República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI 0712324-8 A2**

BRPI0712324A2

(22) Data de Depósito: 15/06/2007
(43) Data da Publicação: 22/01/2013
(RPI 2194)

(51) Int.Cl.:
C13K 1/02
C12P 19/02

(54) Título: MÉTODOS PARA FABRICAR UMA FARINHA DE GRÃO INTEGRAL ESTABILIZADA E PARA FABRICAR UM COMPONENTE DE FARELO ESTABILIZADO, COMPONENTE DE FARELO ESTABILIZADO, FARINHA DE GRÃO INTEGRAL ESTABILIZADA, PRODUTO ALIMENTÍCIO, E, PRODUTO DE BOLACHA

(30) Prioridade Unionista: 16/06/2006 US 11/454758

(73) Titular(es): Kraft Foods Global Brands Llc

(72) Inventor(es): C. William Epperson, Diane Gannon, Domenico Cassone, Edward D. Howey, Harry Ira Levine, James Manns, Jeanny E. Zimeri, Louise Slade, Lynn C. Haynes, Mihaelos N. Mihalos, Ning Zhou, Sarwat Gabriel

(74) Procurador(es): Momsen , Leonardos & CIA

(86) Pedido Internacional: PCT US2007014053 de 15/06/2007

(87) Publicação Internacional: WO 2007/149320de 27/12/2007

(57) Resumo: METODOS PARA FABRICAR UMA FARINHA DE GRAO INTEGRAL ESTABILIZADA E PARA FABRICAR UM COMPONENTE DE FARELO ESTABILIZADO, COMPONENTE DE FARELO ESTABILIZADO, FARINHA DE GRAO INTEGRAL ESTABILIZADA, PRODUTO ALIMENTíCIO, E, PRODUTO DE BOLACHA. Um componente de farelo estabilizado e uma farinha de grão integral estabilizada contendo o componente são produzidos submetendo-se uma fração grossa enriquecida com farelo que contém farelo, germe e amido à trituração ou moagem para reduzir arenosidade da fração grossa sem substancialmente danificar o amido devido à abrasão. A fração grossa pode ser estabilizada por aquecimento para reduzir substancialmente a atividade de lipase e lipoxigenase da fração grossa sem gelatinização substancial do amido. Níveis elevados de natural antioxidantes e vitaminas são retidos enquanto evitando a formação de acrilamida substancial durante a estabilização. A fração grossa estabilizada ou componente de farelo estabilizado podem ser combinados com uma fração fina que contém predominantemente endosperma para obter uma farinha de grão integral estabilizada. As farinhas de grão integral estabilizadas e o componente de farelo estabilizado exibem vida de prateleira prolongada e podem ser usados para fabricar produtos assados, tais como biscoitos, com expansão no forno desejável, e uma sensação de sabor não arenosa.

"MÉTODOS PARA FABRICAR UMA FARINHA DE GRÃO INTEGRAL ESTABILIZADA E PARA FABRICAR UM COMPONENTE DE FARELO ESTABILIZADO, COMPONENTE DE FARELO ESTABILIZADO, FARINHA DE GRÃO INTEGRAL ESTABILIZADA, PRODUTO ALIMENTÍCIO, E, PRODUTO DE BOLACHA"

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção diz respeito a processos para fabricar farinhas de grão integral e componentes de farelo ou ingredientes para fabricar farinhas de grão integral que exibem rancidez baixo e vida de prateleira prolongada. A presente invenção também diz respeito a produtos alimentícios, tais como produtos assados fabricados de tais farinhas estabilizadas e componentes de farelo estabilizados.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

Produtos alimentícios contendo níveis elevados de grão integral são recomendados pelas diretrizes de dieta de 2005 publicadas pelo USDA como constituindo metade de um consumo de grão pessoal, porque grãos integrais são uma boa fonte de nutrientes de interesse. Para adultos, estes nutrientes incluem cálcio, potássio, fibra, magnésio, e vitaminas A (como carotenóides), C, e E. Entretanto, o consumo de alimentos de grão integral atrasou principalmente devido a certas qualidades de alimentos de grão integral, tais como aparência e textura grossas, arenosas do ingrediente de farinha de grão integral tipicamente disponível para o uso. Mais recentemente, farinhas de trigo de grão integral comerciais são comercializadas com tamanho de partícula reduzido; entretanto, estas farinhas exibem desempenho de processamento de alimento muito deficiente em biscoitos, biscoitos finos, cereais matinais e outros produtos assados devido à trituração fina do grão integral a tamanhos de partícula de menos do que 150 mícrons, resultando em dano do amido. Além disso, estas farinhas trituradas finas têm estabilidade ao armazenamento muito mais deficiente do que outras

farinhas de trigo de grão integral. Espera-se que farinhas de trigo de grão integral estabilizadas comerciais contendo componentes estabilizados tais como farelo e germe tenham melhor estabilidade ao armazenamento. Entretanto, a funcionalidade do farinhas, especialmente para a produção de biscoito, biscoito fino e cereal, por exemplo em termos de maquinabilidade de massa e expansão do biscoito, é muito comprometida devido a quantidades significantes de amido gelatinizado e danificado na farinha.

Geralmente é conhecido que farinhas de trigo de grão integral contendo farelo e germe são menos estáveis do que farinhas de trigo refinadas brancas. O armazenamento de farinhas de trigo de grão integral durante tão pouco tempo quanto 30 dias a 75°F (24°C) pode resultar no desenvolvimento de odores e sabores indesejáveis em produtos fabricados com a farinha de grão integral. Em colaboração com o desenvolvimento de sabores indesejáveis está um aumento na quantidade de ácidos graxos livres nas farinhas, correlacionado com taxa aumentada de captação de oxigênio nas farinhas e a formação dos componentes oxidativos de rancidez. O tamanho de partícula decrescente aumenta a taxa e extensão da deterioração de componentes de grão. Tratamento com calor e umidade é comumente usado para inativar enzimas responsáveis pela deterioração da farinha, embora ele seja recentemente mostrado contribuir para a rancidez oxidativa como medido por formação de hexanal, um marcador comum usado para detectar a rancidez oxidativa, na farinha de aveia. Acredita-se que este aumento na rancidez oxidativa seja devido à desintegração de estruturas celulares que tendem a estabilizar lipídeos, ou devido à inativação de antioxidantes termolábeis.

A rancidez em produtos cereais pode ser devido à reações de degradação hidrolítica (enzimática) ou oxidativa, ou ambas. Freqüentemente, a hidrólise pode predispor produtos à rancidez oxidativa subseqüente. A natureza tem fornecido várias características protetoras em sementes para impedir a rancidez e apodrecimento, permitindo que as sementes sobrevivam

períodos de condições adversas antes de atingir um ambiente apropriado para germinação e crescimento. A rancidez é menos provável a desenvolver-se quando materiais de lipídeo, por exemplo, óleo da semente, são incapazes de interagir com reagentes ou catalisadores tais como ar e enzimas. Uma característica protetora em grãos de cereais é o fornecimento de compartimentos separados para armazenar lipídeos e enzimas de modo que eles não podem interagir.

A moagem de grãos de cereais envolve romper os compartimentos separados, farelo, germe e endosperma, tal que os componentes lipídicos e enzimáticos do grão são capazes de interagir, aumentando muito o desenvolvimento da rancidez. O aumento da moagem para reduzir arenosidade causada por partículas de farelo tende a aumentar a área de superfície, reduzir a encapsulação natural de lipídeos, e aumentar a interação entre os lipídeos e componentes enzimáticos aumentando deste modo o desenvolvimento da rancidez.

Assim, farinhas de extração elevada, isto é, aquelas contendo quantidades substanciais de farelo e germe, são menos estáveis do que farinhas brancas. O armazenamento prolongado de farinhas de extração elevada freqüentemente leva ao desenvolvimento de rancidez. A rancidez inclui fatores de qualidade adversa originando-se direta ou indiretamente de reações com lipídeos endógenos, produzindo uma redução na qualidade de assadura da farinha, sabores e odores indesejáveis, e/ou propriedades funcionais inaceitáveis. Uma razão principal para o desenvolvimento de rancidez em farinhas de extração elevada é a degradação enzimática de óleos naturais instáveis. Suprimentos ricos de óleos naturais instáveis estão contidos na porção de germe de grãos usados para fabricar farinhas de extração elevada. Farinhas brancas, por outro lado, contêm pouco ou nenhum óleo natural instável ou gordura porque elas são fabricadas predominantemente da porção do endosperma de grãos e são geralmente substancialmente isentas de

farelo e germe.

Um outro motivo da rancidez ser um problema maior em produtos derivados de farelo e farinha contendo germe é que o farelo e germe contêm as enzimas envolvidas na degradação de lipídeo catalisada por enzima. Uma das enzimas, lipase, causa rancidez hidrolítica em produtos moídos de trigo sadio, não germinado. A lipase é encontrada quase exclusivamente no componente de farelo. A outra enzima de degradação de lipídeo chave, lipoxigenase (LPO), está presente quase exclusivamente no germe e também está envolvida no desenvolvimento de rancidez. Assim, farinhas de trigo contendo farelo ou farinhas graham são muito mais suscetíveis ao desenvolvimento de rancidez do que são as farinhas brancas que contêm pouco ou nenhum farelo e germe.

Acredita-se que a degradação de lipídeo catalisada por enzima que ocorre na farinha de trigo de extração elevada, causando rancidez em tal farinha, ocorra pela ação de lipase seguida pela ação de LPO. Quando lipase, a enzima encontrada quase exclusivamente na porção de farelo do grão, é ativada durante a moagem, ela reage com óleos instáveis que ocorrem naturalmente no grão e rompe os óleos instáveis a ácidos graxos livres (FFA). Este processo pode durar semanas ou ainda meses. Depois, LPO, a enzima encontrada quase exclusivamente na porção de germe do grão, oxida FFA na presença de oxigênio, produzindo produtos de decomposição voláteis tais como peróxidos que, por sua vez, geram aldeídos rançosos. Na ausência de umidade, a oxidação de FFA também é um processo muito lento e pode durar até várias semanas até que quantidades notáveis de aldeídos rançosos possam ser detectadas. Entretanto, na presença de umidade, ou água, que é normalmente adicionada à farinha de trigo em grandes quantidades durante o estágio de processamento da massa, a oxidação catalisada por enzima de ácidos graxos livres tende a proceder a uma grande extensão muito rapidamente, causando a formação de grandes quantidades de aldeídos

rançosos a respeito de apenas alguns minutos.

A Publicação do Pedido de Patente U.S. Nº US 2005/0136173 A1, de Korolchuk, divulga um processo de produzir uma farinha de trigo de grão integral moída ultrafina e os produtos desta. Ultrafino é definido como tendo um tamanho de partícula de menos do que ou igual a cerca de 150 mícrons. O processo é um processo de moagem de grão de fluxo contínuo, incluindo as etapas de separar uma quantidade de grãos de trigo limpos e temperados em uma fração fina, compreendida principalmente de endosperma junto com pequenas quantidades de farelo e germe residuais, e uma fração grossa, compreendida de farelo, germe, e uma pequena quantidade de endosperma residual. A fração grossa é triturada através de um moinho, tal como um moinho de intervalos, para formar uma fração grossa moída ultrafina tendo um tamanho de partícula de menos do que ou igual a cerca de 150 mícrons. Finalmente, a fração grossa moída ultrafina é misturada com a fração fina de modo a formar a farinha de trigo de grão integral moída ultrafina. No processo de Korolchuk, as duas frações são moídas para produzir frações e uma farinha de trigo de grão integral moída ultrafina tendo tamanhos de partícula menores do que ou iguais a cerca de 150 mícrons. De acordo com Korolchuk, a farinha tem o valor nutricional total de grãos de trigo, embora mantendo a textura de farinha de trigo refinada e uma aparência similar à farinha de trigo refinada, e assim, a farinha pode ser usada em produtos alimentícios tais como produtos de padaria e produtos alimentícios de refeição leve, que tipicamente usam farinha de trigo refinada. Entretanto, a produção de uma fração grossa com endosperma muito pouco residual geralmente requer operações de moagem e trituração aumentadas que podem danificar o amido e adversamente afetar a maquinabilidade de massa e produção de biscoito. Também, a trituração da fração grossa a um tamanho de partícula de menos do que ou igual a cerca de 150 mícrons causa interação aumentada entre os lipídeos e enzimas de degradação de lipídeo, que resulta

em problemas de rancidez aumentada.

