

Recebido: 10/2024
Avaliação/correção:
12/2024
Publicado: 03/2025

**ELABORAÇÃO DE SAQUÊ A PARTIR DA
FERMENTAÇÃO ALCOÓLICA DE TRINCA DE
ARROZ DO TIPO PARBOLIZADO (*ORYZA SAIVA L.*).**

***MAKING SAKE FROM THE ALCOHOLIC FERMENTATION OF
PARBOILED BROKEN RICE (*ORYZA SAIVA L.*).***

***ELABORACIÓN DE SAKE A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN
ALCOHÓLICA DE ARROZ PARTIDO SANCOCHADO (*ORYZA SAIVA L.*).***

127

Moisés João Manhoca

Universidade Eduardo Mondlane
<https://orcid.org/0009-0008-6315-7730>
moisesmanhoca25@gmail.com

Jaime Elias Jaime Jemusse

Mestrado em Engenharia de Alimentos
Instituição: Universidade Federal do Paraná
<https://orcid.org/0009-0001-7514-5410>
jaimejemusi210@gmail.com

Moises Tomás Ngome

Professor Assistente
Universidade Eduardo Mondlane
<https://orcid.org/0000-0001-9874-9797>
moisesngome@yanhoo.com.br

RESUMO

Durante o processamento tradicional ou industrial do arroz, resultam vários subprodutos, como a casca, farelo e trinca de arroz. A trinca de arroz tem sido pouco valorizada na área alimentícia, sendo mais utilizada como ração para alimentação animal. No entanto, a trinca apresenta uma elevada concentração de amido, que é um substrato fermentescível. O presente estudo teve como objectivo investigar o reaproveitamento da trinca de arroz para a produção de saquê. Saquê é uma bebida alcoólica de arroz obtida por sacarificação e fermentação simultânea, utilizando o fungo *Aspergillus oryzae* e a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, com graduação alcoólica que varia de 14 a 26 °GL a 20 °C. Para a realização deste estudo, foi utilizado o Delineamento Inteiramente Causalizado (DIC), no qual foram preparados quatro tratamentos com formulações diferentes, considerando duas variáveis, trinca de arroz e concentração dos sólidos solúveis totais (°Brix), em triplicata para cada tratamento, totalizando 12 repetições. O processo de produção de saquê iniciou-se com o cozimento do arroz a vapor, seguido pela produção de arroz koji com o fungo *Aspergillus oryzae*. Os mostos foram inoculados com a levedura *Saccharomyces cerevisiae*, e o processo fermentativo foi acompanhado com medições a cada 24 horas dos parâmetros (pH, sólidos solúveis totais e acidez total titulável) durante 144 horas. Após a produção da bebida, foram realizadas análises dos parâmetros físico-químicos (pH, sólidos solúveis totais, acidez total titulável, cor e teor alcoólico). O saquê produzido após 144 horas de fermentação apresentou os seguintes valores médios dos parâmetros

analizados: pH variando de 3,41 a 3,60; sólidos solúveis totais (°Brix) de 4,67 a 11,33; acidez total titulável (ATT) de 78,86 a 113,18 mEq/L; Coordenadas de cor L* variando de 75,10 a 76,70; a* de -0,33 a -0,44; b* de 0,81 a 1,81; C* de 0,47 a 1,71; e ângulo °h de 62,40 a 77,76; além do teor alcoólico de 4,60 a 14,67. Os tratamentos que apresentaram maiores quantidades de trinca e menor concentração de sólidos solúveis totais apresentaram maior concentração de teor alcoólico. De maneira geral, a bebida obtida da fermentação da trinca de arroz apresentou boas características, podendo ser uma alternativa econômica para pequenos produtores de arroz da cidade da Beira.

Palavras-chave: Fermentação; Trinca de arroz; *Aspergillus oryzae*; *Saccharomyces cerevisiae*; Saquê.

SUMMARY

During the traditional or industrial processing of rice, various by-products are produced, such as the husk, bran and broken rice. Broken rice has been little valued in the food sector, being used more as animal feed. However, the broken rice has a high concentration of starch, which is a fermentable substrate. The aim of this study was to investigate the reuse of broken rice for sake production. Sake is an alcoholic rice drink obtained by simultaneous saccharification and fermentation, using the fungus *Aspergillus oryzae* and the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, with an alcohol content ranging from 14 to 26 °GL at 20 °C. To carry out this study, the Completely Causalized Design (CID) was used, in which four treatments with different formulations were prepared, considering two variables, broken rice and concentration of total soluble solids (°Brix), in triplicate for each treatment, totaling 12 repetitions. The sake production process began with steaming the rice, followed by the production of koji rice with the fungus *Aspergillus oryzae*. The musts were inoculated with *Saccharomyces cerevisiae* yeast, and the fermentation process was monitored by measuring the parameters (pH, total soluble solids and total titratable acidity) every 24 hours for 144 hours. After the beverage was produced, the physicochemical parameters (pH, total soluble solids, total titratable acidity, color and alcohol content) were analyzed. The sake produced after 144 hours of fermentation had the following average values for the parameters analyzed: pH ranging from 3.41 to 3.60; total soluble solids (°Brix) from 4.67 to 11.33; total titratable acidity (ATT) from 78.86 to 113.18 mEq/L; L* color coordinates ranging from 75.10 to 76.70; a* from -0.33 to -0.44; b* from 0.81 to 1.81; C* from 0.47 to 1.71; and °h angle from 62.40 to 77.76; as well as alcohol content from 4.60 to 14.67. The treatments with the highest amounts of crack and the lowest concentration of total soluble solids had the highest alcohol content. In general, the drink obtained from the fermentation of broken rice showed good characteristics and could be an economic alternative for small rice producers in the city of Beira.

Keywords: Fermentation; Broken rice; *Aspergillus oryzae*; *Saccharomyces cerevisiae*; Sake.

RESUMEN

Durante la transformación tradicional o industrial del arroz se obtienen diversos subproductos, como la cascarilla, el salvado y el arroz partido. El arroz partido ha sido poco valorizado en el sector alimentario, utilizándose más como pienso para animales. Sin embargo, el arroz partido tiene una alta concentración de almidón, que es un sustrato fermentable. El objetivo de este estudio era investigar la reutilización del arroz partido para la producción de sake. El sake es una bebida alcohólica de arroz obtenida por sacarificación y fermentación simultáneas mediante el hongo *Aspergillus oryzae* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, con un grado alcohólico que oscila entre 14 y 26 °GL a 20 °C. Para llevar a cabo este estudio se utilizó el Diseño Completamente Causalizado (DCC), en el que se prepararon cuatro tratamientos con diferentes formulaciones, considerando dos variables, arroz partido y concentración de sólidos solubles totales (°Brix), por triplicado para cada tratamiento, totalizando 12 repeticiones. El proceso de producción de sake comenzó con la cocción al vapor del arroz, seguida de la producción de arroz koji con el hongo *Aspergillus oryzae*. Los mostos se inocularon con levadura *Saccharomyces cerevisiae*, y el proceso de fermentación se monitorizó midiendo los parámetros (pH, sólidos solubles totales y acidez total titulable) cada 24 horas durante 144 horas. Una vez producida la bebida, se analizaron los parámetros fisicoquímicos (pH, sólidos solubles totales, acidez total

titulable, color y grado alcohólico). El sake producido tras 144 horas de fermentación presentaba los siguientes valores medios para los parámetros analizados: pH entre 3,41 y 3,60; sólidos solubles totales (°Brix) entre 4,67 y 11,33; acidez total titulable (ATT) entre 78,86 y 113,18 mEq/L; coordenadas de color L* de 75,10 a 76,70; a* de -0,33 a -0,44; b* de 0,81 a 1,81; C* de 0,47 a 1,71; y ángulo °h de 62,40 a 77,76; así como grado alcohólico de 4,60 a 14,67. Los tratamientos con las mayores cantidades de crack y la menor concentración de sólidos solubles totales tuvieron el mayor contenido de alcohol. En general, la bebida obtenida de la fermentación del arroz partido mostró buenas características y podría ser una alternativa económica para los pequeños productores de arroz de la ciudad de Beira.

