

U. PORTO



FACULDADE DE CIÊNCIAS DA NUTRIÇÃO E ALIMENTAÇÃO
UNIVERSIDADE DO PORTO

Pseudocereais como Ingredientes de Formulações

Destinadas a uma Alimentação Especial

Carla Motta

Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto

Porto, 2015

**Pseudocereais como Ingredientes de Formulações
Destinadas a uma Alimentação Especial**

Pseudocereals as Ingredients of Formulations Intended for Medical Foods

Carla Alexandra Fino Alberto da Motta

Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto

Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Lisboa, Portugal

Departamento Alimentação e Nutrição

Orientador: Professor Doutor Duarte Torres, FCNAUP

Coorientador: Doutora Isabel Castanheira, INSA, IP

Tese de candidatura ao grau de Doutoramento em Nutrição Clínica Faculdade de
Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto

2015

*“.....those things which we designate as food,
to give us life and power and thought. “*

Wilbur Olin Atwater

Agradecimentos

À Doutora Isabel Castanheira, amiga, investigadora de alma e coração, por acreditar, investir e motivar sempre, o meu muito obrigada. Pela partilha de todo o conhecimento, por me ter guiado por caminhos antes desconhecidos, e por me ter dado uns empurrões nos momentos difíceis. Muito obrigada por tudo, ficará sempre como mentora no meu coração.

Ao Professor Doutor Duarte Torres, por toda a compreensão nos momentos decisivos e por me guiar num mundo novo. Por todo o incentivo e motivação que permitiu agora chegar ao final desta etapa do meu percurso académico.

À Professora Doutora Ana Sofia de Matos, pela muita paciência e tempo despendido da sua agenda, para entrar num mundo diferente dos seus conceitos base, para me ajudar no tratamento estatístico dos dados.

À Dr.^a Maria Antónia Calhau pelo incentivo e por me ter sempre disponibilizado todos os recursos ao seu alcance, necessários à prossecução desta tese.

Às minhas colegas de laboratório, Mariana Santos, Ana Cláudia Nascimento, Carla Martins, Ana Cristina Bento, Tânia Fontes, Filipa Matias e Inês Coelho por todo o incentivo, ajuda, partilha de conhecimento e trabalho realizado, deixando-me muitas vezes liberta daquilo que é a rotina para me poder dedicar aos “meus trabalhos”. À Maria Veronica Chandra-Hioe e aos bolseiros Catarina André, Inês Delgado, Sandra Gueifão Ricardo Assunção e Andreia Rego, por toda a ajuda, e partilha de saberes, pelos dias de “*brain stormings*”, de muita digestão e alguma diversão.

E por fim, mas não menos importante ao Fernando, Joana e Francisco, obrigada por serem tão especiais.

Resumo

O uso de compostos de origem natural no fabrico alimentos destinados a uma alimentação destinada a fins medicinais específicos, otimizando ao máximo as propriedades nutricionais dos alimentos pode constituir uma forma de aumentar a acessibilidade e a palatabilidade destas fórmulas. Neste sentido, os pseudocereais como a quinoa, o amaranto e o trigo-sarraceno, pelo seu valor nutricional e ausência de glúten, são ingredientes a considerar.

O principal objetivo desta tese foi avaliar o efeito da maltagem e da confeção (cozedura e cozedura a vapor) no valor nutricional e na bioacessibilidade de nutrientes dos pseudocereais amaranto, quinoa e trigo-sarraceno, com vista à incorporação destes ingredientes em produtos alimentares destinados a fins alimentares específicos. Como termo de comparação foi avaliado o efeito da cozedura no valor nutricional na bioacessibilidade de nutrientes do arroz branco polido (agulha e carolino). Avaliou-se ainda a evolução dos teores em acrilamida na quinoa quando sujeita ao processo de torragem com vista ao desenvolvimento de aromas potencialmente mais apreciados pelos consumidores; e o efeito da granulometria de farinhas de quinoa crua na bioacessibilidade dos seus nutrientes foi também avaliado.

Para tal, após um processo de amostragem seletivo das diferentes amostras de arroz e pseudocereais, foram realizados diferentes processamentos culinários e de maltagem. As amostras cruas e sujeitas a processamento foram avaliadas nutricionalmente através da determinação de macronutrientes, aminoácidos, folatos, minerais, oligoelementos e elementos traço e quanto à presença de contaminantes.

A retenção dos nutrientes foi maior no amaranto cozido e maltado para os aminoácidos e folatos, respetivamente. Para quinoa foi a cozedura que induziu menores perdas nutricionais, com exceção do aminoácido cisteína e dos folatos. Para o trigo-sarraceno foi a maltagem o processo que produziu menores perdas de aminoácidos e folatos, induzindo, no entanto, maiores perdas de minerais e oligoelementos. Os pseudocereais constituem uma importante reserva de aminoácidos, com PDCAAS próximos de 1,00 e significativamente mais elevados que o arroz polido. Os PDCAAS das proteínas puderam ser ordenados de forma decrescente da seguinte forma: quinoa > trigo sarraceno > amaranto > arroz. Observou-se contudo um decréscimo da qualidade proteica durante a confeção relativamente ao alimento cru. A maltagem preservou a qualidade proteica dos pseudocereais.

Os pseudocereais, com destaque para a quinoa, constituem uma fonte importante de folatos altamente bioacessíveis. Nas sementes de amaranto, os valores de ferro, cálcio, potássio e magnésio são geralmente mais elevados do que os encontrados noutros grãos sendo que o seu uso como ingrediente na elaboração de formulações pode ajudar a melhorar o perfil mineral destes produtos. A fibra dietética é outra componente de relevância fisiológica encontrada em quantidades abundantes nas sementes dos pseudocereais. Verificou-se ainda que durante a torragem da quinoa ocorre a síntese de acrilamida atingindo altos teores indesejáveis

No que diz respeito à bioacessibilidade no amaranto foi a cozedura tradicional que induz o maior aumento da bioacessibilidade para todos os nutrientes estudados. Na quinoa foi a maltagem que produz esse efeito em maior percentagem. No trigo-sarraceno, a cozedura, quer tradicional quer a vapor são as formas de

x

processamento mais eficazes para aumentar a bioacessibilidade das proteínas, folatos e minerais. De acordo com os resultados obtidos os pseudocereais constituem uma fonte de muitos aminoácidos, folatos e minerais altamente bioacessíveis, contendo teores substancialmente mais elevados do que o arroz. Verificou-se ainda que uma menor granulometria das farinhas de quinoa aumentou significativamente a bioacessibilidade dos seus nutrientes. O elevado valor e bioacessibilidade dos nutrientes dos pseudocereais, em especial após os processamentos, fazem com que estes produtos representem uma importante opção como ingredientes integrados em produtos dietéticos destinados a fins medicinais específicos, incluindo as fórmulas entéricas ricas em fibra e produtos isentos de glúten.

Palavras-Chave: Amarantho, Quinoa, Trigo-Sarraceno, Arroz, Perfil Nutricional, PDCAAS, Bioacessibilidade.

Abstract

The use of naturally occurring compounds in the manufacture of medical foods, by optimizing the nutritional properties of food, can be a way to increase the accessibility and palatability of these formulas. The use of pseudocereals such as quinoa, amaranth, buckwheat and rice may be, for their nutritional value, and gluten free properties, a valid alternative.

The main objective of this thesis was to evaluate the effect of malting and confection (boiling and steaming) on the nutritional value and bioaccessibility of nutrients from pseudocereals amaranth, quinoa and buckwheat, in order to incorporating these ingredients in foods for specific dietary purposes. For comparative purposes, the effects of cooking on the nutritional value in the bioaccessibility in nutrients of polished white rice (*Indica* and *Japonica*) were also evaluated. Levels of acrylamide in the quinoa when subjected to roasting process, for the development of potentially more appreciated aromas; and the effect of particle size of raw quinoa flour in the bioaccessibility of nutrients was also evaluated.

After a selective sampling plan of samples, rice and pseudocereals were submitted to various culinary and malting processes. The raw and processed samples were nutritionally evaluated through the determination of macronutrients, amino acids, folates, minerals and trace elements as also for the presence of contaminants.

The nutrient retention was higher in baked amaranth and malted for amino acids and folate, respectively. For quinoa, is the cooking method that induced lower nutrient losses, with the exception of cysteine and folates. For buckwheat was

malting process that produced the lowest losses of amino acids and folates, inducing, however, greater losses of minerals and trace elements. The pseudocereals constitute an important reserve of amino acids, with PDCAAS close to 1.00 and significantly higher than the polished rice. The PDCAAS of proteins could be sorted in descending order as follows: quinoa > buckwheat > Amaranth > rice. There was however a decrease in protein quality during quilting relative to the raw food. The malting preserved the protein quality of pseudocereals.

The pseudocereals, especially quinoa are an important source of highly bioaccessible folates. In amaranth seeds, iron values, calcium, potassium and magnesium are generally higher than those found in other grains and their use as an ingredient in the preparation of formulations can help improve the mineral profile of these products. Dietary fiber is another physiological relevance component found in abundant quantities in the seeds of pseudocereals. It was also found that during the roasting of quinoa occurs acrylamide synthesis reaching undesirable high levels.

Regarding the bioaccessibility in amaranth was the traditional cooking that induces a greater increase in bioaccessibility for all nutrients studied. On the malting was quinoa which produces this effect at higher percentage. In buckwheat, cooking, both using traditional and steam are the most effective ways to increase processing bioaccessibility of proteins, folates and minerals. According to the results obtained pseudocereals are a source of many amino acids, folates and highly bioaccessible minerals containing substantially higher levels than rice.

It was also found that a smaller particle size of the quinoa flour significantly increased their bioaccessibility of nutrients.

The high value and bioaccessibility of nutrients from pseudocereals, especially after processing, make these products an important option as ingredients in dietary products for special medical purposes, including enteral formulas fiber containing and gluten-free products.

Keywords: Amaranth, Quinoa, Buckwheat, Rice, Nutritional Profile, PDCAAS, Bioaccessibility.

Índice

1. Introdução	1
1.1. Alimentos destinados a fins medicinais específicos de origem natural	3
1.1.1. Processamento culinário e maltagem	10
1.2. Pseudocereais	11
1.2.1. Amarantho	19
1.2.2. Quinoa	20
1.2.3. Trigo-Sarraceno	22
1.3. Arroz	24
1.4. Nutrientes.....	25
1.4.1. Proteínas e Aminoácidos	25
1.4.2. Folatos	27
1.4.3. Micronutrientes – Minerais e Oligoelementos	31
1.4.4. Contaminantes Químicos.....	32
1.5. Bioacessibilidade e Biodisponibilidade.....	37
2. Objetivos	41
3. Material e Métodos.....	43
3.1. Amostragem e preparação da amostra.....	43
3.1.1. Processamento culinário.....	45
3.1.2. Maltagem	47
3.2. Métodos analíticos	47
3.2.1. Macronutrientes	47
3.2.2. Aminoácidos	50

3.2.3.	Folatos	53
3.2.4.	Minerais, Elementos Vestigiais Metais e Metaloides.....	56
3.2.5.	Acrilamida	60
3.3.	Bioacessibilidade – Método harmonizado	61
3.3.1.	Bioacessibilidade dos nutrientes	66
3.4.	Tratamento Dados.....	68
3.4.1.	Análise estatística	71
4.	Resultados	73
4.1.	Amaranto.....	74
4.1.1.	Composição nutricional do amaranto.....	74
4.1.2.	Contaminantes	79
4.1.3.	Efeito do processamento na composição nutricional do amaranto .	79
4.1.4.	Avaliação Qualidade Proteica – PDCAAS	85
4.1.5.	Valor nutricional do amaranto	85
4.1.6.	Bioacessibilidade	88
4.2.	Quinoa.....	94
4.2.1.	Composição nutricional da quinoa	95
4.2.2.	Contaminantes	99
4.2.3.	Efeito do processamento na composição nutricional da quinoa.....	99
4.2.4.	Avaliação Qualidade Proteica - PDCAAS	105
4.2.5.	Valor nutricional da quinoa.....	105
4.2.6.	Bioacessibilidade	108
4.3.	Trigo-sarraceno	117
4.3.1.	Composição nutricional do trigo-sarraceno.....	117

4.3.2.	Contaminantes.....	121
4.3.3.	Efeito do processamento na composição nutricional do trigo-sarraceno	121
4.3.4.	Avaliação Qualidade Proteica - PDCAAS	127
4.3.5.	Valor nutricional do trigo-sarraceno	127
4.3.6.	Bioacessibilidade	130
4.4.	Arroz	135
4.4.1.	Composição nutricional do arroz.....	136
4.4.2.	Contaminantes.....	140
4.4.3.	Efeito do processamento na composição nutricional do arroz	140
4.4.4.	Avaliação Qualidade Proteica - PDCAAS	145
4.4.5.	Valor nutricional do arroz	145
4.4.6.	Bioacessibilidade	147
5.	Discussão e Conclusões	153
6.	Referências Bibliográficas.....	173

Lista de Abreviaturas

10-CHOTHF - 10-formiltetrahidrofolato

5-CHOTHF - 5-formiltetrahidrofolato

5-MTHF - 5-metiltetrahidrofolato

%AR - Taxa de Retenção Aparente

AA - Aminoácidos

AAA -Aminoácidos aromáticos

ADFME - Alimentos destinados a fins medicinais específicos

ADN - Ácido desoxirribonucleico

ALA - Ácido alfa-linolénico

Ala -Alanina

AAE - Aminoácidos Essenciais

APC - Associação Portuguesa de Celíacos

AR - Average Requirement

Arg- Arginina

As - Arsénio

AsB - Arsenobetaína

AsI - Arsénio Inorgânico

Asp - Ácido Aspártico

Ca -Cálcio

Cd - Cádmió

CID - Detetor de Estado Sólido

Co -Cobalto

Cr- Crómio

CRM - Materiais de Referência Certificados

Cu -Cobre

CV - Coeficiente de Variação

Cys - Cisteína

DC - Doença Celíaca

DFE - *Dietary Folate Equivalent*

DMA - Ácido Dimetilarsênico

DQES - *Data Quality Evaluation System*

DRVs - *Dietary Reference Values*

DTN - Doenças do Tubo Neural

DTT - Dieritrotietol

EARs - *Estimated Average Requirements*

EFSA - *European Food Safety Authority*

EPB - Efeito do Processamento na Bioacessibilidade

EUA - Estados Unidos da América

FA- Ácido Fólico

FAO - *Food and Agricultural Organization*

FAPAS - *Food Analysis Performance Assessment Scheme*

FDA - *Food and Drug Administration*

Fe - Ferro

FGCP - Folipoli- γ -glutamato carboxipeptidase

GI - Gastrointestinais

Glu – Ácido Glutâmico

Gly - Glicina

His - Histidina

xxii

IA - Ingestão Adequada

IARC- Agência Internacional de Investigação do Cancro

ICP-MS - Espectrometria de Massa Acoplada a Plasma Indutivo

ICP-OES - Espectrómetro de Emissão Ótica com Plasma Acoplado Indutivamente

IG – Índice Glicémico

Ile - Isoleucina

INRA - *Institut National de la Recherche Agronomique*

INSA - Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

K- Potássio

kt - quilotonelada

LDL - Fração de Baixa Densidade

Leu – Leucina

LoD – Limite de Deteção

LoQ – Limite de Quantificação

LSD - Menor Diferença Significativa

Lys – Lisina

Mha – Milhões de hectares

Met - Metionina

Mg - Magnésio

mL- Mililitro

mM - Milimolar

Mn –Manganês

Mt – Milhões de toneladas

Na - Sódio

NASA - *National Aeronautics and Space Administration*

NCGS - *Non-Coeliac Gluten Sensitivity*

Ni – Níquel
OMG - Organização Mundial de Gastroenterologia

OMS - Organização Mundial de Saúde

P - Fósforo

pABA - Ácido p-aminobenzóico

Pb - Chumbo

PDCAAS - *Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score*

PP - Polipropileno

PRIs - *Population Reference Intakes*

Pro - Prolina

RDI - *Recommended Daily Intakes*

RF - Fatores de Retenção

RNIs - *Recommended Nutrient Intakes*

RPM - Rotações Por Minuto

SAA - Aminoácidos Sulfurados

Ser - Serina

SGF - Fluido Gástrico Simulado

SIF- Fluido Intestinal Simulado

SPE - Extração de Fase Sólida

Sr - Estrôncio

SSF- Fluido Salivar Simulado

THF - Tetrahydrofolato

Thr - Treonina

TNO- Trato Gastro-Intestinal

Tyr - Tirosina

xxiv

Tyr - Triptofano

UNO - *United Nations Organization*

USDA - *United States Department of Agriculture*

USD - *United States Dollar*

V - Volume

Val - Valina

WHO - *World Health Organization*

Zn - Zinco

Lista de Figuras

Figura 1.1 - Amaranto, planta e semente	20
Figura 1.2 - Quinoa, planta e semente	20
Figura 1.3 - Trigo-sarraceno, planta e semente.	23
Figura 1.4 - Estrutura química do ácido fólico e seus derivados	28
Figura 3.1 - Resumo do método de digestão in vitro.....	64

Lista de Gráficos

Gráfico 4.1 – Fatores de retenção de aminoácidos essenciais no amaranto.	82
Gráfico 4.2 - Retenção de aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no amaranto.....	82
Gráfico 4.3 – Fatores de retenção de folatos no amaranto.	83
Gráfico 4.4 - Retenção de minerais e oligoelementos no amaranto.....	84
Gráfico 4.5 - <i>Score</i> aminoácidos (PDCAAS) no amaranto.....	85
Gráfico 4.6 – Necessidades de aminoácidos essenciais (%) cobertas pelo consumo de uma dose de amaranto.	86
Gráfico 4.7 – Recomendação de folatos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de amaranto.	87
Gráfico 4.8 – Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de amaranto.	87
Gráfico 4.9. – Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de amaranto, para homens e mulheres.....	88
Gráfico 4.10 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos essenciais no amaranto.	90

Gráfico 4.11 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no amaranto.	91
Gráfico 4.12 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos folatos no amaranto.	93
Gráfico 4.13 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos no amaranto.	94
Gráfico 4.14 - Retenção de aminoácidos essenciais na quinoa.	101
Gráfico 4.15 - Retenção de aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** na quinoa.	102
Gráfico 4.16 - Retenção de folatos na quinoa.	103
Gráfico 4.17 - Retenção de minerais e oligoelementos na quinoa.	104
Gráfico 4.18 - Score aminoácidos (PDCAAS) na quinoa.....	105
Gráfico 4.19 - Necessidades de aminoácidos essenciais (%) cobertas pelo consumo de uma dose de quinoa.....	106
Gráfico 4.20 - Recomendação de folatos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de quinoa.....	107
Gráfico 4.21 - Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de quinoa.....	107
Gráfico 4.22 - Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de quinoa, para homens e mulheres.	108
Gráfico 4.23 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos essenciais na quinoa com diferentes moagens.	109
Gráfico 4.24 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** na quinoa com diferentes moagens.	110

Gráfico 4.25 - Bioacessibilidade (%) dos folatos na quinoa com diferentes moagens.....	110
Gráfico 4.26 - Bioacessibilidade (%) de minerais e oligoelementos na quinoa com diferentes moagens.....	111
Gráfico 4.27 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos essenciais na quinoa.....	112
Gráfico 4.28 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** na quinoa.	114
Gráfico 4.29 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos folatos na quinoa.	115
Gráfico 4.30 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos na quinoa.	116
Gráfico 4.31 - Retenção de aminoácidos essenciais no trigo-sarraceno.....	123
Gráfico 4.32 - Retenção de aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no trigo-sarraceno.....	124
Gráfico 4.33 - Retenção de folatos no trigo-sarraceno.....	125
Gráfico 4.34 - Retenção de minerais e oligoelementos no trigo-sarraceno.....	126
Gráfico 4.35 - Score aminoácidos (PDCAAS) no trigo-sarraceno.	127
Gráfico 4.36 - Necessidades de aminoácidos essenciais (%) cobertas pelo consumo de uma dose de trigo-sarraceno.	128
Gráfico 4.37 - Recomendação de folatos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de trigo-sarraceno.	129
Gráfico 4.38 - Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de trigo-sarraceno.	129

Gráfico 4.39 - Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de trigo-sarraceno, para homens e mulheres.....	130
Gráfico 4.40 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos essenciais no trigo-sarraceno.....	131
Gráfico 4.41 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no trigo-sarraceno.	133
Gráfico 4.42 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos folatos no trigo-sarraceno.....	134
Gráfico 4.43 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos no trigo-sarraceno.	135
Gráfico 4.44 - Retenção de aminoácidos essenciais no arroz.....	141
Gráfico 4.45 - Retenção de aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no arroz.....	142
Gráfico 4.46 - Retenção de folatos no arroz.....	143
Gráfico 4.47 - Retenção de minerais e oligoelementos no arroz.....	144
Gráfico 4.48 - Score aminoácidos (PDCAAS) no arroz.....	145
Gráfico 4.49 - Necessidades de aminoácidos essenciais (%) cobertas pelo consumo de uma dose de arroz.....	146
Gráfico 4.50 - Recomendação de folatos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de arroz.....	146
Gráfico 4.51 - Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de arroz.....	147
Gráfico 4.52 - Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de arroz, para homens e mulheres.....	147

Gráfico 4.53 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos essências no arroz.	148
Gráfico 4.54 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no arroz.	150
Gráfico 4.55 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos folatos no arroz.	151
Gráfico 4.56 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos no arroz.	152

Lista de Tabelas

Tabela 1.1 - Características de formulações entéricas e recomendações de uso.	5
Tabela 1.2 – Necessidades em aminoácidos para adultos, segundo a WHO/FAO/UNO.	27
Tabela 1.3 - Necessidades médias estimadas (EARs, estimated average requirement) e recomendações de ingestão (RNIs, recommended nutrient intakes) para o ácido fólico expresso em dietary folate equivalent (DFE), por faixa etária (WHO & FAO (2004)).	30
Tabela 1.4 – Sumário dos valores de referência (DRVs, dietary reference values) para os folatos recentemente estabelecidos pela European Food Safety Authority (2014b).	30
Tabela 1.5 - RNIs para minerais e oligoelementos em adultos (WHO/FAO).	32
Tabela 3.1 - Plano de amostragem	44
Tabela 3.2 - Maltagem dos pseudocereais	47
Tabela 3.3. Preparação da curva de calibração	52
Tabela 3.4. Gradiente a programar no cromatógrafo para análise de AA	52
Tabela 3.5. Otimização de tampões e antioxidantes para análise de folatos	53
Tabela 3.6. Gradiente a programar no cromatógrafo para análise de folatos	55
Tabela 3.7 - Condições de programação do detetor de massas para análise de folatos.	55
Tabela 3.8. Limite de deteção e quantificação para folatos endógenos	56
Tabela 3.9 - Gamas de trabalho minerais, elementos traço e metais	58
Tabela 3.10. Gradiente a programar no cromatógrafo para análise das espécies de Arsénio	60

Tabela 3.11. Condições de programação do detetor de massas para análise de acrilamida.....	61
Tabela 3.12 - Composição fluidos digestivos simulados	62
Tabela 4.1 – Macronutrientes no amaranto.....	75
Tabela 4.2 – Teores de aminoácidos essenciais no amaranto.....	76
Tabela 4.3 – Teores de aminoácidos não essenciais ⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais ⁽²⁾ no amaranto.....	76
Tabela 4.4 – Folatos no amaranto.....	77
Tabela 4.5 – Minerais e oligoelementos e no amaranto.....	78
Tabela 4.6 - Elementos traço no amaranto.....	78
Tabela 4.7 - Contaminantes no amaranto cru.....	79
Tabela 4.8 – Efeito do processamento nos aminoácidos essenciais do amaranto ¹	80
Tabela 4.9 - Efeito do processamento nos aminoácidos não essenciais ⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais ⁽²⁾ do amaranto ^a	81
Tabela 4.10 - Efeito do processamento nos folatos do amaranto ¹	83
Tabela 4.11 – Efeito do processamento nos minerais e oligoelementos do amaranto ¹	84
Tabela 4.12 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos essenciais no amaranto ¹	89
Tabela 4.13 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no amaranto ¹	91
Tabela 4.14 - Bioacessibilidade (%) dos folatos no amaranto ¹	92
Tabela 4.15 -Bioacessibilidade (%) de minerais e oligoelementos no amaranto ¹	93
Tabela 4.16 – Macronutrientes na quinoa	95
Tabela 4.17 – Aminoácidos essenciais na quinoa.....	96

Tabela 4.18 – Aminoácidos não essenciais ⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais ⁽²⁾ na quinoa	97
Tabela 4.19 - Folatos na quinoa.....	97
Tabela 4.20 – Minerais e oligoelementos na quinoa	98
Tabela 4.21 - Elementos traço na quinoa.....	98
Tabela 4.22 - Contaminantes na quinoa	99
Tabela 4.23 - Efeito do processamento nos aminoácidos essenciais da quinoa ¹	100
Tabela 4.24 - Efeito do processamento nos aminoácidos não essenciais ⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais ⁽²⁾ da quinoa. ^a	102
Tabela 4.25 - Efeito do processamento nos folatos da quinoa. ¹	103
Tabela 4.26 – Efeito do processamento nos minerais e oligoelementos da quinoa.1	104
Tabela 4.27 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos essenciais na quinoa ¹	112
Tabela 4.28 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** na quinoa ¹	113
Tabela 4.29 - Bioacessibilidade (%) dos folatos na quinoa ¹	114
Tabela 4.30 - Bioacessibilidade (%) de minerais e oligoelementos na quinoa ¹ ..	116
Tabela 4.31 - Macronutrientes no trigo-sarraceno.....	117
Tabela 4.32 – Aminoácidos essenciais no trigo-sarraceno	118
Tabela 4.33 – Aminoácidos não essenciais ⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais ⁽²⁾ no trigo-sarraceno	119
Tabela 4.34 - Folatos no trigo-sarraceno	119
Tabela 4.35 – Minerais e oligoelementos no trigo-sarraceno.....	120
Tabela 4.36 - Elementos traço no trigo-sarraceno	121

Tabela 4.37 - Contaminantes no trigo-sarraceno	121
Tabela 4.38 - Efeito do processamento nos aminoácidos essenciais do trigo-sarraceno ¹	122
Tabela 4.39 - Efeito do processamento nos aminoácidos não essenciais(1) e condicionalmente essenciais(2) do trigo-sarraceno. ^a	123
Tabela 4.40 - Efeito do processamento nos folatos do trigo sarraceno ¹	124
Tabela 4.41 – Efeito do processamento nos minerais e oligoelementos do trigo-sarraceno ¹	126
Tabela 4.42 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos essenciais no trigo-sarraceno ¹	131
Tabela 4.43 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no trigo-sarraceno ¹	132
Tabela 4.44 - Bioacessibilidade (%) dos folatos no trigo-sarraceno ¹	133
Tabela 4.45 - Bioacessibilidade (%) de minerais e oligoelementos no trigo-sarraceno ¹	135
Tabela 4.46 - Macronutrientes no arroz	136
Tabela 4.47 – Aminoácidos essenciais no arroz	137
Tabela 4.48 – Aminoácidos não essenciais ⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais ⁽²⁾ no arroz	138
Tabela 4.49 - Folatos no arroz	138
Tabela 4.50 - Minerais no arroz	139
Tabela 4.51 – Elementos traço no arroz	139
Tabela 4.52 - Contaminantes no arroz	140
Tabela 4.53 - Aminoácidos essenciais no arroz processado ¹	141

Tabela 4.54 - Aminoácidos não essenciais ⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais ⁽²⁾ no arroz processado ^a	142
Tabela 4.55 - Folatos no arroz processado ¹	143
Tabela 4.56 – Minerais no arroz antes e após processamento ¹	144
Tabela 4.57 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos essenciais no arroz ¹	148
Tabela 4.58 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no arroz ¹	149
Tabela 4.59 - Bioacessibilidade (%) dos folatos no arroz ¹	150
Tabela 4.60 - Bioacessibilidade (%) dos minerais e oligoelementos no arroz ¹ ..	151
Tabela 5.1 - Efeito do processamento por dose equivalente de pseudocereais e arroz processados na satisfação das recomendações nutricionais.....	166
Tabela 5.2 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos, folatos, minerais e oligoelementos dos pseudocereais e arroz.	169

Produção Científica

Artigos Publicados em Jornais Internacionais e Nacionais

Mota, C., Santos, M., Mauro, R., Samman, N., Matos, A. S., Torres, D., & Castanheira, I. (2016). Protein content and amino acids profile of pseudocereals. *Food Chemistry*, 193, 55–61.

Mota, C., Nascimento, A., Coelho, I., & Gueifão, S. (2015). Estudos de caracterização do perfil nutricional da quinoa (*Chenopodium quinoa*): macronutrientes, minerais e elementos vestigiais. *Observações_Boletim Epidemiológico*, 5, 30–32.

Nascimento, A. C., Mota, C., Coelho, I., Gueifão, S., Santos, M., Matos, A. S., & Castanheira, I. (2014). Characterisation of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays* L.) consumed in the North of Argentina: Proximates, minerals and trace elements. *Food Chemistry*, 148, 420–426.

Artigos Submetidos

Mota, C., Nascimento, A., Santos, M., Delgado, I, Matos, A. S., Torres, D., & Castanheira, I. The effect of cooking methods on the mineral content of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus* sp.) and buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). *Journal of Food Composition and Analysis*

Rego, A., Mota C., Lopes J., Gueifão, S., Coelho I., Delgado I., Santos M., Castanheira I., Matos A.S., Ramos A. M. Amino acid content, polyphenolic profiles

and toxically relevant arsenic of rice varieties consumed in Portugal. Measurement, Journal of the International Measurement Confederation.

Artigos em preparação

“Amino acids in pseudocereals and rice: Effect of cooking and malting methods”

Carla Mota, Mariana Santos, Ana Sofia Matos, Inês Delgado, Isabel Castanheira, Duarte Torres - LWT- Food Science and Technology

“Assessment of digestion methods to assist mineral analysis of purple corn, quinoa, amaranth and buckwheat by ICP-OES” Ana C. Nascimento, Carla Mota, Mariana Santos, Ana Sofia Matos, Duarte Torres, Isabel Castanheira - Journal of Food Science and Technology.

“Folates bioaccessibility in cooked and malting quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus* sp.) and buckwheat (*Fagopyrum esculentum*)” Carla Mota, Ricardo Assunção, Carla Martins, Inês Delgado, Mariana Santos, Paula Alvito, Duarte Torres, Isabel Castanheira - Journal of Agricultural and Food Chemistry

“Mineral bioaccessibility of pseudocereals: The impact of cooking and malting methods” Carla Mota, Ricardo Assunção, Carla Martins, Ana Nascimento, Mariana Santos, Paula Alvito, Isabel Castanheira, Duarte Torres - Journal of Food Sciences and Nutrition

Comunicações Orais

“Do prato à biodisponibilidade” XVII Congresso da Associação Portuguesa de Nutrição Entérica e Parentérica. Lisboa 27-28 Abril de 2015

“Correlation of amino acids profile with arsenic accumulation in rice grain (*Oryza sativa* L.) consumed in Portugal” 1 st IMEKOFOODS Promoting Objective and Measurable Food Quality & Safety 12th -15th October 2014 Rome (Italy)

“Protein and amino acids profile of andean cereals from north of Argentina” IMEKO Symposium on Traceability in Chemical, Food and Nutrition Measurements, held in the National Health Institute Doutor Ricardo Jorge, IP, in Lisbon. 22-25/09/2013

“Protein and amino acids profile of andean cereals from north of Argentina” 10º International Food Data Conference, Granada, Spain. 12-14/09/2013

Comunicações em Painel

“ Impacto do processo culinário no teor de minerais de pseudocereais” Carla Mota, Ana Cláudia Nascimento, Mariana Santos, Inês Delgado, Ana Sofia Matos, Duarte Torres, Isabel Castanheira. XIV Congresso de Nutrição e Alimentação, 21 e 22 de Maio de 2015, Centro de Congressos de Lisboa

“The impact of cooking process in bioaccessibility of minerals from chenopodium quinoa” Mota, C., Assunção, R., Martins, C., Nascimento, A., Santos, M., Torres, D., Alvito, P., Castanheira, I. International Conference on Food Contaminants (ICFC), INFARMED, 13-14 Abril 2015, Lisboa

“Correlação entre perfil em aminoácidos e acumulação de arsénio em grãos de arroz (*Oryza sativa* L.) consumidos em Portugal.” - Mota C.¹, Lopes J.², Coelho I.¹, Santos M.¹, Castanheira I.¹, Matos A.S.– 7ª Reunião Anual PortFIR – INSA, Lisboa 30 de Outubro de 2014 – Menção Honrosa.

“Determinação da composição mineral de quinoa, amaranto, milho roxo e trigo sarraceno: comparação de três métodos de digestão” - Ana C. Nascimento, Mariana Santos, Inês Coelho, Sandra Gueifão, Carla Mota, Ana Sofia de Matos, Isabel Castanheira. – 7ª Reunião Anual PortFIR – INSA, Lisboa 30 de Outubro de 2014

“Determinação de cianocobalamina (vitamina B12) em fórmulas infantis por UPLC-MS/MS” Carla Mota *, Catarina André, Mariana Santos, Isabel Castanheira. XII Encontro Química de Alimentos – ISA, Lisboa, 10-12 de Setembro de 2014

“Otimização do tampão de extração da amostra para determinação de folatos por UPLC-MS/MS” Carla Mota *, Inês Delgado, Mariana Santos, Catarina André, Isabel Castanheira - XII Encontro Química de Alimentos – ISA, Lisboa, 10-12 de Setembro de 2014

“Fatores de retenção de minerais e aminoácidos em pipoca de quinoa” Ana C. Nascimento*, Carla Mota, Mariana Santos, Isabel Castanheira - XII Encontro Química de Alimentos – ISA, Lisboa, 10-12 de Setembro de 2014

“ Determinação de macronutrientes em três variedades de casca, farelo e grão de arroz português” Inês Delgado, Andreia Rego, Catarina André, Carla Mota,

Isabel Castanheira - XII Encontro Química de Alimentos – ISA, Lisboa, 10-12 de Setembro de 2014

“Characterization of a Population Concerning Vitamins and Anemia Biomarkers”- Carla Mota, Nuno Tavares, Duarte Torres, Mariana Santos, Isabel Castanheira, Ana Sofia Matos – 14TH International Nutrition e Diagnostics Conference – Prague, 2-5 de Setembro de 2014 – Prémio 10 melhores Pósteres de 167.

“Determination of Folates in Rice” Inês Delgado, Veronica Chandra-Hioe, Catarina André, Carla Mota, Jayashree Arcot, IMEKO Symposium on Traceability in Chemical, Food and Nutrition Measurements National Health Institute Doutor Ricardo Jorge, IP, in Lisbon, September 22th to 25th, 2013.

“Protein content and amino acid profile in Portuguese rice” Carla Mota, Margarida Cabral, Raúl Mauro, Duarte Torres, Mariana Santos, Catarina André, Isabel Castanheira, IMEKO Symposium on Traceability in Chemical, Food and Nutrition Measurements National Health Institute Doutor Ricardo Jorge, IP, in Lisbon, September 22th to 25th, 2013.

“The nutritional characterization of rice varieties consumed in Portugal”, Mota C; Santos M; Nascimento A; Gueifão S; Coelho I; Cabral M; Torres D, Castanheira I 10th International Food Data Conference (10thIFDC) - Granada on 12-14th September 2013

1. Introdução

São atualmente comercializadas várias fórmulas entéricas compostas por ingredientes quimicamente definidos, extraídos de alimentos ou de origem sintética. Aos ingredientes extraídos faltam os constituintes minoritários como vitaminas, minerais e fitoquímicos, entre outros compostos com atividade biológica, perdidos durante o processamento das matérias-primas alimentares. Adicionalmente, torna-se necessário aromatizar artificialmente estas formulações para lhes conferir palatabilidade. Os custos associados ao processamento e embalagem tornam estes produtos geralmente dispendiosos, o que limita o acesso aos que deles necessitam (Kaur, 2009).

O uso de ingredientes naturais sem refinação ou minimamente refinados, maximizando as suas propriedades biológicas, em formulações entéricas é uma forma melhorar a qualidade nutricional e sensorial destes produtos e, potencialmente aumentar a sua acessibilidade.

O trigo-sarraceno, a quinoa e o amaranto são exemplos de pseudocereais, assim chamados por serem plantas dicotiledóneas e, portanto, não cereais (monocotiledóneas), mas que, por produzirem sementes ricas em amido, como os cereais, são chamados de "pseudocereais". Nutricionalmente, destacam-se pela elevada qualidade da proteína, ausência de glúten e por possuírem algumas vitaminas e minerais em maior quantidade, quando comparados com os cereais.

Assim, propõe-se com esta tese explorar o potencial de utilização de ingredientes à base de pseudocereais integrais, cozidos ou maltados, em fórmulas entéricas, enfatizando o seu conteúdo e bioacessibilidade das proteínas, dos minerais e dos folatos.

Adicionalmente, tendo como foco o desenvolvimento de ingredientes para produtos alimentares adequados a pessoas com intolerância ao glúten, as propriedades nutricionais dos pseudocereais serão comparadas com as do arroz, sendo este último o cereal isento de glúten mais produzido no mundo (FAOSTAT, 2013) e uma das matérias-primas mais utilizada em produtos alimentares adequados a pessoas com intolerância ao glúten como fornecedora de hidratos de carbono, juntamente com o milho e a batata (Luz, 2014).

Esta tese, após a revisão da literatura, no capítulo 1, e identificação dos objetivos, no capítulo 2, está organizada em mais 3 capítulos:

O capítulo 3 descreve os processos de amostragem dos alimentos e as condições de processamento culinário, de maltagem e de moagem. Descreve igualmente os métodos analíticos necessários ao estudo do perfil nutricional dos alimentos crus e processados. Entre eles, os utilizados para análise de macronutrientes (humidade, proteína, gordura total, fibra total e amido); aminoácidos (essenciais e não essenciais); folatos; minerais (cálcio, fósforo, potássio, sódio, magnésio) e oligoelementos (ferro, cobre, zinco, manganês, selénio, molibdénio, cobalto, lítio, vanádio, estrôncio e níquel) e contaminantes (arsénio, cádmio, chumbo). Avaliou-se ainda o teor de acrilamida, um composto formado essencialmente durante o processamento a altas temperaturas. Este capítulo inclui ainda a descrição da otimização e da aplicação do processo de digestão *in vitro* que permitiu avaliar o efeito dos processamentos das matérias-primas na bioacessibilidade dos vários nutrientes.

O capítulo 4 inclui a exposição detalhada dos resultados obtidos, bem como a análise dos efeitos do processamento, quer na composição dos diferentes nutrientes, quer na bioacessibilidade dos mesmos.

O capítulo 5 inclui a discussão dos resultados apresentados no capítulo 4, e as conclusões, reunindo de uma forma sistematizada a intercomparação entre os diferentes alimentos necessária à otimização das escolhas dos processamentos necessários para a introdução dos pseudocereais nas formulações para alimentação especial.

1.1. Alimentos destinados a fins medicinais específicos de origem natural

Os alimentos destinados a fins medicinais específicos são legalmente definidos como “alimentos especialmente transformados ou compostos e destinados a satisfazer os requisitos nutricionais de pacientes, incluindo lactentes, e para consumo sob supervisão médica. Destinam-se à alimentação exclusiva ou parcial de pacientes com capacidade limitada, diminuída ou alterada para ingerir, digerir, absorver, metabolizar ou excretar alimentos correntes ou alguns dos nutrientes neles contidos ou metabolitos, ou cujo estado de saúde determine requisitos nutricionais particulares que não possam ser satisfeitas por uma modificação do regime alimentar normal” (Comissão Europeia, 2013). Incluem-se nesta definição, as fórmulas entéricas, nutricionalmente completas ou incompletas, administradas por via oral ou por sonda (Lochs et al., 2006).

A alimentação especial é, em casos clínicos devidamente identificados, a forma mais adequada de alimentar os pacientes, e estão demonstrados benefícios na sua capacidade de resposta ao tratamento, reduzindo o tempo de assistência hospitalar, a morbidade e mortalidade (National Collaborating Centre for Acute Care at The Royal College of Surgeons of England, 2006).

A desnutrição afeta um número inaceitável de pacientes em hospitais europeus. Estudos demonstram que, por exemplo em Inglaterra, a prevalência de desnutrição em ambiente hospitalar pode variar entre 19 a 60% (Rebecca J Stratton et al., 2004). Outro estudo do mesmo autor evidenciou que a desnutrição surge nos hospitais em 58% dos doentes admitidos (41% de alto risco de 17% em médio risco), e que esta população apresenta uma maior taxa de mortalidade, e um maior tempo de internamento, em comparação com o grupo de baixo risco (R.J. Stratton, King, Stroud, Jackson, & Elia, 2006). A desnutrição aquando da admissão em ambiente hospitalar e o risco de desnutrição associado à hospitalização pode conduzir a diversos efeitos adversos, tais como o aumento das infeções por diminuição da resposta imunológica, redução de massa muscular, entre outras, aumentando assim a permanência nesse ambiente (Kondrup et al., 2002).

Em Portugal estudos realizados revelam a prevalência de doentes em risco nutricional varia entre 29 e 47%, e que a prevalência de risco nutricional no momento da admissão hospitalar, apresentou um valor global de 52%, risco alto em 35% dos caso e risco médio em 17% (Cunha, Ruivo, & Ferro, 2012; Matos, 2007).

Em contexto hospitalar e doméstico, tem-se verificado um aumento da utilização de fórmulas entéricas (Pullon, 2013).

Contudo grande parte das fórmulas entéricas disponíveis no mercado são baseadas em ingredientes quimicamente definidos, onde maltodextrinas, glicose e frutose são fontes de hidratos de carbono, caseinato de sódio ou de cálcio, hidrolisados proteicos ou aminoácidos servem como fonte proteica, e óleo de soja, de milho ou de canola, triacilgliceróis de ácidos gordos de cadeia média, ou

lipídeos estruturados, como fonte de gordura. A estes ingredientes quimicamente definidos faltam fatores estimulantes e protetores, presentes em alimentos naturais (Tabela 1.1).

Tabela 1.1 - Características de formulações entéricas e recomendações de uso.

Tipo de Formula	Recomendações de uso
<p>Fórmula Polimérica Standard <small>(Brown, Roehl, & Betz, 2014; Kulick & Deen, 2011)</small></p> <ul style="list-style-type: none"> – Nutricionalmente completa, geralmente isotónica, sem lactose; – Fontes de macronutrientes: proteínas intactas, polímeros de glicose ou maltodextrinas, óleo de canola, triacilgliceróis de cadeia média; – Doses recomendadas para vitaminas e minerais em 1 a 1,5 L; – Fornecem 1-2 kcal/mL (adultos); – As fórmulas infantis geralmente fornecem 1 kcal/mL e 85% de água; – Pode conter pré e probióticos. 	<p>Destinado a pacientes sem distúrbios graves de má absorção mas que não conseguem ingerir nutrientes e calorias suficientes.</p> <p>Um estudo retrospectivo dos pacientes a quem são administradas fórmulas normocalóricas ou calóricas (ambas as dietas isocalóricas) revela que os pacientes que recebem fórmulas normocalóricas tinham um tempo reduzido de permanência em unidades de cuidados intensivos e de dias de ventilação, assim como nos níveis médios de glicose. <small>(Chen & Peterson, 2009)</small></p>
<p>Fórmula Polimérica Hipercalórica <small>(Kulick & Deen, 2011)</small></p> <ul style="list-style-type: none"> – Aumento no conteúdo calórico normalmente conseguida pelo aumento do teor de gordura; – 2 kcal/mL (fórmulas para adultos); – 1,5 kcal/mL (fórmulas para crianças). 	<p>Pacientes com restrições de líquidos (por exemplo, insuficiência cardíaca congestiva, síndrome de secreção inadequada da hormona antidiurética) ou por aumento das necessidades calóricas (por exemplo, trauma ou doença grave).</p>
<p>Fórmula Polimérica Hiperproteica <small>(Kulick & Deen, 2011)</small></p> <ul style="list-style-type: none"> – 1 a 1,5 kcal/mL; – 18 a 25 % das calorias totais em proteína. 	<p>Pacientes com estado hipercatabólico ou com necessidade de elevados teores de proteína, cicatrização de feridas.</p> <p>Alguns estudos mostraram que fórmulas entéricas ou suplementos orais enriquecidas em proteína, arginina, zinco podem acelerar a cicatrização de úlceras de pressão em pacientes idosos institucionalizados. <small>(Cereda, Gini, Pedrolli, & Vanotti, 2009)</small></p>

Tipo de Formula	Recomendações de uso
<p>Fórmula Polimérica com Fibra <small>(Brown et al., 2014; Kulick & Deen, 2011)</small></p> <ul style="list-style-type: none"> – Fibras solúveis e insolúveis, principalmente à base de soja em concentrações variáveis (de 4 a 22 g de fibras totais por L); – Pode conter prebióticos na forma de frutooligossacarídeos, oligofrutose ou de inulina; – Também pode conter probióticos; – Normalmente isotônica. 	<p>Destina-se a melhorar a saúde do trato gastrointestinal e a regular a frequência e/ou a consistência das fezes, mantendo saudável a flora do trato gastrointestinal.</p> <p>Promove a regular função intestinal, principalmente na prevenção de obstipação após longos períodos de nutrição entérica e diminuição da diarreia após nutrição entérica de curta duração;</p> <p>Pode ser benéfico para a microbiota quando utilizado a longo prazo. <small>(Chen & Peterson, 2009)</small></p>
<p>Fórmula destinada ao doente diabético ou com intolerância à glicose <small>(Brown et al., 2014; Kulick & Deen, 2011)</small></p> <ul style="list-style-type: none"> – Baixo teor de hidratos de carbono, elevado <i>ratio</i> em ácidos gordos monoinsaturados, fibras solúveis e insolúveis; – 40% da energia proveniente de hidratos de carbono, 40% de gorduras, e 20% de proteína; – Fontes de macronutrientes: proteínas intactas, polímeros de glicose ou de maltodextrina, óleo de canola, triglicéridos de cadeia média; – 1 kcal/mL. 	<p>Os teores de fibras solúveis e de gordura podem retardar o esvaziamento gástrico e evitar o aumento da glicemia (hiperglicemia).</p> <p>Os benefícios clínicos de fórmulas destinadas ao doente diabético não são claros, no entanto podem ajudar a gerir os níveis de glicose no sangue a curto prazo; não foram avaliados resultados a longo prazo. <small>(Chen & Peterson, 2009)</small></p>
<p>Fórmulas destinadas ao doente renal <small>(Brown et al., 2014; Kulick & Deen, 2011)</small></p> <ul style="list-style-type: none"> – Fontes de macronutrientes: proteínas intactas, polímeros de glicose ou maltodextrina, óleo de canola, triacilgliceróis de cadeia média; – Potássio, fósforo, magnésio mais baixos do que nas restantes fórmulas poliméricas; – Alta concentração de proteína nas fórmulas recomendadas para pacientes dialisados e baixa concentração para os não dialisados. 	<p>Não há estudos comparativos de eficácia que demonstrem a superioridade de fórmulas destinadas ao doente renal sobre as fórmulas poliméricas standard. <small>(Imad, Rima, Cesar, & Bruce, 2008)</small></p> <p>Uma fórmula polimérica standard deve ser a primeira linha para pacientes com insuficiência renal. Se existirem ou se desenvolverem alterações significativas nos níveis de eletrólitos, deve ser considerada uma fórmula renal.</p> <p>Devido ao hipermetabolismo associada à diálise</p>

Tipo de Formula	Recomendações de uso
	<p>contínua e às perdas que ocorrem no filtrado, deve ser fornecida uma quantidade de proteína de até 2,5 g/kg de peso corporal para manter positivo o balanço de azoto.</p> <p>Fórmulas standard hiperproteicas sem restrição de líquidos devem ser usadas em pacientes críticos hemodialisados; as fórmulas para doentes renais podem ser usadas em doentes com alterações eletrolíticas não hemodialisados</p>
<hr/> <p>Fórmulas destinadas ao paciente bariátrico (Brown et al., 2014)</p>	
<ul style="list-style-type: none"> - Com aproximadamente 37% de kcal em proteína para manter o balanço de azoto positivo; - Baixo teor em hidratos de carbono para o controle da glicose e EPA/DHA para modular a resposta inflamatória. 	<p>Destina-se a pacientes com IMC > 30 kg/m²</p> <p>O aporte energético não deve ser superior a 60% - 70% das necessidades, mas deve fornecer a proteína adequada.</p>
<hr/> <p>Fórmulas destinadas ao doente pulmonar (Brown et al., 2014; Kulick & Deen, 2011)</p>	
<ul style="list-style-type: none"> - Fontes de macronutrientes: proteínas intactas, polímeros de glicose ou maltodextrina, óleo de canola, triacilgliceróis de cadeia média; - Para reduzir a produção de dióxido de carbono, estas fórmulas contêm > 50% do valor energético total provenientes de gordura, com hidratos de carbono < 30% e um teor de proteína entre 16% -18%; - Contêm tipicamente ácidos gordos ω-3 derivados de óleo de peixe (EPA/DHA) para potenciar as propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes; - 1,5 kcal/mL. 	<p>Potencialmente úteis em pacientes com doença pulmonar crónica; para ajudar no desmame da ventilação mecânica. Globalmente a evidência da eficácia é inconclusiva.</p> <p>Fórmulas com elevados rácios de ácidos gordos ω-3/ω-6 e antioxidantes devem ser consideradas para pacientes com lesão pulmonar aguda e síndrome respiratória aguda.(Chen & Peterson, 2009)</p> <p>Fórmulas destinadas ao doente pulmonar devem ser usadas com cautela entre os pacientes com <i>sepsis</i> ou críticos.</p>
<hr/> <p>Fórmula destinada ao doente hepático ^(Brown et al., 2014)</p>	
<ul style="list-style-type: none"> - Menor teor de proteína com uma elevada percentagem de aminoácidos de cadeia ramificada e uma menor concentração de aminoácidos aromáticos para prevenir a 	<p>Deve ser administrado como primeira linha em pacientes com encefalopatia hepática.</p>

Tipo de Formula	Recomendações de uso
<p>encefalopatia hepática;</p> <p>– Restritas em sódio para atenuar efeitos como a ascite.</p>	
<p>Imunonutrição/modulador imune <small>(Brown et al., 2014; Kulick & Deen, 2011)</small></p> <p>– Geralmente ricas em proteínas; enriquecido com nutrientes específicos, como a arginina, glutamina, e ácidos gordos ω-3; pode conter fibra;</p> <p>– Fontes de macronutrientes: proteínas intactas, polímeros de glicose ou maltodextrina, óleo de canola, triglicéridos de cadeia média;</p> <p>– Fornece 1 a 1,5 kcal/mL.</p>	<p>Pode ser potencialmente benéfica quando usada em pacientes submetidos a cirurgias eletivas. No entanto, a investigação ainda não é suficiente para recomendar fórmulas imunomoduladoras como rotina em pacientes críticos.</p> <p>Suportam o sistema imunológico, promovendo processo anti-inflamatório, aumentando a preservação dos enterócitos. Alguns estudos mostram que essas fórmulas podem diminuir a mortalidade, tempo de hospitalização, e infecções em pacientes em unidades de cuidados intensivos, após grandes cirurgias eletivas, trauma ou queimaduras e em pacientes críticos com ventilação mecânica. <small>(Wischmeyer, Dhaliwal, McCall, Ziegler, & Heyland, 2014)</small></p> <p>Suplementação com Imunonutrição pode aumentar o risco geral de mortalidade em pacientes com sépsis. <small>(Chen & Peterson, 2009)</small></p>
<p>Fórmula Oligomérica <small>(Kulick & Deen, 2011)</small></p> <p>– Péptidos curtos e/ou aminoácidos livres como fonte de proteína;</p> <p>– Osmolaridade moderada ou alta, sem lactose;</p> <p>– Outras fontes de macronutrientes: polímeros de glicose ou maltodextrina, óleo de canola, triacilgliceróis de cadeia média;</p> <p>– 1 a 1,5 kcal/mL.</p>	<p>Síndromes de má absorção e insuficiência pancreática.</p> <p>É dispendioso e muitas vezes causam diarreia devido à maior osmolaridade.</p> <p>Não há diferenças significativas quando comparado com uma fórmula polimérica standard em pacientes com doença de Crohn. <small>(Chen & Peterson, 2009)</small></p>
<p>Fórmula Elementar e Semi-elementar <small>(Brown et al., 2014)</small></p> <p>– Macronutrientes hidrolisados para maximizar a absorção.</p>	<p>Destinado a pacientes com distúrbios de má absorção; não se destina a uso de rotina.</p> <p>Em pacientes com pancreatite, a fórmula elementar levou à redução significativa do tempo de hospitalização em comparação com fórmula</p>

Tipo de Formula	Recomendações de uso
	standard. <small>(Chen & Peterson, 2009)</small>
Fórmula Modular <small>(Chen & Peterson, 2009)</small>	
<ul style="list-style-type: none"> – Contém um único nutriente, tal como proteínas, gorduras ou hidratos de carbono. 	<p>Formulações modulares podem ser utilizadas individualmente para tratar uma deficiência específica ou combinada com outras fórmulas para satisfazer completamente os requisitos nutricionais (por via oral ou por sonda).</p>

Antes das fórmulas entéricas comerciais estarem disponíveis no mercado eram utilizadas fórmulas baseadas em alimentos completos liquidificados, confeccionados ou não, preparadas nas cozinhas hospitalares ou domésticas. Estas formulações permitem que os pacientes recebam a compostos presentes nos alimentos que não se encontram normalmente nas fórmulas comerciais, tais como os fitoquímicos (Brown et al., 2014). Contudo, em contexto clínico, existe incerteza sobre o valor nutricional destas fórmulas não padronizadas. Em Portugal, a análise laboratorial de refeições elaboradas em meio hospitalar verificou que só 55% das refeições analisadas cumpriam as recomendações da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2003) ou seja, cerca de 30 % das necessidades energéticas totais diárias. Algumas refeições apresentaram um valor energético muito baixo. Pela negativa destacaram-se as dietas líquidas orais e para sonda, com valores energéticos totais entre 51 e 226 kcal por dose (Santos, Fontes, & Mota, 2012) (Anexo D). Realça-se desta forma a necessidade do envolvimento do nutricionista no desenvolvimento destas formulações.

Nos últimos anos têm surgido em alguns mercados fórmulas comerciais baseadas em alimentos completos liquidificados preparadas, principalmente, à base de ingredientes vegetais.

1.1.1. Processamento culinário e maltagem

O valor nutricional, onde se inclui a bioacessibilidade, de alimentos naturais, nomeadamente, cereais, pseudocereais e leguminosas pode ser maximizado recorrendo a processos tecnológicos como a germinação e maltagem (Gamel & Linssen, 2006; Gibson, Perlas, & Hotz, 2006; Hotz & Gibson, 2007; Shohag, Wei, & Yang, 2012; F. Wu, Yang, Touré, Jin, & Xu, 2013). A maltagem é uma germinação controlada, seguida pela secagem controlada das sementes. É iniciada pela demolha dos grãos, também conhecida como maceração, seguida da fase de germinação, com subsequente ativação dos sistemas enzimáticos do grão que começam a mobilizar as reservas de amido para fornecer carbono e energia para o desenvolvimento do embrião. No momento apropriado do processo de germinação a aplicação de calor estabiliza o grão, em malte (Boulton & Quain, 2006). Na maltagem, pretende-se minimizar o crescimento da semente para evitar a perda de açúcares, causada pelo crescimento e respiração. Ao mesmo tempo é maximizada expressão de enzimas e a consequente degradação do endosperma (Hoseney, 2010).

Durante este processo, verifica-se o aumento da atividade de enzimas hidrolíticas endógenas das sementes, como as amílases e as protéases, o que diminui o poder espessante de suspensões aquosas de farinhas de maltes, aumentando assim a aplicabilidade destas matérias-primas em fórmulas entéricas destinadas a administração por sonda, em que se pretende controlar a viscosidade (Kaur, 2009).

Processos como a cozedura induzem a modificação da estrutura dos grânulos de amido em alimentos amiláceos, como algumas sementes e tubérculos, aumentando a sua digestibilidade (Capriles, Coelho, Guerra-Matias, & Arêas,

2008; Parada & Aguilera, 2007). Estudos desenvolvidos em indivíduos diabéticos saudáveis, demonstraram que diferentes tipos de alimentos ricos em amido podem produzir respostas glicêmicas e insulinêmicas pós-prandiais divergentes (Järvi et al., 1995). Um fator determinante nessa resposta é o tipo de tipo de processamento a que o alimento foi sujeito. Durante a cozedura, por exemplo, ocorre a descompactação, a hidratação e fragmentação da estrutura do grânulo de amido (gelatinização), o que facilita o acesso das amílases às ligações glicosídicas, aumentando assim a ação enzimática e por conseguinte, a resposta glicêmica (Eelderink et al., 2015).

Os processamentos térmicos com calor húmido como a cozedura ou a cozedura a vapor podem levar a perdas em micronutrientes termolábeis como vitaminas, por degradação química, e de micronutrientes hidrossolúveis como vitaminas, minerais e oligoelementos, por lixiviação para o meio de cozedura (Barampama & Simard, 1995; Kawashima & Valente Soares, 2003; Lešková et al., 2006). Contudo, o efeito do processamento térmico no conteúdo nutricional de muitos alimentos encontra-se, ainda por investigar.

1.2. Pseudocereais

Os pseudocereais, amaranto (*Amaranthus sp.*), quinoa (*Chenopodium quinoa*) e trigo-sarraceno (*Fagopyrum esculentum* e *Fagopyrum Tartaricum*), são, em termos botânicos dicotiledóneas, e não monocotiledóneas como os cereais (Berghofer & Schoenlechner, 2007; Schoenlechner, Siebenhandl, & Berghofer, 2008). O cultivo e o consumo de pseudocereais encontram-se atualmente em grande expansão como alternativas aos cereais isentos de glúten como o arroz e

o milho. Isto acontece, também devido à sua riqueza nutricional (Kupper, 2005; Pagano, 2006).

O amaranto e a quinoa foram as principais culturas utilizadas pelas civilizações pré-colombianas na América Latina. Como consequência da invasão e da conquista pelos espanhóis, o cultivo e consumo dessas culturas foram reprimidos e, posteriormente, continuou apenas numa escala reduzida. A produção de quinoa aumentou de 25,3 para 45,8 kt na Bolívia e de 32,6 para 44,2 kt no Peru, entre 2006 e 2012 (FAOSTAT, 2013). Apesar do aumento de produção o preço também aumentou drasticamente nestes 10 anos, sobretudo devido ao elevado aumento da procura nos Estados Unidos da América (EUA) e na Europa. O valor pago por tonelada de quinoa a produtores dos principais países exportadores, como a Bolívia, aumentou de 448,30 USD em 2006 para 1373,30 USD em 2012 (FAOSTAT, 2013). Além de países da América Latina, o amaranto e a quinoa são produzidos nos EUA, China e Europa (Valencia-Chamorro, 2004).

A quinoa é uma cultura com grande capacidade de adaptação e rusticidade, o que a torna relevante num cenário exigente onde aumentam as necessidades de alimentos e se devem diminuir os recursos necessários ao cultivo (solo, água, fertilizantes). Paralelamente, devido ao elevado conteúdo proteico, a inclusão das sementes de quinoa na dieta pode desempenhar um papel importante num contexto de desnutrição (Bhargava, Shukla, & Ohri, 2007).

O trigo-sarraceno, originário da Ásia Central, foi importado por povos nómadas para a Europa Central e Oriental. Atualmente assiste-se a um retorno a este pseudocereal devido principalmente à procura por dietas sem glúten. A área total de solo dedicado a esta cultura era, no início deste século, de 2,5 Mha, o que representava uma produção mundial de 2 Mt de grãos por ano (Fabio,

Schoenlechner, Siebenhandl, & Berghofer, 2008). Em 2012, a Rússia produziu perto de 800 kt, seguida pela China (700 kt). Na Europa, foram produzidas 94,4 kt toneladas na Polónia e 238,7 kt na Ucrânia. O Japão é o principal importador de trigo-sarraceno com um volume de 56.5 kt/ano (FAOSTAT, 2013).

Encontra-se vastamente documentado que o teor de proteína e minerais nos pseudocereais é maior do que em espécies de cereais (Alvarez-Jubete, Arendt, & Gallagher, 2009, 2010; Berghofer & Schoenlechner, 2006; Gorinstein et al., 2002; Schoenlechner et al., 2008; Valcárcel-yamani & Caetano, 2012). Na década de noventa a quinoa foi classificada pela National Aeronautics and Space Administration (NASA) como um produto agrícola emergente, com excelentes propriedades para missões espaciais de longo prazo, devido ao seu elevado teor em proteínas e composição em aminoácidos, em particular no que respeita à lisina e aminoácidos sulfurados (Schlick & Bubenheim, 1993).

O teor de proteína ronda os 13-17% no amaranto, 12-19% no trigo-sarraceno e 12-15% na quinoa (Alvarez-Jubete et al., 2009; Christa and Soral-Šmietana, 2008). Em comparação com os grãos de cereais mais comuns, os teores de proteína são maiores que no milho (*Zea mays*) (10%), e comparável ao do trigo (*Triticum spp.*) (13%). Estes pseudocereais contêm um menor conteúdo proteico quando comparados com sementes de leguminosas, como o feijão (*Phaseolus vulgaris*), com cerca de 24%, ou como a soja (*Glycine max*) com teores que se aproximam dos 36% (USDA, 2011). Os pseudocereais destacam-se por apresentarem uma melhor qualidade proteica, principalmente, devido ao teor em aminoácidos essenciais (AAE), em particular, a lisina (o aminoácido limitante nos cereais) e em aminoácidos sulfurados (os aminoácidos limitantes nas leguminosas) (WHO, 2007). O alto teor de arginina e histidina, ambos essenciais

para bebês e crianças, fazem com que o amaranto e quinoa sejam relevantes no âmbito da alimentação pediátrica (G. Wu, 2009).

Nos pseudocereais, como a quinoa, as albuminas e globulinas são a principal fração das proteínas (44-77% da proteína total), maior do que as prolaminas (0,5-7,0%) (Jancurová, Minarovicová, & Dandar, 2009). É por conterem muito pouca ou nenhuma prolaminas que os pseudocereais são considerados grãos isentos de glúten (Arendt & Bello, 2008; Moreno, Comino, & Sousa, 2014).

O glúten é uma proteína que está presente no trigo, centeio, cevada e dá às massas a elasticidade desejada para a preparação de produtos de padaria e é amplamente utilizada como ingrediente no processamento de alimentos. Os principais componentes do glúten são as prolaminas e a glutelina (WGO, 2012).

O teor de cinzas no amaranto e na quinoa é cerca de duas vezes mais elevado quando comparado com outros cereais. São particularmente elevadas as quantidades de cálcio, magnésio, ferro, potássio e zinco. O teor de cinzas em sementes de trigo-sarraceno é menor do que no trigo. Com exceção do cálcio, o trigo-sarraceno é mais rico em minerais que o arroz e o milho (Berghofer & Schoenlechner, 2007).

São escassas as informações sobre os níveis de folatos em pseudocereais. Existem alguns valores publicados, no entanto todos eles se referem a teores de folatos totais, determinados por metodologias analíticas que não permitem a distinção e quantificação das diferentes formas desta vitamina. A *National Nutrient Database for Standard Reference* (USDA, 2011) atribui um valor de 82 mg de *dietary folate equivalentes* (DFE)/100 g de amaranto, 30 mg DFE/100 g de trigo-sarraceno e 184 mg DFE/100 g de quinoa. Outras publicações referem valores

aproximados (Schoenlechner, Wendner, Siebenhandl-Ehn, & Berghofer, 2010). Com base nestes valores, o conteúdo em folatos dos pseudocereais é superior ao determinado para a maioria dos cereais. Também o conteúdo em compostos fenólicos e antioxidantes dos pseudocereais tem sido recentemente alvo de estudo (Alvarez-Jubete L; Wijngaard H; Arendt, 2010; López-Mejía, López-Malo, & Palou, 2014; Paško et al., 2009; Vega-Gálvez et al., 2010). O trigo-sarraceno apresenta maior teor em compostos fenólicos totais sendo o amaranto o menos rico dos três (Alvarez-Jubete L; Wijngaard H; Arendt, 2010).

– Importância dos pseudocereais na Doença Celíaca

Recentemente a Organização Mundial de Gastroenterologia (OMG) recomendou o amaranto, a quinoa e o trigo-sarraceno como alimentos a incluir nas dietas dos pacientes com doença celíaca como alternativa para suprir as necessidades aumentadas de ingestão de micronutrientes como os folatos ou o ferro. Estes pseudocereais são também recomendados como ingredientes base para refeições pediátricas, como uma alternativa ao arroz, devido à sua baixa alergenicidade (WGO, 2012).

A doença celíaca encontra-se clinicamente bem definida, com o glúten a ser apontado como a causa de 20 a 45% dos sintomas auto reportados por adultos com hipersensibilidade (Rona et al., 2007). Existem no entanto, outros componentes dietéticos na indução de outros sintomas gastrointestinais (GI) que ainda não se encontra completamente compreendida. A fina linha que separa a doença celíaca, alergia do trigo, síndrome do intestino irritável e a *non-coeliac gluten sensitivity* (NCGS) nem sempre é clara, tornando difícil de diferenciar os diferentes distúrbios. Ao contrário da doença celíaca e alergia ao trigo, a NCGS

está ainda envolta em grande discussão e controvérsia (Biesiekierski & Iven, 2015).

A doença celíaca (DC) é uma doença autoimune, crónica, enteropática, caracterizada por má absorção e anomalias na estrutura do intestino delgado, provocada por uma reação imunológica ao glúten com dano das vilosidades intestinais. A remoção desta proteína da dieta reverte este efeito (Binder, 2012).

A DC é uma doença de origem genética e afeta crianças e adultos predispostos. É comum em todo o mundo e afeta entre 1 a 3 por cento da população. Esta prevalência é significativamente maior do que a reportada há 20 anos. A epidemiologia da doença celíaca tem a chamada característica de “iceberg”, ou seja, há muito mais casos não diagnosticados do que os casos diagnosticados. Um estudo, realizado na região de Braga, Portugal obteve uma prevalência de 1:134 (0,7%) (Antunes, Abreu, Nogueira, & Sá, 2006). Outro estudo, realizado na Região Autónoma da Madeira entre 2002 e 2010, revela uma prevalência de DC de 15,3 casos por 100.000 habitantes e a incidência foi de 1,9/100.000 habitantes, com uma tendência crescente nos últimos anos. Dados da Associação Portuguesa de Celíacos (APC) indiciam que existem apenas cerca de 10.000 celíacos diagnosticados em Portugal, o que indica que a DC é uma doença subdiagnosticada, com necessidade de rastreio caso os indivíduos revelem alguns dos sintomas característicos. Estima-se que existam entre 70.000 a 100.000 celíacos por diagnosticar em Portugal (APC, 2014).

Na doença celíaca é o contacto da gliadina, a prolamina do trigo, com as células do intestino delgado, que provoca a resposta imune a essa fração da proteína, com a produção de anticorpos. O consumo de cereais que contêm glúten pelos celíacos provoca danos no intestino delgado, causando atrofia das vilosidades,

conduzindo, dessa forma, à limitação da área disponível para absorção de nutrientes (Araújo & Araújo, 2010). Os indivíduos com doença celíaca não devem comer produtos que contenham trigo, centeio, ou cevada e geralmente precisam seguir uma dieta livre de glúten para o resto de suas vidas. Um pequeno subgrupo de doentes com doença celíaca (menos de 5%) pode ainda ser intolerante à aveia.

Alguns dos estudos que relatam que a maioria dos cultivares de quinoa não induz resposta imune, alertam para o facto de algumas cultivares possuírem epítopes que podem ativar essa mesma resposta em pacientes com doença celíaca (Bergamo, Maurano, Mazzarella, Gianfrani, & Rossi, 2011; Zevallos, Ellis, Suligoj, Herencia, & Ciclitira, 2012). No entanto um estudo recente, *in vivo*, que incluiu um painel de doentes celíacos adultos, indica que estes toleram com segurança uma ingestão diária de 50 g de quinoa durante um período de seis semanas (Zevallos, Herencia, & Ciclitira, 2014).

Até ao momento, poucos estudos têm sido realizados sobre alergia ao amaranto ou na toxicidade de proteínas de amaranto para pessoas com doença celíaca. Um estudo realizado às reações alérgicas da fração de prolamina do amaranto revelou que, ao contrário do trigo, cevada, centeio e a aveia, a fração de prolaminas do amaranto não apresentou reatividade contra anticorpos anti-gliadina de coelho (Bossert & Wahl, 2000). Estudos *in vivo* e *in vitro* testaram reações alérgicas gerais demonstrando que o amaranto provoca uma reação clássica de tipo 1 em doentes sensibilizados. Por outro lado, Hibi et al em 2003 constataram que o grão de amaranto e seu extrato inibiu a produção de IgE específico para o antigénio através do aumento de respostas da citocina Th1 *in vivo* e *in vitro* (Hibi, Hachimura, Hashizume, Obata, & Kaminogawa, 2003). Em

conclusão, os resultados até agora obtidos indicam que os pseudocereais são considerados seguros para os pacientes com doença celíaca.