A Publicação do Pedido de Patente U.S. Nº US 2006/0073258 A1, de Korolchuk, divulga a produção de uma farinha de trigo de grão integral moída ultrafina que tem o valor nutricional total de grãos de trigo, embora mantendo a textura de farinha de trigo refinada e uma aparência similar à farinha de trigo refinada. A produção de uma fração grossa moída ultrafina que pode ser usada como uma reposição e para reforçar a farinha de trigo refinada também é divulgada. Um objetivo do processo de Korolchuk é obter uma farinha de trigo de grão integral moída ultrafina que tem um tamanho de partícula distribuição que satisfaz os padrões de FDA para um produto de farinha de trigo refinada de um tamanho de partícula em que não menos do que 98% passa através de uma peneira Fio 70 U.S. (210 mícrons). No processo de Korolchuk, uma fração fina moída ultrafina compreendendo endosperma e uma fração grossa compreendendo farelo e germe são obtidas. A fração grossa é triturada em um moinho de intervalos para reduzir a carga microbiana, e a fração grossa moída ultrafina depois é misturada com a fração fina moída ultrafina para obter uma farinha de trigo de grão integral moída ultrafina. De acordo com Korolchuk, a trituração da fração grossa em um moinho de intervalos a um tamanho de partícula menor do que ou igual a 500 mícrons reduz a carga microbiana. Depois da peneiração, qualquer fração grossa triturada tendo um tamanho de partícula maior do que 500 mícrons é devolvida ao processo para outra moagem. A estabilização de um componente de farelo ou farinha de trigo integral aquecendo-se uma fração grossa compreendendo farelo e germe para inativar a lipase não é divulgada.

A Publicação de Patente Japonesa Nº JP 205168451 A divulga que uma farinha de trigo tendo um diâmetro de partícula médio de 150 a 230 mícrons e um teor de cinzas de 0,8 a 1,2% não têm nenhum cheiro de farelo de trigo cheirando como grama, é rico em valor nutritivo e sabor, e pode ser usado na produção de macarrões, e confeitos. O tratamento térmico da farinha

para inativar enzimas tais como lipase e lipoxigenase não é divulgado.

Uso de vapor ou outras fontes de calor para inativar enzimas tais como lipase e lipoxigenase em grãos integrais é divulgado na Patente U.S. Nº 4,737,371 de Bookwalter, Patente U.S. Nº 5,066,506 de Creighton *et al*, e Patente U.S. Nº 6,616,957 de Wilhelm *et al*. Entretanto, o tratamento do grão integral geralmente requer uma quantidade aumentada de resfriamento e secagem dos grãos integrais tratados para reduzir seu teor de umidade a níveis estáveis de prateleira microbianamente. Também, tratamento térmico com vapor, tal como utilizado na Patente U.S. Nº 4,737,371 de Bookwalter tende a gelatinizar substancialmente o amido nos bagos ou falha substancialmente ao inativar completamente a lipase e LPO.

Em Bookwalter, Patente U.S. Nº 4,737,371, tratamento com vapor durante um período de tempo de 4 a 12 minutos apenas "reduz significantemente" a atividade de lipase mas não inativa substancialmente a lipase. Quando do tratamento com vapor sob condições suficientes para inativar substancialmente lipase e LPO, o vapor penetra nos bagos e gelatiniza uma quantidade substancial de amido no endosperma interior dos bagos. A umidade do vapor induz a gelatinização do amido nos bagos, quando combinada com o calor levado ao interior dos bagos pelo vapor. A umidade excessiva que penetra nos bagos durante a vaporização também necessita de períodos de secagem longos para reduzir o teor de umidade a um nível aceitável para moagem.

Em uma forma de realização, a Patente U.S. Nº 4,737,371 de Bookwalter divulga que, no caso de cereais de grão grande e aqueles que são de outro modo facilmente desgerminados, tais como milho e trigo, seria vantajoso primeiro moer o grão e depois tratar apenas o germe separado com vapor, de modo que o equipamento e custos de processamento seriam mantidos a um mínimo. Depois disso, é divulgado que, o germe pode ser recombinado com o endosperma. O termo "integral" como usado por

Bookwalter significa que tanto o endosperma quanto o germe estão presentes, contanto que as camadas de casca, casca folhelho, e farelo possam ter sido previamente removidas. Entretanto, o produto combinado, ainda que ele seja chamado um produto de grão integral, não contêm farelo nas proporções naturais presentes no grão integral original.

Na Patente U.S. N° 5,066,506 de Creighton *et al*, um tratamento de tempo curto (30 segundos a 60 segundos), temperatura elevada (400°F a 650°F (204°C a 343°C)) e pressão elevada (50 psig a 70 psig (0,35 MPa man. a 0,48 MPa man.) do grão integral é utilizado para inativar as enzimas envolvidas no desenvolvimento da rancidez. A gelatinização do amido pode ser tão alta quanto 40% do amido total no grão, que pode diminuir a maquinabilidade de massa e expansão do biscoito. Também, as temperaturas e pressões elevadas utilizadas tenderiam a aumentar a produção de acrilamida e destruição de vitamina.

Na Patente U.S. N° 6,616,957 de Wilhelm *et al*, bagos de trigo integrais tendo um teor de umidade de cerca de 15% em peso a cerca de 20% em peso são irradiados com energia infravermelha (IR), os bagos são opcionalmente mantidos em uma temperatura elevada de cerca de 80°C a cerca de 110°C durante um período de tempo até cerca de uma hora, e os bagos tratados são esfriados, secos e fragmentados. O teor de umidade dos bagos pode ser ajustado umedecendo-se ou temperando-se os bagos antes do tratamento com energia IR. O teor de umidade, condições de temperamento opcionais, quantidade de energia IR irradiada, a temperatura elevada, e os vários períodos de tratamento são suficientes para inativar a lipase e lipoxigenase nos bagos, ainda insuficientes para gelatinizar mais do que cerca de 20% do amido nos bagos.

Farinhas de trigo de grão integral tendo um grau alto de dano do amido e/ou um grau alto de gelatinização podem ser aceitáveis para cereais matinais prontos para o consumo ou outras aplicações onde mastigação

ruidosa é desejada, mas formação de massa, forma, ou corte ou expansão no forno durante a assadura não é um interesse. A presente invenção fornece um processo para fabricar farinhas de trigo de grão integral estabilizadas contendo proporções naturais de farelo, germe, e endosperma, com baixos graus de dano do amido devido à abrasão e baixos graus de gelatinização do amido devido ao tratamento com calor e umidade. As farinhas de trigo integral estabilizadas da presente invenção têm funcionalidades de massa e assadura aproximando-se daquelas de farinha de trigo refinada branca. Elas podem ser usadas na produção consistente de altamente maquinável, massas enformáveis para fabricar produtos assados tais como biscoitos, biscoitos finos, e refeições leves com excelente expansão no forno e aparência, e uma sensação de sabor não arenosa.

A presente invenção fornece farinha de trigo de grão integral estabilizada e um componente de farelo estabilizado que exibem absorção de carbonato de sódio-água inesperadamente baixa, e uma vida de prateleira inesperadamente longa, com teores de ácido graxo livre inesperadamente baixos e teores de hexanal em 1 mês ou mais sob condições de armazenamento aceleradas. Um alto nível de inativação enzimática é obtido, embora mantendo níveis inesperadamente elevados de nutrientes essenciais, tais como antioxidantes e vitaminas que são perdidos com tratamentos de estabilização em temperatura elevada. Além disso, a formação de acrilamida é controlada a níveis inesperadamente baixos usando as condições de estabilização da presente invenção.

A presente invenção também fornece um método de estabilização de bago de trigo integral ou grão integral que satisfaz o padrão de identidade para a rotulagem do ingrediente proposto pelo FDA e AACCI para identificar o ingrediente como "grão integral". Como indicado na orientação de rascunho de 15 de Fevereiro de 2006 da U.S. Food and Drug Administration e como usado aqui, o termo "grão integral" inclui grãos de

cereais que consistem do fruto intacto, triturado, quebrado ou em flocos dos grãos cujos componentes principais - o endosperma, germe e farelo ricos em amido - estão presentes nas mesmas proporções relativas visto que eles existem no grão intacto. Esta definição é quase a mesma como a definição de AACC International de "Grãos integrais devem consistir do intacto, triturado, quebrado ou em flocos, cujos componentes anatômicos principais - o endosperma, germe e farelo ricos em amido - estão presentes nas mesmas proporções relativas visto que eles existem no cariopse intacto" que foi aprovada em 1999 e é aplicável aqui. O FDA descreveu que tais grãos podem incluir cevada, fagópiro, trigo burgol, milho, painço, arroz, centeio, aveias, sorgo, trigo e arroz silvestre. Embora esta invenção seja principalmente exemplificada por referência a bagos de trigo, assim como milho, arroz, e aveias, será avaliado que outros grãos de cereais também são considerados estarem dentro do escopo de vários ou certos aspectos da invenção. Exemplos de outros grãos integrais que podem ser processados de acordo com várias ou certas formas de realização desta invenção incluem, por exemplo, arroz silvestre, centeio, cevada, fagópiro, burgol, painço, sorgo, e semelhantes.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Um componente de farelo estabilizado e uma farinha de grão integral estabilizada contendo o componente, tal como farinha de trigo de grão integral, exibindo funcionalidade de assadura de bolacha inesperadamente superior, são produzidos submetendo-se uma fração grossa enriquecida com farelo compreendendo farelo, germe e amido à trituração ou moagem para reduzir a arenosidade da fração grossa, sem substancialmente danificar o amido devido à abrasão. A fração grossa pode ser estabilizada aquecendo-se a fração grossa antes, durante, ou depois da trituração ou moagem. Em formas de realização da invenção, a estabilização pode ser por qualquer combinação de aquecimento antes, durante e depois da trituração e moagem. Preferivelmente, a estabilização é realizada depois da trituração ou

moagem da fração grossa. A estabilização substancialmente reduz a atividade de lipase e lipoxigenase da fração grossa, sem gelatinização substancial do amido. Níveis inesperadamente elevados de antioxidantes naturais e vitaminas, tais como tocoferóis, tiamina e riboflavina são mantidos, com níveis inesperadamente baixos de formação de acrilamida durante a estabilização. A fração grossa estabilizada ou componente de farelo estabilizado podem ser combinados com uma fração fina que contém predominantemente endosperma, para obter uma farinha de grão integral estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada. Em formas de realização da invenção, a fração fina pode conter endosperma ou amido em uma quantidade de pelo menos cerca de 90% em peso, por exemplo de cerca de 92% em peso a cerca de 95% em peso de base de sólidos, com base no peso da fração fina. A farinha de grão integral estabilizada contém endosperma, farelo e germe nas mesmas ou substancialmente as mesmas proporções relativas visto que eles existem no grão intacto, tal como o grão de trigo, grão de milho, grão de arroz, ou grão de aveia intactos.