Palabras clave: Fermentación; Arroz partido; *Aspergillus oryzae*; *Saccharomyces cerevisiae*; Sake.

INTRODUÇÃO

Durante o processo de beneficiamento tradicional assim com industrial são gerados subprodutos de arroz. De acordo com MELO et al. (2016) a agro-indústria do arroz gera quantidades significativas de grãos quebrados sendo classificados como subproduto, desvalorizando sua capacidade como matéria-prima na indústria.

Conforme BORTOLINI (2010), tanto o arroz polido quanto o arroz quebrado apresentam propriedades nutricionais iguais. Entretanto, o valor dos grãos quebrados representa apenas a quinta parte daquele obtido na comercialização do grão inteiro, e actualmente, sua aplicação principal é a alimentação animal. O contínuo aperfeiçoamento das condições higiênicas de recolhimento e armazenagem de co-produtos para a padronização, normatização e regulamentação das características de qualidade e identidade comercial, incentiva o aproveitamento para o sector produtivo e o desenvolvimento de novos produtos (BASSINELLO, 2014).

O saquê pode ser uma opção e representar uma alternativa de reduzir desperdícios ocasionados em etapas de beneficiamento dos grãos de arroz, como relatado pelos autores (CASTRO et. al., 1999), a indústria realiza o polimento dos grãos, que remove em proporções variáveis camadas mais externas do grão, resultando em subprodutos em forma de grãos quebrados e farelo.

O saquê é uma bebida alcoólica fermentada tradicional japonesa. É fabricado com molde koji para converter o amido do arroz em açúcar, que é então convertido em etanol pela levedura de saquê. Dois microrganismos eucarióticos, *Aspergillus oryzae* e *Saccharomyces cerevisiae*, são usados na fabricação de saquê, levando a uma fermentação de etanol altamente eficiente (NISHIDA, 2021). O saquê é rico em nutrientes como açúcares, aminoácidos, ácidos orgânicos e compostos aromáticos e tem sabor e aroma ricos (INOUE, 2023).

O objectivo do presente estudo é de reaproveitar a quirera de arroz para produção de saquê e os parâmetros físicos-químicos, de modo que esse subproduto não só seja aproveitado na alimentação animal mas assim também na alimentação humana, aumentando a sua valorização produzindo a bebida alcoólica e agregar valor ao produto final.

.
. .
. .
. .

REVISÃO LITERÁRIA

Trinca de arroz

A trinca é a parte que passa na referida peneira (BRASIL, 2009), sendo formada por fragmentos de grãos que se rompem durante o processo de beneficiamento decorrente do efeito da aplicação de uma força mecânica externa aos grãos, o que ocasiona a divisão em pequenos pedaços. Podem ser ainda resultantes de grãos fissurados, portadores de pequenas trincas decorrentes de acção mecânica interna originada de condições externas não mecânicas, ocasionadas durante o descasque (LOPES, 1989).



Figura 1: Trinca de arroz

Fonte: (PLANETA ARROZ, 2023)

Aproveitamento de trinca de arroz

O aproveitamento industrial desses subprodutos como matéria-prima na obtenção de produtos alimentícios é uma opção viável, uma vez que apresentam qualidade nutricional semelhante à dos grãos inteiros, distinguindo-se destes somente em sua forma de apresentação (NICOLETTI, 2007). O aproveitamento da trinca de arroz é uma área ainda pouco explorada, sendo no Brasil habitualmente utilizado na alimentação animal. Entretanto, quando é obtida com boas práticas de fabricação também pode ser empregada na alimentação humana. Assim, os grãos quebrados vêm sendo pouco a pouco utilizados na produção de farinha de arroz para servir de ingrediente de cereais matinais, produtos hipoalergênicos, formulações infantis, alimentos com baixa caloria e fonte de amido (LUNDUBWONG e SEIB, 2000).

Valor nutricional da trinca de arroz

Muito utilizada na alimentação animal, a trinca de arroz é bastante semelhante ao arroz em relação à sua composição química. Conforme NICOLETTI (2007) a trinca de arroz é um produto de alta qualidade que possui níveis de proteína e de energia metabolizável semelhantes aos do milho. Embora apresente um nível de gordura inferior ao do milho, a trinca de arroz compensa essa carência com o elevado teor de amido. Segundo o mesmo autor, a trinca de arroz quando comparada com o milho, apresenta um nível de fibra bruta inferior, enquanto para os aminoácidos lisina e metionina valores levemente superiores. No que se refere à quantidade de amido e relação amilose/amilopectina a trinca de arroz apresenta

74,45% de amido enquanto que o milho tem 62,48% de amido (BRAZIL, 2009). Quanto ao teor de amilose e amilopectina SOUZA (2010) diz que o grão de arroz tem cerca de 18% de amilose e 82% de amilopectina enquanto que o milho tem aproximadamente 27% de amilose e 73% de amilopectina.

Hidrólise enzimática do amido

A hidrólise do amido pode ser feita por dois processos: químico ou enzimático. No processo enzimático é utilizada a enzima alfa amilase. As amilases são enzimas que catalisam a hidrólise de ligações 1-4- glicosídicas internas do amido, quebrando em produtos de baixo peso molecular, tais como glicose, maltose e unidades de maltotriose. A alfa amilase pode ser obtida de diversas fontes como animais, plantas e microorganismos. As α amilases tem potencial de aplicação em um grande número de processos industriais, como alimentos, fermentação, têxteis, indústria de papel, detergentes e farmacêutica (SOUZA, 2010). A enzima α amilase age sobre o amido de uma maneira aleatória, no interior da cadeia através da hidrólise somente das ligações α 1-4 produzindo açúcares redutores (ROCHA, 2007).

Saquê

É uma bebida tradicional japonesa obtida por meio de um processo de fermentação alcoólica, que associa a sacarificação do grão (transformação de amido em açúcar), por meio do fungo filamentoso da espécie *Aspergillus oryzae* e as reações de transformações do açúcar em álcool por meio de estirpes da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, resultando em um delicado e característico sabor (PEIXOTO, 2006 & MCGEE, 2014).

Segundo a Portaria nº 64, 23 de abril de 2008, define-se saquê como sendo uma bebida com graduação alcoólica de quatorze (14) à vinte e seis (26) por cento a vinte graus Celsius (20°C), possuindo como ingrediente básico o mosto de arroz sacarificado pelo fungo *Aspergillus oryzae*, e como ingredientes opcionais o álcool etílico potável agrícola, água, aromas naturais e açúcar (BRASIL, 2008).