O aumento provocado pela procura de produtos isentos de glúten levou ao aparecimento no mercado de alguns produtos inovadores que utilizam pseudocereais na sua composição, como por exemplo *snacks* líquidos de fruta contendo quinoa. Vários são atualmente os estudos que se dedicam à investigação de potenciais usos destes produtos referidos como alimentos funcionais. Entre estes destacam-se as farinhas, bebidas, bebidas fermentadas, substitutos de leite, cereais de pequeno-almoço, bolachas e outros *snacks*, pão, massas, pipocas (Alvarez-Jubete, Arendt, et al., 2010).

Diversos estudos demonstraram a viabilidade da aplicação dos pseudocereais em produtos alimentares isentos de glúten. Gambus et al. (2002) estudaram a viabilidade do amaranto, como uma alternativa para melhorar a qualidade nutricional dos pães sem glúten. Noutros estudos, ambas as propriedades nutricionais e características de panificação de amaranto, quinoa e trigo-sarraceno foram avaliados (Alvarez-Jubete et al., 2009; Alvarez-Jubete, Wijngaard, Arendt, & Gallagher, 2010). Também a possível aplicação da quinoa na produção de um produto do tipo esparguete sem glúten foi equacionada (Caperuto, Amaya-Farfan, & Camargo, 2000; Mastromatteo, Chillo, Iannetti, Civica, & Del Nobile, 2011).

Os pseudocereais podem ainda apresentar um ótimo substituto para alimentos de elevado índice glicémico (IG). Os dados disponíveis sobre o IG nos alimentos sem glúten sugerem a necessidade de um aperfeiçoamento na formulação destes produtos alimentares (Berti, Riso, Monti, & Porrini, 2004). A quinoa tem relevado alguns efeitos hipoglicémicos *in vivo* e tem sido recomendada como uma

alternativa aos ingredientes tradicionais na produção de produtos sem glúten à base de cereais com baixo IG (Berti et al., 2004). O trigo-sarraceno, também tem sido sugerido como um potencial ingrediente na elaboração de alimentos com baixo IG (Skrabanja, Liljeberg Elmståhl, Kreft, & Björck, 2001). Além disso, o grão de amaranto revelou reduzir efetivamente os níveis séricos de glicose e aumentar os níveis séricos de insulina em ratos diabéticos, o que sugere que o grão de amaranto pode ser benéfico para a correção da hiperglicemia e prevenção de complicações diabéticas (H. K. Kim, Kim, Cho, Kim, & Shin, 2005).

1.2.1. Amaranto

Devido ao teor relativamente elevado de amido de amaranto, o pequeno tamanho de grânulo (1 a 3 mm), e a baixa concentração de amilose (1%), o amido do amaranto é caracterizado pela sua baixa viscosidade, elevada solubilidade e baixa temperatura de gelatinização (Mlakar, Turinek, Jakop, Bavec, & Bavec, 2009). Com o processamento térmico, processos de torrefação e descamação, verificou-se que o amido se tornava rapidamente digerível, e os índices glicêmicos eram significativamente aumentados, indicando que a digestibilidade do amido de amaranto aumentava quando as sementes eram tratadas pelos métodos acima referidos (Capriles et al., 2008). As sementes de amaranto podem ser moídas para produzir farinha, utilizando a tecnologia de moagem de trigo convencional. No entanto, devido às peculiaridades botânicas da semente de amaranto, se for necessária a separação em frações de composição química diferente, a moagem convencional não pode ser utilizada (Berghofer & Schoenlechner, 2007).



Figura 1.1 - Amarantho, planta e semente

Os grãos de amarantho podem ser processados por fermentação, por bactérias fermentativas lácticas, para produzirem *ogi*, alimento muito utilizado na Nigéria, podendo também ser germinado. O amarantho também pode ser ingrediente no fabrico de molho de soja (*shoyu*), que é amplamente utilizado no Sudeste Asiático (Arendt & Zannini, 2013).

1.2.2. Quinoa

A quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) encontra-se distribuída por diferentes regiões do mundo, com cerca de 250 variedades identificadas. É originária das regiões montanhosas da América do Sul, tradicional dos Andes, presente na Argentina, Chile, Bolívia, Peru, Equador e Colômbia, cultivada a partir do nível do mar até uma altitude de 3800 m. A semente, tem forma cilíndrica, achatada e tamanho entre 2 a 2,5 mm de diâmetro (Prego, Maldonado, & Otegui, 1998)



Figura 1.2 - Quinoa, planta e semente

Reconhecendo a importância da quinoa a Assembleia Geral da Organização das Nações Unidas designou, na sua resolução A/RES/66/221, o ano de 2013 como sendo o Ano Internacional da Quinoa, tendo como parceiro a FAO. Esta proposta partiu da Bolívia e foi rapidamente apoiada por vários países da América Central e do Sul. Agora a Quinoa é reconhecida pelo seu elevado valor nutritivo, impressionante biodiversidade e com um papel importante na segurança alimentar mundial (United Nations, 2012).

A quinoa tem sido considerada um “superalimento” devido às suas qualidades nutricionais sendo uma importante fonte de proteínas, minerais e vitaminas (Abugoch James, 2009; Gonzalez, Konishi, Bruno, Valoy, & Prado, 2012; Koziol, 1992; Miranda et al., 2012; Palombini et al., 2013; Ranhotra, 1993). Apresenta igualmente propriedades funcionais tecnológicas como a solubilidade da sua farinha, capacidade de retenção de líquidos, de gelificação e emulsionante, que permitem o seu uso de uma forma bastante diversificada.

Em comparação com outros cereais, como o trigo, a quinoa tem um maior teor de gordura e pode fornecer quantidades importantes de gordura monoinsaturada (na forma de ácido oleico). A quinoa também pode fornecer pequenas quantidades de ω -3 sob a forma de ácido alfa-linolénico (ALA). Os processos culinários que envolvem ebulição, parecem não comprometer significativamente a qualidade de ácidos gordos da quinoa, (Vega-Gálvez et al., 2010).

No entanto, mesmo com todos os benefícios nutricionais concedidos por lípidos, proteínas e moléculas antioxidantes, as variedades nativas de quinoa são ainda pouco aceites nos hábitos alimentares de muitos países. Isto acontece porque essas variedades têm um sabor amargo, devido à presença de saponinas, que no entanto desaparecem quando a quinoa é submetida a lavagem intensa antes do

processo culinário (Brady, Kevin, 2007). As saponinas estão presentes na planta de quinoa, e têm propriedades inseticidas e antimicrobianas (Palombini et al., 2013).

Comparada com a maioria dos cereais e com os outros pseudocereais, a quinoa tem um teor de proteína mais elevada (a maior parte localizado no embrião) a variar entre 8% e 22% (Jancurová et al., 2009). A taxa de eficiência proteica em bruto na quinoa crua é 78-93%, superior à caseína. Estes números aumentam quando a quinoa é cozida, ao aumentar esses níveis 102-105% acima dos da caseína (Jancurová et al., 2009). A quinoa é uma boa fonte de minerais, já que contém mais cálcio, magnésio, ferro e zinco do que os cereais comuns, sendo que, o teor de ferro é particularmente elevado, no entanto o polimento e a lavagem das sementes reduz o teor de minerais, em média, 12-15% na concentração de ferro, zinco e potássio, e causa a perda de 27% de cobre e 3% de magnésio (Jancurová et al., 2009). No que diz respeito ao processamento verifica-se um impacto significativo na composição química quando a farinha de quinoa é submetida a uma variedade de processos térmicos, como a torrefacção e extrusão, o mesmo não se verificando com farinha de quinoa não transformada. (Brady, Kevin, 2007).

1.2.3. Trigo-Sarraceno

Os grãos de trigo-sarraceno ou mourisco apresentam uma forma incomum, em pirâmide, com um fundo arredondado e, quando maduro, cor castanha escura. Apesar do nome este grão não é um parente do trigo. O seu componente principal é o amido, acumulado no endosperma.



Figura 1.3 - Trigo-sarraceno, planta e semente.

Os grãos de trigo-sarraceno têm uma textura macia e levemente crocante e uma fragrância atraente. São ricos em aminoácidos, apresentando um conteúdo superior aos cereais em fibra, lisina e elementos, como o manganês, fósforo, cobre e magnésio (S.-L. Kim, Kim, & Park, 2004). Os teores elevados de rutina, catequinas e outros polifenóis, bem como a atividade antioxidante são também de grande importância para o valor dietético deste grão (Oomah & Mazza, 1996).

O trigo-sarraceno, ao longo da história tem sido usado pelas suas potenciais ações terapêuticas. O seu consumo é muitas vezes associado à diminuição dos níveis de colesterol, em especial da fração de baixa densidade (LDL), (Hosaka et al., 2014; Kayashita, Shimaoka, Nakajoh, Yamazaki, & Kato, 1997; Tomotake, Kayashita, & Kato, 2014). Um estudo epidemiológico realizado na China demonstrou uma prevalência significativamente menor de hiperglicemias nas comunidades que consomem trigo-sarraceno como alimento base, em comparação com uma comunidade que consumia principalmente arroz (Zhang, Zhang, Lu, Tong, & Cao, 2007). Este e outros estudos sugerem um papel potencial do trigo-sarraceno no controlo glicémico na diabetes e obesidade (Lee, Hsu, Shen, Cheng, & Wu, 2012; Stringer, Taylor, Appah, Blewett, & Zahradka, 2013).

1.3. Arroz

O arroz (*Oryza sativa*), cultivado em mais de 100 países é considerado um alimento basilar em todo o mundo, principalmente, porque fornece energia, proteína, e outros nutrientes a metade da população mundial. Foi cultivado pela primeira vez há cerca de 10.000 anos. Desde então, os agricultores têm vindo a manipular as culturas de forma a obter as características culinárias mais desejadas, no que diz respeito à textura, sabor, cor e viscosidade (Juliano, 1993). As primeiras referências sobre o início da cultura do arroz em Portugal encontram-se entre o século XII e o XIII, primeiro na região do Mondego e, em seguida, no estuário do Tejo (Silva, 1969). Hoje, cerca de 80% do arroz produzido em Portugal é representada pela variedade *Japónica* (mais conhecido como arroz carolino) e os restantes 20% pertence às variedades tipo-*Indica* (grão *Indica* com *Japónica* no fundo genético) que corresponde ao arroz Agulha (Jayamani, Negrão, Martins, Maças, & Oliveira, 2007). Ambas as variedades estão profundamente enraizados nos hábitos culinários dos portugueses. De acordo com a FAOSTAT, em 2011 Portugal teve um consumo de arroz de 16,3 kg/capita/ano (equivalente branqueado), o que o coloca como maior consumidor de arroz na Europa (FAOSTAT, 2013). Os hidratos de carbono, maioritariamente amido, são o principal macronutriente encontrado no arroz. A proteína é o segundo componente mais abundante do arroz (Nascimento et al., 2014). O arroz não é considerado um alimento rico em proteína, apresentando a lisina como aminoácido limitante (Mota et al., 2016), no entanto, nos países em desenvolvimento, o arroz é responsável por cerca de 20% da proteína da dieta de alimentação diária (FAOSTAT, 2013).

Sendo um alimento básico no mundo e um elemento importante da dieta portuguesa, a composição química e o comportamento culinário deste cereal isento de glúten foram também estudados, como ponto de referência para a discussão dos resultados relativos aos pseudocereais.

1.4. Nutrientes

1.4.1. Proteínas e Aminoácidos

As proteínas presentes nos alimentos são compostos orgânicos complexos que contêm hidrogénio, oxigénio, azoto, enxofre, carbono, entre outros, sendo que quimicamente apresentam-se como polímeros naturais de aminoácidos. As proteínas são hidrolisadas no durante a digestão, sendo os aminoácidos resultantes posteriormente distribuídos pelas células do organismo.

O nosso organismo metaboliza 20 aminoácidos diferentes para manter todas as suas funções e estruturas (Lodish et al., 2000; Lozano et al., 1995). Do ponto de vista nutricional, os aminoácidos podem dividir-se em essenciais - aminoácidos que não podem ser produzidos pelo organismo humano – e não essenciais – aminoácidos que apesar de assim denominados, não são dispensáveis. A título de exemplo é de referir que a cisteína e a tirosina são importantes para o saudável funcionamento do organismo adulto, mas não são essenciais, uma vez que podemos sintetizar o primeiro a partir da metionina e o segundo da fenilalanina (WHO, 2007).

Existem também aminoácidos que são frequentemente denominados de “condicionalmente” essenciais, o que significa que eles não são normalmente necessários na dieta mas, sob condições fisiológicas ou patológicas específicas, este não consegue sintetizá-los em quantidades adequadas, torna-se

indispensável a sua ingestão (WHO, 2007). As limitações à síntese de aminoácidos podem resultar de vários fatores: em primeiro lugar, a síntese exige a existência de outro aminoácido, quer como doador de carbono ou como doador de um grupo funcional, tal como o grupo sulfuroso da cisteína. Assim, a capacidade do organismo em sintetizar um aminoácido condicionalmente essencial depende da disponibilidade de seu aminoácido precursor, um ponto que foi realçado por Rose nos seus estudos das interações na alimentação entre glutamato, prolina e arginina (Shelton, 1951). Em segundo lugar, alguns aminoácidos só podem ser sintetizados em certos tecidos. Por exemplo, a síntese da prolina e arginina é dependente do metabolismo intestinal (G. Wu, Davis, & Flynn, 1997). Além do mais, no caso destes dois aminoácidos, os dados disponíveis sugerem que os aminoácidos precursores provenientes da dieta são fundamentais em oposição aos sistêmicos (Berthold, Reeds, & Klein, 1995; Brunton et al., 2008; Murphy, Murch, & Ball, 1996; Tapiero, Mathé, Couvreur, & Tew, 2002). Estes dados apontam para a relevância que alterações no metabolismo intestinal ou na digestão podem na capacidade do organismo sintetizar estes aminoácidos. (Brunton et al., 1999). Em terceiro e último lugar, a maioria dos dados sugerem que, mesmo na presença de quantidades abundantes de precursores apropriados, as quantidades de aminoácidos condicionalmente essenciais que podem ser sintetizados podem ser limitadas (Berthold et al., 1995; Fukagawa, Yu, & Young, 1998; Tapiero et al., 2002). Em circunstâncias fisiopatológicas particulares as exigências metabólicas de aminoácidos podem subir para valores além da capacidade de biossíntese do organismo. Além do mais, em indivíduos imaturos, tal como em crianças de baixo peso à nascença, é possível que a síntese do aminoácido condicionalmente essencial possa ser

limitada por uma clara falta de atividade enzimática (Shoveller, Stoll, Ball, & Burrin, 2005).

O conteúdo dos AAE pode ser usado para estimar o *score* de aminoácidos corrigido para a digestibilidade (PDCAAS, *Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score*), que mede a qualidade das proteínas alimentares nas diferentes fases da vida (WHO, 2007). A qualidade da proteína depende, portanto, não só da composição de aminoácidos, mas também da sua digestibilidade.

As estimativas de ingestão adequada em aminoácido para adultos são apresentados na Tabela 1.2. Estes valores calculados pela FAO são segundo esta organização os valores mínimos de ingestão adequados para os aminoácidos essenciais e serão utilizados neste projeto para o cálculo do PDCAAS (WHO, 2007).

Tabela 1.2 – Necessidades em aminoácidos para adultos, segundo a WHO/FAO/UNO.

Aminoácido	mg/kg/dia	mg/g proteína
Histidina (His)	10	15
Isoleucina (Ile)	20	30
Leucina (Leu)	39	59
Lisina (Lys)	30	45
Metionina + Cisteína (SAA)	15	22
Metionina (Met)	10	16
Cisteína (Cys)	4	6
Fenilalanina + Tirosina (AAA)	25	38
Treonina (Thr)	15	23
Triptofano (Tyr)	4	6
Valina (Val)	26	39

SAA – Aminoácidos Sulfurados; AAA - Aminoácidos aromáticos

1.4.2. Folatos

O folato ou vitamina B9 é um termo genérico para tetrahydrofolato (THF) e engloba todos os que ocorrem naturalmente bem como formas sintéticas. Quimicamente, os folatos são moléculas compostas de uma pterina, uma molécula de ácido p-aminobenzóico (pABA) e ácido glutâmico (Figura 1.4).

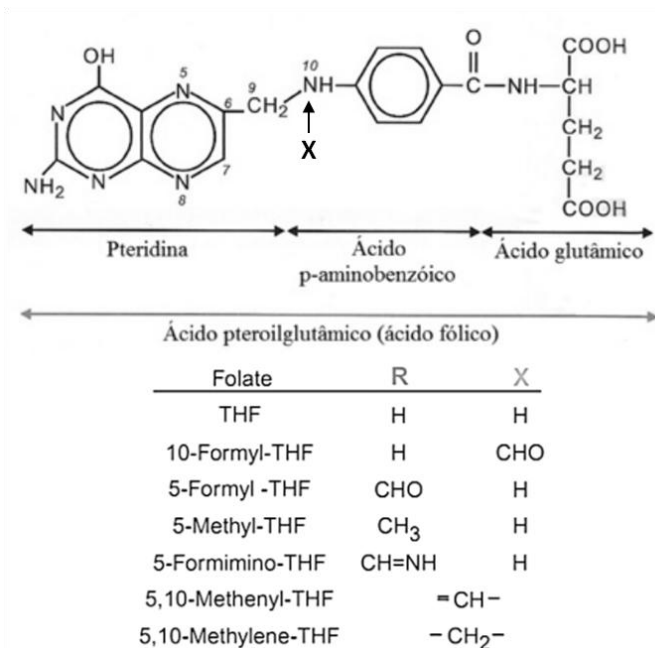


Figura 1.4 - Estrutura química do ácido fólico e seus derivados (10-formiltetrahidrofolato; 5-formiltetrahidrofolato; 5-metiltetrahidrofolato; 5-formiminotetrahidrofolato; 5,10-meteniltetrahidrofolato; 5,10-metilenotetrahidrofolato).

Nos alimentos os folatos podem conter misturas de pteroilmonoglutamato e pteroilpoliglutamato com 2 a 7 resíduos de glutamato (Molloy, 2013). As diferentes formas poliglutâmicas de folato devem de ser hidrolisadas para formas de monoglutamato possibilitando a sua absorção ao longo de todo o intestino delgado, com maior ênfase, no jejuno proximal. Essa hidrólise é levada a cabo pela enzima intestinal folipoli- γ -glutamato carboxipeptidase (FGCP) (Finglas, Witthöft, et al., 2002; Gregory, Quinlivan, & Davis, 2005). A FGCP tem um pH ótimo de funcionamento entre 6.7 e 7.0 (Eitenmiller, Jr, & Ye, 2007), sendo o Zn^{2+} seu cofator (Eitenmiller et al., 2007; Finglas, Hart, et al., 2002). Os alimentos crus contêm a enzima FGCP, por isso podemos encontrar naturalmente as várias formas glutâmicas de folatos num alimento.

A forma monoglutâmica absorvida é metabolizada no interior do enterócito para 5-metiltetrahidrofolato (5-MTHF) e transportado através da veia porta hepática (Finglas, Hart, et al., 2002). O fígado possui uma baixa afinidade para a forma 5-MTHF, conseqüentemente, uma grande proporção de 5-MTHF prossegue para a circulação sistêmica (A. J. A. Wright, Dainty, & Finglas, 2007).

A quantidade de folatos presente naturalmente nos alimentos varia bastante. Alimentos descritos como fonte de folatos naturais incluem as ervilhas e feijões, vegetais de folha verde e frutos como a laranja (DoC, 2012). Os folatos podem também ser encontrados em extrato de levedura, grãos integrais, nozes, abacate e em vísceras de animais, como fígado e rim (Truswell, 2003).

Tal como acontece com outras vitaminas, o armazenamento e os processamentos culinários, levam a uma degradação dos folatos. Encontra-se descrito que, por exemplo em vegetais de folha verde as perdas em folatos situam-se entre 50 a 80 % (McNulty & Pentieva, 2007).

A deficiência nutricional em folatos é comum nos indivíduos cuja dieta tem deficiência neste nutriente (WHO & FAO, 2004). Esta deficiência pode ser exacerbada por condições de má absorção como acontece, por exemplo, em indivíduos com doença celíaca. As grávidas têm risco aumentado de deficiência de folatos pois a gravidez aumenta significativamente as necessidades deste nutriente, especialmente, durante períodos em que o crescimento fetal é mais rápido (no segundo e terceiro trimestre) (McPartlin, Halligan, Scott, Darling, & Weir, 1993). Durante o aleitamento, as necessidades de folatos também aumentam. Um relatório conjunto WHO & FAO (2004), recomenda os valores de ingestão apresentados na Tabela 1.3.

Tabela 1.3 - Necessidades médias estimadas (EARs, estimated average requirement) e recomendações de ingestão (RNIs, recommended nutrient intakes) para o ácido fólico expresso em dietary folate equivalent (DFE), por faixa etária (WHO & FAO (2004).

Grupo etário	EAR (µg/dia)	RNI (µg/dia)
<i>Bebés e crianças</i>		
0-6 meses	65	80
7-12 meses	65	80
1-3 anos	120	150
4-6 anos	160	200
7-9 anos	250	300
10-18 anos	330	400
<i>Adultos</i>		
19-65 anos	320	400
+ 65 anos	320	400
<i>Grávidas</i>	520	600
<i>Lactantes</i>	450	500

De acordo com o mais recente relatório da Autoridade Europeia de Segurança Alimentar, (European Food Safety Authority, 2014b), a recomendação para a ingestão (PRI, *Population Reference Intakes*) estabeleceu-se em 330 µg DFE/dia para adultos. Na Tabela 1.4, encontra-se o sumário dos valores de referência (DRVs, *Dietary Reference Values*) para as diferentes faixas etárias e estados (European Food Safety Authority, 2014b).

Tabela 1.4 – Sumário dos valores de referência (DRVs, dietary reference values) para os folatos recentemente estabelecidos pela European Food Safety Authority (2014b)

Idade	AI (µg DFE/dia)	AR (µg DFE/dia)	PRI (µg DFE/dia)
7-11 meses	80		
1-3 anos		90	120
4-6 anos		110	140
7-10 anos		160	200
11-14 anos		210	270
≥ 15 anos		250	330
Gravidez		-	600 ^(a)
Aleitamento		380	500

^(a)AI– *Adequate Intake*

AR - *Average Requirement*

PRI - *Population Reference Intake*

DFE – µg folato alimentar x (1.7 X µg ácido fólico)

1.4.3. Micronutrientes – Minerais e Oligoelementos

Os minerais como o cálcio, potássio, sódio, fósforo e magnésio e oligoelementos como o ferro, cobre, zinco, selênio e manganês desempenham papéis fundamentais no metabolismo humano (Belitz & Grosch, 1999). Carências nestes elementos podem levar a alterações metabólicas e falhas orgânicas, com consequências graves e que podem originar doença aguda e crônica (Ozden, Erkan, & Ulusoy, 2010). Minerais como o cálcio, fósforo e magnésio, estão envolvidos no desenvolvimento e manutenção dos tecidos ósseos. O cálcio é um nutriente essencial, e uma ingestão inadequada e má absorção, pode resultar em perda de massa óssea que aumenta o risco de osteoporose ao longo do tempo (Amalraj & Pius, 2015; Zhu et al., 2013). O ferro é o oligoelemento mais abundante no corpo humano e uma ingestão diária insuficiente pode resultar em anemia (Ganz, 2007; Semmelrock et al., 2012). Está envolvido na eritropoiese, no transporte de oxigênio e de elétrons para dentro das células. A maior parte do ferro no organismo está presente como parte da hemoglobina e mioglobina (Ganz, 2007). O zinco é essencial para o crescimento, imunidade, metabolismo e reparação do ADN, reprodução, função cognitiva e comportamental (Black, 1998; Fraker & King, 2004).

Para adultos as recomendações de ingestão de cálcio, magnésio, ferro, zinco e selênio publicadas no relatório conjunto WHO & FAO, (2004) estão compiladas na Tabela 1.5. Neste trabalho, foram ainda consideradas os valores para a ingestão adequada (AI, *Adequate Intake*) que a EFSA tem vindo a publicar para elementos como o manganês (3 mg/dia, >18 anos) e o fósforo (700 mg/dia, >18 anos) (European Food Safety Authority, 2013, 2015b). Para o cobre, o *Scientific Committee on Food*, publicou em 1993 um PRI de 1,1 mg/dia para adultos (SCF,

1993). Para o potássio o mesmo comité estabeleceu uma recomendação de ingestão (RDI, *recommended daily intake*) entre 3,1 e 3,5 g/dia (SCF, 1993). Para o vanádio não foram estabelecidos DRVs pois ainda não existe evidência robusta para a essencialidade deste elemento no metabolismo humano (European Food Safety Authority, 2006).

Tabela 1.5 - RNIs para minerais e oligoelementos em adultos (WHO/FAO).

Adultos	Cálcio (mg/dia)	Selénio (µg/dia)	Magnésio (mg/dia)	Zinco (mg/dia)			Ferro(mg/dia)
				Biodisponibilidade			15 %*
				Elevada	Moderada	Baixa	
Mulheres 19–50 anos	1000	26	220	3,0	4,9	9,8	19,6
Homens 19–65 anos	1000	34	260	4,2	7,0	14,0	9,1

* Dietas com consumo moderado de peixe/carne nas duas refeições principais do dia.

1.5. Contaminantes Químicos

– Acrilamida

A acrilamida, também designada por 2-propanamida, embora seja produzida comercialmente há vários anos e tendo sido classificada *pela International Agency for Research on Cancer* em 1994 como sendo um composto potencialmente cancerígeno para os humanos (grupo 2A), só posteriormente se demonstrou que este composto pode ser formado durante o processamento de alimentos. Assim, em Abril de 2002, a *National Food Administration* da Suécia e a Universidade de Estocolmo divulgaram que encontraram níveis elevados de acrilamida em alguns alimentos quando processados a altas temperaturas (Pedreschi, Mariotti, & Granby, 2014; Wang, Lee, Shuang, & Choi, 2008). A presença de contaminantes tóxicos em alimentos tem vindo a aumentar nos últimos anos, demonstrando ser uma preocupação a nível mundial, originando assim inúmeros estudos de modo a avaliar o risco que estes acarretam para a saúde da população (Can & Arli, 2014).

A acrilamida é formada nos alimentos no decurso das reações de Maillard que geralmente ocorrem entre o grupo amina livre de aminoácidos, em particular a asparagina, e o grupo carbonilo de açúcares redutores a uma temperatura acima de 120 °C (Michalak, Gujska, & Kuncewicz, 2013). A quantidade de acrilamida formada depende das concentrações iniciais destes precursores, bem como da temperatura e da duração do tratamento térmico, da atividade da água e do pH. A formação deste composto aumenta com a temperatura de processamento e com a duração, sendo que existe ainda uma maior formação de acrilamida em produtos com um pH mais básico. Por outro lado, a sua formação aumenta à medida que a atividade da água diminui (De Vleeschouwer, Van der Plancken, Van Loey, & Hendrickx, 2006; Pedreschi et al., 2014).

A preocupação com a sua formação nos alimentos advém de vários estudos experimentais realizados em animais terem demonstrando que a acrilamida produz efeitos neurotóxicos e cancerígenos. Após a exposição por via oral, a acrilamida é rapidamente absorvida no trato gastrointestinal e distribuída até aos tecidos e órgãos. No fígado, a acrilamida é metabolizada em glicidamida, via citocromo P450 2E1 (CYP2E1) sendo este metabolito causador de mutações ao nível do ADN nos animais. Este intermediário é mais reativo com o ADN e com as proteínas do que a acrilamida (WHO, 2002).

Estudos realizados em ratos demonstram que a acrilamida pode induzir um aumento da incidência de cancro cerebral ao nível do sistema nervoso central, na tiroide e em outras glândulas endócrinas e em órgãos reprodutores. Tanto a acrilamida como a glicidamina podem atuar desta forma, como agentes alquilantes que induzem mutações no ADN, estando na origem do processo de carcinogénese (Friedman, 2003).

No entanto, apesar de não existirem evidências robustas relativamente ao seu potencial efeito cancerígeno nos humanos, as autoridades europeias e nacionais recomendam reduzir o conteúdo de acrilamida nos alimentos. Torna-se portanto necessário avaliar as estratégias para minimizar a ocorrência de acrilamida nos alimentos (Kettlitz, 2011).

Desde 2002, a indústria alimentar, os Estados-Membros e a Comissão Europeia têm desenvolvido esforços consideráveis na investigação das vias de formação da acrilamida e na redução dos teores desta substância nos alimentos transformados. Daqui resulta a publicação de valores indicativos para a acrilamida em alimentos processados, baseados nos dados de monitorização da EFSA durante o período 2007-2012 onde se destacam: cereais de pequeno-almoço contendo produtos à base de milho, aveia, espelta, cevada e arroz – 200 µg/kg, alimentos à base de cereais transformados destinados a lactentes e crianças jovens, exceto bolachas e tostas – 50 µg/kg (União Europeia, 2013).

– Metais e Metaloides

A exposição a metais pesados com ao chumbo, cádmio, mercúrio e arsénio constitui uma importante ameaça à saúde humana. Apesar dos vários efeitos adversos para a saúde e dos conhecidos efeitos da exposição contínua, observa-se ainda aumento de exposição em algumas partes do mundo, em particular em países menos desenvolvidos, embora as emissões tenham diminuído na maioria dos países desenvolvidos ao longo dos últimos 100 anos.

O arsénio é o vigésimo elemento mais abundante na crosta terrestre, e encontra-se presente nos solos, água e ar (Tamaki & Frankenberger, 1992). Dados epidemiológicos indicam que a mais importante fonte de exposição ao arsênico são as águas subterrâneas contaminadas. Os efeitos de toxicidade crónicos após

exposição ao arsênio que têm sido relatados dizem respeito, na sua maioria a contaminação generalizada de águas de consumo e para uso agrícola (Merola, Hien, Quyen, & Vengosh, 2015; Mukherjee et al., 2006). Tem sido reconhecido que o consumo de alimentos ou água contaminados com arsênio leva a processos de carcinogênese (Mandal & Suzuki, 2002).

A toxicidade do arsênio depende da forma química e de valência em que se apresenta: formas inorgânicas são muito mais tóxicas do que as orgânicas, o arsênico trivalente é mais tóxico do que o arsênico pentavalente. A absorção do arsênio inorgânico (AsI) é muito influenciada pela solubilidade do composto de arsênio. O arsenito (As (III)) e arseniato (As (V)) na água de beber são completamente absorvidos de forma rápida. As formas de AsI (As (III) e As (V)) são mais tóxicas do que os compostos de arsênio orgânicos arsenobetaína (AsB), ácido dimetilarsínico (DMA). Embora ambas as formas de arsênio inorgânico sejam potencialmente prejudiciais para a saúde humana o As (III) é considerado mais prejudicial do que o As (V) (Hughes, Beck, Chen, Lewis, & Thomas, 2011). A Agência Internacional de Investigação do Cancro (IARC) classificou as formas de arsênio e de AsI como "cancerígeno para os seres humanos" (Grupo 1) (IARC, 1980).

Nos alimentos as concentrações de arsênio variam e plantas que crescem em solos ricos arsênico pode acumular níveis muito mais elevados. A concentração de As na planta do arroz é cerca de dez vezes maior do que outros cereais, devido ao seu cultivo em zonas alagadas, onde a mobilidade do arsênio é alta (Rahman, Hasegawa, Rahman, Rahman, & Miah, 2007; Rahman & Hasegawa, 2011; Tuli, Chakrabarty, Trivedi, & Tripathi, 2010).

A EFSA publicou um relatório técnico com níveis de ocorrência de exposição onde reporta que os principais contribuintes para a exposição alimentar ao AsI foram as subclasses de alimentos de grãos de cereais e produtos à base de cereais, seguido por alimentos destinados a usos nutricionais específicos (onde se incluem suplementos alimentares e os alimentos destinados a fins medicinais específicos), água mineral, café e cerveja, grãos de arroz e produtos à base de arroz, peixe e legumes (European Food Safety Authority, 2014a). O mesmo relatório estima que o consumo de três porções (90 g/dia) de alimentos para lactentes à base de arroz representa uma importante fonte de AsI (1,59-1,96 µg/kg de massa corporal/dia). A exposição alimentar ao arsénio na forma inorgânica nas crianças com menos de três anos de idade, incluindo através de alimentos à base de arroz, é geralmente estimada como sendo cerca de duas a três vezes superior à dos adultos. Segundo recomendação publicada no relatório da 8ª Sessão do Comitê do *Codex Alimentarius* de 2014 sobre Contaminantes em Alimentos (WHO & FAO, 2014) o limite máximo admitido para o arsénio inorgânico, no arroz polido, foi fixado em 0,2 mg/kg. Como o arroz é um ingrediente importante numa grande variedade de alimentos para lactentes e crianças jovens, a União Europeia publicou recentemente um regulamento que estabelece um teor máximo de AsI específico para o arroz e produtos que utilizam o arroz como ingrediente. Ficou estabelecido para arroz branqueado não estufado (arroz polido ou branco) 0,2 mg/kg de arsénio na forma inorgânica, soma de As(III) e As(V) (Comissão das Comunidades Europeias, 2015).

Recentemente com o Regulamento Nº 488/2014 foram atualizados os teores máximos de cádmio (Cd) em grãos de trigo, grãos de arroz, sêmea e gérmen de trigo e grãos de soja em 0,2 mg/kg (Comissão Europeia, 2014). Para o chumbo o

teor máximo em cereais, com exceção de sêmea, gérmen, trigo e arroz é de 0,1 mg/kg e para a sêmea, gérmen, trigo e arroz é de 0,2 mg/kg (Comissão das Comunidades Europeias, 2006).

1.6. Bioacessibilidade e Biodisponibilidade

O potencial nutricional dos alimentos não se resume à soma de seus nutrientes. Aspectos como a estrutura, a bioacessibilidade e a biodisponibilidade, têm um papel muito importante na compreensão do potencial global dos alimentos. Assim o estudo do processo de digestão, evidenciando quais os nutrientes ingeridos e em que quantidades ficam disponíveis para a absorção intestinal e posterior utilização pelo organismo, é de vital importância. É neste contexto que surgem então os conceitos de bioacessibilidade e biodisponibilidade, que, de uma forma geral, se referem à fração dos constituintes dos alimentos ingeridos que pode de facto ser utilizada nos processos metabólicos do organismo.

A bioacessibilidade representa a fração de um dado nutriente que é libertada da matriz do alimento no trato gastrointestinal, tornando-se solúvel e disponível para ser absorvida (Holst & Williamson, 2008). Para o conceito de biodisponibilidade existem várias definições. Entre elas: a proporção do elemento consumido que é utilizado para uma função fisiológica ou bioquímica (O'Dell & Sunde, 1997); o grau em que um nutriente ingerido, proveniente de uma fonte particular, é absorvido numa forma que possa ser utilizada no metabolismo pelo animal (Ammerman, Baker, & Lewis, 1995); a fração do nutriente ingerido que é utilizado para as funções fisiológicas normais ou de armazenamento (Fairweather-Tait, 1997). Nesta tese, o termo bioacessibilidade será utilizado para designar a fração dos nutrientes que é libertada da matriz do alimento no trato gastrointestinal,

tornando-se solúvel e disponível para ser absorvida e por biodisponibilidade a fração que é de facto absorvida. Vários fatores podem afetar a bioacessibilidade/biodisponibilidade de nutrientes, incluindo a forma química do nutriente no alimento, a natureza da matriz dos alimentos, as interações que ocorrem entre os nutrientes desse alimento e de outros que com ele são ingeridos e o pré-tratamento do alimento durante o processamento e/ou preparação (Gibson et al., 2006).

Para o estudo da bioacessibilidade, os métodos *in vitro* que simulam os processos de digestão são muito utilizados para avaliar o comportamento gastro-intestinal dos alimentos ou de medicamentos. Apesar dos estudos clínicos em humanos continuarem a ser o *gold standard* para o estudo da nutrição, os métodos *in vitro* têm a vantagem de serem mais rápidos, menos dispendiosos, menos trabalhosos e não têm restrições éticas. Isto permite o estudo de um número relativamente elevado de amostras em paralelo. A reprodutibilidade, a escolha de condições controladas e a fácil amostragem em pontos de interesse tornam os modelos *in vitro* bastante adequados para estudos mecanísticos e para construção de hipóteses (Hur, Lim, Decker, & McClements, 2011).

Os métodos de simulação da digestão incluem normalmente as fases oral, gástrica e do intestino delgado e, ocasionalmente, a fermentação do intestino grosso. Estes métodos tentam replicar as condições fisiológicas *in vivo*, tendo em conta a presença de enzimas digestivas e as suas concentrações, o pH, o tempo de digestão, as concentrações de sal, entre outros fatores. Alguns modelos do trato gastrointestinal computadorizados sofisticados como os desenvolvidos pela TNO (Holanda), pelo IFR (*Institute of Food Research*, Reino Unido) ou pelo INRA (*National Institute for Agricultural Research*, França) permitem a simulação de

aspectos dinâmicos da digestão, como o transporte dos alimentos digeridos, as concentrações variáveis de enzimas e as mudanças do pH ao longo do tempo. Contudo, a maioria dos modelos descritos na literatura são estáticos, ou seja, modelos com rácios constantes de alimentos e enzimas, sal, ácidos biliares, etc. para cada passo da digestão (Minekus et al., 2014).

Os modelos estáticos da digestão humana têm sido utilizados para responder a um grande número de questões científicas como a digestibilidade ou a bioacessibilidade de fármacos, micotoxinas e macronutrientes como proteínas, hidratos de carbono e lípidos. Estes modelos também têm sido utilizados para estudar a libertação da matriz alimentar de micronutrientes como os minerais e oligoelementos, além de compostos vegetais secundários como carotenoides e polifenóis. Alguns métodos de digestão são usados para produzir frações bioacessíveis que podem ser usadas para aprofundar outras questões, tais como as relacionadas com o transporte intestinal, através do uso de células Caco-2 (Couëdelo et al., 2015; Vors et al., 2012).

Verifica-se, no entanto, uma variação significativa na parametrização das condições aplicadas entre modelos *in vitro* analisados na literatura, impedindo a possibilidade de comparar resultados entre grupos de trabalho e de deduzir conclusões gerais (McClements & Li, 2010; Williams et al., 2012). Enquanto para alguns componentes, alterar alguns destes parâmetros (concentração enzimática, pH, etc) pode ter um impacto limitado na libertação da matriz alimentar ou digestibilidade, para outros pode haver um grande impacto. A atividade enzimática é também alterada pelo pH e pela concentração de sais, tais como o cálcio. Nos diferentes estudos podemos encontrar variações em todos estes parâmetros.

Nesta tese o método de digestão escolhido, para o estudo da bioacessibilidade dos diferentes nutrientes, resulta do trabalho do projeto *COST action INFOGEST22* constituído por uma rede internacional, composta por mais de 200 cientistas de 32 países que trabalham no estudo da digestão. Um dos objetivos da rede foi consolidar condições para a simulação da digestão dos alimentos criando um consenso para um modelo *in vitro* de digestão. O grupo de trabalho assumiu que não há condições descritas adequadas para todas as questões de pesquisa. No entanto, observou-se um esforço para descrever um conjunto de condições que estejam perto da situação fisiológica, e possam ser vistas como uma sugestão de base para abordar as várias questões de investigação (Minekus et al., 2014).

Encontram-se na literatura alguns estudos sobre avaliação da bioacessibilidade, no entanto no que diz respeito à avaliação da bioacessibilidade dos diferentes nutrientes nos pseudocereais os estudos são ainda poucos. Para a quinoa e amaranto, mas não para o trigo-sarraceno, podemos encontrar estudos especialmente dedicados à bioacessibilidade de minerais (Gautam, Platel, & Srinivasan, 2010; Repo-Carrasco-Valencia, Encina, Binaghi, Greco, & Ronayne de Ferrer, 2010; Tognon, 2012). Nesta tese, descreve-se pela primeira vez, o estudo da bioacessibilidade de um conjunto alargado de nutrientes em pseudocereais sujeitos a processos culinários de cozedura ou maltagem, recorrendo a um método harmonizado *in vitro* para o estudo da digestão.

2. Objetivos

O principal objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da maltagem e da confeção (cozedura e cozedura a vapor) no valor nutricional e na bioacessibilidade de nutrientes dos pseudocereais amaranto, quinoa e trigo-sarraceno, com vista à incorporação destes ingredientes em produtos alimentares destinados a fins medicinais específicos. Como termo de comparação foi avaliado o efeito da cozedura no valor nutricional e na bioacessibilidade de nutrientes do arroz branco polido (agulha e carolino). Para atingir este objetivo, foram delineados os seguintes objetivos específicos:

- Avaliar a conteúdo em macronutrientes (proteína, gordura e amido), fibra, cinzas e humidade das sementes cruas de pseudocereais (amaranto, quinoa e trigo-sarraceno) e de arroz branco polido (agulha e carolino)
- Quantificar os teores de aminoácidos essenciais, não essenciais e condicionalmente essenciais das sementes cruas de pseudocereais (amaranto, quinoa e trigo-sarraceno) e de arroz branco polido (agulha e carolino) e avaliar a qualidade proteica dos grãos calculando os seus PDCAAS.
- Quantificar os teores em folatos das sementes cruas de pseudocereais (amaranto, quinoa e trigo-sarraceno) e de arroz branco polido (agulha e carolino).
- Determinar o conteúdo em elementos com interesse nutricional ou toxicológico, nomeadamente, minerais (sódio, potássio, fósforo, magnésio e cálcio), oligoelementos (ferro, zinco, manganês e cobre), elementos traço (molibdénio, estrôncio, cobalto, crómio, lítio, vanádio, níquel e selénio) e

metais pesados (arsénio, cádmio e chumbo) nas sementes cruas de pseudocereais (amaranto, quinoa e trigo-sarraceno) e de arroz branco polido (agulha e carolino).

- Avaliar o efeito da maltagem e da confeção (cozedura e cozedura a vapor) do amaranto, da quinoa e do trigo-sarraceno na qualidade proteica e no conteúdo em folatos, minerais (sódio, potássio, fósforo, magnésio e cálcio) e oligoelementos (ferro, zinco, manganês e cobre); avaliar o efeito da cozedura do arroz branco polido (agulha e carolino) na qualidade proteica e no conteúdo em folatos, minerais e oligoelementos.
- Avaliar a evolução dos teores em acrilamida da quinoa quando sujeita ao processo de torragem com vista ao desenvolvimento de aromas potencialmente mais apreciados pelos consumidores.
- Avaliar o efeito da maltagem e da confeção (cozedura e cozedura a vapor) do amaranto, da quinoa e do trigo-sarraceno na bioacessibilidade de aminoácidos essenciais, não essenciais e condicionalmente essenciais, de folatos, de minerais (sódio, potássio, fósforo, magnésio e cálcio) e de oligoelementos (ferro, zinco, manganês e cobre); avaliar o efeito da cozedura do arroz branco polido (agulha e carolino) na bioacessibilidade de aminoácidos essenciais, não essenciais e condicionalmente essenciais, de folatos, de minerais e de oligoelementos.
- Avaliar o efeito da granulometria de farinhas de quinoa crua na bioacessibilidade de aminoácidos essenciais, não essenciais e condicionalmente essenciais, de folatos, de minerais (sódio, potássio, fósforo, magnésio e cálcio) e de oligoelementos (ferro, zinco, manganês e cobre).

3. Material e Métodos

3.1. Amostragem e preparação da amostra

A amostragem realizada nesta tese inicia-se em 2010. Exemplares de sementes de amaranto de Jujuy e quinoa de Salta e Jujuy foram obtidos através da Cooperativa dos Produtores Cauqueva-Tilcara - Argentina. As sementes de trigo-sarraceno, amaranto e quinoa utilizadas durante os estudos do efeito da confeção e da maltagem na composição e na biodisponibilidade nutricional são de agricultura biológica e foram obtidos no mercado português. As amostras de arroz polido branco foram obtidos a partir de fábricas locais em Portugal, tendo a sua origem nas suas principais áreas geográficas de cultura – o Ribatejo e o Sado. De acordo com um plano de amostragem seletiva, foram obtidas cinco amostras primárias de cada espécie e região geográfica. As amostras de quinoa e arroz foram recolhidas durante três anos consecutivos, as amostras de amaranto e de trigo-sarraceno foram recolhidas durante dois anos consecutivos.

As amostras foram preparadas imediatamente após a receção no laboratório. Cada amostra de quinoa foi lavada com durante 3 minutos em água corrente com o objetivo de eliminar saponinas e o sabor amargo. Para a amostra sujeita à análise dos nutrientes no grão cru, após a lavagem procedeu-se a uma secagem a 40° C durante 6 horas. O plano de amostragem encontra-se descrito na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 - Plano de amostragem

Amostra	Origem Geográfica	Anos	Numero Amostras	Preparação
Quinoa	- Argentina - Salta	2011	10	- Crua
	- Argentina - Jujuy	2012		
		2013		
	Agricultura Biológica	2014	2	- Crua - Cozida - Vapor - Torragem
	Agricultura Biológica	2015	1	- Crua - Maltagem
Amaranto	- Argentina - Jujuy	2011	10	- Cru
	- Agricultura Biológica (América Sul)	2012		
	Agricultura Biológica	2014	2	- Cru - Cozido - Vapor
	Agricultura Biológica	2015	1	- Cru - Maltagem
Trigo-Sarraceno	- Agricultura biológica (China e Índia)	2013	5	- Cru
	- Agricultura biológica	2014	2	- Cru - Cozido - Vapor
	- Agricultura biológica	2015	1	- Cru - Maltagem
Arroz (Carolino/Agulha)		2010	12	- Cru - Cozido
	- Ribatejo	2011		
	- Sado	2012		
		2014		

Para as diferentes análises de caracterização nutricional em macro, micronutrientes e contaminantes as amostras (cruas, cozinhadas e maltes) foram sujeitas a uma moagem em moinho Grindomix[®] GM a 6000 rpm, durante 2 minutos até à obtenção de farinha fina ou pasta uniforme.

Para os ensaios de bioacessibilidade as amostras cruas e os maltes foram sujeitas a uma moagem em almofariz e pilão, durante 2 minutos. As amostras cozinhadas foram sujeitas a uma moagem a 2000 rpm num moinho de facas durante 1 minuto, tendo sido obtida uma pasta de aspeto e granulometria semelhante às trituradas no pilão.

No caso da quinoa foi avaliado o efeito da granulometria na bioacessibilidade. Foram testadas dois graus de moagem, a moagem grossa, que pretendia simular a mastigação, realizada em almofariz e pilão, durante 2 minutos, e a moagem fina, realizada no moinho Grindomix[®] GM a 6000 rpm durante 2 minutos.

As amostras de laboratório cruas foram armazenadas à temperatura ambiente. As amostras cozinhadas foram liofilizadas para a realização dos ensaios de caracterização nutricional em aminoácidos, micronutrientes e contaminantes, ou congeladas para a realização dos ensaios em macronutrientes ou ensaios de bioacessibilidade. Todas as amostras foram armazenadas em sacos de vácuo de folha de alumínio, até posterior processamento.

Cada amostra primária após a respetiva preparação foi analisada separadamente. Para análise dos macronutrientes, todos os ensaios foram realizados em duplicado, para análise de minerais e elementos vestigiais, composição em aminoácidos e folatos os ensaios foram realizados em triplicado.

3.1.1. Processamento culinário

Cada amostra primária foi sujeita aos processos culinários adequados à sua natureza. Tal como na análise das amostras cruas, a quinoa foi lavada durante 3 minutos em água corrente, tal como indicado na embalagem, e escorrida, antes de ser cozinhada. Os pesos das diferentes amostras após o processamento foram

registados para posterior cálculo de rendimentos. Todas as amostras foram cozinhadas em triplicado.

– Cozedura em água

As amostras, cozidas em água e cozidas a vapor, foram cozinhadas num robot de cozinha *Termomix*® TM31 que permite replicar em todas as cozeduras as mesmas condições de processamento. As cozeduras foram feitas unicamente com água ultrapura, sem adição de sal ou gordura.

Na cozedura dos pseudocereais e do arroz, para cada 50 g de amostra crua, foram adicionados 150 g de água ultrapura. O processador de alimentos foi programado para 100 °C durante 15 minutos. Após terminar a cozedura as amostras foram deixadas a repousar durante mais 5 minutos.

– Cozedura a vapor

Os pseudocereais foram colocados num cesto perfurado forrado com folha de papel vegetal. Para cada 50 g de amostra crua foram adicionados 30 g de água para hidratação. Para produzir vapor foram adicionados 700 g de água ao robot de cozinha programado para 25 minutos de cozedura para a quinoa e trigo-sarraceno e 30 minutos para o amaranto.

– Torragem

As torragens foram feitas em frigideira antiaderente, numa placa de aquecimento termostaticada. Para a quinoa, 100 g de grãos, foram torrados em frigideira a uma temperatura de cerca de 190 °C durante 5 minutos.

3.1.2. Maltagem

Após ensaios preliminares estabeleceram-se as condições de demolha, germinação e secagem, descritos na Tabela 3.2. A demolha foi feita com água desionizada mantendo o rácio massa de água/massa de sementes igual a 10.

Tabela 3.2 - Maltagem dos pseudocereais

Alimento	Tempo demolha	Germinação		Secagem	
		Tempo	Temperatura	Tempo	Temperatura
Amaranto	6 horas	24 horas	25°C	22 horas	43°C
Quinoa	6 horas	24 horas	25°C	24 horas	43°C
Trigo-sarraceno	13 horas	48 horas	25°C	24 horas	40°C

O tempo de demolha foi determinado avaliando a evolução do peso das sementes durante a demolha. Considerou-se que a demolha terminava quando o peso das sementes se aproximava do máximo. Durante a germinação, as sementes foram colocadas numa câmara escura e foram periodicamente pulverizadas com água destilada para evitar que secassem. Consideraram-se germinados os grãos que desenvolveram uma protusão visível na zona radicular. A fração germinada foi definida como o rácio entre o número de sementes germinadas no final do tempo de germinação e o número inicial de sementes.

A secagem foi efetuada num desidratador de alimentos com circulação de ar quente (Excalibur®). Nesta etapa pretendeu-se baixar a humidade das sementes para valores inferiores a 5% (p/p) (Serna-Saldivar, 2010).

3.2. Métodos analíticos

3.2.1. Macronutrientes

As amostras cruas foram caracterizadas relativamente ao seu conteúdo em humidade, cinza, proteína, gordura, fibra e amido. Nas amostras processadas

foram avaliados os teores de humidade e de proteína. Os métodos analíticos, estabelecidos no Laboratório de Química do Departamento de Alimentação e Nutrição do INSA, e respetivo controlo de qualidade encontram-se descritos e publicados na revista *Food Chemistry* por Nascimento, Mota et al., 2014.

Para as amostras sujeitas a processamento culinário apenas foram determinados dois parâmetros (humidade e proteína).

– **Determinação de água / humidade / resíduo seco em géneros alimentícios**

O método consiste na evaporação da água existente na amostra por secagem em estufa até obtenção de peso constante. A amostra deve encontrar-se devidamente homogeneizada, de forma a garantir que não haja separação de nenhum constituinte da amostra. A humidade foi determinada pelo método da AOAC 952,08 (AOAC, 2000). Duas porções de ensaio (5,0 g) foram pesadas para cápsulas e colocadas numa estufa de ar seco a $102\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2 h. As cápsulas foram removidas e arrefecidas num exsiccador e pesadas. Este processo foi repetido até se obter peso constante.

– **Determinação de azoto total (Proteína)**

O conteúdo em azoto total das amostras foi determinado em duplicado pelo método de Kjeldahl. Este método contempla três etapas distintas: a digestão, destilação e a titulação. As amostras são digeridas com ácido sulfúrico em combinação com um catalisador de cobre para sulfato de amónio, utilizando um sistema de digestão *Foss Tecator 2006 Digestor* (Höganäs, Suécia) e um *Foss Tecator 2800 Unit Kjeltac AutoDistillation*. O amónio é, em seguida, libertado por elevação do pH na unidade de destilação, e titulado com um sistema de titulação automática, *Titrande 808* da Metrohm. O teor de proteína foi calculada utilizando o

fator de conversão *Jones* de 6,25 para os pseudocereais e 5,95 para o arroz, de acordo com (FAO, 1973). Os resultados são expressos em g/100 g de parte edível com base no peso fresco ou em g/100 g de peso seco. Os valores de proteína obtidos foram comparados com a soma dos AA de acordo com recomendações da FAO (2002).

– Determinação de cinza em géneros alimentícios

O método consiste na incineração em mufla da matéria orgânica existente na amostra. A cinza foi determinada pelo método 923.03 da AOAC (2000). Foi utilizada uma mufla M110 (Heraeus Instruments, Germany). Duas porções de ensaio (5,0 g) foram pesadas para cadinhos e colocados, após carbonização em bico bunsen, numa mufla a $525\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 h. Os cadinhos foram removidos e arrefecidos num exsiccador e pesados. Este processo foi repetido até se obter peso constante.

– Determinação de gordura em géneros alimentícios

O método consiste na hidrólise ácida com subsequente extração em solvente da gordura total existente na amostra. A hidrólise ácida foi efetuada segundo o método 948.15 da AOAC (2000), seguida de extração recorrendo ao equipamento Soxhlet (Soxtec™ 2050). Duas porções de ensaio (5,0 g) foram pesadas e após hidrólise colocadas a extrair durante 1h e 30 minutos com éter de petróleo (40–60 °C) como solvente de extração. O resíduo obtido foi seco numa estufa de ar seco a $102\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 1 h e 30 minutos. Este processo foi repetido em intervalos de 30 minutos até se obter peso constante.

– Determinação de fibra total em géneros alimentícios

O teor de fibra total foi determinado pelo método enzimático-gravimétrico segundo o método 985.29, 1105 da AOAC (1990). O método consiste numa hidrólise

enzimática seguida da precipitação etanólica da fibra total presente. Duas porções de ensaio (0,5 g) foram pesadas. A hidrólise enzimática foi realizada incubando as amostras com α -Amilase (heat-stable), Protease (from *Bacillus licheniformis*) e Amiloglucosidase (from *Aspergillus Níger*), para remover o amido e proteína presentes na amostra. Após digestão as amostras foram precipitadas com etanol (96%) e filtradas por cadinhos porosos. Um ensaio em branco foi realizado utilizando o mesmo procedimento das amostras digeridas. O resíduo obtido foi seco numa estufa de ar seco a $102 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 1 h. Este processo foi repetido em intervalos de 30 minutos até se obter peso constante.

– Determinação de amido em géneros alimentícios

O teor de amido foi realizado recorrendo ao kit enzimático (Megazyme kit – K-TSTA 07/11). Este kit tem como base uma hidrólise enzimática recorrendo ao uso de α -Amilase (termoestável) e amiloglucosidade, segundo o método (McCleary, Gibson, & Mugford, 1997). O método consiste na hidrólise do amido em maltodextrinas, por ação da α -Amilase e sequente hidrólise das maltodextrinas em D-Glucose por ação da amiloglucosidade. A D-glicose é oxidada em D-gluconato que é medido quantitativamente numa reação colorimétrica lida a 510 nm.

3.2.2. Aminoácidos

Para determinação de aminoácidos totais (Histidina, Isoleucina, Leucina, Lisina, Metionina, Fenilalanina, Treonina e Valina como aminoácidos essenciais, Cisteína, Tirosina, Glicina, Arginina, e Prolina como condicionalmente essenciais e o Ácido Aspártico, Glutamina, Alanina e Serina como não essenciais) foi

utilizado um utilizando um cromatógrafo líquido de ultra eficiência com detetor de fotodiodo (UPLC-PDA).

É um método com uma elevada seletividade, sensibilidade, reprodutibilidade que permite reduzir o tempo de análise. Este método pressupõe uma derivatização em pré-coluna com 6-aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidil carbamato para transformar as aminas primárias e secundárias em derivados fluorescentes altamente estáveis.

As digestões da amostra foram realizadas utilizando um sistema de digestão por micro-ondas – sistema fechado, *Milestone ETHOS 1 Series*. Cada uma das amostras foi testada pelo menos em triplicado (30 mg) para vials de digestão de quartzo. Foi adicionado 1 mL de ácido clorídrico (6 N) contendo 0,5% de fenol e 200 µL de padrão interno (25 mM de D-Norvalina). A hidrólise em micro-ondas processa-se em condições anaeróbias utilizando um sistema de purga com azoto e uma bomba de vácuo que impede a oxidação de aminoácidos e a sua degradação, especialmente no caso da cisteína e da metionina. O programa de micro-ondas foi otimizado e estabelecido (15 minutos para aumentar a temperatura para os 160° C, 10 minutos a 160° C e 90 minutos para arrefecer).

Depois de finalizada a hidrólise os extratos são neutralizados com 1 mL hidróxido de sódio (6 N), e retomados para um volume final de 10 mL com água desionizada. Os hidrolisados são filtrados antes da derivatização. O processo de derivatização foi realizado a 55° C durante 10 minutos após adição de 80 µL de tampão, e 20 µL de reagente de derivatização a 10 µL de amostra num vial de cromatografia. A determinação cromatográfica foi realizada num sistema Acquity UPLC/PDA da Waters, de acordo com a nota do guia do sistema de aplicação do equipamento do fabricante (Waters, 2006). Foi usada uma coluna BEH C18 (100

mm X 2,1 mm, 1.7 μ m) com um fluxo de 0,7 mL/min, a 55° C. O volume de injeção foi de 1 μ L e o comprimento de onda de detecção foi de 260 nm. A fase móvel consiste em dois eluentes: AccQTag de ultra eluente A diluído em 95% de água desionizada e AccQTag de ultra eluente B. As condições de gradiente encontram-se na Tabela 3.4. Para a quantificação construiu-se uma curva de calibração com seis níveis preparada a partir de uma solução de *stock* contendo 2,5 mM de cada um dos aminoácidos, diluída em concentrações adequadas. Foi adicionado D-Norvalina como padrão interno para uma concentração final de 45,5 pmol (Tabela 3.3). Os cálculos foram realizados no *software Empower* da Waters®. Os aminoácidos derivatizados foram identificados por comparação com os tempos de retenção dos padrões e quantificados recorrendo ao rácio entre as áreas dos picos dos aminoácidos e a área do pico do padrão interno. Os resultados são expressos em g/100g de parte edível com base no peso fresco ou em g/100g de peso seco.

Tabela 3.3. Preparação da curva de calibração

	Volume Padrão (μL)	mM/μL	[picomol]
P1	20	0,004545	4,545
P2	40	0,009091	9,091
P3	70	0,015909	15,909
P4	150	0,034091	34,091
P5	260	0,059091	59,091
P6	420	0,095455	95,455
Norvalina	200	0,045455	45,455

Tabela 3.4. Gradiente a programar no cromatógrafo para análise de AA

Tempo (min)	%A	%B
0,00	99,9	0,1
0,54	99,9	0,1
5,74	90,9	9,1
7,74	78,8	21,2
8,04	40,4	59,6
8,64	40,4	59,6
8,73	99,9	0,1
9,50	99,9	0,1

Elementos relativos à performance do método e controlo de qualidade encontram-se publicados em (Mota et al., 2016) (Anexo A).

3.2.3. Folatos

Para a determinação simultânea de formas naturais de folatos, ácido fólico (FA), 5-metiltetrahidrofolato (5-MTHF), tetrahidrofolato (THF), 5-formiltetrahidrofolato (5-CHOTHF) e 10-formiltetrahidrofolato (10-CHOTHF), foi utilizado um cromatógrafo líquido de ultra eficiência com deteção por espectrometria de massa num triplo quadrupolo (UPLC-MS/MS). O método de determinação foi implementado por completo ao longo trabalho conducente a esta tese.

Os folatos foram extraídos da matriz por método trienzimático precedido de dissolução em solução tampão com pH 7.2. Para o desenvolvimento do método foram testados seis tampões, dois tampões fosfato descritos em grande parte da literatura (Chandra-Hioe, Bucknall, & Arcot, 2011; De Brouwer et al., 2008; Patring, Johansson, Yazynina, & Jastrebova, 2005) e quatro tampões bicarbonato, voláteis e por isso recomendados pelo fabricante como preferencial em análise com detetores de massas fabricados pela Waters. Foi também otimizada a constituição em antioxidantes de cada tampão (Tabela 3.5).

Tabela 3.5. Otimização de tampões e antioxidantes para análise de folatos

	Tampão	Concentração	Ácido Ascórbico (%)	DTT (%)
A1	Fosfato	0,05 M	1%	0,5%
A2	Fosfato	0,05 M	0%	0,5%
B1	Bicarbonato amónio	0,005 M	0%	0,5%
B2	Bicarbonato amónio	0,005 M	1%	0,5%
B3	Bicarbonato amónio	0,005 M	0%	1%
B4	Bicarbonato amónio	0,005 M	1%	1%

Para retirar todos os compostos sem interesse presentes nas amostras utilizou-se o processo de extração em fase sólida (SPE). O processo de limpeza da amostra incluiu o teste a dois processos de SPE, os mais referenciados pelos diferentes autores e um processo de ultrafiltração com filtros de 5 KDa de poro (Amicom). O método inclui a utilização de padrões internos de referência isotopicamente marcados ($^{13}\text{C}^5$ FA e $^{13}\text{C}^5$ 5-MTHF).

O fator de diluição usado foi o de 1 g de amostra para 10 mL de tampão bicarbonato 0.5 mM com 0.5% dieritrotietol (DTT) e 1% ácido ascórbico a pH 7.2 e à qual se adicionou padrão interno (100 ng/mL de ^{13}C FA e ^{13}C 5-MTHF). Homogeneizou-se, levou-se à fervura durante 10 minutos e arrefeceu-se em gelo. Retirou-se uma alíquota de 1.5 mL à qual se adicionou 10 μL de solução de α -amilase (*Type I-A, from porcine pancreas, 23.5 units/L*) utilizada para degradar o amido. Ao fim de 10 min a temperatura ambiente, foram adicionados 4 mg/mL de protease (*Type XIV, from Streptomyces griseus, ≥ 3.5 units/mg*), para hidrolisar a proteína e as amostras foram colocadas num banho a 37 °C durante 1 hora. Para inativar as enzimas, colocaram-se as amostras num banho a 100 °C durante 10 min e de seguida em gelo. Depois de arrefecidas, adicionou-se o 100 μL de soro de rato (Pierce™ Normal Rat Serum) para hidrolisar as ligações glutâmicas, e colocou-se novamente num banho a 37 °C durante 2 horas. No final das 2 horas o procedimento de inativação enzimática foi repetido. As amostras foram centrifugadas a 4 °C, 11500 g, durante 30 minutos e retirados os sobrenadantes. O sobrenadante é então colocado num filtro Amicom 5kDa, e centrifugado a, 13000 g, durante 50 min numa centrífuga refrigerada a 4°C.

Para a análise cromatográfica utilizou-se o cromatógrafo AcQuity UPLC-TQD com uma coluna AccQuity HSS T3 1.8 μm 2.1 x 150 mm a 45 °C e como fase móvel

em gradiente de 0.1 % ácido fórmico (A) e acetonitrilo (B) e fluxo de 0,4 mL/min. O gradiente que foi utilizado está presente na Tabela 3.6.

Tabela 3.6. Gradiente a programar no cromatógrafo para análise de folatos

Tempo (min)	%A	%B
0	99,5	0,5
0,5	99,5	0,5
4	75,0	25,0
4,5	30,0	70,0
5	30,0	70,0
6	99,5	0,5
7	99,5	0,5

As condições experimentais do detetor de massas foram as seguintes.

- Voltagem de capilar – 3 KV
- Temperatura da fonte – 150 °C
- Temperatura de dessolvatação – 350 °C
- O equipamento permite que para cada elemento se utilize uma voltagem de cone e uma energia de colisão (Tabela 3.7)

Tabela 3.7 - Condições de programação do detetor de massas para análise de folatos

	Tempo Retenção (min)	Ião Precursor (m/z)	Iões Secundários (m/z)		Energia Cone (V)	Energia de Colisão (V)	
			1º Trans	2º Trans		1º Trans	2º Trans
FA	4,17	440,3	311,3	175,2	42	22	28
5-MTHF	3,76	458,4	329,4	128,3	45	27	27
THF	3,63	444,4	315,5	128,2	45	26	27
5-CHOTHF	3,98	472,4	315,3	128,3	48	28	36
10-CHOTHF	3,88	468,3	339,4	249,3	48	22	28
¹³ C-FA	4,17	445,3	311,3	175,2	53	20	34
¹³ C-5-MTHF	3,76	463,4	329,3	133,3	40	27	30

– Controlo de qualidade

Foi utilizado o NIST 1849a como material de referência certificado, visto ser o único que contém valores de 5-MTHF e FA determinados por LC-MS.

Foram realizadas várias curvas de calibração para os analitos em estudo. As curvas de calibração foram traçadas com o ratio de área analito/padrão interno vs concentração. Para o FA, 5-CHOTHF e 10-CHOTHF foi utilizado o padrão interno ^{13}C FA. No caso do 5-MTHF e THF foi utilizado como padrão interno o ^{13}C 5-MTHF. O método de quantificação do processamento foi realizado com uma curva de calibração com seis níveis entre 7 ng/mL e 150 ng/mL. As curvas de calibração apresentaram coeficientes de correlação superiores a 0.9985 e estão ajustadas às amostras que apresentam folatos endógenos. O *software masslinks* permite quantificar os limites de detecção e quantificação. Assim, os resultados obtidos para a curva de calibração foram os seguintes (tabela 3.8).

Tabela 3.8. Limite de detecção e quantificação para folatos endógenos

	LoD (ng/ml)	LoQ (ng/ml)
FA	0,1	0,3
5-MTHF	0,1	0,3
5-CHOTHF	0,1	0,3
10-CHOTHF	0,2	0,7
THF	3,0	9,9

Após a otimização do método e com o propósito de avaliar o desempenho do método implementado foi realizado um ensaio interlaboratorial, FAPAS - *Food Analysis Performance Assessment Scheme* - 2186 *breakfast cereal*, onde o resultado obtido para o ácido fólico foi de 1.6 de Z-Score. Este resultado traduz um bom desempenho deste método.

3.2.4. Minerais, Elementos Vestigiais Metais e Metaloides

A análise dos minerais cálcio, magnésio, sódio, potássio e fósforo, e dos oligoelementos ferro, zinco, cobre e manganês foi efetuada num Espectrómetro de Emissão Ótica com Plasma acoplado indutivamente (ICP-OES).

A determinação dos teores de crómio, cobalto, níquel, arsénio, estrôncio, cádmio e chumbo foi efetuada por Espectrometria de massa acoplada a plasma indutivo (ICP-MS), usando os isótopos ^7Li , ^{51}V , ^{52}Cr , ^{59}Co , ^{60}Ni , ^{75}As , ^{77}Se , ^{88}Sr , ^{95}Mo , ^{111}Cd e ^{208}Pb .

A determinação destes elementos quer por ICP-OES quer por ICP-MS implica uma preparação prévia da amostra, a destruição da matéria orgânica foi realizada com recurso a uma digestão ácida em vasos fechados por micro-ondas, com adição de misturas oxidantes segundo os procedimentos descritos na norma europeia EN 13805 (2014). As amostras (0,5 g) foram colocadas em vasos de digestão de Teflon, foi adicionado ácido nítrico concentrado (4 mL), peróxido de hidrogénio (1 mL) e água desionizada (3 mL). O programa de micro-ondas foi otimizado e estabelecido (15 minutos para aumentar a temperatura até 160 °C, 10 minutos a 160 °C e 90 minutos para arrefecer).

A Espectrometria de Emissão Ótica com Plasma acoplado indutivamente é uma técnica que permite a análise simultânea de vários elementos. Baseia-se na emissão de radiação eletromagnética nas regiões do visível e ultravioleta do espectro eletromagnético, a partir de transições eletrónicas em átomos e iões excitados. As amostras em estado líquido são introduzidas através de um sistema de nebulização, onde cerca de 5% do aerossol formado atinge o plasma. Na tocha ocorrem processos de dessolvatação, vaporização, atomização, excitação e ionização. O espectro emitido é transferido para um espectrómetro onde é decomposto nos respetivos comprimentos de onda e avaliado. A intensidade das linhas espectrais é medida num detetor de estado sólido CID (*Charge Injection Device*). A identificação da radiação permite fazer a análise qualitativa da amostra. A determinação quantitativa é feita com base na proporcionalidade entre

a intensidade da radiação e a concentração de cada elemento, através da construção de uma curva de calibração.