A fração grossa pode conter farelo em uma quantidade de pelo menos cerca de 50% em peso, com base no peso da fração grossa, e menos do que cerca de 40% em peso de amido ou endosperma, mas geralmente pelo menos cerca de 10% em peso de amido ou endosperma, por exemplo de cerca de 15% em peso a cerca de 35% em peso de amido, com base no peso da fração grossa. Em formas de realização preferidas, a fração grossa pode conter pelo menos cerca de 60% em peso de farelo, pelo menos cerca de 10% em peso de germe, e menos do que ou igual a cerca de 30% em peso de amido, com base no peso da fração grossa. Em formas de realização da invenção, a fração grossa pode ter uma distribuição de tamanho de partícula de pelo menos cerca de 75% em peso tendo um tamanho de partícula de mais do que ou igual a 500 mícrons, menos do que ou igual a cerca de 5% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 149 mícrons, e cerca de 15%

em peso a cerca de 25% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 500 mícrons mas maior do que ou igual a 149 mícrons.

A trituração ou moagem da fração grossa é suficientemente extensiva para evitar uma sensação de sabor arenosa em produtos que a contenha. Entretanto, o teor de amido e a quantidade ou grau de trituração ou moagem são limitados, de modo a evitar dano substancial do amido devido à abrasão da máquina e abrasão entre as partículas de farelo e as partículas de amido. A fração grossa pode ser triturada ou moída para obter uma fração triturada ou moída, ou componente de farelo triturado ou moído, com o mesmo ou substancialmente o mesmo teor de farelo, germe, e amido como a fração grossa. A fração grossa triturada ou moída ou componente de farelo podem ter uma distribuição de tamanho de partícula de pelo menos cerca de 40% em peso da fração ou componente tendo um tamanho de partícula maior do que ou igual a 149 mícrons, e menor do que ou igual a cerca de 35% em peso tendo um tamanho de partícula maior do que ou igual a 500 mícrons. Em formas de realização preferidas, a fração grossa triturada ou moída ou componente de farelo podem ter uma distribuição de tamanho de partícula de cerca de 0,5% em peso a cerca de 5% em peso maior do que ou igual a 841 mícrons, cerca de 10% em peso a cerca de 30% em peso, mais preferivelmente de cerca de 15% em peso a cerca de 25% em peso menor do que 841 mícrons mas maior do que ou igual a 500 mícrons, cerca de 25% em peso a cerca de 70% em peso, mais preferivelmente de cerca de 45% em peso a cerca de 60% em peso maior do que ou igual a 149 mícrons mas menor do que 500 mícrons, e menor do que ou igual a cerca de 60% em peso, preferivelmente de cerca de 10% em peso a cerca de 30% em peso menor do que 149 mícrons, com as porcentagens somando até um total de 100% em peso.

A estabilização da fração grossa pode ser obtida aquecendo-se a fração grossa sob condições de temperatura, teor de umidade, e tempos de

tratamento que são suficientes para pelo menos substancialmente inativar a lipase e a lipoxigenase mais facilmente inativada. O teor de umidade da fração grossa durante a estabilização por tratamento térmico deve ser alto o bastante para evitar produção de acrilamida substancial, mas não tão alto para resultar na gelatinização substancial do amido ou requerer secagem pós-estabilização excessiva. Em formas de realização da invenção, a temperatura de estabilização pode ser de cerca de 100°C a cerca de 140°C, preferivelmente de cerca de 115°C a cerca de 125°C, e o teor de umidade da fração grossa submetido à estabilização pode ser de cerca de 7% em peso a cerca de 17% em peso, preferivelmente de cerca de 9% em peso a cerca de 14% em peso, com base no peso da fração grossa. Em formas de realização da invenção, o tempo de tratamento térmico pode ser de cerca de 0,25 minutos a cerca de 12 minutos, preferivelmente de cerca de 1 minuto a cerca de 7 minutos. A estabilização pode ser conduzida sem nenhuma alteração ou substancial das proporções de germe, farelo, ou endosperma rico em amido da fração ou componente submetidos à estabilização. Em formas de realização da invenção onde a estabilização é conduzida antes ou depois da trituração, a estabilização pode ser conduzida sem nenhuma alteração ou substancial da distribuição de tamanho de partícula da fração ou componente submetidos à estabilização. Por exemplo, em formas de realização preferidas da invenção, a fração triturada ou moída estabilizada ou o componente de farelo triturado ou moído estabilizado podem ter o mesmo ou substancialmente o mesmo teor de farelo, germe, e amido e distribuição de tamanho de partícula como a fração grossa triturada ou moída antes que eles sejam estabilizados.

Em formas de realização da invenção, um componente de farelo estabilizado que inclui uma fração grossa triturada ou moída, tratada com calor pode ter uma atividade de lipase de menos do que cerca de 3, preferivelmente menor do que cerca de 2, o mais preferivelmente menor do que cerca de 1 micromol de ácido livre de butirato formado por hora por 0,1

grama do componente de farelo estabilizado ou fração grossa triturada ou moída estabilizada, base úmida ou base seca, e um teor de acrilamida menor do que ou igual a cerca de 150 ppb, preferivelmente menor do que ou igual a cerca de 100 ppb, com base no peso do componente de farelo estabilizado ou fração grossa estabilizada. A fração grossa estabilizada pode manter uma capacidade de remoção de radical livre antioxidante de não menos do que cerca de 150 micromol de equivalentes de Trolox por grama. A retenção de vitamina, tal como retenção de Vitaminas E, B1 e B2, pode ser pelo menos cerca de 80% em peso, com base no teor de vitamina no componente de farelo antes da estabilização. A gelatinização do amido pode ser menor do que cerca de 25%, preferivelmente menor do que cerca de 10%, o mais preferivelmente menor do que cerca de 5%, como medida por calorimetria por varredura diferencial (DSC). O baixo grau de gelatinização do amido e baixo grau de dano do amido obtidos no componente de farelo de trigo e farinha de trigo de grão integral da presente invenção são exemplificados por uma entalpia de fusão de amido de mais do que cerca de 4 J/g, preferivelmente maior do que cerca de 5 J/g, com base no peso de amido no componente de farelo estabilizado ou fração grossa triturada, como medido por calorimetria por varredura diferencial (DSC), em uma temperatura de pico de cerca de 65°C a cerca de 70°C, e uma capacidade de retenção de solvente de carbonato de sódio-água (carbonato de sódio SRC) de menos do que cerca de 200%, com base no peso do componente de farelo ou fração grossa estabilizados.

As farinhas de grão integral estabilizadas da presente invenção, tais como farinha de trigo de grão integral estabilizada, incluem farelo, germe e endosperma, onde apenas uma porção do endosperma é submetida à estabilização térmica na presença de farelo e germe, mas pelo menos uma porção substancial do farelo e germe é submetida à estabilização por aquecimento na ausência de uma porção maior do endosperma. Em formas de realização da invenção, a farinha de trigo de grão integral

estabilizada pode ter uma atividade de lipase menor do que cerca de 1,5, preferivelmente menor do que cerca de 1,25, o mais preferivelmente menor do que cerca de 1 micromol de ácido livre de butirato formado por hora por 0,1 grama da farinha de grão integral estabilizada, base úmida ou base seca, e um teor de acrilamida menor do que cerca de 45 ppb, preferivelmente menor do que cerca de 30 ppb, com base no peso de farinha de grão integral estabilizada. As farinhas de trigo de grão integral estabilizadas podem ter um teor de ácido graxo livre inesperadamente baixo de menos do que cerca de 10% em peso de lipídeos totais da farinha depois de um mês sob armazenamento acelerado a 95°C, ou menos do que cerca de 3.000ppm, com base no peso da farinha de grão integral estabilizada, e um teor de hexanal inesperadamente baixo de menos do que cerca de 10ppm depois de 1 mês de armazenamento acelerado a 95°C, com base no peso da farinha de grão integral estabilizada.

A distribuição de tamanho de partícula da farinha de trigo de grão integral estabilizada pode ser menor do que cerca de 10% em peso, preferivelmente menor do que cerca de 5% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 35 (500 mícrons), cerca de 20% em peso a cerca de 40% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 60 (250 mícrons), cerca de 10% em peso a cerca de 60% em peso, preferivelmente de cerca de 20% em peso a cerca de 40% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 100 (149 mícrons), e menor do que cerca de 70% em peso, por exemplo de cerca de 15% em peso a cerca de 55% em peso, através de uma Peneira Padrão U.S. Nº 100 (149 mícrons). A farinha de trigo de grão integral estabilizada exibe excelente funcionalidade de assadura de bolacha, com uma capacidade de retenção de solvente de carbonato de sódio-água (carbonato de sódio SRC) de menos do que cerca de 85%, preferivelmente menos do que cerca de 82%.

Produtos alimentícios que podem ser produzidos usando o componente de farelo estabilizado ou farinha de grão integral estabilizada, tal

como farinha de trigo de grão integral estabilizada, como ingredientes incluem produtos alimentícios farináceos, tais como produtos de padaria e refeições leves, tais como biscoitos, biscoitos finos, bolachas, bordas de pizza, bordas de torta, pães, pães em forma de anel, roscas salgadas em forma de laço, bolos de chocolate recheado com nozes, bolinhos leves e doces, panquecas, massas para torta, bolos, pães de minuto, rocamboles, roscas, barras de frutas e grãos, pães redondos feitos de água e farinha de milho, produtos de padaria semi-assados, e barras de cereal crocantes, e cereais matinais prontos para o consumo.

As farinhas de grão integral estabilizadas, tais como farinha de trigo de grão integral estabilizada, da presente invenção podem ser usadas na produção consistente de massas enformáveis, altamente maquináveis para fabricar produtos assados tais como biscoitos, biscoitos finos, e refeições leves com expansão no forno e aparência inesperadamente superiores, e uma sensação de sabor não arenosa. Em formas de realização da invenção, a expansão no forno ou expansão do biscoito pode ser pelo menos cerca de 130% do diâmetro da massa pré-assada original, como medido de acordo com o método de bancada AACC 10-53.

BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

A FIG. 1 mostra um gráfico de absorbância a 620 nm e 525 nm *vs.* a concentração de amido em uma amostra, que é usado para calcular o teor de amido das amostras de fração de farelo do Exemplo 1.

A FIG. 2 mostra o perfil de fusão de cristalino do amido em amostras de farelo estabilizadas como determinado por calorimetria por varredura diferencial (DSC) padrão.

A FIG. 3 mostra um gráfico de absorbância a 620 nm e 525 nm *vs.* a concentração de amido em uma amostra, que é usado para calcular o teor de amido das amostras de fração de farelo do Exemplo 2.

A FIG. 4 mostra distribuições de tamanho de partícula e

capacidades de retenção de solvente (SRC) de frações grossas ou componentes de farelo do Exemplo 3 contendo misturas de farelo e germe antes e depois da trituração.

A FIG. 5. mostra a funcionalidade da assadura de farinhas de trigo de grão integral estabilizadas e não estabilizadas em termos de capacidade de retenção de solvente de carbonato de sódio-água (carbonato SRC) e expansão do biscoito como uma função da porcentagem em peso de partículas maiores do que 250 mícrons em tamanho.

A FIG. 6 mostra um gráfico dos ácidos graxos livres totais em farinhas de trigo de grão integral estabilizadas e não estabilizadas fabricadas com componentes de farelo triturados como uma função da duração do tempo em armazenamento acelerado.

