis (mg/100g de matéria seca)	-0,02	0,22	0,28	-0,88	0,57	0,76	1,00

O teor de GABA correlaciona-se fraca e negativamente com o teor de amido total e com o Ácido Glutâmico, em -0,31 e -0,39, respectivamente. Este resultado indica que durante a germinação, o amido total e o Ácido glutâmico são degradados e o GABA é produzido, aumentando, assim, o seu teor no grão, como se verifica. Apesar do GABA se correlacionar fracamente com o Ácido Glutâmico, esta correlação é aumentada para moderada quando se retiram as duas amostras em que o teor de GABA não aumentou durante a germinação, para -0,52, uma correlação moderada (Tabela 18). Como a quantificação de Ácido Glutâmico ocorre juntamente com a quantificação de Glutamina, este resultado não é forte ou muito forte, pois encontra-se mascarado com o teor de Glutamina que também está a ser quantificado.

Tabela 18 - Resultados das correlações obtidas para as amostras germinadas, exceto as amostras *Índica8* e *Japónica2*.

	Amido (% de matéria seca)	Índice Glicémico	GABA (% de matéria seca)	Ácido Glutâmico (% de matéria seca)	Açúcares Redutores (% de matéria seca)	Compostos Fenólicos Solúveis (mg/100g de matéria seca)	Compostos Fenólicos Insolúveis (mg/100g de matéria seca)
Amido (% de matéria seca)	1,00						
Índice Glicémico	-0,32	1,00					
GABA (% de matéria seca)	-0,33	0,34	1,00				
Ácido Glutâmico (% de matéria seca)	0,09	-0,35	-0,52	1,00			
Açúcares Redutores (% de matéria seca)	-0,51	0,43	0,34	-0,66	1,00		
Compostos Fenólicos Solúveis (mg/100g de matéria seca)	0,52	-0,18	0,01	-0,61	0,15	1,00	
Compostos Fenólicos Insolúveis (mg/100g de matéria seca)	0,06	0,17	0,48	-0,92	0,55	0,76	1,00

O Ácido Glutâmico correlaciona-se moderada e negativamente com os açúcares redutores e com o compostos fenólicos solúveis, em -0,62 e -0,55, respetivamente. Estes dados indicam que o Ácido Glutâmico, ao longo da germinação, vai diminuir e o teor de açúcares redutores aumenta, contudo observa-se também que o teor de compostos fenólicos solúveis também aumenta. No entanto, ao longo da germinação o teor de compostos fenólicos solúveis diminui ou o seu teor não sofre alterações, indo contra o que é visto nesta correlação. O sucedido pode ser explicado pelo facto de as amostras germinadas onde o teor de compostos fenólicos solúveis é constante durante todo o tempo de germinação poder estar a “mascarar” este resultado de correlação. O Ácido Glutâmico também se correlaciona forte e negativamente com o teor de compostos fenólicos insolúveis, em -0,88, indicando que com o aumento do teor de Ácido Glutâmico, os compostos fenólicos insolúveis diminuem. Como, nos resultados, o teor de Ácido Glutâmico oscila ao longo da germinação e o teor de compostos fenólicos também, para determinadas amostras, como para a amostra *Japónica1*, estes dois parâmetros correlacionam-se fortemente.

O teor de açúcares redutores aumenta durante a germinação, com a diminuição do teor de amido total, observando-se, assim, uma correlação moderada e negativa entre estes dois parâmetros de -0,56. No entanto, também se correlaciona moderada e positivamente com o teor de compostos fenólicos insolúveis, em 0,57. O teor de compostos fenólicos insolúveis é mais ou menos constante durante a germinação e o teor de açúcares redutores é constante para algumas amostras, como a amostra *Japónica7* e a amostra *Índica8*, e nas restantes aumenta muito significativamente às 72 h, por isso, observa-se uma correlação moderada entre estes dois parâmetros analisados.

O teor de compostos fenólicos solúveis correlaciona-se fraca e positivamente com o teor de amido total, em 0,49, uma vez que o amido total é degradado ao longo do tempo de germinação, e o teor de compostos fenólicos também diminui. Esta correlação não é muito forte, possivelmente devido ao teor de amido não diminuir de forma constante e, assim como o teor de compostos fenólicos solúveis. Apesar de no geral da germinação estes diminuírem, não diminuem de forma semelhante, por isso, a correlação é fraca. O teor de compostos fenólicos solúveis também se correlaciona forte e positivamente com o teor de compostos fenólicos insolúveis, em 0,76. Este resultado pode ser explicado pelo facto de, em certas amostras se observar uma diminuição do teor de compostos fenólicos insolúveis, como por exemplo, a amostra *Japónica1*, levando a uma correlação entre estes dois parâmetros.

5. CONCLUSÃO

Inicialmente, foi feito um estudo das características nutricionais do arroz branqueado, analisando as suas características biométricas, o *Kett*, o seu teor de amido total, o índice glicémico, o teor de amido resistente, o teor de amilose aparente e o seu teor proteico. Nas características biométricas e no *Kett*, as amostras *Índicas* são as que possuem uma relação C/L, um teor de brancura total, brancura vítrea, % de área gessada e o *Kett* mais constantes entre as amostras analisadas. Nas amostras *Japónicas* verificam-se maiores variações entre as amostras.

O teor de amido total das amostras analisadas variou entre 70 e 81 % de matéria seca. No índice glicémico, destaca-se uma amostra com índice glicémico muito baixo, *Japónica10*, que possui um índice glicémico inferior ao do pão, indicando que é uma amostra potencial caracterizada pelo baixo índice glicémico. Verifica-se que o índice glicémico se correlaciona negativamente com a brancura vítrea dos grãos de arroz. Não se verificou correlação entre o índice glicémico e o teor de amilose aparente, exceto nas amostras *Índicas*, no entanto é uma correlação positiva, contrariamente ao que é obtido na literatura. Porém, para as amostras *Índicas*, existe uma correlação fraca entre o amido resistente e o índice glicémico. As amostras *Japónicas* possuem correlações muito fracas entre todas as características do arroz, contudo ao serem retiradas as amostras da variedade tipo *Risotto*, obteve-se uma correlação moderada e negativa entre o índice glicémico e o amido resistente, e a proteína possui uma correlação forte e positiva com a amilose aparente.