A Espectrometria de Massa acoplada a Plasma Indutivo – ICP-MS é uma técnica multi-elementar que permite a análise simultânea de grande parte dos elementos da tabela periódica. Esta é uma técnica analítica instrumental que é considerada de grande sensibilidade podendo chegar a detetar e quantificar espécies na ordem do ng/kg. A amostra líquida é introduzida no plasma onde é nebulizada e os seu elementos ionizados. Os iões são extraídos do plasma utilizando uma interface de vazio e um sistema de lentes que os encaminha até ao analisador de quadrupólo onde são separados com base na sua relação massa/carga. No final um detetor de multiplicação de eletrões quantifica os isótopos dos elementos escolhidos, após calibração com soluções padrão adequadas. A monitorização da temperatura e humidade da sala são fatores importantes a registar e devem estar situados entre +18 °C e +24 °C não sendo alterada mais de 2 °C por hora. A humidade da sala deve estar situada entre 20% e 80%.

A calibração é feita diariamente e devem ser lidos pelo menos 3 padrões e o branco em cada curva de calibração. As gamas de trabalho variam em função dos elementos a determinar (Tabela 3.9)

Tabela 3.9 - Gamas de trabalho minerais, elementos traço e metais

Elemento	Gama ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Gama (mg.L^{-1})
As, Cd, Co, V	0,25 – 2,5	
Pb, Sr, Ni, Cr, Mo, Li, Se	0,50 – 5	
Cu; Mn		0,02 – 0,2
Fe; Zn		0,05 - 0,5
Mg		1 - 10
Ca, P, Na		2 - 20
K		2,5 - 25

As curvas de calibração são aceites sempre que o coeficiente de regressão linear seja maior ou igual a 0,9995.

Elementos relativos à performance do método e controlo de qualidade encontram-se publicados em Nascimento et al., (2014) (Anexo B).

– Especificação de Arsénio

Para se proceder à separação das espécies de As, AsB, DMA, arsenito (As (III)) e arseniato (As (V)) utilizou-se a técnica hifenada de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa com plasma induzido (HPLC-ICP-MS).

O método de extração das espécies de arsénio da matriz foi baseado nos requisitos da FDA (Kubachka, Shockey, Hanley, Conklin, & Heitkemper, 2012). Pesou-se 1 g de amostra para um tudo de 50 mL de polipropileno (PP). Adicionou-se 5 mL de uma solução de HNO₃ (0,28 M) e agitou-se no vortex. Adicionou-se mais 5 mL da mesma solução de HNO₃.

As amostras foram digeridas num sistema de bloco pré-aquecido (DigiPREP[®]). Após a digestão estar concluída foi adicionado às amostras 6,7 mL de água desionizada (MilliQ[®]). De seguida as amostras foram centrifugadas a 1600 g durante 10 min e filtradas por filtro de seringa (0,45 µm) rejeitando o primeiro mL. Por último, foram efetuadas diluições com H₂O milliQ para o interior de viais de PP com volume final de 1,5 mL.

As espécies de arsénio são quantificadas por HPLC-ICP-MS com uma coluna de troca iónica, Hamilton PRP-X100. O volume de injeção foi de 100 µL e o caudal foi de 1 mL/min. No que diz respeito à fase móvel, esta era constituída por três solventes. Solvente A: H₂O milliQ; Solvente B: MeOH; Solvente C: solução 100mM Carbonato de amónio. O tempo de corrida foi de 25 min e a composição da fase móvel variou consoante a Tabela 3.10.

Tabela 3.10. Gradiente a programar no cromatógrafo para análise das espécies de Arsénio

Tempo (min)	Solvente A (%)	Solvente B (%)	Solvente C (%)
0	87	3	10
9	87	3	10
10	87	3	10
22	47	3	50
23	47	3	50
25	87	3	10

As soluções padrão individuais (1000 mg/L) das espécies inorgânicas de arsénio (As (III) e As (V)) foram utilizadas para análise bem como as soluções padrão (1000 mg/L) das espécies orgânicas (AsB e DMA) que foram previamente preparadas a partir do sal correspondente. As curvas de calibração foram preparadas diariamente para as quatro espécies mencionadas nas concentrações 0,5 ppb, 1 ppb, 2,5 ppb, 5 ppb e 10 ppb.

O controlo de qualidade inclui o uso de duplicados e a adição de uma concentração conhecida de padrão (*spike*) às amostras com a finalidade de calcular a recuperação de padrão.

3.2.5. Acrilamida

Como as amostras contêm compostos solúveis em água que apresentam o mesmo tempo de retenção da acrilamida, é difícil a sua deteção e quantificação num sistema cromatográfico convencional. Assim, a utilização do método UPLC-MS/MS possui enormes vantagens relativamente à seletividade para o analito. Para a extração da acrilamida da matriz alimentar, foram homogeneizados 2 g de amostra com solução aquosa de ácido fórmico (0,1%) e centrifugado 15 min a 13000 g. O sobrenadante foi submetido a um processo de SPE (Oasis HLB). As colunas de SPE foram condicionadas com 3,5 mL de metanol e equilibradas com 3,5 mL de solução aquosa de ácido fórmico (0,1%). Foi então adicionado 1,5 mL do sobrenadante da amostra centrifugada. O extrato foi recolhido, filtrado por filtro

de seringa e injetado sistema cromatográfico. No início do processo de extração foram adicionados 500 µL de uma solução de D3-acrilamida (1 µg/mL) como padrão interno, a fim de quantificar as perdas durante o processo de extração. Foi utilizada uma coluna *Waters* BEH C18 (50 x 2,1 mm, 1,7 µm) mantida a 25 °C. A fase móvel foi constituída por uma solução aquosa de ácido fórmico (0,1%) que eluiu de forma isocrática durante 3 min com um caudal de 0.55 mL/min. O volume de injeção foi de 10 µL. A detecção da acrilamida foi feita através da transição 72 > 55 m/z com uma energia de colisão de 20 V. Os parâmetros otimizados no UPLC-MS/MS estão presentes na Tabela 3.11.

Tabela 3.11. Condições de programação do detetor de massas para análise de acrilamida.

Capilar (Voltagem)	2.50 kV
Cone (Voltagem)	29 V
Temperatura fonte	120 °C
Temperatura dessolvatação	350 °C
Fluxo gás dessolvatação	800 L/hr
Fluxo gás cone	30 L/hr

Foi construída a curva de calibração com o rácio entre a área do pico da acrilamida e a área do pico cromatográfico do padrão interno, a D3-acrilamida. A gama de trabalho foi definida entre 7 µg/mL e 100 µg/mL. As curvas de calibração apresentaram coeficientes de correlação superiores a 0.9985

3.3. Bioacessibilidade – Método harmonizado

A quatro partes da cada solução eletrolítica *stock* que simula uma etapa digestiva, preparada com uma concentração 1,25 vezes mais concentrada relativamente à concentração no momento da digestão, adicionou-se uma parte da solução

aquosa de cloreto de cálcio (CaCl_2) e enzimas digestivas com concentrações adequadas à simulação dos vários fluidos digestivos.

Os volumes das soluções eletrolíticas *stock* foram calculados para diferentes volumes finais para cada fluido, de acordo com a Tabela 3.12. Para a preparação do fluido salivar simulado (SSF), fluido gástrico simulado (SGF) e fluido intestinal simulado (SIF) o CaCl_2 não é adicionado à solução *stock* para evitar a precipitação dos sais. Em vez disso, ele é adicionado diretamente ao suco digestivo simulado final.

Tabela 3.12 - Composição fluidos digestivos simulados

Sais	Concentração		SSF (pH 7)		SGF (pH 3)		SIF (pH 7)	
			V <i>stock</i> p/0,25 L	[Final] sais no suco	V <i>stock</i> p/0,5 L	[Final] sais no suco	V <i>stock</i> p/1L	[Final] sais no suco
	g/L	mol/L	mL	mmol/L	mL	mmol/L	mL	mmol/L
KCl	37,3	0,5	7,545	15,09	6,9	6,9	13,6	6,8
KH_2PO_4	68	0,5	1,85	3,7	0,9	0,9	1,6	0,8
NaHCO_3	84	1	3,42	13,68	12,5	25	85	85
NaCl	117	2	-	-	11,8	47,2	19,2	38,4
$\text{MgCl}_2(\text{H}_2\text{O})_6$	30,5	0,15	0,25	0,15	0,4	0,12	2,2	0,33
$\text{NH}_4(\text{CO}_3)_2$	48	0,5	0,03	0,06	0,5	0,5	-	-
$\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$	44,1	0,3		1,5		0,15		0,6
HCl		1	1,65	6,6	1,3	93,6	1,75	8,4

v- Volume; [] - Concentração

– Protocolo de digestão

O protocolo encontra-se sumarizado na Figura 3.1. Como todo o processo digestivo é dependente do pH é necessário ajustar este parâmetro em cada etapa do processo de digestão. Para tornar mais práticos os ajustes de pH, prepararam-se réplicas dos ensaios de digestão de cada matriz alimentar (tubo de teste de pH), que foram mantidos durante a experiência, e que serviram exclusivamente para monitorizar a evolução do pH e ajustar o volume de ácido ou de base a adicionar ao tubo onde decorria o ensaio de digestão.

Todas as amostras são pesadas em quadruplicado a fim de determinar a reprodutibilidade do método. Foi igualmente preparado um branco, contendo todos os reagentes e enzimas utilizadas nos diferentes fluidos.

A atividade de todas as enzimas utilizadas foram aferidas recorrendo a protocolos de verificação.

– **Preparação do tubo de teste de pH:**

Aqueceram-se as soluções eletrolíticas SSF e SGF a 37 °C. Preparou-se o SSF adicionando o volume necessário da solução de CaCl_2 para atingir a concentração de 1,5 mM. Adicionou-se 1 mL de SSF a 1 g de amostra e incubou-se durante 2 min a 37° C.

Preparou-se o SGF adicionando o volume necessário da solução de CaCl_2 para atingir a concentração de 1,5 mM. Adicionaram-se 2 mL de SGF (sem enzimas). Verificou-se o pH e ajustou-se a 3,0 com HCl (1 M). Anotou-se o volume adicionado no acerto (o volume adicionado é indicativo do volume necessário de HCl para adicionar ao SGF durante a fase gástrica). Incubou-se durante 2 horas a 37 ° C.

Preparou-se o SIF adicionando o volume necessário da solução de CaCl_2 , para atingir a concentração de 1,5 mM. Adicionaram-se 4 mL de SGF (sem enzimas).

Verificou-se o pH e ajustou-se a 7,0 com NaOH (1 M). Anotou-se o volume adicionado no acerto (o volume adicionado é indicativo do volume da solução de NaOH necessário para ajustar o pH do SIF durante a fase intestinal da digestão).

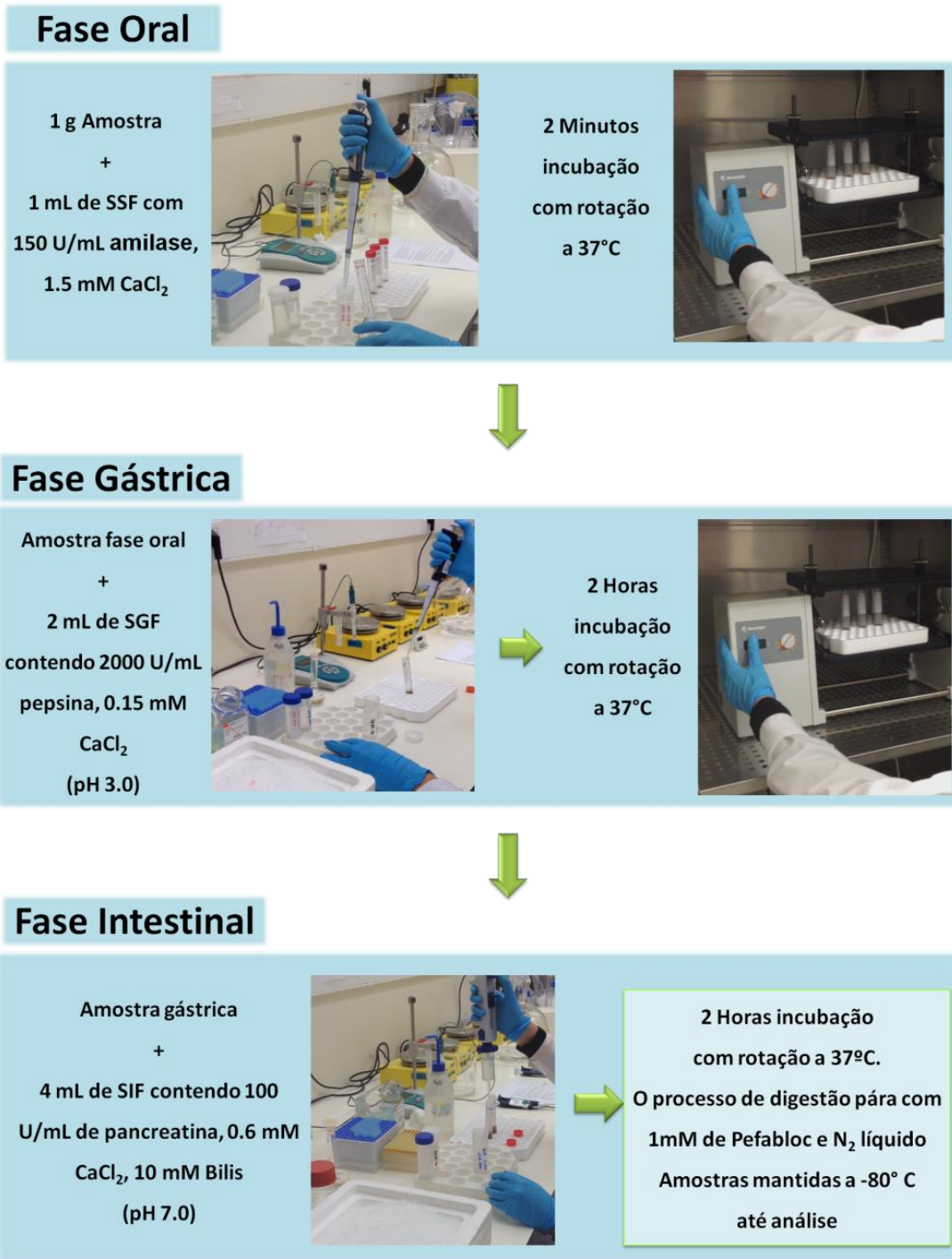


Figura 3.1 - Resumo do método de digestão in vitro.

As atividades enzimáticas estão em unidades por mL no fluido final de cada fase de digestão.

– Procedimento:

Fase oral

Adicionou-se a 1 g de amostra, na qual se simulou previamente a mastigação através de um processo mecânico, moinho (amostras cozinhadas) ou almofariz (amostras cruas ou maltes) tal como descrito no capítulo 3.1, 1 mL de fluido SSF, previamente aquecida a 37 °C, com o volume necessário da solução aquosa de α -amilase para atingir uma atividade final de 150 U/mL, com o volume necessário da solução de CaCl_2 para alcançar a concentração final de 1,5 mM, e com água ultrapura para atingir as concentrações desejadas dos constituintes do fluido SSF. Incubou-se durante 2 minutos a 37° C.

Fase gástrica

Preparou-se o fluido SGF adicionando à solução de eletrolítica de SGF, previamente aquecida a 37° C, o volume necessário de uma solução aquosa de pepsina da mucosa gástrica de porco para atingir uma atividade final de 2000 U/mL, o volume necessário da solução de CaCl_2 para alcançar a concentração final de 1,5 mM, o volume de HCl para ajustar o pH a 3,0, determinado no tubo teste de pH, e o volume água ultrapura para atingir as concentrações desejadas dos constituintes do fluido SGF.

Adicionaram-se 2 mL do fluido SGF à amostra proveniente da fase oral e incubou-se sob agitação constante durante 2 h, a 37 ° C.

Fase Intestinal

Preparou-se o fluido SIF adicionando à solução de eletrolítica de SIF, previamente aquecida a 37 °C, o volume necessário de uma solução de bÍlis, preparada sob agitação rotativa a 37 ° C durante pelo menos 30 min, para obter uma concentração no fluido final de 10 mM, o volume necessário de uma solução

aquosa de pancreatina para uma atividade final de 200 U/mL, o volume necessário da solução de CaCl₂, para alcançar uma concentração final de 0,3 mM no fluido, o volume da solução de NaOH para ajustar o pH a 7,0, determinado no tubo teste de pH, e o volume água ultrapura necessário para atingir as concentrações desejadas dos constituintes do fluido SIF.

Adicionaram-se 4 mL do fluido SIF à amostra proveniente da fase gástrica e incubou-se sob agitação constante durante 2 h, a 37 ° C.

No final, e de forma a parar toda a atividade enzimática, adicionou-se 16 µL de Pefabloc (500 mM) para uma concentração final de 1 mM sendo os tubos imediatamente mergulhados em azoto líquido. As amostras foram mantidas a -80 °C até análise.

3.3.1. Bioacessibilidade dos nutrientes

Após o processo de digestão *in vitro* as amostras são rapidamente descongeladas e centrifugadas, 5 minutos a 3000 g numa centrífuga refrigerada a 4°C. A fração bioacessível (o sobrenadante) é retirada ficando a fração não digerida no fundo do tubo. O sobrenadante é então sujeito a diferentes tratamentos para a sua posterior análise. O resíduo será igualmente sujeito a análise para aferir se a soma do conteúdo nutricional das frações bioacessíveis e das não digeridas iguala o total do nutriente presente no alimento.

– Aminoácidos Totais e Folatos

Para a determinação de aminoácidos totais e folatos a fração bioacessível e os brancos de digestão são colocados em sistemas de ultrafiltração Amicom (5 kDa) e centrifugado a 12000 g durante 30 min numa centrífuga refrigerada a 4°C. No caso dos aminoácidos totais a solução resultante desta centrifugação é sujeita ao

processo de derivatização com posterior análise cromatográfica de acordo com o protocolo já descrito no subcapítulo 3.2.2 de caracterização do perfil nutricional. Para a análise de folatos a solução resultante da centrifugação é utilizada diretamente na análise cromatográfica por UPLC – MS/MS utilizando o protocolo desenvolvido e descrito no subcapítulo 3.2.3.

– Determinação de Minerais

Para a determinação de minerais da fração não digerida, os resíduos foram transferidos para vasos de teflon e digeridas em micro-ondas como anteriormente descrito no subcapítulo 3.2.4. Para a determinação de minerais na fração bioacessível, dependendo da concentração dos minerais em estudo, os sobrenadantes foram diluídos com uma solução de ácido nítrico a 2%. Para os minerais em maior concentração foi efetuada uma diluição de 1/40 e para os menos concentrados uma diluição de 1/5. Após as diluições, as amostras foram filtradas por filtros de papel (Grau 41: 20-25 µm) isentos de cinza e por filtros de polipropileno hidrofílico (GHP) com porosidade de 0,45 µm e 25 mm de diâmetro. A determinação das concentrações dos diferentes minerais na fração bioacessível, na fração não digerida, e nas digestões em branco foram efetuados diretamente por ICP-OES como descrito no subcapítulo 3.2.4.

3.4. Tratamento Dados

– Cálculo do fator de rendimento do processamento

Calculou-se o fator do rendimento dos alimentos sujeitos aos vários processamentos aplicados. O fator de rendimento (Y_c) quantifica os ganhos ou perdas de peso do alimento durante o processamento e foi calculado de acordo com a equação 1 (Charrondiere, 2014). Assumiu-se neste trabalho que as variações de peso dos alimentos se deveram a perdas ou ganhos de água.

(Equação 1)

– Cálculo do fator de retenção dos nutrientes durante o processamento

Para calcular o fator de retenção de cada nutriente foi realizada a abordagem definida pela USDA (2007) para o cálculo da fator de retenção aparente (AR). Este cálculo (Equação 2) mede a proporção de nutriente que permanece no alimento cozinhado em relação ao nutriente originalmente presente no alimento cru. Foi então definida a equação:

(Equação 2)

– Cálculo da porção equivalente do alimento cru

Para calcular a dose equivalente para cada alimento cozinhado usou-se como base a tabela de equivalentes a uma porção publicada pela Direção Geral da Saúde (2012). Esta estabelece para cereais e derivados crus uma porção

equivalente de 35 g. Assim, para calcular a porção equivalente dos alimentos cozinhados foi aplicada a equação 3.

(Equação 3)

– Cálculo da qualidade proteica

O *score* de cada aminoácido essencial foi calculado dividindo o teor do aminoácido em 1 g de proteína no alimento pelo teor desse mesmo aminoácido em 1 g de proteína de referência (Tabela 1.2). Para obter o PDCAAS, o *score* de cada aminoácido é depois multiplicado pela digestibilidade da proteína de cada alimento: 0,92 para quinoa, de 0,90 para amaranto, 0,80 para o trigo-sarraceno e 88% para o arroz polido. O menor PDCAAS obtido indica a qualidade da proteína do alimento (Mota et al., 2016; WHO, 2007).

(Equação 4)

– Cálculo do valor nutricional em proteína

Calculou-se a percentagem das necessidades em aminoácidos satisfeitas pelo consumo de uma porção de alimento. Para o cálculo foram consideradas as necessidades em aminoácidos (mg/kg/dia) apresentadas na Tabela 1.2 para um indivíduo adulto com um peso médio aproximado de 70 kg. O valor para o peso médio foi retirado do projeto “*Alimentação e Estilos de Vida da População Portuguesa*” (Poinhos et al., 2009), que registou as características antropométricas numa amostra representativa da população portuguesa adulta (>18 anos).

– Cálculo valor nutricional em folatos

Calculou-se a percentagem das recomendações em folatos satisfeitas pelo consumo de uma porção de alimento. Foi considerada a recomendação para indivíduos com idade superior a 15 anos, utilizando para tal o valor de 330 µg DFE/dia (Tabela 1.4).

Os alimentos foram descritos como “fonte de folatos” ou “rico em folatos” se a % das recomendações satisfeitas pelo consumo de uma dose do alimento suprir mais de 15 ou 30% das recomendações em folatos, respetivamente, seguindo a abordagem do regulamento europeu 1169/2011 (Parlamento Europeu, 2011).

– Cálculo valor nutricional em minerais e oligoelementos

Calculou-se a percentagem das recomendações em minerais e oligoelementos satisfeitas pelo consumo de uma porção de alimento. Para o cálcio, magnésio, selénio e ferro foram consideradas as recomendações para indivíduos adultos, de acordo com a Tabela 1.5. Para o zinco foram consideradas as recomendações para indivíduos adultos, assumindo biodisponibilidade moderada (Tabela 1.5). Para o potássio, fósforo, manganês e cobre consideraram-se as recomendações 3500, 700, 3 e 1,1 mg/dia, respetivamente.

Os alimentos foram descritos como “fonte de” minerais ou oligoelementos ou “rico em” minerais ou oligoelementos se a % das recomendações satisfeitas pelo consumo de uma dose do alimento suprir mais de 15 ou 30% das recomendações desses minerais ou oligoelementos, respetivamente, seguindo a abordagem do regulamento europeu 1169/2011 (Parlamento Europeu, 2011).

– Cálculo Bioacessibilidade

Para calcular o valor da bioacessibilidade dos nutrientes nas amostras foi aplicada a equação 5.

(Equação 5)

– Cálculo efeito processamento na bioacessibilidade (EPB)

Para determinar o efeito do processamento na bioacessibilidade de cada nutriente em cada alimento submetido a cada processamento foi aplicada a equação 6.

(Equação 6)

3.4.1. Análise estatística

Os resultados apresentados no capítulo 4 encontram-se expressos como média e desvio padrão. Os valores médios obtidos nas determinações efetuadas, para as diferentes amostras, foram comparadas por análise de variância com um fator a vários níveis (*One-way ANOVA*). Quando as diferenças obtidas foram estatisticamente significativas, foi realizado o teste da diferença mínima significativa (LSD), para um nível de significância igual a 5% ($\alpha=0,05$). A homogeneidade das variâncias foi testada pelo teste de Cochran e de Levene. Quando se verificou a heterogeneidade das variâncias das distribuições, o significado estatístico das diferenças foi avaliado recorrendo ao teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Todos os testes estatísticos foram realizados no *software Statistica v. 8* (Statsoft Ibérica, Lisboa, Portugal). As diferenças foram consideradas significativas quando o valor de $p < 0,05$.

4. Resultados

Da quantificação do conteúdo em macronutrientes e minerais das amostras das matérias-primas recolhidas em 2010, quinoa, amaranto e arroz, resultou a publicação de um artigo em revista internacional com revisão por pares (Nascimento et al., 2014). A determinação do conteúdo em proteína e do perfil em aminoácidos dos pseudocereais, já incluindo o trigo-sarraceno, foram também publicados na mesma revista (Mota et al., 2016).

Sendo um dos objetivos desta tese avaliar o efeito dos métodos de confeção culinária e de maltagem no perfil nutricional dos alimentos, a caracterização das amostras cruas dos pseudocereais e do arroz, usados nos cozinhados e maltes, foi novamente efetuada. A comparação da composição desses grãos crus, recolhidos em 2014 (cozinhados) ou 2015 (maltagens), com a composição de grãos do mesmo lote após confeção permitiu isolar o efeito do processamento, pois eliminam variações de composição que ocorrem naturalmente nos alimentos. Efetivamente, observaram-se diferenças estatisticamente significativas entre os teores de alguns nutrientes em amostras da mesma variedade recolhidas em anos diferentes. Assim as amostras cruas serão identificadas como Crua_C ou Crua_M quando alíquotas das mesmas amostras foram sujeitas aos processos de cozedura ou maltagem, respetivamente.

Nas amostras sujeitas a processamento culinário apenas foi determinado o conteúdo de dois macronutrientes (humidade e proteína) pois, para os objetivos definidos, os restantes parâmetros seriam desnecessários.

4.1. Amaranto

Para a caracterização do amaranto foram compilados resultados referentes amostras recolhidas na Argentina na região de Jujuy, identificadas como Amaranto (Argentina). As amostras sujeitas aos processos de cozedura foram recolhidas nos anos de 2014 e as sujeitas a maltagem foram recolhidas em 2015, ambas adquiridas em superfícies comerciais em Portugal e identificadas como “Provenientes de Agricultura Biológica”.

Na maltagem, a fração de amaranto germinado definida como o rácio entre o número de sementes germinadas após 24 h de germinação e o número inicial de sementes foi de aproximadamente 0,2.

O rendimento de confeção (Y_c , equação 1, secção 3.4) do amaranto foi de 2,87 quando cozido e 1,60 quando cozido a vapor.

4.1.1. Composição nutricional do amaranto

No que diz respeito à caracterização nutricional do amaranto foram compilados resultados referentes a macronutrientes, aminoácidos essenciais, não essenciais e condicionalmente essenciais, folatos, minerais, oligoelementos e elementos traço.

– Macronutrientes

Tabela 4.1 – Macronutrientes no amaranto

	Amaranto (Argentina)		Amaranto Agricultura Biológica			
			Cozinhados		Maltados	
	Cru	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
Humidade	10,5 ± 0,04	12,2 ± 0,09	73,6 ± 0,84	52,4 ± 0,13	8,3 ± 0,01	5,5 ± 0,04
Cinza	2,89 ± 0,01	nd	nd	nd	nd	Nd
Proteína	13,4 ± 0,2	13,2 ± 0,6	4,7 ± 0,1	7,8 ± 0,1	15,6 ± 0,3	15,6 ± 0,7
Gordura	6,4 ± 0,1	nd	nd	nd	nd	Nd
Fibra	11,3 ± 0,5	nd	nd	nd	nd	nd
Amido	55,3 ± 0,6	nd	nd	nd	nd	nd

nd – Não determinado

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos duplicados, g/100 g edível.

Nos macronutrientes (Tabela 4.1), verificou-se que existem variações no teor de humidade entre as amostras de amaranto cruas recolhidas em diferentes anos. Verificou-se também que a humidade das amostras cozidas a vapor é significativamente menor que a humidade das amostras cozidas. É de salientar o elevado valor de fibra do amaranto (11,3 g/100 g).

– Aminoácidos

Verificou-se que o valor da soma dos aminoácidos essenciais, condicionalmente essenciais e não essenciais, é consistentemente mais baixo quando comparado com o teor de proteína determinado (Tabela 4.1), diferindo, em média, cerca de 3 g/100 g.

Comparando os diferentes aminoácidos essenciais (Tabela 4.2), a leucina e a fenilalanina apresentaram os valores mais elevados. No malte de amaranto os teores destes dois aminoácidos foram de 867 mg/100 g e 785 mg/100 g, respetivamente. A metionina, pelo contrário, apresentou os valores mais baixos. Os baixos teores observados nas amostras cozidas e cozidas a vapor são uma consequência da incorporação de água durante a confeção.

Tabela 4.2 – Teores de aminoácidos essenciais no amaranto.

	Amaranto (Argentina)		Amaranto Agricultura Biológica			
	Cru	Cru_C	Cozinhados		Maltados	
			Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
His	417 ± 34,4	340 ± 18,6	118 ± 4,1	204 ± 9,6	391 ± 6,7	484 ± 5,4
ILe	400 ± 29,5	346 ± 31,3	116 ± 12,0	215 ± 14,6	409 ± 15,3	467 ± 39,1
Leu	673 ± 15,1	627 ± 22,3	223 ± 8,3	397 ± 14,3	812 ± 5,7	867 ± 16,4
Lys	530 ± 45,6	489 ± 34,4	162 ± 13,7	309 ± 12,7	695 ± 13,4	581 ± 15,2
Met	314 ± 31,3	282 ± 20,3	96,9 ± 3,7	161 ± 9,2	343 ± 21,8	354 ± 36,1
Phe	652 ± 33,2	586 ± 55,3	203 ± 17,2	349 ± 27	676 ± 29,0	785 ± 102
Thr	421 ± 10,3	391 ± 14,0	138 ± 5,9	248 ± 12,5	436 ± 7,7	464 ± 38,1
Val	443 ± 6,8	394 ± 19,2	134 ± 8,9	245 ± 12,1	615 ± 32,2	579 ± 16,2
(g/100g edível)						
Soma AA	11,5 ± 0,2	10,4 ± 0,1	3,6 ± 0,1	6,4 ± 0,2	12,1 ± 0,1	12,7 ± 0,6

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g edível.

O aminoácido não essencial mais abundante é o ácido glutâmico, seguido pelo condicionalmente essencial arginina (Tabela 4.3). Os teores de cisteína foram os mais baixos, tal como a metionina (Tabela 4.2), o que faz com que no amaranto sejam os aminoácidos sulfurados os que apresentam os menores valores.

Tabela 4.3 – Teores de aminoácidos não essenciais⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais⁽²⁾ no amaranto.

	Amaranto (Argentina)		Amaranto Agricultura Biológica			
	Cru	Cru_C	Cozinhados		Maltados	
			Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
Ala ⁽¹⁾	424 ± 17,1	396 ± 22,6	139 ± 9,6	249 ± 16,4	445 ± 6,38	513 ± 8,9
Arg ⁽²⁾	1198 ± 78,4	1063 ± 15,5	379 ± 21,2	654 ± 28,3	1195 ± 71,1	1189 ± 102
Asp ⁽¹⁾	952 ± 52,8	817 ± 68,4	288 ± 8,7	513 ± 24,0	928 ± 19,1	958 ± 16,4
Cys ⁽²⁾	164 ± 14,6	125 ± 9,3	38,9 ± 2,4	66,6 ± 3,8	145 ± 13,2	115 ± 8,9
Glu ⁽¹⁾	2130 ± 103	1894 ± 42,3	659 ± 15,1	1205 ± 28,6	2119 ± 38,8	2106 ± 45,1
Gly ⁽²⁾	939 ± 38,7	908 ± 44,3	319 ± 21,3	554 ± 38,1	1034 ± 32,9	1112 ± 82,5
Pro ⁽²⁾	495 ± 24,1	472 ± 21,7	166 ± 7,4	292 ± 9,9	558 ± 12,4	582 ± 53,9
Ser ⁽¹⁾	764 ± 83,3	738 ± 32,8	258 ± 9,2	455 ± 20,5	773 ± 37,8	923 ± 37,2
Tyr ⁽²⁾	602 ± 62,3	521 ± 41,5	171 ± 26,5	316 ± 22,6	549 ± 41,7	649 ± 31,1

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g edível.

– Folatos

No que diz respeito aos folatos, a forma predominante em todas as amostras é o 5-MTHF. As amostras maltadas são as que apresentam os valores mais elevados de 5-MTHF e folatos totais.

Tabela 4.4 – Folatos no amaranto.

	Amaranto				
	Cozinhados			Maltados	
	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
FA	7,5 ± 1,6	1,6 ± 0,3	3,0 ± 0,6	4,5 ± 0,6	<LoQ
THF	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ
5-MTHF	210 ± 33,9	75,4 ± 5,9	140 ± 10,1	194 ± 21,8	254 ± 13,1
10-CHOTHF	27,8 ± 4,6	10,3 ± 1,3	18,3 ± 2,1	19,4 ± 2,0	13,8 ± 1,7
5-CHOTHF	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ
Folatos Totais	246 ± 30,9	87,3 ± 7,0	161 ± 10,8	218 ± 23,2	272 ± 14,0

LoQ: limite de quantificação (FA < 0,44; THF < 0,56; 5-CHOTHF < 0,24)

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg/100 g edível.

– Minerais e Oligoelementos

Entre os oligoelementos presentes no amaranto, destacam-se o ferro e o zinco, que nas amostras cruas e maltada apresentam valores entre 7,2 mg/100 g e 9,6 mg/100 g para o ferro e entre 3,5 e 5,5 mg/100 g para o zinco. Nos minerais destacam-se os teores de potássio e fósforo. O sódio apresenta-se abaixo do limite de quantificação em todas as amostras.

Tabela 4.5 – Minerais e oligoelementos e no amaranto.

	Amaranto (Argentina)		Amaranto Agricultura Biológica			
	Cru	Cru_C	Cozinhados		Maltados	
			Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
Cu	0,510 ± 0,01	0,502 ± 0,01	0,172 ± 0,004	0,286 ± 0,008	0,471 ± 0,005	0,49 ± 0,01
Mn	1,51 ± 0,05	3,88 ± 0,3	1,20 ± 0,02	2,08 ± 0,04	2,06 ± 0,01	2,30 ± 0,03
Fe	9,62 ± 0,1	6,45 ± 0,4	1,96 ± 0,02	3,45 ± 0,1	7,16 ± 0,3	7,76 ± 0,1
Zn	5,55 ± 0,4	4,00 ± 0,2	1,24 ± 0,03	2,23 ± 0,07	3,45 ± 0,5	2,84 ± 0,03
Mg	231 ± 6,9	288 ± 8,1	81,1 ± 1,2	144 ± 4,2	246 ± 3,1	256 ± 1,7
Ca	165 ± 9,3	176 ± 6,4	54,5 ± 0,4	97,7 ± 1,0	140 ± 1,3	156 ± 2,2
P	527 ± 13	582 ± 11	173 ± 2,2	308 ± 4,3	447 ± 15	474 ± 8,1
K	664 ± 16	485 ± 9,2	142 ± 0,8	255 ± 2,4	425 ± 7,0	413 ± 5,7
Na	<LoQ		<LoQ			<LoQ

LoQ: limite de quantificação (<2,5 mg/100g).

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g edível.

– Elementos traço

O amaranto apenas apresentou valores acima do limite de quantificação do método para o crómio, vanádio e níquel. O crómio apresenta o valor mais elevado com 110 µg/100 g.

Tabela 4.6 - Elementos traço no amaranto.

	Amaranto (Argentina)	Amaranto Agricultura Biológica
	Cru	Cru_C
Mo	<LoQ	<LoQ
Sr	<LoQ	<LoQ
Co	<LoQ	<LoQ
Cr	nd	110 ± 11,9
Li	<LoQ	<LoQ
V	7,19 ± 0,2	8,03 ± 1,6
Ni	16,4 ± 3,7	20,4 ± 1,6
Se	<LoQ	<LoQ

nd – não determinado; LoQ: limite de quantificação (Mo, Sr, Li, Se < 0,50; Co < 0,25).

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados (µg/100g).

4.1.2. Contaminantes

Verificou-se que os teores de metais pesados analisados no amaranto se encontravam abaixo do limite de quantificação (Tabela 4.7), apontando para uma baixa ou negligenciável contaminação desta semente.

Tabela 4.7 - Contaminantes no amaranto cru.

Amaranto Agricultura Biológica	
Cru_C	
As	<LoQ
Cd	<LoQ
Pb	<LoQ

nd – não determinado; LoQ: limite de quantificação (Pb < 0.50; As, Cd <0.25).
Valores apresentados em média \pm desvio padrão dos triplicados ($\mu\text{g}/\text{kg}$).

4.1.3. Efeito do processamento na composição nutricional do amaranto

Para a análise do efeito do processamento no conteúdo nutricional do amaranto os teores foram expressos em base seca. Desta forma as variações observadas são independentes da variação do teor em água verificado durante os diferentes processamentos.

A maltagem do amaranto não afetou significativamente o conteúdo proteico das amostras. Observou-se um aumento significativo, embora de magnitude reduzida, do conteúdo proteico durante a cozedura e a cozedura a vapor. O teor proteico quantificado aumentou de 15,0 g/100 g de resíduo seco, no amaranto cru, para 17,9 e 16,4 g/100 g de resíduo seco, no amaranto cozido e cozido a vapor, respetivamente.

A partir da Tabela 4.8 podemos verificar que nos aminoácidos essenciais para as amostras cozinhadas, o teor de histidina apresentou diferenças significativas em todas as amostras processadas, relativamente às amostras cruas. Os teores dos

aminoácidos isoleucina, leucina, lisina, metionina, treonina e valina das amostras cozinhadas foram significativamente superiores aos do amaranto cru. Os teores de histidina e leucina do amaranto maltado foram significativamente superiores aos observados nas amostras cruas, enquanto os teores de lisina e valina, diminuíram significativamente.

Tabela 4.8 – Efeito do processamento nos aminoácidos essenciais do amaranto¹

	Amaranto				
	Cozinhados			Maltados	
	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
His	387 ^a ± 21,1	450 ^b ± 15,6	430 ^c ± 20,1	426 ^a ± 7,3	512 ^b ± 5,7
ILe	394 ^a ± 35,6	442 ^b ± 45,6	452 ^b ± 30,6	446 ^a ± 16,7	494 ^a ± 41,3
Leu	714 ^a ± 25,4	845 ^b ± 31,6	834 ^b ± 30,1	886 ^a ± 6,2	917 ^b ± 17,4
Lys	558 ^a ± 39,2	615 ^b ± 51,9	651 ^b ± 26,8	757 ^a ± 14,6	614 ^b ± 16,1
Met	321 ^a ± 23,1	367 ^b ± 13,9	340 ^a ± 19,4	374 ^a ± 23,8	374 ^a ± 38,2
Phe	667 ^a ± 63,4	771 ^b ± 65,2	734 ^{ab} ± 56,7	737 ^a ± 31,6	831 ^a ± 108
Thr	446 ^a ± 16,1	524 ^b ± 22,3	522 ^b ± 26,2	475 ^a ± 8,4	491 ^a ± 40,3
Val	449 ^a ± 21,9	510 ^b ± 34	515 ^b ± 25,4	670 ^a ± 35,1	612 ^b ± 17,1

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g peso seco.

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

Na Tabela 4.9 que diz respeito a aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais observa-se que os teores de alanina, arginina, ácidos aspártico e glutâmico, glicina, prolina e serina aumentam significativamente após o processamento culinário. No amaranto maltado a alanina, serina e tirosina veem os seus teores aumentados significativamente, por oposição à cisteína e ácido glutâmico que veem os seus valores diminuir significativamente.

Tabela 4.9 - Efeito do processamento nos aminoácidos não essenciais⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais⁽²⁾ do amaranto^a

	Amaranto				
	Cru_C	Cozinhados		Maltados	
		Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
Ala ⁽¹⁾	451 ^a ± 25,7	526 ^b ± 36,4	523 ^b ± 34,4	485 ^a ± 6,9	543 ^b ± 9,4
Arg ⁽²⁾	1210 ^a ± 17,6	1435 ^b ± 80,5	1374 ^b ± 59,5	1302 ^a ± 77,5	1258 ^a ± 107,6
Asp ⁽¹⁾	930 ^a ± 77,9	1090 ^b ± 32,9	1078 ^b ± 50,4	1012 ^a ± 20,9	1013 ^a ± 17,4
Cys ⁽²⁾	143 ^a ± 10,6	147 ^a ± 9,0	140 ^a ± 8,1	158 ^a ± 14,4	121 ^b ± 9,5
Glu ⁽¹⁾	2157 ^a ± 48,2	2497 ^b ± 57,4	2531 ^b ± 60,1	2310 ^a ± 42,3	2228 ^b ± 47,7
Gly ⁽²⁾	1034 ^a ± 50,5	1207 ^b ± 80,8	1163 ^b ± 79,9	1127 ^a ± 35,9	1176 ^a ± 87,3
Pro ⁽²⁾	537 ^a ± 24,7	627 ^b ± 28,0	612 ^b ± 21,0	608 ^a ± 13,5	616 ^a ± 57,0
Ser ⁽¹⁾	841 ^a ± 37,4	976 ^b ± 34,8	956 ^b ± 43,1	843 ^a ± 41,2	976 ^b ± 39,4
Tyr ⁽²⁾	593 ^a ± 47,3	649 ^a ± 100,5	664 ^a ± 47,4	599 ^a ± 45,4	687 ^b ± 32,9

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g peso seco.

^aEm cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

Através da análise dos fatores de retenção (RF), calculados de acordo com a equação 2 (Secção 3.4), verificou-se que as retenções de leucina, lisina, treonina e valina foram significativamente inferiores durante maltagem quando comparadas com os processos culinários. Verificou-se ainda que o fator de retenção foi inferior a 1,00 apenas no caso da lisina e a valina quando o amaranto foi maltado Gráfico 4.1.

No caso dos aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais, verificou-se que as retenções de arginina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutâmico e prolina foram significativamente inferiores durante maltagem quando comparadas com os processos culinários. Verificou-se ainda que o fator de retenção foi inferior a 1,00 no caso da arginina, da cisteína e do ácido glutâmico quando o amaranto foi maltado, embora só a perda de cisteína tenha sido significativa (RF = 0,77) (Gráfico 4.2).

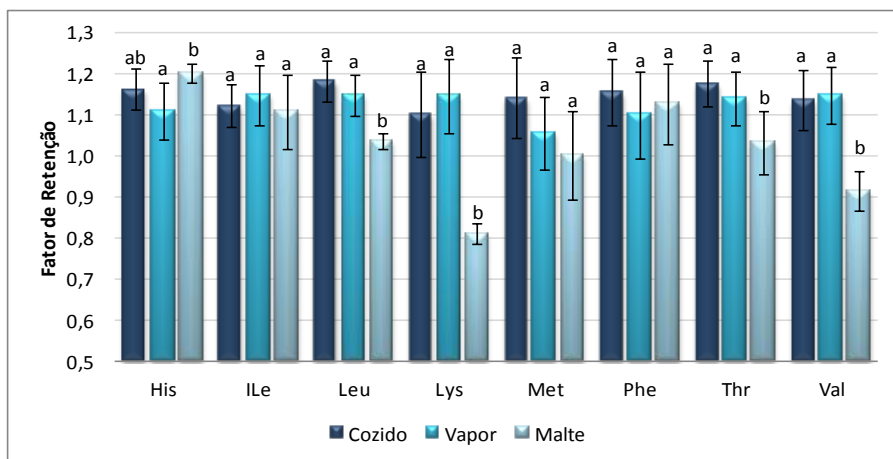


Gráfico 4.1 – Fatores de retenção de aminoácidos essenciais no amaranto.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

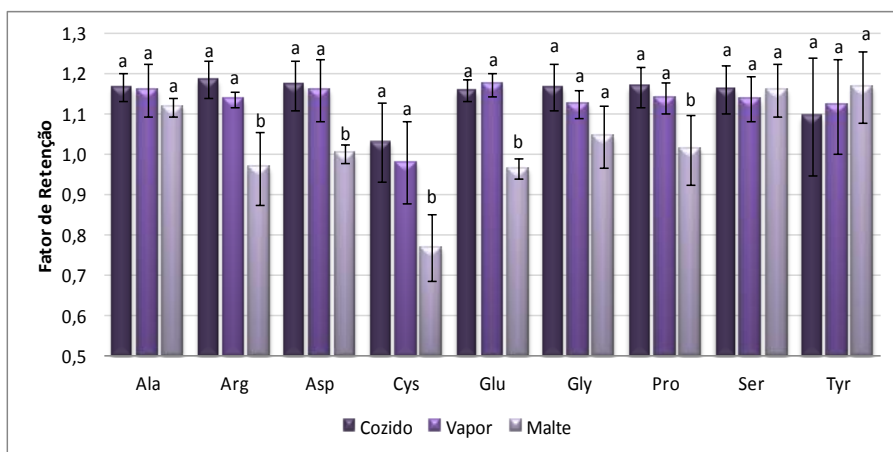


Gráfico 4.2 – Fatores de retenção de aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no amaranto.

* não essenciais (Ala; Asp; Glu; Ser); **condicionalmente essenciais (Arg; Cys; Gly; Pro; Tyr)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Os teores das várias formas de folatos no amaranto diminuíram significativamente durante a confeção, sendo a cozedura a vapor um processo significativamente menos danoso que a cozedura no que aos folatos diz respeito. Por outro lado, durante maltagem do amaranto os teores em folatos totais aumentaram significativamente, principalmente, devido ao aumento dos teores em 5-MTHF (Tabela 4.10).

Tabela 4.10 - Efeito do processamento nos folatos do amaranto¹

	Amaranto				
	Cozinhados			Maltados	
	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
FA	<LoQ	1,8 ^a ± 0,3	3,4 ^b ± 0,7	<LoQ	4,9 ± 0,6
5-MTHF	240 ^a ± 38,7	85,9 ^b ± 6,7	160 ^c ± 11,5	211 ^a ± 23,8	268 ^b ± 13,9
10-CHOTHF	31,7 ^a ± 5,2	11,7 ^b ± 1,4	20,8 ^c ± 2,4	21,2 ^a ± 2,2	14,6 ^b ± 1,7
Folatos Totais	280 ^a ± 35,3	99,4 ^b ± 7,9	184 ^c ± 12,3	237 ^a ± 25,2	288 ^b ± 14,8

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg/100 g peso seco.

LoQ: limite de quantificação (FA < 0,44)

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

O conteúdo em folatos do amaranto baixou significativamente durante a confeção, particularmente, durante a cozedura (RF < 0,4). Por outro lado, durante a maltagem ocorreu um aumento significativo do teor em 5-MTHF e folatos totais (RF > 1,2) no amaranto (Gráfico 4.3).

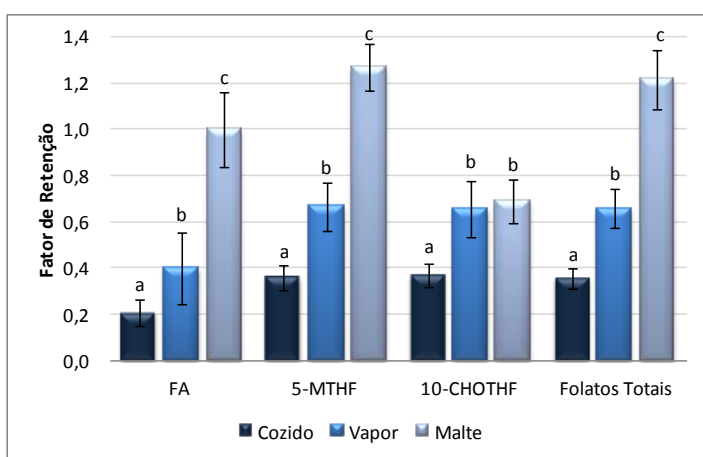


Gráfico 4.3 – Fatores de retenção de folatos no amaranto.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

Nas amostras sujeitas a processamento culinário verificou-se uma diminuição significativa nos teores de magnésio e potássio nas amostras cozidas e cozidas a vapor, quando comparadas com as amostras de amaranto cruas. Observou-se o aumento significativo do teor em cobre na amostra cozida relativamente à amostra crua ou cozida a vapor. Não se registaram diferenças nos teores dos restantes elementos. Nas amostras maltadas o manganês, zinco e cálcio viram os

seus teores significativamente aumentados no malte, enquanto no teor de potássio ocorreu uma diminuição.

Tabela 4.11 – Efeito do processamento nos minerais e oligoelementos do amaranto¹

	Amaranto				
	Cozinhados			Maltados	
	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
Cu	0,572 ^a ± 0,01	0,652 ^b ± 0,02	0,601 ^a ± 0,02	0,513 ^a ± 0,01	0,518 ^a ± 0,01
Mn	4,42 ^a ± 0,3	4,56 ^a ± 0,06	4,38 ^a ± 0,09	2,25 ^a ± 0,01	2,43 ^b ± 0,04
Fe	7,35 ^a ± 0,5	7,42 ^a ± 0,07	7,25 ^a ± 0,3	7,8 ^a ± 0,3	8,21 ^a ± 0,2
Zn	4,55 ^a ± 0,2	4,7 ^a ± 0,1	4,68 ^a ± 0,2	3,76 ^a ± 0,6	3,01 ^b ± 0,03
Mg	328 ^a ± 9,2	307 ^b ± 4,7	302 ^b ± 8,7	268 ^a ± 3,3	271 ^a ± 1,8
Ca	200 ^a ± 7,2	207 ^a ± 1,5	205 ^a ± 2,1	153 ^a ± 1,4	165 ^b ± 2,4
P	663 ^a ± 12,5	655 ^a ± 8,3	647 ^a ± 9,1	487 ^a ± 16,2	502 ^a ± 8,6
K	552 ^a ± 10,5	538 ^b ± 2,8	535 ^b ± 5,1	463 ^a ± 7,6	437 ^b ± 6,0

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g peso seco.

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05)

No que diz respeito à retenção de minerais e oligoelementos realça-se o decréscimo do teor em zinco durante a maltagem, que se reflete num RF = 0,80.

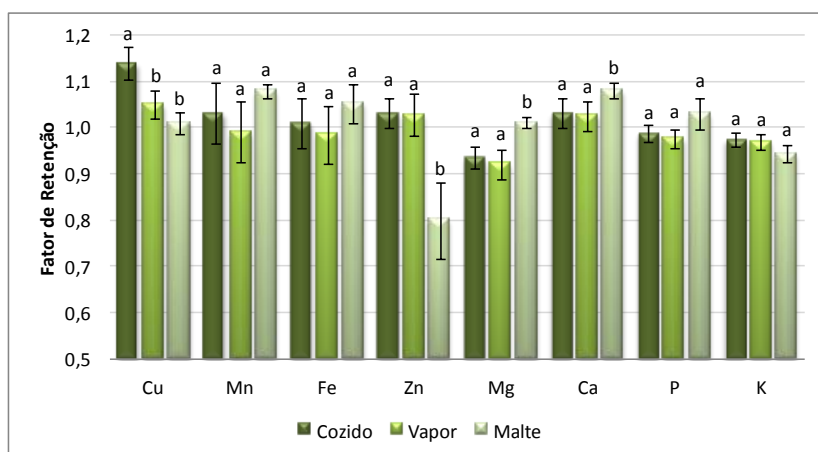


Gráfico 4.4 - Retenção de minerais e oligoelementos no amaranto.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

4.1.4. Avaliação Qualidade Proteica – PDCAAS

Observaram-se ligeiras alterações da qualidade da proteína de amaranto durante o processamento (Gráfico 4.5). O PDCAAS da proteína do amaranto foi de 0,79 (limitado pela isoleucina), 0,66 (limitado pela valina), 0,73 (limitado pela valina) e 0,74 (limitado pela lisina) para o amaranto cru, cozido, cozido a vapor e maltado, respetivamente.

De referir ainda o elevado score dos aminoácidos aromáticos, histidina, aminoácidos sulfurados, e treonina com scores substancialmente superiores a 1,00.

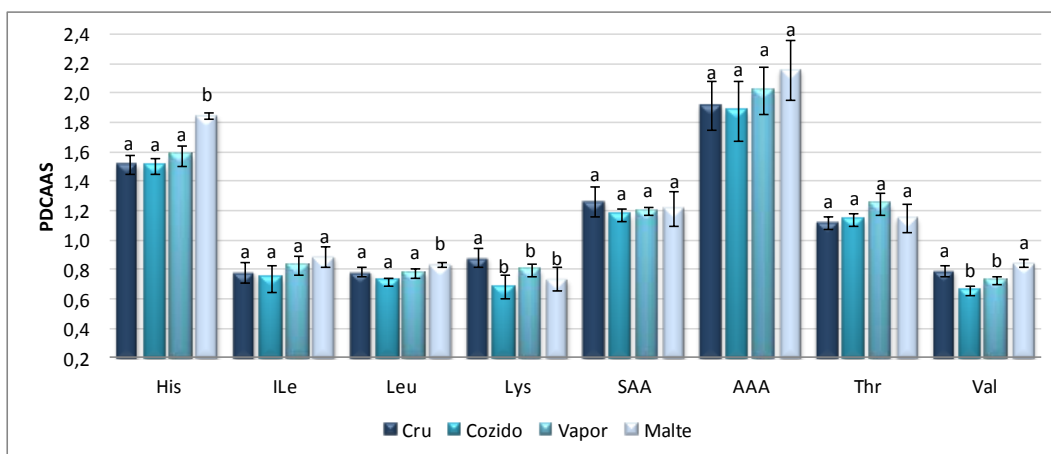


Gráfico 4.5 - Score aminoácidos (PDCAAS) no amaranto.

AAA – Aminoácidos aromáticos (Phe+Tyr); SAA- Aminoácidos Sulfurados (Met+Cys)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

4.1.5. Valor nutricional do amaranto

Para o cálculo da dose equivalente ao alimento cru e após aplicar a Equação 3 (capítulo 3.4) obtemos para o amaranto as seguintes doses: cozido 100 g; vapor 56 g e maltado 35 g.

O cálculo da % das necessidades em aminoácidos satisfeitas pelo consumo de uma dose de alimentos foi descrito na secção 3.4 desta tese e apresentam-se no

Gráfico 4.6. A ingestão de uma dose equivalente de amaranto supre entre 29% da dose de AAA e 7 % da dose de valina. Para todos os aminoácidos essenciais é a dose equivalente de amaranto maltado a que supre a maior percentagem de ingestão, apresentando valores significativamente mais elevados que as restantes amostras.

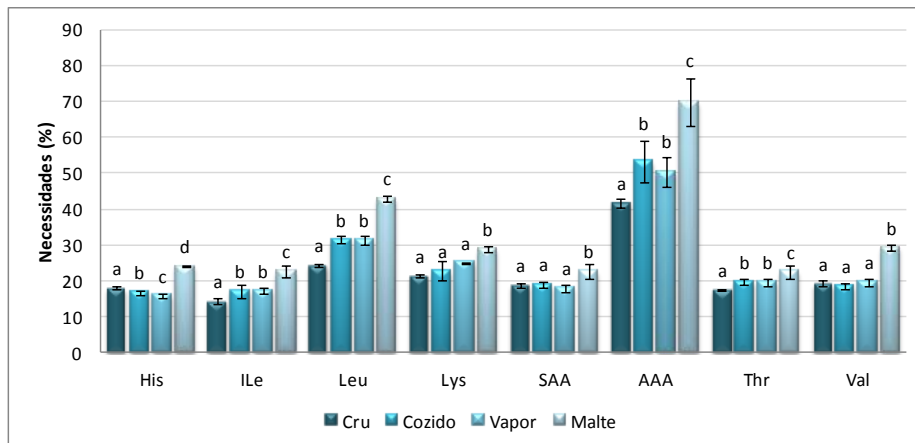


Gráfico 4.6 – Necessidades de aminoácidos essenciais (%) cobertas pelo consumo de uma dose de amaranto.

AAA – Aminoácidos aromáticos (Phe+Tyr); SAA- Aminoácidos Sulfurados (Met+Cys)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Verificou-se que, por dose equivalente, é o amaranto maltado que satisfaz a maior percentagem da recomendação de folatos ($\approx 30\%$), diferindo estatisticamente do amaranto cru neste parâmetro. Em qualquer situação o amaranto pode ser descrito como fonte de folatos.

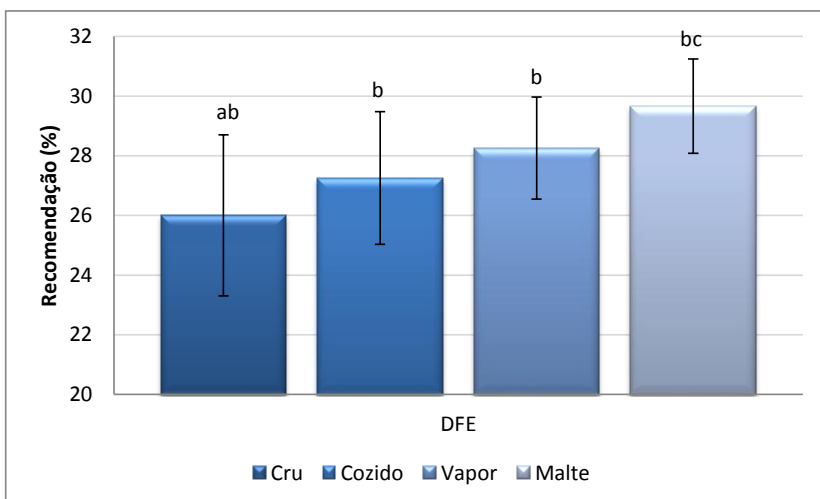


Gráfico 4.7 – Recomendação de folatos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de amaranto. Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Relativamente aos minerais e oligoelementos verificou-se que o consumo de uma dose de amaranto supre cerca de 40% da ingestão recomendada de manganês e apenas 4% da ingestão recomendada de potássio. O amaranto é rico manganês (exceto o amaranto maltado) e fonte de cobre e fósforo. Comparando os diferentes processamentos, apenas se verificaram decréscimos assinaláveis na % das recomendações de manganês supridas por uma dose quando o amaranto é maltado.

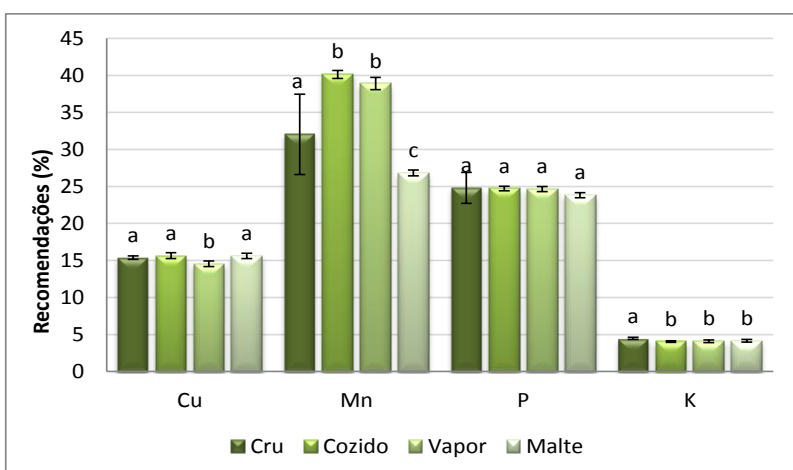


Gráfico 4.8 – Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de amaranto.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

O amaranto é rico em magnésio e fonte de zinco e ferro (apenas para os homens). É relativamente pobre em cálcio (Gráfico 4.9).

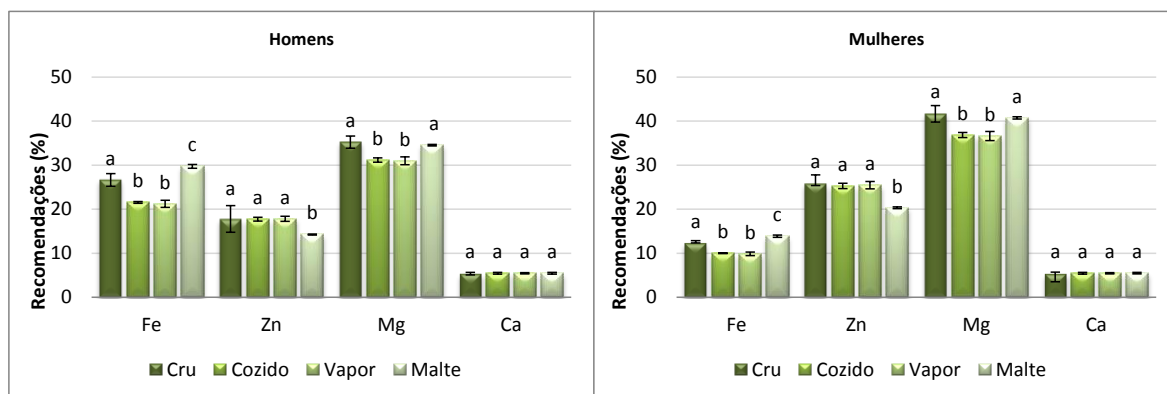


Gráfico 4.9. – Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de amaranto, para homens e mulheres.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

4.1.6. Bioacessibilidade

Para a bioacessibilidade os resultados encontram-se expressos em média \pm desvio padrão dos resultados dos ensaios quadruplicados. O cálculo do EPB para os vários nutrientes foi realizado de acordo com a Equação 6, descrita no capítulo 3.4.

A confeção do amaranto afetou significativamente a bioacessibilidade dos aminoácidos essenciais, sendo o amaranto cozido aquele em que os aminoácidos essenciais apresentam maior bioacessibilidade, subindo de valores entre 21 e 48%, no amaranto cru, para valores entre 78 e 107%. Durante a maltagem verificou-se também o aumento significativo da bioacessibilidade para todos os aminoácidos essenciais, subindo de valores entre 17 e 48%, no amaranto cru, para valores entre 36 e 77%.

Tabela 4.12 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos essenciais no amaranto¹

Amaranto					
	Cozinhados			Maltados	
	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
His	26 ^a ± 3,4	96 ^b ± 7,2	53 ^c ± 5,4	21 ^a ± 0,7	77 ^b ± 1,4
ILe	29 ^a ± 1,2	78 ^b ± 3,0	46 ^c ± 2,9	23 ^a ± 1,0	60 ^b ± 0,9
Leu	30 ^a ± 6,3	98 ^b ± 4,7	57 ^c ± 5,6	29 ^a ± 5,9	66 ^b ± 2,7
Lys	36 ^a ± 3,6	105 ^b ± 5,4	59 ^c ± 0,6	25 ^a ± 2,4	66 ^b ± 1,0
Met	24 ^a ± 1,6	79 ^b ± 0,9	50 ^c ± 4,7	24 ^a ± 3,4	36 ^b ± 4,1
Phe	45 ^a ± 11,5	107 ^b ± 2,1	89 ^c ± 5,5	48 ^a ± 0,6	65 ^b ± 2,4
Thr	28 ^a ± 4,0	78 ^b ± 1,9	41 ^c ± 3,6	24 ^a ± 2,9	58 ^b ± 1,3
Val	26 ^a ± 2,2	85 ^b ± 2,3	44 ^c ± 5,7	17 ^a ± 1,4	66 ^b ± 0,9

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

Comparando o efeito dos vários processamentos na bioacessibilidade dos vários aminoácidos essenciais (Gráfico 4.10) verificou-se que os maiores ganhos foram registados na amostra cozida. Verificou-se que a bioacessibilidade dos aminoácidos essenciais aumentou mais de 2.8x para todos os aminoácidos essenciais, sendo esse aumento superior no caso da histidina, da fenilalanina e da valina. Durante a maltagem a bioacessibilidade da histidina e da valina aumenta entre 3-4x, a da isoleucina, leucina, lisina e treonina aumenta entre 2-3x, sendo o aumento $\approx 1.5x$ para a metionina e a fenilalanina. A cozedura a vapor tem um menor efeito na bioacessibilidade dos aminoácidos essenciais quando comparado com os outros processos.

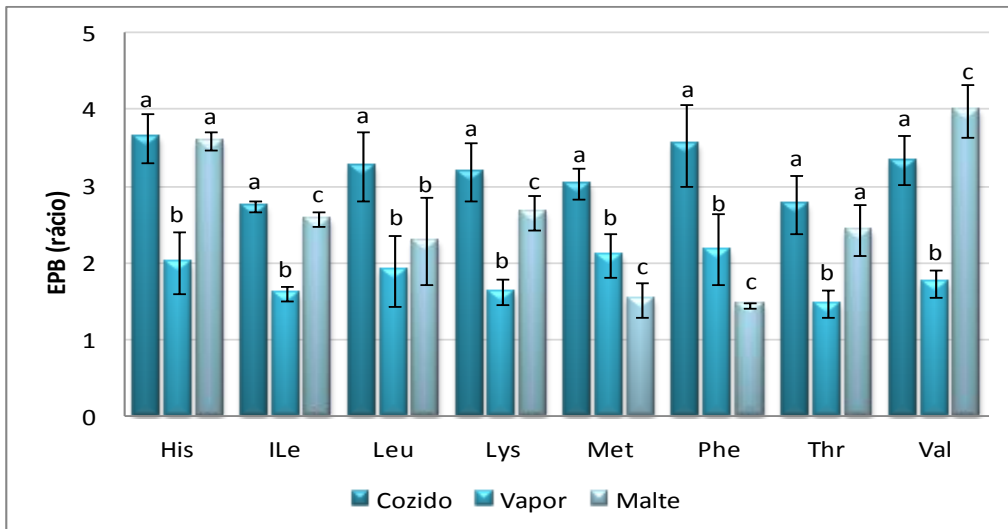


Gráfico 4.10 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos essenciais no amaranto.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Através da análise da Tabela 4.13 verifica-se igualmente um aumento significativo da bioacessibilidade de todos os aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais induzido pelos vários processamentos, exceto para a glicina quando o amarando foi maltado.

Para a maioria dos aminoácidos foi o amaranto cozido o que apresentou valores mais elevados de bioacessibilidade (entre 26 e 98%). As exceções foram a arginina e a tirosina, mais bioacessíveis quando o amaranto foi cozido a vapor.

Tabela 4.13 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no amaranto¹

	Amaranto				
	Cozinhados			Maltados	
	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
Ala ⁽¹⁾	31 ^a ± 1,8	94 ^b ± 2,3	49 ^c ± 8,9	30 ^a ± 4,5	77 ^b ± 1,8
Arg ⁽²⁾	46 ^a ± 3,6	89 ^b ± 10,8	106 ^c ± 6,1	43 ^a ± 2,9	56 ^b ± 1,6
Asp ⁽¹⁾	8,6 ^a ± 0,4	26 ^b ± 0,3	15 ^c ± 3,9	6,0 ^a ± 0,8	16 ^b ± 0,6
Cys ⁽²⁾	26 ^a ± 2,5	97 ^b ± 3,7	50 ^c ± 7,3	29 ^a ± 1,5	41 ^b ± 5,7
Glu ⁽¹⁾	10 ^a ± 0,4	31 ^b ± 0,1	16 ^c ± 0,6	10 ^a ± 1,0	21 ^b ± 0,2
Gly ⁽²⁾	32 ^a ± 2,1	90 ^b ± 1,6	46 ^c ± 3,8	28 ^a ± 4,3	31 ^a ± 2,1
Pro ⁽²⁾	8,3 ^a ± 0,7	26 ^b ± 1,8	12 ^c ± 1,1	8,1 ^a ± 0,7	11 ^b ± 0,4
Ser ⁽¹⁾	17 ^a ± 0,9	57 ^b ± 1,8	28 ^c ± 3,8	20 ^a ± 3,2	42 ^b ± 1,0
Tyr ⁽²⁾	59 ^a ± 13,4	98 ^b ± 6,3	109 ^b ± 5,1	66 ^a ± 1,2	86 ^b ± 1,3

* não essenciais (Ala; Asp; Glu; Ser); **condicionalmente essenciais (Arg; Cys; Gly; Pro; Tyr)

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

No que diz respeito aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais, o efeito da cozedura do amaranto na bioacessibilidade do aspartato, cisteína, glutamato, glicina, prolina e serina foi significativamente superior ao dos restantes processos. O efeito da maltagem na bioacessibilidade da arginina e da prolina é menor que o efeito da cozedura e cozedura a vapor.