A FIG. 7 mostra um gráfico dos ácidos graxos livres totais em farinhas de grão integral estabilizadas e não estabilizadas fabricadas com subproduto de farelo triturado a partir da produção da moagem de farinha refinada branca como uma função da duração do tempo em armazenamento acelerado.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

A presente invenção fornece um componente de farelo estabilizado, tal como um componente de trigo altamente enriquecido em farelo, uma farinha de grão integral estabilizada contendo o componente de farelo estabilizado, tal como uma farinha de trigo de grão integral estabilizada contendo o componente de farelo de trigo estabilizado, e processos para fabricar o componente de farelo estabilizado e farinha de grão integral estabilizada. Tanto as condições de trituração ou moagem quanto o processo de estabilização fornecem uma redução substancial na atividade de lipase e atividade de lipoxigenase, e formação de ácido graxo livre, hexanal e acrilamida inesperadamente baixa. Além disso, uma retenção inesperadamente alta de nutrientes naturais, tais como vitaminas e

antioxidantes no componente de farelo estabilizado e farinha de grão integral estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada, é obtida. As condições de trituração ou moagem e as condições de estabilização não afetam adversamente a maquinabilidade de massa ou funcionalidade da assadura da farinha de grão integral estabilizada. O componente de farelo estabilizado tem um baixo teor de amido com uma baixa razão de ligação de iodo, baixo dano do amido e gelatinização do amido, e baixa capacidade de retenção de solvente (SRC). A farinha de trigo de grão integral, que contém proporções naturais de endosperma, farelo e germe como no grão intacto, tem capacidade de retenção de solvente (SRC) inesperadamente baixa, baixo dano do amido e baixo grau de gelatinização, e uma vida de prateleira inesperadamente longa. De acordo com o processo da presente invenção, apenas uma pequena porção do endosperma da farinha de grão integral, tal como farinha de trigo de grão integral, é submetido à trituração ou moagem na presença do farelo e germe, de modo a reduzir o dano do amido. Também, apenas aquela pequena porção de endosperma é submetida à estabilização por aquecimento, de modo a reduzir substancialmente a gelatinização do amido. Entretanto, pelo menos uma porção substancial do farelo e germe da farinha de grão integral, tal como farinha de trigo integral, é submetida à estabilização por aquecimento, de modo a reduzir substancialmente a atividade de lipase e lipoxigenase. Um produto de grão integral pode ser fabricado da farinha de grão integral estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada, tendo uma textura não arenosa, e expansão do biscoito no forno inesperadamente superiores.

PRODUÇÃO DA FRAÇÃO GROSSA E DA FRAÇÃO FINA

Em formas de realização da invenção para fabricar uma farinha de grão integral estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada, e um componente de farelo estabilizado, grãos de cereais integrais ou bagos podem ser fragmentados, triturados ou moídos em maneira

convencional usando equipamento de moagem de farinha conhecido para obter grãos de cereais integrais triturados. Os grãos de cereais integrais podem ser temperados ou não temperados, mas são preferivelmente não temperados, grãos de cereais integrais brutos, que foram limpos por lavagem com água. Teores de umidade de cerca de 11% em peso a cerca de 14,5% em peso são preferidos para propósitos de moagem ou trituração, com teores de umidade de cerca de 12,5% em peso a cerca de 13,5% em peso sendo particularmente preferidos. Se existe muito pouca umidade nos grãos ou bagos, os grãos ou bagos podem indesejavelmente despedaçar e formar amido danificado. Uma quantidade de umidade muito alta pode tornar os grãos ou bagos suscetíveis à gelatinização do amido excessiva e também pode fazer com que os grãos ou bagos sejam difíceis para moer ou triturar. Por estas razões, teores de umidade de grão ou bago de cerca de 11% em peso a cerca de 14,5% em peso são preferidos exatamente antes da moagem ou trituração. Se o teor de umidade dos grãos ou bagos for muito baixo, a umidade pode ser adicionada aos grãos ou bagos secos antes da moagem ou trituração para aumentar o teor de umidade a um nível aceitável para a moagem ou trituração. A adição de umidade pode ser obtida em maneira convencional temperando-se os grãos ou bagos ou pulverizando suas superfícies com água e impedindo que elas encharquem. Grãos integrais naturais tais como bagos de trigo geralmente têm um teor de umidade de cerca de 10% em peso a cerca de 14,5% em peso. Conseqüentemente, em formas de realização preferidas da invenção, o umedecimento ou têmpera dos bagos ou grãos integrais ou umedecimento da fração grossa para obter um teor de umidade desejado para a moagem ou trituração podem não ser necessários ou utilizados.

Os grãos de cereais integrais fragmentados, triturados, ou moídos podem ser submetidos a operações de separação ou triagem convencionais, usando equipamento de processamento de grão conhecido para obter uma fração grossa e uma fração fina. De acordo com o método da

presente invenção, a fração grossa é enriquecida em farelo e germe e também contém endosperma, e a fração fina é predominantemente endosperma, e também pode conter algum farelo e germe.

Grãos integrais contêm principalmente o endosperma, farelo, e germe, em proporções decrescentes, respectivamente. Em grãos de trigo integrais, por exemplo, em umidade de campo de cerca de 13% em peso, o endosperma ou amido é cerca de 83% em peso, o farelo é cerca de 14,5% em peso, e o germe é cerca de 2,5% em peso, com base no peso do grão intacto. O endosperma contém o amido, e é mais baixo em teor de proteína do que o germe e o farelo. Ele também é baixo em constituintes de gordura e cinzas brutos.

O farelo (pericarpo ou casca) é a parede do ovário maduro que está abaixo da cutícula, e compreende todas as camadas celulares externas abaixo do revestimento da semente. Ele é alto em não-amido-polissacarídeos, tais como celulose e pentosanos. Um pentosano é um carboidrato complexo presente em muitos tecidos vegetais, particularmente farelos, caracterizado por hidrólise para fornecer monossacarídeos de cinco átomos de carbono (pentoses). Ele é qualquer membro de um grupo de polissacarídeos de pentose tendo a fórmula $(C_5H_8O_4)_n$ encontrado em vários alimentos e sucos vegetais. O farelo ou pericarpo tende a ser muito duro devido ao seu alto teor de fibra e comunica uma sensação de sabor arenosa, seca particularmente quando presente em grandes tamanhos de partícula. Ele também contém a maioria da lipase e lipoxigenase do grão e precisa ser estabilizado.

Como um resultado da dureza ou resistência do farelo, durante operações de moagem de farinha, ele é geralmente quebrado em partículas menores a uma extensão significantemente mais baixa do que é o endosperma e germe. Usando-se tamanhos de tela apropriados, é possível obter uma fração grossa que é enriquecida em farelo em relação às proporções naturais do farelo, germe, e endosperma no grão intacto. Conforme a extensão da

trituração ou moagem aumenta, o tamanho de partícula do farelo aproxima-se do tamanho de partícula do amido, fazendo com que o farelo e amido mais duros separem. Também, o dano do amido tende a aumentar devido a mais entrada de energia mecânica, e abrasividade do farelo comparado ao endosperma, e ruptura dos grânulos de amido. Em formas de realização da presente invenção, a moagem ou trituração é conduzida de modo a enriquecer a fração grossa em farelo, sem causar dano substancial do amido. Também, em formas de realização da presente invenção, o farelo é substancialmente reduzido em tamanho de partícula para reduzir substancialmente a arenosidade, mas a redução do tamanho de partícula é limitada de modo a evitar dano substancial ao amido que está presente na fração grossa. Também, amido mecanicamente danificado tende a ser mais suscetível à gelatinização. De acordo com o processo da presente invenção, pouco, se algum amido mecanicamente danificado é transportado ou submetido ao processo de estabilização.

O *scutulum* e o eixo embrionário são as principais partes do germe. O *scutulum* compõe 90% do germe, e armazena nutrientes mobilizados durante a germinação. Durante esta transformação, o eixo embrionário cresce em uma semeadura. O germe é caracterizado por seu alto teor de óleo graxo. Ele também é rico em proteínas brutas, açúcares, e constituintes de cinzas. O *scutulum* contém células do parênquima ricas em óleo que têm paredes celulares sulcadas. O germe é preferivelmente submetido à estabilização com o farelo para inativar qualquer lipase e lipoxigenase que possam apresentar-se neste a partir da trituração ou moagem, enquanto evitando a destruição substancial dos nutrientes naturais.

Em formas de realização mais particulares do processo de moagem do grão, a produção da fração grossa e da fração fina pode incluir conduzir uma quantidade de grãos integrais, tais como trigo, através de pelo menos um conjunto de rolos de quebra ou moinhos de rolo, e um separador a

jusante de cada conjunto de rolos de quebra para fornecer grãos moídos. Conforme mais rolos de quebra são utilizados mais amido ou endosperma é liberado, e o farelo tende a permanecer em partículas mais grossas, maiores do que o endosperma. Durante a operação de quebra as partículas de farelo tendem a achatar enquanto o endosperma tende a fragmentar em grânulos de amido individuais. Os grãos moídos podem ser separados ou purificados para coletar a fração fina e reter a fração grossa. Por exemplo, em formas de realização da invenção, os bagos de trigo podem ser conduzidos através de pelo menos um conjunto de rolos de quebra e seus separadores para: 1) coletar uma primeira fração de endosperma tendo um tamanho de partícula menor do que ou igual a 500 mícrons, e reter uma primeira fração grossa triturada tendo um tamanho de partícula de mais do que 500 mícrons, 2) triturar a primeira fração grossa triturada retida para coletar uma segunda fração de endosperma tendo um tamanho de partícula menor do que ou igual a 500 mícrons, 3) combinar a primeira fração de endosperma e a segunda fração de endosperma para obter uma fração fina, e 4) reter uma segunda fração grossa triturada tendo um tamanho de partícula de mais do que 500 mícrons para outra redução de tamanho. Em operações de moagem convencionais, cinco conjuntos de rolos de quebra e um separador a jusante de cada conjunto de rolos de quebra podem ser utilizados. Em formas de realização preferidas da invenção, menos conjuntos de rolos de quebra e separadores, por exemplo apenas dois conjuntos de rolos de quebra e dois separadores, podem ser utilizados para reduzir o dano do amido e obter uma maior distribuição de tamanho de partícula para a fração fina e a fração grossa. Também, corrugações grosseiras em cada rolo de cada par de rolos de quebra são preferivelmente utilizadas para reduzir a dispersão do endosperma na quebra dos grãos, reduzir o dano do amido durante as operações de quebra, e obter uma maior distribuição de tamanho de partícula para a fração fina e a fração grossa.

Quando da quebra de grãos integrais e trituração sem peneiração, o amido do endosperma e o amido do pericarpo são distribuídos uniformemente por todo o produto triturado, em suas proporções naturais. Quando a quebra e peneiração são utilizadas, a fração grossa que contém o farelo, tende a tornar-se enriquecida em amido de pericarpo em relação ao amido de endosperma. Em uma outra forma de realização, uma operação de perolização pode ser utilizada que descasca a camada de farelo do grão e tende a aumentar a proporção do amido de pericarpo em relação ao amido de endosperma na fração grossa.

A fração grossa pode conter farelo em uma quantidade de pelo menos cerca de 50% em peso, com base no peso da fração grossa. A quantidade de germe presente na fração grossa pode estar em torno da mesma quantidade relativa ao farelo como ele é no grão intacto. A quantidade de amido ou endosperma presente na fração grossa, pode ser menor do que cerca de 40% em peso, mas geralmente pelo menor do cerca de 10% em peso de amido ou endosperma, por exemplo de cerca de 15% em peso a cerca de 35% em peso de amido, preferivelmente menor do que ou igual a cerca de 30% em peso, com base no peso da fração grossa. Em formas de realização preferidas, a fração grossa pode conter pelo menos cerca de 60% em peso de farelo, e pelo menos cerca de 10% em peso de germe, com base no peso da fração grossa. Em formas de realização da invenção, a fração grossa pode ter uma distribuição de tamanho de partícula de pelo menos cerca de 75% em peso tendo um tamanho de partícula de mais do que ou igual a 500 mícrons, menos do que ou igual a cerca de 5% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 149 mícrons, e cerca de 15% em peso a cerca de 25% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 500 mícrons mas maior do que ou igual a 149 mícrons.