A germinação é um processo que permite aumentar e melhorar a qualidade nutricional de qualquer cereal, sendo, por isso, usada para a produção de produtos de valor acrescentado, principalmente no Japão. A germinação das amostras de arroz provocou a diminuição do amido total e o aumento do teor de açúcares redutores, fazendo com que o índice glicémico aumentasse durante as primeiras 24 h de germinação, exceto na amostra

Japónica1. As amostras *Japónica10*, *Japónica1* e *Japónica7* obtiveram maior quantidade de GABA às 24 h. O teor de compostos fenólicos solúveis diminuíram e o teor de compostos fenólicos insolúveis permaneceram mais ou menos constantes ao longo do tempo de germinação. Conclui-se que as melhores amostras para germinar seriam as *Japónica10*, *Japónica1* e *Japónica7*, pois conseguiram aumentar o seu teor de GABA para o dobro em relação ao teor inicial a apenas 24 h de germinação. No entanto, dever-se-ia experimentar germinar em tampões em que se pudesse variar o pH, de modo a se poder ver que influência é que o pH pode ter na germinação dos grãos, pois este parâmetro pode ser a justificação, para nas restantes amostras, o teor de GABA não se alterar. Em relação ao tempo de cozedura, este não é o mais favorável para o consumidor, sendo necessário que haja estudos e alterações no método de cozedura de modo a que este diminua e, assim, se torne um produto que para além do seu elevado valor nutricional seja facilmente cozido pelo consumidor.

Este estudo permitiu à empresa Novarroz – Produtos Alimentares, S.A. e a nível pessoal adquirir conhecimentos relativos às características nutricionais do arroz e correlacioná-las com as características biométricas. Contudo, também permitiu a aquisição de conhecimentos para o desenvolvimento de arroz germinado, um produto de valor acrescentado, direcionado para pacientes de diabetes mellitus tipo II. É importante realçar que este estudo ainda não se encontra concluído, sendo necessária a análise de mais parâmetros nutricionais avaliados, além de alteradas algumas condições de germinação, como o pH e a temperatura.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Novarroz - *Produtos Alimentares*, S.A. [cited 2013 11 de Dezembro]; Available from: <http://novarroz.pt/>.
2. Chen, H.H., Chen, Y. K., Chang, H. C., *Evaluation of physicochemical properties of plasma treated brown rice*. Food Chemistry, 2012. **135**(1): p. 74-79.
3. Singh, N., Kaur, L., Sodhi, N. S., Sekhon, K. S., *Physicochemical, cooking and textural properties of milled rice from different Indian rice cultivars*. Food Chemistry, 2005. **89**(2): p. 253-259.
4. Fresco, L., *Rice is life*. Journal of Food Composition and Analysis, 2005. **18**(4): p. 249-253.
5. Kennedy, G., Burlingame, B., *Analysis of food composition data on rice from a plant genetic resources perspective*. Food Chemistry, 2003. **80**(4): p. 589-596.
6. Zhou, Z., Robards, K., Helliwell, S., Blanchard, C., *Ageing of Stored Rice: Changes in Chemical and Physical Attributes*. Journal of Cereal Science, 2002. **35**(1): p. 65-78.
7. Sun, Q.J., Wang, T., Xiong, L., Zhao, Y. X., *The effect of heat moisture treatment on physicochemical properties of early indica rice*. Food Chemistry, 2013. **141**(2): p. 853-857.
8. Simsek, S., Whitney, K., Ohm, J. B., *Analysis of Cereal Starches by High-Performance Size Exclusion Chromatography*. Food Analytical Methods, 2013. **6**(1): p. 181-190.
9. Vitapole, D., *Glycaemic Index and Health: The Quality of the Evidence*. Danone Vitapole/FAO, Nutrition and Health Collections. ed. 2001.
10. Jenkins, D.J., Kendall, C. W., Augustin, L. S., Franceschi, S., Hamidi, M., Marchie, A., Jenkins, A. L., Axelsen, M., *Glycemic index: overview of implications in health and disease*. American Society for Clinical Nutrition, 2002. **76**(1): p. 266s-73s.

11. Tuomelehto, J., Wolf, E., *Primary Prevention of Diabetes Mellitus*. *Diabetes Care*, 1987. **10**(2): p. 238-248.
12. Zimmet, P.Z., *Primary Prevention of Diabetes Mellitus*. *Diabetes Care*, 1988. **11**(3): p. 258-262.
13. Chung, H.-J., Lim, H. S., Lim, S.-T., *Effect of partial gelatinization and retrogradation on the enzymatic digestion of waxy rice starch*. *Journal of Cereal Science*, 2006. **43**(3): p. 353-359.
14. Taneera, J., Jin, Z., Jin, Y., Muhammed, S. J., Zhang, E., Lang, S., Salehi, A., Korsgren, O., Renström, E., Groop, L., Birnir, B., *γ -Aminobutyric acid (GABA) signalling in human pancreatic islets is altered in type 2 diabetes*. *Diabetologia*, 2012. **55**(7): p. 1985-1994.
15. Gomez, R., Asnis, N., Tannhauser, S. L., Barros, H. M. T., *GABA Agonists Differentially Modify Blood Glucose Levels of Diabetic Rats*. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 1999. **80**(4): p. 327-331.
16. Adeghate, E., Ponery, A. S., *GABA in the endocrine pancreas: cellular localization and function in normal and diabetic rats*. *Tissue and Cell*, 2002. **34**(1): p. 1-6.
17. Kim, H.Y., Hwang, I. G., Kim, T. M., Woo, K. S., Park, D. S., Kim, J. H., Kim, D. J., Lee, J., Lee, Y. R., Jeong, H. S., *Chemical and functional components in different parts of rough rice (*Oryza sativa* L.) before and after germination*. *Food Chemistry*, 2012. **134**(1): p. 288-293.
18. Youn, Y.-S., Park, J.-K., Jang, H.-D., Rhee, Y.-W., *Sequential hydration with anaerobic and heat treatment increases GABA (γ -aminobutyric acid) content in wheat*. *Food Chemistry*, 2011. **129**(4): p. 1631-1635.
19. Keen, H., Jarrett, R. J., Fuller, J. H., *Diabetes, obesity and nutrition: epidemiological aspects*. *Diabetes and Obesity*, 1979: p. 91-103.
20. Zhang, H., Yao, H. Y., Chen, F., *Accumulation of gamma-aminobutyric acid in rice germ using protease*. *Bioscience, biotechnology and biochemistry*, 2006. **70**(5): p. 1160-5.
21. Moongngarm, A., Saetung, N., *Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice*. *Food Chemistry*, 2010. **122**(3): p. 782-788.