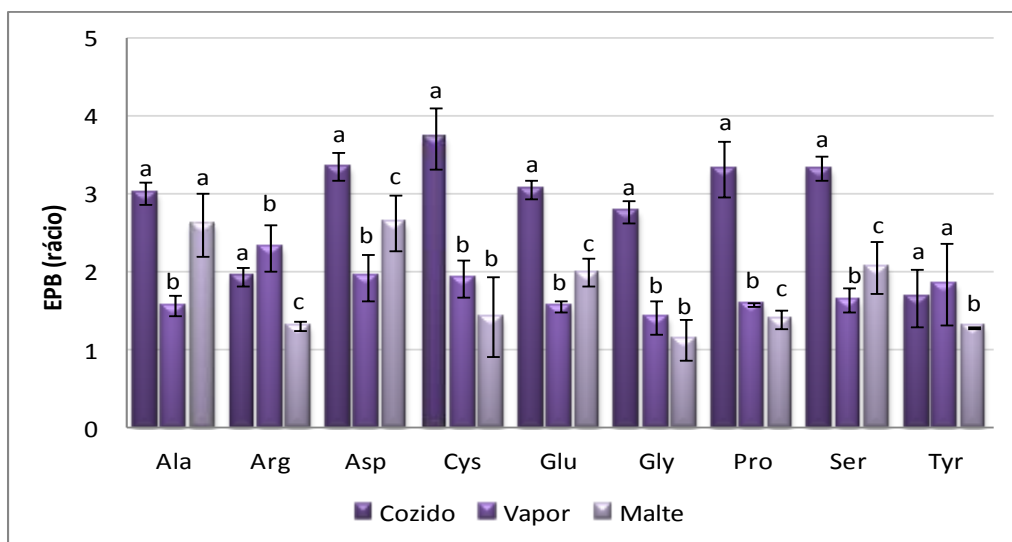


Gráfico 4.11 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no amaranto.

* não essenciais (Ala; Asp; Glu; Ser); **condicionalmente essenciais (Arg; Cys; Gly; Pro; Tyr)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

Foi a amostra cozida a que apresentou valores mais elevados de bioacessibilidade de folatos, no entanto, a bioacessibilidade do 5-MTHF e dos folatos totais do amaranto cozido não diferiu significativamente da do amaranto cozido a vapor, apresentando, em ambos os casos valores de bioacessibilidade perto dos 100%. No amaranto maltado os valores de bioacessibilidade para o 5-MTHF e folatos totais também se encontram perto dos 100%. Neste caso, o efeito da maltagem na bioacessibilidade do principal folato e dos folatos totais não foi significativo pois observou-se uma elevada bioacessibilidade destes compostos no amaranto cru.

Tabela 4.14 - Bioacessibilidade (%) dos folatos no amaranto¹.

	Cozinhados			Maltados	
	Crua_C	Cozida	Vapor	Crua_M	Malte
FA	10 ± 5,7	56 ± 22,5	29 ± 11,7	66 ± 29,1	28 ± 8,9
5-MTHF	73 ± 7,8	100 ± 13,4	101 ± 5,1	98 ± 7,3	103 ± 4,8
10-CHOTHF	9 ± 3,3	51 ± 5,5	36 ± 7,9	69 ± 12,2	105 ± 20,7
Folatos Totais	64 ± 7	93 ± 11,2	92 ± 4,5	95 ± 6,4	102 ± 5,1

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

O EPB dos folatos é significativamente mais baixo quando o amaranto é maltado.

Observou-se, no amaranto maltado, uma diminuição da bioacessibilidade do FA (EPB < 1).

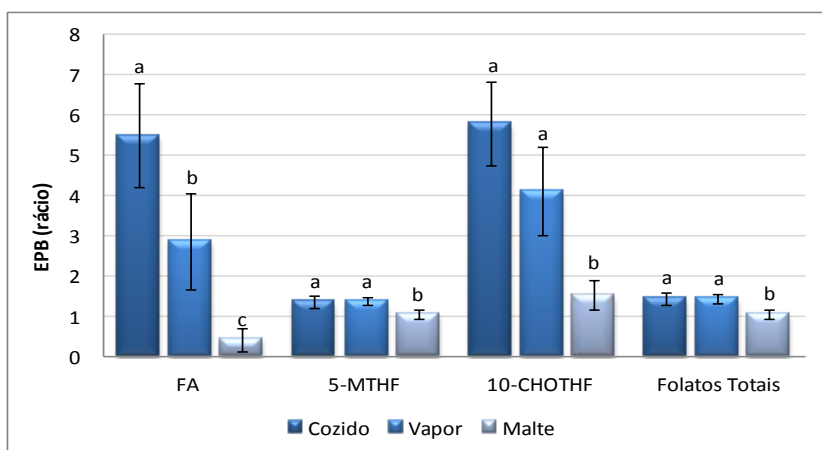


Gráfico 4.12 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos folatos no amaranto. Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A tabela Tabela 4.15 apresenta os resultados da bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos do amaranto cozinhado e processado. No amaranto cru a bioacessibilidade varia entre 6,2% para o ferro e 55% para o zinco. A bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos aumenta significativamente após confeção, exceto no caso do zinco. Observaram-se diferenças significativas na bioacessibilidade do ferro, zinco e cálcio entre a cozedura e a cozedura a vapor. Durante a maltagem observou-se um aumento significativo da bioacessibilidade de manganês, magnésio e fósforo. A bioacessibilidade de zinco e cálcio diminuiu significativamente.

Tabela 4.15 -Bioacessibilidade (%) de minerais e oligoelementos no amaranto¹.

	Amaranto				
	Cozinhados			Maltados	
	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
Cu	8,0 ^a ± 0,7	61 ^b ± 2,2	60 ^b ± 3,4	36 ^a ± 1,4	42 ^b ± 2,5
Mn	10 ^a ± 0,9	31 ^b ± 1,3	29 ^b ± 2,3	20 ^a ± 1,9	59 ^b ± 1,6
Fe	6,2 ^a ± 0,5	14 ^b ± 0,8	11 ^c ± 0,3	14 ^a ± 0,8	12 ^a ± 1,0
Zn	55 ^a ± 2,6	46 ^b ± 2,7	23 ^c ± 1,5	75 ^a ± 4,0	34 ^b ± 1,4
Mg	15 ^a ± 0,7	40 ^b ± 1,3	38 ^b ± 2,5	39 ^a ± 1,8	58 ^b ± 2,2
Ca	47 ^a ± 3,0	54 ^b ± 1,3	31 ^c ± 0,8	55 ^a ± 2,5	42 ^b ± 1,8
P	47 ^a ± 1,4	82 ^b ± 2,5	78 ^b ± 2,2	45 ^a ± 2,8	62 ^b ± 2,0
K	44 ^a ± 4,2	83 ^b ± 6,0	75 ^b ± 4,8	75 ^a ± 3,5	82 ^a ± 5,6

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

O EPB da maltagem é significativamente inferior ao da cozedura e cozedura a vapor para o cobre, ferro, magnésio, fósforo e potássio.

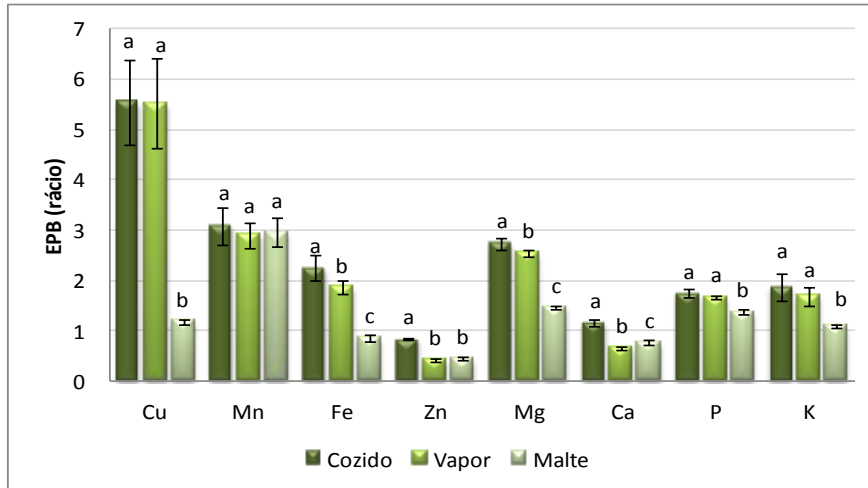


Gráfico 4.13 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos no amaranto.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

4.2. Quinoa

Para a caracterização da quinoa foram compilados resultados referentes amostras recolhidas na Argentina na região de Salta e Jujuy, identificadas como Quinoa (Argentina). As amostras sujeitas aos processos de culinários foram recolhidas nos anos de 2013 e 2014, e as sujeitas a maltagem foram recolhidas em 2015, ambas adquiridas em superfícies comerciais em Portugal e identificadas como “Provenientes de Agricultura Biológica”.

Na maltagem, a fração de quinoa germinada definida como o rácio entre o número de sementes germinadas após 24 h de germinação e o número inicial de sementes foi de aproximadamente 0,8.

O rendimento de confeção (Y_c , equação 1, secção 3.4) da quinoa foi de 2,38 quando cozido e 2,30 quando cozida a vapor e de 0.91 quando torrada.

No caso da quinoa, foi testado um método de processamento adicional – a torragem – com o objetivo de produzir farinhas com características organolépticas.

4.2.1. Composição nutricional da quinoa

– Macronutrientes

Analisando os resultados relativos aos macronutrientes, compilados na Tabela 4.16, verifica-se que não ocorreram variações no teor de humidade entre os vários lotes de quinoa crua. No que diz respeito ao teor em proteína encontraram-se valores que variam entre 11,9 g/100 g e 14,2 g/100 g. A quinoa apresenta igualmente valores elevados de fibra (10,4 g/100 g) e de gordura total (6,3 g/100 g).

O aumento do valor do teor de humidade na quinoa cozinhada é, à semelhança do verificado no amaranto, consequência da absorção de água que ocorre durante o processamento.

Tabela 4.16 – Macronutrientes na quinoa

	Quinoa (Argentina)		Quinoa Agricultura Biológica				
			Cozinhados			Maltados	
	Crua	Crua_C	Cozida	Vapor	Torrada	Cru_M	Malte
Humidade	11,3 ± 0,05	11,7 ± 0,2	66,6 ± 0,2	62,8 ± 0,02	1,3 ± 0,02	11,8 ± 0,2	5,9 ± 0,03
Cinza	2,01 ± 0,02	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Proteína	12,1 ± 0,3	11,9 ± 0,3	4,4 ± 0,1	6,4 ± 0,2	13,2 ± 0,5	14,2 ± 0,4	14,1 ± 0,4
Gordura	6,3 ± 0,1	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Fibra	10,4 ± 0,6	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Amido	57,2 ± 0,7	nd	nd	nd	nd	nd	nd

nd – Não determinado

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos duplicados, g/100 g edível.

– Aminoácidos

Comparando o valor resultante da soma dos teores em aminoácidos (Tabela 4.17) com o teor de proteína total determinada, verificou-se que são próximos mas consistentemente mais baixos, apresentando diferenças que em média estão por volta dos 2 g/100 g. Comparando os teores dos diferentes aminoácidos essenciais, os que apresentaram os valores mais elevados foram a leucina (960 mg/100 g) e a fenilalanina (827 mg/100 g). Também neste pseudocereal a metionina apresenta os valores mais baixos.

Tabela 4.17 – Aminoácidos essenciais na quinoa

	Quinoa (Argentina)		Quinoa Agricultura Biológica				
	Cozinhados					Maltados	
	Crua	Crua_C	Cozida	Vapor	Torrada	Crua_M	Malte
His	511 ± 65,2	366 ± 23,8	146 ± 7,20	154 ± 8,50	552 ± 8,71	431 ± 11,2	460 ± 7,4
ILe	434 ± 86,4	358 ± 16,7	149 ± 10,7	154 ± 7,72	399 ± 12,5	494 ± 21,9	512 ± 11,2
Leu	833 ± 161	690 ± 25,5	277 ± 5,23	293 ± 9,85	739 ± 23,6	924 ± 17,2	960 ± 19,8
Lys	591 ± 155	485 ± 45,3	178 ± 10,1	202 ± 18,3	362 ± 34,2	576 ± 36,5	572 ± 5,5
Met	231 ± 34,2	319 ± 29,4	99,3 ± 3,37	104 ± 3,71	412 ± 8,09	407 ± 3,5	348 ± 9,6
Phe	685 ± 115	557 ± 59,5	233 ± 15,3	239 ± 17,0	730 ± 12,4	719 ± 54,4	827 ± 5,1
Thr	469 ± 68,1	386 ± 15,4	156 ± 2,34	166 ± 5,66	414 ± 12,5	507 ± 3,2	489 ± 5,9
Val	529 ± 100	429 ± 19,4	170 ± 1,79	180 ± 4,97	479 ± 15,7	602 ± 24,6	612 ± 23,9
(g/100g edível)							
Soma AA	12,3 ± 2,2	9,9 ± 0,4	3,9 ± 0,07	4,1 ± 0,1	11,1 ± 0,3	12,3 ± 0,3	12,5 ± 0,3

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g edível.

O aminoácido não essencial mais predominante foi o ácido glutâmico, seguido pela arginina (condicionalmente essencial) e pelo ácido aspártico (Tabela 4.18). A cisteína apresentou os valores mais baixos, tal como a metionina (Tabela 4.17), fazendo com que também na quinoa sejam os aminoácidos sulfurados os que apresentam os menores valores absolutos.

Tabela 4.18 – Aminoácidos não essenciais⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais⁽²⁾ na quinoa

	Quinoa (Argentina)		Quinoa Agricultura Biológica				
	Crua	Crua_C	Cozinhados			Maltados	
			Cozida	Vapor	Torrada	Crua_M	Malte
Ala ⁽¹⁾	556 ± 121	466 ± 25,0	186 ± 4,2	200 ± 5,9	480 ± 19,9	648 ± 22,2	632 ± 25,6
Arg ⁽²⁾	1261 ± 231	960 ± 51,2	403 ± 18,8	422 ± 25,4	1076 ± 20,6	1142 ± 62,6	1217 ± 64,4
Asp ⁽¹⁾	1123 ± 266	942 ± 82,1	348 ± 15,6	371 ± 22,2	950 ± 47,9	1060 ± 44,8	1048 ± 58,3
Cys ⁽²⁾	147 ± 42,2	101 ± 9,6	26,3 ± 2,2	29,0 ± 2,4	263 ± 8,1	106 ± 7,23	98,7 ± 4,8
Glu ⁽¹⁾	2320 ± 481	1758 ± 168	687 ± 52,7	733 ± 56,2	1812 ± 89,4	2066 ± 53,2	1964 ± 90,9
Gly ⁽²⁾	778 ± 162	593 ± 37,4	258 ± 17,8	269 ± 18,9	644 ± 16,9	702 ± 64,4	878 ± 15,9
Pro ⁽²⁾	505 ± 99,1	433 ± 20,3	170 ± 3,9	183 ± 5,1	493 ± 13,3	615 ± 35,4	559 ± 22,7
Ser ⁽¹⁾	636 ± 79,0	509 ± 20,6	207 ± 4,1	219 ± 8,9	544 ± 15,4	745 ± 49,8	657 ± 25,8
Tyr ⁽²⁾	761 ± 75,3	502 ± 44,7	197 ± 15,4	192 ± 12,5	724 ± 13,7	603 ± 77,4	674 ± 5,08

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g edível.

– Folatos

No que diz respeito aos folatos, a forma predominante em todas as amostras foi o 5-MTHF. O valor mais elevado foi encontrado nas amostras cruas (294 µg/100 g).

Tabela 4.19 - Folatos na quinoa

	Quinoa				
	Cozinhados			Maltados	
	Crua_C	Cozida	Vapor	Crua_M	Malte
FA	<LoQ	2,5 ± 0,4	1,8 ± 0,4	8,2 ± 1,0	6,0 ± 1,5
THF	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ
5-MTHF	252 ± 21,6	105 ± 3,8	112 ± 6,21	229 ± 11,8	219 ± 27,8
10-CHOTHF	42,1 ± 9,0	16,0 ± 3,3	17,8 ± 6,35	47,1 ± 7,4	54,4 ± 7,7
5-CHOTHF	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ
Folatos Totais	294 ± 20,7	123 ± 6,3	131,9 ± 8,0	284 ± 7,4	279 ± 29,4

LoQ: limite de quantificação (FA < 0,44; THF < 0,56; 5-CHOTHF < 0,24)

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg/100 g edível.

– Minerais e Oligoelementos

Entre os oligoelementos presentes na quinoa, verificou-se uma variação nos teores de ferro e cálcio entre as diferentes amostras cruas. Os teores de ferro e cálcio variaram entre 3,8 e 5,5 mg/100 g e entre os 44 e 68 mg/100 g, respetivamente. Destacam-se novamente as concentrações de fósforo e potássio,

verificando-se igualmente, neste último, variações consideráveis nos teores da quinoa crua, entre 495 e 664 mg/100 g.

Tabela 4.20 – Minerais e oligoelementos na quinoa

	Quinoa (Argentina)		Quinoa Agricultura Biológica				
	Crua	Crua_C	Cozinhada			Maltadas	
			Cozida	Vapor	Torrada	Crua_M	Malte
Cu	0,59 ± 0,03	0,444 ± 0,01	0,154 ± 0,01	0,173 ± 0,01	0,483 ± 0,01	0,625 ± 0,03	0,473 ± 0,04
Mn	1,95 ± 0,10	1,67 ± 0,03	0,64 ± 0,05	0,74 ± 0,09	1,80 ± 0,02	2,74 ± 0,1	2,97 ± 0,2
Fe	5,46 ± 0,02	3,79 ± 0,08	1,49 ± 0,1	1,61 ± 0,05	4,25 ± 0,05	4,80 ± 0,3	3,14 ± 0,3
Zn	2,93 ± 0,07	2,62 ± 0,04	0,98 ± 0,08	1,07 ± 0,08	2,94 ± 0,04	3,32 ± 0,3	3,22 ± 0,2
Mg	197 ± 8,1	173 ± 2,7	64 ± 2,6	70 ± 3,2	191 ± 1,0	275 ± 10,2	205 ± 10,5
Ca	44 ± 1,7	68,6 ± 1,9	24,8 ± 3,4	26,6 ± 2,7	74,2 ± 2,1	42,3 ± 0,2	44,5 ± 4,3
P	468 ± 15	386 ± 4,2	149 ± 3,1	168 ± 3,8	428 ± 2,26	490 ± 25,7	485 ± 25,6
K	664 ± 16	495 ± 6,6	179 ± 2,6	193 ± 3,6	541 ± 4,1	518 ± 19,8	487 ± 18,7
Na	<LoQ		<LoQ			<LoQ	

LoQ: limite de quantificação (<2,5 mg/100g).

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g edível.

– Elementos traço

Os teores de cobalto e de selênio apresentaram valores abaixo do limite de quantificação. A quinoa, quando comparada com o amaranto, apresentou maiores teores de molibdênio, estrôncio e lítio, e menores teores de crômio.

Tabela 4.21 - Elementos traço na quinoa

	Quinoa (Argentina)	Quinoa Agricultura Biológica
	Crua	Crua_C
Mo	22,8 ± 0,7	24,1 ± 0,1
Sr	160 ± 11,3	168 ± 12,1
Co	<LoQ	<LoQ
Cr	Nd	17,3 ± 2,2
Li	7,95 ± 0,6	8,20 ± 0,8
V	6,66 ± 0,6	5,81 ± 0,4
Ni	16,2 ± 0,7	13,6 ± 1,1
Se	<LoQ	<LoQ

nd – não determinado; LoQ: limite de quantificação (Se < 0,50; Co < 0,25).

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg /100 g edível.

4.2.2. Contaminantes

Na análise aos contaminantes químicos, verificou-se que na quinoa os níveis de arsénio, cádmio e chumbo estão abaixo do limite de quantificação (Tabela 4.22). Verificou-se ainda que a torragem da quinoa induziu a formação de acrilamida, ficando os teores muito acima dos valores indicativos da EFSA para cereais para pequeno-almoço contendo produtos à base de milho, aveia, espelta, cevada e arroz, que apontam para valores abaixo de 200 µg/kg (European Food Safety Authority, 2012, 2015a). O processo de torragem foi abandonado na fase inicial desta investigação por se considerar inadequado a incorporação de ingredientes com estes níveis de acrilamida em fórmulas destinada a fins medicinais específicos.

Tabela 4.22 - Contaminantes na quinoa

	Quinoa Agricultura Biológica			
	Crua_C	Cozida	Vapor	Torrada
As	<LoQ	nd	Nd	nd
Cd	<LoQ	nd	Nd	nd
Pb	<LoQ	nd	Nd	nd
Acrilamida	nd	41,4 ± 2,9	47,8 ± 0,4	977 ± 11,7

nd – não determinado; LoQ: limite de quantificação (Pb < 0.50; As, Cd < 0.25).
Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg/kg edível.

4.2.3. Efeito do processamento na composição nutricional da quinoa

Para a análise do efeito do processamento no conteúdo nutricional do amaranto os teores foram expressos em base seca. Desta forma as variações observadas são independentes da variação do teor em água verificado durante os diferentes processamentos.

A maltagem da quinoa não afetou significativamente o conteúdo proteico das amostras. Observou-se um aumento significativo, embora de magnitude reduzida,

do conteúdo proteico durante a cozedura a vapor. O teor proteico quantificado aumentou de 13,5 g/100 g de resíduo seco, na quinoa crua, para 13,1 e 15,2 g/100 g de resíduo seco, na quinoa cozida e cozida a vapor, respetivamente.

Os teores dos aminoácidos essenciais isoleucina, leucina, treonina e valina aumentaram significativamente durante a cozedura, o que não se observou durante a cozedura a vapor (Tabela 4.23). Já os teores de metionina diminuíram quando as amostras foram confeccionadas. Durante a maltagem da quinoa os teores de metionina e a treonina diminuíram significativamente. Os teores dos restantes aminoácidos essenciais não evoluíram significativamente durante a maltagem.

Tabela 4.23 - Efeito do processamento nos aminoácidos essenciais da quinoa¹

	Quinoa				
	Cozinhados			Maltados	
	Crua_C	Cozida	Vapor	Crua_M	Malte
His	414 ^a ± 26,9	436 ^a ± 21,5	414 ^a ± 22,8	489 ^a ± 12,7	488 ^a ± 7,9
ILe	406 ^a ± 18,9	445 ^b ± 31,9	413 ^a ± 20,8	560 ^a ± 24,9	544 ^a ± 11,9
Leu	781 ^a ± 28,8	828 ^b ± 15,7	788 ^a ± 26,5	1047 ^a ± 19,5	1019 ^a ± 21,0
Lys	549 ^a ± 51,3	531 ^a ± 30,3	543 ^a ± 49,1	653 ^a ± 41,3	607 ^a ± 5,8
Met	361 ^a ± 33,3	297 ^b ± 10,1	280 ^b ± 10,0	462 ^a ± 3,9	370 ^b ± 10,2
Phe	630 ^a ± 67,4	696 ^b ± 45,9	642 ^{ab} ± 45,7	815 ^a ± 61,6	878 ^a ± 5,4
Thr	437 ^a ± 17,4	468 ^b ± 7,0	446 ^a ± 15,2	575 ^a ± 3,6	519 ^b ± 6,4
Val	486 ^a ± 21,9	509 ^b ± 5,4	484 ^a ± 13,4	682 ^a ± 27,9	650 ^a ± 25,4

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g peso seco.

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

No Gráfico 4.14 apresentam-se os fatores de retenção para todos os aminoácidos essenciais obtidos recorrendo à equação 2 (Capítulo 3.4). Assinala-se um efeito de maior magnitude da confeção e da maltagem no teor em metionina (RF ≈ 0,8).

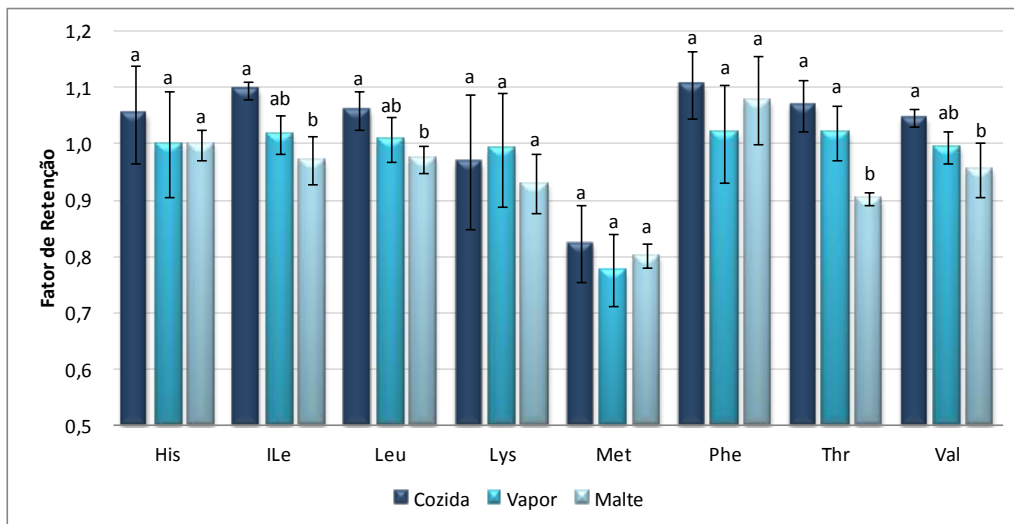


Gráfico 4.14 - Retenção de aminoácidos essenciais na quinoa.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

As concentrações dos aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais arginina, prolina e serina da quinoa cozida foram significativamente superiores às determinadas nas amostras cruas e a vapor (Tabela 4.24). A confeção (cozedura e cozedura a vapor) e a maltagem induziram uma diminuição significativa do teor em cisteína. Na maltagem, os teores de ácido glutâmico, de serina e de prolina decrescem significativamente ($0,8 < RF < 0,9$). Com a maltagem apenas a concentração de glicina aumentou de forma significativa (Tabela 4.24 e Gráfico 4.15).

Tabela 4.24 - Efeito do processamento nos aminoácidos não essenciais⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais⁽²⁾ da quinoa.^a

	Quinoa				
	Cozinhados			Maltados	
	Crua_C	Cozida	Vapor	Crua_M	Malte
Ala ⁽¹⁾	529 ^a ± 28,3	556 ^b ± 12,6	539 ^{ab} ± 16,1	735 ^a ± 25,1	671 ^b ± 27,2
Arg ⁽²⁾	1086 ^a ± 57,9	1206 ^b ± 56,3	1133 ^a ± 68,3	1294 ^a ± 70,9	1292 ^a ± 68,4
Asp ⁽¹⁾	1066 ^a ± 92,9	1041 ^a ± 46,6	997 ^a ± 59,8	1201 ^a ± 50,8	1113 ^a ± 61,7
Cys ⁽²⁾	114 ^a ± 10,8	78,6 ^b ± 6,5	77,9 ^b ± 6,5	120 ^a ± 8,2	105 ^b ± 5,1
Glu ⁽¹⁾	1988 ^a ± 190	2054 ^a ± 157	1971 ^a ± 151	2342 ^a ± 60,3	2086 ^b ± 96,6
Gly ⁽²⁾	671 ^a ± 42,3	772 ^b ± 53,8	724 ^b ± 50,9	796 ^a ± 73	932 ^b ± 16,8
Pro ⁽²⁾	490 ^a ± 23	509 ^b ± 11,9	490 ^a ± 13,7	697 ^a ± 40,1	594 ^b ± 24,1
Ser ⁽¹⁾	576 ^a ± 23,3	618 ^b ± 12,3	590 ^a ± 23,8	844 ^a ± 56,5	698 ^b ± 27,4
Tyr ⁽²⁾	567 ^a ± 50,6	589 ^a ± 45,9	516 ^b ± 33,8	683 ^a ± 87,8	716 ^a ± 5,4

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g peso seco.

^aEm cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

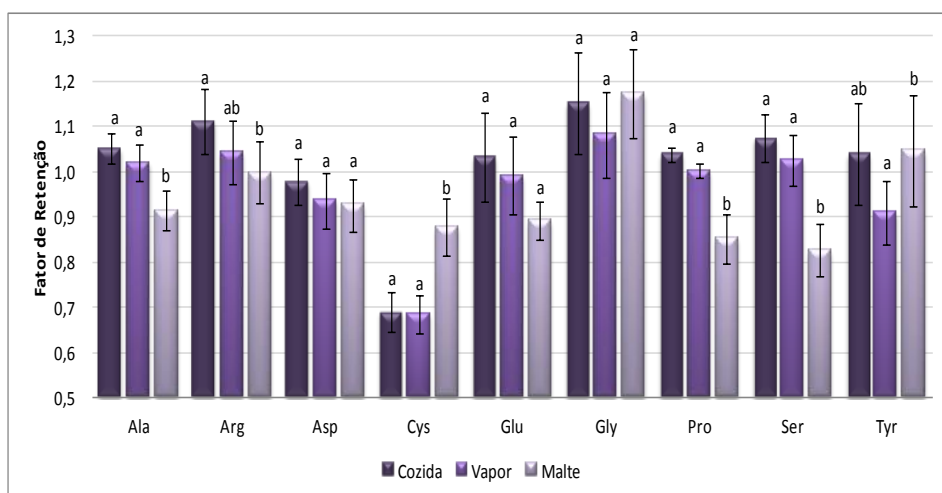


Gráfico 4.15 - Retenção de aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** na quinoa.

* não essenciais (Ala; Asp; Glu; Ser); **condicionalmente essenciais (Arg; Cys; Gly; Pro; Tyr)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

Os vários processamentos não afetaram significativamente os teores de 5-MTHF e o 10-CHOTHF (Tabela 4.25). O teor de FA diminuiu significativamente após os processamentos culinários e a maltagem.

Tabela 4.25 - Efeito do processamento nos folatos da quinoa.¹

	Quinoa				
	Cozinhados			Maltados	
	Crua_C	Cozida	Vapor	Crua_M	Malte
FA	<LoQ	7,6 ± 1,1	4,8 ± 1,01	9,4 ± 1,1	6,4 ± 1,6
5-MTHF	275 ± 17,2	313 ± 11,4	302 ± 16,7	259 ± 13,4	233 ± 29,5
10-CHOTHF	47,6 ± 10,6	47,9 ± 9,86	47,9 ± 17,07	53,4 ± 8,35	57,8 ± 8,22
Folatos Totais	332 ± 23,5	369 ± 19	355 ± 21,5	322 ± 8,3	297 ± 31,3

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg/100 g peso seco.

LoQ: limite de quantificação (FA < 0,44)

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

Durante a maltagem, ocorre uma redução significativa do teor de 5-MTHF (RF ≈ 0,9), que se reflete depois na soma dos folatos totais da quinoa maltada (Gráfico 4.16). Não se pode calcular o RF para o FA para a cozedura e cozedura a vapor pois o teor deste composto na amostra crua respetiva está abaixo do LoQ. Nos maltes o FA apresentou uma perda significativa (RF ≈ 0,7).

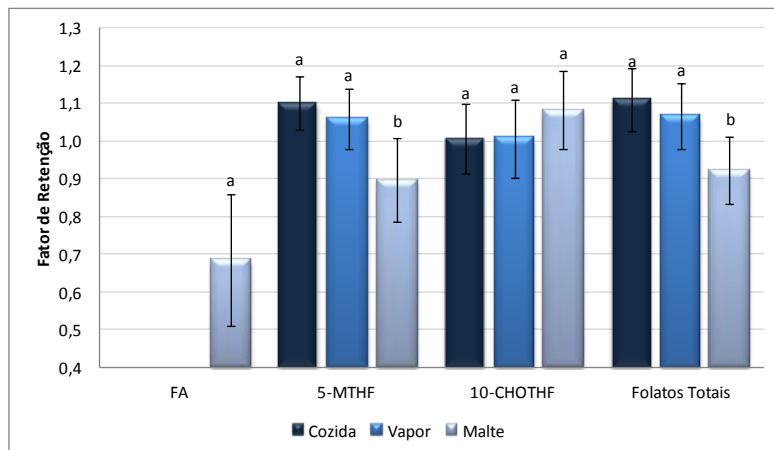


Gráfico 4.16 - Retenção de folatos na quinoa.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

No que diz respeito à evolução dos teores dos minerais e oligoelementos durante o processamento (Tabela 4.26 e Gráfico 4.17), verificou-se uma diminuição significativa nos teores de cobre e potássio nas amostras cozidas e cozidas a vapor, quando comparadas com as cruas. Foi durante a maltagem que se

observaram as maiores alterações, registrando-se uma diminuição significativa dos teores em cobre, ferro e magnésio ($0,65 < RF < 0,75$).

Tabela 4.26 – Efeito do processamento nos minerais e oligoelementos da quinoa.1

Quinoa					
	Cozinhados			Maltados	
	Crua_C	Cozida	Vapor	Crua_M	Malte
Cu	0,502 ^a ± 0,01	0,461 ^b ± 0,01	0,465 ^b ± 0,01	0,708 ^a ± 0,04	0,537 ^b ± 0,05
Mn	1,89 ^a ± 0,03	1,91 ^a ± 0,2	1,99 ^a ± 0,2	3,11 ^a ± 0,2	3,36 ^a ± 0,2
Fe	4,29 ^a ± 0,09	4,44 ^a ± 0,3	4,34 ^a ± 0,1	5,44 ^a ± 0,4	3,56 ^b ± 0,4
Zn	2,97 ^a ± 0,05	2,93 ^a ± 0,2	2,88 ^a ± 0,2	3,76 ^a ± 0,4	3,65 ^a ± 0,2
Mg	196 ^a ± 3,08	192 ^a ± 7,9	189 ^a ± 8,7	312 ^a ± 11,6	232 ^b ± 11,9
Ca	77,5 ^a ± 2,1	74,2 ^a ± 10,1	71,4 ^a ± 7,4	48,0 ^a ± 0,3	50,4 ^a ± 4,9
P	436 ^a ± 4,7	447 ^{ab} ± 9,3	451 ^b ± 10,1	556 ^a ± 29,2	549 ^a ± 29,0
K	559 ^a ± 7,5	536 ^b ± 7,8	520 ^c ± 9,7	587 ^a ± 22,5	552 ^a ± 21,2

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g peso seco.

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

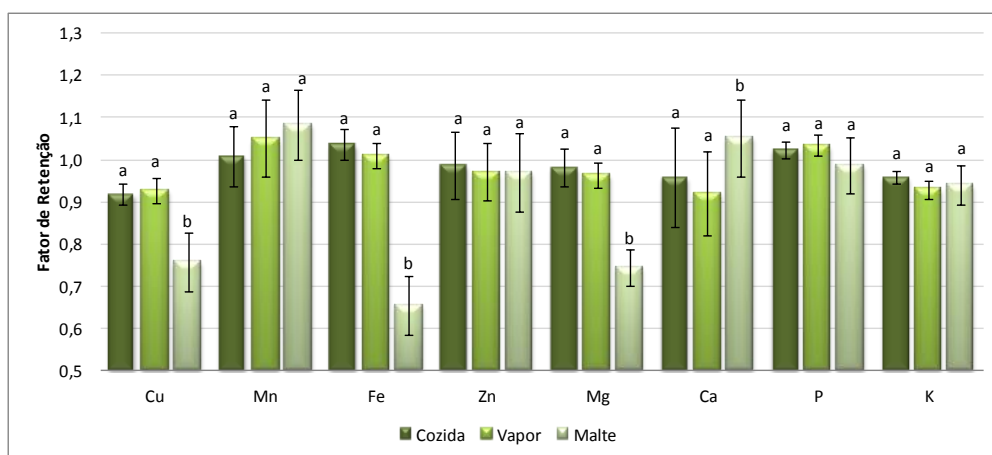


Gráfico 4.17 - Retenção de minerais e oligoelementos na quinoa.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

4.2.4. Avaliação Qualidade Proteica - PDCAAS

Os aminoácidos da quinoa apresentaram scores próximos ou superiores a 1 nas amostras cruas e nos maltes, o que revelou a elevada qualidade da proteína de quinoa (Gráfico 4.18). Contudo, observaram-se alterações da qualidade da proteína da quinoa durante a cozedura a vapor. Os scores da isoleucina, leucina, lisina, valina, SAA e AAA diminuíram significativamente com a cozedura a vapor, sendo que, com exceção dos aromáticos, deixaram de apresentar scores superiores a 1. O PDCAAS da proteína da quinoa foi de 0,99 (limitado pela valina), 0,80 (limitado pela lisina), 0,62 (limitado pela lisina) e 0,95 (limitado pela lisina) para a quinoa crua, cozida, cozida a vapor e maltada, respetivamente.

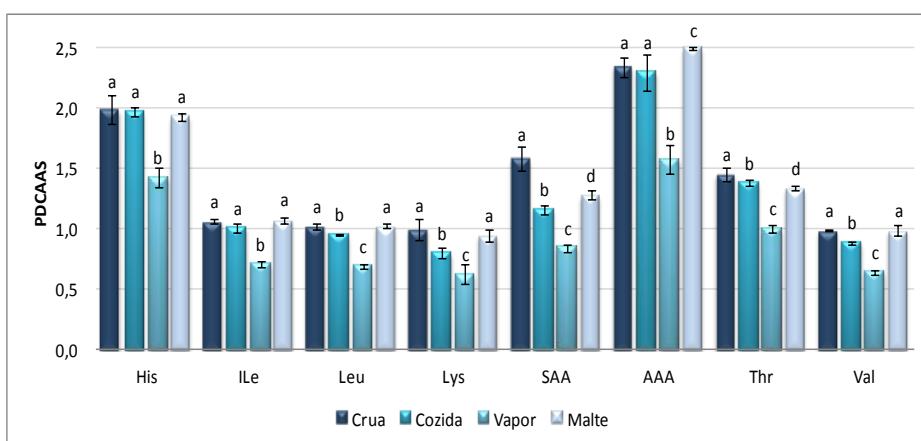


Gráfico 4.18 - Score aminoácidos (PDCAAS) na quinoa.

AAA – Aminoácidos aromáticos (Phe+Tyr); SAA- Aminoácidos Sulfurados (Met+Cys)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

4.2.5. Valor nutricional da quinoa

Para o cálculo da dose equivalente ao alimento cru aplicou-se a Equação 3 (secção 3.4). As porções definidas para a quinoa cozida, cozida a vapor e maltada foram 83, 81 e 35 g, respetivamente.

Os resultados do cálculo da % das necessidades em aminoácidos satisfeitas pelo consumo de uma dose de quinoa, tal como descrito na secção 3.4 são apresentados no Gráfico 4.19. A ingestão de uma dose de quinoa supre entre 30% das necessidades de aminoácidos sulfurados e 7% das necessidades de lisina. Com exceção dos aminoácidos sulfurados, o consumo de uma dose de quinoa maltada supre uma % significativamente mais elevada das necessidades em aminoácidos. As amostras sujeitas a confeção culinária não diferem entre si apresentando os valores significativamente mais baixos.

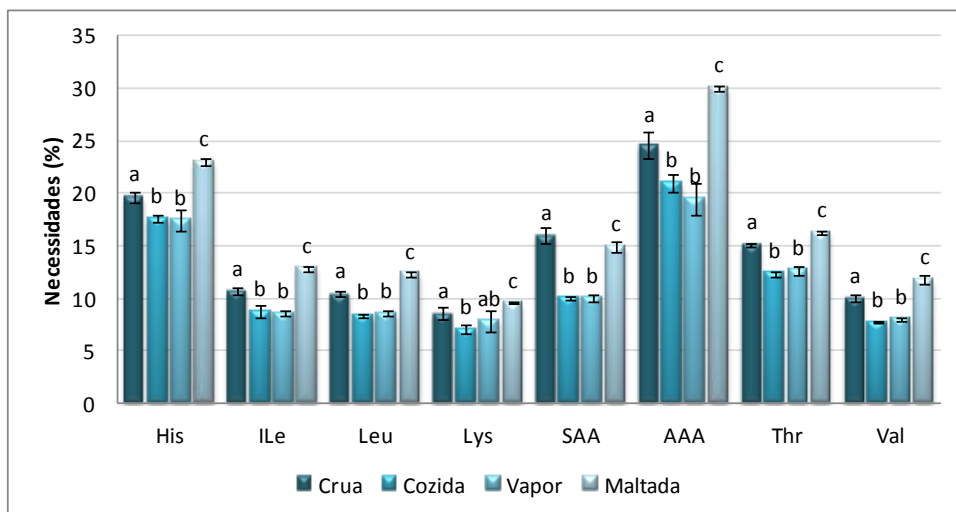


Gráfico 4.19 - Necessidades de aminoácidos essenciais (%) cobertas pelo consumo de uma dose de quinoa.

AAA – Aminoácidos aromáticos (Phe+Tyr); SAA- Aminoácidos Sulfurados (Met+Cys)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Verificou-se que, por dose equivalente, independentemente do processamento, a quinoa satisfaz entre 31 e 33% da recomendação em folatos (Gráfico 4.20). Em qualquer situação a quinoa pode ser descrita como fonte de folatos.

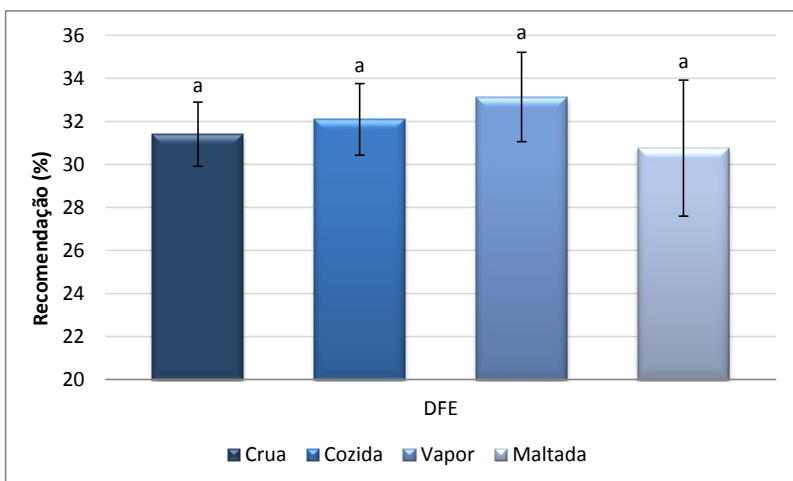


Gráfico 4.20 - Recomendação de folatos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de quinoa. Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Verificou-se que a quinoa é fonte de manganês e de fósforo, satisfazendo mais de 15% das recomendações, e aproxima-se desse valor para o cobre. Tal como o amaranto, a quinoa é pobre em potássio, suprimindo apenas 4% das recomendações (Gráfico 4.21).

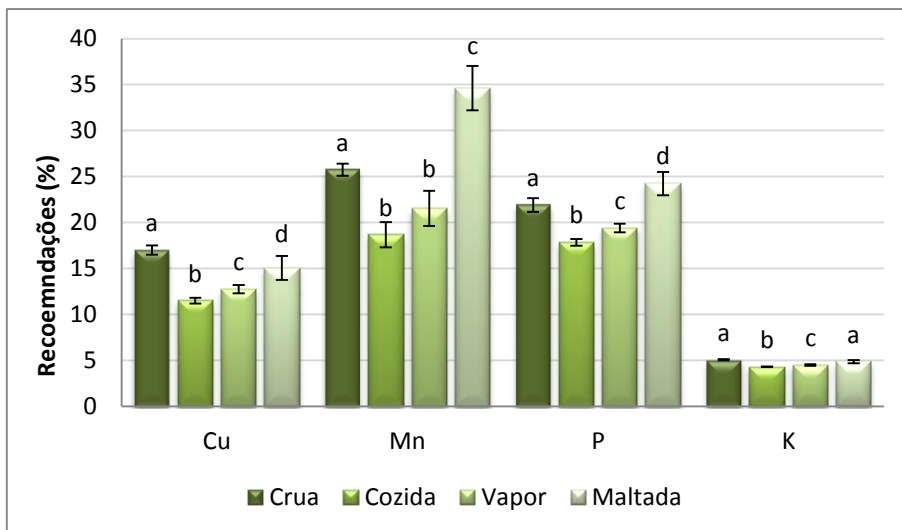


Gráfico 4.21 - Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de quinoa.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A quinoa crua apresenta, de uma forma geral, maior riqueza em minerais e oligoelementos, no que diz respeito à satisfação das recomendações nestes nutrientes. A quinoa pode ser descrita como fonte de magnésio, ou mesmo rica em magnésio, no caso da quinoa crua ou maltada, se considerarmos as recomendações para mulheres (Gráfico 4.22). A quinoa pode ser considerada fonte de zinco para mulheres. Para os homens, a % da recomendação de ingestão de ferro atingida pelo consumo de uma dose de quinoa ronda os 15%. Tal como o amaranto a quinoa é relativamente pobre em cálcio.

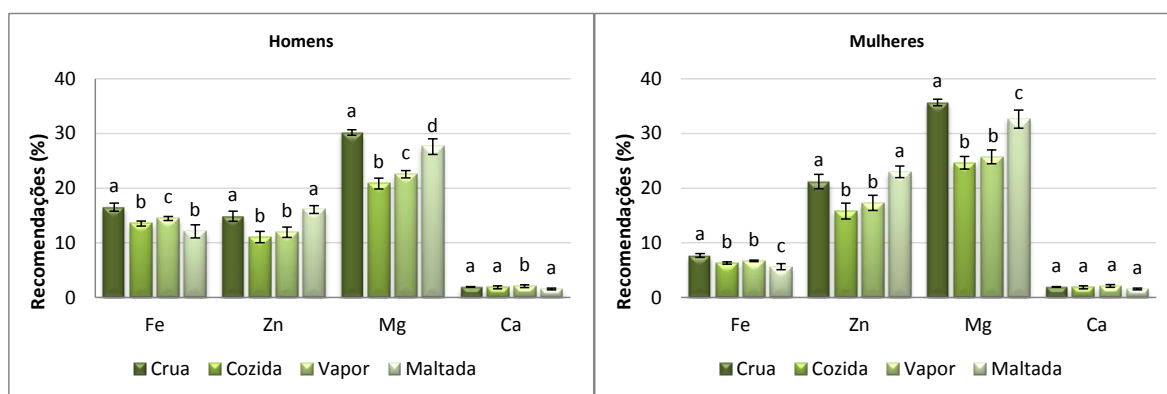


Gráfico 4.22 - Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de quinoa, para homens e mulheres.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

4.2.6. Bioacessibilidade

Para a bioacessibilidade os resultados encontram-se expressos em média \pm desvio padrão dos resultados dos ensaios quadruplicados. O cálculo do EPB para a quinoa foi realizado de acordo com a Equação 6, descrita no capítulo 3.4.

– Efeito da granulometria na bioacessibilidade

Nas amostras cruas de quinoa crua foi avaliado o efeito da granulometria na bioacessibilidade. Amostras com granulometrias visivelmente diferentes foram obtidas tal como descrito na secção 3.1.

A bioacessibilidade (%) dos aminoácidos essenciais na quinoa sujeita a diferentes graus de moagem é apresentada no Gráfico 4.23. A bioacessibilidade dos aminoácidos é significativamente superior quando as amostras foram sujeitas à moagem fina. Observa-se um efeito semelhante na bioacessibilidade dos aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais (Gráfico 4.24).

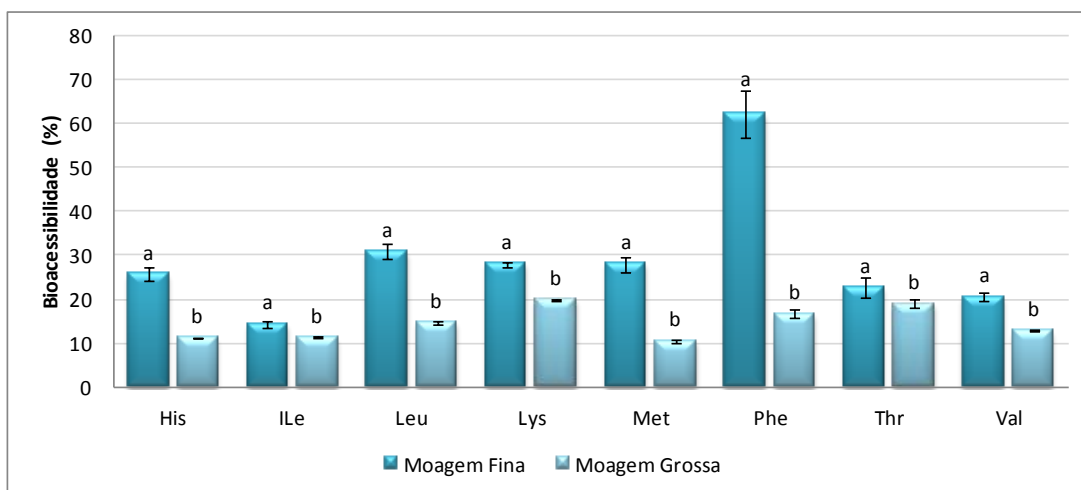


Gráfico 4.23 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos essenciais na quinoa com diferentes moagens. Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

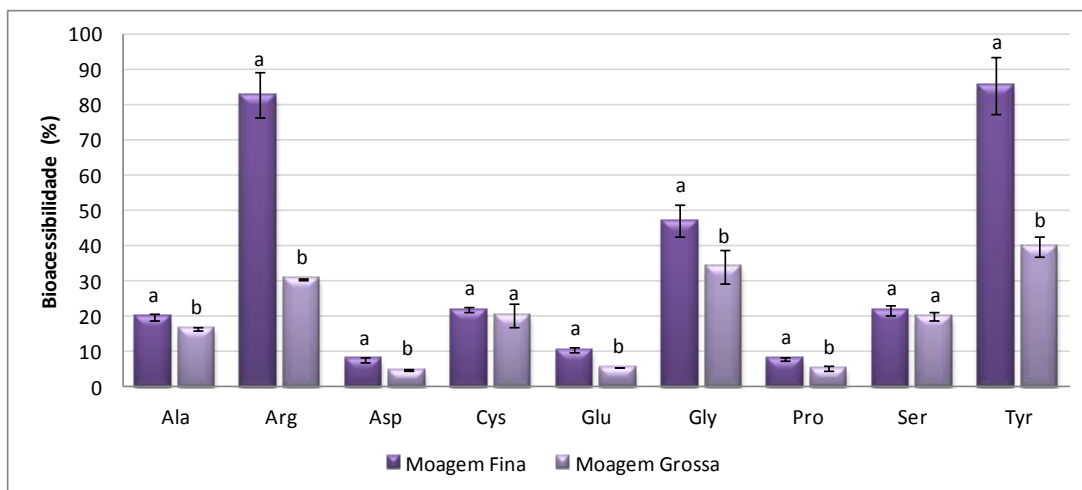


Gráfico 4.24 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** na quinoa com diferentes moagens.

* não essenciais (Ala; Asp; Glu; Ser); **condicionalmente essenciais (Arg; Cys; Gly; Pro; Tyr)
 Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A bioacessibilidade dos folatos foi significativamente superior quando nas amostras sujeitas a uma moagem mais fina.

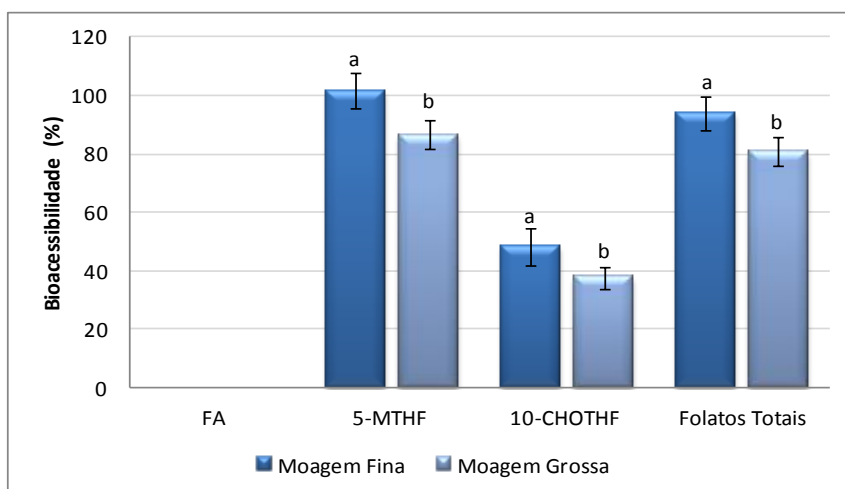


Gráfico 4.25 - Bioacessibilidade (%) dos folatos na quinoa com diferentes moagens.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos na quinoa foi significativamente maior em amostras com moagem fina. As exceções foram a biodisponibilidade do potássio, que não se alterou com o grau de moagem, e a biodisponibilidade do

zinco e do cálcio, que foram significativamente menores no caso da moagem mais fina.

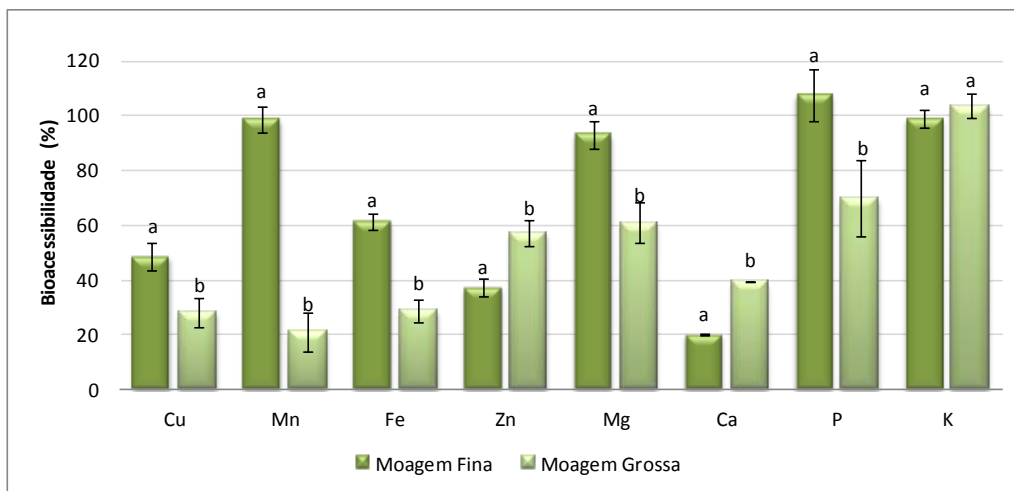


Gráfico 4.26 - Bioacessibilidade (%) de minerais e oligoelementos na quinoa com diferentes moagens.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

– Bioacessibilidade

A bioacessibilidade dos aminoácidos essenciais aumentou significativamente com o processamento. A bioacessibilidade destes aminoácidos aumentou de valores entre 11-28%, no caso da quinoa crua, para valores entre 61-103%, 52-95% e 39-90% no caso da quinoa cozida, cozida a vapor e maltada, respetivamente. Verificou-se que a biodisponibilidade da histidina, isoleucina, metionina e fenilalanina foi significativamente inferior quando na quinoa cozida a vapor, relativamente à quinoa cozida (Tabela 4.27).

Tabela 4.27 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos essenciais na quinoa¹

	Quinoa				
	Crua_C	Cozinhados		Maltados	
		Cozida	Vapor	Crua_M	Malte
His	11 ^a ± 0,3	78 ^b ± 7,9	56 ^c ± 3,1	14 ^a ± 0,4	51 ^b ± 4,4
ILe	11 ^a ± 0,4	65 ^b ± 11	52 ^c ± 10	11 ^a ± 0,3	39 ^b ± 1,6
Leu	15 ^a ± 0,4	84 ^b ± 8,9	81 ^b ± 17	19 ^a ± 1,0	69 ^b ± 0,7
Lys	20 ^a ± 0,3	99 ^b ± 10	95 ^b ± 13	27 ^a ± 1,3	90 ^b ± 2,4
Met	13 ^a ± 0,6	86 ^b ± 12	66 ^c ± 8,3	11 ^a ± 1,2	55 ^b ± 2,6
Phe	28 ^a ± 0,9	103 ^b ± 5,1	95 ^c ± 6,9	24 ^a ± 1,7	80 ^b ± 1,9
Thr	19 ^a ± 1,0	61 ^b ± 6,6	55 ^b ± 11	12 ^a ± 1,0	39 ^b ± 2,2
Val	13 ^a ± 0,2	61 ^b ± 5,5	60 ^b ± 14	12 ^a ± 0,6	44 ^b ± 0,7

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$). Valores com letras iguais não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$).

A maltagem da quinoa induziu aumentos de biodisponibilidade significativamente superiores aos processos de confeção (cozedura e cozedura a vapor) no caso da histidina, leucina, metionina, fenilalanina treonina e valina. A quinoa aumentou mais de 3x a biodisponibilidade de todos os aminoácidos essenciais (Gráfico 4.27). O efeito da cozedura foi superior ao da cozedura a vapor na biodisponibilidade da histidina, isoleucina, metionina e fenilalanina.

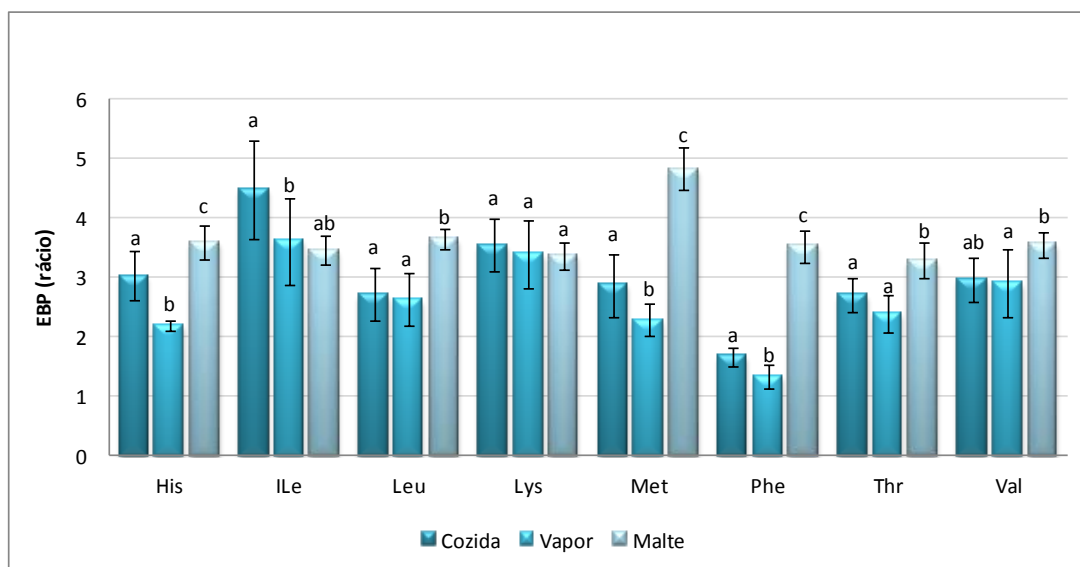


Gráfico 4.27 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos essenciais na quinoa.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A bioacessibilidade dos aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais também aumentou significativamente com o processamento. A bioacessibilidade destes aminoácidos aumentou de valores entre 3,2-40%, no caso das quinoas cruas, para valores entre 23-102%, 14-111% e 12-104% no caso da quinoa cozida, cozida a vapor e maltada, respetivamente (Tabela 4.28). Verificaram-se diferenças significativas na biodisponibilidade da maioria dos aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais entre a quinoa cozida e a quinoa cozida a vapor, com exceção da biodisponibilidade da alanina e da tirosina.

Tabela 4.28 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** na quinoa¹

	Quinoa				
	Cozinhados			Maltados	
	Crua_C	Cozida	Vapor	Crua_M	Malte
Ala ⁽¹⁾	16 ^a ± 0,6	59 ^b ± 5,8	58 ^b ± 12	10 ^a ± 1,2	42 ^b ± 1,5
Arg ⁽²⁾	31 ^a ± 0,3	100 ^b ± 2,3	110 ^c ± 9,1	33 ^a ± 3,0	104 ^b ± 5,6
Asp ⁽¹⁾	5,0 ^a ± 0,2	24 ^b ± 9,3	14 ^c ± 1,3	4,4 ^a ± 0,4	13 ^b ± 0,2
Cys ⁽²⁾	20 ^a ± 3,4	109 ^b ± 25	72 ^c ± 15	9,0 ^a ± 1,1	49 ^b ± 0,4
Glu ⁽¹⁾	5,2 ^a ± 0,2	27 ^b ± 2,6	20 ^c ± 1,1	5,0 ^a ± 0,6	18 ^b ± 2,3
Gly ⁽²⁾	34 ^a ± 4,7	102 ^b ± 8,1	88 ^c ± 9,3	14 ^a ± 1,7	63 ^b ± 4,2
Pro ⁽²⁾	5,1 ^a ± 0,7	23 ^b ± 3,9	17 ^c ± 2,5	3,2 ^a ± 0,4	12 ^b ± 0,1
Ser ⁽¹⁾	20 ^a ± 1,2	62 ^b ± 5,8	49 ^c ± 4,8	8,3 ^a ± 1,0	29 ^b ± 0,4
Tyr ⁽²⁾	40 ^a ± 2,9	101 ^b ± 6,0	111 ^b ± 20	28 ^a ± 2,5	93 ^b ± 1,7

* não essenciais (Ala; Asp; Glu; Ser); **condicionalmente essenciais (Arg; Cys; Gly; Pro; Tyr)

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

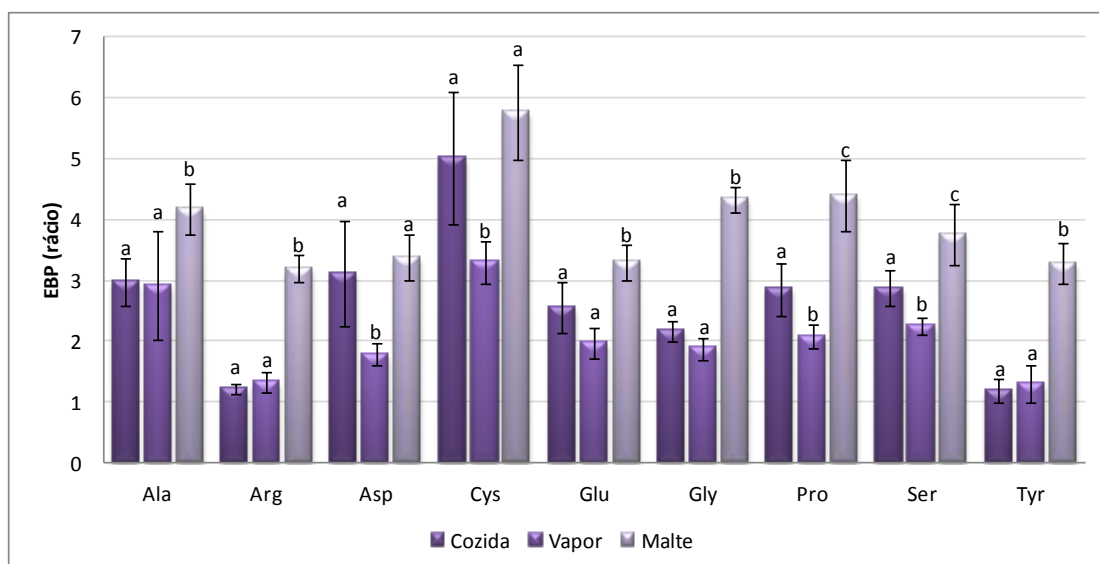


Gráfico 4.28 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** na quinoa.

* não essenciais (Ala; Asp; Glu; Ser); **condicionalmente essenciais (Arg; Cys; Gly; Pro; Tyr)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Foram as amostras cozidas as que apresentaram valores mais elevados de bioacessibilidade de folatos, no entanto, a bioacessibilidade dos folatos na quinoa cozida não diferiu significativamente da cozida a vapor, apresentando, em ambos os casos, valores de bioacessibilidade para o 5-MTHF e folatos totais perto dos 100%. Na quinoa maltada os valores da bioacessibilidade para o 5-MTHF e folatos totais também se aproximaram dos 100%. Neste caso, a maltagem induziu um aumento significativo na bioacessibilidade do 10-CHOTHF.

Tabela 4.29 - Bioacessibilidade (%) dos folatos na quinoa¹

	Quinoa				
	Crua_C	Cozinhados		Maltados	
		Cozida	Vapor	Crua_M	Malte
FA	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	54 ^a ± 2,4	57 ^a ± 2,2
5-MTHF	87 ^a ± 5,1	110 ^b ± 1,1	115 ^b ± 1,6	107 ^a ± 8,1	98 ^a ± 7,2
10-CHOTHF	38 ^a ± 3,6	27 ^b ± 2,1	24 ^b ± 0,4	48 ^a ± 4,3	111 ^b ± 7,7
Folatos Totais	81 ^a ± 4,8	97 ^b ± 1,2	101 ^b ± 1,4	95 ^a ± 6,2	100 ^a ± 5,5

¹ Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

O EPB dos folatos foi significativamente mais elevado para o 10-CHOTHF quando a quinoa foi maltada. Observou-se, na quinoa cozida e cozida a vapor, uma diminuição da bioacessibilidade do 10-CHOTHF e na quinoa maltada uma ligeira diminuição da bioacessibilidade do 5-MTHF (EPB < 1).

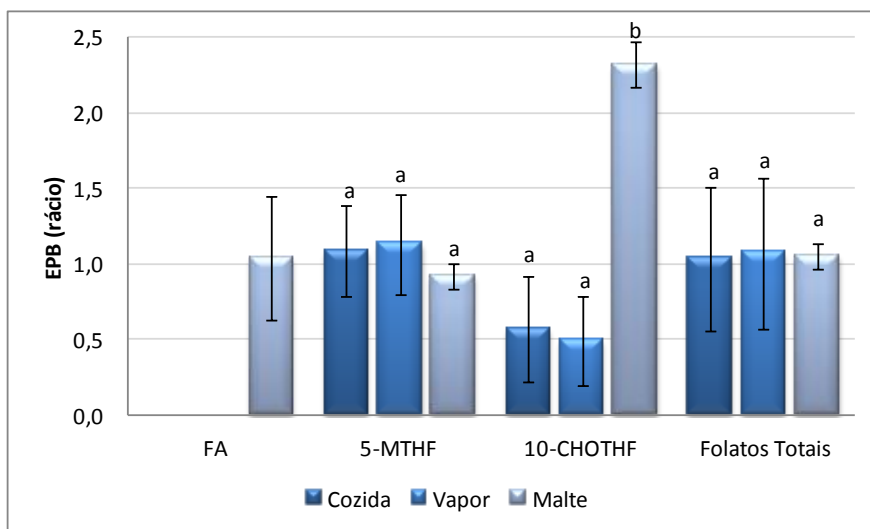


Gráfico 4.29 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos folatos na quinoa. Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A tabela Tabela 4.30 apresenta os resultados da bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos da quinoa processada. Na quinoa crua a bioacessibilidade variou entre 10% para o manganês e 103% para o potássio. A bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos aumentou significativamente após confeção, exceto no caso do zinco. Observaram-se diferenças significativas na bioacessibilidade do magnésio entre a cozedura e a cozedura a vapor.

Durante a maltagem observou-se um aumento significativo da bioacessibilidade de todos os minerais e oligoelementos com exceção do potássio.

Tabela 4.30 - Bioacessibilidade (%) de minerais e oligoelementos na quinoa¹

Quinoa					
	Cozinhados			Maltados	
	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
Cu	28 ^a ± 2,2	89 ^b ± 14	99 ^b ± 17	32 ^a ± 0,9	61 ^b ± 3,5
Mn	21 ^a ± 2,1	30 ^b ± 1,5	27 ^b ± 1,2	10 ^a ± 0,4	21 ^b ± 1,1
Fe	29 ^a ± 2,9	35 ^b ± 1,7	38 ^b ± 1,2	18 ^a ± 1,3	38 ^b ± 1,2
Zn	57 ^a ± 1,7	40 ^b ± 1,8	37 ^c ± 0,4	18 ^a ± 0,7	30 ^b ± 0,8
Mg	61 ^{ab} ± 5,8	63 ^a ± 2,7	54 ^b ± 2,7	29 ^a ± 1,2	76 ^b ± 2,0
Ca	39 ^a ± 3,4	107 ^b ± 7,0	98 ^b ± 5,5	34 ^a ± 2,2	84 ^b ± 1,5
P	70 ^a ± 5,1	36 ^b ± 0,6	42 ^b ± 5,9	40 ^a ± 1,3	76 ^b ± 3,1
K	103 ^a ± 4,0	39 ^b ± 2,2	41 ^b ± 6,7	89 ^a ± 2,5	90 ^a ± 1,8

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

O EPB da maltagem é significativamente superior ao da cozedura e cozedura a vapor para o manganês, ferro, zinco, magnésio, fósforo e potássio.