Processo de elaboração de saquê

A elaboração é iniciada a partir da sacarificação do amido presente no arroz, realizada pelo fungo filamentoso, seguida de sua fermentação por leveduras. O arroz deve ser polido até que as cinzas, lipídeos e proteínas sejam removidos do grão de maneira que restem apenas 60% do material inicial; esse percentual interfere no teor alcoólico do produto. O Koji, utilizado tradicionalmente na produção do saquê é composto de arroz que após ser cozido e vaporizado é colonizado pelo fungo *A. oryzae*. É através da ação das enzimas secretadas pelo *Aspergillus oryzae* que o amido é convertido em açúcares fermentáveis, para que ocorra a fermentação alcoólica, por leveduras *S. cerevisiae*, formando então o etanol (TSUTIDA, 2017).

MATERIAIS E METODOLOGIA

O experimento foi conduzido em Delineamento Inteiramente Causalizado (DIC), com quatro (4) tratamentos (formulações) e três repetições para cada tratamento totalizando doze (12)

ensaios experimentais. T1 150g e 14°Brix, T2 120g e 16°Brix, T3 105g 18 °Brix e T4 90g 20 °Brix.

Foi recebida quirera de arroz produzida na cidade da beira Província de Sofala pelos agricultores que praticam agricultura familiar e posteriormente levadas ao local do experimento, de seguida foi seleccionada a trinca de arroz que não continha resíduos de farelo ou qualquer outro agente físico e posteriormente lavada em água corrente potável, após a lavagem a trinca de arroz foi mergulhada em água destilada a 25°C, num período de 40 minutos, de seguida foi cozida a vapor em panela de pressão num período de 40 minutos com o objectivo de cozer uniformemente a trinca para que cada grão fosse macio o suficiente para que facilmente seja colonizado com o fungo *Aspergillus oryzae* e posteriormente fermentado. Para a produção de koji, usou-se 20% da trinca de arroz de cada tratamento, totalmente cozido a vapor, em seguida foi colocada em erlenmeyers, sobre o qual foram adicionados 1g do fungo *Aspergillus oryzae* para cada ensaio, totalizando (12) erlenmeyers e de seguida foi incubado na estufa do tipo BOD a temperatura que variava de 34-36 °C por cerca de 48h. Para a preparação do inóculo, utilizou-se a levedura alcoólica *Saccharomyces cerevisiae* usada para produção de vinho na China, onde foi adicionado 2g para cada tubo de ensaio formando no total quatro (4) tubos ensaio contendo 10mL do mosto com teor de açúcar ajustados a 9°Brix para activação da levedura, previamente esterilizados durante 15 minutos a 100°C e esfriados com a água corrente a temperatura ambiente para garantir que só crescesse a levedura desejada e foram adicionados na estufa do tipo BOD a temperatura de 34°C durante 48 horas. Após este período de tempo preparou-se outro mosto em (4) frascos de erlenmeyers de 250mL com a concentração dos sólidos solúveis totais ajustados a 14°Brix, de seguida inoculou-se com os quatro tubos de ensaios com a levedura já activada, um tubo para cada erlenmeyers e acondicionou-se na estufa durante 24h. De seguida foi preparado mosto com 800mL de água destilada e em que foi adicionado a quirera de arroz e posteriormente inoculado e submetido a a estufa de fermentação do tipo BOD com ausência de oxigénio a 29C durante 7 dias com medição a cada 24h de pH, °Brix, e acidez total titulavel. Produzido o fermentado foi filtrado e posteriormente pasteurizado por 25 min a 65 a 70 °C.

ANÁLISE DOS PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICO

As análises realizaram-se com amostras em triplicata, na qual foi submetida às seguintes determinações físico-químicas pH metro digital de marca HANNA modelo EDGE, sólidos solúveis totais (SST) realizados em refratômetro manual e expressos os resultados em °Brix, acidez titulável com titulação de hidróxido de sódio 0,1 M em 5 mL de amostra, utilizando fenolftaleína como indicador. As análises realizaram-se de acordo com a metodologia de Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008).

$$ATT = \frac{Vb \times F \times N \times 1000}{Va} (1)$$

Onde:

Vb (mL): volume gasto da base (NaOH)

F: factor de correcção de NaOH

Va (mL): volume da amostra

N: normalidade da solução de NaOH

O teor alcoólico foi determinado em picnômetro lavado a cada pesagem de procedimento da análise com Álcool Éter, seguido a metodologia da Association of official analytical chemists (AOAC, 2006).

Determinação da cor

A quantificação da cor foi realizada utilizando-se um equipamento colorímetro (KONICA MINOLTA modelo CR-400). Inicialmente este foi calibrado em superfície branca de acordo com padrões pré-estabelecidos para o uso do equipamento e em seguida, colocou-se 25 mL de amostra em placa de Petri, se fez a leitura directa dos valores. Foram analisados 3 parâmetros de cor: L^* , a^* e b^* . Onde L^* expressa os valores de luminosidade (0 = negro e 100 = branco), a^* representa as cores vermelha (+) ou verde (-) e b^* as cores amarela (+) ou azul (-).

O **Croma** é a relação entre os valores de a^* e b^* , obtendo a intensidade da cor do objecto analisado. O Croma foi determinado pela equação:

$$C = \sqrt{(a^2 + b^2)}$$

O $^{\circ}h$ é o ângulo formado entre a^* e b^* , indicando a tonalidade da cor do objecto, para calcular o ângulo da tonalidade ($^{\circ}h$), foram utilizados os valores de a^* e b^* , onde 0° é cor vermelha, 90° é cor amarela, 180° é verde e 270° é azul. Para o cálculo de ângulo ($^{\circ}h$) utilizou-se a equação:

$$^{\circ}h = \arctg (b/a)$$

Sendo:

L^* = Luminosidade

a^* = coordenada vermelho/verde (+a indica vermelho e -a indica verde)

b^* = coordenada amarelo / azul (+b indica amarelo e -b indica azul)

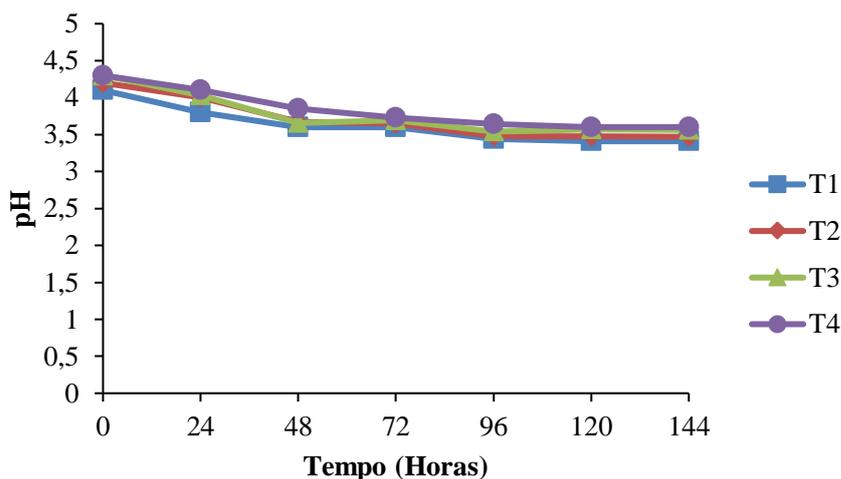
Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade, utilizando o Software SISVAR 5.6

Neste estudo o pH inicial dos mostos variou de 4.02 a 4.47. O pH do mosto é um dos factores-chave para a produção de etanol com influência directa sobre os microrganismos, bem como em seus processos celulares. De acordo com HARANDI *et al.* (2017), o mosto com o pH=4 fornece a melhor condição para as células de levedura se reproduzirem e crescerem.