A fração fina é predominantemente endosperma, e geralmente pode conter amido ou endosperma em uma quantidade de pelo menos cerca

de 90% em peso, por exemplo de cerca de 92% em peso a cerca de 95% em peso base de sólidos, com base no peso da fração fina. A quantidade de germe presente na fração fina pode estar em torno da mesma quantidade relativa ao farelo como ele está no grão intacto. A quantidade de farelo presente na fração fina, pode ser menor do que cerca de 8% em peso, por exemplo de cerca de 5% em peso a cerca de 6% em peso de farelo, com base no peso da fração fina. Em formas de realização da invenção, a fração fina pode conter germe em uma quantidade de menos do que cerca de 1,5% em peso, por exemplo menos do que cerca de 1% em peso, com base no peso da fração fina. Em formas de realização da invenção, a fração fina pode ter uma distribuição de tamanho de partícula de menos do que cerca de 10% em peso tendo um tamanho de partícula de mais do que ou igual a 500 mícrons, menos do que ou igual a cerca de 80% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 149 mícrons, e cerca de 20% em peso a cerca de 65% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 500 mícrons mas maior do que ou igual a 149 mícrons. Mais preferivelmente, a fração fina pode ter uma distribuição de tamanho de partícula de menos do que ou igual a cerca de 5% em peso tendo um tamanho de partícula de mais do que ou igual a 500 mícrons, menos do que ou igual a cerca de 55% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 149 mícrons, e cerca de 40% em peso a cerca de 65% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 500 mícrons mas maior do que ou igual a 149 mícrons. Em formas de realização da invenção, trituração ou moagem da fração fina a uma distribuição de tamanho de partícula maior do que aquela da farinha de trigo refinada ajuda a reduzir dano do amido e melhorar a funcionalidade da assadura sem substancialmente afetar adversamente a textura dos produtos assados.

Em formas de realização da invenção, a moagem do grão integral, tal como trigo, produz cerca de 60% em peso a cerca de 83% em peso de fração fina e de cerca de 17% em peso a cerca de 40% em peso de

fração grossa, com base no peso do grão integral.

TRITURAÇÃO DA FRAÇÃO GROSSA

A fração grossa retida ou recuperada é submetida à outra trituração ou moagem para reduzir substancialmente arenosidade sem substancialmente danificar o amido presente na fração grossa por abrasão da máquina ou por abrasão entre as partículas de farelo e as partículas de amido.

Em formas de realização preferidas, a fração grossa retida ou recuperada é submetida à outra trituração ou moagem através de um moedor, que é preferivelmente um moinho de intervalos. O moinho de intervalos utilizado pode ser um moinho de intervalos comercialmente disponível, tal como um Moinho de intervalos Bauermeister (Bauermeister, Inc., Memphis, Tenn.). O moinho de intervalos Bauermeister é designado para trituração fina e inclui um intervalo de trituração ajustável entre um rotor de forma cônica e um defletor corrugado. A fração grossa pode ser continuamente transportado do moagem de farinha à entrada do moinho de intervalos em uma taxa aproximada de cerca de 600 libras por hora a cerca de 1000 libras por hora. A fração grossa triturada depois pode ser descarregada do fundo do moinho de intervalos por gravidade.

Seja qual para o processo para moagem ou trituração da fração grossa utilizado, a fração triturada ou moída resultante, ou componente de farelo triturado ou moído pode ter o mesmo ou substancialmente o mesmo teor de farelo, germe, e amido como a fração grossa. Assim, a fração triturada ou moída ou componente de farelo pode conter farelo em uma quantidade de pelo menos cerca de 50% em peso, com base no peso da fração grossa triturada. A quantidade de germe presente na fração grossa triturada ou componente de farelo pode estar em torno da mesma quantidade relativa ao farelo visto que ele está no grão intacto. A quantidade de amido ou endosperma presente na fração grossa triturada, pode ser menor do que cerca de 40% em peso, mas geralmente pelo menos cerca de 10% em peso de amido

ou endosperma, por exemplo de cerca de 15% em peso a cerca de 35% em peso de amido, preferivelmente menos do que ou igual a cerca de 30% em peso, com base no peso da fração grossa triturada. Em formas de realização preferidas, a fração grossa triturada pode conter pelo menos cerca de 60% em peso de farelo, e pelo menos cerca de 10% em peso de germe, com base no peso da fração grossa triturada.

A fração grossa triturada ou moída ou componente de farelo podem ter uma distribuição de tamanho de partícula de pelo menos cerca de 40% em peso da fração ou componente tendo um tamanho de partícula maior do que ou igual a 149 mícrons, e menos do que ou igual a cerca de 35% em peso tendo um tamanho de partícula maior do que ou igual a 500 mícrons. Em formas de realização preferidas, a fração grossa triturada ou moída ou componente de farelo pode ter uma distribuição de tamanho de partícula de cerca de 0,5% em peso a cerca de 5% em peso maior do que ou igual a 841 mícrons, cerca de 10% em peso a cerca de 30% em peso menor do que 841 mícrons mas maior do que ou igual a 500 mícrons, cerca de 25% em peso a cerca de 70% em peso maior do que ou igual a 149 mícrons mas menor do que 500 mícrons, e menos do que ou igual a cerca de 60% em peso menor do que 149 mícrons, com as porcentagens somando até um total de 100% em peso.

Mais preferivelmente, a fração grossa triturada ou moída ou componente de farelo podem ter uma distribuição de tamanho de partícula de cerca de 0,5% em peso a cerca de 5% em peso maior do que ou igual a 841 mícrons, cerca de 15% em peso a cerca de 25% em peso menor do que 841 mícrons mas maior do que ou igual a 500 mícrons, cerca de 45% em peso a cerca de 60% em peso maior do que ou igual a 149 mícrons mas menor do que 500 mícrons, e de cerca de 10% em peso a cerca de 30% em peso menor do que 149 mícrons, com as porcentagens somando até um total de 100% em peso.

ESTABILIZAÇÃO DA FRAÇÃO GROSSA

A estabilização da fração grossa por aquecimento para inativar lipase e lipoxigenase pode ser realizada antes, durante, ou depois da trituração ou moagem da fração grossa. Em formas de realização da invenção, a estabilização pode ser por qualquer combinação de aquecimento antes, durante e depois da trituração e moagem. A estabilização é preferivelmente realizada depois da trituração ou moagem da fração grossa.

Sem restrição de quando ela é conduzida, a estabilização da fração grossa pode ser obtida aquecendo-se a fração grossa sob condições de temperatura, teor de umidade, e tempos de tratamento que são suficientes para inativar pelo menos substancialmente a lipase, e a lipoxigenase mais facilmente inativada. O teor de umidade da fração grossa durante a estabilização por tratamento térmico deve ser alto o bastante para evitar produção de acrilamida substancial. Acredita-se que a formação de acrilamida resulte depois de uma degradação de Strecker de asparagina e metionina na presença de produtos de brunimento de Maillard de dicarbonila. Acredita-se que altos teores de umidade inibam a formação de acrilamida porque a água é mais nucleofílica do que asparagina e reduz a atividade do grupo amino primário sobre a asparagina. Temperaturas de estabilização mais baixas e tempos de estabilização mais curtos também resultam na produção de acrilamida mais baixa. Entretanto, o aumento do teor de umidade da fração grossa durante a estabilização de modo a reduzir a produção de acrilamida tende a aumentar a gelatinização do amido ou pode requerer secagem pós-estabilização excessiva para reduzir o risco de crescimento de mofo. O teor de umidade da fração grossa durante a estabilização não deve ser tão alto de modo a resultar na gelatinização do amido excessiva ou para requerer secagem extensiva para obter um teor de umidade estável de prateleira. Em formas de realização da invenção, o teor de umidade da fração grossa submetido à estabilização pode ser de cerca de 7% em peso a cerca de 17%

em peso, preferivelmente de cerca de 9% em peso a cerca de 14% em peso, com base no peso da fração grossa. Durante a estabilização é preferido que a fração grossa nem ganhe nem perca umidade. Em algumas formas de realização a fração grossa pode perder de cerca de 10% em peso a cerca de 70% em peso de umidade, por exemplo de cerca de 15% em peso a cerca de 25% em peso de umidade durante a estabilização. Em outras formas de realização, a fração grossa pode ganhar umidade, nas mesmas quantidades, como um resultado de injeção de vapor por todo o processo de estabilização. Entretanto, perda de umidade e ganho de umidade podem ser controlados em maneira conhecida de modo que o teor de umidade da fração grossa durante a estabilização esteja dentro da faixa desejada para controlar requerimentos de secagem, gelatinização, e produção de acrilamida, e atividade de lipase, por exemplo, de cerca de 7% em peso a cerca de 17% em peso, preferivelmente de cerca de 9% em peso a cerca de 14% em peso, com base no peso da fração grossa.

Em formas de realização da invenção, o teor de umidade da fração de farelo pode ser controlado tratando-se ou temperando-se os bagos ou grãos integrais tal que porções exteriores dos bagos ou grãos são umedecidas sem substancialmente umedecer as porções interiores destes. Tal tratamento evita ou substancialmente reduz a necessidade para secar a fração fina obtida do interior ou endosperma do bago ou grão, enquanto umedecimento as porções exteriores ou de farelo e germe do bago para tratamento de estabilização subseqüente. Métodos de têmpera que podem ser usados para realizar um umedecimento de superfície ou farelo incluem encharcar os bagos ou grãos integrais ou núcleos, tais como bagos de trigo integrais, durante períodos de tempo limitados em um banho ou tanque, por exemplo. Em outras formas de realização, os bagos integrais podem ser pulverizados na superfície com água e permitidos encharcar ou temperar. Tempos de embebimento ou têmpera de cerca de 10 minutos a cerca de 24

horas podem ser utilizados de acordo com algumas formas de realização da invenção. O embebimento dos bagos durante um período de tempo mais longo não é desejável porque ele pode resultar na penetração profunda da água nos bagos, umedecendo a porção interior dos bagos.

Em outras formas de realização, a fração grossa, ao invés de ou além do bago ou grão integrais pode ser umedecida de modo a obter um teor de umidade desejado na fração grossa. Se o umedecimento for necessário, é preferido que ele seja realizado na fração de farelo, ao invés de sobre os bagos ou grãos integrais.

Bagos de trigo integrais naturais geralmente têm um teor de umidade de cerca de 10% em peso a cerca de 14,5% em peso. Conseqüentemente, em formas de realização preferidas da invenção, o umedecimento ou têmpera dos bagos integrais ou umedecimento da fração grossa para obter um teor de umidade desejado para a estabilização podem não ser necessários ou utilizados.

Embora temperaturas de estabilização mais baixas e tempos de estabilização mais curtos ajudem a reduzir a produção de acrilamida, gelatinização do amido, e destruição de vitamina e antioxidante, as temperaturas mais baixas reduzem a quantidade de lipase e lipoxigenase que é destruída. Em formas de realização da invenção, a temperatura de estabilização pode ser de cerca de 100°C a cerca de 140°C, preferivelmente de cerca de 115°C a cerca de 125°C. A temperatura de estabilização pode ser medida com uma sonda de temperatura inserida e centralmente posicionada dentro da batelada da fração grossa tratada. Em formas de realização da invenção, o tempo de tratamento térmico pode ser de cerca de 0,25 minutos a cerca de 12 minutos, preferivelmente de cerca de 1 minuto a cerca de 7 minutos, geralmente com os tempos de tratamento mais longos sendo utilizados com as temperaturas mais baixas e teores de umidade mais baixos.