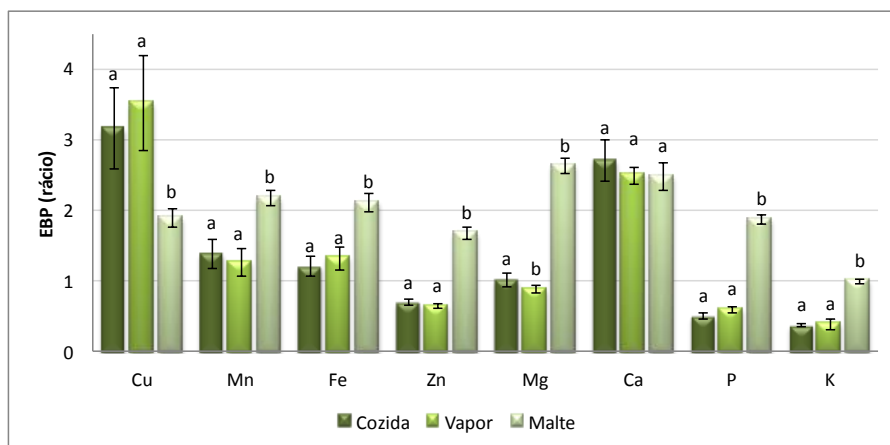


Gráfico 4.30 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos na quinoa.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

4.3. Trigo-sarraceno

Para a caracterização do trigo-sarraceno as amostras sujeitas aos processos de cozedura foram recolhidas nos anos de 2013 e 2014 e as sujeitas a maltagem foram recolhidas em 2015, ambas adquiridas em superfícies comerciais em Portugal e identificadas como “Provenientes de Agricultura Biológica”.

Na maltagem, a fração de trigo-sarraceno germinado definida como o rácio entre o número de sementes germinadas após 24 h de germinação e o número inicial de sementes foi de aproximadamente 0,9.

O rendimento de confeção (Y_c , equação 1, secção 3.4) do trigo-sarraceno foi de 2,89 quando cozido e 1,89 quando cozido a vapor.

4.3.1. Composição nutricional do trigo-sarraceno

Para a caracterização nutricional trigo-sarraceno foram compilados resultados referentes a macronutrientes, aminoácidos essenciais, não essenciais e condicionalmente essenciais, folatos, minerais, oligoelementos e elementos traço.

– Macronutrientes

Tabela 4.31 - Macronutrientes no trigo-sarraceno

	Trigo-Sarraceno Agricultura Biológica					
	Cozinhados				Maltados	
	Cru	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
Humidade	13,4 ± 0,04	13,3 ± 0,1	68,5 ± 0,2	52,7 ± 0,1	13,6 ± 0,1	6,7 ± 0,02
Cinza	1,87 ± 0,02	Nd	nd	nd	nd	nd
Proteína	13,1 ± 0,2	12,4 ± 0,02	4,6 ± 0,02	7,0 ± 0,1	12,7 ± 0,2	13,4 ± 0,04
Gordura	4,4 ± 0,1	Nd	nd	nd	nd	nd
Fibra	10,3 ± 0,8	Nd	nd	nd	nd	nd
Amido	55,2 ± 0,6	Nd	nd	nd	nd	nd

nd – Não determinado

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos duplicados, g/100 g edível.

Analisando os resultados relativos aos macronutrientes, compilados na Tabela 4.31, verifica-se que tal como na quinoa não ocorreram variações no teor de humidade entre os vários lotes de trigo-sarraceno cru. No que diz respeito ao teor em proteína encontraram-se valores que variam entre 12,4 g/100 g e 13,1 g/100 g. O trigo-sarraceno apresenta igualmente valores elevados de fibra (10,3 g/100 g). O aumento do valor do teor de humidade no trigo-sarraceno cozinhado é, à semelhança do verificado nos restantes pseudocereais, consequência da absorção de água que ocorre durante o processamento.

– Aminoácidos

Comparando o valor resultante da soma dos teores em aminoácidos (Tabela 4.32) com o teor de proteína total determinada, verificou-se que são próximos mas consistentemente mais baixos, apresentando diferenças que em média ronda 1 g/100 g. Comparando os teores dos diferentes aminoácidos essenciais, os que apresentaram os valores mais elevados foram a leucina (867 mg/100 g) e a fenilalanina (862 mg/100 g). Também neste pseudocereal a metionina apresenta os valores mais baixos.

Tabela 4.32 – Aminoácidos essenciais no trigo-sarraceno

	Trigo-Sarraceno					
	Cozinhados				Maltados	
	Cru	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
His	532 ± 46,7	364 ± 27,5	118 ± 6,6	179 ± 7,4	366 ± 17,2	484 ± 5,4
ILe	432 ± 8,0	407 ± 23,6	139 ± 5,0	201 ± 14,9	405 ± 8,5	482 ± 29,0
Leu	846 ± 14,7	779 ± 15,9	276 ± 7,5	401 ± 14,5	789 ± 2,9	867 ± 16,4
Lys	596 ± 57,2	537 ± 51,3	180 ± 10,1	261 ± 27,5	631 ± 37,7	581 ± 15,2
Met	381 ± 33,7	269 ± 15,6	82,2 ± 6,5	111 ± 7,4	287 ± 13,3	376 ± 10,9
Phe	862 ± 79,1	694 ± 59,9	236 ± 5,9	358 ± 17,4	736 ± 59,2	833 ± 47,2
Thr	522 ± 18,8	443 ± 5,7	154 ± 1,4	219 ± 6,1	439 ± 6,9	464 ± 38,1
Val	532 ± 46,7	514 ± 5,3	181 ± 4,3	254 ± 8,0	519 ± 6,9	579 ± 16,2
(g/100g edível)						
Soma AA	12,7 ± 1,3	11,9 ± 0,1	4 ± 0,05	6 ± 0,2	12,2 ± 0,1	12,8 ± 0,4

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g edível.

Também para o trigo-sarraceno o aminoácido não essencial mais abundante é o ácido glutâmico, seguido pelo condicionalmente essencial arginina (Tabela 4.33). Os teores de cisteína foram os mais baixos, tal como a metionina (Tabela 4.32), o que faz com que no também para o trigo-sarraceno sejam os aminoácidos sulfurados os que apresentam os menores valores.

Tabela 4.33 – Aminoácidos não essenciais⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais⁽²⁾ no trigo-sarraceno

	Trigo-Sarraceno					
	Cozinhados				Maltados	
	Cru	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
Ala ⁽¹⁾	540 ± 2,21	493 ± 23,3	171 ± 4,3	260 ± 10,6	504 ± 3,88	513 ± 8,9
Arg ⁽²⁾	1483 ± 126	1297 ± 83,2	425 ± 27,2	639 ± 45,6	1293 ± 16,5	1139 ± 44,6
Asp ⁽¹⁾	1309 ± 27,1	1119 ± 97,5	380 ± 17,6	579 ± 53,7	1174 ± 43,2	958 ± 16,4
Cys ⁽²⁾	243 ± 21,4	157 ± 10,3	43,8 ± 3,4	70,8 ± 6,2	152 ± 5,8	115 ± 8,9
Glu ⁽¹⁾	2535 ± 31,0	2435 ± 213	829 ± 61,0	1212 ± 107	2538 ± 48,8	2106 ± 45,1
Gly ⁽²⁾	831 ± 64,6	764 ± 72,3	254 ± 11,9	413 ± 29,4	758 ± 11,3	1112 ± 82,5
Pro ⁽²⁾	541 ± 22,5	480 ± 12,6	166 ± 5,4	248 ± 9,9	484 ± 3,5	582 ± 53,9
Ser ⁽¹⁾	771 ± 41,9	651 ± 23,1	221 ± 2,9	336 ± 9,3	658 ± 16,3	923 ± 37,2
Tyr ⁽²⁾	719 ± 73,4	504 ± 32,6	159 ± 8,7	239 ± 12,7	513 ± 34,8	679 ± 5,0

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g edível.

– Folatos

No que diz respeito aos folatos, a forma predominante em todas as amostras é o 5-MTHF. As amostras maltadas são as que apresentam os valores mais elevados de 5-MTHF e folatos totais.

Tabela 4.34 - Folatos no trigo-sarraceno

	Trigo-sarraceno				
	Cozinhados			Maltados	
	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
FA	0,7 ± 0,1	<LoQ	<LoQ	1,5 ± 0,3	0,9 ± 0,3
THF	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ
5-MTHF	131 ± 7,6	45,3 ± 3,4	72,9 ± 7,3	128 ± 12,4	175 ± 20,6
10-CHOTHF	7,4 ± 1,4	2,5 ± 0,3	2,4 ± 0,3	7,9 ± 2,4	12,5 ± 1,6
5-CHOTHF	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ
Folatos Totais	139 ± 8,5	47,9 ± 3,1	75,4 ± 7,5	137 ± 11,2	188 ± 19,3

LoQ: limite de quantificação (FA < 0,44; THF < 0,56; 5-CHOTHF < 0,24)

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg/100 g edível.

– Minerais

Entre os oligoelementos presentes no trigo-sarraceno, destacaram-se o ferro e o zinco, que nas amostras cruas e maltada apresentaram valores entre 2,5 e 2,7 mg/100 g para o ferro e entre 1,7 e 2,4 mg/100 g para o zinco. Nos minerais destacam-se os teores de potássio (441-478 mg/100 g) e fósforo (358-415 mg/100 g). O sódio apresenta-se abaixo do limite de quantificação em todas as amostras.

Tabela 4.35 – Minerais e oligoelementos no trigo-sarraceno.

	Trigo-Sarraceno				
	Cozinhados			Maltados	
	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
Cu	0,425 ± 0,03	0,138 ± 0,01	0,206 ± 0,01	0,429 ± 0,02	0,397 ± 0,03
Mn	1,03 ± 0,01	0,355 ± 0,01	0,528 ± 0,01	1,18 ± 0,08	1,23 ± 0,08
Fe	2,49 ± 0,03	0,83 ± 0,04	1,43 ± 0,03	2,61 ± 0,2	2,68 ± 0,2
Zn	1,68 ± 0,01	0,54 ± 0,01	0,8 ± 0,01	2,43 ± 0,2	2,18 ± 0,2
Mg	208 ± 2,1	66,6 ± 2,9	103 ± 2,4	223 ± 15,3	218 ± 17,0
Ca	15,2 ± 0,2	5,22 ± 0,2	8,1 ± 0,04	15,4 ± 1,2	15,97 ± 0,7
P	358 ± 3,0	118 ± 4,9	178 ± 3,1	415 ± 28,8	394 ± 29,3
K	441 ± 4,2	146 ± 3,6	215 ± 3,4	478 ± 27,8	365 ± 27,2
Na		<LOQ			<LoQ

LoQ: limite de quantificação (<2,5 mg/100g).

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g edível.

– Elementos traço

Os teores de cobalto e de selênio apresentaram valores abaixo do limite de quantificação. O trigo-sarraceno, quando comparado com a quinoa, apresentou maiores teores de molibdênio e cobalto e menores teores de estrôncio e lítio (Tabela 4.36).

Tabela 4.36 - Elementos traço no trigo-sarraceno

Trigo-sarraceno Agricultura Biológica	
Cru	
Mo	37,9 ± 0,6
Sr	49,4 ± 4,2
Co	4,83 ± 0,2
Cr	20,8 ± 1,5
Li	<LoQ
V	6,53 ± 0,4
Ni	12,8 ± 1,0
Se	5,5 ± 0,5

LoQ: limite de quantificação (Li < 0,50).

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg/100 g edível.

4.3.2. Contaminantes

Verificou-se que os teores de metais pesados analisados no trigo-sarraceno se encontravam abaixo do limite de quantificação para o arsénio e chumbo (Tabela 4.37), no entanto apresentou valores quantificáveis de contaminação por cádmio.

Tabela 4.37 - Contaminantes no trigo-sarraceno

Trigo-sarraceno Agricultura Biológica	
Cru_C	
Arsénio	<LoQ
Cádmio	40,4 ± 1,0
Chumbo	<LoQ

LoQ: limite de quantificação (Pb < 0,50; As < 0,25).

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg/kg edível.

4.3.3. Efeito do processamento na composição nutricional do trigo-sarraceno

Tal como para os restantes alimentos estudados, a análise do efeito do processamento no conteúdo nutricional do amaranto os teores foram expressos em base seca. Desta forma as variações observadas são independentes da variação do teor em água verificado durante os diferentes processamentos.

A maltagem do trigo-sarraceno não afetou significativamente o conteúdo proteico das amostras. Não se observaram diferenças, do conteúdo proteico durante os processos de cozedura. O teor proteico quantificado aumentou de 14,2 g/100 g de resíduo seco, no trigo-sarraceno cru, para 14,5 e 14,8 g/100 g de resíduo seco, no trigo-sarraceno cozido e cozido a vapor, respetivamente.

Os teores dos aminoácidos essenciais histidina e isoleucina metionina, treonina e valina diminuíram significativamente durante o processo culinário (Tabela 4.38). Durante a maltagem os teores de lisina diminuíram significativamente. Os teores de histidina, isoleucina e metionina aumentaram significativamente durante a maltagem.

Tabela 4.38 - Efeito do processamento nos aminoácidos essenciais do trigo-sarraceno¹

	Trigo-Sarraceno				
	Cozinhados			Maltados	
	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
His	420 ^a ± 31,7	374 ^b ± 21	379 ^b ± 15,7	423 ^a ± 19,9	519 ^b ± 5,8
ILe	470 ^a ± 27,3	442 ^{ab} ± 16	425 ^b ± 31,6	469 ^a ± 9,9	517 ^b ± 31,1
Leu	900 ^a ± 18,4	877 ^a ± 23,7	849 ^b ± 30,6	913 ^a ± 3,4	929 ^a ± 17,6
Lys	620 ^a ± 59,3	572 ^{ab} ± 32,1	551 ^b ± 58,3	730 ^a ± 43,6	622 ^b ± 16,3
Met	310 ^a ± 18,0	261 ^b ± 20,8	235 ^c ± 15,7	332 ^a ± 15,4	403 ^b ± 11,8
Phe	802 ^a ± 69,3	749 ^b ± 18,8	758 ^{ab} ± 36,8	851 ^a ± 68,5	893 ^a ± 50,6
Thr	512 ^a ± 6,6	488 ^b ± 4,6	464 ^c ± 13	508 ^a ± 8,0	497 ^a ± 40,8
Val	593 ^a ± 6,1	576 ^b ± 13,7	536 ^c ± 16,9	601 ^a ± 8,0	620 ^a ± 17,4

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g peso seco.

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

No Gráfico 4.14 apresentam-se os fatores de retenção para todos os aminoácidos essenciais obtidos recorrendo à equação 2 (Capítulo 3.4). Assinala-se um efeito de maior magnitude da confeção a vapor no teor em metionina (RF ≈ 0,75).

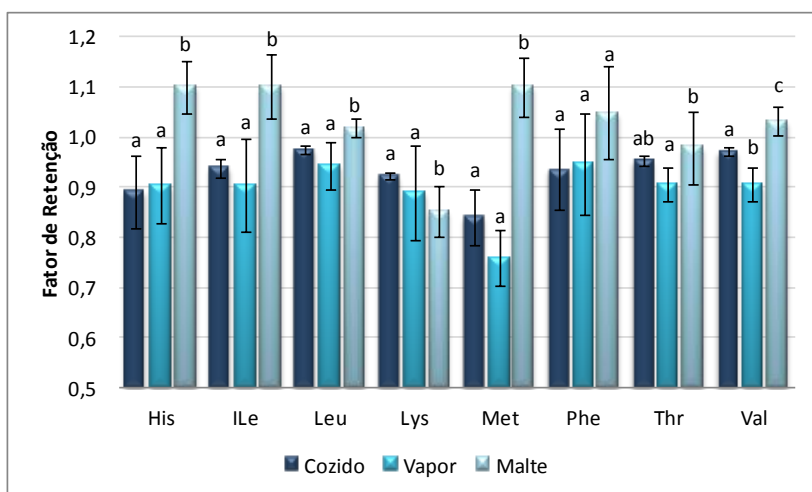


Gráfico 4.31 - Retenção de aminoácidos essenciais no trigo-sarraceno.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A confeção (cozedura e cozedura a vapor) induziu uma diminuição significativa dos teores em arginina, cisteína, prolina, serina e tirosina. Na maltagem, os teores de alanina, arginina, cisteína e os ácidos aspártico e glutâmico decresceram significativamente ($0,70 < RF < 0,94$) enquanto que as concentrações de glicina, serina e tirosina aumentaram de forma significativa (Tabela 4.39 e Gráfico 4.32).

Tabela 4.39 - Efeito do processamento nos aminoácidos não essenciais(1) e condicionalmente essenciais(2) do trigo-sarraceno.^a

	Trigo-Sarraceno				
	Cru_C	Cozinhados		Maltados	
		Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
Ala ⁽¹⁾	569 ^a ± 26,9	544 ^b ± 13,7	551 ^{ab} ± 22,5	583 ^a ± 4,5	550 ^b ± 9,5
Arg ⁽²⁾	1498 ^a ± 96,0	1350 ^b ± 86,5	1351 ^b ± 96,5	1496 ^a ± 19,2	1221 ^b ± 47,8
Asp ⁽¹⁾	1292 ^a ± 113	1208 ^a ± 56,1	1225 ^a ± 114	1359 ^a ± 50,0	1027 ^b ± 17,6
Cys ⁽²⁾	181 ^a ± 11,9	139 ^b ± 10,7	150 ^b ± 13,2	176 ^a ± 6,7	123 ^b ± 9,6
Glu ⁽¹⁾	2812 ^a ± 245	2633 ^a ± 193	2564 ^a ± 228	2937 ^a ± 56,5	2257 ^b ± 48,4
Gly ⁽²⁾	882 ^a ± 83,4	805 ^b ± 37,9	875 ^a ± 62,2	878 ^a ± 13,1	1192 ^b ± 88,5
Pro ⁽²⁾	554 ^a ± 14,5	528 ^b ± 17,1	525 ^b ± 20,9	560 ^a ± 4,1	624 ^a ± 57,8
Ser ⁽¹⁾	752 ^a ± 26,6	701 ^b ± 9,1	712 ^b ± 19,6	762 ^a ± 18,9	989 ^b ± 39,9
Tyr ⁽²⁾	582 ^a ± 37,6	504 ^b ± 27,6	506 ^b ± 26,9	594 ^a ± 40,3	728 ^b ± 5,4

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g peso seco.

^aEm cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

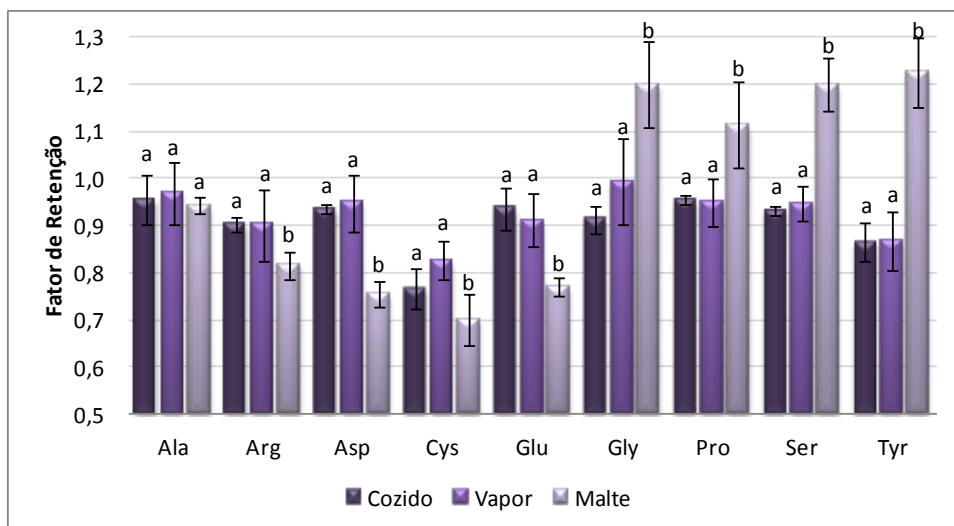


Gráfico 4.32 - Retenção de aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no trigo-sarraceno.

*não essenciais (Ala; Asp; Glu; Ser); **condicionalmente essenciais (Arg; Cys; Gly; Pro; Tyr)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Os vários processamentos culinários não afetaram significativamente os teores de 5-MTHF (Tabela 4.40). O teor de FA e o 10-CHOTHF diminuiu significativamente após a cozedura a vapor. No malte, excetuando os FA, todas as outras formas de folato veem o seu conteúdo significativamente aumentado.

Tabela 4.40 - Efeito do processamento nos folatos do trigo sarraceno¹

	Trigo-sarraceno				
	Cozinhados			Maltados	
	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
FA	0,83 ^a ± 0,2	0,51 ^{ab} ± 0,05	0,32 ^b ± 0,11	1,80 ^a ± 0,4	0,94 ^b ± 0,3
5-MTHF	151 ^a ± 8,8	144 ^a ± 10,8	154 ^a ± 15,4	148 ^a ± 14,4	187 ^b ± 22,1
10-CHOTHF	8,6 ^a ± 1,6	7,8 ^a ± 0,9	5,0 ^b ± 0,6	9,1 ^a ± 2,7	13,4 ^b ± 1,7
Folatos Totais	160 ^a ± 9,8	152 ^a ± 9,7	160 ^a ± 15,9	159 ^a ± 12,9	202 ^b ± 20,7

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg/100 g peso seco.

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

Durante a cozedura a vapor, ocorre uma redução significativa do teor de FA e 10-CHOTHF ($0,44 < RF < 0,60$), mas sem reflexo na soma dos folatos totais do trigo sarraceno cozido a vapor (Gráfico 4.33). O efeito da maltagem nos teores de 5-MTHF, 10-CHOTHF e folatos totais foi significativamente diferente dos restantes processamentos.

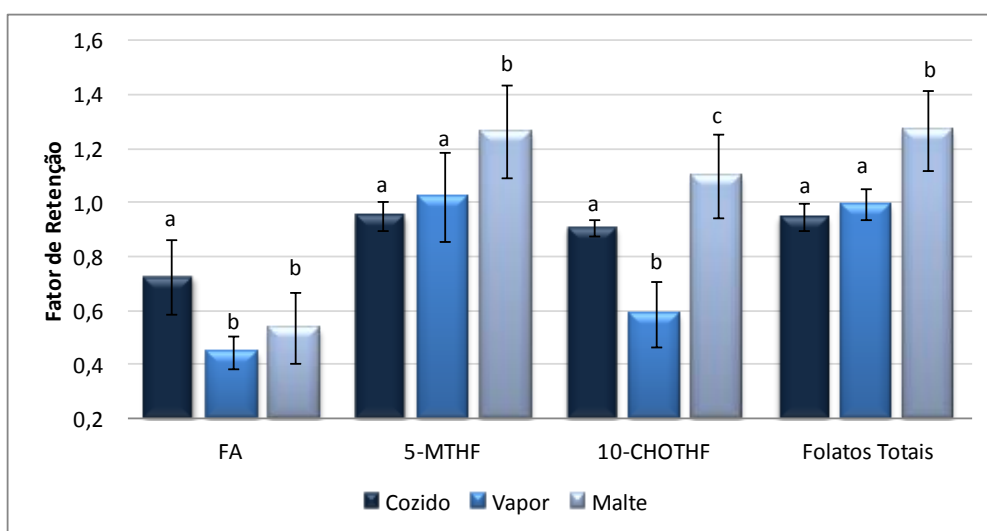


Gráfico 4.33 - Retenção de folatos no trigo-sarraceno.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

No que diz respeito à evolução dos teores dos minerais e oligoelementos durante o processamento (Tabela 4.41 e Gráfico 4.34), verificou-se uma diminuição significativa nos teores de cobre, manganês, zinco, magnésio, fósforo e potássio, nas amostras cozidas e a vapor, quando comparadas com as cruas. Foi durante a maltagem que se observaram as maiores alterações, registando-se uma diminuição significativa dos teores em cobre, zinco e potássio ($0,71 < RF < 0,86$).

Tabela 4.41 – Efeito do processamento nos minerais e oligoelementos do trigo-sarraceno¹

Trigo-Sarraceno					
	Cozinhados			Maltados	
	Cru_C	Cozido	Vapor	Cru_M	Malte
Cu	0,490 ^a ± 0,04	0,440 ^b ± 0,01	0,437 ^b ± 0,01	0,496 ^a ± 0,02	0,426 ^b ± 0,03
Mn	1,19 ^a ± 0,01	1,13 ^b ± 0,04	1,12 ^b ± 0,03	1,37 ^a ± 0,09	1,32 ^a ± 0,08
Fe	2,88 ^a ± 0,03	2,63 ^b ± 0,1	3,04 ^a ± 0,07	3,02 ^a ± 0,2	2,87 ^a ± 0,2
Zn	1,94 ^a ± 0,01	1,70 ^b ± 0,04	1,69 ^b ± 0,02	2,81 ^a ± 0,2	2,33 ^b ± 0,2
Mg	240 ^a ± 2,5	211 ^b ± 9,4	218 ^b ± 5,1	259 ^a ± 17,7	233 ^a ± 18,3
Ca	17,5 ^a ± 0,3	16,6 ^a ± 0,5	17,1 ^a ± 0,1	17,8 ^a ± 1,4	17,1 ^a ± 0,7
P	414 ^a ± 3,5	374 ^b ± 15,8	377 ^b ± 6,5	480 ^a ± 33,4	422 ^b ± 31,5
K	510 ^a ± 4,8	464 ^b ± 11,5	456 ^b ± 7,2	553 ^a ± 32,2	391 ^b ± 29,1

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g peso seco.

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

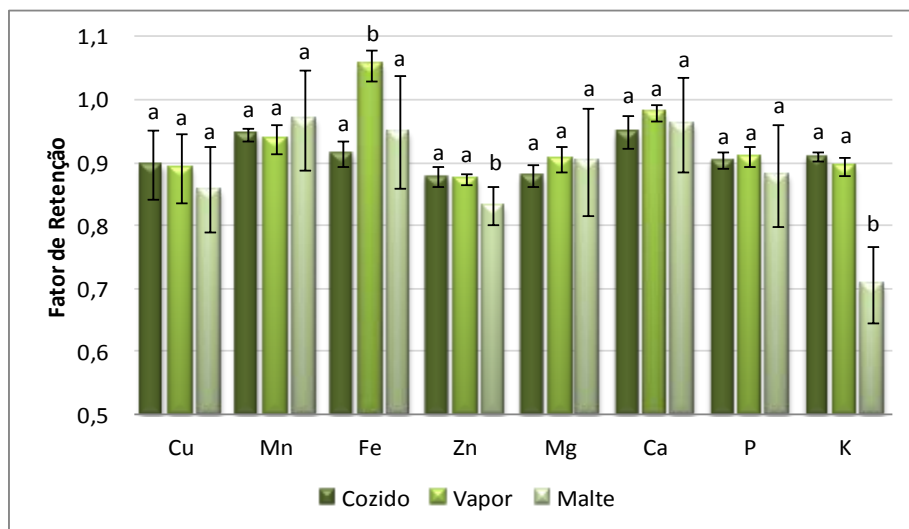


Gráfico 4.34 - Retenção de minerais e oligoelementos no trigo-sarraceno.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

4.3.4. Avaliação Qualidade Proteica - PDCAAS

Observaram-se ligeiras alterações da qualidade da proteína do trigo-sarraceno durante o processamento (Gráfico 4.35). O PDCAAS da proteína do trigo-sarraceno foi de 0,94 (limitado pela valina), 0,79 (limitado pela lisina), 0,74 (limitado pela lisina) e 0,95 (limitado pela lisina) para o trigo-sarraceno cru, cozido, cozido a vapor e maltado, respetivamente.

De referir ainda o elevado score dos aminoácidos aromáticos, histidina, aminoácidos sulfurados, e treonina com scores superiores a 1,00.

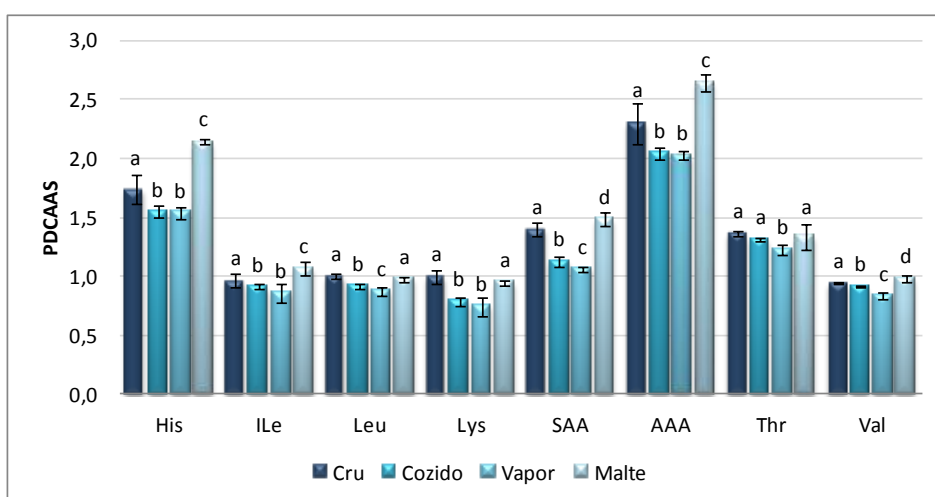


Gráfico 4.35 - Score aminoácidos (PDCAAS) no trigo-sarraceno.

AAA – Aminoácidos aromáticos (Phe+Tyr); SAA- Aminoácidos Sulfurados (Met+Cys)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

4.3.5. Valor nutricional do trigo-sarraceno

Para o cálculo da dose equivalente ao alimento cru aplicou-se a Equação 3 (secção 3.4). As porções definidas para o trigo-sarraceno cozido, cozido a vapor e maltado foram 101, 66 e 35 g, respetivamente.

Os resultados do cálculo da % das necessidades em aminoácidos satisfeitas pelo consumo de uma dose de trigo-sarraceno, tal como descrito na secção 3.4, são

apresentados no Gráfico 4.36. A ingestão de uma dose de trigo-sarraceno supre entre 30% das necessidades de aminoácidos aromáticos e 8% das necessidades de lisina. Com exceção da treonina, o consumo de uma dose de trigo-sarraceno maltado supre uma % significativamente mais elevada das necessidades em aminoácidos.

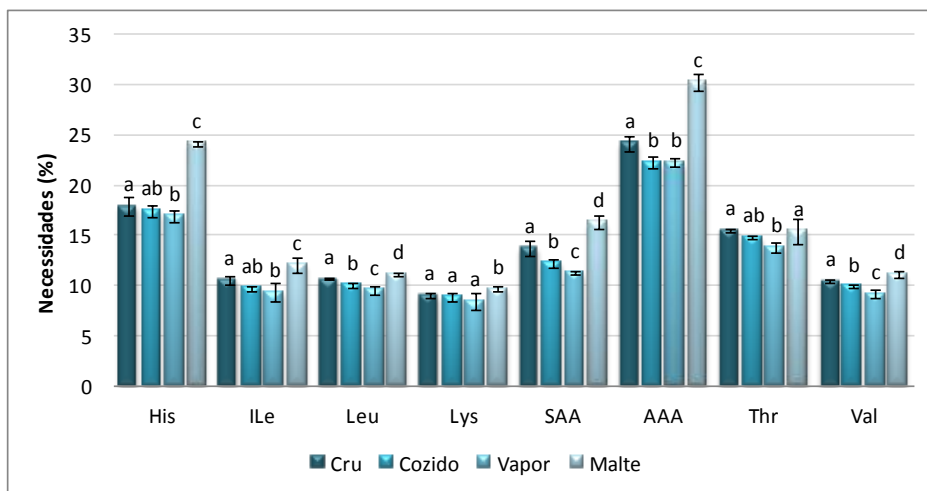


Gráfico 4.36 - Necessidades de aminoácidos essenciais (%) cobertas pelo consumo de uma dose de trigo-sarraceno.

AAA – Aminoácidos aromáticos (Phe+Tyr); SAA- Aminoácidos Sulfurados (Met+Cys)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Verificou-se que, por dose equivalente, é o trigo-sarraceno maltado que satisfaz a maior percentagem da recomendação de folatos ($\approx 20\%$), e difere estatisticamente do trigo-sarraceno cru e cozinhado (Gráfico 4.20). O trigo-sarraceno maltado pode ser descrito como fonte de folatos.

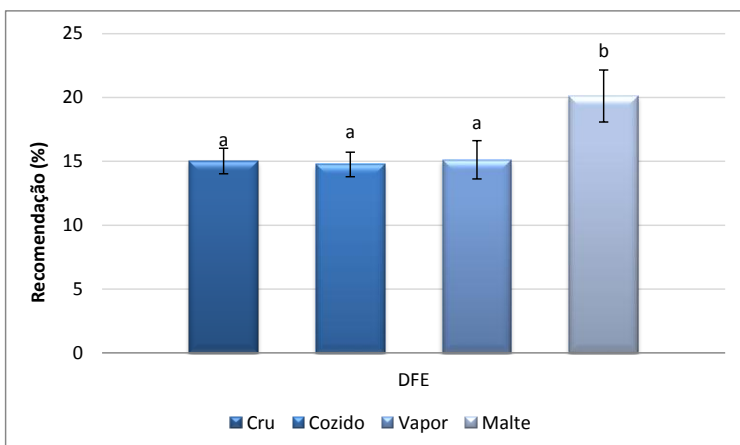


Gráfico 4.37 - Recomendação de folatos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de trigo-sarraceno.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

O trigo-sarraceno cru e maltado apresentam, de uma forma geral, maior riqueza em minerais e oligoelementos, no que diz respeito à satisfação das recomendações nestes nutrientes. Pode ser descrito como fonte de magnésio, ou mesmo rico em magnésio (Gráfico 4.39). O trigo-sarraceno pode ser considerado fonte de fosforo. Tal como o amaranto e a quinoa é relativamente pobre em cálcio.

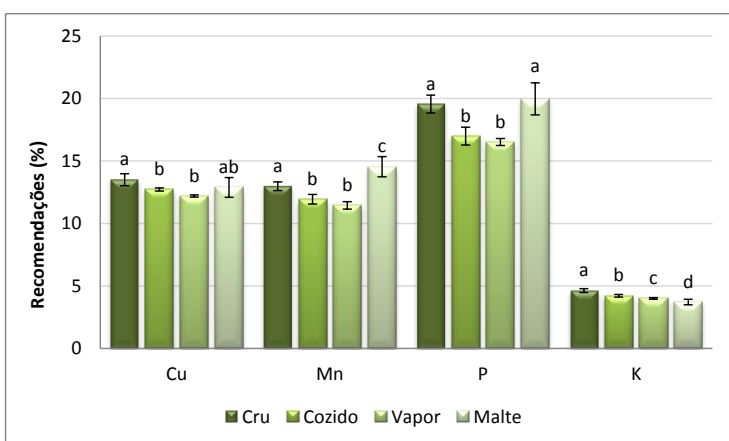


Gráfico 4.38 - Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de trigo-sarraceno.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

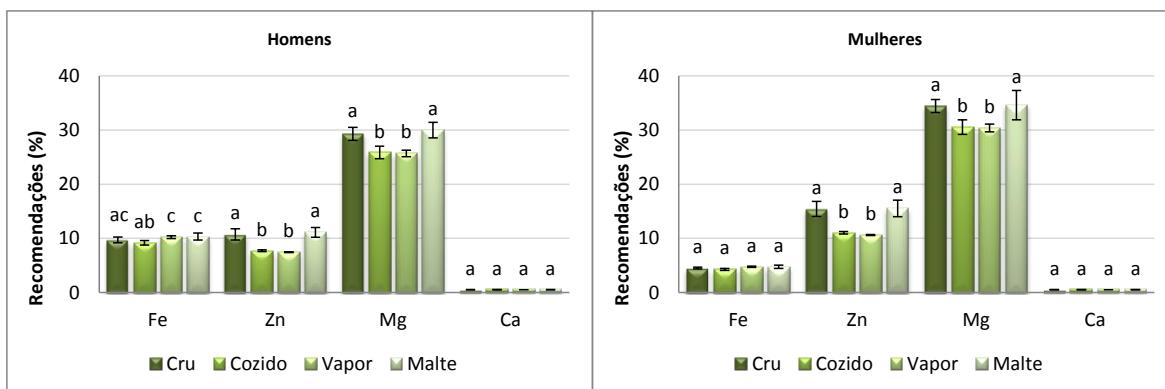


Gráfico 4.39 - Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de trigo-sarraceno, para homens e mulheres.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

No que diz respeito ao selênio (Tabela 4.36), no trigo-sarraceno cru supre 16.3% da recomendação para os homens e 21.3% da recomendação para as mulheres, tal como fixado na Tabela 1.5.

4.3.6. Bioacessibilidade

Para a bioacessibilidade os resultados encontram-se expressos em média \pm desvio padrão dos resultados dos ensaios quadruplicados. O cálculo do EPB para o trigo-sarraceno foi realizado de acordo com a Equação 6, descrita no capítulo 3.4.

A bioacessibilidade dos aminoácidos essenciais aumentou significativamente com o processamento. A bioacessibilidade destes aminoácidos aumentou de valores entre 9-47%, no caso do trigo-sarraceno cru, para valores entre 49-90%, 38-83% e 54-80% no caso do trigo-sarraceno cozido, cozido a vapor e maltado, respetivamente. Verificou-se que a biodisponibilidade de todos os aminoácidos com exceção da metionina foi significativamente inferior no trigo-sarraceno cozido a vapor, relativamente à cozida (Tabela 4.42).

Tabela 4.42 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos essenciais no trigo-sarraceno¹

	Trigo-Sarraceno				
	Cozinhados			Maltados	
	Crua_C	Cozida	Vapor	Crua_M	Malte
His	17 ^a ± 1,2	62 ^b ± 3,2	57 ^c ± 3,2	23 ^a ± 0,7	77 ^b ± 1,4
ILe	16 ^a ± 0,3	50 ^b ± 5,4	38 ^c ± 6,2	24 ^a ± 1,0	58 ^b ± 0,8
Leu	23 ^a ± 0,4	66 ^b ± 2,4	49 ^c ± 1,5	29 ^a ± 6,1	66 ^b ± 2,7
Lys	19 ^a ± 2,1	88 ^b ± 1,4	63 ^c ± 2,7	27 ^a ± 2,6	66 ^b ± 1,0
Met	22 ^a ± 3,3	80 ^b ± 11	79 ^b ± 3,9	27 ^a ± 4,0	54 ^b ± 2,2
Phe	26 ^a ± 1,8	90 ^b ± 6,1	83 ^c ± 3,4	47 ^a ± 0,6	80 ^b ± 2,6
Thr	9,0 ^a ± 1,0	49 ^b ± 2,5	39 ^c ± 5,2	24 ^a ± 2,9	58 ^b ± 1,3
Val	13 ^a ± 0,6	49 ^b ± 5,8	39 ^c ± 3,5	20 ^a ± 1,6	66 ^b ± 0,9

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

A cozedura tradicional induziu aumentos de biodisponibilidade significativamente superiores aos processos de cozedura a vapor e maltagem no caso da isoleucina, lisina e fenilalanina. No trigo-sarraceno, tal como na quinoa, a cozedura aumentou mais de 3x a biodisponibilidade de todos os aminoácidos essenciais (com exceção da leucina) (Gráfico 4.27). O efeito da cozedura foi superior ao da maltagem na biodisponibilidade da isoleucina, lisina, metionina, fenilalanina e treonina.

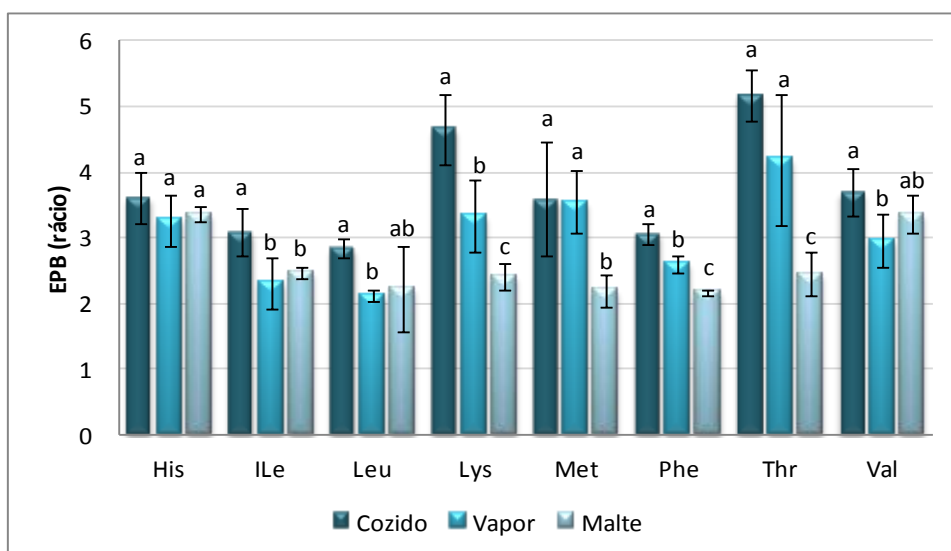


Gráfico 4.40 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos essenciais no trigo-sarraceno.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

A bioacessibilidade dos aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais também aumentou significativamente com o processamento. A bioacessibilidade destes aminoácidos aumentou de valores entre 3,1-40%, no caso do trigo-sarraceno cru, para valores entre 13-106%, 11-107% e 11-97% no caso do trigo-sarraceno, cozido, a vapor e maltado, respetivamente (Tabela 4.43). Verificam-se diferenças significativas na biodisponibilidade da maioria dos aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais entre o trigo-sarraceno cozido e cozido a vapor, com exceção da biodisponibilidade da asparagina e da tirosina.

Tabela 4.43 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no trigo-sarraceno¹

	Trigo-Sarraceno				
	Cozinhados			Maltados	
	Crua_C	Cozida	Vapor	Crua_M	Malte
Ala ⁽¹⁾	13 ^a ± 1,1	56 ^b ± 6,3	41 ^c ± 2,9	26 ^a ± 4,0	77 ^b ± 1,8
Arg ⁽²⁾	21 ^a ± 2,2	102 ^b ± 2,3	79 ^c ± 0,6	40 ^a ± 2,7	59 ^b ± 1,7
Asp ⁽¹⁾	3,1 ^a ± 1,0	13 ^b ± 2,9	9,0 ^b ± 1,7	5,1 ^a ± 0,6	16 ^b ± 0,6
Cys ⁽²⁾	8,0 ^a ± 2,0	44 ^b ± 4,3	30 ^c ± 4,9	28 ^a ± 1,4	41 ^b ± 11
Glu ⁽¹⁾	4,4 ^a ± 0,3	14 ^b ± 0,2	11 ^c ± 1,5	9,5 ^a ± 0,8	21 ^b ± 0,3
Gly ⁽²⁾	19 ^a ± 1,3	79 ^b ± 3,1	64 ^c ± 5,8	38 ^a ± 5,9	49 ^b ± 2,1
Pro ⁽²⁾	4,2 ^a ± 0,5	16 ^b ± 1,5	13 ^c ± 0,7	9,2 ^a ± 0,8	11 ^b ± 0,4
Ser ⁽¹⁾	14 ^a ± 0,6	46 ^b ± 4,9	35 ^c ± 3,7	24 ^a ± 3,8	42 ^b ± 0,6
Tyr ⁽²⁾	17 ^a ± 0,2	106 ^b ± 9,6	107 ^b ± 3,1	71 ^a ± 1,3	97 ^b ± 1,2

* não essenciais (Ala; Asp; Glu; Ser); **condicionalmente essenciais (Arg; Cys; Gly; Pro; Tyr)

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

No que diz respeito aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais, o efeito da cozedura do trigo-sarraceno na bioacessibilidade da alanina, arginina, cisteína, glutamato, glicina, e serina e foi significativamente superior ao dos restantes processos. A maltagem apresenta um impacto na bioacessibilidade significativamente mais baixo que os restantes processos para a arginina, cisteína, ácido glutâmico, glicina, prolina, serina e tirosina.

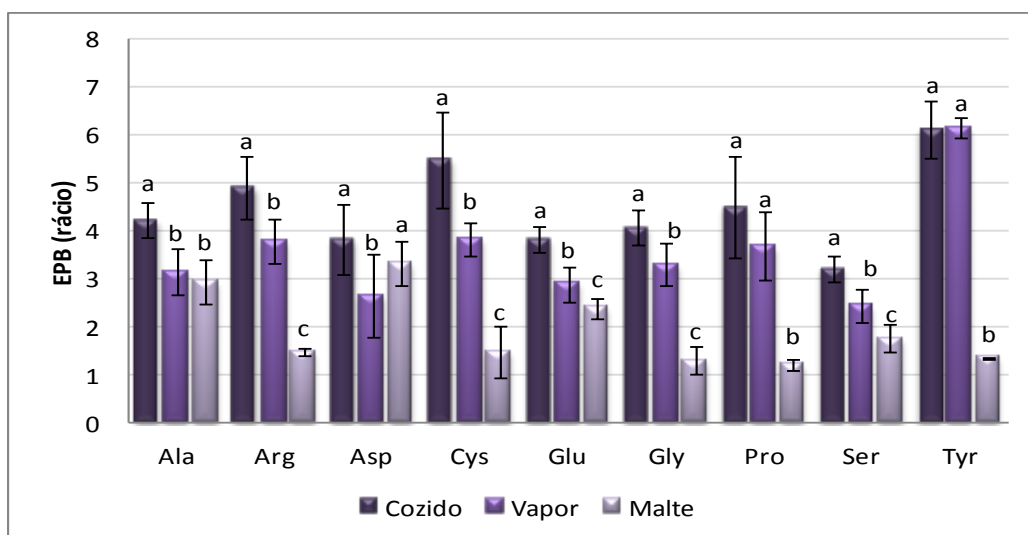


Gráfico 4.41 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no trigo-sarraceno.

* não essenciais (Ala; Asp; Glu; Ser); **condicionalmente essenciais (Arg; Cys; Gly; Pro; Tyr)
 Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Foram as amostras cozidas as que apresentaram valores mais elevados de bioacessibilidade de folatos, no entanto, a bioacessibilidade dos folatos no trigo-sarraceno cozido não diferiu significativamente do cozido a vapor, apresentando, em ambos os casos valores de bioacessibilidade para o 5-MTHF, 10-CHOTHF e folatos totais perto dos 100%. No malte os valores de bioacessibilidade para o 5-MTHF e folatos totais também se encontram perto dos 100%. Neste caso, a maltagem aumentou significativamente a bioacessibilidade do 10-CHOTHF.

Tabela 4.44 - Bioacessibilidade (%) dos folatos no trigo-sarraceno¹

	Trigo-sarraceno				
	Crua_C	Cozinhados		Maltados	
		Cozida	Vapor	Crua_M	Malte
FA	17 ^a ± 36	58 ^b ± 34	78 ^c ± 39	5,1 ^a ± 0,8	0,0 ^b ± 0,0
5-MTHF	81 ^a ± 1,4	104 ^b ± 5,2	101 ^b ± 14	105 ^a ± 6,2	106 ^a ± 3,6
10-CHOTHF	16 ^a ± 2,9	114 ^b ± 8,0	101 ^b ± 12	27 ^a ± 5,5	54 ^b ± 9,3
Folatos Totais	78 ^a ± 1,2	105 ^b ± 5,1	101 ^b ± 14	100 ^a ± 5,9	102 ^a ± 3,8

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

O EPB dos folatos é significativamente mais elevado para o 10-CHOTHF quando o trigo-sarraceno é cozido ou cozido a vapor. Observou-se, no trigo-sarraceno maltado, uma ligeira diminuição da bioacessibilidade do FA (EPB < 1).

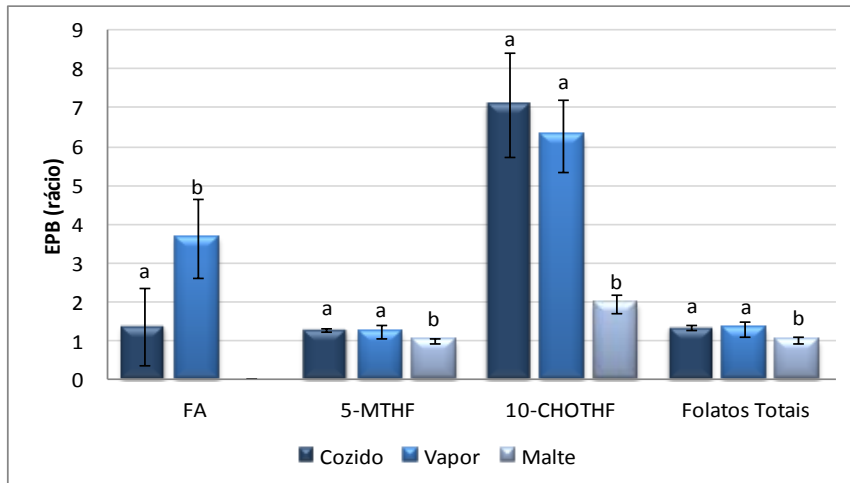


Gráfico 4.42 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos folatos no trigo-sarraceno. Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A Tabela 4.45 apresenta os resultados da bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos do trigo-sarraceno processado. No trigo-sarraceno cru a bioacessibilidade varia entre 9.2% para o manganês e 99% para o cálcio. A bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos aumenta significativamente após processamento culinário para a maioria dos minerais e oligoelementos. Observaram-se diferenças significativas na bioacessibilidade do cobre, manganês e magnésio entre a cozedura e a cozedura a vapor.

Durante a maltagem observou-se um aumento significativo da bioacessibilidade de todos os minerais e oligoelementos com exceção do cobre, zinco, cálcio e fósforo.

Tabela 4.45 - Bioacessibilidade (%) de minerais e oligoelementos no trigo-sarraceno¹.

Trigo-Sarraceno					
	Cozinhados			Maltados	
	Crua_C	Cozida	Vapor	Crua_M	Malte
Cu	42 ^a ± 4,5	54 ^b ± 2,2	61 ^c ± 2,5	55 ^a ± 2,7	53 ^a ± 1,8
Mn	9,2 ^a ± 0,9	50 ^b ± 2,6	57 ^c ± 1,7	15 ^a ± 0,3	31 ^b ± 0,7
Fe	22 ^a ± 1,7	20 ^a ± 1,8	40 ^b ± 2,9	21 ^a ± 0,3	38 ^b ± 1,0
Zn	66 ^a ± 6,4	88 ^b ± 5,3	92 ^b ± 9,2	77 ^a ± 2,3	81 ^a ± 4,4
Mg	37 ^a ± 2,3	64 ^b ± 2,6	82 ^c ± 1,9	61 ^a ± 3,6	75 ^b ± 3,8
Ca	96 ^a ± 4,2	82 ^a ± 23	104 ^a ± 10	99 ^a ± 4,9	100 ^a ± 2,5
P	42 ^a ± 3,1	40 ^a ± 3,3	77 ^b ± 1,8	64 ^a ± 3,5	70 ^a ± 5,4
K	81 ^{ab} ± 6,5	79 ^a ± 1,1	90 ^b ± 8,6	78 ^a ± 3,8	88 ^b ± 2,2

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

O EPB nas amostras cozidas e cozidas a vapor é significativamente superior ao malte para o cobre, manganês, zinco e magnésio.

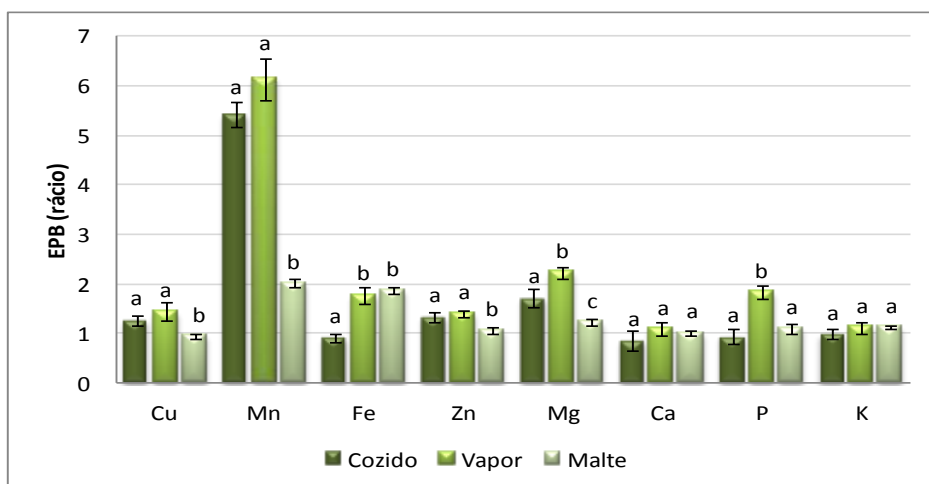


Gráfico 4.43 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos no trigo-sarraceno.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

4.4. Arroz

Para a caracterização nutricional do arroz foram compilados resultados referentes a colheitas efetuadas na região do Ribatejo e Sado entre 2010 e 2012 designado como «Arroz (Portugal)» e que inclui arroz agulha e arroz carolino, polido. As

amostras de arroz agulha e arroz carolino sujeitas aos processos de cozedura foram recolhidas nos anos de 2014 nas mesmas regiões.

O rendimento de confeção (Y_c , equação 1, secção 3.4) do arroz agulha e carolino cozidos foi de 2,54 e 2,50 respetivamente.

4.4.1. Composição nutricional do arroz

Encontram-se reunidos resultados de macronutrientes, aminoácidos essenciais, não essenciais e condicionalmente essenciais, folatos, minerais, oligoelementos, elementos traço.

– Macronutrientes

Tabela 4.46 - Macronutrientes no arroz

	Arroz (Portugal)	Arroz Agulha		Arroz Carolino	
	Cru	Cru_C	Cozido	Cru_C	Cozido
Humidade	13,1 ± 0,03	12,1 ± 0,16	63,4 ± 0,02	12,3 ± 0,02	63,5 ± 0,08
Cinza	0,42 ± 0,05	nd	nd	nd	nd
Proteína	7,1 ± 0,3	6,1 ± 0,06	2,9 ± 0,1	6,6 ± 0,09	3,0 ± 0,02
Gordura	0,6 ± 0,02	nd	nd	nd	nd
Fibra	1,5 ± 0,1	nd	nd	nd	nd
Amido	76,8 ± 0,8	nd	nd	nd	nd

nd – Não determinado

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos duplicados, g/100 g edível.

Nos macronutrientes (Tabela 4.46), verificou-se que existem pequenas variações no teor de humidade entre as amostras de arroz cruas recolhidas em diferentes anos. Verificou-se também que a humidade das duas variedades de arroz cozido não apresenta diferenças. É de salientar o elevado valor de amido do arroz (76,8 g/100 g).

– Aminoácidos

Verificou-se que o valor da soma dos aminoácidos essenciais, condicionalmente essenciais e não essenciais é consistentemente mais baixo quando comparado com o teor de proteína determinado (Tabela 4.47), diferindo, em média, cerca de 1 g/100 g.

Comparando os diferentes aminoácidos essenciais (Tabela 4.47), a leucina e a fenilalanina apresentaram os valores mais elevados. A lisina, pelo contrário, apresentou os valores mais baixos. Os baixos teores observados nas amostras cozidas são uma consequência da incorporação de água durante a confeção.

Tabela 4.47 – Aminoácidos essenciais no arroz

	Arroz (Portugal)	Arroz Agulha		Arroz Carolino	
	Cru	Cru	Cozido	Cru	Cozido
His	184 ± 11,2	251 ± 23,5	88,1 ± 7,9	225 ± 19,3	79,7 ± 6,9
ILe	238 ± 12,3	229 ± 13,1	90,7 ± 7,8	259 ± 25,1	104 ± 4,3
Leu	503 ± 16,1	541 ± 54,8	212 ± 8,3	550 ± 31,1	221 ± 2,9
Lys	144 ± 6,4	147 ± 12,9	57,5 ± 3,3	152 ± 9,7	60,3 ± 3,7
Met	147 ± 13,7	257 ± 13,3	86,2 ± 7,2	264 ± 20,7	86,6 ± 8,7
Phe	404 ± 26,2	494 ± 44,9	192 ± 14,9	486 ± 42,4	180 ± 18,5
Thr	196 ± 9,4	236 ± 17,8	93 ± 3,0	230 ± 10,3	88,6 ± 1,9
Val	316 ± 16,7	315 ± 30,7	124 ± 3,3	346 ± 21,6	138 ± 2,1
(g/100g edível)					
Soma AA	6,4 ± 1,1	6,9 ± 0,4	2,7 ± 0,04	6,9 ± 0,2	2,6 ± 0,07

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g edível.

O aminoácido não essencial mais abundante foi o ácido glutâmico, seguido pelo condicionalmente essencial arginina (Tabela 4.48). Os teores de cisteína foram os mais baixos.

Tabela 4.48 – Aminoácidos não essenciais⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais⁽²⁾ no arroz

	Arroz (Portugal)	Arroz Agulha		Arroz Carolino	
	Cru	Cru	Cozido	Cru	Cozido
Ala ⁽¹⁾	348 ± 13,6	351 ± 34,3	140 ± 3,9	346 ± 10,3	134 ± 2,8
Arg ⁽²⁾	581 ± 35,1	622 ± 57,3	250 ± 13,2	617 ± 42,8	244 ± 15,5
Asp ⁽¹⁾	591 ± 23,2	568 ± 51,5	217 ± 16,7	580 ± 44,5	206 ± 16,8
Cys ⁽²⁾	42 ± 1,0	98,9 ± 4,6	32,5 ± 2,7	51,5 ± 4,9	20,1 ± 1,7
Glu ⁽¹⁾	1316 ± 66,1	1265 ± 126	490 ± 34,2	1375 ± 126	485 ± 37,8
Gly ⁽²⁾	308 ± 18,8	336 ± 34,7	130 ± 12,5	328 ± 22,7	130 ± 8,7
Pro ⁽²⁾	283 ± 15,4	323 ± 26,3	129 ± 2,6	321 ± 10,4	124 ± 1,7
Ser ⁽¹⁾	336 ± 19,6	368 ± 24,9	146 ± 5,2	363 ± 12,1	143 ± 2,7
Tyr ⁽²⁾	326 ± 27,4	468 ± 27,5	172 ± 16,0	443 ± 28,3	150 ± 13,1

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g edível.

– Folatos

No que diz respeito aos folatos, a forma predominante em todas as amostras foi o 5-MTHF. O valor mais elevado foi encontrado nas amostras cruas (98,2 µg/100 g).

Tabela 4.49 - Folatos no arroz

	Arroz Agulha		Arroz Carolino	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido
FA	1,5 ± 0,4	0,5 ± 0,5	1,2 ± 0,2	0,2 ± 0,2
THF	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ
5-MTHF	98,2 ± 0,8	36,5 ± 3,2	96,6 ± 0,9	40,4 ± 5,5
10-CHOTHF	9,8 ± 0,9	4,4 ± 0,9	9,1 ± 0,4	3,6 ± 0,7
5-CHOTHF	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ
Folatos Totais	110 ± 1,3	41,4 ± 2,3	107 ± 1,0	44,2 ± 5,3

LoQ: limite de quantificação (THF < 0,56; 5-CHOTHF < 0,24)

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg/100 g g edível.

– Minerais

Entre os oligoelementos presentes no arroz, destacaram-se o zinco, que nas amostras cruas apresenta valores entre 0,70 e 0,95 mg/100 g. Nos minerais destacam-se os teores de potássio, com valores entre 67 e 91 mg/100 g, e o fósforo, com valores entre 79 e 107 mg/100 g. O sódio apresenta-se abaixo do limite de quantificação em todas as amostras.

Tabela 4.50 - Minerais no arroz

	Arroz (Portugal)	Arroz Agulha		Arroz Carolino	
	Cru	Cru_C	Cozido	Cru_C	Cozido
Cu	0.120 ± 0.01	0,174 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,163 ± 0,01	0,06 ± 0,01
Mn	0.835 ± 0.02	0,546 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,321 ± 0,02	0,131 ± 0,01
Fe	0.222 ± 0.01	0,151 ± 0,01	0,069 ± 0,02	0,111 ± 0,01	0,054 ± 0,01
Zn	0.951 ± 0.03	0,913 ± 0,02	0,348 ± 0,01	0,707 ± 0,01	0,297 ± 0,01
Mg	27,0 ± 0.09	24,3 ± 0,3	8,4 ± 0,2	17,7 ± 0,2	6,6 ± 0,3
Ca	2,87 ± 0,07	3,72 ± 0,1	1,73 ± 0,1	4,47 ± 0,1	1,9 ± 0,1
P	107 ± 2.4	99,9 ± 0,9	40,6 ± 0,04	78,8 ± 0,6	32,8 ± 0,2
K	91,0 ± 3.1	82,9 ± 0,7	32,5 ± 0,3	67,0 ± 1,5	26,3 ± 1,0
Na	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ

LoQ: limite de quantificação (<2,5 mg/100g).

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g edível.

– Elementos traço

O arroz apenas apresentou valores acima do limite de quantificação do método para o molibdénio e estrôncio, crómio e vanádio. O molibdénio apresenta o valor mais elevado com 32 µg/100 g.

Tabela 4.51 – Elementos traço no arroz

	Arroz (Portugal)	Arroz Agulha	Arroz Carolino
	Cru	Cru_C	Cru_C
Mo	30,4 ± 0,3	32,1 ± 0,4	30,7 ± 0,3
Sr	15,1 ± 0,6	10,4 ± 0,1	29,1 ± 1,3
Co	<LoQ	<LoQ	<LoQ
Cr	n.d.	18,8 ± 3,4	22,7 ± 0,5
Li	<LoQ	<LoQ	<LoQ
V	n.d.	6,26 ± 2,3	6,16 ± 0,1
Ni	<LoQ	<LoQ	5,59 ± 0,3
Se	<LoQ	<LoQ	<LoQ

nd – não determinado; LoQ: limite de quantificação (Li, Ni, Se < 0,50; Co < 0,25).

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg/100 g edível.

4.4.2. Contaminantes

Tabela 4.52 - Contaminantes no arroz

	Arroz Agulha	Arroz Carolino
As Orgânico	149 ± 29,8	194 ± 12,1
As Inorgânico	90,3 ± 27,2	113 ± 13,2
As Total	239 ± 51,5	307 ± 16,8
Cd	<LoQ	<LoQ
Pb	<LoQ	<LoQ

LoQ: limite de quantificação (Pb < 0.50; Cd <0,25).

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg/kg edível.

Podemos verificar que para o arroz, os teores de cádmio e o chumbo ficaram abaixo do limite de detecção, no entanto foi detetada a presença de arsénio. Por este ter sido detetado na análise por ICP-MS, foi determinado o Arsénio Inorgânico (As (III) + As (V)) e Arsénio Orgânico (DMA). Comparando os resultados obtidos de arsénio total por ICP-MS (262 µg/kg – Arroz Agulha e 316 µg/kg - Arroz Carolino) e a soma das espécies de arsénio (Tabela 4.52) obtidas por HPLC-ICP-MS verificou-se que não existem diferenças significativas, concluindo-se assim que o método de determinação de espécies de arsénio é fiável. No arroz carolino a espécie de arsénio orgânico (DMA) foi a mais abundante. O arroz contém em média 37% de arsénio inorgânico.

4.4.3. Efeito do processamento na composição nutricional do arroz

Para a análise do efeito do processamento no conteúdo nutricional do arroz os teores foram expressos em base seca. Desta forma as variações observadas são independentes da variação do teor em água verificado durante os diferentes processamentos.

Observou-se um aumento significativo, embora de magnitude reduzida, do conteúdo proteico durante a cozedura do arroz.

Os teores dos aminoácidos essenciais histidina e metionina diminuíram significativamente durante a cozedura do arroz agulha (Tabela 4.23). Já os teores de histidina e da metionina, fenilalanina e a treonina diminuíram com a confeção do arroz carolino. Os teores dos restantes aminoácidos essenciais não evoluíram significativamente.

Tabela 4.53 - Aminoácidos essenciais no arroz processado¹

	Arroz Agulha		Arroz Carolino	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido
His	286 ^a ± 26,7	241 ^b ± 21,7	256 ^a ± 22,0	218 ^b ± 18,9
ILe	261 ^a ± 14,9	248 ^a ± 21,2	294 ^a ± 28,6	285 ^a ± 11,8
Leu	616 ^a ± 62,4	581 ^a ± 22,6	626 ^a ± 35,3	605 ^a ± 7,9
Lys	168 ^a ± 14,7	157 ^a ± 8,9	173 ^a ± 11,1	165 ^a ± 10,2
Met	293 ^a ± 15,1	236 ^b ± 19,8	300 ^a ± 23,6	237 ^b ± 23,7
Phe	562 ^a ± 51,1	524 ^a ± 40,9	552 ^a ± 48,3	492 ^b ± 50,7
Thr	268 ^a ± 20,3	254 ^a ± 8,2	262 ^a ± 11,8	243 ^b ± 5,1
Val	359 ^a ± 34,9	338 ^a ± 9,0	394 ^a ± 24,6	379 ^a ± 5,7

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g peso seco.
¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

No Gráfico 4.44 apresentam-se os fatores de retenção para todos os aminoácidos essenciais obtidos recorrendo à equação 2 (Capítulo 3.4). Assinala-se um efeito de maior magnitude da confeção na metionina (RF ≈ 0,80).

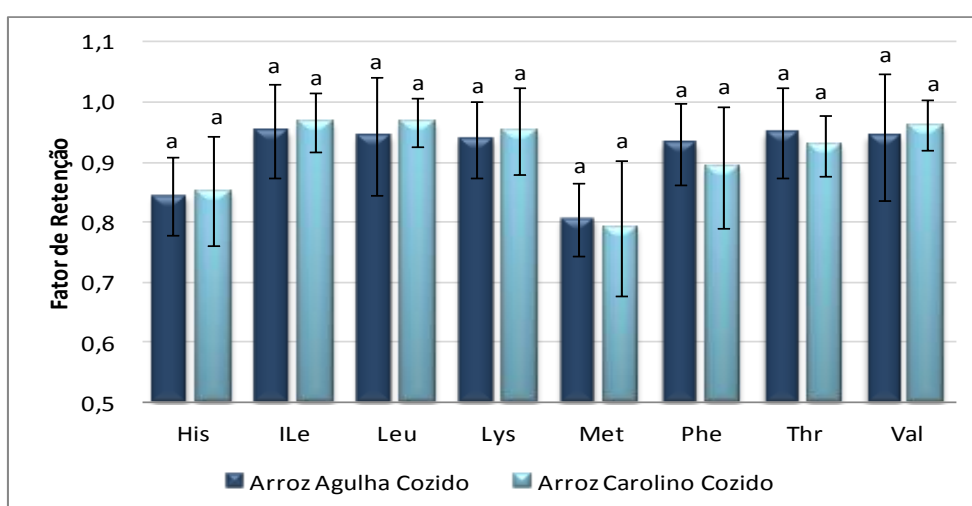


Gráfico 4.44 - Retenção de aminoácidos essenciais no arroz.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

A confeção induziu uma diminuição significativa dos teores em cisteína e tirosina no arroz agulha. No carolino, apenas a arginina, cisteína e o ácido glutâmico não apresentam diferenças, ocorrendo uma diminuição em todos os outros. Assinala-se um efeito de maior magnitude da confeção do arroz agulha no teor de cisteína (RF \approx 0,79) (Tabela 4.54 e Gráfico 4.45).

Tabela 4.54 - Aminoácidos não essenciais⁽¹⁾ e condicionalmente essenciais⁽²⁾ no arroz processado^a

	Arroz Agulha		Arroz Carolino	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido
Ala ⁽¹⁾	400 ^a \pm 39,0	383 ^a \pm 10,8	394 ^a \pm 11,8	366 ^b \pm 7,7
Arg ⁽²⁾	708 ^a \pm 65,2	685 ^a \pm 36,1	702 ^a \pm 48,7	668 ^a \pm 42,4
Asp ⁽¹⁾	646 ^a \pm 58,6	595 ^a \pm 45,6	659 ^a \pm 50,7	564 ^b \pm 46,1
Cys ⁽²⁾	113 ^a \pm 5,2	88,9 ^b \pm 7,4	58,6 ^a \pm 5,7	55,2 ^a \pm 4,7
Glu ⁽¹⁾	1439 ^a \pm 143	1340 ^a \pm 93,4	1564 ^a \pm 143	1330 ^b \pm 103
Gly ⁽²⁾	382 ^a \pm 39,5	356 ^a \pm 34,3	373 ^a \pm 25,8	356 ^a \pm 23,9
Pro ⁽²⁾	368 ^a \pm 29,9	352 ^a \pm 7,2	365 ^a \pm 11,9	340 ^b \pm 4,6
Ser ⁽¹⁾	418 ^a \pm 28,3	401 ^a \pm 14,3	413 ^a \pm 13,8	391 ^b \pm 7,3
Tyr ⁽²⁾	533 ^a \pm 31,3	471 ^b \pm 43,8	504 ^a \pm 32,2	411 ^b \pm 35,8

Valores apresentados em média \pm desvio padrão dos triplicados, mg/100 g peso seco.