CINÉTICA DO PROCESSO FERMENTATIVO

Comportamento cinético do pH



Comportamento consumo de pH durante o processo fermentativo.

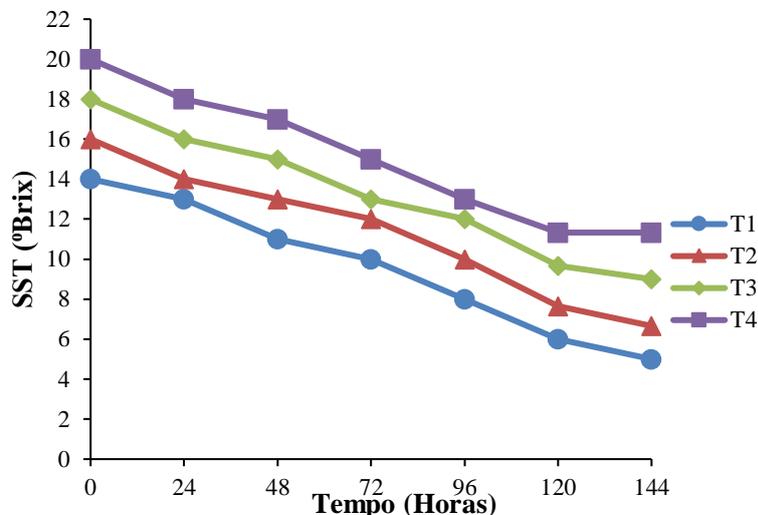
Durante o processo fermentativo, os valores iniciais de pH estiveram no intervalo de 4,02 a 4,47. Nas primeiras 24 horas de fermentação, houve pouca variação no pH. No entanto, após 48 horas, os mostos apresentaram uma diminuição do pH. Observou-se uma queda de 4 para 3,60 no T1, de 4,20 para 3,67 no T2, de 4,35 para 3,66 no T3 e de 4,47 para 3,85 no T4.

Essa redução do pH ocorreu devido à actividade metabólica das leveduras durante a fermentação, as leveduras consomem os açúcares presentes no mosto de arroz e produzem álcool etílico e dióxido de carbono como subprodutos. Além disso, elas também produzem ácido acético e outros ácidos orgânicos como parte de seu metabolismo. Esses ácidos orgânicos contribuem para a redução do pH do mosto. Outros ácidos orgânicos produzidos pelas leveduras incluem ácido lático, ácido succínico e ácido málico. A medida que esses ácidos são produzidos, o pH do meio de fermentação diminui. De acordo com ALCÂNTARA & MENEZES (2017), a variação do pH durante a fermentação se deve a liberação de ácidos orgânicos pelas leveduras no decorrer do processo fermentativo e, portanto, contribuem para a redução do pH.

Após 48h de fermentação, a redução do pH continuou, porém de forma mais lenta em todos os tratamentos até o final do processo fermentativo. Essa redução contínua do pH, embora em menor intensidade, indica a produção de ácidos, o que é necessário para o desenvolvimento das características sensoriais desejáveis.

É de extrema importância a redução do pH na fermentação pois as fermentações conduzidas em meios ácidos resultam em maiores rendimentos de etanol, pelo facto de restringirem o crescimento do fermento, com a consequente redução da produção de glicerol, ao mesmo tempo em que reduzem a contaminação microbiana (LIMA *et al.*, 2001).

Comportamento cinético do consumo dos sólidos solúveis totais

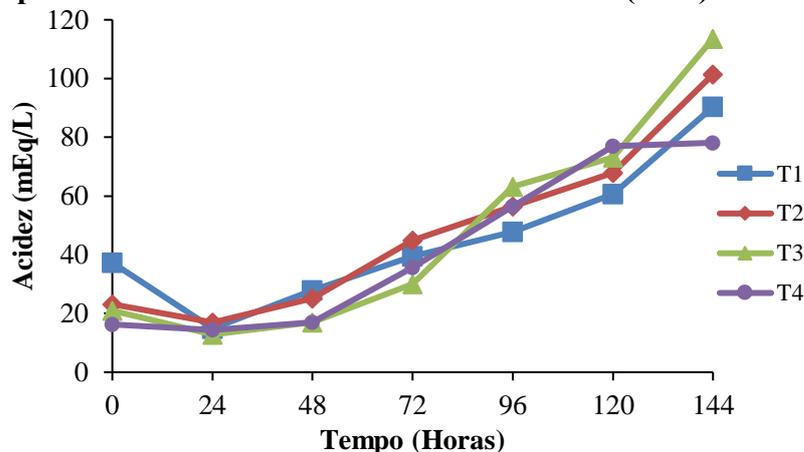


Para o início da fermentação, os mostos foram preparados e ajustados com sólidos solúveis totais (°Brix), que variavam de 14°Brix a 20°Brix. Segundo BRUNELLI (2015), bebidas produzidas a partir de mostos com menores concentrações de açúcar, até 20°Brix, apresentaram uma fermentação completa. Portanto, é possível afirmar que a concentração dos SST iniciais dos mostos para o processo fermentativo do presente estudo está dentro dos parâmetros aceitáveis para a fermentação, tendo iniciado com os SST ajustados entre 14°Brix e 20°Brix.

De acordo com a figura (8), o comportamento do consumo de sólidos solúveis totais, nas primeiras 48 horas do processo fermentativo, houve um baixo consumo do substrato, ou seja, não houve uma grande variação dos SST para todos os tratamentos, esse decréscimo ocorreu por ser um período de adaptação da levedura ao meio de fermentação. E de acordo com DANTAS (2017), que observou um comportamento semelhante no seu estudo sobre fermentado alcoólico, verificou que durante os quatro primeiros dias houve um pequeno consumo do substrato por parte das leveduras, e afirmaram que isso poderia ter ocorrido porque a levedura ainda estava se adaptando às condições do mosto. Para os tratamentos T3 e T4, verificou-se que, após 48 horas de fermentação, houve um baixo consumo do substrato. Isso pode ter ocorrido devido às elevadas concentrações de sólidos solúveis totais, o que pode ter causado stresse osmótico nas leveduras.

Após 72 a 120 horas de fermentação, em todos os tratamentos, a variação no consumo dos sólidos solúveis totais continuou a diminuir gradualmente. Isso indica que o consumo do substrato pela levedura passou a ser direcionado para a produção de etanol. O declínio gradual nos sólidos solúveis totais é uma indicação do progresso da fermentação e da conversão dos açúcares em álcool. A partir de 120 até 144 horas, não houve variação nos sólidos solúveis totais. De acordo com a figura (8), isso demonstra a estabilidade do substrato em um nível, indicando o fim do processo fermentativo.