22. Xu, J.G., Hu, Q. P., Duan, J. L., Tian, C. R., *Dynamic Changes in γ -Aminobutyric Acid and Glutamate Decarboxylase Activity in Oats (*Avena nuda L.*) during Steeping and Germination*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010. **58**(17): p. 9759-9763.
23. Chung, H.-J., Jang, S.-H., Cho, H. Y., Lim, S.-T., *Effects of steeping and anaerobic treatment on GABA (γ -aminobutyric acid) content in germinated waxy hull-less barley*. LWT - Food Science and Technology, 2009. **42**(10): p. 1712-1716.
24. Komatsuzaki, N., Tsukahara, K., Toyoshima, H., Suzuki, T., Shimizu, N., Kimura, T., *Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice*. Journal of Food Engineering, 2007. **78**(2): p. 556-560.
25. Patil, S., Khan, M. K., *Germinated brown rice as a value added rice product: A review*. Journal of Food Science and Technology, 2011. **48**(6): p. 661-667.
26. Shelp, B.J., Bown, A. W., McLean, M. D., *Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid*. Trends in Plant Science, 1999. **4**(11): p. 446-452.
27. Chen, C., Chen, F., *Study on the conditions to brew rice vinegar with high content of γ -amino butyric acid by response surface methodology*. Food and Bioproducts Processing, 2009. **87**(4): p. 334-340.
28. Roberts, E., *γ -aminobutyric acid and nervous system function—A perspective*. Biochemical Pharmacology, 1974. **23**(19): p. 2637-2649.
29. Hayashi, K., Kimura, M., Kasaha, K., Matsumoto, K., Sansawa, H., Yamori, Y., *Effect of a γ -aminobutyric acid-enriched dairy product on the blood pressure of spontaneously hypertensive and normotensive Wistar–Kyoto rats*. British Journal of Nutrition, 2004. **92**: p. 411-417.
30. Oh, S.H., Soh, J. R., Cha, Y. S., *Germinated brown rice extract shows a nutraceutical effect in the recovery of chronic alcohol-related symptoms*. Journal of Medicinal Food, 2003. **6**(2): p. 115-21.
31. Oh, C.H., Oh, S. H., *Effects of germinated brown rice extracts with enhanced levels of GABA on cancer cell proliferation and apoptosis*. Journal of Medicinal Food, 2004. **7**(1): p. 19-23.
32. Iimure, T., Kihara, M., Hirota, N., Zhou, T., Hayashi, K., Ito, K., *A method for production of γ -amino butyric acid (GABA) using barley bran supplemented with glutamate*. Food Research International, 2009. **42**(3): p. 319-323.

33. Chanlat, N., Songsermpong, S., Charunuch, C., Naivikul, O., *Twin-Screw Extrusion of Pre-Germinated Brown Rice: Physicochemical Properties and γ -Aminobutyric Acid Content (GABA) of Extruded Snacks*. International Journal of Food Engineering, 2011. **7**(4): p. 1-15.
34. Karladee, D., Suriyong, S., *γ -Aminobutyric acid (GABA) content in different varieties of brown rice during germination*. Science Asia, 2012. **38**: p. 13-17.
35. Kim, K.H., Kim, J.H., Hwang, I.G., Kim, Y., Jeong, H.S., Kim, K.J., Lee, Y.R., Woo, K.S., *Changes in the Chemical and Functional Components of Korean Rough Rice Before and After Germination*. Food Science and Biotechnology, 2007. **16**(6): p. 1006-1010.
36. Charoenthaikij, P., Jangchud, K., Jangchud, A., Piyachomkwan, K., Tungtrakul, P., Prinyawiwatkul, W., *Germination Conditions Affect Physicochemical Properties of Germinated Brown Rice Flour*. Journal of Food Science, 2009. **74**(9): p. C658-C665.
37. Roohinejad, S., Omidzadehb, A., Mirhosseinia, H., Saari, N., Mustafad, S., Hussina, A. S. M., Hamidc, A., Manap, M. Y. A., *Effect of Pre-Germination Time on Amino Acid Profile and Gamma Amino Butyric Acid (GABA) Contents in Different Varieties of Malaysian Brown Rice*. International Journal of Food Properties, 2011. **14**: p. 1386-1399.
38. Maisont, S., Narkrugs, W., *The Effect of Germination on GABA Content, Chemical Composition, Total Phenolics Content and Antioxidant Capacity of Thai Waxy Paddy Rice*. Kasetsart Journal (Nat. Sci.), 2010. **44**(5): p. 912 - 923.
39. Srisang, N., Varanyanond, W., Soponronnarit, S., Prachayawarakorn, S., *Effects of heating media and operating conditions on drying kinetics and quality of germinated brown rice*. Journal of Food Engineering, 2011. **107**(3-4): p. 385-392.
40. Ohtsubo, K., Suzuki, K., Yasui, Y., Kasumi, T., *Bio-functional components in the processed pre-germinated brown rice by a twin-screw extruder*. Journal of Food Composition and Analysis, 2005. **18**(4): p. 303-316.
41. Charoenthaikij, P., Jangchud, K., Jangchud, A., Prinyawiwatkul, W., No, H. K., *Composite wheat-germinated brown rice flours: selected physicochemical properties and bread application*. International Journal of Food Science and Technology, 2012. **47**(1): p. 75-82.