^aEm cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

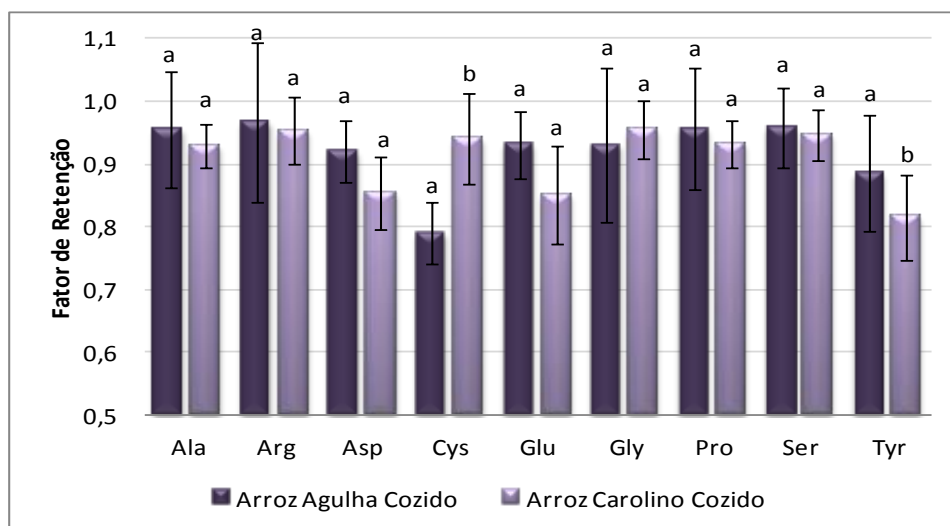


Gráfico 4.45 - Retenção de aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no arroz.

* não essenciais (Ala; Asp; Glu; Ser); **condicionalmente essenciais (Arg; Cys; Gly; Pro; Tyr)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Os processamentos não afetaram significativamente nenhum dos teores em folatos (Tabela 4.55).

Tabela 4.55 - Folatos no arroz processado¹

	Arroz Agulha		Arroz Carolino	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido
FA	1,7 ^a ± 0,4	1,4 ^a ± 1,2	1,3 ^a ± 0,2	0,6 ^a ± 0,5
5-MTHF	112 ^a ± 0,93	99,7 ^a ± 8,9	110 ^a ± 1,0	110 ^a ± 14,9
10-CHOTHF	11,2 ^a ± 1,1	12,1 ^a ± 2,5	10,3 ^a ± 0,5	9,8 ^a ± 1,9
Folatos Totais	115 ^a ± 1,4	113 ^a ± 6,3	122 ^a ± 1,1	121 ^a ± 14,6

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, µg/100 g peso seco.
¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

Durante a cozedura, ocorre uma redução do teor de FA no arroz carolino (RF ≈ 0,45) (Gráfico 4.46), que não tem impacto no teor em folatos totais.

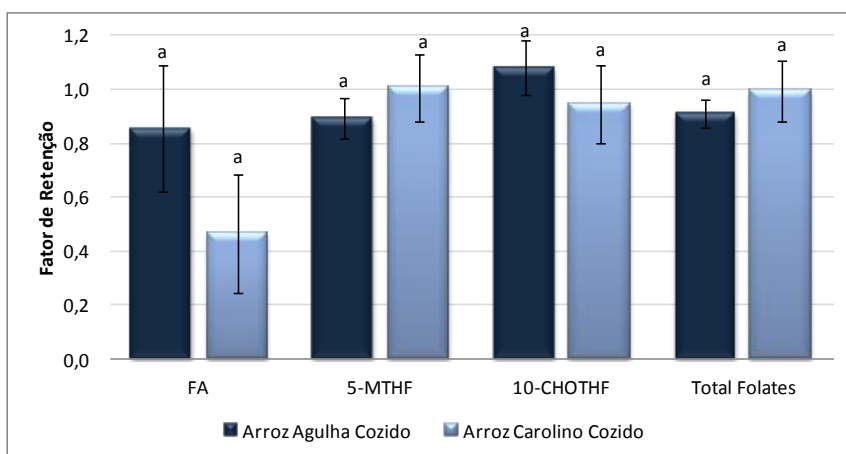


Gráfico 4.46 - Retenção de folatos no arroz.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

No que diz respeito à evolução dos teores dos minerais e oligoelementos durante o processamento (Tabela 4.56 e Gráfico 4.47), verificou-se uma diminuição significativa no arroz agulha nos teores de todos os minerais com exceção do ferro. No arroz carolino apenas para o cobre e para o manganês foi observada essa diminuição. Foi no arroz agulha que se observaram as maiores alterações,

registando-se uma diminuição significativa dos teores em cobre, zinco e magnésio ($0,70 < RF < 0,91$).

Tabela 4.56 – Minerais no arroz antes e após processamento¹

	Arroz Agulha		Arroz Carolino	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido
Cu	0,198 ^a ± 0,01	0,165 ^b ± 0,01	0,185 ^a ± 0,01	0,164 ^b ± 0,002
Mn	0,621 ^a ± 0,01	0,437 ^b ± 0,02	0,366 ^a ± 0,03	0,358 ^a ± 0,004
Fe	0,171 ^a ± 0,01	0,188 ^a ± 0,01	0,126 ^a ± 0,001	0,149 ^b ± 0,004
Zn	1,038 ^a ± 0,02	0,951 ^b ± 0,01	0,805 ^a ± 0,001	0,815 ^a ± 0,03
Mg	27,7 ^a ± 0,4	22,9 ^b ± 0,4	20,2 ^a ± 0,2	18,0 ^b ± 0,7
Ca	4,23 ^a ± 0,07	4,72 ^b ± 0,3	5,09 ^a ± 0,1	5,22 ^a ± 0,2
P	114 ^a ± 1,0	111 ^b ± 0,1	89,6 ^a ± 0,6	89,9 ^a ± 0,5
K	94,3 ^a ± 0,7	89,0 ^b ± 0,7	76,2 ^a ± 1,7	72,1 ^a ± 2,7

Valores apresentados em média ± desvio padrão dos triplicados, mg/100 g peso seco.

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

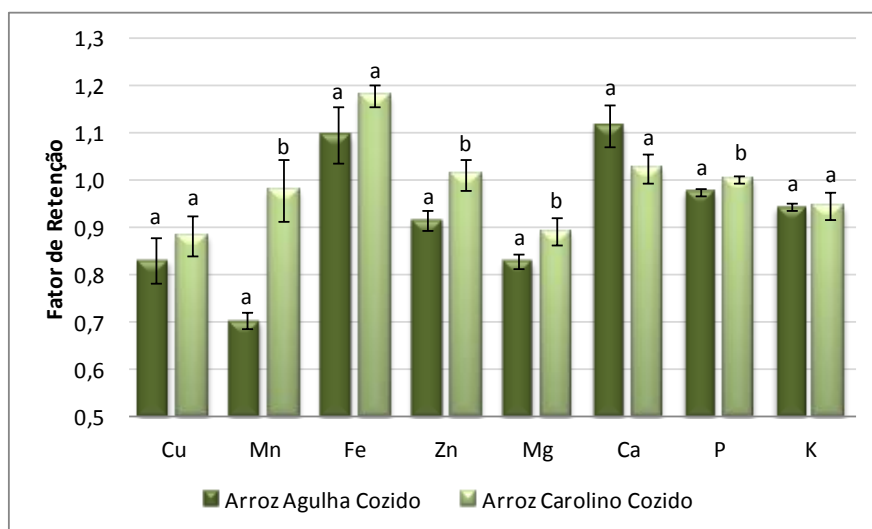


Gráfico 4.47 - Retenção de minerais e oligoelementos no arroz.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

4.4.4. Avaliação Qualidade Proteica - PDCAAS

Observaram-se ligeiras alterações da qualidade da proteína de arroz durante o processamento (Gráfico 4.48). O PDCAAS da proteína do arroz agulha cru, do arroz carolino cru e dos arrozes cozidos foi de 0,47, 0,45 e 0,39 respetivamente, em qualquer dos casos limitado pela lisina.

De referir ainda o elevado score dos aminoácidos aromáticos, histidina e aminoácidos sulfurados com scores substancialmente superiores a 1,00.

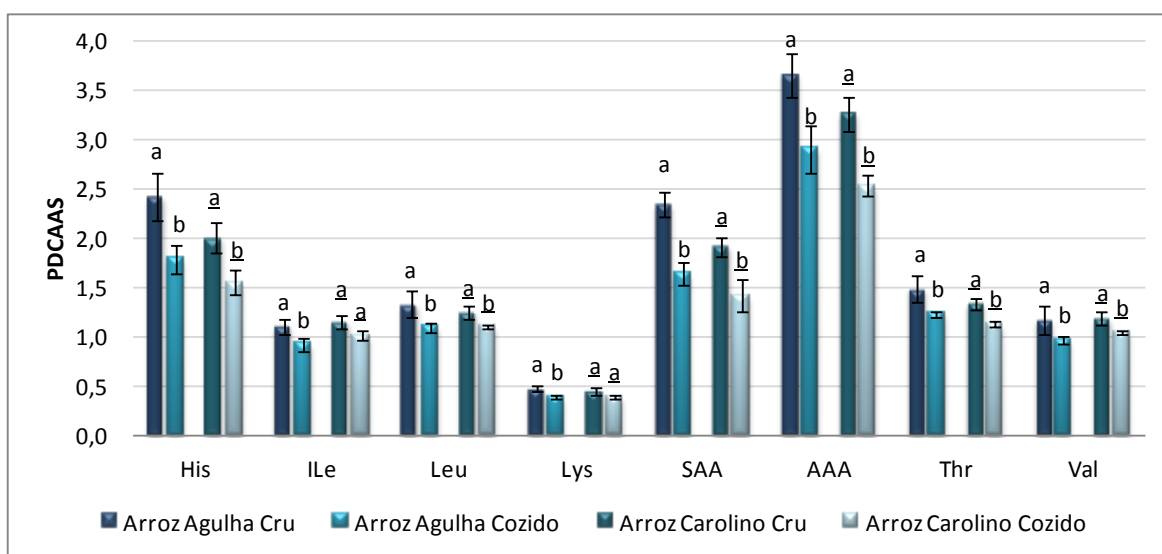


Gráfico 4.48 - Score aminoácidos (PDCAAS) no arroz.

AAA – Aminoácidos aromáticos (Phe+Tyr); SAA- Aminoácidos Sulfurados (Met+Cys)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

4.4.5. Valor nutricional do arroz

Para o cálculo da dose equivalente ao alimento cru aplicou-se a Equação 3 (secção 3.4). As porções definidas para o arroz agulha cozido, arroz carolino cozido e arrozes crus foram 89, 87 e 35 g, respetivamente.

Os resultados do cálculo da % das necessidades em aminoácidos satisfeitas pelo consumo de uma dose de arroz, tal como descrito na secção 3.4 são

apresentados no Gráfico 4.49. A ingestão de uma dose de arroz supre entre 19% das necessidades de aminoácidos aromáticos e 2% das necessidades de lisina.

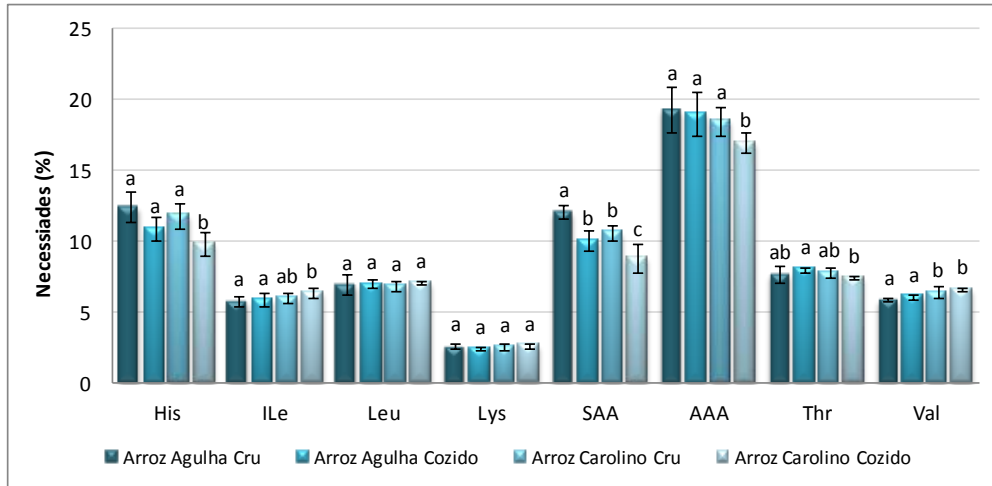


Gráfico 4.49 - Necessidades de aminoácidos essenciais (%) cobertas pelo consumo de uma dose de arroz.

AAA – Aminoácidos aromáticos (Phe+Tyr); SAA- Aminoácidos Sulfurados (Met+Cys)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Verificou-se que, independentemente do tipo de arroz, o consumo de uma dose de arroz satisfaz entre 11,4 e 11,9% da recomendação em folatos (Gráfico 4.50).

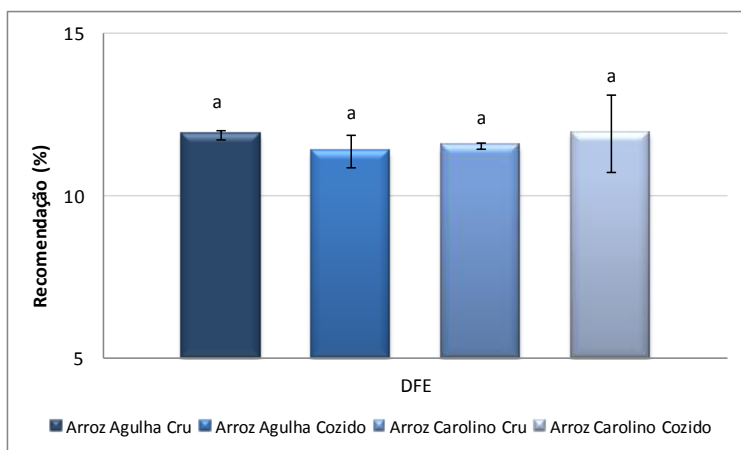


Gráfico 4.50 - Recomendação de folatos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de arroz.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

O arroz cru, apresenta de uma forma geral, maior riqueza em minerais e oligoelementos, no que diz respeito à satisfação das recomendações nestes nutrientes. Não pode no entanto ser descrito como fonte de nenhum destes elementos (Gráfico 4.51e Gráfico 4.52).

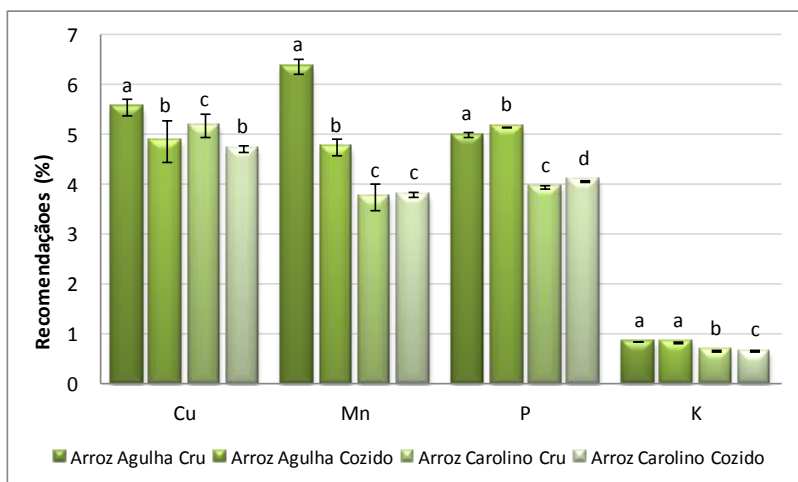


Gráfico 4.51 - Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de arroz.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

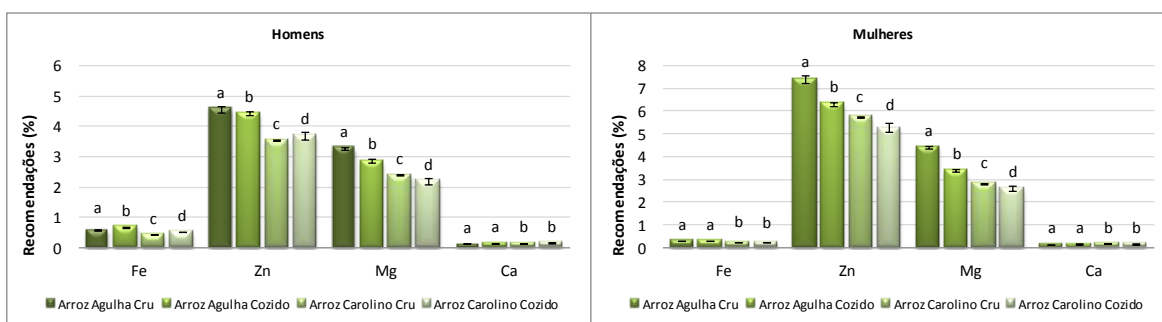


Gráfico 4.52 - Recomendações de minerais e oligoelementos (%) cobertas pelo consumo de uma dose de arroz, para homens e mulheres.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

4.4.6. Bioacessibilidade

Para a bioacessibilidade os resultados encontram-se expressos em média \pm desvio padrão dos resultados dos ensaios quadruplicados. O cálculo do EPB para o arroz foi realizado de acordo com a Equação 6, descrita no capítulo 3.4.

A bioacessibilidade dos aminoácidos essenciais aumentou significativamente com o processamento. A bioacessibilidade destes aminoácidos aumentou de valores entre 14-60%, no caso do arroz cru, para valores entre 90-124% no caso do arroz cozido (Tabela 4.42).

Tabela 4.57 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos essenciais no arroz¹

	Arroz Agulha		Arroz Carolino	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido
His	17 ^a ± 1,4	105 ^b ± 3,5	20 ^a ± 2,0	111 ^b ± 5,3
ILe	21 ^a ± 1,7	120 ^b ± 1,3	20 ^a ± 10	106 ^b ± 12
Leu	22 ^a ± 2,0	107 ^b ± 1,9	22 ^a ± 13	107 ^b ± 2,2
Lys	60 ^a ± 6,5	124 ^b ± 3,0	52 ^a ± 2,8	113 ^b ± 12
Met	14 ^a ± 1,1	90 ^b ± 9	16 ^a ± 2,7	98 ^b ± 12
Phe	21 ^a ± 1,6	102 ^b ± 4,4	19 ^a ± 5,4	100 ^b ± 7,1
Thr	17 ^a ± 5,0	108 ^b ± 7,3	24 ^a ± 11	113 ^b ± 6,4
Val	22 ^a ± 1,7	118 ^b ± 5,9	21 ^a ± 12	109 ^b ± 4,3

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

A cozedura tradicional induziu aumentos de biodisponibilidade em todos os aminoácidos do arroz quer carolino quer agulha. A biodisponibilidade dos aminoácidos essenciais, com exceção da lisina, aumentou mais de 4x com a cozedura (Gráfico 4.53).

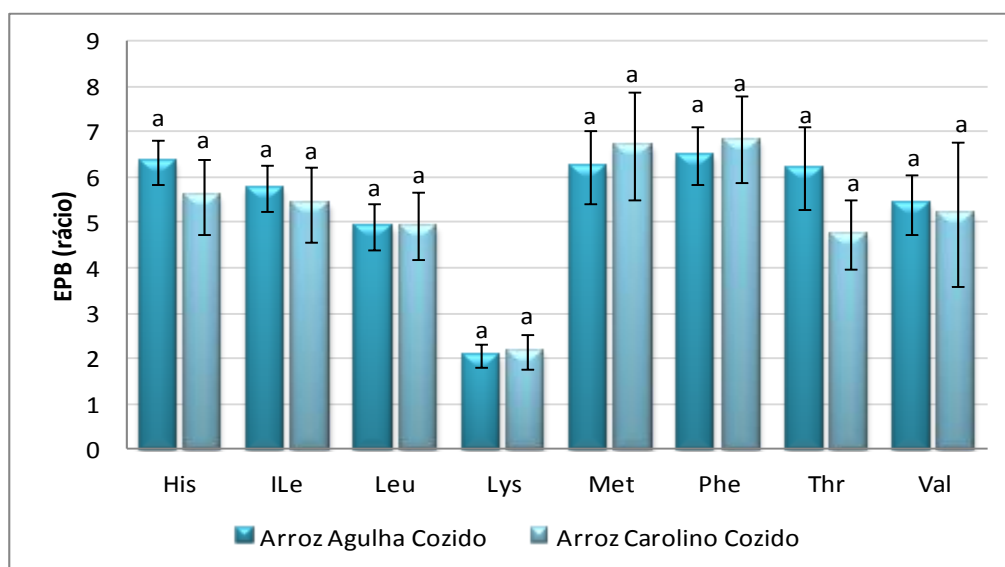


Gráfico 4.53 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos essenciais no arroz. Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas (p<0,05).

A bioacessibilidade dos aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais também aumentou significativamente com o processamento. A bioacessibilidade destes aminoácidos aumentou de valores entre 5-38%, no caso do arroz cru, para valores entre 24-112% no caso do arroz cozido (Tabela 4.58).

Tabela 4.58 - Bioacessibilidade (%) aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no arroz¹

	Arroz Agulha		Arroz Carolino	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido
Ala ⁽¹⁾	22 ^a ± 1,4	89 ^b ± 16	25 ^a ± 14	98 ^b ± 6,6
Arg ⁽²⁾	38 ^a ± 0,7	88 ^b ± 2,3	27 ^a ± 4,0	107 ^b ± 5,2
Asp ⁽¹⁾	5,0 ^a ± 0,4	24 ^b ± 1,8	7,3 ^a ± 3,1	28 ^b ± 2,7
Cys ⁽²⁾	13 ^a ± 1,4	94 ^b ± 19	26 ^a ± 12	112 ^b ± 9,4
Glu ⁽¹⁾	7,3 ^a ± 0,6	32 ^b ± 2,1	8,0 ^a ± 4,1	43 ^b ± 4,3
Gly ⁽²⁾	25 ^a ± 1,7	103 ^b ± 10	23 ^a ± 0,9	91 ^b ± 4,5
Pro ⁽²⁾	6,1 ^a ± 0,4	34 ^b ± 5,1	6,4 ^a ± 1,4	38 ^b ± 6,1
Ser ⁽¹⁾	20 ^a ± 1,3	80 ^b ± 2,7	19 ^a ± 2,5	86 ^b ± 1,1
Tyr ⁽²⁾	26 ^a ± 2,5	90 ^b ± 0,2	22 ^a ± 0,4	88 ^b ± 1,2

* não essenciais (Ala; Asp; Glu; Ser); **condicionalmente essenciais (Arg; Cys; Gly; Pro; Tyr)

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes (p<0,05).

A biodisponibilidade dos aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais, com exceção da arginina, aumentou mais de 3x com a cozedura (Gráfico 4.54).

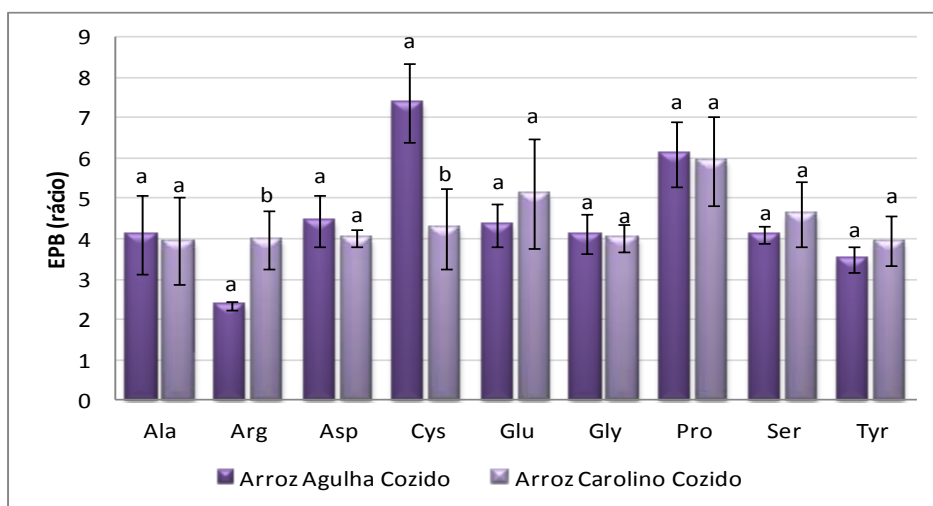


Gráfico 4.54 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos não essenciais* e condicionalmente essenciais** no arroz.

* não essenciais (Ala; Asp; Glu; Ser); **condicionalmente essenciais (Arg; Cys; Gly; Pro; Tyr)

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

As amostras cozidas foram as que apresentaram valores mais elevados de bioacessibilidade de 10-CHOTHF, no entanto, a bioacessibilidade dos restantes folatos no arroz cozido diminuiu significativamente.

Tabela 4.59 - Bioacessibilidade (%) dos folatos no arroz¹

	Arroz Agulha		Arroz Carolino	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido
FA	17 ^a ± 5	0 ^b ± 0	13 ^a ± 6	0 ^b ± 0
5-MTHF	110 ^a ± 2	68 ^b ± 6	100 ^a ± 7	69 ^b ± 12
10-CHOTHF	39 ^a ± 14	100 ^b ± 37	31 ^a ± 5	88 ^b ± 21
Folatos Totais	102 ^a ± 3	70 ^b ± 9	93 ^a ± 6	70 ^b ± 12

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

Observou-se uma diminuição da bioacessibilidade do FA, 5-MTHF e consequentemente dos folatos totais (EPB < 1).

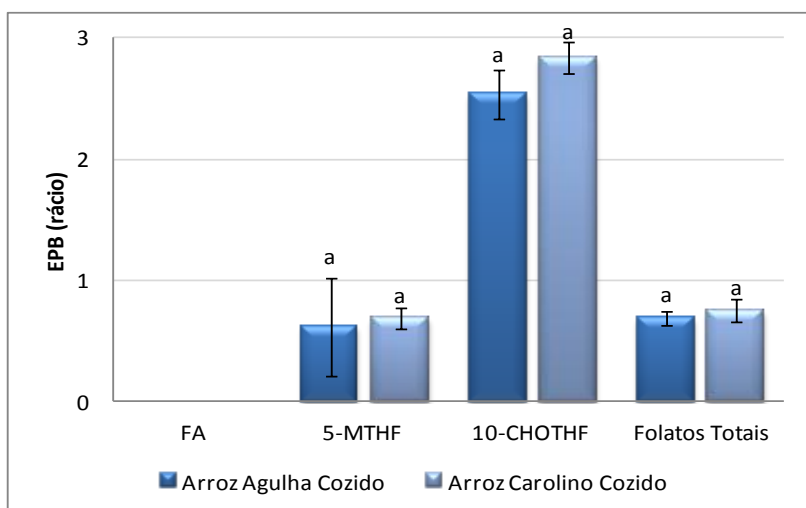


Gráfico 4.55 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos folatos no arroz.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

A Tabela 4.60 apresenta os resultados da bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos do arroz. No arroz cru, a bioacessibilidade varia entre 45% para o manganês e 106% para o potássio. A bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos aumenta significativamente após processamento culinário para a maioria dos minerais e oligoelementos com exceção do fósforo e potássio, que diminui significativamente.

Tabela 4.60 - Bioacessibilidade (%) dos minerais e oligoelementos no arroz¹

	Arroz Agulha		Arroz Carolino	
	Cru	Cozido	Cru	Cozido
Cu	75 ^a ± 2,7	99 ^b ± 8,8	75 ^a ± 5,1	103 ^b ± 6,6
Mn	45 ^a ± 6,3	47 ^a ± 1,1	61 ^a ± 7,0	72 ^b ± 3,4
Fe	65 ^a ± 10	115 ^b ± 4,3	78 ^a ± 4,9	121 ^b ± 5,4
Zn	50 ^a ± 4,0	68 ^b ± 10	70 ^a ± 13	83 ^a ± 9,5
Mg	67 ^a ± 2,6	101 ^b ± 6,8	82 ^a ± 5,8	100 ^b ± 5,1
Ca	53 ^a ± 2,8	58 ^a ± 4,2	55 ^a ± 5,5	59 ^a ± 3,0
P	94 ^a ± 9,2	26 ^b ± 2,2	71 ^a ± 5,0	14 ^b ± 1,1
K	87 ^a ± 6,4	46 ^b ± 1,5	106 ^a ± 6,5	53 ^b ± 1,4

¹Em cada linha, valores com diferentes letras são estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

Não se observaram diferenças assinaláveis nos efeitos das cozeduras do arroz carolino e do arroz agulha na biodisponibilidade dos minerais e oligoelementos.

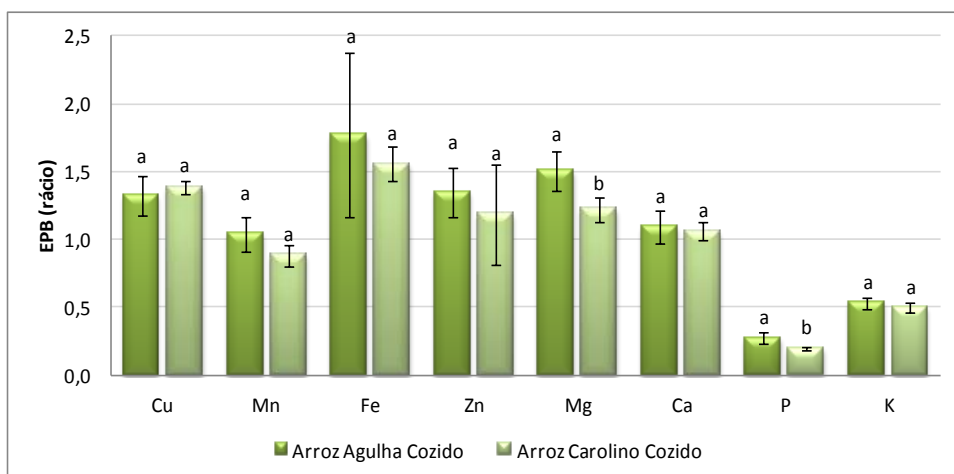


Gráfico 4.56 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos no arroz.

Por elemento barras com letras diferentes apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$).

5. Discussão e Conclusões

Os resultados para a garantia de qualidade analítica, da composição nutricional, apresentados ao longo desta tese, encontram-se descritos em dois artigos publicados por Nascimento et al. (2014) e Mota et al., (2016). Neles encontram-se inscritos dados sobre as *performances* dos métodos, linearidade, limite de quantificação (LOQ) limite de detecção (LOD), exatidão e seletividade, incluindo dados sobre o uso de materiais de referência certificados (CRM). Também podemos verificar que a competência do laboratório é demonstrada através da participação satisfatória em programas de avaliação externa da qualidade (FAPAS).

Os critérios do EuroFIR sobre os dados analíticos dos alimentos para compilação e publicação nas bases de dados de composição de alimentos, foi recentemente publicado. A presente tese foi desenvolvida em conformidade com o Sistema *EuroFIR Data Quality Evaluation* (DQES) (Oseredczuk, Salvini, Roe, & Møller, 2009; Oseredczuk & Westenbrink, 2013), abrangendo os requisitos de outros sistemas, como o DQES USDA (Bhagwat, Patterson, & Holden, 2009) e da FAO (Charrondiere, Burlingame, Berman, & Elmadfa, 2011). Esta tese preenche a maioria dos critérios, no entanto, o plano de amostragem pode não ser suficientemente robusto, devido a restrições económicas, assim como, devido à duração da investigação. Estas dificuldades podem ser superadas porque os valores analíticos podem ser agregados se cada um dos dados em bruto estiver em conformidade com os critérios de qualidade para a descrição de alimentos, identificação de componentes, manipulação da amostra, metodologia analítica e controle de qualidade analítica (Castanheira et al., 2011).

A metodologia para caracterizar os diferentes nutrientes nos pseudocereais e no arroz foi desenvolvida em conformidade com sistemas de avaliação de qualidade de dados. Através da utilização destes sistemas, os resultados ficam uniformizados podendo assim ficar disponíveis para utilizadores e compiladores de dados analíticos, que desta forma permitem comparar e avaliar os dados provenientes de diversas fontes. Por esse facto, os dados publicados no primeiro artigo (Nascimento et al., 2014) encontram-se como uma das referências em (Nowak, Du, & Ruth Charrondière, 2015), como tendo sido incluído no BioFoodComp2.1 na FAO/INFOODS (2013).

Nas bases de dados, assim como na literatura, não se encontram disponíveis muitos dados sobre a composição destes alimentos processados. Estes quando existem, têm pouca informação acerca dos processos, como por exemplo, o da cozedura. A tabela de composição da USDA (2011a), é a única que reúne dados para o arroz, amaranto e quinoa, crus e cozidos, no entanto para o trigo-sarraceno só tem dados para o cru e no amaranto nem todos os nutrientes estão determinados no cozido. Na tabela da composição de alimentos portuguesa, apenas existem dados sobre o arroz, cru e cozinhado simples, mas sem distinção de variedades. Um artigo recente, que reúne uma visão geral dos artigos a partir de uma busca na literatura, concluiu que são poucos os artigos que compilam o perfil nutricional completo de quinoa, sendo que a maioria dos dados encontram-se em cru, só um apresentando valores para cozido (Nowak et al., 2015). Por este, e por motivos relacionados com diferenças inerentes às variações entre espécies e climas de cultivo, torna-se bastante difícil a comparação de resultados brutos. Quanto aos resultados correspondentes à bioacessibilidade dos

pseudocereais e do arroz, não existem publicados quaisquer estudos em que o método harmonizado de digestão *in vitro* tenha sido utilizado.

– Composição nutricional

No que diz respeito à composição em macronutrientes, e tendo em conta as amostras cruas, que serviram como matéria-prima, podemos verificar que, de entre os pseudocereais, são o amaranto e a quinoa os que apresentam valores de proteína mais elevados (15,6 e 11,9 mg/ 100g) e de gordura, cerca de 6,4 g/100 g. Estes valores quando comparados com qualquer das variedades de arroz apresentam em média concentrações dez vezes superiores em gordura e superiores ao dobro na proteína. No entanto, os resultados obtidos, sobretudo para a quinoa, revelam diferenças significativas entre os valores determinados de proteína entre as diferentes amostras ao longo dos anos. Esse facto foi também já identificado e explicado por outros autores para a proteína total e consequentemente para os aminoácidos (Gonzalez et al., 2012; Miranda et al., 2012; Nowak et al., 2015).

No que diz respeito à fibra, todos os pseudocereais apresentam valores similares, entre 11,3 e 10,3 g/100g. Aceita-se geralmente que o consumo de alimentos naturalmente ricos em fibra dietética é benéfica para a manutenção da saúde (Champ, Langkilde, Brouns, Kettlitz, & Collet, 2003). No entanto, a ingestão de fibras na dieta livre de glúten é considerada inadequada (Thompson, Dennis, Higgins, Lee, & Sharrett, 2005; Thompson, 2000). A maior incorporação dos pseudocereais nas dietas dos pacientes com doença celíaca prevenirá, pelo menos em parte, os riscos associados a uma ingestão insuficiente de fibras que ocorre normalmente nestes doentes.

O aumento significativo no conteúdo em humidade verificado durante a confeção dos grãos (cozedura e cozedura a vapor) deve-se sobretudo ao tratamento térmico que vai promover a capacidade de absorção de água pelo amido (Lu & Baik, 2015). Por outro lado e por via da diluição com a água utilizada na cozedura a proteína total vê a sua concentração diminuir, sendo que no geral, foi a preparação a vapor a que manteve as concentrações mais elevadas. Na maltagem não ocorreram variações significativas nos teores de proteína total.

No que diz respeito à proteína, uma comparação entre a soma dos aminoácidos, com os teores de proteína total das amostras, determinado através do método de Kjeldahl, mostrou que os fatores de conversão de *Jones* tradicionalmente utilizados sobestimaram o teor de proteína das amostras. Para além disso, na soma dos aminoácidos não está refletida a concentração do triptofano. Este não foi determinado nas amostras cruas e processadas, pois para a sua análise seria necessário efetuar uma hidrólise alcalina em meio anaeróbico, que exige recursos materiais indisponíveis à data das análises. Apesar disso, embora algumas amostras, como o amaranto apresentem variações maiores, os resultados dos aminoácidos estão de acordo com o teor de proteína determinado.

Observando o restante perfil em aminoácidos podemos constatar que, em especial na quinoa, ocorreram variações significativas entre a maioria dos aminoácidos presentes nas amostras cruas. As variações nas concentrações dos diferentes aminoácidos podem ser explicadas pelas condições de crescimento, pela genética ou por fatores ambientais (Gonzalez et al., 2012; Miranda et al., 2012). O teor de nutrientes dos alimentos pode muitas vezes ser afetado pelo tipo de cultivar, apesar das diferenças específicas entre cultivares terem recebido pouca atenção até o momento, no que diz respeito à compilação de dados de

composição de alimentos. Em relação ao amaranto, trigo-sarraceno e arroz, não foram identificadas grandes diferenças entre as diferentes origens e anos de cultivo.

Analisando o perfil dos aminoácidos apresentado anteriormente, a quinoa, amaranto e o trigo-sarraceno (quer crus, quer após processamento) revelaram teores significativamente mais elevados ($p < 0,05$) em quase todos os aminoácidos quando comparados com o arroz branco. Nos pseudocereais, os aminoácidos essenciais que apresentaram os valores mais elevados são a leucina e a fenilalanina. Os valores encontram-se de acordo com a tabela de composição da USDA (2011), no entanto nos teores de serina e de amaranto, a diferença chega aos 34% na concentração em cru. Em sentido inverso, o arroz foi o grão que apresentou valores mais baixos de lisina, tal como reportado anteriormente por Schaeffer and Sharpe (1997). Nos pseudocereais foi a metionina que apresentou a menor concentração. Quanto aos aminoácidos não essenciais e condicionalmente essenciais, tanto nos pseudocereais como no arroz, o ácido glutâmico foi o aminoácido mais predominante, enquanto a cisteína foi a que apresentou teores mais baixos. Observando os valores reportados na tabela de composição da USDA (2011), podemos concluir que estão de acordo com os determinados neste trabalho.

Para todas as amostras analisadas a forma de folato mais predominante foi o 5-MTHF. O ácido fólico foi a forma de folato quantificável em menor quantidade, no entanto, no amaranto maltado, na quinoa crua e no trigo-sarraceno cozinhado não foi possível a sua quantificação. O 5-CHOTHF e o THF não foram quantificados em nenhuma das amostras analisadas. Perfil idêntico, em percentagem das diferentes formas de folato, foi descrito por De Brouwer et al. (2010) para o arroz.

A quinoa foi o pseudocereal que apresentou os valores mais elevados da soma das diferentes formas de folatos, seguida pelo amaranto e trigo-sarraceno. Os resultados encontrados, embora proporcionalmente em concordância com os existentes na tabela de composição da USDA (2011), são substancialmente mais elevados. Este facto deve-se essencialmente a diferenças na metodologia para a determinação de folatos totais e de apresentação de resultados. Outro estudo, que utiliza igualmente um método de determinação de folatos totais por método microbiológico, o qual produz uma grande incerteza no resultado (Gregory et al., 2005), obtém resultados em concordância com a USDA (2011), ou seja mais baixos que os obtidos neste estudo.

No que diz respeito ao teor mineral, e tal como acontece para os aminoácidos, o conteúdo em minerais no arroz é significativamente mais baixo, quando comparado com todos os pseudocereais. Destes, foi o amaranto o que apresentou concentrações mais elevadas de todos os minerais e oligoelementos, seguido pela quinoa e por último, pelo trigo-sarraceno. Analisando os valores recolhidos da tabela de composição da USDA (2011) observa-se a mesma tendência. O amaranto apresentou valores especialmente elevados para o ferro e para o cálcio, quando comparado com a quinoa e o trigo-sarraceno. Para o ferro e cálcio os valores detetados encontram-se de acordo com os publicados na tabela de composição da USDA (2011), no entanto, os resultados publicados por Alvarez-Jubete et al. (2009) para o ferro, são substancialmente mais elevados no amaranto. Como anteriormente foi referido, o processo de cozedura reduziu as concentrações pelo efeito de diluição provocado pela hidratação dos grãos, tendo esse efeito sido mais visível na amostra cozida, do que na cozida a vapor. Os teores de ferro publicados por Gamel and Linssen (2006) são mais elevados para

o amaranto cozido, que os determinados neste trabalho, enquanto os resultados publicados por Repo-Carrasco-Valencia et al (2010) são mais baixos para quinoa crua e cozida. No arroz carolino cozido, o teor de ferro aumentou significativamente quando comparado com o cru. Para eliminar a hipótese de uma possível contaminação proveniente do recipiente de cozedura, a água utilizada no processo de cozimento (água ultrapura) foi analisada após ter sido submetida ao mesmo procedimento de cozedura. Foram obtidos resultados abaixo do LoQ do método para o ferro ($<0,005$ mg/100 g), demonstrando a ausência de contaminação. No que diz respeito ao cálcio, o amaranto e a quinoa crus, apresentaram valores mais elevados do que os reportados na tabela de composição da USDA (2011). O mesmo se verifica se compararmos os valores obtidos com os resultados publicados por Alvarez-Jubete et al. (2009).

Quanto aos teores de elementos traço no amaranto, encontram-se na sua maioria abaixo do LoQ do método. No entanto, o amaranto apresentou o teor mais elevado de crómio. Por seu turno, a quinoa apresentou a concentração mais elevada de estrôncio. Os teores de vanádio e de níquel quando comparados entre os diferentes pseudocereais não apresentam grandes variações. No que diz respeito ao selénio, apenas o trigo-sarraceno apresenta este elemento na sua composição.

– Contaminantes

Na amostra de amaranto nenhum dos contaminantes pesquisado foi detetado. No trigo-sarraceno, quantificou-se um teor de cádmio de $40,4$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ($0,04$ mg/kg), o valor encontra-se abaixo dos $0,2$ mg/kg legislados para cereais. Considerando o teor de cádmio no trigo-sarraceno, e de acordo com o parecer do painel Científico dos Contaminantes da Cadeia Alimentar da Autoridade Europeia para a

Segurança dos Alimentos, que estabeleceu uma dose semanal admissível de 2,5 µg/kg de peso corporal, uma ingestão superior a 1300 g de trigo-sarraceno cozido por semana pode, por si só, induzir uma exposição acima do limiar de segurança estabelecido, para um indivíduo de 70 kg de peso.

Na quinoa, para além dos contaminantes químicos de origem ambiental estudados nos restantes pseudocereais, foi também quantificada a acrilamida, um contaminante formado durante o processamento culinário potencialmente cancerígeno (IARC, 1994). Esta análise foi realizada por ter sido experimentado um processamento térmico adicional – a torragem – que em amostras ricas em proteínas e hidratos de carbono, precursores da acrilamida, induz potencialmente o aparecimento deste contaminante. Assim, em todas as quinoas sujeitas a processamento térmico, a acrilamida foi quantificada. Na quinoa cozida e cozida a vapor apresentado valores muito abaixo dos valores monitorizados pela EFSA para cereais. No entanto, a quinoa torrada apresentou valores acima de 900 µg/kg, muito além dos 200 µg/kg indicados pela EFSA (European Food Safety Authority, 2012). Por este motivo podemos concluir que será necessário perceber que parâmetros do processo de torra podem ser controlados no sentido de diminuir a produção de acrilamida. Tal como para os restantes pseudocereais não foram detetados na quinoa nenhum dos restantes contaminantes estudados.

No que diz respeito ao arroz nas suas duas variedades, na análise inicial por ICP-MS foram detetados diferentes concentrações de arsénio total. Outros estudos que analisaram arroz produzido em áreas onde existe contaminação das águas de rega com arsénio, incluindo a Espanha, revelaram a existência de níveis elevados de arsénio inorgânico (Rahman & Hasegawa, 2011). Como a toxicidade do arsénio depende da sua forma química foi necessário efetuar a especificação

das formas orgânicas e inorgânicas. Dessa análise verificou-se que a maioria do arsénio era orgânica, sendo que, a fração inorgânica encontrava-se abaixo (em média 0,1 mg de As inorgânico por kg de arroz) do limite máximo admitido legislado (0,2 mg/kg). Por essa razão, e apesar do arroz analisado ser produzido em Portugal e constituir uma fonte de ingestão de arsénio, o seu consumo pode ser considerado seguro.

– Efeitos do processamento

Durante o processamento, ocorrem inevitavelmente perdas de nutrientes termolábeis e de nutrientes hidrossolúveis por lixiviação quando o meio de confeção é desperdiçado. Realça-se que, no processo de cozedura efetuado, não ocorreram perdas por lixiviação pois a água de confeção foi incorporada no produto confeccionado. Já durante a cozedura a vapor, as perdas por lixiviação não podem ser excluídas pois os nutrientes hidrossolúveis podem ser arrastados pelo vapor para o reservatório da água de vaporização. Durante a maltagem, especialmente, durante a demolha, processos de lixiviação e consequentes perdas de nutrientes hidrossolúveis não podem igualmente ser excluídos.

Não é plausível que durante os processos de cozedura e cozedura a vapor ocorram ganhos nutricionais. Já durante a maltagem, dada a intensa atividade metabólica da semente, principalmente durante a germinação, não se exclui a ocorrência de conversões de precursores em compostos nutrientes, nomeadamente, a síntese ou interconversão de folatos, ou a síntese de aminoácidos.

No que diz respeito aos efeitos de processamento no teor de proteína total, verificou-se que a maltagem não alterou significativamente os teores de proteína em nenhum dos pseudocereais, no entanto, o processo de cozedura tradicional

aparentemente aumentou o teor de proteína do amaranto e em ambas as variedades de arroz. Já na quinoa e no trigo-sarraceno foi a cozedura a vapor que aparentemente induziu aumento no teor proteico. No caso da cozedura a vapor os aumentos aparentes resultam provavelmente da perda de constituintes hidrossolúveis durante a confeção por lixiviação, tais como hidratos de carbono, que tornam o conteúdo em proteína, quando expresso em mg/100 g de peso seco, aparentemente superior, mas que não reflete um aumento real do conteúdo proteico.

Analisando a evolução da composição em aminoácidos durante os processamentos, a maltagem parece diminuir significativamente o teor de lisina em todos os pseudocereais. Já os processos de cozedura parecem afetar mais a retenção dos aminoácidos sulfurados provocando na quinoa e no trigo-sarraceno um impacto significativamente mais acentuado.

Quanto aos efeitos do processamento no teor de folatos, a maltagem é o processo que no amaranto e no trigo-sarraceno aparentemente preserva na íntegra esta vitamina. Para a quinoa, os processos de cozedura permitiram obtenções de fatores de retenção superiores a 1 para folatos totais, no entanto, foi a maltagem o único processo que aparentemente preservou o ácido fólico e o 10-CHOTHF. A cozedura do arroz, especialmente, do arroz agulha, provocou uma ligeira diminuição no valor de folatos totais. Apesar dos folatos serem uma vitamina termolábil, verificou-se que apenas a cozedura tradicional do amaranto induz a diminuição relevante do teor desta vitamina. O mesmo fenómeno já foi reportado em diferentes estudos para os vegetais, que referem ser a cozedura em água o processo que provoca as maiores perdas nesta vitamina (Bureau et al.,

2015; Maharaj, Prasad, Devi, & Gopalan, 2015; Stea, Johansson, Jägerstad, & Frølich, 2007).

Analisando os impactos do processamento nos minerais e oligoelementos as maiores perdas ocorreram para o zinco e potássio no amaranto e trigo-sarraceno maltados, e para o cobre, ferro e magnésio na quinoa também maltada. Em todos os pseudocereais cozidos tradicionalmente ocorreram ligeiras perdas, mas não tão significativas como as verificadas nos maltes. Resultados idênticos foram reportados para o amaranto cozido por Gamel and Linssen (2006). No entanto Repo-Carrasco-Valencia et al. (2010) refere perdas de ferro na quinoa cozida em água. Apesar disso, podemos concluir que para a preservação da maioria dos minerais e oligoelementos nos pseudocereais a cozedura, com aproveitamento do meio de confeção, parece ser a melhor opção. Os valores dos fatores de retenção obtidos neste estudo são concordantes com os dados reportados na tabela de composição da USDA (2011) para o amaranto cozido. Já para a quinoa, observam-se diferenças superiores a 10% para o manganês e cálcio. A variedade de arroz carolino é a que apresenta fatores de retenção mais elevados para a maioria dos minerais e oligoelementos. Verifica-se que quando estes resultados são comparados com os existentes na tabela de composição da USDA (2011) para grão de arroz longo e curto, que as retenções para o magnésio e zinco são similares, no entanto para o ferro obteve-se diferenças na taxa de retenção acima dos 30% para o arroz carolino e agulha e perto dos 30% para o manganês no arroz agulha.

– Satisfação das Necessidades Nutricionais

Observou-se que a lisina é, genericamente, o aminoácido limitante dos pseudocereais e do arroz, embora a isoleucina, a leucina e a valina também limitem a qualidade proteica principalmente no caso o amaranto cru e confeccionado. A leucina foi identificada por Wei et al. (2003) como o aminoácido limitante da proteína do trigo sarraceno. Já a lisina, para além do arroz, é comumente considerada o aminoácido limitante de todos os cereais convencionais (Dini, Tenore, & Dini, 2005; K. H. Wright, Pike, Fairbanks, & Huber, 2002; Young & Pellett, 1994). Usando os valores recolhidos da tabela de composição da USDA (2011) e calculando o *score* como descrito anteriormente foi identificado um *score* superior a 1 todos os pseudocereais o que indica que o triptofano não é limitante nestes alimentos. Comparando a qualidade proteica, de acordo com o PDCAAS calculado, podemos ordenar de forma decrescente a qualidade proteica dos grãos estudados da seguinte forma: quinoa > trigo sarraceno > amaranto > arroz. Observou-se contudo um decréscimo da qualidade proteica durante a confeção relativamente ao alimento cru entre 37% (quinoa crua vs quinoa cozida a vapor) e 8% (amaranto cru vs amaranto cozido a vapor).

O consumo de uma dose equivalente a 35 g de pseudocereais crus satisfaz as necessidades de um adulto de 70 kg em aminoácidos aromáticos, histidina e aminoácidos sulfurados entre 30 e 15%, respetivamente. Já o consumo de dose semelhante de arroz supre entre 19 e 9% das necessidades dos mesmos aminoácidos. Para a lisina o consumo de 35 g de pseudocereais supre cerca de 10% das necessidades, sendo que no arroz esta percentagem apenas chega aos 2%.

Relativamente ao valor nutricional destes alimentos em folatos, verificou-se que o consumo de uma dose equivalente a 35 g de pseudocereais crus cobre entre 31 e 33% das recomendações de folatos para um adulto. O consumo da mesma dose de amaranto maltado supre 30% das recomendações e o consumo de trigo-sarraceno supre entre 19 a 27% das recomendações em folatos. Estes pseudocereais são portanto fontes nutricionais de folatos, ao contrário do arroz polido que supre apenas 12% das recomendações após consumo uma dose equivalente a 35 g de grão cru.

O amaranto é o pseudocereal mais concentrado em minerais e oligoelementos. O amaranto é rico em manganês, suprimindo 40% das recomendações para um adulto, e rico em magnésio, suprimindo entre 41 a 34% das recomendações de magnésio para as mulheres e para os homens, respetivamente. Segue-se a quinoa com quantidades idênticas ao amaranto para o zinco, e por fim o trigo-sarraceno que apresenta menores teores em minerais, contudo, supre quantidades de cobre idênticas aos restantes. Já o arroz polido é pobre em minerais e oligoelementos, sendo particularmente pobre em potássio, ferro e cálcio fornecendo para estes elementos menos que 1% da recomendação/dose.

Concluindo, apresentamos a síntese referente aos efeitos do processamento na satisfação das recomendações nutricionais (Tabela 5.1). Os intervalos foram calculados, com base no valor médio por dose equivalente das percentagens das recomendações, para todos os minerais, aminoácidos essenciais e folatos.

Tabela 5.1 - Efeito do processamento por dose equivalente de pseudocereais e arroz processados na satisfação das recomendações nutricionais.

Satisfação das Recomendações Nutricionais				
		AA Essenciais	Folatos	Minerais
Amaranto	Cozido	++	++	-
	Vapor	++	++	-
	Malte	+++	+++	-
Quinoa	Cozida	--	+	--
	Vapor	--	+	--
	Malte	+++	+	++
Trigo-Sarraceno	Cozido	-	-	-
	Vapor	--	+	--
	Malte	+++	+++	+
Arroz Agulha	Cozido	-	-	-
Arroz Carolino	Cozido	-	+	+

-- Perdas > 10%; - Perdas < 10%; + Ganhos < 5%; ++ Ganhos > 5% e ≤ 10%; +++ Ganhos > 10%

– Bioacessibilidade

Foi avaliado o efeito da granulometria na bioacessibilidade dos nutrientes da quinoa. Verificou-se que uma moagem mais fina, ou uma menor granulometria, se traduz num aumento significativo na bioacessibilidade para todos os nutrientes analisados.

Analisando o efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos podemos concluir que os processos de cozedura e de maltagem aumentam significativamente a bioacessibilidade, sendo que, no amaranto é a cozedura tradicional e a maltagem que produzem efeitos mais notórios. Na quinoa, o aumento da bioacessibilidade notou-se nas amostras maltadas. No trigo-sarraceno, tal como no amaranto, é o processo de cozedura que induz maior aumento da bioacessibilidade, no entanto, a maltagem, apesar de induzir o aumento da bioacessibilidade, não o faz de forma tão significativa. Um estudo refere idênticos efeitos na digestibilidade das proteínas da quinoa quando submetidas a maltagem, apesar do efeito ter sido menor que o induzido pela

cozedura da quinoa (Amistá & Tavano, 2013). No arroz, o processo de cozedura aumenta a bioacessibilidade para todos os aminoácidos quer na variedade carolino, quer agulha.

O processo de cozedura também aumenta a bioacessibilidade dos folatos no amaranto e no trigo-sarraceno, no entanto, na quinoa verifica-se uma exceção na bioacessibilidade do 10-CHOTHF. Durante a maltagem a bioacessibilidade dos folatos também aumenta, não atingindo contudo os níveis da cozedura nos três pseudocereais. Para o arroz, quer carolino quer agulha, o processo de cozedura aumenta a bioacessibilidade do 10-CHOTHF, no entanto, diminui a do 5-MTHF. Estudos acerca da bioacessibilidade e sobretudo sobre biodisponibilidade de folatos naturais em alimentos encontram-se entre os temas em que o conhecimento científico ainda não encontrou grandes respostas pois a instabilidade reportada dos folatos naturais nos alimentos, dificultam as conclusões (McNulty & Pentieva, 2007; Molloy, 2013; Ohrvik & Witthoft, 2011). O facto de com este método de determinação dos folatos e com a utilização do método harmonizado de digestão se ter conseguido observar a preservação da quase totalidade das diferentes frações de folatos, constitui uma possibilidade promissora na continuidade futura de estudos de bioacessibilidade e de biodisponibilidade. Estudos em folatos naturais e aditivados, como os realizados por Chandra-Hioe et al. (2013), com recurso a digestão *in vitro*, seguidos por transporte em células Caco-2, são exemplo de estudos futuros a realizar nesta área.

Para os minerais, é também o processo de cozedura o que produz maiores aumentos na bioacessibilidade no amaranto e no trigo-sarraceno. A maltagem do amaranto não produz quaisquer efeitos na bioacessibilidade do ferro, diminuindo,

inclusivamente, a do zinco e do cálcio. Este resultado pode estar associado a uma baixa capacidade germinativa observada durante a maltagem do amaranto, o que indica uma menor alteração da matriz da semente. Na quinoa, é a maltagem que produz o maior impacto na bioacessibilidade dos minerais e oligoelementos, com exceção para o cálcio, que vê a sua bioacessibilidade aumentada em cinco vezes com a cozedura. Esse facto pode ser devido à composição em fibra da quinoa que após maltagem, ao contrário da cozedura, pode não libertar tão facilmente o cálcio durante a digestão (Amalraj & Pius, 2015). No arroz, verifica-se com a cozedura um decréscimo significativo da biodisponibilidade do fósforo e do potássio. Numa dissertação de mestrado, Tognon (2012) obtém resultados semelhantes para os minerais no que diz respeito ao aumento considerável da bioacessibilidade após a cozedura da quinoa, amaranto e arroz, para a maioria dos minerais estudados.

Em suma, e tendo por base o valor médio dos *scores* da bioacessibilidade obtidos para todos os minerais, aminoácidos e folatos determinados apresenta-se a seguinte tabela.

Tabela 5.2 - Efeito do processamento na bioacessibilidade dos aminoácidos, folatos, minerais e oligoelementos dos pseudocereais e arroz.

		Bioacessibilidade			
		AA Essenciais	AA Não Essenciais	Folatos	Minerais
Amaranto	Cozido	++++	++++	+++	++++
	Vapor	++	++	+++	+++
	Malte	+++	++	+	+
Quinoa	Cozida	++++	++++	++	+
	Vapor	+++	+++	++	+
	Malte	++++	++++	++	++
Trigo-Sarraceno	Cozido	++++	++++	+++	++
	Vapor	++++	++++	+++	+++
	Malte	+++	++	+	+
Arroz Agulha	Cozido	++++	++++	+	+
Arroz Carolino	Cozido	++++	++++	+	+

+ Ganhos < 50%; ++ Ganhos > 50% e ≤ 100%; +++ Ganhos > 100% e ≤ 150%; ++++ Ganhos > 150%

– Considerações Finais

De acordo com os resultados obtidos, os pseudocereais constituem uma importante reserva de aminoácidos, com PDCAAS significativamente mais elevados que o arroz polido. Verificou-se que a maltagem preserva a qualidade proteica dos pseudocereais. Os pseudocereais, com destaque para a quinoa, constituem uma fonte importante de folatos altamente bioacessíveis. Nas sementes de amaranto, os valores de ferro, cálcio, potássio e magnésio são geralmente mais elevados do que os encontrados noutros grãos sendo que o seu uso como ingrediente na elaboração de formulações pode ajudar a melhorar o perfil mineral destes produtos. A fibra dietética é outra componente de relevância fisiológica encontrada em quantidades abundantes nas sementes dos pseudocereais.

No que diz respeito à bioacessibilidade, no amaranto, foi a cozedura tradicional que produziu o maior aumento da bioacessibilidade de todos os nutrientes. Na quinoa foi a maltagem que produziu maior efeito na bioacessibilidade dos

nutrientes. No trigo-sarraceno, a cozedura, quer tradicional quer a vapor são as formas de processamento mais eficazes no aumento da bioacessibilidade das proteínas, folatos e minerais.

O elevado valor e bioacessibilidade dos nutrientes dos pseudocereais, em especial após os processamentos, fazem com que estes produtos representem uma importante opção como ingredientes integrados em produtos dietéticos destinados a fins medicinais específicos, incluindo as fórmulas entéricas ricas em fibra e produtos isentos de glúten.

No sentido de obtenção de ingredientes com características organolépticas particulares e potencialmente mais apreciadas, verificou-se que durante a torragem ocorre a síntese de acrilamida atingindo teores acima dos indicados pelas autoridades competentes. Esta observação obriga a um maior conhecimento do efeito dos parâmetros do processo de torragem na síntese deste composto com interesse toxicológico.

Verificou-se ainda que a granulometria das farinhas de quinoa afeta significativamente a bioacessibilidade dos seus nutrientes. Num contexto de alimentação especial, onde a bioacessibilidade deverá ser maximizada, farinhas de pseudocereais de granulometria mais fina serão ingredientes preferenciais.

– Trabalho Futuro

Na presente tese, as avaliações nutricionais e da bioacessibilidade dos pseudocereais e do arroz foram desenvolvidas com sucesso. É meu desejo que no futuro possa ter a oportunidade de, partindo deste ponto, estender a investigação à avaliação do transporte celular destes nutrientes, no sentido de aprofundar melhor qual a porção bioacessível que é realmente absorvida.

O desenvolvimento de novos métodos analíticos, nomeadamente, para quantificação de outras vitaminas hidrossolúveis e compostos bioativos utilizando espectrometria de massa poderão ser de grande utilidade na adequação nutricional de formulações alimentares destinadas a fins medicinais específicos produzidas com farinhas de pseudocereais ou de outras fontes.

No seguimento do trabalho que conduziu a esta tese está a ser estudado o comportamento das farinhas de pseudocereais (crus, cozidos e maltados) em soluções aquosas, nomeadamente, a sua solubilidade o efeito da concentração de farinhas na viscosidade e na osmolalidade da solução. Este estudo trará elementos importantes para o desenho de formulações entéricas para administração oral ou por sonda.

Será ainda igualmente importante a análise sensorial das formulações a desenvolver, nomeadamente, recorrendo a testes de aceitação junto de consumidores alvo.

6. Referências Bibliográficas

- Abugoch James, L. E. (2009). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Composition, chemistry, nutritional, and functional properties. *Advances in Food and Nutrition Research*, 58, 1–31.
- Álvarez-Hernández, J., Planas Vila, M., León-Sanz, M., & Sarto Guerri, B. (2012). Prevalence and costs of malnutrition in hospitalized patients; the PREDyCES Study. *Nutrición Hospitalaria*, 27(4), 1049–59.
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2009). Nutritive value and chemical composition of pseudocereals as gluten-free ingredients. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60 Suppl 4, 240–57.
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 21(2), 106–113.
- Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*, 119(2), 770–778.
- Alvarez-Jubete L; Wijngaard H; Arendt, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*, volume 119(2), 770–778.
- Amalraj, A., & Pius, A. (2015). Bioavailability of calcium and its absorption inhibitors in raw and cooked green leafy vegetables commonly consumed in India - an in vitro study. *Food Chemistry*, 170, 430–6.
- Amistá, M. J. de M., & Tavano, O. L. (2013). Influência da germinação e do processamento térmico na digestibilidade proteica e atividade de inibição de tripsina de grãos de quinoa. *Brazilian Journal of Food Technology*, 16(1), 52–58.
- Ammerman, C. B., Baker, D. H., & Lewis, A. (1995). Bioavailability of Nutrients for Animals: Amino Acids, Minerals, and Vitamins. In Academic Press (Ed.), . San Diego, CA.
- Antunes, H., Abreu, I., Nogueira, A., & Sá, C. (2006). Primeira determinação de prevalência de doença celíaca numa população portuguesa. *Acta Med Port*, 19, 115–120.
- AOAC. (1990). *Association of Official Analytical Chemists. In Official methods of analysis chemists* (15th ed.). Washington, DC.
- AOAC. (2000). *Association of Official Analytical Chemists. In Official methods of analysis chemists* (17th ed.). Washington, DC.
- APC. (2014). Associação Portuguesa de Celíacos. Retrieved from <http://www.celiacos.org.pt/>
- Araújo, H., & Araújo, W. (2010). Doença celíaca, hábitos e práticas alimentares e qualidade de vida. *Revista de Nutrição*, 23(3), 467–474.

- Arendt, E. K., & Bello, F. D. (2008). *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*. Academic Press.
- Arendt, E. K., & Zannini, E. (2013). *Cereal Grains for the Food and Beverage Industries*. Philadelphia: Woodhead Publishing Limited.
- Barampama, Z., & Simard, R. E. (1995). Effects of soaking, cooking and fermentation on composition, in-vitro starch digestibility and nutritive value of common beans. *Plant Foods for Human Nutrition*, 48(December), 349–365.
- Belitz, H.-D., & Grosch, W. (1999). *Food Chemistry* (2nd ed.). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Bergamo, P., Maurano, F., Mazzarella, G., Gianfrani, C., & Rossi, M. (2011). Immunological evaluation of the alcohol-soluble protein fraction from gluten-free grains in relation to celiac disease. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(8), 1266–1270.
- Berghofer, E., & Schoenlechner, R. (2007). Pseudocereals - An Overview. In *International Foundation for Science, Traditional grains for low environmental impact and good health, University of Pretoria, IFS Workshop: Traditional grains for low environmental impact and good health*. Pretoria.
- Berthold, H. K., Reeds, P. J., & Klein, P. D. (1995). Isotopic evidence for the differential regulation of arginine and proline synthesis in man. *Metabolism*, 44(4), 466–473.
- Berti, C., Riso, P., Monti, L. D., & Porrini, M. (2004). In vitro starch digestibility and in vivo glucose response of gluten-free foods and their gluten counterparts. *European Journal of Nutrition*, 43(4).
- Bhagwat, S. A., Patterson, K. Y., & Holden, J. M. (2009). Validation study of the USDA's Data Quality Evaluation System. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(5), 366–372.
- Bhargava, A., Shukla, S., & Ohri, D. (2007). Genetic variability and interrelationship among various morphological and quality traits in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Field Crops Research*, 101(1), 104–116.
- Biesiekierski, J. R., & Iven, J. (2015). Non-coeliac gluten sensitivity: piecing the puzzle together. *United European Gastroenterology Journal*, 3(2), 160–165.
- Binder, H. J. (2012). Harrison's, Principals of Internal Medicine. In M. G. Hill (Ed.), *Disorders of Absorption* (18^a ed.).
- Black, M. (1998). Zinc deficiency and child development. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68, 464–469.
- Bossert, J., & Wahl, R. (2000). Amaranth – A new allergen in bakeries. *Allergologie*, 23(9), 448–454.
- Boulton, C., & Quain, D. (2006). *Brewing Yeast and Fermentation*. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd.
- Brady, Kevin, et al. (2007). Effects of processing on the nutraceutical profile of

- quinoa. *Food Chemistry*, 100(3), 1209–1216.
- Brown, B., Roehl, K., & Betz, M. (2014). Enteral Nutrition Formula Selection: Current Evidence and Implications for Practice. *Nutrition in Clinical Practice*, 30(1), 72–85.
- Brunton, J. A., Bertolo, R. F. P., Pencharz, P. B., Ball, R. O., Physiol, A. J., & Metab, E. (2008). Proline ameliorates arginine deficiency during enteral but not parenteral feeding in neonatal piglets. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 277, 223–231.
- Bureau, S., Mouhoubi, S., Touloumet, L., Garcia, C., Moreau, F., Bédouet, V., & Renard, C. M. G. C. (2015). Are folates, carotenoids and vitamin C affected by cooking? Four domestic procedures are compared on a large diversity of frozen vegetables. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 735–741.
- Can, N. O., & Arli, G. (2014). Analysis of Acrylamide in Traditional and Nontraditional Foods in Turkey Using Hplc–Dad With Spe Cleanup. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 37(6), 850–863.
- Caperuto, L., Amaya-Farfan, J., & Camargo, C. (2000). Performance of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) flour in the manufacture of gluten-free spaghetti. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 95–101.
- Capriles, V. D., Coelho, K. D., Guerra-Matias, a C., & Arêas, J. a G. (2008). Effects of processing methods on amaranth starch digestibility and predicted glycemic index. *Journal of Food Science*, 73(7), H160–4.
- Castanheira, I., Matos, A. S., Coelho, I., Gueifão, S., Roe, M., Calhau, M. A., & Finglas, P. (2011). Six Sigma scale as a quality criterion for aggregation of food property measures. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(8), 1153–1159.
- Cereda, E., Gini, A., Pedrolli, C., & Vanotti, A. (2009). Disease-specific, versus standard, nutritional support for the treatment of pressure ulcers in institutionalized older adults: A randomized controlled trial. *Journal of the American Geriatrics Society*, 57(8), 1395–1402.
- Champ, M., Langkilde, A.-M., Brouns, F., Kettlitz, B., & Collet, Y. L. B. (2003). Advances in dietary fibre characterisation. 1. Definition of dietary fibre, physiological relevance, health benefits and analytical aspects. *Nutrition Research Reviews*, 16(01), 71.
- Chandra-Hioe, M. V., Bucknall, M. P., & Arcot, J. (2011). Folate analysis in foods by UPLC-MS/MS: development and validation of a novel, high throughput quantitative assay; folate levels determined in Australian fortified breads. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401(3), 1035–42.
- Chandra-Hioe, M. V., Addepalli, R., Osborne, S. a., Slapetova, I., Whan, R., Bucknall, M. P., & Arcot, J. (2013). Transport of folic acid across Caco-2 cells is more effective than 5-methyltetrahydrofolate following the in vitro digestion of fortified bread. *Food Research International*, 53(1), 104–109.
- Charrondiere, U. R. (2014). Food Composition Study Guide - Recipe and Other Calculations. Retrieved January 15, 2015, from

<http://www.fao.org/infoods/infoods/training/apresentacoes/pt/>

- Charrondiere, U. R., Burlingame, B., Berman, S., & Elmadfa, I. (2011). *Food composition study guide* (Vol. 1). Rome.
- Chen, Y., & Peterson, S. J. (2009). Enteral Nutrition Formulas: Which Formula Is Right for Your Adult Patient? *Nutrition in Clinical Practice*, 24(3), 344–355.
- Christa, K., & Soral-Šmietana, M. (2008). Buckwheat grains and buckwheat products—nutritional and prophylactic value of their components—a review. *Czech Journal of Food Sciences*, 26(3), 153–162.
- Comissão das Comunidades Europeias. (2006). Regulamento (CE) N° 1881/2006. *Jornal Oficial Da União Europeia*, L364/5.
- Comissão das Comunidades Europeias. (2015). Regulamento (CE) N° 2015/1006. *Jornal Oficial Da União Europeia*, L 161/14.
- Comissão Europeia. (2013). Regulamento (UE) N.o 609/2013. *Jornal Oficial Da União Europeia*, L181/35.
- Comissão Europeia. (2014). Regulamento (UE) N° 488/2014. *Jornal Oficial Da União Europeia*, L138/75.
- Couëdelo, L., Amara, S., Lecomte, M., Meugnier, E., Monteil, J., Fonseca, L., ... Vaysse, C. (2015). Impact of various emulsifiers on ALA bioavailability and chylomicron synthesis through changes in gastrointestinal lipolysis. *Food & Function*, 6(5), 1726–35.
- Cunha, M. J., Ruivo, E., & Ferro, G. (2012). Avaliação do Risco de Desnutrição pelo Método de Rastreio MUST no Hospital de Santa Luzia. *Nutricias*, 12, 8–9.
- De Brouwer, V., Storozhenko, S., Stove, C. P., Van Daele, J., Van der Straeten, D., & Lambert, W. E. (2010). Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) for the sensitive determination of folates in rice. *Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 878(3-4), 509–13.
- De Brouwer, V., Storozhenko, S., Van De Steene, J. C., Wille, S. M. R., Stove, C. P., Van Der Straeten, D., & Lambert, W. E. (2008). Optimisation and validation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for folates in rice. *Journal of Chromatography. A*, 1215(1-2), 125–32.
- De Vleeschouwer, K., Van der Plancken, I., Van Loey, A., & Hendrickx, M. E. (2006). Impact of pH on the kinetics of acrylamide formation/elimination reactions in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7847–55.
- Dini, I., Tenore, G., & Dini, A. (2005). Nutritional and antinutritional composition of Kancolla seeds: an interesting and underexploited andine food plant. *Food Chemistry*, 92(1), 125–132.
- Direção Geral da Saúde. (2012). Roda dos Alimentos, Tabela de Equivalentes. Retrieved July 6, 2015, from <http://www.plataformacontraaobesidade.dgs.pt/PresentationLayer/conteudo.a>

spx?menuid=513&exmenuid=247

- DoC. (2012). Food Sources of Folate. Retrieved May 17, 2015, from <http://www.dietitians.ca/Your-Health/Nutrition-A-Z/Vitamins/Food-Sources-of-Folate.aspx>
- Eelderink, C., Noort, M. W. J., Sozer, N., Deacon, C. F., Rehfeld, J. F., Oudhuis, L., & Priebe, M. G. (2015). The structure of wheat bread influences the postprandial metabolic response in healthy men. *Food & Function*, 6(10), 3236–48.
- Eitenmiller, R., Jr, W. L., & Ye, L. (2007). *Vitamin analysis for the health and food sciences*. (Taylor & Francis Group, Ed.).
- EN 13805. (2014). *Foodstuffs. Determination of trace elements. Pressure digestion*.
- European Food Safety Authority. (2006). Tolerance Upper Intake Levels for Vitamins and Minerals. *EFSA Journal*, (February), 1–482.
- European Food Safety Authority. (2012). *Update on acrylamide levels in food from monitoring years 2007 to 2010*. *EFSA Journal* (Vol. 10).
- European Food Safety Authority. (2013). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for Manganese. *EFSA*, 11(11), 1–44.
- European Food Safety Authority. (2014a). Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population. *EFSA Journal*, 12(3), 3597.
- European Food Safety Authority. (2014b). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for folate. *EFSA Journal*, 12(11), 1–59.
- European Food Safety Authority. (2015a). Scientific Opinion on acrylamide in food. *EFSA Journal*, 13(6), 4104.
- European Food Safety Authority. (2015b). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for Phosphorus. *EFSA Journal*, 1–51.
- Fairweather-Tait, S. J. (1997). Bioavailability of selenium. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51, S20–S23.
- FAO. (1973). *Energy and protein requirements. Report of a Joint FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee. FAO Nutrition Meetings N. 52*. Rome.
- FAO. (2002). *Food energy – methods of analysis and conversion factors*. Rome, Italy.
- FAO/INFOODS. (2013). Food Composition Database for Biodiversity. Retrieved May 26, 2014, from <http://www.fao.org/infoods/infoods/tables-and-databases/faoinfoods-databases/en/>
- FAOSTAT. (2013). FAOSTAT Gateway. Retrieved May 19, 2014, from <http://faostat3.fao.org/browse/C/CC/E>
- Finglas, P., Hart, D., Wolfe, C., Wright, A. J. A., Southon, S., van den Akker, H., & de Meer, K. (2002). Validity of dual-label stable isotopic protocols and urinary excretion ratios to determine folate bioavailability from food. *Food and*

Nutrition Bulletin, 23(3 Suppl), 107–12.