Em formas de realização da invenção, a temperatura de

estabilização e tempo de estabilização, e teores de umidade podem ser controlados de modo que a gelatinização do amido que resulta da estabilização na fração grossa triturada ou moída estabilizada ou componente de farelo podem ser menos do que cerca de 25%, preferivelmente menos do que cerca de 10%, o mais preferivelmente menos do que cerca de 5%, como medido por calorimetria por varredura diferencial (DSC). O baixo grau de gelatinização do amido e baixo grau de dano do amido obtidos na presente invenção são exemplificados por uma entalpia de fusão de amido de mais do que cerca de 4 J/g, preferivelmente maior do que cerca de 5 J/g, com base no peso de amido no componente de farelo estabilizado ou fração grossa triturada, como medido por calorimetria por varredura diferencial (DSC), em uma temperatura de pico de cerca de 65°C a cerca de 70°C. Geralmente, a gelatinização do amido ocorre quando: a) água em uma quantidade suficiente, geralmente pelo menos cerca de 30% em peso, com base no peso do amido, é adicionada a e misturada com amido e, b) a temperatura do amido é elevada a pelo menos cerca de 80°C (176°F), preferivelmente 100°C (212°F) ou mais. A temperatura de gelatinização depende da quantidade de água disponível para interação com o amido. Quanto mais baixa a quantidade de água disponível, geralmente, mais alta a temperatura de gelatinização. A gelatinização pode ser definida como o colapso (desorganização) de ordens moleculares dentro do grânulo de amido, manifestada em mudanças irreversíveis em propriedades tais como intumescência granular, fusão de cristalito nativo, perda de birrefração, e solubilização do amido. A temperatura do estágio inicial de gelatinização e a faixa de temperatura na qual ela ocorre são controladas por concentração de amido, método de observação, tipo de grânulo, e heterogeneidades dentro da população de grânulo sob observação. Contra-colagem é o fenômeno de segundo estágio a seguir do primeiro estágio de gelatinização na dissolução do amido. Ele envolve intumescência granular aumentada, exudação de componentes

moleculares (isto é, amilose, seguido por amilopectina) do grânulo, e eventualmente, desorganização total dos grânulos. Ver Atwell *et al.*, "The Termoinology And Methodology Associated With Basic Starch Phenomena," Cereal Foods World, Vol. 33, Nº 3, pgs. 306-311 (Março de 1988).

O baixo grau de gelatinização do amido e a baixa quantidade de dano do amido devido à abrasão durante a trituração podem ser medidos pela capacidade de retenção de solvente de carbonato de sódio-água (carbonato de sódio SRC). A capacidade de retenção de solvente (SRC) pode ser medida misturando-se uma amostra do ingrediente ou componente, tal como a fração grossa triturada estabilizada ou componente de farelo, ou uma farinha de trigo de grão integral estabilizada, tendo um peso (A), por exemplo, cerca de 5g, com um grande excesso de água ou outro solvente, tal como uma solução aquosa de carbonato de sódio (por exemplo, 5% em peso de carbonato de sódio) e centrifugando a mistura de solvente-farinha. O líquido sobrenadante depois pode ser decantado e a amostra pode ser pesada para obter o peso da amostra úmida centrifugada (B), em que o valor de SRC é calculado pela seguinte equação: valor de SRC=((BA)/A))x100. Em formas de realização da invenção, a fração grossa triturada ou moída estabilizada ou componente de farelo podem ter uma capacidade de retenção de solvente de carbonato de sódio-água (carbonato de sódio SRC) de menos do que cerca de 200%, preferivelmente menos do que cerca de 180%.

Embora a gelatinização do amido, produção de acrilamida, e destruição de vitamina e antioxidante sejam substancialmente limitadas, a estabilização térmica obtém inativação inesperadamente superior de lipase e lipoxigenase. Acredita-se que estes dois componentes sejam principalmente responsáveis pela rancidez de farinha de grão integral catalisada por enzima. Em formas de realização da invenção, um componente de farelo estabilizado que inclui uma fração grossa triturada ou moída, tratada com calor pode ter uma atividade de lipase de menos do que cerca de 3, preferivelmente menos

do que cerca de 2, o mais preferivelmente menos do que cerca de 1 micromol de ácido livre de butirato formado por hora por 0,1 grama do componente de farelo estabilizado ou fração grossa triturada ou moída estabilizada, base úmida ou base seca. Em formas de realização da invenção, esta pode ser uma redução de uma atividade de lipase de cerca de 4 a 6 micromol de ácido livre de butirato formado por hora por 0,1 grama do componente de farelo não estabilizado ou fração grossa triturada ou moída não estabilizada, ou redução de lipase de pelo menos cerca de 25%. O mais preferivelmente, tanto atividades de lipase quanto lipoxigenase são completamente eliminadas. Também, o teor de acrilamida pode ser limitado a menos do que ou igual a cerca de 150 ppb, preferivelmente menos do que ou igual a cerca de 100 ppb, com base no peso do componente de farelo estabilizado ou fração grossa estabilizada. Antioxidantes naturais são mantidos de modo que a fração grossa estabilizada possa ter uma capacidade de remoção de radical livre antioxidante de não menos do que cerca de 150 micromol de equivalentes de Trolox por grama. Retenção de vitamina, tal como retenção de Vitaminas E, B1 e B2 pode ser pelo menos cerca de 80% em peso, com base no teor de vitamina no componente de farelo antes da estabilização.

A estabilização da fração grossa por aquecimento pode ser conduzida sem nenhuma alteração ou substancial das proporções de germe, farelo, amido ou endosperma da fração ou componente submetidos à estabilização. Assim, em formas de realização da invenção, a fração grossa triturada ou moída estabilizada ou componente de farelo triturado ou moído estabilizado, sem restrição de se a estabilização é realizada antes, durante ou depois da trituração da fração grossa, pode conter farelo em uma quantidade de pelo menos cerca de 50% em peso, com base no peso da fração grossa triturada ou moída estabilizada, ou componente de farelo triturado ou moído estabilizado. A quantidade de germe presente na fração grossa triturada estabilizada ou componente de farelo pode estar em torno da mesma

quantidade relativa ao farelo como ele é no grão intacto. A quantidade de amido ou endosperma presente na fração grossa triturada ou moída estabilizada ou componente de farelo, pode ser menos do que cerca de 40% em peso, mas geralmente pelo menos cerca de 10% em peso de amido ou endosperma, por exemplo de cerca de 15% em peso a cerca de 35% em peso de amido, preferivelmente menos do que ou igual a cerca de 30% em peso, com base no peso da fração grossa triturada ou moída estabilizada ou componente de farelo. Em formas de realização preferidas, a fração grossa triturada ou moída estabilizada pode conter pelo menos cerca de 60% em peso de farelo, e pelo menos cerca de 10% em peso de germe, com base no peso da fração grossa triturada estabilizada ou componente de farelo.

Em formas de realização da invenção, o amido da fração grossa triturada, estabilizada ou componente de farelo é estruturalmente separado e forma a cor 'vermelho' que resulta do amido semelhante à amilopectina altamente ramificado, de peso molecular alto encontrado no pericarpo. O amido ainda associado com a fração de farelo, em formas de realização da invenção, pode formar um complexo de amido-iodo que absorve em cerca de 525 nm e cerca de 600 nm de luz. Uma razão de absorbância de ligação de iodo, menor do que cerca de 1,2 (por exemplo, 600 nm/525 nm=1,15), preferivelmente menor do que cerca de 1,0 é uma característica peculiar. Ela mostra que a fração grossa triturada estabilizada ou componente de farelo é altamente enriquecida em farelo, contendo pouco amido associado (isto é, o amido é do pericarpo externo ao invés do endosperma).

Em formas de realização da invenção, a fração grossa triturada, estabilizada, ou o farelo purificado, depois da estabilização e redução do tamanho de partícula podem ter um teor de cinzas de cerca de 3% em peso a cerca de 7% em peso, por exemplo cerca de 5,5%, e uma densidade de cerca de 0,15 g/ml a cerca de 0,5 g/ml, por exemplo cerca de 0,3 g/ml e um RH/teor de umidade controlado entre 20% a 50%. Neste RH, a umidade é

otimizada em favor de mobilidade baixa, reatividade lenta ainda existe água o bastante para inibir a reatividade de radical livre. O teor de umidade do componente de farelo estabilizado pode variar de cerca de 7% em peso a cerca de 13% em peso, com base no peso do componente de farelo estabilizado, e a atividade da água pode ser menor do que cerca de 0,7, preferivelmente de cerca de 0,2 a cerca de 0,5.

A estabilização da fração grossa, se conduzida antes ou depois da trituração, pode ser realizada sem nenhuma alteração ou substancial da distribuição de tamanho de partícula da fração ou componente submetidos à estabilização. Por exemplo, em formas de realização preferidas da invenção, a fração triturada ou moída estabilizada, ou o componente de farelo triturado ou moído estabilizado podem ter a mesma ou substancialmente a mesma distribuição de tamanho de partícula como a fração grossa triturada ou moída antes que eles sejam estabilizados. Em formas de realização da invenção, a estabilização pode aumentar ou diminuir o teor de umidade da fração grossa, que por sua vez pode mudar a distribuição de tamanho de partícula. Por exemplo, a estabilização térmica pode secar a fração grossa não triturada ou triturada e causar algum encolhimento ou redução no tamanhos de partícula. Também, o aumento no teor de umidade durante a estabilização, tal como por injeção de vapor, pode intumescer a fração grossa não triturada ou triturada e aumentar os tamanhos de partícula. É preferível não ganhar nem perder teor de umidade durante a estabilização e assim não deve haver nenhuma mudança real no tamanho de partícula devido à mudança de umidade durante o tratamento térmico. Entretanto, se o teor de umidade muda durante a estabilização por tratamento térmico, ele faz assim dentro da faixa desejada, por exemplo, 9% em peso a cerca de 14% em peso, e a distribuição de tamanho de partícula permanece dentro da faixa desejada. Assim, mesmo se o teor de umidade muda durante o tratamento térmico, a fração grossa triturada, estabilizada ou moída ou o componente de farelo triturado ou moído,

estabilizado podem ter uma distribuição de tamanho de partícula de pelo menos cerca de 40% em peso da fração ou componente estabilizados tendo um tamanho de partícula maior do que ou igual a 149 mícrons, e menor do que ou igual a cerca de 35% em peso tendo um tamanho de partícula maior do que ou igual a 500 mícrons. Em formas de realização preferidas, a fração grossa triturada ou moída estabilizada ou componente de farelo podem ter uma distribuição de tamanho de partícula de cerca de 0,5% em peso a cerca de 5% em peso maior do que ou igual a 841 mícrons, cerca de 10% em peso a cerca de 30% em peso menor do que 841 mícrons mas maior do que ou igual a 500 mícrons, cerca de 25% em peso a cerca de 70% em peso maior do que ou igual a 149 mícrons mas menor do que 500 mícrons, e menor do que ou igual a cerca de 60% em peso menor do que 149 mícrons, com as porcentagens somando até um total de 100% em peso.

Mais preferivelmente, a fração grossa triturada ou moída estabilizada ou componente de farelo estabilizado podem ter uma distribuição de tamanho de partícula de cerca de 0,5% em peso a cerca de 5% em peso maior do que ou igual a 841 mícrons, cerca de 15% em peso a cerca de 25% em peso menor do que 841 mícrons mas maior do que ou igual a 500 mícrons, cerca de 45% em peso a cerca de 60% em peso maior do que ou igual a 149 mícrons mas menor do que 500 mícrons, e de cerca de 10% em peso a cerca de 30% em peso menor do que 149 mícrons, com as porcentagens somando até um total de 100% em peso.