Comportamento cinético de acidez total titulável (ATT)



Nas primeiras 24 horas do processo fermentativo, foi possível observar um declínio na acidez no T1. No entanto, para os T2, T3 e T4, a acidez permaneceu relativamente estável até 48 horas de fermentação, conforme ilustrado na figura (9). A estabilidade da ATT nos T2, T3 e T4 deve-se pelo facto de ser o período da adaptação da levedura ao meio de fermentação, não há processos bioquímicos que ocorrem nessa fase. Após 24 horas de fermentação, verificou-se um aumento contínuo na acidez titulável (ATT) para o T1, ao passo que nos T2, T3 e T4 notou-se o aumento dos seus valores de ATT a partir de 48h de fermentação.

Com o passar do tempo do processo fermentativo, após 72h de fermentação, a produção de ATT tendia aumentar de uma forma contínua isso em todos os tratamentos, esse aumento continuou até no final da fermentação, porém no T4 verificou-se um comportamento diferente dos remanescentes tratamentos em que após 120h de fermentação manteve o seu valor da ATT até aos 144h, que foi o período do término do processo fermentativo. O aumento de ATT é proveniente da produção de ácidos orgânicos durante a fermentação. Este comportamento de acidez total titulável foi observado também pelo CHAUDHARY (2021), em seu estudo, no qual, durante a fermentação do vinho de arroz, o teor de ácido total aumentou gradualmente, à medida que o tempo de fermentação se prolongava, o açúcar no mosto de fermentação era completamente decomposto e a acidez era mantida. E de acordo com BHATANE & PAWAR (2013), a glicose liberada do amido foi quase completamente convertida em etanol pelas leveduras de saquê, enquanto a glicose foi parcialmente utilizada em outros aspectos do metabolismo pelas leveduras. Segundo COSTA *et al.* (2016), diz que é esperado que ocorra um aumento gradual da acidez total titulável durante o processo de fermentação, que pode ser decorrente da produção de ácidos orgânicos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Potencial Hidrogniónico (pH)

De acordo com os resultados do teste de Tukey apresentados na tabela (3), os valores de pH dos tratamentos (T1, T2, T3 e T4) diferiram estatisticamente entre si a nível de 5% de

probabilidade. Os valores de pH variaram de 3,41 para T1 a 3,60 para T4, que foi o valor máximo. Os valores de pH dos tratamentos restantes foram 3,48 para T2 e 3,57 para T3.

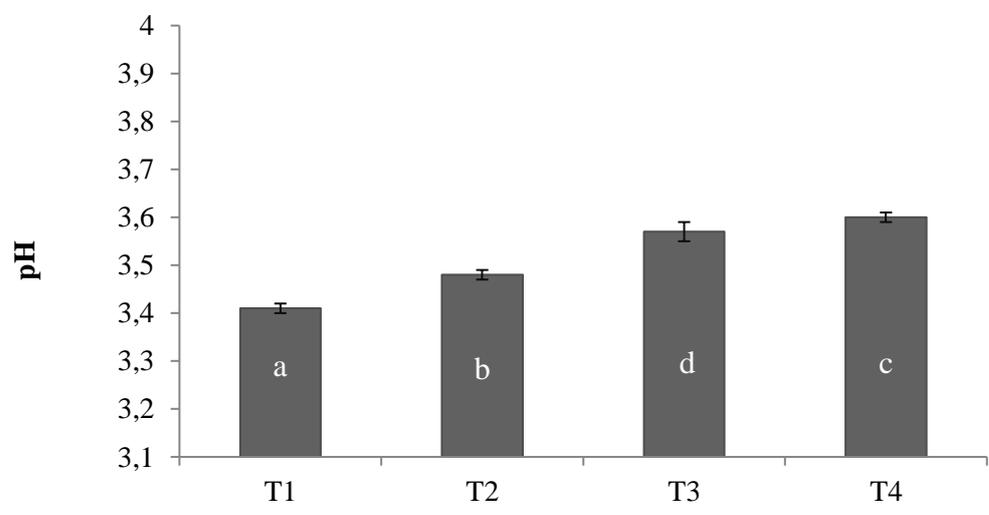
A diferença na quantidade de arroz *koji* nas formulações de cada tratamento pode ter influenciado os níveis de produção de ácidos, resultando em variações nos valores de pH final do saquê.

Segundo SHIMOFUJI *et al.* (2020), no seu estudo do saquê japonês verificou os valores de pH que variavam de 3,70 a 4,56 e no presente estudo apenas o T4 (3,60) teve o seu pH próximo do estudo anteriormente citado.

O valor de pH encontrado para o T4, com 3,60, é muito próximo ao valor de 3,61 encontrado por MELO, LACERDA & SOARES (2016), em suas análises de fermentado alcoólico de quirera de arroz. No entanto, é um pouco superior aos valores encontrados neste estudo para T1 e T2, que são 3,41 e 3,48, respectivamente. Os valores de pH para T1 (3,41) e T2 (3,48) foram próximos ao valor de 3,50 verificado por SOARES DE ALMEIDA (2022), em seu estudo sobre a avaliação de diferentes agentes clarificantes no fermentado de arroz para a produção de saquê, embora sejam um pouco abaixo do pH observados em T3 e T4, que têm pH final de 3,57 e 3,60, respectivamente. A semelhança dos valores de pH encontrados no saquê produzido com os valores relatados por outros autores pode, de facto, ser atribuída ao tipo de cepa de levedura utilizada para a fermentação e o tempo da fermentação.

Para a produção de saquê, existe uma levedura específica, denominada levedura de saquê, que é seleccionada por suas propriedades de fermentação ideais, incluindo a produção de ácido, que afecta directamente o pH do produto final. A escolha da levedura pode resultar em variações nos níveis de ácido produzido, afectando o pH (CHAUDHARY, 2021).

Com base nos resultados do parâmetro de pH obtidos no presente estudo, pode-se afirmar que o fermentado de trinca de arroz apresenta uma acidez adequada, o que, além de contribuir para o sabor do saquê, também pode oferece protecção contra contaminação bacteriana indesejável. Essa acidez não só melhora as características sensoriais do saquê, tornando-o mais agradável ao paladar.



Demonstração gráfica da variação de pH e do desvio-padrão.

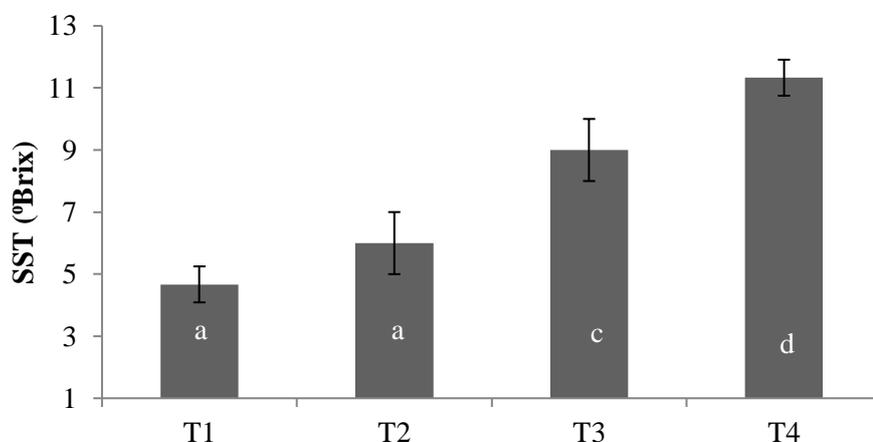
Sólidos Solúveis Totais (Brix)

De acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade, verificou-se que os tratamentos T1 e T2 não apresentaram diferença significativa entre si, entretanto, diferiram dos demais tratamentos, T3 e T4. No presente estudo, antes do processo fermentativo, as concentrações de sólidos solúveis totais variaram de 14 °Brix como mínimo para o tratamento T1 a 20 °Brix como máximo para o tratamento T4. No final do processo fermentativo, os valores de SST para todos os tratamentos foram: para T1 (4,67°Brix), para T2 (6°Brix), para T3 (9°Brix) e para T4 (11,33°Brix).