- Finglas, P., Witthöft, C. M., Vahteristo, L., Wright, A. J. A., Southon, S., Mellon, F. A., & Maunder, P. (2002). Use of an oral/intravenous dual-label stable-isotope protocol to determine folic acid bioavailability from fortified cereal grain foods in women. *The Journal of Nutrition*, 132(5), 936–9.
- Fraker, P. J., & King, L. E. (2004). Reprogramming of the immune system during zinc deficiency. *Annual Review of Nutrition*, 24, 277–98.
- Friedman, M. (2003). Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4504–26.
- Fukagawa, N., Yu, Y., & Young, V. (1998). Methionine and cysteine kinetics at different intakes of methionine and cysteine in elderly men and women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, (5), 380–388.
- Gambus, H., Gambus, F., & Sabat, R. (2002). The research on quality improvement of gluten-free bread by amaranthus flour addition. *Zywnosc*, (9), 99–112.
- Gamel, T., & Linssen, J. (2006). Effect of seed treatments on the chemical composition of two amaranth species: oil, sugars, fibres, minerals and vitamins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(1).
- Ganz, T. (2007). Molecular control of iron transport. *Journal of the American Society of Nephrology*: *JASN*, 18(2), 394–400.
- Gautam, S., Platel, K., & Srinivasan, K. (2010). Influence of β -carotene-rich vegetables on the bioaccessibility of zinc and iron from food grains. *Food Chemistry*, 122(3), 668–672.
- Gibson, R. S., Perlas, L., & Hotz, C. (2006). Improving the bioavailability of nutrients in plant foods at the household level. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 65(2), 160–8.
- Gonzalez, J. A., Konishi, Y., Bruno, M., Valoy, M., & Prado, F. E. (2012). Interrelationships among seed yield, total protein and amino acid composition of ten quinoa (*Chenopodium quinoa*) cultivars from two different agroecological regions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(6), 1222–1229.
- Gorinstein, S., Pawelzik, E., Delgado-Licon, E., Haruenkit, R., Weisz, M., & Trakhtenberg, S. (2002). Characterisation of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(8), 886–891.
- Gregory, J. F., Quinlivan, E. P., & Davis, S. R. (2005). Integrating the issues of folate bioavailability, intake and metabolism in the era of fortification. *Trends in Food Science & Technology*, 16(6-7), 229–240.
- Hibi, M., Hachimura, S., Hashizume, S., Obata, T., & Kaminogawa, S. (2003). Amaranth Grain Inhibits Antigen-Specific IgE Production Through Augmentation of the IFN-gamma Response in vivo and in vitro. *Cytotechnology*, 43(1-3), 33–40.

- Holst, B., & Williamson, G. (2008). Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. *Current Opinion in Biotechnology*, 19(2), 73–82.
- Hosaka, T., Sasaga, S., Yamasaka, Y., Nii, Y., Edazawa, K., Tsutsumi, R., ... Sakai, T. (2014). Treatment with buckwheat bran extract prevents the elevation of serum triglyceride levels and fatty liver in KK-A(y) mice. *The Journal of Medical Investigation*: *JMI*, 61(3-4), 345–52.
- Hoseney, C. (2010). CHAPTER 11: Malting and Brewing. In *Principles of Cereal Science and Technology* (pp. 161–175). 3340 Pilot Knob Road, St. Paul, Minnesota 55121, U.S.A.: AACC International, Inc.
- Hotz, C., & Gibson, R. S. (2007). Traditional food-processing and preparation practices to enhance the bioavailability of micronutrients in plant-based diets. *The Journal of Nutrition*, 137(4), 1097–1100.
- Hughes, M. F., Beck, B. D., Chen, Y., Lewis, A. S., & Thomas, D. J. (2011). Arsenic exposure and toxicology: a historical perspective. *Toxicological Sciences*: *An Official Journal of the Society of Toxicology*, 123(2), 305–32.
- Hur, S. J., Lim, B. O., Decker, E. a., & McClements, D. J. (2011). In vitro human digestion models for food applications. *Food Chemistry*, 125(1), 1–12. Retrieved from <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814610010241>
- IARC. (1980). Arsenic and arsenic compounds. In *Some Metals and Metallic Compounds*. In *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans* (pp. 39– 141). Lyon, France.
- IARC. (1994). Acrylamide. In *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Industrial Chemicals*. (pp. 389–433). Lyon, France: International Agency for Research on Cancer.
- Imad, B., Rima, M., Cesar, A., & Bruce, M. (2008). Amino acid requirements in critically ill patients with acute kidney injury treated with continuous renal replacement therapy. *Pharmacotherapy*, 28(5 PART 1), 600–613.
- Jancurová, M., Minarovicová, L., & Dandar, A. (2009). Quinoa—a review. *Czech Journal of Food Sciences*, 27(2), 71–79.
- Järvi, a E., Karlström, B. E., Granfeldt, Y. E., Björck, I. M., Vessby, B. O., & Asp, N. G. (1995). The influence of food structure on postprandial metabolism in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 61(4), 837–842.
- Jayamani, P., Negrão, S., Martins, M., Maças, B., & Oliveira, M. M. (2007). Genetic Relatedness of Portuguese Rice Accessions from Diverse Origins as Assessed by Microsatellite Markers. *Crop Science*, 47(2), 879.
- Juliano, B. O. (1993). *Rice in human nutrition*. (FAO, Ed.). Rome, Italy.
- Kaur, M. (2009). *Medical Foods from Natural Sources*. Springer New York.
- Kawashima, L. M., & Valente Soares, L. M. (2003). Mineral profile of raw and cooked leafy vegetables consumed in Southern Brazil. *Journal of Food Composition and Analysis*, 16(5), 605–611.

- Kayashita, J., Shimaoka, I., Nakajoh, M., Yamazaki, M., & Kato, N. (1997). Consumption of buckwheat protein lowers plasma cholesterol and raises fecal neutral sterols in cholesterol-Fed rats because of its low digestibility. *The Journal of Nutrition*, 127(7), 1395–400.
- Kettlitz, B. (2011). Food Drink Europe Acrylamide Toolbox 2011. *FoodDrinkEurope Brüssel*, (September).
- Kim, H. K., Kim, M. J., Cho, H. Y., Kim, E.-K., & Shin, D. H. (2005). Antioxidative and anti-diabetic effects of amaranth (*Amaranthus esculantus*) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochemistry and Function*, 24(3), 195–9.
- Kim, S.-L., Kim, S.-K., & Park, C.-H. (2004). Introduction and nutritional evaluation of buckwheat sprouts as a new vegetable. *Food Research International*, 37(4), 319–327.
- Kondrup, J., Johansen, N., Plum, L. M., Bak, L., Larsen, I. H., Martinsen, A., ... Lauesen, N. (2002). Incidence of nutritional risk and causes of inadequate nutritional care in hospitals. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 21(6), 461–8.
- Kozioł, M. J. (1992). Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of Food Composition and Analysis*, 5(1), 35–68.
- Kubachka, K. M., Shockey, N. V., Hanley, T. A., Conklin, S. D., & Heitkemper, D. T. (2012). *Laboratory Methods - Elemental Analysis Manual: Section 4.11: Arsenic Speciation in Rice and Rice Products Using High Performance Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometric Determination*. U.S. Food and Drug Administration - Center for Food Safety and Applied Nutrition.
- Kulick, D., & Deen, D. (2011). Specialized Nutrition Support. *American Family Physician*, 83(2), 173–183.
- Kupper, C. (2005). Dietary guidelines and implementation for celiac disease. *Gastroenterology*, 128(4), S121–S127.
- Lee, C.-C., Hsu, W.-H., Shen, S.-R., Cheng, Y.-H., & Wu, S.-C. (2012). *Fagopyrum tataricum* (buckwheat) improved high-glucose-induced insulin resistance in mouse hepatocytes and diabetes in fructose-rich diet-induced mice. *Experimental Diabetes Research*, 2012, 375673.
- Lešková, E., Kubíková, J., Kováčiková, E., Košická, M., Porubská, J., & Holčíková, K. (2006). Vitamin losses: Retention during heat treatment and continual changes expressed by mathematical models. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(4), 252–276.
- Lochs, H., Allison, S. P., Meier, R., Pirlich, M., Kondrup, J., Schneider, S., ... Pichard, C. (2006). Introductory to the ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Terminology, definitions and general topics. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 25(2), 180–6.
- Lodish, H., Berk, A., Zipursky, S. L., Matsudaira, P., Baltimore, D., & Darnell, J.

- (2000). *Molecular Cell Biology*. W. H. Freeman.
- López-Mejía, O. A., López-Malo, A., & Palou, E. (2014). Antioxidant capacity of extracts from amaranth (*Amaranthus hypochondriacus* L.) seeds or leaves. *Industrial Crops and Products*, 53, 55–59.
- Lozano, J. A., Galindo, J. D., Garcia, J. C., Martinez, J. H., Penafiel, R., & Solano, F. (1995). *Bioquímica para ciencias de la salud*. (I. McGraw-Hill, Ed.). Madrid.
- Lu, L., & Baik, B. (2015). Starch Characteristics Influencing Resistant Starch Content of Cooked Buckwheat Groats. *Cereal Chemistry*, 92(1), 65–72.
- Luz, R. A. S. (2014). *Relatório de Estágio. Licenciatura em Ciências da Nutrição. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação da Universidade do Porto*.
- Maharaj, P. P. P., Prasad, S., Devi, R., & Gopalan, R. (2015). Folate content and retention in commonly consumed vegetables in the South Pacific. *Food Chemistry*, 182, 327–32.
- Mandal, B. K., & Suzuki, K. T. (2002). Arsenic round the world: a review. *Talanta*, 58(1), 201–35.
- Mastromatteo, M., Chillo, S., Iannetti, M., Civica, V., & Del Nobile, M. A. (2011). Formulation optimisation of gluten-free functional spaghetti based on quinoa, maize and soy flours. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(6), 1201–1208.
- Matos, L. (2007). *A Desnutrição Associada à Doença na Admissão Hospitalar: Um Contributo para o Rastreio*. Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Universidade do Porto.
- McCleary, B. V., Gibson, T. S., & Mugford, D. C. (1997). Measurement of total starch in cereal products by amyloglucosidase - α -amylase method: Collaborative study. *J. AOAC International*, 80, 571–579.
- McClements, D. J., & Li, Y. (2010). Review of in vitro digestion models for rapid screening of emulsion-based systems. *Food & Function*, 1(1), 32–59.
- McNulty, H., & Pentieva, K. (2007). Folate bioavailability. *Proceedings of the Nutrition Society*, 63(04), 529–536.
- McPartlin, J., Halligan, A., Scott, J. M., Darling, M., & Weir, D. G. (1993). Accelerated folate breakdown in pregnancy. *Lancet*, 341(8838), 148–9.
- Merola, R. B., Hien, T. T., Quyen, D. T. T., & Vengosh, A. (2015). Arsenic exposure to drinking water in the Mekong Delta. *The Science of the Total Environment*, 511, 544–52.
- Michalak, J., Gujska, E., & Kuncewicz, A. (2013). RP-HPLC-DAD studies on acrylamide in cereal-based baby foods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 32(1), 68–73.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., ... Brodkorb, A. (2014). A standardised static in vitro digestion method suitable for food - an international consensus. *Food & Function*, 5(6), 1113–24.
- Miranda, M., Vega-Gálvez, A., Quispe-Fuentes, I., Rodríguez, M. J., Maureira, H.,

- & Martínez, E. A. (2012). Nutritional Aspects of Six Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Ecotypes from three Geographical Areas of Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(2), 175–181.
- Mlakar, S. G., Turinek, M., Jakop, M., Bavec, M., & Bavec, F. (2009). Nutrition value and use of grain amaranth: potential future application in bread making. *Agricultura*, 53, 43–53.
- Molloy, A. M. (2013). Folate Bioavailability and Health. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*.
- Moreno, M. de L., Comino, I., & Sousa, C. (2014). Alternative Grains as Potential Raw Material for Gluten- Free Food Development in The Diet of Celiac and Gluten- Sensitive Patients. *Austin Journal of Nutrition and Food Sciences*, 2(3), 1–9.
- Mota, C., Nascimento, A., Coelho, I., & Gueifão, S. (2015). Estudos de caracterização do perfil nutricional da quinoa (*Chenopodium quinoa*): macronutrientes, minerais e elementos vestigiais. *Observações_Boletim Epidemiológico*, 5, 30–32.
- Mota, C., Santos, M., Mauro, R., Samman, N., Matos, A. S., Torres, D., & Castanheira, I. (2016). Protein content and amino acids profile of pseudocereals. *Food Chemistry*, 193, 55–61.
- Mukherjee, A., Sengupta, M. K., Hossain, M. A., Ahamed, S., Das, B., Rahman, M. M., & Chakraborti, D. (2006). Arsenic contamination in groundwater: a global perspective with emphasis on the Asian scenario. *Journal of Health, Population, and Nutrition*, 24(2), 142–63.
- Murphy, J., Murch, S., & Ball, R. (1996). Proline is synthesized from glutamate during intragastric infusion but not during intravenous infusion in neonatal piglets. *The Journal of Nutrition*, (June 1995), 878–886.
- Nascimento, A. C., Mota, C., Coelho, I., Gueifão, S., Santos, M., Matos, A. S., & Castanheira, I. (2014). Characterisation of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays* L.) consumed in the North of Argentina: Proximates, minerals and trace elements. *Food Chemistry*, 148, 420–426.
- National Collaborating Centre for Acute Care at The Royal College of Surgeons of England (Ed.). (2006). *Nutrition Support for Adults Oral Nutrition Support, Enteral Tube Feeding and Parenteral Nutrition* (First Ed.). London: National Collaborating Centre for Acute Care (UK).
- Nowak, V., Du, J., & Ruth Charrondière, U. (2015). Assessment of the Nutritional Composition of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Food Chemistry*.
- O'Dell, B. L., & Sunde, R. A. (1997). Mineral-ion interaction as assessed by bioavailability and ion channel function., 641–659.
- Ohrvik, V. E., & Witthoft, C. M. (2011). Human folate bioavailability. *Nutrients*, 3(4), 475–90.
- Oomah, B. D., & Mazza, G. (1996). Flavonoids and Antioxidative Activities in

- Buckwheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(7), 1746–1750.
- Oseredczuk, M., Salvini, S., Roe, M., & Møller, A. (2009). *Guidelines for quality index attribution to original data from scientific literature or reports for EuroFIR data interchange (revised edition). Technical Report D1.3.21*. Brussels.
- Oseredczuk, M., & Westenbrink, S. (2013). *Report on integrated data quality evaluation system. Technical Report D1.8*. Brussels.
- Ozden, O., Erkan, N., & Ulusoy, S. (2010). Determination of mineral composition in three commercial fish species (*Solea solea*, *Mullus surmuletus*, and *Merlangius merlangus*). *Environmental Monitoring and Assessment*, 170(1-4), 353–63.
- Pagano, A. E. (2006). Whole Grains and the Gluten-Free Diet. *Practical Gastroenterology*, 2, 66–78.
- Palombini, S. V., Claus, T., Maruyama, S. A., Gohara, A. K., Henrique, A., Gomes, M., & Matsushita, M. (2013). Evaluation of nutritional compounds in new amaranth and quinoa cultivars. *Food Science and Technology*, 33(June), 339–344.
- Parada, J., & Aguilera, J. M. (2007). Food Microstructure Affects the Bioavailability of Several Nutrients. *Journal of Food Science*, 72(2), R21–R32.
- Parlamento Europeu. (2011). Regulamento (UE) N° 1169/2011. *Jornal Oficial Da União Europeia*, L 304/18.
- Paško, P., Bartoń, H., Zagrodzki, P., Gorinstein, S., Fołta, M., & Zachwieja, Z. (2009). Anthocyanins, total polyphenols and antioxidant activity in amaranth and quinoa seeds and sprouts during their growth. *Food Chemistry*, 115(3), 994–998.
- Patring, J., Johansson, M., Yazynina, E., & Jastrebova, J. (2005). Evaluation of impact of different antioxidants on stability of dietary folates during food sample preparation and storage of extracts prior to analysis. *Analytica Chimica Acta*, 553(1-2), 36–42.
- Pedreschi, F., Mariotti, M. S., & Granby, K. (2014). Current issues in dietary acrylamide: formation, mitigation and risk assessment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(1), 9–20.
- Pinhos, R., Franchini, B., Afonso, C., Cooreia, F., Teixeira, V., Moreira, P., & De Almeida, M. (2009). Alimentação e estilos de vida da população portuguesa: metodologia e resultados preliminares. *Revista Da SPCNA - Alimentação Humana*, 15, 43–60.
- Prego, I., Maldonado, S., & Otegui, M. (1998). Seed Structure and Localization of Reserves in *Chenopodium quinoa*. *Annals of Botany Company*, 82, 481–488.
- Pullon, R. (2013). *An introduction to the medical foods industry. A Market Research Project conducted in collaboration with Coller IP*.
- Rahman, M. A., & Hasegawa, H. (2011). High levels of inorganic arsenic in rice in areas where arsenic-contaminated water is used for irrigation and cooking. *The Science of the Total Environment*, 409(22), 4645–55.

- Rahman, M. A., Hasegawa, H., Rahman, M. M., Rahman, M. A., & Miah, M. a M. (2007). Accumulation of arsenic in tissues of rice plant (*Oryza sativa* L.) and its distribution in fractions of rice grain. *Chemosphere*, 69(6), 942–8.
- Ranhotra, et al. (1993). Composition and Protein Nutritional Quality of Quinoa. *Cereal Chemistry*, 70(3), 303–305.
- Repo-Carrasco-Valencia, R. A., Encina, C. R., Binaghi, M. J., Greco, C. B., & Ronayne de Ferrer, P. a. (2010). Effects of roasting and boiling of quinoa, kiwicha and kañiwa on composition and availability of minerals in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(12), 2068–73.
- Rona, R. J., Keil, T., Summers, C., Gislason, D., Zuidmeer, L., Sodergren, E., ... Madsen, C. (2007). The prevalence of food allergy: a meta-analysis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 120(3), 638–46.
- Santos, M., Fontes, T., & Mota, C. (2012). Avaliação da Composição Nutricional de Refeições Hospitalares: Apresentação de Resultados. *Observações_Boletim Epidemiológico*, 1(2), 6–7.
- SCF. (1993). *Nutrient and energy intakes for the European Community. Reports of the Scientific Committee for Food (Thirty-first series)*. European Commission, Luxembourg.
- Schaeffer, G. W., & Sharpe, F. T. (1997). Free and bound amino acids and proteins in developing grains of rice with enhanced lysine/proteins. *Theoretical and Applied Genetics*, 94(6-7), 878–881.
- Schlick, G., & Bubenheim, D. (1993). *Quinoa: An emerging “new” crop with potential for CELSS*.
- Schoenlechner, R., Siebenhandl, S., & Berghofer, E. (2008). Pseudocereals. In E. K. Arendt & Dal Bello (Eds.), *Gluten-Free Cereal Products and Beverages* (pp. 149–191).
- Schoenlechner, R., Wendner, M., Siebenhandl-Ehn, S., & Berghofer, E. (2010). Pseudocereals as alternative sources for high folate content in staple foods. *Journal of Cereal Science*, 52(3), 475–479.
- Semmelrock, M. J., Raggam, R. B., Amrein, K., Avian, A., Schallmoser, K., Lanzer, G., ... Rohde, E. (2012). Reticulocyte hemoglobin content allows early and reliable detection of functional iron deficiency in blood donors. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, 413(7-8), 678–82.
- Serna-Saldivar, S. O. (2010). *Cereal Grains: Properties, Processing, and Nutritional Attributes*. (CRC Press Book, Ed.). Taylor and Francis Group.
- Shelton, D. (1951). The effect of methionine and cystine on the growth of weanling pigs. *Journal of Animal Science*, 57–64.
- Shohag, M. J. I., Wei, Y., & Yang, X. (2012). Changes of Folate and Other Potential Health-Promoting Phytochemicals in Legume Seeds As Affected by Germination. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(36), 9137–9143.
- Shoveller, A., Stoll, B., Ball, R., & Burrin, D. (2005). Nutritional and functional

- importance of intestinal sulfur amino acid metabolism. *The Journal of Nutrition*, 1609–1612.
- Silva, M. V. (1969). *Arroz*. (Fundação Calouste Gulbenkian, Ed.). Lisboa, Portugal.
- Skrabanja, V., Liljeberg Elmståhl, H. G., Kreft, I., & Björck, I. M. (2001). Nutritional properties of starch in buckwheat products: studies in vitro and in vivo. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 490–6.
- Stea, T. H., Johansson, M., Jägerstad, M., & Frølich, W. (2007). Retention of folates in cooked, stored and reheated peas, broccoli and potatoes for use in modern large-scale service systems. *Food Chemistry*, 101(3), 1095–1107.
- Stratton, R. J., Hackston, A., Longmore, D., Dixon, R., Price, S., Stroud, M., ... Elia, M. (2004). Malnutrition in hospital outpatients and inpatients: prevalence, concurrent validity and ease of use of the “malnutrition universal screening tool” (‘MUST’) for adults. *The British Journal of Nutrition*, 92(5), 799–808.
- Stratton, R. J., King, C. L., Stroud, M. A., Jackson, A. A., & Elia, M. (2006, September 8). “Malnutrition Universal Screening Tool” predicts mortality and length of hospital stay in acutely ill elderly. *British Journal of Nutrition*.
- Stringer, D. M., Taylor, C. G., Appah, P., Blewett, H., & Zahradka, P. (2013). Consumption of buckwheat modulates the post-prandial response of selected gastrointestinal satiety hormones in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 62(7), 1021–31.
- Tamaki, S., & Frankenberger, W. T. (1992). Environmental biochemistry of arsenic. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 124, 79–110.
- Tapiero, H., Mathé, G., Couvreur, P., & Tew, K. . (2002). I. Arginine. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 56(9), 439–445.
- Thompson, T. (2000). Folate, iron, and dietary fiber contents of the gluten-free diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 1389–1396.
- Thompson, T., Dennis, M., Higgins, L. A., Lee, A. R., & Sharrett, M. K. (2005). Gluten-free diet survey: are Americans with coeliac disease consuming recommended amounts of fibre, iron, calcium and grain foods? *Journal of Human Nutrition and Dietetics* □: *The Official Journal of the British Dietetic Association*, 18(3), 163–9.
- Tognon, A. L. (2012). *Quantificação e avaliação da bioacessibilidade in vitro de micro e macroelementos em frutas , hortaliças e cereais in vitro de micro e macroelementos em frutas , hortaliças e cereais*. Universidade de São Paulo.
- Tomotake, H., Kayashita, J., & Kato, N. (2014). Hypolipidemic activity of common (Fagopyrum esculentum Moench) and tartary (Fagopyrum tataricum Gaertn.) buckwheat. *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Truswell, & M. (2003). *Essentials of Human Nutrition - The B Vitamins*. (J. Mann & A. S. Truswell, Ed.). Melbourne: Oxford University Press.
- Tuli, R., Chakrabarty, D., Trivedi, P. K., & Tripathi, R. D. (2010). Recent advances in arsenic accumulation and metabolism in rice. *Molecular Breeding*, 26(2),

307–323.

- União Europeia. (2013). Recomendação da Comissão Relativa à Investigação dos Teores de Acrilamida nos Alimentos. *Jornal Oficial Da União Europeia*, (301), 15–17.
- United Nations. (2012). *Resolution adopted by the General Assembly on 22 December 2011. A/RES/66/221*.
- USDA. (2007). *USDA Table of Nutrient Retention Factors - Release 6. United States Department of Agriculture*.
- USDA. (2011). *Composition of Foods Raw, Processed, Prepared USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24. United States Department of Agriculture*.
- Valcárcel-yamani, B., & Caetano, S. (2012). Applications of Quinoa (*Chenopodium Quinoa Willd.*) and Amaranth (*Amaranthus Spp.*) and Their Influence in the Nutritional Value of Cereal Based Foods. *Food and Public Health*, 2(6), 265–275.
- Valencia-Chamorro, S. A. (2004). *Encyclopedia of Grain Science*.
- Vega-Gálvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L., & Martínez, E. a. (2010). Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*), an ancient Andean grain: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(15), 2541–2547.
- Vors, C., Capolino, P., Guérin, C., Meugnier, E., Pesenti, S., Chauvin, M.-A., ... Michalski, M.-C. (2012). Coupling in vitro gastrointestinal lipolysis and Caco-2 cell cultures for testing the absorption of different food emulsions. *Food & Function*, 3(5), 537–46.
- Wang, H., Lee, A. W. M., Shuang, S., & Choi, M. M. F. (2008). SPE/HPLC/UV studies on acrylamide in deep-fried flour-based indigenous Chinese foods. *Microchemical Journal*, 89(2), 90–97.
- Waters. (2006). *UPLC Amino Acid Analysis Application Solution*. Milford, MA, USA.
- Wei, Y.-M., Hu, X.-Z., Zhang, G.-Q., & Ouyang, S.-H. (2003). Studies on the amino acid and mineral content of buckwheat protein fractions. *Food/Nahrung*, 47(2), 114–116.
- WGO. (2012). *Celiac disease. World Gastroenterology Organisation Global Guidelines*.
- WHO. (2002). *Health implications of acrylamide in food. Report of a Joint FAO/WHO*. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
- WHO. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. *WHO Technical Report Series*, 916.
- WHO. (2007). *Protein and amino acid requirements in human nutrition (WHO technical report series no. 935)*. World Health Organization technical report series. Geneva, Switzerland.

- WHO, & FAO. (2004). *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*. WHO Library. WHO Library.
- WHO, & FAO. (2014). Joint Fao/Who Food Standards Programme Codex Alimentarius Commission. *Codex Alimentarius Commission, REP14/CF*(July).
- Williams, H. D., Anby, M. U., Sassene, P., Kleberg, K., Bakala-N'Goma, J.-C., Calderone, M., ... Porter, C. J. H. (2012). Toward the establishment of standardized in vitro tests for lipid-based formulations. 2. The effect of bile salt concentration and drug loading on the performance of type I, II, IIIA, IIIB, and IV formulations during in vitro digestion. *Molecular Pharmaceutics*, 9(11), 3286–300.
- Wischmeyer, P. E., Dhaliwal, R., McCall, M., Ziegler, T. R., & Heyland, D. K. (2014). Parenteral glutamine supplementation in critical illness: a systematic review. *Critical Care (London, England)*, 18(2), R76.
- Wright, A. J. A., Dainty, J. R., & Finglas, P. M. (2007). Folic acid metabolism in human subjects revisited: potential implications for proposed mandatory folic acid fortification in the UK. *The British Journal of Nutrition*, 98(4), 667–75.
- Wright, K. H., Pike, O. A., Fairbanks, D. J., & Huber, C. S. (2002). Composition of *Atriplex hortensis*, Sweet and Bitter *Chenopodium quinoa* Seeds. *Journal of Food Science*, 67(4), 1383–1385.
- Wu, F., Yang, N., Touré, A., Jin, Z., & Xu, X. (2013). Germinated brown rice and its role in human health. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(5), 451–63.
- Wu, G. (2009). Amino acids: Metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*, 37(1), 1–17.
- Wu, G., Davis, P., & Flynn, N. (1997). Endogenous synthesis of arginine plays an important role in maintaining arginine homeostasis in postweaning growing pigs. *Journal of Nutrition*, (June), 2342–2349.
- Young, V. R., & Pellett, P. L. (1994). Plant proteins in relation to human protein and amino acid nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 59 (Suppl), 1203S–1212S.
- Zevallos, V. F., Ellis, H. J., Suligoj, T., Herencia, L. I., & Ciclitira, P. J. (2012). Variable activation of immune response by quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) prolamins in celiac disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96, 337–344.
- Zevallos, V. F., Herencia, L. I., & Ciclitira, P. J. (2014). Gastrointestinal effects of eating quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) in celiac patients. *The American Journal of Gastroenterology*, 109(2), 270–278.
- Zhang, H.-W., Zhang, Y.-H., Lu, M.-J., Tong, W.-J., & Cao, G.-W. (2007). Comparison of hypertension, dyslipidaemia and hyperglycaemia between buckwheat seed-consuming and non-consuming mongolian-chinese populations in inner mongolia, China. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 34(9), 838–844.

Zhu, W., Cai, D., Wang, Y., Lin, N., Hu, Q., Qi, Y., ... Amarasekara, S. (2013). Calcium plus vitamin D3 supplementation facilitated fat loss in overweight and obese college students with very-low calcium consumption: a randomized controlled trial. *Nutrition Journal*, 12(1), 8.

Anexos

Anexo A

Publicação em revista internacional de arbitragem científica

Mota, C., Santos, M., Mauro, R., Samman, N., Matos, A.S., Torres, D., Castanheira, I., 2014. Protein content and amino acids profile of pseudocereals. Food Chem. doi:10.1016/j.foodchem.2014.11.043

Anexo B

Publicação em revista internacional de arbitragem científica

Nascimento, A.C., Mota, C., Coelho, I., Gueifão, S., Santos, M., Matos, A.S., Castanheira, I., 2014. Characterisation of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays* L.) consumed in the North of Argentina: Proximates, minerals and trace elements. Food Chem. 148, 420–426.

Anexo C

Publicação em revista nacional de arbitragem científica

Mota, C., Nascimento, A., Coelho, I., Gueifão, S., 2015. Estudos de caracterização do perfil nutricional da quinoa (*Chenopodium quinoa*): macronutrientes, minerais e elementos vestigiais. Obs. Epidemiológico 5, 30–32.

Anexo D

Publicação em revista nacional de arbitragem científica

Santos, M., Fontes, T., Mota, C., 2012. Avaliação da Composição Nutricional de Refeições Hospitalares: Apresentação de Resultados. Obs. Epidemiológico 1, 6–7.

Todos os artigos encontram-se nas páginas seguintes.



Analytical Methods

Protein content and amino acids profile of pseudocereals



Carla Mota^a, Mariana Santos^a, Raul Mauro^b, Norma Samman^b, Ana Sofia Matos^c, Duarte Torres^d, Isabel Castanheira^{a,*}

^aFood and Nutrition Department, National Institute of Health Doctor Ricardo Jorge, Lisbon, Portugal

^bResearch Center for Food Technology, Faculty of Engineering University of Jujuy, Argentina

^cUNIDEMI, Departamento de Engenharia Mecânica e Industrial, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2829-516 Caparica, Portugal

^dFaculty of Nutrition and Food Sciences, University of Porto, Rua Dr. Roberto Frias, 4200-465 Porto, Portugal Departamento de Bioquímica, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (U-38, FCT), Al. Prof. Hernâni Monteiro, 4200-319 Porto, Portugal

ARTICLE INFO

Article history:

Received 17 January 2014

Received in revised form 29 October 2014

Accepted 8 November 2014

Available online 15 November 2014

Keywords:

Food composition

Gluten free

Data quality

EuroFIR

UPLC

ABSTRACT

Quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*) and buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) represent the main protein source in several diets, although these pseudocereals are not currently present in the FCDB nutrient profile information. The aim of this work is to characterise the AA profile of these pseudocereals and compare them with rice. Total protein content revealed to vary from 16.3 g/100 g (quinoa Salta) to 13.1 g/100 g (buckwheat) and lower values were found in rice samples (6.7 g/100 g). For pseudocereals the most abundant essential AA was leucine. Quinoa-Salta evidences the highest leucine content (1013 mg/100 g) and the minor methionine content (199 mg/100 g). Buckwheat was the cereal with the highest phenylalanine content (862 mg/100 g). Rice (*Oryza sativa*) presents the lowest content for all AA. Results showed pseudocereals as the best source of AA. EuroFIR guidelines were strictly followed and proved to be a crucial tool to guarantee data interchangeability and comparability.

© 2014 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Amaranth (*Amaranthus caudatus*) and quinoa (*Chenopodium quinoa*) known as pseudocereals, were considered major crops used by the Pre-Colombian cultures in Latin-America for centuries. As a consequence of the invasion and the conquest by the Spanish, cultivation and consumption of these crops were suppressed and thereafter only continued on a minor scale. Attending to their good nutritional properties, the interest on these grains has risen again. Buckwheat was originated from Central Asia and was transferred by nomadic people to Central and Eastern Europe. Today, buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) is celebrating something of a comeback due to the demand for gluten-free diets, and the total area of soil dedicated to its crop amounts to 2.5 million hectares, representing a production of 2 million tonnes of grain per year (Fabio, Schoenlechner, Siebenhandl, & Berghofer, 2008).

Amaranth, quinoa and buckwheat are recommended for celiac disease patient diets by the World Gastroenterology Organization, since they are gluten free cereals. In addition, all these gluten free grains are also recommended as base ingredients for baby food recipes as an alternative to rice (*Oryza sativa*) due to their low allergenicity (WGO, 2012).

Some studies reported the fact that some cultivars of quinoa could activate the adaptive immune response in some patients with celiac disease (Bergamo, Maurano, Mazzarella, Gianfrani, & Rossi, 2011; Zevallos, Ellis Julia, Ciclitira, Tanja Suligoj Herencia, & Irene, 2012). However, a recent *in vivo* study, which included a panel of adult celiac patients, indicates that celiac patients safely tolerate a daily ingestion of 50 g of quinoa during a period of 6 weeks (Zevallos, Herencia, & Ciclitira, 2014).

The nutritional value of pseudocereals is mainly connected to their proteins that are an important group of bio macromolecules involved in physiological functions (Gorinstein et al., 2002). The protein content is 13.4–16.5% for amaranth 12.0–18.9% for buckwheat and 12.1–14.5% for quinoa (Alvarez-Jubete, Arendt, & Gallagher, 2010; Christa & Soral-Smietana, 2008; Nascimento et al., 2014). Compared with common cereal grains, the protein content is significantly higher than maize (*Zea mays*) (10.2%), and comparable to whole-grain wheat (*Triticum* spp.) (13.2%). These pseudocereals contain minor protein content when compared with legume seeds such as bean (*Phaseolus vulgaris*) with 23.6% or soya (*Glycine max*) with 36.1% (USDA, 2011).

The most important aspect of a protein, from a nutritional point of view, is its essential amino acids (EAA), because they have carbon skeletons that cannot be synthesised by humans, therefore they must be provided through the diet. For this reason essential amino acids are more important for growth and maintenance of

* Corresponding author.

E-mail address: Isabel.castanheira@insa.min-saude.pt (I. Castanheira).

metabolic needs, than the remaining non-essential amino acids. Besides these two categories, a third category is also considered as "conditionally essentials" amino acids, meaning that they are not normally required in the diet, but under specific physiological or pathological conditions the human body cannot synthesise them in adequate amounts, and in this context their intake becomes therefore indispensable (WHO, 2007). Digestibility is also a relevant factor for the nutritional value of proteins. EAA content can be used to estimate the Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score (PDCAAS) that measures the protein quality in human nutrition according to different stages of life (WHO, 2007).

The composition data values for pseudocereals are usually obtained from Food Composition Databanks (FCDB). A research in several databases showed that only United States Department of Agriculture (USDA) FCDB has analytical data for amino acid profile in these pseudocereals.

Requirements for data interchange have been recently published in Europe by the EuroFIR AISBL platform. These requirements were also applied in Nascimento et al. (2014) work.

The main goal of this work was to determine the amino acid profile for quinoa, amaranth and buckwheat, as well as to compare amino acid profile of rice, the largest consumed gluten free cereal in Portugal (FAOSTAT, 2014).

2. Materials and methods

2.1. Samples and sample preparation

The sampling used in this research is part of a study that started in 2010 and from which the first scientific results were reported in (Nascimento et al., 2014). Complete seed samples of amaranth from Jujuy and quinoa from Salta (quinoa_S) and Jujuy (quinoa_J) were obtained from the Cooperative of Producers CAUQUEVA-Tilcara – Argentina. Buckwheat and amaranth seeds originated from biological agriculture were obtained in the Portuguese market from a non European source. Samples of white polished rice were obtained from local factories in Portugal, having their origin from their main crop geographies – Ribatejo and Sado. According to a selective sampling plan five primary samples of each species and geographical region were taken. Quinoa and rice samples were collected in three consecutive years, amaranth samples were collected in two consecutive years and samples of buckwheat were collected in one year. The samples were immediately prepared after receipt in the laboratory according to the procedure described by Table 1. Each primary sample was milled using a high speed grinder (knife mill GRINDOMIX GM), homogenised and analysed separately. The

laboratory samples were stored in vacuum bags at room temperature until further processing. Two test portions were analysed for moisture and protein content and at least three test portions were taken for amino acid composition analysis.

2.2. Reagents and chemical standards AA analysis

All reagents were of high analytical grade. Ultrapure water obtained from a Milli-Q purifier (Millipore, Eschborn, Germany), was used for the preparation of all solutions. Aqueous hydrochloric acid (HCl) 0.1 N was used to prepare a stock solution of D-Norvaline at a concentration of 2.5 mM to add to standard solution and a concentration of 25 mM to add to samples. Also, a solution of HCl 6 N containing 0.5% phenol was used to dilute the samples before microwave hydrolysis. Waters® AccQ Fluor reagent kit, containing 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate as derivatising compound, sample dilution buffer and eluent A and B as mobile phase, all obtained from Waters Corporation Company.

Working standard solutions were prepared from an Amino Acid Standard Hydrolysate provided by Waters®, containing 2.5 mM of each amino acid including histidine (His), isoleucine (Ile), leucine (Leu), lysine (Lys), methionine (Met), phenylalanine (Phe), threonine (Thr), valine (Val), cysteine (Cys), tyrosine (Tyr), glycine (Gly), arginine (Arg), proline (Pro), acids aspartic acid (Asp), glutamic acid (Glu), alanine (Ala) and serine (Ser).

2.3. Analysis

Moisture was determined by the method of AOAC (AOAC 952.08, 2000). Two test portions (5.0 g) were weighed into a pre-dried weighed crucibles and placed in a dry air oven from Heraeus Instruments, Hanau, Germany, at $102_C \pm 2_C$ for 2 h. The crucibles were removed and cooled in a desiccator and then weighed. This process was repeated until constant weight was obtained.

2.3.1. Total protein

Test portions (1.0 g) of each sample were analysed in duplicate for total nitrogen content, according to the Kjeldahl method. This method contemplates three different steps: digestion, distillation and titration. In this process, most organic nitrogen containing samples are digested with sulphuric acid in combination with a copper catalyst to ammonium sulphate using a block digestion system Foss Tecator 2006 Digestor (Höganäs, Sweden). The ammonium is then liberated by raising the pH with a Foss 2800 KjeltacAutoDistillation unit (Foss Tecator), and measured by

Table 1
Sampling.

Sample	Species	Crop			Sample Preparation/Sample Handling
		Geographical region	Number of primary samples ^a	Years	
Quinoa	<i>Chenopodium quinoa</i> Willd.	-Salta	5	2011–2013	Each sample was washed with tap water with the aim to eliminate bitter taste and toxic saponins. Washed grains were dried at 45 °C for 12 h and stored in vacuum bags at room temperature until processing. Each sample was homogenised and milled. The analytical samples were stored in vacuum bags at room temperature until processing.
		-Jujuy	5		
Amaranth	<i>Amaranthus</i> spp.	-Jujuy	5	2011	
		-Biological agriculture south American	5	2012	
Buckwheat	<i>Fagopyrum esculentum</i>	Biological agriculture Non European Source (China and India)	5	2013	
Rice	<i>Oryza sativa</i>	-Ribatejo	5	2010–2012	
		-Sado	5		

^a Sample unit of 500 g analysed separately.

titration with an automated titration system, Titrand 808 from Metrohm (AOAC 991.20, 2000).

Protein content was calculated using conversion Jones factors of 6.25 for pseudocereals and 5.95 for rice, according to (FAO, 1973). The results are expressed in g per 100 g of edible portion on fresh weight basis. The obtained protein values were compared with the sum of AA according to FAO recommendations (FAO Food nutrition, 2002).

2.3.2. Amino acids

Sample digestions were undertaken using a closed-vessel microwave digestion system, Milestone ETHOS 1 Series. At least three test portions (30 mg) were weighted into proper quartz digestion vials. One millilitre of chloridric acid (6 N) containing 0.5% phenol and 200 μ L of internal standard (25 mM of *D*-Norvaline) were carefully added to each vial. The vials were closed and introduced into the microwave oven in anaerobic conditions using nitrogen gas purges and a vacuum pump. The microwave program was optimised and established (15 min to increase temperature to 160 °C, 10 min at 160 °C and 90 min to cool).

After complete hydrolysis the extracts were neutralised with 1 mL sodium hydroxide (6 N), and fillup to a total volume of 10 mL with deionised water. Hydrolysates were filtered through a common filter paper before derivatisation.

The derivatisation process was performed by adding 80 μ L of buffer, 10 μ L of sample and 20 μ L of reconstituted derivatisation reagent in a chromatographic vial. The reaction was vortex mix and immediately heated to a constant temperature of 55 °C during 10 min.

Chromatographic determination was performed in an Acquity UPLC system from Waters in accordance to the equipment Manufacturer's application system guide note (Waters, 2006). The system is equipped with photodiode array (PDA) detector. A BEH C18 column (100 mm \times 2.1 mm i.d., 1.7 μ m; Waters) at a flow rate of 0.7 ml/min was used, and the column temperature was kept at 55 °C. The injection volume was 1 μ L and the detection wavelength was set at 260 nm. The mobile phase consisting in two eluents: AccQTag ultra eluent A diluted in 95% of deionised water and AccQTag ultra eluent B. The following gradient conditions used were: 0–0.54 min, 99.9% A–0.1% B; 5.74 min, 90.9% A–9.1% B; 7.74 min, 78.8% A–21.2% B; 8.04 min, 40.4% A–59.6% B; 8.70–10 min, 99.9% A–0.1% B. Within 10 min of gradient chromatographic run time.

The quantification processing method was performed with a calibration curve prepared from a stock solution containing 2.5 mM of each amino acid, diluted to appropriate concentrations. *D*-Norvaline was added as internal standard to a final concentration of 45.5 pmol. Calculations were performed in the empower software from Waters®. Derivatised amino acids were identified and quantified by comparison with the retention times and areas ratios of standard amino acids mixture with the internal standard. The results are expressed in mg per 100 g of edible portion on fresh weight basis.

2.4. Quality assurance and quality control

Quality assurance tests that contribute to analytical quality of data, such as regular verification of instruments, performance, linearity, Limit of Quantification (LoQ) and Limit of Detection (LoD), were in place. Also laboratory competence is demonstrated through satisfactory participation in proficiency testing schemes launched by PT providers holds ISO 17043 certificate.

The EuroFIR data quality evaluation system QE scirep (Quality Evaluation of analytical data from Scientific literature and laboratory REports) is part of EuroFIR Quality Evaluation System and aims to create tools to assist compilers to score value documentation. QE scirep is described elsewhere in detail (Oseredczuk & Westenbrink,

2013; Salvini, Oseredczuk, Roe, Møller, & Holden, 2009). Briefly is composed by seven categories (Food description; component identification; sampling plan; number of analytical samples; sample handling; analytical method; analytical quality control) in total 40 questions. The scoring of analytical data generated in this project was presented in previous work (Nascimento et al., 2014) and evaluated for all seven categories. The component identification, analytical method and analytical control, used in amino acids analysis and described here has the same quality index > 30 (rating 5 points per each of seven categories), as well as mineral and proximates data, published by Nascimento et al. (2014).

2.5. Statistic analysis

All data was analysed by one-way analysis of variance (ANOVA) using the nonparametric Tukey–Kramer multiple comparison test to identify significances between the origins and species. Statistical analysis was conducted by the Statistica 7 software (Statsoft Ibérica, Lisboa, Portugal). Statistical significance was established at a *p*-value < 0.05.

3. Results and discussion

3.1. Analytical data quality assurance

Quality control results for protein and amino acid analysis are indicated in Table 2. The analytical values are within the certified ranges for all amino acids and macronutrients. The sum of individual amino acids agree with protein content determined by Kjeldahl. For each amino acid analysis the variations between replicates agree well and are within certified values range, conferring an appropriate accuracy to the analytical method. Other parameters included in performance criteria were LoD and LoQ, determined according with Eurachem guidelines and Codex Alimentarius as the ratio to signal/noise of 3 and 10. The minimum specific level (ML) as defined by Codex Alimentarius can be assessed by LoD and LoQ. The matrix match LoD ranged between 0.7 mg/100 g (valine) and 3.9 mg/100 mg (tyrosine). The developed UPLC method fits the criteria of ML to measure content of each amino acid, usually found in concentrations higher than LoQ. Calibration curves for the simultaneous determination of 17 amino acids were constructed using the integrated analyte absorbance versus analyte concentration of multielementar solutions. A correlation coefficient ranging from 0.9996 (proline) to 0.9973 (glutamine) was obtained. The method resolution can be derive from the retention time of two adjacent amino acid peaks. As one can observe from the retention time presented in Table 2 and Fig. 1 a clear peak separation was obtained for almost all amino acids. The smallest difference was obtained between cysteine and lysine, although peak overlapping was not observed.

3.2. EuroFIR quality criteria of amino acids

EuroFIR criteria regarding food analytical data for compilation and publication in the Food Composition Databanks was recently published. The present research work was designed in compliance with EuroFIR Data Quality Evaluation System (DQES) (Oseredczuk, Salvini, Roe, & Møller, 2009; Oseredczuk & Westenbrink, 2013) encompassing requirements of other systems such as DQES USDA (Bhagwat, Patterson, & Holden, 2009) and FAO (Charrondiere, Burlingame, Berman, & Elmadfa, 2011). The work fulfils almost all criteria, nevertheless sampling plan was not robust enough due to economical constrains and time line of the project and more laboratory data is necessary, namely for the quinoa available in Portuguese market. Although these constrains can be suppressed

because analytical values can be aggregated with high score if each raw data complies with quality criteria for food description, component identification, sample handling, analytical methodology, analytical quality control (Castanheira et al., 2011).

3.3. Contributions of pseudocereals to essential amino acids nutrient intake

Contributions of amino acid intake expressed in Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score (PDCAAS) calculated according FAO/WHO/UNU 2007 reports, considering adults as target population, present in Fig. 2 (WHO, 2007). PDCAAS was calculated dividing the amino acid amount in 1 g of protein by the amino acid requirement pattern. The result (amino acid score) is then multiplied by the protein digestibility: 92% for quinoa, 90% for amaranth, 80% for buckwheat and 88% for polished rice (Boye, Wijesinha-Bettoni, & Burlingame, 2012; Ferreira & Arêas, 2004; WHO, 2007).

3.4. Protein analysis

Pseudocereals presented a protein content (g/100 g of edible portion on fresh weight basis) of 13.1 (± 0.1) g/100 g for buckwheat, 13.5 (± 0.2) g/100 g for amaranth, 12.2 (± 0.1) g/100 g for quinoa_J and 16.3 (± 0.02) g/100 g for quinoa_S (Table 3). The quinoa results are shown separately evidencing significant differences between origins. Regarding all pseudocereals, only quinoa_S statistically differs from the other ($p < 0.05$). When compared with pseudocereals, the rice protein content was significantly lower (6.7 ± 1.1 g/100 g). All the values are evaluated under appropriate quality control procedures as a guarantee of reliability and further comparability. These values are in agreement with those reported by USDA (2011).

3.5. Amino acid method analysis

The method presented in Section 2.3.2 was used for qualifying amino acids in one of three categories: essential, conditionally essential and non-essential.

The choice of the chromatographic method was based on the ability to provide high selectivity, sensitivity, reproducibility and reduced analysis time. UPLC offers large advantage over HPLC,

since only 10 min is needed to obtain the separation of seventeen amino acids with a clear resolution (Fig. 1) against HPLC which takes approximately 60 min to complete (Boogers, Plugge, Stokkermans, & Duchateau, 2008). This technique utilises 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate to transform primary and secondary amines into highly stable fluorescent derivatives yielded appropriate sensitivities within a low pmol range (Fiechter & Mayer, 2011). The microwave method used for acid hydrolysis creates an inert and anaerobic media (vacuum atmosphere in a nitrogen media) that prevents amino acid oxidation and degradation especially for the case of cysteine and methionine.

The amino acids under study in this research work are: His, Ile, Leu, Lys, Met, Phe, Thr and Val as essential amino acids, Cys, Tyr, Gly, Arg, and Pro as conditionally essential and Asp, Glu, Ala and Ser as non-essential.

Tryptophan (Try) needs an alkaline hydrolysis in anaerobic condition. Since the analytical facilities were not available and to avoid missing data borrowed values were taken from the USDA nutrient database (USDA, 2011), as suggested by Greenfield (Greenfield & Southgate, 1992). Amino acids profile is presented in Tables 3 and 4. Quinoa, amaranth and buckwheat revealed significantly higher ($p < 0.05$) content in almost all amino acids when compared to white rice. The only exceptions are for the case of Ala where rice does not differ from amaranth and quinoa_J and for the case of Met where no differences were identified between rice and quinoa_S.

Significant differences were found among quinoa_S and quinoa_J for the amino acids studied, except for Cys and Ser where similar values were observed. The variations for amino acids content can be explained by genetic or environmental growth conditions (Gonzalez, Konishi, Bruno, Valoy, & Prado, 2012; Miranda et al., 2012). Regarding amaranth and rice, no differences were identified between the different origins. The nutrient content of foods can be affected by cultivar type, although cultivar specific differences have received little attention to date.

Similarities were found between amaranth and quinoa_J and between quinoa_S and buckwheat, where results are equivalent for the case of 10 out of 17 amino acids analysed. Non-essential amino acids were mainly composed by Glu and Asp. The results for Glu ranged from 2751 mg/100 g to 1888 mg/100 g and for Asp ranged from 1421 mg/100 g to 923 mg/100 g, respectively for quinoa_S and for quinoa_J. These values are in accordance with

Table 2
Quality assurance results and method parameters.

AA	Retention time (RSD) (min)	Correlation coefficient (r^2)	Slope (B)	Sy/x	LoD (mg/100 g)	LoQ (mg/100 g)	Certified value \pm U ^a	Analysed values ^c	Test material 2573 (Z-score) ^d
Ala	5.22 (0.05)	0.9990	8.64E-01	8.75E-01	1.13	2.59	2.12 \pm 0.96	2.20 \pm 0.05	-
Arg	3.64 (0.07)	0.9983	9.41E-01	1.47E+00	2.49	7.54	2.26 \pm 0.52	2.41 \pm 0.22	2.50
Asp	4.12 (0.04)	0.9979	1.56E+05	1.48E+00	2.68	8.12	5.29 \pm 0.28	5.39 \pm 0.12	-
Cys	6.65 (0.02)	0.9982	1.91E+05	2.18E+00	3.18	9.65	0.48 \pm 0.14	0.39 \pm 0.04	-
Glu	4.57 (0.03)	0.9973	1.54E+05	1.38E+00	2.82	8.56	14.3 \pm 2.1	15.4 \pm 0.90	-
Gly	3.77 (0.05)	0.9988	2.18E+05	1.42E+00	1.01	3.05	1.23 \pm 0.13	1.30 \pm 0.05	-
His	2.52 (0.10)	0.9980	2.32E+05	2.03E+00	2.78	8.43	1.73 \pm 0.17	1.67 \pm 0.10	1.60
Ile	7.81 (0.01)	0.9997	2.05E+05	6.49E-01	0.85	2.58	3.00 \pm 0.61	3.14 \pm 0.04	0.40
Leu	7.89 (0.01)	0.9984	2.24E+05	1.22E+00	1.23	3.72	6.16 \pm 0.88	6.37 \pm 0.05	0.30
Lys	6.71 (0.01)	0.9980	1.43E+05	1.43E+05	3.79	13.65	4.78 \pm 0.77	4.96 \pm 0.22	0.00
Met	6.97 (0.05)	0.9989	2.25E+05	1.44E+00	2.02	6.12	1.71 \pm 0.28	1.81 \pm 0.11	2.50
Phe	8.02 (0.01)	0.9974	2.46E+05	2.74E+00	3.08	9.34	3.48 \pm 0.50	3.35 \pm 0.33	1.50
Pro	5.82 (0.02)	0.9996	1.85E+05	6.23E-01	0.82	2.47	6.64 \pm 0.73	6.73 \pm 0.03	-
Ser	3.45 (0.08)	0.9994	2.06E+05	9.00E-01	1.00	3.03	3.80 \pm 0.35	3.60 \pm 0.09	-
Thr	4.91 (0.02)	0.9994	2.06E+05	8.85E-01	1.11	3.38	2.76 \pm 0.54	2.77 \pm 0.12	0.30
Tyr	6.87 (0.02)	0.9977	2.46E+05	2.75E+00	3.94	11.94	3.16 \pm 0.71	3.11 \pm 0.26	2.30
Val	7.10 (0.02)	0.9996	3.02E+05	7.18E-01	0.73	2.21	3.67 \pm 0.98	3.97 \pm 0.02	-0.50
Moisture							1.98 \pm 0.27 ^b	1.84 \pm 0.07	
Protein							66.1 \pm 1.3 ^b	66.0 \pm 0.37	

^a NIST 3244 – Ephedra – containing protein powder. National Institutes of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA.

^b NIST SRM 1846 – infant formula. National Institutes of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA.

^c AA units are expressed in % AA dry mass and protein units are expressed in g/100 g.

^d Proficiency test – FAPAS – Food Analysis Performance Assessment Scheme.

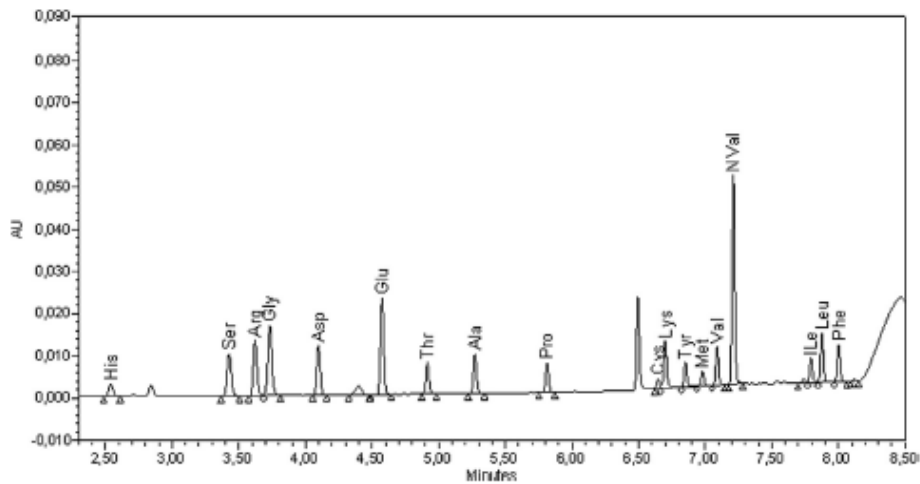
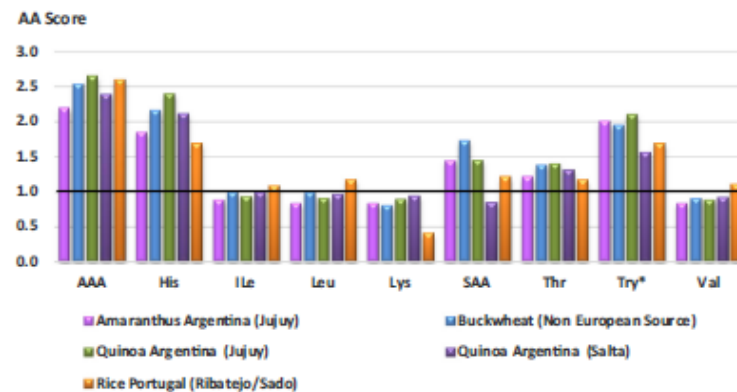


Fig. 1. Amino acid chromatogram of buckwheat.



AAA - Aromatic amino acids (Phe+Tyr)

SAA- Sulfur Amino acids (Met+Cys)

*USDA National Nutrient Database for Standard Reference (2011)

Fig. 2. Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score (PDCAAS).

the USDA National Nutrient Database, however a difference of 33% is observed in Ser for the case of amaranth.

Similar values were obtained for conditionally essential amino acids and essential amino acids excepting for Cys where significant differences between the three pseudocereals were found.

A relevant content was observed for Arg in all pseudocereals highest values in quinoa_S and in buckwheat, with values of 1501 mg/100 g and 1483 mg/100 g, respectively. Since Arg is required for the synthesis of other amino acids (Lupton, 2005) these values highlight the quinoa and buckwheat nutrient profile and are in agreement with other works reported in literature.

Since Arg and Gly are involved in the synthesis of other nitrogenous compounds that are important to physiological viability, these non-essential amino acids are important as part of the diet when optimum growth conditions are targeted as those detected in the North of Argentina (Young & Borgonha, 2000). Quinoa_J presents lower amino acid content than the other pseudocereals nevertheless much higher than rice. In spite of Cys and Tyr are designated as conditionally essential amino acids they were taken

into account with Met and Phe, respectively for PDCAAS calculation (WHO, 2007).

Pseudocereals content of Leu and Phe amino acids revealed a similar pattern, evidencing the highest values, with 1013 mg/100 g (Leu) for quinoa_S and 862 mg/100 g (Phe) for buckwheat, and with the lowest statistical values for the case of amaranth, with 673 mg/100 g for Leu and 652 mg/100 g for Phe (Table 4). Leu plays an important role in the protein synthesis (Norton & Layman, 2006). In the study Leu content in pseudocereals is one of the highest, however for the case of amaranth Leu presents a 0.8 value for PDCAAS, qualifying as a limiting amino acid but near the end of the interval to be considered as such (Fig. 2). Although not in accordance with the results presented by (Wei, Hu, Zhang, & Ouyang, 2003), buckwheat Leu presents a score of 1.

For Lys, the lowest value is presented in rice (139 mg/100 g) as expected in accordance with Schaeffer and Sharpe (1997). Fig. 2 shows for Lys PDCAAS value is 1 for quinoa_S and 0.9 for buckwheat and quinoa_J. For amaranth the score was 0.8, whereas for rice the value did not exceed 0.4. After determining the scores

Table 3
Total protein, non-essential⁽¹⁾ and conditionally essential⁽²⁾ amino acids content of cereals under study.

Samples	Ala ⁽¹⁾	Arg ⁽²⁾	Asp ⁽¹⁾	Cys ⁽²⁾	Glut ⁽¹⁾
(mg per 100 g of edible portion on fresh weight basis)					
Amaranth (Jujuy)	429.0 ± 12.4	1254.6 ± 5.0	930.2 ± 29.9	154.8 ± 7.9	2195.9 ± 69.7
Amaranth (biological agric.)	415.8 ± 24.2	1113.0 ± 19.8	985.0 ± 73.5	176.8 ± 10.5	2031.9 ± 9.3
Mean ± sd	423.7 ± 16.6a	1197.9 ± 78.2a	952.2 ± 52.0a	163.6 ± 14.3a	2130.3 ± 102.6a
Quinoa (Jujuy)	465.8 ± 34.7ab	1101.2 ± 94.7a	923.7 ± 49.2a	165.1 ± 52.3	1888.0 ± 79.2a
Quinoa (Salta)	690.4 ± 38.1c	1501.4 ± 130.5b	1421.8 ± 95.0b	129.3 ± 24.1	2751.7 ± 187.8b
Mean ± sd	555.7 ± 120.8	1261.3 ± 231.0	1122.9 ± 265.5	147.2 ± 42.3b	2319.9 ± 480.6
Buckwheat (biological agric.)	540.4 ± 2.2b	1483.0 ± 125.9b	1309.1 ± 27.1b	242.8 ± 21.4c	2535.3 ± 31.1ab
Rice (Sado)	411.7 ± 59.4	658.8 ± 81.7	700.0 ± 119.3	44.6 ± 8.8	1568.6 ± 254.5
Rice (Ribatejo)	332.9 ± 50.2	550.1 ± 76.9	550.2 ± 94.2	41.2 ± 6.9	1202.0 ± 211.0
Mean ± sd	360.1 ± 64.9a	587.6 ± 93.3c	601.9 ± 124.6c	43.0 ± 7.9d	1328.4 ± 284.4c
Samples	Gly ⁽²⁾	Pro ⁽²⁾	Ser ⁽¹⁾	Tyr ⁽²⁾	Protein
(mg per 100 g of edible portion on fresh weight basis)					
					g/100 g
Amaranth (Jujuy)	912.0 ± 3.4	478.7 ± 9.5	703.6 ± 1.9	613.9 ± 18.6	13.4 ± 0.3
Amaranth (biological agric.)	978.7 ± 19.4	519.6 ± 10.2	855.2 ± 16.4	583.2 ± 116.8	13.6 ± 0.2
Mean ± sd	938.7 ± 37.9a	495.1 ± 23.9a	764.2 ± 83.4a	601.6 ± 62.2a	13.5 ± 0.2a
Quinoa (Jujuy)	648.1 ± 48.3b	432.6 ± 33.8a	593.8 ± 72.3	717.9 ± 57.5a	12.2 ± 0.1a
Quinoa (Salta)	939.7 ± 60.6a	613.5 ± 32.7b	698.7 ± 34.7	825.3 ± 47.8b	16.3 ± 0.0b
Mean ± sd	777.7 ± 161.8	504.9 ± 98.6	653.7 ± 79.0a	760.8 ± 75.3	14.2 ± 2.4
Buckwheat (biological agric.)	831.3 ± 64.6a	541.0 ± 22.5ab	771.5 ± 41.9a	718.9 ± 73.4a	13.1 ± 0.1a
Rice (Sado)	343.5 ± 32.7	3281.1 ± 43.9	394.9 ± 59.0	358.6 ± 45.8	7.4 ± 0.9
Rice (Ribatejo)	297.0 ± 37.3	277.0 ± 41.4	318.4 ± 46.8	330.8 ± 69.5	6.2 ± 1.0
Mean ± sd	313.0 ± 41.8c	294.7 ± 48.3c	344.8 ± 62.4b	340.4 ± 62.9c	6.7 ± 1.1c

Means within a column with the same superscript letter are not significantly different ($\alpha = 0.05$).

Table 4
Essential amino acids and moisture content of cereals under study.

Samples	His	Ile	Leu	Lys	Met
(mg per 100 g of edible portion on fresh weight basis)					
Amaranth (Jujuy)	392.6 ± 8.2	420.8 ± 1.1	682.2 ± 8.2	551.9 ± 32.8	291.5 ± 1.1
Amaranth (biological agric.)	453.2 ± 6.3	368.8 ± 4.3	659.3 ± 9.5	496.8 ± 48.7	348.0 ± 8.4
Mean ± sd	416.8 ± 33.8a	400.0 ± 28.6a	673.0 ± 14.6a	529.9 ± 45.2a	314.1 ± 31.2a
Quinoa (Jujuy)	475.0 ± 47.6a	371.8 ± 31.0a	713.3 ± 39.0a	481.1 ± 45.7a	257.3 ± 14.0a
Quinoa (Salta)	564.7 ± 49.0b	526.9 ± 34.7b	1013.0 ± 58.8b	755.4 ± 69.9b	199.1 ± 17.6b
Mean ± sd	514.9 ± 64.8	433.8 ± 85.7	833.2 ± 161.1	590.8 ± 155.3	231.4 ± 33.9
Buckwheat	532.1 ± 46.7ab	431.5 ± 8.0ab	846.0 ± 14.0ab	595.6 ± 57.2a	380.9 ± 33.7a
Rice (Sado)	206.6 ± 29.0	275.8 ± 41.0	585.2 ± 96.3	179.4 ± 55.8	168.9 ± 13.6
Rice (Ribatejo)	186.6 ± 45.8	232.1 ± 37.8	496.9 ± 79.0	118.4 ± 38.7	155.6 ± 43.6
Mean ± sd	193.5 ± 41.4c	247.2 ± 43.7c	527.3 ± 93.9c	139.4 ± 53.3c	160.2 ± 36.3b
Samples	Phe	Thr	Try ^a	Val	Moisture
(mg per 100 g of edible portion on fresh weight basis)					
					g/100 g
Amaranth (Jujuy)	629.7 ± 15.5	422.8 ± 1.2	–	443.8 ± 5.7	9.7 ± 0.1
Amaranth (biological agric.)	685.2 ± 11.8	418.3 ± 18.9	–	440.8 ± 10.3	9.9 ± 0.0
Mean ± sd	651.9 ± 32.8a	421.0 ± 9.8a	181	442.6 ± 6.8a	9.8 ± 0.1
Quinoa (Jujuy)	614.9 ± 73.8a	426.3 ± 33.9a	–	458.2 ± 46.1a	10.5 ± 0.1
Quinoa (Salta)	791.2 ± 76.8b	534.1 ± 50.6b	–	634.7 ± 40.2b	10.9 ± 0.0
Mean ± sd	685.4 ± 115.2	469.4 ± 67.7	167	528.8 ± 100.1	10.7 ± 0.3
Buckwheat	862.1 ± 79.1b	521.7 ± 18.8b	192	580.7 ± 14.5ab	13.4 ± 0.0
Rice (Sado)	448.5 ± 49.5	226.6 ± 30.0	–	375.2 ± 60.4	12.9 ± 0.0
Rice (Ribatejo)	393.3 ± 55.9	194.0 ± 32.4	–	306.2 ± 53.2	13.0 ± 0.1
Mean ± sd	412.3 ± 59.2c	205.3 ± 34.8c	77	330.0 ± 64.1c	13.0 ± 0.1

Means within a column with the same superscript letter are not significantly different ($\alpha = 0.05$).