42. Charoenthaikij, P., Jangchud, K., Jangchud, A., Piyachomkwan, W., Tungtrakul, P., *Germination Conditions Affect Selected Quality of Composite Wheat-Germinated Brown Rice Flour and Bread Formulations*. Journal of Food Science, 2010. **75**(6): p. S312-S318.
43. Tian, S., Nakamura, K., Kayahara, H., *Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004. **52**(15): p. 4808-13.
44. Kim, S.-L., Lee, J.-E., Kwon, Y.-U., Kim, W.-H., Jung, G.-H., Kim, D.-W., Lee, C.-K., Lee, Y.-Y., Kim, M.-J., Kim, Y.-H., Hwang, T.-Y., Chung, I.-M., *Introduction and nutritional evaluation of germinated soy germ*. Food Chemistry, 2013. **136**(2): p. 491-500.
45. Donkor, O.N., Stojanovska, L., Ginn, P., Ashton, J., Vasiljevic, T., *Germinated grains – Sources of bioactive compounds*. Food Chemistry, 2012. **135**(3): p. 950-959.
46. Xu, J., Zhang, H., Guo, X., Qian, H., *The impact of germination on the characteristics of brown rice flour and starch*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2012. **92**(2): p. 380-387.
47. Ou, S., Kwok, K., Li, Y., Fu, L., *In vitro study of possible role of dietary fiber in lowering postprandial serum glucose*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001. **49**(2): p. 1026-9.
48. Saikusa, T., Horino, T., Mori, Y., *Accumulation of gamma-Aminobutyric Acid (Gaba) in the Rice Germ during Water Soaking*. Bioscience, biotechnology and biochemistry, 1994. **58**(12): p. 2291-2292.
49. Kihara, M., Okada, Y., Iimure, T., Ito, K., *Accumulation and Degradation of Two Functional Constituents, GABA and beta-Glucan, and Their Varietal Differences in Germinated Barley Grains*. Breeding Science, 2007. **57**(2): p. 85-89.
50. Kayahara, H., Tsukahara, K., Tatai, T., *Flavor, health and nutritional quality of pre-germinated brown rice*, in *Food Flavors and Chemistry: Advances of the New Millennium*. 2001, The Royal Society of Chemistry. p. 546-551.
51. Trachoo, N., Boudreaux, C., Moongngarm, A., Samappito, S., Gaensakoo, S., *Effect of Germinated Rough Rice Media on Growth of Selected Probiotic Bacteria*. Pakistan Journal of Biological Sciences, 2006. **9**(14): p. 2657-2661.

52. Jacobs, D.R., Tapsell, L. C., *Food, Not Nutrients, Is the Fundamental Unit in Nutrition*. Nutrition Reviews, 2007. **65**(10): p. 439-450.
53. Krzesinski, J.M., Weekers, L., *Hypertension and diabetes*. Revue Medicale de Liege, 2005. **60**(5-6): p. 572-577.
54. Srisang, N., Prachayawarakorn, S., Varanyanond, W., Soponronnarit, S., *Germinated Brown Rice Drying by Hot Air Fluidization Technique*. Drying Technology, 2010. **29**(1): p. 55-63.
55. Khush, G.S., *Origin, dispersal, cultivation and variation of rice*. Plant Mol Biol, 1997. **35**(1-2): p. 25-34.
56. Juliano, B.O., *Rice in human nutrition*. FAO food and nutrition series. 1993, FAO: Rome.
57. Mohan, B.H., Malleshi, N. G., Koseki, T., *Physico-chemical characteristics and non-starch polysaccharide contents of Indica and Japonica brown rice and their malts*. LWT - Food Science and Technology, 2010. **43**(5): p. 784-791.
58. Chen, M.-H., Bergman, C. J., *Method for determining the amylose content, molecular weights, and weight- and molar-based distributions of degree of polymerization of amylose and fine-structure of amylopectin*. Carbohydrate Polymers, 2007. **69**(3): p. 562-578.
59. Bao, J., Sun, M., Corke, H., *Analysis of genotypic diversity in starch thermal and retrogradation properties in nonwaxy rice*. Carbohydrate Polymers, 2007. **67**(2): p. 174-181.
60. Singh Sodhi, N., Singh, N., *Morphological, thermal and rheological properties of starches separated from rice cultivars grown in India*. Food Chemistry, 2003. **80**(1): p. 99-108.
61. Zhu, L.-J., Liu, Q.-Q., Wilson, J. D., Gu, M.-H., Shi, Y.-C., *Digestibility and physicochemical properties of rice (*Oryza sativa* L.) flours and starches differing in amylose content*. Carbohydrate Polymers, 2011. **86**(4): p. 1751-1759.
62. Goñi, I., García-Diz, L., Mañas, E., Saura-Calixto, F., *Analysis of resistant starch: a method for foods and food products*. Food Chemistry, 1996. **56**(4): p. 445-449.
63. Fabian, C., Ju, Y.-H., *A Review on Rice Bran Protein: Its Properties and Extraction Methods*. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2011. **51**(9): p. 816-827.

64. Agboola, S., Ng, D., Mills, D., *Characterisation and functional properties of Australian rice protein isolates*. Journal of Cereal Science, 2005. **41**(3): p. 283-290.
65. Shewry, P.R., Casey, R., *Seed Proteins*. First Edition ed. 1999: Kluwer Academic Publishers, The Netherland.
66. Borght, A.V.D., Vandeputte, G. E., Derycke, V., Brijs, K., Daenen, G., Delcour, J. A., *Extractability and chromatographic separation of rice endosperm proteins*. Journal of Cereal Science, 2006. **44**(1): p. 68-74.
67. Belitz, H.D., Grosch, W., Schieberle, P., *Food Chemistry*. 4th Edition ed. 2009: Springer.
68. Furukawa, S., Mizuma, T., Kiyokawa, Y., Masumura, T., Tanaka, K., Wakai, Y., *Distribution of storage proteins in low-glutelin rice seed determined using a fluorescent antibody*. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2003. **96**(5): p. 467-473.
69. Mano, Y., Kawaminami, K., Kojima, M., Ohnishi, M., Ito, S., *Comparative Composition of Brown Rice Lipids (Lipid Fractions) of Indica and Japonica Rices*. Bioscience, biotechnology and biochemistry, 1999. **63**(4): p. 619-626.
70. Fujino, Y., Mano, Y., *Classification of lipids and composition of fatty acids in brown rice*. Journal Series, 1972. **25**: p. 472-474.
71. Bechtel, D.B., Pomeranz, Y., *Ultrastructure of the mature ungerminated rice (Oryza sativa) caryopsis. The caryopsis coat and aleurone cells*. American Journal of Botany, 1977. **64**: p. 966-973.
72. Resurrección, A.P., Juliano, B.O., Tanaka, Y., *Nutrient content and distribution in milling fractions of rice grain*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1979. **30**: p. 475-481.
73. Normand, F.L., Soignet, D. M., Hogan, J. T., Deobald, H. J., *Content of certain nutrients and amino acid patterns in high-protein rice flour*. Rice Journal, 1966. **69**: p. 13-18.
74. Choudhury, N.H., Juliano, B. O., *Lipids in developing and mature rice grain*. Phytochemistry, 1980a. **19**: p. 1063-1069.
75. Vasanathan, Y., Hoover, R., *Effect of defatting on starch structures and physicochemical properties*. Food Chemistry, 1992. **45**: p. 337-341.