A estabilização da fração grossa pode estar em uma batelada, semi- batelada ou base contínua, com o último sendo preferido. Vasos de aquecimento conhecidos, tais como fogareiros em batelada, misturadores, tambores rotativos, misturadores contínuos, e extrusoras podem ser utilizados para o aquecimento da fração grossa para estabilizá-la. O aparelho de aquecimento pode ser vasos encamisados equipados com camisas de aquecimento ou resfriamento para o controle externo da temperatura de

estabilização e/ou bocais de injeção de vapor para a injeção direta de umidade e calor na fração grossa. Em outras formas de realização, radiação ou energia infravermelha (IR) pode ser utilizada para aquecer a fração de farelo grossa para estabilizá-la. Em uma forma de realização preferida, um fogareiro de farelo Lauhoff, fabricado por Lauhoff pode ser utilizado para a estabilização da fração grossa em uma base contínua. Em formas de realização onde a trituração ou moagem é realizada simultaneamente com estabilização térmica, rolos aquecidos podem ser utilizados. Em tais formas de realização, a temperatura e teor de umidade podem ser ajustados a montante para encurtar o tempo de estabilização para agir de acordo com um tempo de trituração desejado para obter uma distribuição de tamanho de partícula alvejada.

Em outras formas de realização da invenção, pelo menos uma, ou todas, as frações grossas trituradas retidas ou recuperadas e além disso, ou moinho de intervalos, a fração grossa triturada pode ser estabilizada ou enzimaticamente inativada usando um agente de estabilização comestível ou tratamento sozinho ou em combinação com tratamento térmico. Entretanto, a estabilização térmica sozinha é preferida como um método de estabilizar a fração grossa. Exemplos de agentes de estabilização comestíveis que podem ser utilizados em uma quantidade de estabilização eficaz a uma extensão de estabilização antes da mistura da fração grossa com a fração fina são bissulfatos, bissulfitos, metabissulfitos, e metabissulfatos alcalinos comestíveis, tais como metabissulfito de sódio, ácidos orgânicos, tais como ácido sórbico, dióxido de enxofre, cisteína, ácido tioglicólico, glutationa, sulfeto de hidrogênio, outros agentes de redução comestíveis, e misturas destes.

Em formas de realização da invenção, a fração grossa tratada com calor pode ser permitida esfriar em ar ambiente. Em outras formas de realização, resfriamento da fração grossa triturada ou moída ou componente de farelo depois do tratamento térmico pode opcionalmente ser controlada

para minimizar outra gelatinização indesejada do amido. De acordo com algumas formas de realização da invenção, resfriamento rápido da fração grossa aquecida é preferida, por exemplo, com ar ambiente frio ou temperatura ambiente. A fração grossa tratada com calor pode ser esfriada a uma temperatura de superfície preferivelmente abaixo de cerca de 60°C dentro de 60 minutos. Geralmente, nenhuma outra gelatinização significante ocorre no componente de farelo estabilizado nas temperaturas mais baixo do que cerca de 60°C. Depois a fração grossa tratada com calor pode ser esfriada até temperatura ambiente, ou cerca de 25°C. Em formas de realização da invenção, a taxa de resfriamento média usada para obter uma temperatura de superfície de cerca de 25°C pode ser uma diminuição de temperatura de cerca de 1°C/min a cerca de 3°C/min.

A taxa de resfriamento deve ser selecionada para minimizar outra gelatinização de amido na fração grossa depois do tratamento térmico, mas não deve ser tão rápida quanto para impedir outra inativação de lipase e LPO, se necessário. Se nenhuma outra inativação de lipase ou LPO for desejada, resfriamento pode ser conduzido para reduzir rapidamente a temperatura da fração grossa tratada com calor para menos do que cerca de 60°F (15,5°C). Por exemplo, uma taxa de resfriamento mais alta pode ser utilizada para resfriamento inicial da fração grossa tratada com calor, seguida por uma taxa de resfriamento mais baixo. Também, a taxa de resfriamento pode ser selecionada para secar a fração grossa tratada com calor para vários graus. Por exemplo, períodos de resfriamento mais longos em taxas de resfriamento mais baixas fornecem um secador de fração grossa estabilizada quando comparada a uma fração grossa estabilizada esfriada em taxas de resfriamento mais altas durante períodos mais curtos de tempo.

Um refrigerador ou dispositivo de resfriamento pode ser localizado na saída de um silo, por exemplo um silo regulador de fluxo, ou correia transportadora que recebe a fração grossa tratada com calor.

Refrigeradores que podem ser usados para os processos da invenção incluem tubos de resfriamento ou túneis de resfriamento através dos quais a fração grossa tratada com calor passa sob a força da gravidade ou em um dispositivo transportador. Embora a fração grossa tratada com calor passe através do dispositivo, ar esfriado pode ser passado sobre e através da fração grossa ou componente de farelo. O ar de resfriamento consumido depois pode ser coletado ou aspirado, por exemplo, por uma coifa, e ainda tratado em um separador centrífugo. Um refrigerador preferido fornece ar de resfriamento à várias regiões ao longo do comprimento de um tubo ou túnel de resfriamento. Preferivelmente, o ar de resfriamento é passado através de um dispositivo resfriador antes de contatar a fração grossa tratada com calor para obter uma temperatura que é mais baixa do que a do ar ambiente.

Depois do resfriamento, o teor de umidade da fração grossa tratada com calor pode opcionalmente ser mais reduzida por secagem. Temperaturas de secagem de menos do que cerca de 60°C são preferidas de modo que nenhuma outra gelatinização de amido ocorra durante o processo de secagem. De acordo com a presente invenção, temperaturas de secagem podem variar de cerca de 0°C a cerca de 60°C. Entretanto, secagem na temperatura ambiente é menos cara do que secagem em um temperatura refrigeradora e impedirá outra gelatinização do amido na fração grossa tratada com calor durante secagem. Secagem é preferivelmente conduzida em uma atmosfera tendo uma umidade relativa baixa, e pode preferivelmente ser conduzida em uma atmosfera de pressão reduzida. Em formas de realização da presente invenção secagem pode ser realizada até que o teor de umidade da fração grossa tratada com calor ou componente de farelo seja reduzida à faixa de cerca de 7% em peso a cerca de 14% em peso, preferivelmente de cerca de 10% em peso a cerca de 13% em peso. Se o tratamento térmico e resfriamento opcional obtêm teores de umidade dentro de uma faixa desejada, nenhuma etapa de secagem é considerada necessária.

PRODUÇÃO DA FARINHA DE GRÃO INTEGRAL ESTABILIZADA

A fração grossa triturada estabilizada ou componente de farelo estabilizado pode ser combinado com a fração fina para obter uma farinha de grão integral estabilizada, tal como uma farinha de trigo de grão integral estabilizada, da presente invenção. A farinha de grão integral estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada, inclui farelo, germe e endosperma, onde apenas uma porção do endosperma foi submetida à estabilização térmica mas pelo menos uma porção substancial do farelo e germe foi submetida à estabilização por aquecimento. O componente de farelo estabilizado ou fração grossa triturada, estabilizada são preferivelmente derivados dos mesmos grãos integrais ou bagos ou núcleos dos quais a fração de endosperma é derivada. Entretanto, em outras formas de realização, o componente de farelo estabilizado ou fração grossa triturada, estabilizada pode ser combinada ou misturada com uma fração de endosperma que é derivada ou obtida de uma fonte diferente de grãos ou bagos ou núcleos. Em cada forma de realização entretanto, o componente de farelo estabilizado e a fração de endosperma são combinados ou misturados de modo a fornecem uma farinha de grão integral estabilizada que contém endosperma, farelo e germe nas mesmas ou substancialmente nas mesmas proporções relativas visto que eles existem no grão intacto.

A fração de farelo estabilizada que compreende uma fração grossa triturada ou moída, tratada com calor compreendendo farelo, germe e amido pode ser misturada, combinada, ou mesclada com a fração de endosperma usando aparelho de medição e combinação convencional conhecido na técnica para obter pelo menos uma farinha de grão integral estabilizada substancialmente homogênea. Exemplares de dispositivos mistura e combinação que podem ser utilizados incluem misturadores em batelada, tambores rotativos, misturadores contínuos, e extrusoras.

Em formas de realização da invenção, a farinha de trigo de

grão integral estabilizada pode ter uma atividade de lipase menor do que cerca de 1,5, preferivelmente menor do que cerca de 1,25, o mais preferivelmente menor do que cerca de 1 micromol de ácido livre de butirato formado por hora por 0,1 grama da farinha de grão integral estabilizada, base úmida ou base seca. O teor de acrilamida da farinha de grão integral estabilizada pode ser menor do que cerca de 45 ppb, preferivelmente menor do que cerca de 30 ppb, com base no peso de farinha de grão integral estabilizada. As farinhas de trigo de grão integral estabilizadas podem ter um teor de ácido graxo livre inesperadamente baixo de menos do que cerca de 10% em peso de lipídeos totais da farinha depois de um mês sob armazenamento acelerado a 95°C, ou menos do que cerca de 3.000ppm, com base no peso da farinha de grão integral estabilizada. As farinhas de trigo de grão integral estabilizadas podem exibir um teor de hexanal inesperadamente baixo de menos do que cerca de 10ppm depois de 1 mês armazenamento acelerado a 95°C, com base no peso da farinha de grão integral estabilizada.

O teor de umidade da farinha de grão integral estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada, pode variar de cerca de 10% em peso a cerca de 13% em peso, com base no peso da farinha de grão integral estabilizada, e a atividade de água pode ser menor do que cerca de 0,7. Em formas de realização, a farinha de trigo de grão integral estabilizada pode ter um teor de proteína de cerca de 10% em peso a cerca de 14% em peso, por exemplo cerca de 12% em peso, um teor de gordura de cerca de 1% em peso a cerca de 3% em peso, por exemplo cerca de 2% em peso, e um teor de cinzas de cerca de 1,2% em peso a cerca de 1,7% em peso, por exemplo cerca de 1,5% em peso, cada uma das porcentagens estando com base no peso da farinha de grão integral estabilizada.

A farinha de grão integral estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada, pode ter uma porção substancial de amido que é não gelatinizado ou essencialmente não gelatinizado porque ela vem da

fração fina que não sofre estabilização térmica. Uma porção menor do amido pode ser parcialmente gelatinizada a um baixo grau, porque ela vem da fração grossa tratada com calor ou componente de farelo. Em formas de realização da invenção, a farinha de grão integral estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada, pode ter um baixo grau de gelatinização do amido de menos do que cerca de 25%, preferivelmente menos do que cerca de 10%, o mais preferivelmente menos do que cerca de 5%, como medido por calorimetria por varredura diferencial (DSC). A entalpia de fusão de amido do amido contido na farinha de trigo de grão integral estabilizada pode ser maior do que cerca de 4 J/g, preferivelmente maior do que cerca de 5 J/g, com base no peso de amido na farinha de grão integral estabilizada, como medido por calorimetria por varredura diferencial (DSC), em uma temperatura de pico de cerca de 65°C a cerca de 70°C.

A farinha de grão integral estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada, pode ter uma distribuição de tamanho de partícula de menos do que cerca de 10% em peso, preferivelmente menos do que cerca de 5% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 35 (500 mícrons), cerca de 20% em peso a cerca de 40% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 60 (250 mícrons), cerca de 10% em peso a cerca de 60% em peso, preferivelmente de cerca de 20% em peso a cerca de 40% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 100 (149 mícrons), e menos do que cerca de 70% em peso, por exemplo de cerca de 15% em peso a cerca de 55% em peso, através de uma Peneira Padrão U.S. Nº 100 (149 mícrons).