^a The values of tryptophan for amaranth, quinoa, buckwheat and rice (white, medium-grain, raw and unenriched) were obtained in literature (USDA, 2011).

using the USDA data, all pseudocereals reach a score equal or higher than the unit, for Leu and Lys. Regarding rice, as well as the case of all other cereals, Lys represents a limiting amino acid (Young & Pellett, 1994), with a low value for PDCAAS.

Met and Cys are the major sources of sulphur. For these two sulphur amino acids the scores are upper to 1, except for quinoa_S which attains a score of 0.9, near to the limit, showing that all are important sources of sulphur. Buckwheat presents the highest

value for both Met and Cys amino acids, differing significantly with quinoa_S for the case of Met, and with both quinoa (S and J) and amaranth for the case of Cys (Table 4).

The amino acids Phe, Tyr and Thr presents a score higher than 1 regarding all the pseudocereals under study (Fig. 2).

Val is an aliphatic amino acid, from Leu and Ile family, both in structure and in function. For Val the score is equal or upper to 1 for buckwheat, quinoa_S and rice, whereas for amaranth and qui-

noa] the scores are below the unit, respectively with 0.8 and 0.9. Comparing with the USDA table values for Val presents scores upper to 1 to all pseudocereals.

His it has been classified as a non-essential amino acid, but recently the scientific community has reviewed this classification, particularly due to its role in healthy development of children, since its deficiency affects growth (Young, 1998). When compared with rice (194 mg/100 g), the pseudocereals present the statistically significant highest values (532–417 mg/100 g), however His qualifies as no limiting amino acid for none of the samples.

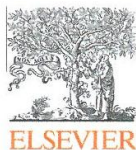
Due to the fact that analytical resources were not available to determine Try, borrowed values were taken from USDA database and following the approach suggested by Southgate and Greenfield. Using these values for PDCAAS calculation as described by (WHO, 2007) a score higher than 1 was found for each of the pseudocereals which indicates Try is not limiting (USDA, 2011). Wei et al. (2003) evaluated amino acid profile and found similar values for Try in buckwheat, although reporting lower levels the score remains higher than 1.

4. Conclusions

A methodology to characterise amino acids in pseudocereals is developed in compliance with available Data Quality Evaluation Systems. Through the use of these systems reliable results can be guaranteed to assist users and compilers of analytical data for pseudocereals allowing compare and evaluate analytical data from several sources. According with the obtained results pseudocereals constitute a richest source of amino acids higher than rice and could be an alternative to rice in gluten-free diets. These considerations reinforce the importance of quinoa and buckwheat due to highest content of Lys found in these pseudocereals. Studies to understand the amino acids bioavailability and bioaccessibility in pseudocereals food products are ongoing. These results will be used to estimate amino acids dietary intake of Portuguese celiac patients and to understand their role in health status.

References

- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Trends in Food Science & Technology*, 21(2), 106–113. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2009.10.014>.
- Bergamo, P., Maurano, F., Mazzarella, G., Gianfrani, C., & Rossi, M. (2011). Immunological evaluation of the alcohol-soluble protein fraction from gluten-free grains in relation to celiac disease. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(8), 1266–1270. <http://dx.doi.org/10.1002/mnfr.201100132>.
- Bhagwat, S. A., Patterson, K. Y., & Holden, J. M. (2009). Validation study of the USDA's data quality evaluation system. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(5), 366–372. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2008.06.009>.
- Boogers, I., Plugge, W., Stokkermans, Y. Q., & Duchateau, A. L. L. (2008). Ultra-performance liquid chromatographic analysis of amino acids in protein hydrolysates using an automated pre-column derivatization method. *Journal of Chromatography A*, 1189, 406–409. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2007.11.052>.
- Boye, J., Wijesinha-Bettoni, R., & Burlingame, B. (2012). Protein in quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method. *The British Journal of Nutrition*, 108(Suppl.), S183–S211. <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114512002309>.
- Gastanheira, L., Matos, A. S., Coelho, I., Gueifão, S., Roe, M., Galhau, M. A., et al. (2011). Six Sigma scale as a quality criterion for aggregation of food property measures. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(8), 1153–1159. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2011.06.001>.
- Charrondiere, U. R., Burlingame, B., Berman, S., & Elmadfa, I. (2011). *Food composition study guide* (Vol. 1). Rome.
- Christa, K., & Soral-Smietana, M. (2008). Buckwheat grains and buckwheat products—nutritional and prophylactic value of their components—a review. *Czech Journal of Food Sciences*, 26(3), 153–162.
- Fabio, Schoenlechner, R., Siebenhandl, S., & Berghofer, E. (2008). Pseudocereals. In E. K. Arendt & Dal Bello (Eds.), *Gluten-free cereal products and beverages* (pp. 149–191).
- FAO (1973). Energy and protein requirements. *Report of a joint FAO/WHO ad hoc expert committee*. FAO Nutrition Meetings N. 52. Rome.
- FAO Food nutrition (2002). *Food energy – methods of analysis and conversion factors*. Rom.
- FAOSTAT (2014). FAOSTAT Gateway. Retrieved May 19, 2014, from <http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/browse/C/CQ/E>.
- Ferreira, T. de C., & Arbas, J. (2004). Protein biological value of extruded, raw and toasted amaranth grain. *Pesquisa Agropecuária Tropical*, 34(1), 53–59.
- Fiechter, G., & Mayer, H. K. (2011). Characterization of amino acid profiles of culture media via pre-column 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate derivatization and ultra performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 879(17), 1353–1360. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.02.003>.
- Gonzalez, J. A., Konishi, Y., Bruno, M., Valoy, M., & Prado, F. E. (2012). Interrelationships among seed yield, total protein and amino acid composition of ten quinoa (*Chenopodium quinoa*) cultivars from two different agro-ecological regions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(6), 1222–1229. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.4686>.
- Gorinstein, S., Pawelzik, E., Delgado-Licon, E., Haruenkit, R., Weisz, M., & Trakhtenberg, S. (2002). Characterisation of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(8), 886–891. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.1120>.
- Greenfield, H., & Southgate, D. A. T. (1992). In FAO (Ed.), *Food composition data* (2nd ed.). <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4615-3544-7>.
- Lupton, J. R. (2005). *Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein, and amino acids (macronutrients)*. Institute of Medicine of the national academies (pp. 1–1357). Washington DC.
- Miranda, M., Vega-Gálvez, A., Quispe-Fuentes, I., Rodríguez, M. J., Maureira, H., & Martínez, E. A. (2012). Nutritional aspects of six quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) ecotypes from three geographical areas of Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(2), 175–181. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392012000200002>.
- Nascimento, A. C., Mota, C., Coelho, I., Gueifão, S., Santos, M., Matos, A. S., et al. (2014). Characterisation of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays* L.) consumed in the North of Argentina: Proximates, minerals and trace elements. *Food Chemistry*, 148, 420–426. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.155>.
- Norton, L. E., & Layman, D. K. (2006). Leucine regulates translation initiation of protein synthesis in skeletal muscle after exercise. *The Journal of Nutrition*, 136(2), 533S–537S.
- Oseredczuk, M., & Westenbrink, S. (2013). *Report on integrated data quality evaluation system. Technical Report D1.8*. Brussels. Retrieved from Available at http://www.eurofir.org/?page_id=12.
- Oseredczuk, M., Salvini, S., Roe, M., & Møller, A. (2009). *Guidelines for quality index attribution to original data from scientific literature or reports for EuroFIR data interchange (revised edition)*. Technical report D1.3.21. Brussels. Retrieved from http://www.eurofir.org/?page_id=12.
- Salvini, S., Oseredczuk, M., Roe, M., Møller, A., & Holden, J. (2009). *Guidelines for quality index attribution to original data from scientific literature or reports for EuroFIR data interchange (revised edition)* (pp. 1–37). Brussels. Retrieved from Technical Report D1.3.21. EuroFIR AISBL, Brussels. Available at http://www.eurofir.org/?page_id=12.
- Schaefer, G. W., & Sharpe, F. T. (1997). Free and bound amino acids and proteins in developing grains of rice with enhanced lysine/proteins. *Theoretical and Applied Genetics*, 94(6–7), 878–881. <http://dx.doi.org/10.1007/s001220050490>.
- USDA (2011). *NDI/FNDC food composition database home page*. Retrieved May 16, 2014, from <http://ndb.nal.usda.gov/>.
- Waters (2006). *UPLC amino acid analysis application solution*. MA, USA: Milford.
- Wei, Y.-M., Hu, X.-Z., Zhang, G.-Q., & Ouyang, S.-H. (2003). Studies on the amino acid and mineral content of buckwheat protein fractions. *Die Nahrung*, 47(2), 114–116. <http://dx.doi.org/10.1002/food.200390020>.
- WGO (2012). Celiac disease. *World gastroenterology organisation global guidelines* (pp. 1–25).
- WHO (2007). Protein and amino acid requirements in human nutrition (WHO technical report series no. 935). *World Health Organization technical report series*. Geneva, Switzerland.
- Young, V. (1998). Human amino acid requirements: Counterpoint to Millward and the importance of tentative revised estimates. *The Journal of Nutrition*, 128(9), 1570–1573.
- Young, V. R., & Borgonha, S. (2000). Nitrogen and amino acid requirements: The Massachusetts Institute of Technology amino acid requirement pattern. *The Journal of Nutrition*, 130(7), 1845S–1849S.
- Young, V. R., & Pellett, P. L. (1994). Plant proteins in relation to human protein and amino acid nutrition. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 59(Suppl.), 1203S–1212S.
- Zevallos Ellis Julia, Victor F., Ciclitira, H., Tanja Suligoi Herencia, L., & Irene, J. P. (2012). Variable activation of immune response by quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) prolamins in celiac disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 96, 337–344. Retrieved from <http://ajcn.nutrition.org/content/96/2/337.full.pdf.html>.
- Zevallos, V. F., Herencia, L. I., & Ciclitira, P. J. (2014). Gastrointestinal effects of eating quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) in celiac patients. *The American Journal of Gastroenterology*, 109(2), 270–278. <http://dx.doi.org/10.1038/ajg.2013.431>.



Characterisation of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays* L.) consumed in the North of Argentina: Proximates, minerals and trace elements



Ana Cláudia Nascimento^a, Carla Mota^a, Inês Coelho^a, Sandra Gueifão^a, Mariana Santos^a, Ana Sofia Matos^b, Alejandra Gimenez^c, Manuel Lobo^c, Norma Samman^c, Isabel Castanheira^{a,*}

^a Food and Nutrition Department, National Institute of Health Doctor Ricardo Jorge, Lisbon, Portugal

^b UNIDEMI, Departamento de Engenharia Mecânica e Industrial, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2829-516 Caparica, Portugal

^c Research Center for Food Technology, Faculty of Engineering University of Jujuy, Argentina

ARTICLE INFO

Article history:

Received 15 April 2013

Received in revised form 25 September 2013

2013

Accepted 30 September 2013

Available online 17 October 2013

Keywords:

Andean cereals

Food composition database

Data quality

EuroFIR

Quality assurance

Gluten-free

ABSTRACT

Quinoa, amaranth and purple corn are Andean cereals largely consumed in North of Argentina. Nutrient analysis with the purpose of inclusion in the Argentinean FCDB and e-search EuroFIR has become urgent matter. In this work proximate and mineral profile of Andean cereals cultivated in the North of Argentina were determined and compared with rice. Proximate analysis showed that Andean cereals have similar profile but significantly higher ($p < 0.05$) than rice. Andean cereals are rich sources of iron, copper, manganese and zinc and better than rice. Phosphorus and magnesium quinoa content could contribute up to 55% of consumers DRI. Andean cereals and rice are poor sources of potassium. To guarantee the interchange of data among users and producers of FCDB component values were obtained in compliance with EuroFIR guidelines for compilation process. Present work provides necessary information to FCDB users who wish to have access to food reference analytical parameters.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*) are known as pseudocereals and purple corn (*Zea mays* L.) is a cereal all of Andean origin cultivated in Argentina for thousands of years after domestication at 3000 B.C years ago. The Argentine people supported in their Andean culture and tradition have maintained and preserved quinoa, amaranth and purple corn as a staple food even during the Spanish conquests period when the crop of these Andean cereals was forbidden (Pedreschi & Cisneros-Zevallos, 2006; Rastogi & Shukla, 2013; Valencia, Encina, Binaghi, Greco, & Ferrer, 2010a).

Quinoa and amaranth are considered crops with large genetic variability and therefore adapted to diverse agro-climatic habitats and edaphic conditions. High yields depending on Germplasm lines and quality trials are obtained in salinity regions, at higher and lower elevations, from sea level up to Himalayas even in monsoon climate or regions with mild seasons (Bhargava, Shukla, Rajan, &

Ohri, 2007; Rastogi & Shukla, 2013). Purple corn is a rare and ancient Andean cereal with large kernels. It is grown for culinary purposes, but has also recently been studied for its health benefits since it apparently has unusually high levels of antioxidants and anti-inflammatory properties, namely anthocyanin (Pedreschi & Cisneros-Zevallos, 2006; Pedreschi & Cisneros-Zevallos, 2007).

In nineties quinoa has been classified by NASA as an emerging crop with excellent nutritional properties for long term human space missions due to its high content in protein and unique amino acid composition in particular in what respects to lysine and sulfur amino-acids (Schlick & Bubenheim, 1993). Meanwhile quinoa and amaranth were introduced in several countries outside of Andean region. Quinoa is also cultivated in England, Sweden, Denmark, the Netherlands, Italy and France. Recently France has reported an area of 200 ha with yields of 1080 kg/ha and Kenya has shown high seed yields (4 t/ha). Purple Corn is also grown in Ecuador, Bolivia and Chile. The strongest interest in amaranth (investigation and production) in Europe has been in Austria, Czech Republic, Slovak Republic, Germany, Hungary, Poland, Russia, Italy and Slovenia. In Canada, United States, Japan, Australia and European Countries these Andean cereals evidence an increasing acceptance

* Corresponding author. Tel.: +351 217519288.

E-mail address: Isabel.castanheira@insa.min-saude.pt (I. Castanheira).

regarding food consumer preferences (Hirose, Fujita, Ishii, & Ueno, 2010; Rastogi & Shukla, 2013; Valencia et al., 2010a).

The interest of these non-Andean countries by these cereals can be explained by their properties as functional gluten-free ingredients of bread, pasta and confectionary products. The importance of this healthy gluten-free products gain major interest since protein availability of these set of cereals was demonstrated in animal and human studies as being better than other common products gluten-free.

The successful application of Andean cereals in foods gluten-free was demonstrated in several studies and recently reviewed by Alvarez-Jubete, Arendt, and Gallagher (2010). The authors have demonstrated that a well-balanced diet in protein, fibre, calcium, iron and vitamin E could be obtained whenever these Andean cereals take part in the diet by replacing other gluten-free ingredients. Moreover, due to their rheological properties, sensory characteristics, nutrient profile and stability the gluten-free formulations based on quinoa or amaranth confers a texture similar to corn based formulations. In parallel, the taste, smell and flavor influence and reinforce consumer preferences (Giménez et al., 2012, 2013).

The nutritional properties of quinoa and amaranth seeds cultivated in Andean region and in Europe were compared by several authors and differences were observed in nutrient content, as well as in flavonoid contents. Quinoa and amaranth are a good source of flavonoids and other bioactive compounds with putative health effects (Rastogi & Shukla, 2013; Valencia, Hellstrom, Pihlava, & Mattila, 2010b). In crops cultivated in Japan a higher content in bioactive compounds was observed when compared to those cultivated in South America (Hirose et al., 2010). Schoenlechner, Wendner, Siebenhandl-Ehn, and Berghofer (2010) have analysed quinoa and amaranth folate profile in bread, noodles and pasta and postulated that quinoa could be an alternative for folate source in normal subjects. Studies performed on animals have recently reported a gastro protective activity of quinoa seeds (Schoenlechner et al., 2010; Stikic et al., 2012). These effects are mainly attributed to Arabinose and arabinose-rich pectic polysaccharides that compose the dietary fibre of quinoa. Studies on genetic variability of 27 lines of quinoa grown on the same climatic conditions have demonstrated a high correlation with nutritional quality. These studies indicated that an accurate estimation of dietary intake should be calculated through local crops.

Recognising the importance of quinoa “in providing food security and nutrition and in the eradication of poverty” the General Assembly of United Nations has designated, in its resolution A/RES/66/221, the year 2013 as being the International Year of quinoa.

In the last decade the consumption of quinoa and amaranth has growth substantially across the world (Giménez et al., 2013). In spite of their nutritional importance only a few Food Composition Databanks (FCDB) include quinoa and amaranth as part of their food composition data (EUROFIR, 2013). This information is available in USA and Canada Databanks, both from the same analytical data source (EuroFIR, 2013). Information on purple corn composition is even more deficient. Therefore and as far as the authors are aware, no analytical work that involves quinoa, amaranth and purple corn was reported with the purpose of inclusion in a FCDB.

The aim of this work was to characterise proximate and mineral profile of quinoa, amaranth and purple corn consumed in the north of Argentina and originated from Jujuy Province crops. The study was framed by accepted EuroFIR quality criteria with the purpose of guaranteeing data results reliability and future inclusion in Argentinean Food Composition Data and throughout other national food composition databases be included in EuroFIR e-search. A second objective was to compare nutrient profile of these Andean cereals with rice as gluten-free ingredients of cereals based foods.

2. Materials and methods

2.1. Samples and sample preparation

Samples of quinoa, amaranth and purple corn complete seeds were obtained from a Cooperative of Producers (CAUQUEVA-Tilcara, Jujuy, Argentina). White polished rice was obtained from local factories in Portugal (Ribatejo). Primary samples were taken according to a selective sampling plan. In this phase five samples of each material were collected just once for purple corn and amaranths. Quinoa and rice samples were collected in two consecutive years.

The samples were immediately prepared after receipt in the laboratory. Quinoa was washed for 20 min with tap water with the aim to eliminate bitter taste and toxic saponins. Washed grains were dried at 45 °C for 12 h. Dried seeds were packed in vacuum bags and stored at room temperature until they used in analysis and processing. Amaranth, purple corn and white rice samples seeds were homogenised and milled using a high speed grinder, a knife mill GRINDOMIX GM 200 equipped with titanium knives to prevent contamination. The prepared samples were stored in vacuum bags at room temperature until processing. The food products were analysed raw.

2.2. Reagents and chemical standards

All reagents were of high analytical grade. Deionised water of level 1, as EN ISO 3696, was used for the preparation of all solutions. The nitric acid (65%) and hydrogen peroxide solutions used were of ultrapure grade, and nitric acid (65%) was first distilled, in acid distillation system (Milestone SubPUR).

A 2% concentration solution of nitric acid was used to prepare working standard solutions, to dilute samples and to prepare blanks. A nitric acid solution with a 2–4% concentration was used to wash up the ICP-OES and ICP-MS sample introduction system.

Working multi-element standard solutions were prepared from mono-element high purity ICP stock standards containing 1000 mg/L of each element (Copper, Manganese, Iron, Zinc, Magnesium, Calcium, Phosphorus, Sodium and Potassium).

Working multi-element standard solutions of Nickel, Molybdenum, Strontium, Vanadium, Lithium, Cobalt, Selenium were prepared from multi-element solution XVI (21 elements diluted in acid nitric), high purity ICP stock standard 100 mg/L.

2.3. Analysis

2.3.1. Proximate

2.3.1.1. Moisture and ash contents. Moisture content was determined by gravimetric method, using a dry air oven from Heraeus Instruments, Hanau, Germany, at 102 °C ± 2 °C during 2 h, using 5 g of sample, until constant weight (AOAC 952.08, 2000); EuroFIR Method indicator ME1103. Total ash analysis was carried out in a muffle furnace M110 (Heraeus Instruments, Hanau, Germany) at 525 °C ± 25 °C for 20 h, using 5 g of sample, until constant weight, according to AOAC 923.03 (2000); EuroFIR Method indicator MI 1018.

2.3.1.2. Extraction and quantification of total fat. Total fat determination was performed with an acid hydrolysis method (AOAC 948.15, 2000) – EuroFIR Method indicator MI 1202 – followed by extraction using a Soxhlet apparatus (Soxtec™ 2050) for 1 h 30 min with petroleum ether (40–60 °C), as the extraction solvent. The residue obtained was dried for 1 h 30 min at 102 °C ± 2 °C, until constant weight.

2.3.1.3. Extraction and quantification of total protein. Each sample was analysed in duplicate for total nitrogen by the Kjeldahl method in combination with a copper catalyst using a block digestion system Foss Tecator 2006 Digestor (Höganäs, Sweden) and a Foss 2800 Kjeltac AutoDistillation unit (Foss Tecator) (AOAC 991.20, 2000); EuroFIR Method indicator MI 1039. The protein content was calculated by using 6.25 for pseudocereals and purple corn and 5.95 for rice the conversion factors, according to FAO, (1973).

2.3.1.4. Extraction and quantification of fibre. The content of total dietary fibre (TDF) was determined by the enzymatic–gravimetric method (AOAC, 2000); EuroFIR Method indicator MI 1307. Samples were weight in duplicate (0.5 g) and enzymatic digestion with α -amylase, protease and amyloglucosidase was applied. A duplicate blank assay was performed using the same procedure than digested samples.

2.3.1.5. Extraction and quantification of starch and amylose. The content of amylose was determined by a test kit (Megazyme kit – K-AMYL 07/11) which is a modification of a Con A method developed by Yun and Matheson (1990). It uses an ethanol pre-treatment step to remove lipids prior to analysis [modified from Morrison and Laignet (1983)]. The concentration of amylose in the starch sample is estimated as the ratio of Glucose oxidase–peroxidase (GOPOD) reagent absorbance at 510 nm of the supernatant of the Con A precipitated sample, to that of the total starch sample. The content of starch was determined by a test kit (Megazyme kit – K-TSTA 07/11). Total starch assay kit is based on the use of thermostable α -amylase and amyloglucosidase (McCleary, Gibson, & Mugford, 1997). This method has been adopted by AOAC (Official Method 996.11) and AAC (Method 76.13), EuroFIR Method indicator MI 1060.

2.3.2. Mineral and trace elements

Samples digestions were undertaken using a closed-vessel microwave digestion system, Milestone ETHOS 1 Series; EuroFIR Method indicator MI 1196. Cereals samples powders were weighted (0.5 g) to proper Teflon digestion vessels. A mixture of concentrated nitric acid (4 mL), hydrogen peroxide (1 mL) and deionised water (3 mL) was carefully added, and vessels were properly closed and introduced into the microwave oven. A microwave program was established and optimised. Vessels were thereafter cooled to room temperature and digested samples were diluted up to 25 mL with deionised water, for subsequent determination of minerals and trace elements. To assess possible contamination, blank solutions were prepared containing the same reagents and using the same procedure as the samples and standards. An inductively coupled plasma optical emission spectrometer, ICP-OES Thermo iCAP 6000 series, with radial and axial configuration, was used for Cu, Mn, Fe, Zn, Mg, Ca, P, Na and K determinations; EuroFIR Method indicator MI 1305. After an interferences study, measurements were performed at the following emission lines (nm): Cu 324.754, Mn 259.306, Fe 259.940, Zn 213.856, Mg 279.553, P 178.284 or 177.495, Ca 184.006, Na 589.592, K 769.896. ICP-OES operating conditions were optimised as follows: Auxiliar Flow: 0.5 L/min, Plasma Orientation: radial or axial, RF power: 1200 W, Peristaltic pump's speed (Flush pump rate and analysis pump rate): 50 rpm, Pump stabilisation time: 5 s, Integration time in UV and Visible: 15 and 10 s.

An inductively coupled plasma Mass spectrometer, ICP-MS Thermo X series II, was used for determination of the following trace elements: ^{60}Ni , ^{95}Mo , ^{88}Sr , ^{51}V , ^7Li , ^{59}Co , ^{82}Se ; EuroFIR Method indicator MI 1209. Operating conditions for ICP-MS were optimised as follows: Extraction: -113.7 , Focus: 10.0 Pole Bias: -0.1 , Hexapole Bias: -3.0 , Nebulizer flow rate: 0.87 L min^{-1} , Forward Power: 1404 W , Cool gas flow rate: 13.0 L min^{-1} , Auxiliary gas flow

rate: 0.90 L min^{-1} , Sampling Depth: 120, Standard Resolution: 135, High Resolution: 150, Analogue Detector: 1902, PC Detector: 3353.

2.4. Quality assurance and quality control

The optimisation of analytical conditions, including the sample digestion process, was carried out under an Internal Quality Control procedure implemented in laboratory and in accordance with EuroFIR guidelines for laboratory analysis. This included criteria on sample handling, appropriate analytical method and adequate internal and external analytical quality control.

For ICP-OES and ICP-MS analysis two multi-element standard solutions were prepared as working multi-element standard solutions, but from stock standards of a different brand or lot. These quality control solutions were measured during the same assay session in intervals of 10–12 samples and with an acceptance criterion of $\pm 10\%$. All analyses were carried out in triplicate and/or duplicate.

Methods performances were monitored by analysing appropriate reference materials and are shown in Table 1 – Laboratory performance was guaranteed by regular participation in proficiency testing (PT) schemes launched by PT providers.

3. Results and discussion

3.1. Analytical data quality assurance

Quality assurance results for proximate, mineral and trace elements analysis of cereals and pseudocereals under study are presented in Table 1. This study included appropriate analytical method criteria in terms of precision and accuracy, limit of quantification (LoQ), selectivity, and an effective internal and external quality control program including appropriate use of Certified Reference Materials (CRM) and participation in adequate PT Schemes. Accuracy was determined by Certified Reference Materials or Recovery of spiked samples with chemical standards. For all assays the values obtained were within acceptance criteria range. The laboratory competence was successfully demonstrated in Proficiency testing program launched by providers complying with ISO 17043. All the methods were validated following EuroFIR guidelines.

The choice of internal standards was a critical parameter for ICP-MS analysis. The effect of Internal Standard (IS) concentrations was monitored by comparing the added amount with the recovery percentages.

3.2. Quality index of data enter in FCDB

Another important aspect of quality assurance in FCDB is the quality assessment system applied by compilers to assess the FCDB data quality. This is a global issue in the FCDB data compilation process, and laboratories who intend to produce this type of analysis should be aware of this recommendation. Moreover, quality scores associated to nutrient data are widely accepted for enhancing general information of FCDB users and stakeholders. These circumstances require appropriate methodologies for analytical and compilation activities that guarantee confidence in the values entered into FCDBs. Several countries have developed a Quality System to evaluate the level of data that can be part of published data (Bhargava et al., 2007). In Europe EuroFIR recently published the quality assessment and the quality index guidelines. All categories (food description, sampling, number of samples, analytical method, laboratory performance and quality control) were revised and validated by EuroFIR compilers, and precise guidelines for their assessment were defined. For relevant nutrients and food

Table 1
Quality assurance results for nutrient analysis of cereals under study.

Parameter	Units	Method of analysis	LoQ	SRM/CRM/QCM	Certified Value \pm U	Analysed values
<i>Proximate</i>						
Protein	g/100 g	Kjeldahl	0.3	(ii) NIST 3244	66.1 \pm 1.3	65.6–66.3
Moisture	g/100 g	Oven-drying	0.1	(iii) NIST 1846	1.98 \pm 0.27	1.77–1.91
Ash	g/100 g	Ignition in muffle furnace	0.1	(iv) NIST 2383	1.09 \pm 0.04	1.09–1.11
Fat	g/100 g	Acid digestion, ether extraction	0.1	(v) BCR 381	1.06 \pm 0.20	0.86–0.94
Fibre	g/100 g	AOAC 985.29	0.4	(vi) BIPEA 20/310	23.4 \pm 3.0	22.4–22.6
<i>Mineral</i>						
Copper	mg/kg	ICP-OES	0.02	(i) NIST 1548a	2.3 \pm 0.16	2.2–2.5
Manganese	mg/kg		0.01		5.7 \pm 0.17	5.2–5.7
Iron	mg/kg		0.05		35 \pm 3.77	28–34
Zinc	mg/kg		0.05		25 \pm 1.79	23–26
Magnesium	mg/kg		0.4		580 \pm 26.7	550–600
Calcium	mg/kg		0.2		1970 \pm 113	1910–1960
Phosphorus	mg/kg		0.4		3490 \pm 245	3300–3570
Sodium	mg/kg		1.0		8130 \pm 942	7760–8420
Potassium	mg/kg		1.0		6970 \pm 125	6660–7240
<i>Trace elements</i>						
Molybdenum	μ g/kg	ICP-MS	0.50	(i) NIST 1548a	260 \pm 17	249–254
Strontium	μ g/kg		0.50		2930 \pm 100	2665–2951
Cobalt	μ g/kg		0.25		28 ^a	21–27
Lithium	μ g/kg		0.25	Recovery	80 – 120 (%)	104–120 (%)
Vanadium	μ g/kg		0.25			100–112 (%)
Nickel	μ g/kg		0.50			97–102 (%)
Selenium	μ g/kg		0.50			80–107 (%)

(i) NIST SRM 1548a Typical Diet, National Institutes of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA.

(ii) NIST 3244 – Ephedra – Containing Protein Powder, National Institutes of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA.

(iii) NIST SRM 1846 – Infant Formula, National Institutes of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA.

(iv) NIST SRM 2383 – Baby Food Composite, National Institutes of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA.

(v) BCR 381 – Rye Flour – Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM), European Commission (EC).

(vi) BIPEA – International Bureau for Analytical Studies, Proficiency Testing Programs – Product riche en fibres – Valeur Calorique indicative value (Quality Control Material).

^a Indicative value for Cobalt.

groups a test of this new system was conducted in EuroFIR Nexus. Therefore, in order to assess data quality produced in this work seven categories are presented in Table 2. For each category only relevant criterion is considered. As it can be verified in what respects to each of the foods being considered in the present study, a positive answer can be obtained. Sampling plan as recommended in guidelines was not applied because data representativity can be aggregated as a normal procedure of compilation process (Westenbrink, Oseredczuk, Castanheira, & Roe, 2009). The aggregation criteria were also discussed in Castanheira et al. (2011). First criterion is food description. Therefore the scientific name and geography origin of cereals are described in Table 3. The name of the components is in agreement with the prioritised list of nutrients published by EuroFIR and they are well characterised as minerals and proximate (Westenbrink et al., 2009). Detailed information concerning quality control and appropriated reference materials are described in Table 1. Therefore for quinoa, amaranth, rice and purple corn detail information for compilers is given. This is a guarantee that values can enter in Argentina and Portugal food composition databank to be part of data used in EuroFIR e-platform and fulfills the check list defined by EuroFIR.

3.3. Proximate analysis

The proximate composition of quinoa, amaranth, purple corn and rice, including dietary fibre, are presented in Table 3. All the values are evaluated by appropriate quality control procedures as a guarantee of reliability and further comparability. The moisture of Andean cereals varies between 10.00 g/100 g (purple corn) and 11.30 g/100 g (quinoa), and 13.10 g/100 g, (rice). These values were in the range usually found in other commercial varieties of Andean cereals (Alvarez-Jubete et al., 2010). The protein contents (>12 g/100 g) of the Andean pseudocereals were much higher than those of rice indicating that both quinoa and amaranth constitute a rich

source of protein. These values are in agreement with those reported in Bhargava, Patterson, and Holden (2009), who studied three germplasm lines originated from Jujuy/Argentina. The current fat levels of quinoa and amaranth (6.31 g/100 g to 6.43 g/100 g) were much higher than in the rice samples (0.60 g/100 g). These values are in line with those reported for white rice, long grain, regular, raw, unenriched reported in several FCDB including USDA (EUROFIR, 2013) and lower than the values determined by Ruales and Nair (1993). The content of dietary fibre present similar values to those reported in USDA FCDB and, once more, lower than the values found by Ruales and Nair (1993). Nevertheless all these crops presented from 7 to times higher fibre content than rice, confirming that the Andean crops constitute a good source of dietary fibre. The starch values are in line to those reported by Atwell, Patrick, Johnson, and Glass (1983), who have reported a range of 51 g/100 g–61 g/100 g, which can have an application in emulsion food products or even as biodegradable fillers in low-density polyethylene (LDPE) films (McCleary et al., 1997). The ash content between quinoa and amaranth does not reveal significant differences, but the rice's ash content was significantly lower than the one found in quinoa, amaranth and purple corn. This finding is expected and complies with the values typically reported in literature (Valencia et al., 2010a,b).

3.4. Mineral and trace analysis

3.4.1. Digestion procedure

The sample preparation including closed vessel microwave digestion is a slow step of overall analytical process. Therefore a consistent development of microwave digestion was necessary and was carried out, using spiked samples as parameters to control the efficiency of decomposition procedure. Recovery rates (80 < R% < 120) of spiked solutions were used to check acceptance criteria following the methodology developed by for Quality Index

Table 2
Evaluation of quality of foods studied and their analysis to score quality index, as defined by EuroFIR.

Category	Criteria of assessment	Answer			
		Quinoa	Amaranthus	Maize	Rice
Food Description	Is the food group (e.g. beverage, dessert, savoury snack, pasta dish) known?	Y	Y	Y	Y
	Was the food source of the food or of the main ingredient provided (best if scientific name included, cultivar/variety, genus/species, etc.)?	Y	Y	Y	Y
	Was information about the geographical origin of the food provided?	Y	Y	Y	Y
Component identification	Was the moisture content of the sample measured and the result given?	Y	Y	Y	Y
	Is the component described unambiguously?	Y	Y	Y	Y
	Is the unit unequivocal?	Y	Y	Y	Y
Sampling Plan	Is the matrix unit unequivocal?	Y	Y	Y	Y
		N	N	N	N
Sampling Handling	If relevant, were appropriate stabilisation treatments applied (e.g. protection from heat/air/light/microbial activity)?	Y	Y	Y	N.A.
Analytical Method	Were the samples homogenised?	Y	Y	Y	Y
	Does the analytical method used in the source match the list of appropriate analytical methods given in the guidelines for analytical methods?	Y	Y	Y	Y
Analytical quality control	Are the key method steps appropriate for the method described?	Y	Y	Y	Y
	Were analytical portion replicates tested?	Y	Y	Y	Y
	Was the laboratory accredited for this method or was the method validated by performance testing?	Y	Y	Y	Y
	If available, was an appropriate reference material or a standard reference material used?	Y	Y	Y	Y

Y – yes, N – no; N.A. – not applicable.

Table 3
Proximate and inorganic content of foods under study.

Parameter	Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i>) (Jujuy-Argentina)	Amaranth (<i>Amaranthus caudatus</i>) (Jujuy-Argentina)	Purple Corn (<i>Zea mays</i> L.) (Jujuy-Argentina)	Rice (<i>Oriza sativa</i>) (Ribatejo-Portugal)
Proximate	g/100 g			
Moisture	11.30 ± 0.05	10.50 ± 0.04	10.00 ± 0.03	13.10 ± 0.03
Ash	2.01 ± 0.02	2.89 ± 0.01	1.71 ± 0.02	0.42 ± 0.05
Protein	12.10 ± 0.3	13.4 ± 0.2	9.10 ± 0.1	7.10 ± 0.3
Fat	6.31 ± 0.11	6.43 ± 0.09	1.80 ± 0.02	0.60 ± 0.02
Fiber	10.40 ± 0.60	11.30 ± 0.5	11.20 ± 0.4	1.50 ± 0.1
Starch	57.20 ± 0.6	55.30 ± 0.7	57.70 ± 0.6	76.80 ± 0.8
Amylose	19.70 ± 0.5	23.70 ± 0.5	27.10 ± 0.5	29.20 ± 0.6
Trace elements	µg/100 g			
Molybdenum	22.8 ± 0.68	<LoQ	n.d.	30.4 ± 0.34
Strontium	160 ± 11.3	<LoQ	119 ± 7.4	15.1 ± 0.57
Cobalt	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ
Lithium	7.95 ± 0.58	<LoQ	9.48 ± 0.21	<LoQ
Vanadium	6.66 ± 0.62	7.19 ± 0.22	9.01 ± 0.42	n.d.
Nickel	16.3 ± 0.72	16.4 ± 3.7	8.50 ± 0.39	<LoQ
Selenium	<LoQ	<LoQ	2.91 ± 0.16	<LoQ
Minerals	mg/100 g			
Copper	0.59 ± 0.03	0.51 ± 0.01	0.16 ± 0.004	0.12 ± 0.001
Manganese	1.95 ± 0.10	1.51 ± 0.05	0.57 ± 0.01	0.83 ± 0.02
Iron	5.46 ± 0.02	9.62 ± 0.12	2.78 ± 0.31	0.22 ± 0.01
Zinc	2.93 ± 0.07	5.55 ± 0.36	2.54 ± 0.03	0.95 ± 0.03
Magnesium	197 ± 8.1	231 ± 6.9	118 ± 0.83	27 ± 0.09
Calcium	44 ± 1.7	165 ± 9.3	<LoQ	<LoQ
Phosphorus	468 ± 15	527 ± 13	291 ± 3.6	107 ± 2.4
Sodium	<LoQ	<LoQ	<LoQ	<LoQ
Potassium	664 ± 16	530 ± 20	458 ± 3.5	91 ± 3.1

n.d.: not determined.
LoQ: limit of quantification.

of data that enter in FCDBs (Bhargava et al., 2009). Initial setting conditions were applied using manufacturers' instructions for cereals although this was not a useful approach. Thus a strategy based on literature survey was carried out. Different sample quantities (250–500 mg) were submitted to several irradiation powers (1000–1500 W) and irradiation times (2–20 min). Various strongly oxidant media, consisting of nitric acid and hydrogen peroxide mixtures in different ratios, were tested. In food matrices microwave digestion conditions profile (temperature/time) largely depend on the content of major components. The digestion period was carried out in a five step program and presented in Table 4. The first step conducting at 180 °C was applied to start the decom-

Table 4
Optimised conditions for microwave assisted digestion of cereals analysed by ICP-MS and ICP-OES.

Step	Time (min)	Temperature (°C)	Power (W)
1	850	180	10
2	0	180	5
3	1100	210	6
4	0	210	5
5	650	90	6

position of organic matter (mainly proteins) followed by a step of raising the irradiation conditions to destroy lipids, the last step

Table 5
Contribution of Andean cereals to the daily dietary intake of prioritised minerals in adults, expressed in % (obtained nutrient value per 100 g of food)/dietary reference intakes.

Life group	Cereals	DRI	Ca	Cu	Fe	Mg	Mn	P	Zn	K
		1000 (mg/d)	900 (µg/d)	8 (mg/d)	420 (mg/d)	2.3 (mg/d)	700 (mg/d)	11 (mg/d)	4.7 (g/d)	
19–50	Rice	n.d.	13	3	6	36	15	9	2	
	Purple corn	n.d.	18	38	28	25	42	24	10	
	Quinoa	4	66	69	47	85	67	26	14	
	Amaranth	17	57	120	55	66	75	51	11	
		1200 (mg/d)	900 (µg/d)	8 (mg/d)	420/320 ^a (mg/d)	2.3/1.8 ^a (mg/d)	700 (mg/d)	11/8 ^a (mg/d)	4.7 (g/d)	
>50	Rice	n.d.	13	3	6/8 ^a	36/46 ^a	15	9/13 ^a	2	
	Purple corn	n.d.	18	38	28/37 ^a	25/32 ^a	42	24/33 ^a	10	
	Quinoa	4	66	69	47/62 ^a	85/108 ^a	67	26/36 ^a	14	
	Amaranth	14	57	120	55/72 ^a	66/84 ^a	75	51/70 ^a	11	

DRI – dietary reference intakes.

^a Female.

runs in the absence of microwave irradiation for safety precautions and to avoid occurrence of uncontrolled reactions. To avoid polyatomic interferences during ICP-MS analysis formation of HN03/H2O2 mixtures were used instead of each reagent alone. Solutions containing HN03/H2O2 (7/1) ratios were not effective for promoting complete sample digestion. Yellowish colour was observed, at high nitric acid contented that can be due to incomplete decomposition of lipids. Suitable conditions (recovery better than 80% and bias under 5%) were achieved by the use of HN03/H2O2/H2O (4/2/2) in combination with the selected program (irradiation time, temperature and power). After this, experimental design was applied for establishing the combination between most critical digestion parameters and sample weight. Maximum analytical amount was calculated in agreement with Dolen and Capar (2002), taking into account the food energy and maximum vessel energy capacity. The mineralisation program that obtained the best performance is presented in Table 4 which was considered for a recovery rate around 95%. This is in agreement with the values reported in literature for samples with similar proteins/fat ratio (Noël et al., 2012).

3.4.2. Contents in mineral and trace elements

Minerals were determined by ICP-OES. The mean values of mineral contents for Andean cereals and rice, respectively for copper, manganese, iron, zinc, magnesium, calcium sodium, phosphorus and potassium, are present in Table 3.

Sodium content is below LoQ (<10 mg/100 g) for all analysed samples. Also for calcium in purple corn and rice the values were below LoQ (<10 mg/100 g). As can be seen in Table 3, Quinoa, amaranth and corn purple contained significantly higher amounts of all the minerals under study, when compared with white raw rice (with corn purple manganese as an exception for being lower than rice). Our results are in agreement with several authors that reported quinoa and amaranth as rich sources of minerals (Alvarez-Jubete et al., 2010; James, 2009; Konishi, Hirano, Tsuboi, & Wada, 2004; Ruales & Nair, 1993; Valencia et al., 2010a; Vega-Galvez et al., 2010). When comparing the three Andean cereals (quinoa, amaranth and purple corn) in what respects to mineral content and as evidenced by Table 3, quinoa presented the highest copper, manganese and potassium content levels, while amaranth reveals the highest content of iron, zinc, magnesium, calcium and phosphorus. Purple corn when compared to quinoa presents the lowest content for almost all minerals with an exception for zinc. James (2009) reported higher amounts of copper, manganese, zinc, calcium and sodium in quinoa originated from other Andean regions. Regarding amaranth, the results shown in Table 3 were compared with those obtained by Rastogi and Shukla (2013) who studied different genotype variability, for cereals grown in India. For phosphorus, potassium and zinc, our results were higher than those reported, but lower for magnesium, iron, copper and calcium.

Quinoa and amaranth's mineral concentration deviations from the results reported by the literature can be explained by different genotypes, type of soil, mineral composition of the soil and fertiliser type (Vega-Galvez et al., 2010). Treatments like dehulling, washing or polishing that can cause the loss of several minerals (James, 2009; Konishi et al., 2004; Stickic et al., 2012), as phosphorus, magnesium and potassium are located on embryonic tissues, while calcium and also potassium are found in pericarp and seed coat. The use of abrasive processes may well explain these eventual losses and therefore the lower contents especially in the case of calcium level (Konishi et al., 2004; Vega-Galvez et al., 2010).

Table 3 presents trace element contents determined by ICP-MS. As can be seen some trace elements were found below the quantification limit. High selenium content was found in purple corn, suggesting that it is a good source of this essential nutrient. When trace element content results obtained in our study are compared to those reported by Ruales and Nair (1993), one can evidence the similarity of results for the cases of molybdenum and selenium (also with lower amounts in quinoa), but higher levels in what respects to nickel. These differences may be explained by the fact that Ruales and Nair (1993) used not only different analytical conditions but also polished and washed quinoa seeds. According with this author the treatment to remove saponins which include polishment and washing reduce the mineral contents. These differences should be taking into account when compilers aggregate data.

3.5. Contributions of Andean cereals to nutrient intake of essential elements

Contributions of mineral intake expressed in % of DRI, based on 100 g of cereals and calculated as determined by the Institute of Medicine of National Academies (IMO, 2013) are shown in Table 5, considering target population age from 19 years old up to senior population. The contribution for DRI varies between 2% (potassium in rice) and 120% (iron in amaranth).

As we can see, the consumption of quinoa and amaranth could cover higher nutritional requirements than rice. Amaranth has higher contribution to mineral intake, even higher than quinoa. This has a high importance for people who have celiac disease, since almost all gluten-free cereals have a poor content of calcium, magnesium and iron (Alvarez-Jubete et al., 2010). Andean cereals and pseudocereals studied can be a rich source of minerals and trace elements for all population. In North of Argentina a shortage of minerals intake was identified which does not occur at moment in Portugal. Although population from both countries with different food habits can consumed Quinoa and Amaranthus as a source of iron and magnesium. Nevertheless studies are necessary to clarify the iron bioavailability present in these products. They can be as

well as a good source of calcium to complement consumption of dairy products.

As we can infer from calculated contribution expressed in Table 5, quinoa and amaranth contribute with slightly upper than 50% of DRI's for copper, iron, manganese, magnesium and phosphorus. For zinc the contribution is higher in amaranth. The contribution of purple corn for the DRI's of copper, iron, manganese, magnesium, phosphorus and zinc range from 18% (copper) to 42% (phosphorus). All the Andean cereals and rice are a poor source of potassium. Our results are in the range of those reported by James (2009).

Calcium, magnesium and iron are minerals that are deficient in gluten-free products and in the gluten-free diet. The high calcium content in amaranth seeds may be of special relevance for celiac subjects due to the well known prevalence of osteopenia and osteoporosis among celiac patients.

4. Conclusions

Quinoa, amaranth and purple corn originated from Jujuy Argentina have higher nutritional values when compared to rice. Furthermore their nutrient profiles in terms of protein content, minerals and trace elements are different from other varieties of quinoa and amaranth produced in other Andean regions. This needs to be taken in consideration when compilers aggregate data. Furthermore, a detailed documentation to trace back aggregate data to original analytical values is necessary as part of compilation process. As far as we know this is the first work reported analytical values on this Andean food products with the purposed to be included in a FCDB.

The differences found in the mineral profile of quinoa and amaranth studied in this work, when compared with the literature, reinforces the necessity to include original data in Argentina food composition databank. Furthermore the data presented in our study indicated that the values are different from those published in other food composition databanks. The findings are in agreement with food composition experts who advocates the need of national food composition data and biodiversity data. Quality control procedures implemented in this work are a guarantee of reliability of the analytical procedures. Moreover guidelines for laboratory performance are paramount to enhance the acceptability of values in LATIN FOODS and other Food Data regional organisations. Quality criteria applied can guarantee that data can be interchanged through e-search EuroFIR platform.

This provides necessary information to the users of Food Composition Databanks who wish to have an overview of the parameters which influence the estimation of nutrient intake, and may affect the diet-disease relationship. Therefore the data obtained can be used to evaluate the nutritional value of the food being consumed by the population and to implement national public nutrition health policies.

Nevertheless, more studies are recommended in order to cover a broader range of components, including all micronutrients and their bioavailability and bioaccessibility. These are crucial for accurate dietary intake estimation. Therefore co-operation between International Organizations such as EuroFIR and LATIN FOODS is underway.

References

- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., & Gallagher, E. (2010). Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients. *Food Science & Technology*, 21, 106–113.
- AOAC (2000). Association of Official Analytical Chemists. In *Official methods of analysis chemists* (17th ed.). Washington, DC.
- Atwell, W. A., Patrick, B. M., Johnson, L. A., & Glass, R. W. (1983). Characterization of quinoa starch. *Cereal Chemistry*, 60, 9–11.
- Bhargava, S. A., Patterson, K. Y., & Holden, J. M. (2009). Validation study of the USDA's data quality evaluation system. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 366–372.
- Bhargava, A., Shukla, A., Rajan, S., & Ohri, D. (2007). Genetic diversity for morphological and quality traits in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) germplasm. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54, 167–173.
- Castanheira, I., Matos, A. S., Coelho, I., Gueifão, S., Roe, M., Calhau, M., et al. (2011). Six sigma scale as a quality criterion for aggregation of food property measures. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 1153–1159.
- Dolen, P. S., & Capar, S. G. (2002). Multi-element analysis of food by microwave digestion and inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15, 593–615.
- European Food Information Resource-AISBL. <http://www.eurofir.net/>. Retrieved 27.03.2013.
- FAO (1973). Energy and protein requirements. Report of a Joint FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee. FAO Nutrition Meetings N 52. Rome.
- Giménez, M. A., Drago, S. R., De Greef, D., Gonzalez, R. J., Lobo, M. O., & Samman, N. C. (2012). Rheological, functional and nutritional properties of wheat/broad bean (*Vicia faba*) flour blends for pasta formulation. *Food Chemistry*, 134(1), 200–206.
- Giménez, M. A., González, R. J., Wagner, J., Torres, R., Lobo, M. O., & Samman, N. C. (2013). Effect of extrusion conditions on physicochemical and sensorial properties of corn-broad beans (*Vicia faba*) spaghetti type pasta. *Food Chemistry*, 136(2), 538–545.
- Hirose, Y., Fujita, T., Ishii, T., & Ueno, N. (2010). Antioxidative properties and flavonoid composition of *Chenopodium quinoa* seeds cultivated in Japan. *Food Chemistry*, 119, 1300–1306.
- IMO – Institute of Medicine of the National Academies. <http://www.iom.edu/Activities/Nutrition/SummaryDRIs/DRI-Tables.aspx>. Retrieved 27.03.2013.
- James, L. E. (2009). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Composition, chemistry, nutritional, and functional properties. *Food and Nutrition Research*, 58, 58001–1.
- Konishi, Y., Hirano, S., Tsuboi, H., & Wada, M. (2004). Distribution of minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 68, 231–234.
- McCleary, B. V., Gibson, T. S., & Mugford, D. C. (1997). Measurement of total starch in cereal products by amyloglucosidase – α -amylase method: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 80, 571–579.
- Morrison, W. R., & Laignet, B. (1983). An improved colorimetric procedure for determining apparent and total amylose in cereal and other starches. *Journal of Cereal Science*, 1, 9–20.
- Noël, L., Chekri, R., Millour, S., Vastel, C., Kadar, A., Sirot, V., et al. (2012). Li, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Se and Mo levels in foodstuffs from the Second French TDS. *Food Chemistry*, 132, 1502–1513.
- Pedreschi, P., & Cisneros-Zevallos, L. (2006). Antimutagenic and antioxidant properties of phenolic fractions from Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54, 4557–4567.
- Pedreschi, P., & Cisneros-Zevallos, L. (2007). Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chemistry*, 100, 956–963.
- Rastogi, A., & Shukla, S. (2013). Amaranth: A new millennium crop of nutraceutical. *Critical Reviews in Food Science and Nutritional*, 53, 109–125.
- Ruales, J., & Nair, B. M. (1993). Content of fat, vitamins and minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.) seeds. *Food Chemistry*, 48, 131–136.
- Schlick, G., & Bubenheim, D. L. (1993). Quinoa: An emerging "New" crop with potential for CELSS. NASA, Paper 3422.
- Schoenlechner, R., Wendner, M., Siebenhandl-Ehn, S., & Berghofer, E. (2010). Pseudocereals as alternative sources for high folate content in staple foods. *Journal of Cereal Science*, 52, 475–479.
- Stikic, R., Glamoclija, D., Demin, M., Vucelic-Radovic, B., Jovanovic, Z., Milojkovic-Opsenica, D., et al. (2012). Agronomical and nutritional evaluation of Quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) as an ingredient in bread formulations. *Journal of Cereal Science*, 132–138.
- Valencia, R., Encina, C. R., Binaghi, M., Greco, C. B., & Ferrer, P. (2010a). Effects of roasting and boiling of Quinoa, kiwicha and kaniwa on composition and availability of minerals in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 2068–2073.
- Valencia, R., Hellstrom, J. K., Pihlava, J.-M., & Mattila, P. H. (2010b). Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kaniwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food Chemistry*, 120, 128–133.
- Vega-Galvez, A., Miranda, M., Vergara, J., Uribe, E., Puente, L., & Martinez, E. A. (2010). Nutrition facts and functional potential of Quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.), an ancient Andean grain: A review. *Society of Chemical Industry*, 90, 2541–2547.
- Westenbrink, S., Oseredczuk, M., Castanheira, I., & Roe, M. (2009). Food composition databases: The EuroFIR approach to develop tools to assure the quality of the data compilation process. *Food Chemistry*, 113, 759–767.
- Yun, S.-H., & Matheson, N. K. (1990). Estimation of amylose content of starches after precipitation of amylopectin by concanavalin-A. *Starch/Stärke*, 42, 302–305.

Estudos de caracterização do perfil nutricional da Quinoa (*Chenopodium quinoa*): macronutrientes, minerais e elementos vestigiais

Carla Mota¹, Ana Cláudia Nascimento¹, Inês Coelho¹,
Sandra Gueifão¹, Mariana Santos¹, Duarte Torres²,
Isabel Castanheira¹

carla.mota@insa.min-saude.pt

(1) Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA.

(2) Faculdade de Ciências da Nutrição e Alimentação, Universidade do Porto.

Introdução

A quinoa (*Chenopodium quinoa*) é um pseudocereal de origem andina, extensamente cultivada no Peru, Argentina, Chile e Bolívia. É reconhecida nesses países como "cereal dos Deuses" devido ao seu alto valor nutricional (1).

O consumo de quinoa tem aumentado mundialmente principalmente entre as pessoas que procuram alternativas alimentares com baixo teor de colesterol e isentas de glúten. O interesse por este pseudocereal tem crescido ultimamente devido ao seu teor proteico.

A quinoa é um alimento importante, principalmente para os indivíduos portadores de doença celíaca, pois não contém as frações proteicas glutenina e gliadina, permitindo a utilização deste pseudocereal para a elaboração de produtos isentos de glúten (2).

O ano de 2013 foi declarado pelas Nações Unidas o "Ano Internacional da Quinoa", sendo considerada "uma semente de suporte à vida que pode ajudar a promover a segurança alimentar e a erradicação da pobreza, acabar com a desnutrição e estimular a biodiversidade".

Em Portugal as importações e o consumo de quinoa têm vindo a aumentar de forma exponencial. A quinoa está cada vez mais popularizada na dieta daqueles que preconizam uma alimentação saudável de alto valor nutricional e baixo teor de contaminantes (3).

Importa assim disponibilizar informação sobre dados de composição nutricional deste pseudocereal de origem andina, permitindo aos profissionais e consumidores uma escolha informada de novos alimentos suportada por dados analíticos validados, documentados e com índices de qualidade, de acordo com as normas estabelecidas a nível europeu e internacional (4, 5).

Objetivo

Caracterizar o teor de macronutrientes e de componentes inorgânicos da quinoa (*Chenopodium quinoa*), utilizando metodologias validadas que assentam em pressupostos de controlo da qualidade rigorosos, permitindo a sua inclusão na tabela de composição de alimentos portugueses e nas restantes bases de dados que aderiram à plataforma EuroFIR.

Materiais e métodos

As amostras (n=10) de 1 kg cada foram obtidas aleatoriamente, em supermercados locais nas zonas de Jujuy (Argentina) e Lisboa, em dois anos consecutivos (2012-2013).

Após a receção no laboratório, as amostras foram inspeccionadas e lavadas em água corrente durante 15 a 20 minutos, com o objetivo de eliminar os compostos anti-nutricionais de sabor amargo, saponinas, existentes na camada externa da semente. Após secagem as sementes foram trituradas, embaladas em vácuo e armazenadas em condições de humidade e temperatura controladas, até à sua análise.

O perfil dos minerais, Cobre, Manganês, Ferro, Zinco, Magnésio, Cálcio, Fósforo, Sódio e Potássio, foi determinado por espectrometria de emissão atómica acoplada com plasma indutivo (ICP-OES).

A análise multi-elementar de Molibdénio, Estrôncio, Cobalto, Crómio, Lítio, Vanádio, Níquel, Chumbo, Cádmio, Arsénio e Selénio foi realizada por espectrometria de massa com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS). A destruição da matéria orgânica foi efetuada por digestão por microondas em meio ácido, em vasos fechados, em condições otimizadas de pressão e temperatura, seguindo os procedimentos descritos na norma europeia EN 13805.



Os teores de gordura, proteína, fibra alimentar, amido e amilose foram determinados por métodos internos desenvolvidos e validados pelo laboratório: Hidrólise ácida / extração por Soxhlet, Método de Kjeldahl, Método Enzimático Gravimétrico (AOAC 985.29), Método Enzimático adaptado do AOAC (Official Method 996.11) e AACC (Method 76.13), respetivamente, e de acordo com Normas Europeias ou Internacionais.

Os ensaios foram efetuadas nos Laboratórios de Materiais de Referência e Química do Departamento de Alimentação e Nutrição acreditados pelo IPAC, de acordo com a norma EN ISO/IEC 17025.

Resultados e discussão

Os resultados do perfil nutricional das amostras em estudo, expressos em valores de média e desvio padrão (SD), são apresentados nas tabelas 1-3.

No que diz respeito à composição em macronutrientes, a quinoa é composta essencialmente por amido. O segundo constituinte mais relevante é a proteína, com valores entre 11,8 e 16,6 g/100 g, para as diferentes amostras testadas. Constitui também uma importante fonte de fibra alimentar (3).

O teor de Sódio, encontrado foi inferior ao LQ (limite de quantificação do método). O Potássio e o Fósforo foram os minerais encontrados em maior quantidade, seguidos do Cálcio e Magnésio. O Cobre foi o mineral encontrado em menor quantidade, seguido do Manganês, Zinco e Ferro.

Tabela 1: Composição em macronutrientes e valor energético das amostras de quinoa analisadas.

Parâmetro	Modo de expressão	Valor nutricional (média ± SD)
Energia	Kcal/100 g	357 ± 20
Proteína (Nx6,25)	g/100 g	14,2 ± 2,4
Gordura	g/100 g	6,3 ± 0,11
Total de hidratos de carbono disponíveis	g/100 g	57,2 ± 0,6
Amido	g/100 g	57,2 ± 0,6
Amilose	g/100 g	19,7 ± 0,5
Fibra alimentar	g/100 g	10,4 ± 0,60

Tabela 2: Composição em minerais das amostras de quinoa analisadas.

Minerais	Modo de expressão	Valor nutricional (média ± SD)
Cobre	mg/100 g	0,59 ± 0,03
Manganês	mg/100 g	1,95 ± 0,10
Ferro	mg/100 g	5,46 ± 0,02
Zinco	mg/100 g	2,93 ± 0,07
Magnésio	mg/100 g	197 ± 8,1
Cálcio	mg/100 g	44 ± 1,7
Fósforo	mg/100 g	468 ± 15
Potássio	mg/100 g	664 ± 16
Sódio	mg/100 g	<10

Tabela 3: Composição em elementos traço das amostras de quinoa analisadas.

Elementos traço	Modo de expressão	Valor nutricional (média ± SD)
Molibdénio	ug/kg	228 ± 6,8
Estrôncio	ug/kg	1601 ± 113
Cobalto	ug/kg	<13
Crómio	ug/kg	185 ± 14,4
Lítio	ug/kg	79,5 ± 5,8
Vanádio	ug/kg	66,6 ± 6,2
Níquel	ug/kg	163 ± 7,2
Selénio	ug/kg	<26
Chumbo	ug/kg	<26
Cádmio	ug/kg	<13
Arsénio	ug/kg	<13

O teor de elementos traço é bastante variável. O Estrôncio é o elemento encontrado em maior quantidade seguido do Molibdénio. Os teores de Selénio, Chumbo, Cádmio, Cobalto e Arsénio foram inferiores ao LQ. Estes resultados vêm confirmar que estas variedades estão livres de contaminantes inorgânicos.

Para a maioria dos parâmetros analisados, os resultados obtidos estão de acordo com os valores da literatura, no entanto, foram encontrados alguns desvios que podem ser explicados por diferenças nos genótipos, tipo e composição mineral do solo e tipo de fertilizante usado (1). Tratamentos como a lavagem e polimento também podem levar à perda de minerais na quinoa (6-8).

_Conclusões

A quinoa analisada apresenta um perfil de macronutrientes rico em proteína e fibra alimentar, e baixo teor de gordura. É rica em Potássio, Fósforo, Magnésio e Cálcio.

Os teores de metais pesados encontrados estão abaixo do limite de quantificação, pelo que, os valores estabelecidos para a dose semanal tolerável provisória (*provisional tolerable weekly intake* - PTWI), não serão atingidos mesmo que a quinoa seja consumida diariamente.

Estes resultados, podem ser incluídos nas tabelas de composição de alimentos portugueses e na plataforma EuroFIR (*European Food Information Resource*). São também uma contribuição importante para a inclusão da quinoa nos guias da alimentação saudável numa altura em que se discute internacionalmente as novas fontes de Cálcio.

Financiamento

Este trabalho foi realizado no âmbito do projeto de investigação "Desarrollo de Alimentos andinos procesados: una alternativa para la conservación de la biodiversidad" (PICT-Nº 2245), financiado pelo Ministerio de Ciencia y Tecnologia de Argentina e do protocolo de colaboração científica assinado entre o INSA e o Universidade Nacional de Jujuy.

Referências bibliográficas:

- (1) Vega-Gálvez A, Miranda M, Vergara J, et al. Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*), an ancient Andean grain: a review. *J Sci Food Agric.* 2010;90(15):2541-7.
- (2) Castro L, Real C, Pires I, et al. Quinoa (*Chenopodium quinoa willd.*): digestibilidade in vitro desenvolvimento e análise sensorial de preparações destinadas a pacientes celíacos. *Alim. Nutr., Araraquara.* 2007; 18(4): 413-19.
- (3) Nascimento AC, Mota C, Coelho I, et al. Characterisation of nutrient profile of quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*), and purple corn (*Zea mays L.*) consumed in the North of Argentina: proximates, minerals and trace elements. *Food Chem.* 2014;148:420-6. Epub 2013 Oct 17.
- (4) Oseredczuk M, Salvini S, Roe M, et al. Guidelines for quality index attribution to original data from scientific literature or reports for EuroFIR data interchange (revised edition). Brussels: EuroFIR AISBL, 2009. (EuroFIR Technical Report D1.3.21). [LINK](#)
- (5) Oseredczuk M, Westenbrink S. Report on integrated data quality evaluation system, EuroFIR NEXUS. Brussels: EuroFIR AISBL, 2013. (EuroFIR Technical Report D1.8). [LINK](#)
- (6) Abugoch James LE. Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*): composition, chemistry, nutritional, and functional properties. *Adv Food Nutr Res.* 2009;58:1-31. Review.
- (7) Konishi Y, Hirano S, Tsuboi H, et al. Distribution of minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) seeds. *Biosci Biotechnol Biochem.* 2004;68(1):231-4. [LINK](#)
- (8) Stkic R, Glamoclija D, Demin M, et al. Agronomical and nutritional evaluation of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa Willd.*) as an ingredient in bread formulations. *J Cereal Sci.* 2012;55(2):132-38.



artigos breves_ n. 3

Avaliação da Composição Nutricional de Refeições Hospitalares: Apresentação de Resultados

Mariana Santos, Tânia Fontes, Carla Mota, Filipa Matias, Margarida Saraiva.

Departamento de Alimentação e Nutrição, INSA.

A higiene e segurança alimentar assumem, nos dias de hoje, grande importância na qualidade de vida da população. Uma alimentação adequada em meio hospitalar tem-se revelado um instrumento de melhoria do processo de recuperação dos pacientes internados.

O presente artigo baseia-se em dados laboratoriais da composição nutricional de refeições, obtidos no âmbito de protocolos de vigilância, estabelecidos com unidades hospitalares da zona norte do país. Tem como objetivo sensibilizar para a importância da existência de programas de vigilância que devem ser utilizados como meio para otimizar o aporte nutricional e energético e validar os procedimentos utilizados na definição da dose das refeições.

No período compreendido entre 2010 e 2011 foram analisadas 87 refeições, das quais: dieta geral (11 amostras), dieta ligeira (10 amostras), dieta mole (18 amostras), dieta cremosa (13 amostras), dieta líquida oral (7 amostras), dieta líquida para sonda (19 amostras) e dieta pediátrica (9 amostras). Os parâmetros avaliados foram: água, cinza, proteína, gordura, fibra alimentar, hidratos de carbono, cloretos (expressos em sal) e valor energético. Da análise dos resultados obtidos e relativamente ao valor energético por refeição, salienta-se que as refeições de dieta geral, apresentaram valores entre 531 kcal e 923 kcal. Verificou-se que só 55% das refeições analisadas estavam de acordo com as recomendações da Organização Mundial da Saúde (OMS), ou seja, representavam cerca 30 % das necessidades energéticas totais diárias.

Quanto às restantes dietas, algumas amostras tinham um valor energético muito baixo, facto que deve constituir um alerta. No entanto, as amostras analisadas podem não representar a totalidade da refeição. Para ser possível retirar conclusões relativamente ao valor e contributo energético por refeição, será importante proceder à avaliação de todos os alimentos constituintes. → *continua*

Tabela 1: Distribuição do valor energético por 100g e por dose (refeição)

	Dieta geral	Dieta ligeira	Dieta mole	Dieta cremosa	Dieta pediátrica	Dieta líquida p/ sonda	Dieta líquida oral	Total
Nº de amostras	11	10	18	13	9	19	7	87
Kcal / 100g								
Mínimo	71	29	36	40	44	28	20	20
Máximo	118	153	81	84	62	71	74	163
Kcal / dose								
Mínimo	531	29	128	159	115	85	51	51
Máximo	923	153	602	385	180	226	224	1207

Relativamente ao teor de sódio da dieta geral, expresso em cloreto de sódio (sal) verificou-se que variou entre 2,3-5,5 g/refeição. Entre as refeições analisadas, 9 apresentavam valores superiores

a 50% do valor diário recomendado (VDR). Nas dietas pediátricas observou-se que, em 9 amostras analisadas, 8 apresentavam um valor de sal superior a 60% do VDR.

Tabela 2: Distribuição do valor de cloreto de sódio NaCl (sal) por 100g e por dose (refeição)

	Dieta geral	Dieta ligeira	Dieta mole	Dieta cremosa	Dieta pediátrica	Dieta líquida p/ sonda	Dieta líquida oral	Total
Nº de amostras	11	10	18	13	9	19	7	87
g de NaCl / 100g								
Mínimo	0,33	0,24	0,10	0,11	0,06	0,05	0,05	0,05
Máximo	0,71	0,8	0,9	1,4	1,3	1,2	0,6	1,4
g de NaCl / dose								
Mínimo	2,3	0,65	0,34	0,45	0,21	0,14	0,18	0,1
Máximo	5,5	4,7	4,3	6,4	5,2	3,6	2,7	6,4



artigos breves_ n. 3

O teor de fibra alimentar obtido nas amostras de dieta geral oscilou entre 6,8g - 13,9g/refeição, representado 27-56% do VDR.

Tabela 3: Distribuição do valor em fibra por 100g e por dose (refeição)

	Dieta geral	Dieta ligeira	Dieta mole	Dieta cremosa	Dieta líquida pt sonda	Dieta líquida oral	Total
Nº de amostras	11	10	18	13	19	7	87
g de fibra / 100g							
Mínimo	1,0	1,0	0,4	0,7	0,2	0,5	0,2
Máximo	1,7	3,4	2,1	1,5	1,2	1,0	3,4
g de fibra / dose							
Mínimo	6,8	3,1	2,4	3,1	0,6	1,3	0,6
Máximo	13,9	11,0	20,1	5,2	3,6	4,4	20,1

_A avaliação periódica da qualidade nutricional das refeições hospitalares é essencial, a fim de garantir que os aportes nutricional e energético são adequados às exigências dos diferentes grupos de pacientes.

_Pretende-se com estes protocolos de vigilância monitorizar a qualidade nutricional de refeições, detetando desvios e orientando as entidades envolvidas no sentido da melhoria contínua da qualidade dos serviços prestados, nesta área.

Referências bibliográficas:

Durán F R, et al. Guia de Implantación de Sistemas de Autocontrol en la Restauración Hospitalaria. Madrid: Agencia Española de Seguridad Alimentaria, 2003.

Kondrup J, Johansen N, Plum LM, et al. Incidence of nutritional risk and causes of inadequate nutritional care in hospitals. *Clinical Nutrition*. 2002; 21(6):461-8.

Joint WHO/FAO Expert Consultation on Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases (2002 : Geneva, Switzerland). Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. [Em linha]. Geneva: WHO, 2003 [consult. 24-09-2012]. Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/trs/who_trs_916.pdf