76. Kitahara, K., Suganuma, T., Nagahama, T., *Susceptibility of amylose-lipid complexes to hydrolysis by glucoamylase from *Rhizopus niveus**. *Cereal chemistry*, 1996. **73**: p. 428-432.
77. Kaur, K., Singh, N., *Amylose-lipid complex formation during cooking of rice flour*. *Food Chemistry*, 2000. **71**: p. 511-517.
78. Kitta, K., Ebihara, M., Iizuka, T., Yoshikawa, R., Isshiki, K., Kawamoto, S., *Variations in lipid content and fatty acid composition of major non-glutinous rice cultivars in Japan*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2005. **18**(4): p. 269-278.
79. Rao, R.S.P., Muralikrishna, G., *Non-starch polysaccharide-phenolic acid complexes from native and germinated cereals and millet*. *Food Chemistry*, 2004. **84**(4): p. 527-531.
80. Lai, V.M.F., Lu, S., He, W. H., Chen, H. H., *Non-starch polysaccharide compositions of rice grains with respect to rice variety and degree of milling*. *Food Chemistry*, 2007. **101**(3): p. 1205-1210.
81. Domon, J.-M., Baldwin, L., Acket, S., Caudeville, E., Arnoult, S., Zub, H., Gillet, F., Lejeune-Hénaut, I., Brancourt-Hulmel, M., Pelloux, J., Rayon, C., *Cell wall compositional modifications of *Miscanthus* ecotypes in response to cold acclimation*. *Phytochemistry*, 2013. **85**(0): p. 51-61.
82. Anderson, J.W., Bridges, S. R., *Dietary fiber content of selected foods*. American Society for Clinical Nutrition, 1988. **47**: p. 440-447.
83. Institute, I.R.R., *Proceedings of the workshop on Chemical Aspects of Rice Grain Quality*. 1979: International Rice Research Institute.
84. Deepa, G., Singh, V., Naidu, K. A., *Nutrient composition and physicochemical properties of Indian medicinal rice – Njavara*. *Food Chemistry*, 2008. **106**(1): p. 165-171.
85. Butsat, S., Siriamornpun, S., *Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice*. *Food Chemistry*, 2010. **119**(2): p. 606-613.
86. Nakagawa, T., Yokozawa, T., Kim, H. J., Shibahara, N., *Protective effects of gamma-aminobutyric acid in rats with streptozotocin-induced diabetes*. *Journal of nutritional science and vitaminology*, 2005. **51**(4): p. 278-282.

87. Hu, P., Zhao, H., Duan, Z., Linlin, Z., Wu, D., *Starch digestibility and the estimated glycemic score of different types of rice differing in amylose contents*. Journal of Cereal Science, 2004. **40**(3): p. 231-237.
88. Foster-Powell, K., Holt, S. H., Brand-Miller, J. C., *International table of glycemic index and glycemic load values: 2002*. American Society for Clinical Nutrition, 2002. **76**(1): p. 5-56.
89. Jaisut, D., Prachayawarakorn, S., Varanyanond, W., Tungtrakul, P., Soponronnarit, S., *Effects of drying temperature and tempering time on starch digestibility of brown fragrant rice*. Journal of Food Engineering, 2008. **86**(2): p. 251-258.
90. Singh, S., Dhaliwal, Y.S., Nagi, H.P.S., Kalia, M., *Quality characteristics of six rice varieties of Himachal Pradesh*. Journal of Food Science and Technology - Mysore, 1998. **35**: p. 74-78.
91. Sirisoontarak, P., Nakornpanom, N. N., Koakietdumrongkul, K., Panumaswiwath, C., *Development of quick cooking germinated brown rice with convenient preparation and containing health benefits*. Food Science and Technology, 2014(0): p. 1-7.
92. Singh, R.K., Singh, U. S., Khush, G.S., *Aromatic Rices*. First Edition ed. 2000: Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi.
93. *Decreto-Lei n.º62/2000 de 19 de Abril "D.R. I Série A" N.º93 (19/04/2000) 1689-1692 [Online], 2000. <http://www.dre.pt/pdfgratis/2000/04/093A00.pdf> (Accessed November 30, 2013).*
94. Pinto, C., *Caracterização e Aproveitamento Tecnológico de Variedade de Arroz Autóctone de Timor-Leste*, in Instituto Superior de Agronomia. 2009, Universidade Técnica de Lisboa.
95. Cardoso, I., *Caracterização de diferentes variedades de arroz – Efeito de diferentes métodos de cozedura*, in Departamento de Química. 2013, Universidade de Aveiro.
96. Goñi, I., Garcia-Alonso, A., Saura-Calixto, F., *A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index*. Nutrition Research, 1997. **17**(3): p. 427-437.
97. *Megazyme. Resistant Starch Assay Kit Procedure K-RSTAR 08/11 [Online], 2011. https://secure.megazyme.com/files/BOOKLET/K-RSTAR_1108_DATA.pdf (Accessed July 29, 2014).*

98. International Standard Organization. *ISO 6647-2:2007 - Rice - Determination of amylose content - Part 2: Routine method*, 2007.
99. Gonçalves, M.L.S.S., *Métodos instrumentais para análise de soluções – Análise quantitativa*. 4ª Edição ed. 2001: Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa.
100. Sar, S., Tizzotti, M. J., Hasjim, J., Gilbert, R. G., *Effects of Rice Variety and Growth Location in Cambodia on Grain Composition and Starch Structure*. *Rice Science*, 2014. **21**(1): p. 47-58.
101. Coimbra, M.A., Nunes, C., Cunha, P. R., Guiné, R., *Amino acid profile and Maillard compounds of sun-dried pears. Relation with the reddish brown colour of the dried fruits*. *European Food Research and Technology*, 2011. **233**(4): p. 637-646.
102. Miller, G.L., *Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar*. *Analytical Chemistry*, 1959. **31**(3): p. 426-428.
103. Lin, P.-Y., Lai, H.-M., *Bioactive compounds in rice during grain development*. *Food Chemistry*, 2011. **127**(1): p. 86-93.
104. Sério, A., *Potencialidades da espectroscopia NIR para análise de arroz comercial*, in *Departamento de Química*. 2012, Universidade de Aveiro.
105. Batey, I.L., *Starch Analysis Using Thermostable alpha-Amylases*. *Starch - Stärke*, 1982. **34**(4): p. 125-128.
106. Marzal, A., et al., *Effect of microwave energy on grain quality of four Spanish rice varieties*. 2005. Vol. 3. 2005.
107. Koutroubas, S.D., Mazzini, F., Pons, B., Ntanos, D. A., *Grain quality variation and relationships with morpho-physiological traits in rice (Oryza sativa L.) genetic resources in Europe*. *Field Crops Research*, 2004. **86**(2–3): p. 115-130.
108. Luh, B.S., *Rice Utilization*. Second Edition ed. Vol. Volume 2. 1991: Van Nostrand Reinhold, New York.
109. Institute, I.R.R., *Rice Grain Quality and Marketing: Papers Presented at the International Rice Research Conference*. 1985: International Rice Research Institute, Philippines.
110. Patindol, J., Wang, Y.-J., *Fine structures and physicochemical properties of starches from chalky and translucent rice kernels*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003. **51**(9): p. 2777–2784.