O tratamento T4 apresentou o maior valor de SST no final do processo fermentativo. Isso pode ter ocorrido devido ao elevado teor de SST no início da fermentação e também à possível contaminação por bactérias indesejadas durante o processo, o que resultou em uma menor conversão do substrato pela levedura para a produção de etanol.

Segundo SHIMOFUJI *et al.* (2021), em seu estudo sobre a verificação dos componentes do saquê, encontraram valores de SST que variavam de 9,20 °Brix a 13,50 °Brix. Esses valores são próximos aos obtidos no presente estudo nos T3 e T4, com SST final de 9 °Brix e 11,33 °Brix, respectivamente, e muito acima dos tratamentos remanescentes T1 e T2.

No estudo de produção de vinho de arroz, INOUE *et al.* (2023), verificaram valores de SST variando de 9,8 °Brix a 10,8 °Brix, valores também próximos aos obtidos no presente estudo para os T3 e T4, com 9 °Brix e 11,33 °Brix, respectivamente. O valor de SST no tratamento T2 (6 °Brix) é equivalente aos valores encontrados por OLEE *et al.* (2022) & CHAUDHARY (2021), que foram de 6,1 °Brix e 6 °Brix, respectivamente. A proximidade e a similaridade dos resultados de SST encontrados no presente estudo, comparados com os dos autores citados anteriormente, podem estar relacionadas à variedade de arroz utilizada nos diferentes estudos, que pode ter uma composição distinta em termos de teor de amido e outros nutrientes, assim como adição dos outros açúcares durante a produção. Segundo TOKUOKA (2017), variedades com maior teor de amido tendem a produzir mais açúcares fermentáveis, o que pode afectar directamente os valores de sólidos solúveis totais.



Demonstração gráfica da variação dos SST e do desvio-padrão.

Acidez Total Titulável (ATT)

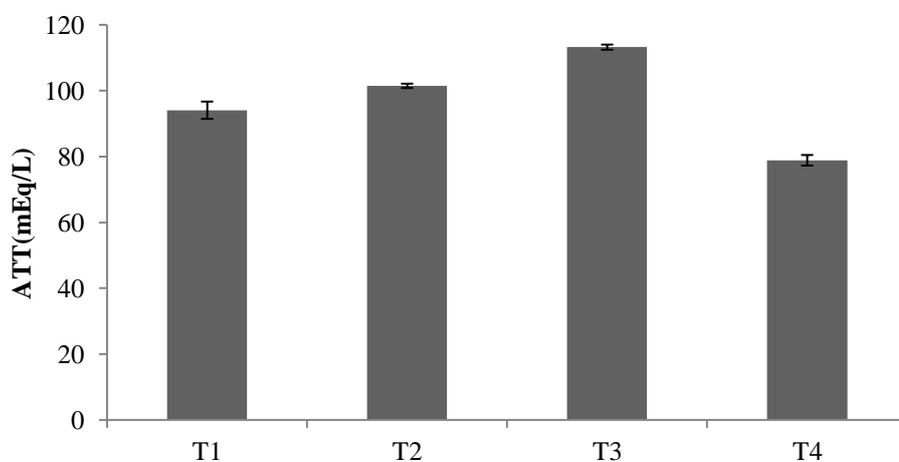
Quanto ao parâmetro de ATT, de acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade, todos os tratamentos diferiram estatisticamente entre si. Conforme os resultados apresentados na tabela (3), o T3 apresentou o valor máximo de ATT, 113,22 mEq/L, enquanto o T4 apresentou o valor mínimo de acidez, 78,8 mEq/L. Os tratamentos T1 e T2 apresentaram valores intermediários de 94,07 mEq/L e 101,47 mEq/L, respectivamente. Essa diferença pode ser justificada pela variação na quantidade de trinca utilizada em cada tratamento, o que pode alterar a concentração de açúcares fermentáveis no meio, resultando em variações na produção de ácidos.

O fermentado de arroz produzido por SOARES DE ALMEIDA (2022), apresentou uma acidez total titulável de 60 mEq/L, um valor inferior aos encontrados nos tratamentos T1, T2 e T3, mas próximo ao encontrado no tratamento T4, com 78 mEq/L. As variações da ATT podem estar relacionada com as adaptações dos métodos e a fermentação.

Os saquês produzidos a partir da fermentação alcoólica de quirera de arroz apresentaram ATT que variavam de 78.8 a 113.22 mEq/L, esses valores que se encontram dentro dos padrões de acidez exigidos pela legislação brasileira para saque de 50-130 mEq/L (BRASIL, 2012).

A acidez titulável do saquê está relacionada com a doçura e o sabor do saquê. De acordo com os dados publicados por SOLERA FLORIPA (2011), se a quantidade de açúcar presente no saquê for baixa e a acidez também for baixa, a bebida terá um sabor doce e aguado. Por outro lado, quando a bebida possui uma quantidade alta de açúcar e acidez, o resultado é um saquê encorpado e seco. Um saquê com alta quantidade de açúcar e baixa acidez apresenta um sabor doce e enjoativo, enquanto um saquê com baixa quantidade de açúcar e alta acidez resulta em um sabor leve e seco.

Os teores de ATT encontrados no saquê são provenientes dos ácidos orgânicos durante o processo fermentativo. E de acordo com XU *et al.* (2018), os ácidos orgânicos identificados no vinho de arroz durante a fermentação são ácido oxálico, ácido tartárico, ácido pirúvico, ácido málico, ácido α -cetoglutárico, ácido láctico, ácido cítrico e ácido succínico.



Demonstração gráfica da variação da ATT e do desvio-padrão.

Teor Alcoólico

Após 144 horas de fermentação, o saquê produzido a partir da fermentação alcoólica de quínera de arroz apresentou os seguintes valores de teor alcoólico em °GL a 20°C: o T1 obteve a maior concentração de teor alcoólico, 14,67 °GL, T2 apresentou 13,67 °GL, T3 teve 10,33 °GL e o T4 teve o menor teor alcoólico, 4,67 °GL.

De acordo com o teste de Tukey a 5% de probabilidade, os tratamentos T1 (14,67°GL) e T2 (13,67°GL) não diferiram significativamente entre si, mas ambos diferiram dos tratamentos T3 (10,33°GL) e T4 (4,67°GL). Essa diferença pode ser atribuída ao facto de que os T1 e T2 apresentarem maiores quantidades de trinca de arroz em suas formulações. Isso significa que houve mais disponibilidade de amido, o substrato principal, nos seus mostos, resultando em um maior teor alcoólico no final da fermentação. Ao passo que, os T3 (10,33°GL) e T4 (4,67°GL) com menor quantidade de trinca de arroz e maior concentração de sólidos solúveis totais apresentaram o teor alcoólico mais baixo.