111. *Cereals and cereal products - Determination of moisture content - Routine reference method. ES. ISO 7122001. Ethiopian Standards Agency (ESA); 2001; 1-5.*
112. Teixeira, J., *Estudos de índice glicémico de variedades de arroz*, in *Departamento de Química*. 2012, Universidade de Aveiro.
113. Moreels, E., Amylum, N. V., *Measurement of the Starch Content of Commercial Starches*. *Starch - Stärke*, 1987. **39**(12): p. 414-416.
114. Megazyme. *Total Starch Assay Kit Procedure K-RSTAR 08/11 [Online]*, 2011. https://secure.megazyme.com/files/BOOKLET/K-TSTA_1107_DATA.pdf (Accessed May 29, 2014).
115. Martin, C., Smith, A. M., *Starch biosynthesis*. *The Plant Cell*, 1995. **7**(7): p. 971-985.
116. Gu, D.-D., Liu, Z.-H., Liu, Y., Wang, S.-H., Wang, Q.-S., Li, G.-H., Ding, Y.-F., *Effect of Lipid Content and Components on Cooking Quality and Their Responses to Nitrogen in Milled Japonica Rice*. *Acta Agronomica Sinica*, 2011. **37**(11): p. 2001-2010.
117. Ohtsubo, K., Kobayashi, A., Shimizu, H., *Quality Evaluation of Rice in Japan*. *JARQ*, 1993. **27**: p. 95-101.
118. Miller, J.B., Pang, E., Bramall, L., *Rice: a high or low glycemic index food?* American Society for Clinical Nutrition, 1992. **56**(6): p. 1034-6.
119. KITAOKA, S., NAKANO, Y., *Colorimetric Determination of ω -Amino Acids*. *Journal of Biochemistry*, 1969. **66**(1): p. 87-94.
120. Ng, L.T., Huang, S. H., Chen, Y. T., Su, C. H., *Changes of tocopherols, tocotrienols, gamma-oryzanol, and gamma-aminobutyric acid levels in the germinated brown rice of pigmented and nonpigmented cultivars*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2013. **61**(51): p. 12604-11.
121. Rohrer, C.A., Siebenmorgen, T. J., Howell, T. A., *Effects of Storage Conditions on Nutraceutical Levels in Rough Rice*. 2002: In B. R. Wells Rice Research Studies; Research Series 504; Norman, R. J., Meullenet, J. F., Eds.; University of Arkansas: Fayetteville, AR, USA.
122. Juliano, B.O., Bautista, G. M., Lugay, J. C., Reyes, A. C., *Rice Quality, Studies on Physicochemical Properties of Rice*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1964. **12**(2): p. 131-138.

123. Wu, F., Chen, H., Yang, N., Wang, J., Duan, X., Jin, Z., Xu, X., *Effect of germination time on physicochemical properties of brown rice flour and starch from different rice cultivars*. *Journal of Cereal Science*, 2013. **58**(2): p. 263-271.

7. ANEXOS

Anexo A: Resultados das Características Biométricas das amostras analisadas.

Anexo B: Resultados dos Aspectos Nutricionais das amostras analisadas.

Anexo C: Resultados obtidos pela análise das amostras germinadas.

Anexo D: Resultados das amostras germinadas após a escolha do tempo de paragem da germinação.

Anexo E: Resultados das correlações com todos os parâmetros analisados para as amostras branqueadas.

Anexo A: Resultados das Características Biométricas das amostras analisadas.

Amostra	Característica Biométricas						
	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Relação C/L	Brancura Total	Brancura Vítreas	% Área Gessada	Kett
<i>Índica1</i>	7,24	1,67	4,33	130,63	118,33	21,22	40,40
<i>Índica2</i>	7,04	1,91	3,68	129,89	122,43	13,21	43,40
<i>Índica5</i>	7,04	1,90	3,70	123,54	117,86	9,56	37,40
<i>Índica6</i>	7,14	2,04	3,50	124,10	118,07	10,24	36,80
<i>Índica7</i>	6,67	2,11	3,16	126,91	120,39	11,02	37,20
<i>Índica8</i>	6,68	1,98	3,38	132,41	122,41	18,66	42,40
<i>Índica9</i>	6,48	1,92	3,37	135,26	124,60	20,52	44,30
<i>Índica10</i>	6,32	1,93	3,27	134,08	124,09	18,37	46,70
<i>Japónica1</i>	6,07	2,31	2,62	130,03	122,44	13,46	41,50
<i>Japónica2</i>	5,99	2,57	2,33	143,55	124,65	35,35	46,10
<i>Japónica3</i>	5,83	2,39	2,44	130,83	123,61	13,24	42,50
<i>Japónica4</i>	5,45	2,43	2,24	126,89	121,06	10,21	42,00
<i>Japónica5</i>	5,35	2,65	2,02	138,53	120,24	30,48	44,00
<i>Japónica6</i>	5,93	2,71	2,18	148,03	124,04	40,69	51,20
<i>Japónica7</i>	5,42	2,64	2,05	140,64	121,23	33,03	45,30
<i>Japónica8</i>	6,75	2,84	2,38	143,79	125,66	31,67	43,68
<i>Japónica10</i>	4,98	2,39	2,08	141,87	212,24	35,47	45,10

Anexo B: Resultados dos Aspetos Nutricionais das amostras analisadas.

Amostra	Hum.	Proteína % (matéria seca)	Amido Total % (matéria seca)	IG	Amido Resistente % (matéria seca)	Amilose Aparente % (matéria seca)
<i>Índica1</i>	10,93	10,84±0,57 ^a	75,18±1,07 ^a	106,38±0,01 ^a	4,94±0,15 ^a	22,98±1,26 ^a
<i>Índica2</i>	11,37	8,75±0,17 ^b	80,15±0,82 ^a	104,65±0,20 ^b	6,34±0,29 ^b	12,85±0,22 ^b
<i>Índica3</i>	11,96		74,90±0,39 ^b	114,81±1,82 ^c		
<i>Índica4</i>	11,26		80,34±0,26 ^d	106,11±1,05 ^a		
<i>Índica5</i>	11,96	10,19±0,31 ^a	70,46±0,27 ^c	118,72±0,01 ^d	1,38±0,06 ^c	25,94±0,73 ^c
<i>Índica6</i>	11,13	7,43±0,33 ^c	72,96±0,24 ^b	114,17±1,01 ^c	7,37±0,24 ^d	26,37±0,34 ^c
<i>Índica7</i>	11,25	6,96±0,19 ^c	71,98±1,84 ^{ad}	110,89±1,59 ^e	6,82±0,60 ^d	12,23±0,58 ^b
<i>Índica8</i>	11,62	8,39±0,28 ^b	78,49±0,71 ^{abd}	114,38±1,48 ^c	9,94±0,33 ^e	25,30±1,14 ^{ac}
<i>Índica9</i>	12,59	9,86±0,22 ^a	75,94±0,19 ^b	108,42±0,17 ^f	9,63±0,11 ^e	22,30±0,37 ^a
<i>Índica10</i>	11,25	8,91±0,72 ^{ab}	73,93±0,31 ^b	107,77±0,37 ^g	6,35±0,51 ^{bf}	25,51±0,67 ^c
<i>Índica11</i>	11,50		75,88±0,23 ^a	105,24±1,30 ^{ab}		
<i>Índica12</i>	11,90		71,77±0,53 ^{ac}	112,67±1,57 ^{ce}		
<i>Índica13</i>	11,37		72,39±0,11 ^e	109,28±1,32 ^{efg}		
<i>Índica14</i>	11,11		78,39±0,25 ^f	108,39±1,40 ^{fgi}		
<i>Índica14 Integral</i>	12,10		74,98±0,35 ^g	100,61±2,15 ^h		
<i>Japónica1</i>	11,89	8,24±0,13 ^b	78,77±0,30 ^{abd}	106,83±1,34 ^{afgi}	5,96±0,44 ^{bf}	17,94±1,49 ^d
<i>Japónica2</i>	10,86	7,45±0,24 ^c	78,45±0,52 ^a	114,86±3,74 ^{cde}	5,47±0,01 ^f	14,60±1,28 ^e
<i>Japónica3</i>	12,27	7,28±0,17 ^c	81,32±0,52 ^{ae}	109,06±1,88 ^{ae}	5,37±0,12 ^{fg}	13,68±0,20 ^e
<i>Japónica4</i>	12,46	8,92±0,32 ^b	76,80±0,58 ^a	106,87±0,22 ⁱ	5,25±0,00 ^g	16,60±0,22 ^d
<i>Japónica5</i>	11,72	8,30±0,50 ^{bc}	79,56±0,40 ^a	115,75±2,41 ^{cd}	2,75±0,14 ^h	17,53±0,00 ^d
<i>Japónica6</i>	11,85	6,87±0,17 ^c	75,05±0,53 ^{abd}	106,57±2,17 ^{abfgi}	5,16±0,22 ^{fg}	16,09±0,53 ^{de}
<i>Japónica7</i>	12,21	8,64±0,46 ^b	74,74±0,67 ^{abd}	110,50±1,22 ^e	4,69±0,11 ^a	10,30±0,52 ^f
<i>Japónica8</i>	12,56	10,11±0,59 ^a	76,27±0,80 ^{bcd}	113,76±0,38 ^c	8,02±0,39 ^{bd}	12,53±0,56 ^b
<i>Japónica9</i>	12,48		71,36±0,29 ^b	116,47±0,78 ^c		
<i>Japónica10</i>	11,95	7,75±0,61 ^{bc}	76,70±0,50 ^{bc}	88,07±1,64 ^j	5,68±0,54 ^{abfg}	15,02±1,44 ^e
<i>Japónica11</i>	11,02		70,58±0,57 ^c	110,68±0,02 ^e		

Anexo C: Resultados obtidos pela análise das amostras germinadas.