A Portaria Nº 64, de 23 de Abril de 2008 define saquê a bebida com graduação alcoólica de quatorze a vinte e seis por cento em volume a vinte graus Celsius (BRASIL, 2008). E com os resultados obtidos no presente estudo apenas o T1 com 14,67 °GL encontrou-se dentro dos parâmetros exigidos pela legislação brasileira para graduação alcoólica de saquê e os remanescentes encontram-se abaixo.

O tratamento T4 foi a formulação que obteve a menor concentração de etanol 4,67 °GL estando um pouco próximo ao 3,80 %v/v encontrado pelo ADESOKAN *et al.* (2022), no seu estudo de produção de uma bebida alcoólica partir de arroz. Estes valores são consideravelmente baixos comparados com 8,06% verificados por CORREA & BROLAZ (2021). Segundo OLIVEIRA (2020), no seu estudo de produção de saquê artesanal em escala de laboratório, obteve 7,2 °GL.

A fermentação do T4 pode ter sido comprometida por este apresentar alta concentração de sólidos solúveis totais (20°Brix) no início da fermentação, o que pode ter causado stresse osmótico e, conseqüentemente, inibido o processo de fermentação de forma eficaz.

O excesso de açúcar no mosto afecta directamente na função da membrana citoplasmática, além de promover aumento da produção de glicerol com conseqüente diminuição no rendimento em etanol (PEREIRA, 2014).

Conforme NAKAGAWA *et al.* (2024), em seu estudo sobre a fabricação de saquê japonês, foram obtidos teores alcoólicos de 15% e 16,2%. Esses valores são próximos ao obtido no T1 do presente estudo, que foi de 14,67 °GL. Esses valores estão acima do teor alcoólico encontrado por MELO, LACERDA & SOARES (2016), no fermentado alcoólico de trinca de arroz após 13 dias de fermentação, que foi de 11,8 °GL. Além disso, o teor alcoólico de 10,50% v/v, verificado por SOARES DE ALMEIDA (2022), é próximo ao 10,33°GL encontrado no T3 do presente estudo. A proximidade dos resultados obtidos pelos autores citados com os do presente estudo pode estar relacionada com o método de fermentação utilizado, as cepas de *Saccharomyces cerevisiae* utilizadas na fermentação. As características das leveduras, como a tolerância ao álcool e a eficiência na conversão de açúcares em álcool, podem ter influenciado no teor alcoólico final (LIMA, 2001).

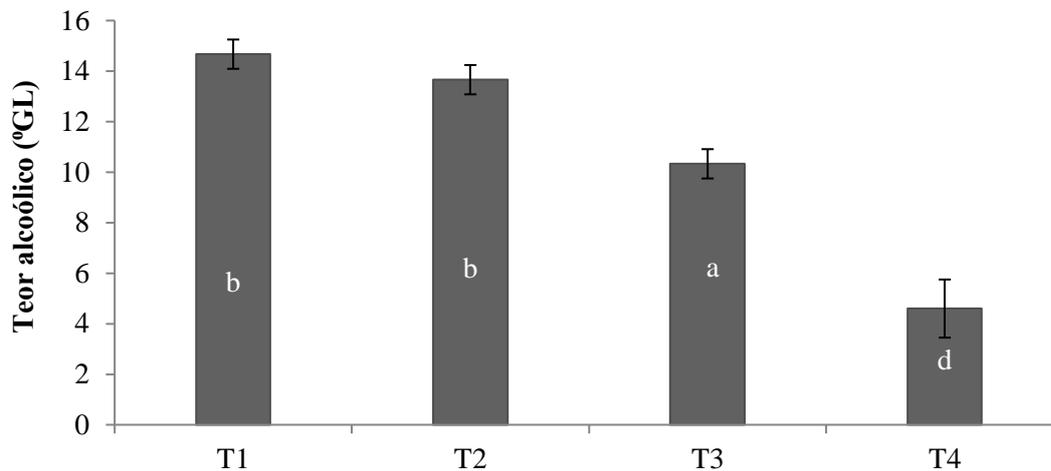


Figura 2: Demonstração gráfica da variação do teor alcoólico e do desvio-padrão.

Cor

Tabela 1: Valores médios dos parâmetros L*, a*, b*, C e °h dos saquês elaborados.

Tratamentos	Coordenadas				
	L*	a*	b*	C	°h
T1	76.70±0.77 ^e	-0.39±0.04 ^d	1.81±0.24 ^a	1.73±0.44 ^c	77.76±1.03 ^d
T2	76.25±1,0 ^e	-0.33±0.07 ^d	1.33±0.38 ^a	0.98±0.52 ^c	74.98±5.52 ^d
T3	76.63±1.14 ^e	-0.33±0.09 ^d	1.26±0.18 ^a	0.86±0.19 ^c	77.41±2.17 ^d
T4	75.10±0.29 ^e	-0.44±0.04 ^d	0.85±0.17 ^b	0.47±0.14 ^h	62.40±5.3 ^e

As médias (± desvio-padrão) seguidas pela mesma letra no mesmo parâmetro, não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Segundo a análise de variância (ANOVA) realizada foi verificado que não houve diferença significativa em todos tratamentos para as coordenadas L* e a* a nível de significância de 5%, ao passo que a coordenada b*, o croma C e o ângulo (°h) não houve diferença significativa nos T1, T2 e T3 mas o T4 diferiu de todos dos remanescentes tratamentos. Essa diferença pode ser justificada pela adição de menor quantidade de sacarose (castanho) nas suas formulações (T1, T2 e T3).

Dos resultados das coordenadas de cor, obtidos no presente estudo, para as coordenadas a* e b* obteve-se valores na faixa de -0.33 a -0.44 e 0.85 a 1.81, o croma C variou de 0.47 a 1.98 e o ângulo de 62.40 a 77.76.

A coloração dos saquê, através da análise das coordenadas L*, a* e b* no diagrama de cor, para a L* (luminosidade), os saquês produzidos caracterizam-se por possuírem claridade. Os valores negativos de (-) a* demonstraram que as bebidas possuem leve tendência ao verde e a coordenada (+) b* positivo representou tendência para o amarelo.

Conforme evidenciado nas coordenadas cromáticas do presente estudo, com valores médios de 62.40 a 77.76. As médias do ângulo deste estudo se aproximam ao 90° do diagrama de cor assim indicando que o saquês produzidos possuem leve tendência a cor amarela.

Segundo KONICA MINOLTA SENSING INC (1998), citado por SANTANA (2017), O ângulo de tonalidade inicia-se no eixo +a* e é dado em graus, onde 0° seria +a* (vermelho), 90° seria +b* (amarelo), 180° seria -a* (verde) e 270° seria -b* (azul).

CONCLUSÃO

A elaboração de saquê a partir da fermentação de trinca de arroz mostrou ser viável e sustentável, os parâmetros químicos apresentaram variações mínimas, e todos os tratamentos finalizaram com valores aceitáveis de sólidos solúveis totais e acidez total titulável, conforme as normas brasileiras para saquê. O pH final ácido indicou que a bebida teve um pH adequado para resistência microbiana.

Os resultados indicaram que os tratamentos com maior quantidade de trinca de arroz e menor concentração de sólidos solúveis totais obtiveram maior teor alcoólico. Os tratamentos, T1 e T2 se destacaram, sendo o T1 o único a atingir o teor alcoólico regulamentado para saquê, tornando as formulações ótimas para o reaproveitamento da trinca de arroz. Por outro lado, os tratamentos T3 e T4, que apresentaram menos trinca de arroz e tiveram maior concentração de sólidos solúveis totais, resultaram em menor graduação alcoólica.

REFERÊNCIAS

ADESOKAN, I. A., ONIFADE, D. A., BOLARINWA, O. O., ALADELOYE, K. A., & ADEKOLA, A. (2022). Production of an Alcoholic Beverage from Rice (*Oryza sativa*) Using Nigerian Palm Wine Yeasts. *Current Journal of Applied Science and Technology*, 41(13), 1-7.

ALCÂNTARA, V. C. & MENEZES, E. G. T. (2017). Vinho de laranja (*Citrus sinensis* L. Osbeck): um estudo com diferentes linhagens de *Saccharomyces cerevisiae*. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, 3 (6), 1-6.

BASSINELLO, P.Z.; CASTRO, E.M. Arroz como alimento. Informe agropecuário, Belo Horizonte, v.25, n.222, p. 101-108, 2004.

BHATANE, A. V., & PAWAR, C. D. (2013). Effect of T.S.S. and pH levels on chemical composition and fermentation of sapota must. *The Asian Journal of Horticulture*, 8(1), 129-132.

BORTOLONI, V. M. S. Determinação da composição centesimal do arroz parboilizado (*Oriza sativa*) e seu subproduto. Revista Congrega, URCAMP, Bagé, 2010.

BRAZILIAN BISCUIT. 2009. Quem somos. Disponível em:
<http://www.brazilianbiscuit.com.br/brazilian_biscuit.php>

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. (2008), a prova os regulamentos técnicos para a fixação dos padrões de identidade e qualidade para as bebidas alcoólicas fermentadas: fermentado de fruta, sidra, hidromel, fermentado de cana, fermentado de fruta licoroso, fermentado de fruta composto e saquê. Diário Oficial da União de 24/04/2008.

BRUNELLI, Luciana Trevisan. Caracterização físico-química, energética e sensorial de hidromel. 2015. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/145493/000871644.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 05 de abril de 2024.

CASTRO, E. da M. VIEIRA, N.R. A.; RABELO, R.R.; SILVA, S.A (1999): Qualidade de grãos em arroz. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, p. 26-28. 1999.

CHAUDHARY, S. K. (2021). Production of sake from local variety of rice using isolated mold from local starter culture, Murcha (Doctoral dissertation, Department of Biotechnology).

COSTA, A. M. G. et al. Caracterização E Análise Sensorial De Hidromel: Tipo Seco Tradicional E Saborizado Com Morango. 2016.

CORREA, A.C. & BROLAZO, E. M. Produção de saquê artesanal em escala de laboratório, In :Revista brasileira de processos químicos, Campinas, SP, v.2 n.1, p.36, jan./jun. 2021

DANTAS, C. E. A., & Silva, J. L. A. (2017). Fermentado alcoólico de umbu: produção, cinética de fermentação e caracterização físico-química. *Holos*, 2, 108-121.

HARANDI, T. F., Taghinasab, M. M., & Nayeri, T. D. (2017). *Electronic Physician* (ISSN : 2008-5842). *Electronic Physician*, 9(9), 1–17. <https://doi.org/10.19082/5212>

IAL. INSTITUTO ADOLF LUTZ. Normas analíticas, métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3.ed. São Paulo: Instituto Adolf Lutz, v.4, p. 533, 2008.

INOUE, Y., Ueda, S., Tanikawa, T., Sano, A., Suzuki, R., Todo, H., ... & Akao, K. (2023). Characterization of Carbohydrates, Amino Acids, Viscosity, and Antioxidant Capacity in Rice Wines Made in Saitama, Japan, with Different Sake Rice. *Foods*, 12(21), 4004.

KONICAMINOLTASENSINGAMERICAS, Inc 2006. <https://sensing.konicaminolta.us/br/blog/compreendendo-o-espaco-de-cor-cie-lch/> Acessado 10/03/2024

LOPES, C.C. Estudo do mecanismo de quebra dos grãos de arroz. Campinas, 1989. 128p. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) –FEA/UNICAMP.

LUNDUBWONG, N.; SEIB, P.A. Rice starch isolation by alkaline protease digestion of wet milled rice flour. *Journal of Cereal Science*, Manhattan, v.31, p.63-74, 2000

LIMA, U. A. et al. *Biotecnologia Industrial: Processos Fermentativos e Enzimáticos*. São Paulo SP, Blucher, v. 3, 593p., 2001

NISHIDA, H. (2021). Sake brewing and bacteria inhabiting sake breweries. *Frontiers in Microbiology*, 12, 602380.

MELO L., LACERDA L. D. e SOARES J. P. Fermentado Alcoólico de Arroz Quebrado. XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. FAURGS, Gramado/RS, outubro de 2016.

NICOLETTI, A. M. Enriquecimento nutricional de macarrão com uso de subprodutos agroindustriais de baixo custo. 2007. 77 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Santa Maria. 2007.

OLEE, D., Mahato, D. K., Kumar, P., Neupane, B. S., & Kharel, G. P. (2022). Identification of yeast and mould isolated from murcha in Nepal for rice wine production. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 65, e22210285.

PEIXOTO, Aristeu Mendes. Enciclopédia agrícola brasileira. vol. 4. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2002.

ROCHA T. S.- Estudo da hidrólise enzimática do amido de mandioca salsa (*Arracacia xanthorrhiza*): Efeito do tamanho dos grânulos., Dissertação Mestrado, Universidade Estadual Paulista, 2007

SANTANA, G. R. O. (2017). Avaliação da qualidade de pepinos em conserva.

SHIMOFUJI, S., Matsui, M., Muramoto, Y., MORIYAMA, H., HOKI, Y., & UEHIGASHI, H. (2021). Prediction of Sake Component Values Using E-nose and E-tongue Data by Machine Learning. *Japan Journal of Food Engineering*, 22(1), 15-24.

SOARES DE ALMEIDA, C. (2022). Avaliação de diferentes agentes clarificantes no fermentado de arroz para a produção de saquê.

SOUZA P.M; MAGALHAES O.P. Application of microbial α amylase in industry A review- Brazilian Journal of microbiology. v.41 p.850-861,2010

SOLERAFLORIPA. Sake. 2011. Disponível em: <http://solerafloripa.blogspot.com/2011/11/sake.html?m=1>. Acesso em: 29/05/2024.

TSUTIDA, A.; VAN DE RIET, I.; FURLAN, T.; ABUNO, V. S. Sakê. 2017. Disponível em: <https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/3506663/mod_resource/content/1/Sak%C3%AA.pdf>. Acesso em: 10 julho 2023.

TOKUOKA, M.; HONDA, C.; TOTSUKA, A.; SHINDO, H.; HOSAKA, M. Analysis of the oligosaccharides in Japanese rice wine, sake, by hydrophilic interaction liquid chromatography and time-of-flight/mass spectrometry. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 124, n. 2, p. 171-177, 2017.

XU, J., WU, H., WANG, Z., ZHENG, F., LU, X., LI, Z., & REN, Q. (2018). Microbial dynamics and metabolite changes in Chinese Rice Wine fermentation from sorghum with

different tannin content. *Scientific Reports*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-23013-1>