Amostra	Amido (% de matéria seca)	Índice Glicémico	GABA (% de matéria seca)	Ácido glutâmico (% de matéria seca)	Açúcares Redutores (% de matéria seca)	Compostos Fenólicos Solúveis (mg/100g de matéria seca)	Compostos Fenólicos Insolúveis (mg/100g de matéria seca)
<i>Japónica10</i> G0h	70,70±0,60 ^a	96,23±6,47 ^a	0,48±0,02 ^a	0,18±0,03 ^a	0,03±0,0026 ^a	39,79±1,93 ^a	471,83±11,47 ^a
<i>Japónica10</i> G24h	67,78±0,12 ^b	110,89±0,91 ^b	0,91±0,03 ^b	0,24±0,02 ^b	0,03±0,0035 ^{af}	26,26±1,38 ^b	477,83±8,50 ^a
<i>Japónica10</i> G48h	64,15±0,19 ^c	118,20±0,38 ^c	0,74±0,02 ^c	0,18±0,01 ^a	0,05±0,0002 ^b	28,58±0,35 ^c	416,03±3,80 ^b
<i>Japónica10</i> G72h	61,81±0,25 ^d	119,26±0,77 ^d	0,87±0,06 ^b	0,09±0,05 ^c	0,08±0,0094 ^c	23,16±1,06 ^d	496,48±4,23 ^a
<i>Japónica1</i> G0h	74,64±0,52 ^e	114,39±2,94 ^e	0,39±0,00 ^d	0,26±0,06 ^{ab}	0,03±0,0010 ^d	46,90±2,52 ^e	485,33±11,54 ^{ah}
<i>Japónica1</i> G24h	74,70±0,20 ^e	111,45±1,20 ^{be}	0,80±0,04 ^c	0,18±0,05 ^{ab}	0,02±0,0029 ^d	31,80±1,52 ^f	430,26±8,81 ^c
<i>Japónica1</i> G48h	69,24±0,78 ^f	126,94±0,46 ^f	0,59±0,02 ^e	0,16±0,03 ^{ac}	0,04±0,0035 ^e	27,92±1,13 ^{bc}	396,55±13,80 ^b
<i>Japónica1</i> G72h	67,71±0,30 ^b	117,34±1,25 ^{ce}	0,51±0,02 ^a	0,13±0,02 ^{ac}	0,08±0,0047 ^c	25,95±1,45 ^b	455,39±16,21 ^{ac}
<i>Japónica7</i> G0h	70,26±0,48 ^a	99,35±0,02 ^a	0,39±0,02 ^d	0,60±0,04 ^d	0,02±0,0008 ^f	26,04±1,28 ^b	242,64±7,30 ^d
<i>Japónica7</i> G24h	70,00±0,17 ^{af}	114,89±1,67 ^e	0,65±0,05 ^e	0,50±0,06 ^{de}	0,03±0,0010 ^{ad}	13,64±0,46 ^g	268,37±9,15 ^e
<i>Japónica7</i> G48h	67,35±0,87 ^b	114,13±1,65 ^e	0,46±0,04 ^a	0,59±0,03 ^d	0,02±0,0012 ^{df}	8,25±0,49 ^h	242,51±3,66 ^d
<i>Japónica7</i> G72h	65,93±0,48 ^g	110,91±1,58 ^{be}	0,43±0,03 ^{ad}	0,51±0,06 ^{de}	0,01±0,0005 ^g	5,67±0,18 ⁱ	220,60±14,35 ^f
<i>Índica8</i> G0h	75,03±0,20 ^e	106,67±0,02 ^g	0,53±0,03 ^{af}	0,47±0,04 ^e	0,02±0,0004 ^h	26,60±1,34 ^{bc}	314,08±18,55 ^g
<i>Índica8</i> G24h	71,96±0,85 ^{ah}	111,63±0,03 ^{be}	0,61±0,05 ^{ef}	0,45±0,01 ^e	0,02±0,0061 ^{adfh}	22,77±0,82 ^d	283,38±15,07 ^{eg}
<i>Índica8</i> G48h	69,66±1,82 ^{abf}	120,77±3,09 ^{cdi}	0,56±0,00 ^f	0,29±0,05 ^b	0,02±0,0008 ^{df}	19,04±0,40 ^j	330,99±15,17 ^g
<i>Índica8</i> G72h	64,02±0,20 ^c	124,53±0,68 ^h	0,59±0,03 ^{ef}	0,27±0,03 ^b	0,03±0,0033 ^{ad}	11,27±0,56 ^k	292,58±17,61 ^g
<i>Japónica2</i> G0h	72,68±0,38 ^h	111,34±1,18 ^{be}	0,47±0,04 ^a	0,24±0,07 ^b	0,03±0,0000 ^a	42,24±1,01 ^a	480,77±13,33 ^{ah}
<i>Japónica2</i> G24h	70,48±0,17 ^a	124,86±4,30 ^{fhi}	0,50±0,06 ^{af}	0,14±0,04 ^c	0,03±0,0043 ^a	32,43±0,51 ^f	492,64±15,45 ^{ah}
<i>Japónica2</i> G48h	68,01±0,52 ^b	123,81±4,48 ^{dfh}	0,51±0,08 ^{df}	0,18±0,05 ^{bc}	0,05±0,0023 ⁱ	32,60±0,24 ^f	450,03±13,32 ^c
<i>Japónica2</i> G72h	64,87±0,89 ^{cg}	121,33±1,18 ⁱ	0,55±0,01 ^f	0,21±0,01 ^b	0,07±0,0026 ^c	29,97±1,49 ^{cf}	512,59±9,38 ^h

Anexo D: Resultados das amostras germinadas após a escolha do tempo de paragem da germinação.

Amostra	Cozedura (min.)	Amilose Aparente % (matéria seca)	Amido resistente % (matéria seca)
<i>Japónica10 G0h</i>	62,38	12,50±0,25 ^a	6,10±0,61 ^a
<i>Japónica10 G24h</i>	63,72	11,44±0,48 ^b	7,47±0,36 ^a
<i>Japónica1 G0h</i>	49,04	13,54±0,19 ^c	6,96±0,44 ^a
<i>Japónica1 G24h</i>	41,97	12,81±0,48 ^a	6,72±0,44 ^a
<i>Japónica7 G0h</i>	38,31	9,57±0,54 ^d	6,25±1,12 ^a
<i>Japónica7 G24h</i>	52,91	8,50±0,36 ^e	6,85±0,12 ^a

Anexo E: Resultados das correlações com todos os parâmetros analisados para as amostras branqueadas.

	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Relação C/L	Brancura total	Brancura vítrea	% Área Gessada	Kett	Humidade	Proteína (% de matéria seca)	Amido total (% de matéria seca)	Índice Glicémico	Amido resistente (% de matéria seca)	Amilose aparente (% de matéria seca)
Comprimento (mm)	1,00												
Largura (mm)	-0,66	1,00											
Relação C/L	0,88	-0,93	1,00										
Brancura total	-0,50	0,70	-0,63	1,00									
Brancura vítrea	-0,50	0,15	-0,33	0,34	1,00								
% Área Gessada	-0,49	0,65	-0,59	0,97	0,38	1,00							
Kett	-0,53	0,51	-0,54	0,86	0,23	0,77	1,00						
Humidade	-0,39	0,41	-0,45	0,17	0,12	0,07	0,17	1,00					
Proteína (% de matéria seca)	0,41	-0,38	0,48	-0,17	-0,18	-0,15	-0,18	0,22	1,00				
Amido total (% de matéria seca)	-0,36	0,29	-0,35	0,25	0,09	0,15	0,36	0,13	-0,19	1,00			
Índice Glicémico	0,42	0,02	0,18	-0,23	-0,82	-0,22	-0,32	-0,10	0,14	-0,19	1,00		
Amido resistente (% de matéria seca)	0,27	-0,18	0,19	0,06	0,02	-0,07	0,05	0,08	-0,05	0,15	-0,10	1,00	
Amilose aparente (% de matéria seca)	0,47	-0,66	0,63	-0,45	-0,19	-0,39	-0,31	-0,26	0,34	-0,37	0,26	0,10	1,00