A farinha de trigo de grão integral estabilizada exibe excelente funcionalidade da assadura com uma capacidade de retenção de solvente de carbonato de sódio-água (carbonato de sódio SRC) de menos do que cerca de 85%, preferivelmente menos do que cerca de 82%, por exemplo de cerca de 70% a cerca de 80%. Em formas de realização da invenção, expansão no forno ou expansão do biscoito pode ser pelo menos cerca de 130% do

diâmetro da massa pré-assada original, como medido de acordo com o método de bancada AACC 10-53.

A presente invenção é aplicável à qualquer e todos tipos de trigo. Embora não limitado a este, os bagos de trigo podem ser selecionados de bagos de trigo macio/macio e macio/duro. Eles podem compreender bagos de trigo brancos ou vermelhos, bagos de trigo duros, bagos de trigo macios, bagos de trigo do hemisfério norte, bagos de trigo da primavera, bagos de trigo duros, ou 'combinações destes. Exemplos de outros grãos integrais que podem ser processados de acordo com vários ou certas formas de realização ou aspectos desta invenção incluem, por exemplo, aveias, milho, arroz, arroz silvestre, centeio, cevada, fagópiro, burgol, painço, sorgo, e semelhantes, e misturas de grãos integrais.

A presente invenção fornece uma estabilidade de material bruto melhorado e mais do que um mês de vida de prateleira, por exemplo 2 meses ou mais, sob condições de armazenamento aceleradas, para um componente de farelo estabilizado ou ingrediente e para uma farinha de grão integral estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada. Um produto alimentício mais estável pode ser armazenado sob condições similares durante um período mais longo de tempo do que um produto alimentício menos estável antes de ficar rançoso. A presença de rancidez pode ser monitorada e medida em uma multiplicidade de maneiras diferentes, incluindo medições do nível atividade de lipoxigenase ou lipase de teste sensorial (por exemplo, análise de sabor e/ou odor), medições do nível do ácido graxo livre, e/ou medições do nível hexanal.

Em outras formas de realização da invenção, o componente de farelo estabilizado ou a farinha de grão integral estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada, pode ser combinado, mesclado, ou misturado com farinha de trigo refinada para obter uma farinha fortificada, produto ou ingrediente, tal como farinha de trigo fortificada. A produto de

farinha de trigo fortificada pode conter o componente de farelo estabilizado ou a farinha de grão integral estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada, em uma quantidade de cerca de 14% em peso a cerca de 40% em peso, por exemplo de cerca de 20% em peso a cerca de 30% em peso, com base no peso total do produto de farinha fortificada, tal como produto de farinha de trigo fortificada.

A farinha de grão integral estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada, pode ser utilizada para substituir parcial ou completamente farinha de trigo refinada, ou outras farinhas, em uma variedade de produtos alimentícios. Por exemplo, em formas de realização da invenção, pelo menos cerca de 10% em peso, no máximo 100% em peso, por exemplo de cerca de 30% em peso a cerca de 50% em peso da farinha de trigo refinada, podem ser substituídas pela farinha de trigo de grão integral estabilizada para aumentar valores nutricionais dos produtos de farinha de trigo refinada com pouco, se algum dano à aparência, textura, aroma, ou sabor do produto.

Os componentes de farelo estabilizados e produtos de grão integral estabilizados, tais como produtos trigo de grão integral estabilizados, obtidos na presente invenção podem ser empacotados, armazenados estavelmente, e subseqüentemente ou imediatamente ainda usados em produção de alimentos. Os produtos de farelo estabilizados e produtos de farinha estão prontos para outro processamento nos produtos alimentícios acabados adicionando-se água e outros ingredientes alimentícios aplicáveis, misturando, formando, e assando ou fritando, etc. Massas contendo o farelo estabilizado e farinhas de grão integral, tais como farinha de trigo de grão integral, podem ser continuamente produzidas e trabalhadas à máquina, por exemplo enformadas, laminadas, moldadas, extrusadas, ou co-extrusadas, e cortadas, em uma base de produção de massa. Os produtos de grão integral acabados (por exemplo, bolachas, biscoitos, biscoitos finos, barras de cereais,

etc.) têm um textura agradável com as características de um sabor de grão integral.

Os componentes de farelo estabilizados e produtos de farinhas de grão integral estabilizadas, tais como produtos de farinha de trigo de grão integral estabilizada, da presente invenção podem ser usados em uma ampla variedade de produtos alimentícios. Os produtos alimentícios incluem produtos alimentícios farináceos, e produtos tipo bolacha em particular, produtos de pasta, cereais prontos para comer, e confecções. Em uma forma de realização, o produtos alimentícios podem ser produtos de padaria ou refeições leves. Os produtos de padaria podem incluir biscoitos, biscoitos finos, bordas de pizza, bordas de torta, pães, pães em forma de anel, roscas salgadas em forma de laço, bolos de chocolate recheado com nozes, bolinhos leves e doces, panquecas, massas para torta, bolos, pães de minuto, rocamboles, roscas, barras de frutas e grãos, pães redondos feitos de água e farinha de milho, e produtos de padaria semi-assados. Os produtos para refeição leve podem incluir chips para lanches rápidos e refeições leves extrusadas, infladas. O produto alimentício particularmente pode ser selecionado de biscoitos, biscoitos finos, e barras de cereal crocantes. Os biscoitos podem ser produtos do tipo para bar, extrusados, co-extrusados, enformados e cortados, moldados por rotação, cortados a fio, ou biscoitos recheados. Exemplares de biscoitos que podem ser produzidos incluem panquecas de açúcar, biscoitos enchidos com açúcar, biscoitos com lascas de chocolate, biscoitos com açúcar, e semelhantes. Os biscoitos finos podem ser fermentados ou biscoitos finos do tipo não fermentados, e biscoitos finos graham. Os produtos assados produzidos de acordo com a presente invenção podem ser biscoitos finos ou biscoitos tendo um teor de gordura total ou eles podem ser um produto com gordura reduzida, baixa-gordura, ou sem gordura.

Além de água, biscoito, biscoito fino, e ingredientes de refeição rápida que podem ser mesclados com a farinha de grão integral

estabilizada, tal como farinha de trigo de grão integral estabilizada, da presente invenção incluem farinha de trigo enriquecida, gordura vegetal, açúcar, sal, xarope de milho com alto teor de frutose, agentes de fermentação, agentes flavorizantes e agentes de coloração. Farinhas de trigo enriquecidas que podem ser usadas incluem farinhas de trigo enriquecidas com niacina, ferro reduzido, mononitrato de tiamina e riboflavina. Gorduras vegetais que podem ser usadas incluem aquelas fabricadas de óleo de soja parcialmente hidrogenado. Agentes de fermentação que podem ser usados incluem fosfato de cálcio e bicarbonato de sódio. Agentes de coloração que podem ser usados incluem agentes de coloração vegetais tais como extrato de urucum e resina oleosa de açafrão.

Massa fabricada de acordo com a presente invenção inclui massa compreendendo várias combinações dos biscoito, biscoito fino, e ingredientes de refeição rápida anteriormente mencionados. De acordo com algumas formas de realização, todos dos ingredientes precedentes são homogeneamente mesclados e a quantidade de água é controlada para formar uma massa de consistência desejada. A massa depois pode ser formada em pedaços e assadas ou fritas para produzir produtos tendo excelentes atributos de umidade, geometria, aparência, e textura.

A presente invenção é ilustrada pelos seguintes exemplos não limitantes em que todas partes, porcentagens, e razões estão em peso, todas temperaturas estão em °C, e todas temperaturas são atmosférica, a menos que indicado ao contrário:

EXEMPLO 1

Preparação de componente de farelo estabilizado

Neste exemplo, um componente de farelo de trigo estabilizado, da moagem de trigo vermelho macio e branco macio temperado, é preparado e analisado para determinar a atividade de lipase, retenção de vitamina e o perfil de fusão do amido no farelo. Frações de farelo tendo duas distribuições de tamanho de partícula diferentes foram submetidas a tratamentos de

estabilização de acordo com a presente invenção. O componente de farelo de tamanho de partícula maior tem uma distribuição de tamanho de partícula representativa de uma fração grossa não triturada. O componente de farelo de tamanho de partícula menor tem uma distribuição de tamanho de partícula representativa de um componente grosso triturado ou moído.

Componente de farelo estabilizado foi produzido usando farelo obtido da moagem de trigo vermelho macio e branco macio temperado usado na produção de branco, refinada farinha. O farelo, um subproduto da moagem, tem um teor de cinzas de cerca de 6,5% em peso, um teor de umidade de cerca de 9,5% em peso a cerca de 11,5% em peso, uma umidade relativa de cerca de 45%, e uma densidade de cerca de 0,29 g/ml. O tamanho de partícula do farelo foi medido usando um agitador RoTap com a ajuda de pérolas de silício para separar os agregados da partícula. Dois tamanhos de partícula de farelo foram testados. O de tamanho maior teve pelo menos cerca de 80% do peso da partícula >500 mícrons e o tamanho menor teve cerca de 25% do peso da partícula >500 mícrons, cerca de 35% >250 mícrons, cerca de 20% >149 mícrons e cerca de 20% <149 mícrons. O farelo conteve cerca de 22% a 25% de amido como determinado por medição iodimétrica. Antes da estabilização, a umidade do farelo foi ajustada colocando-se o farelo em um recipiente coberto em uma solução salina saturada, durante uma semana na temperatura ambiente, para ajustar uniformemente a umidade do farelo no aumento de cerca de 9,5% em peso a cerca de 14% em peso no teor de umidade de acordo com a Tabela 1:

Tabela 1: Teor de umidade do farelo

Solução salina saturada	**Umidade relativa**	**Teor de umidade do farelo,% em peso**
$Mg(NO_3)_26H_2O$	52%	9,56% a 10,23%
Ambiente de atmosfera controlada	63%	11,19% a 11,58%
NH_4Cl	79%	13,94% a 14,09%

O farelo, 20 g, foi colocado em um saco laminado selado com três a quatro furos de alfinete pequenos para liberar a pressão do aquecimento.

O estudo foi realizado de acordo com um projeto experimental resumido na Tabela 2. O farelo foi aquecido em um forno de convecção de ar forçado pré-aquecido (Thelco Model 26, Precision Scientific) durante 3, 5 ou 7 minutos e a 100°C, 120°C ou 140°C, de modo a determinar o efeito da umidade do farelo, tempo de aquecimento e temperatura na atividade de lipase, retenção de vitamina e cristalinidade do amido. Depois do aquecimento, o farelo foi esfriado em um refrigerador e depois foi colocado em um recipiente selado e armazenado congelado. Uma porção da amostra foi analisada para determinar: 1) atividade de lipase, 2) retenção de vitamina, e 3) cristalinidade do amido.

Determinação da atividade de lipase

A atividade de lipase, expressa como produto de hidrólise em μmol formado por hora por peso unitário de farelo, descobriu-se ser 5,87μmol/h/0,1g para o material de partida de tamanho de partícula pequeno e foi reduzido a 1,2μmol/h/0,1g a 11,58% em peso de umidade depois do tratamento de estabilização durante 5 minutos a 120°C. Para o tamanho de partícula maior, a atividade de lipase descobriu-se ser 4,23μmol/h/0,1g para o material de partida e foi reduzida a 0,83μmol/h/0,1g para o material de 11,19% em peso de umidade tratada durante 5 minutos a 120°C.

O projeto experimental para as condições de estabilização tratando-se a fração grossa e a fração grossa triturada ou componente de farelo é mostrado na Tabela 2:

Tabela 2: Projeto experimental para fração grossa e fração grossa triturada ou estabilização do componente de farelo

Padrão	Rodada	Bloco	Fator 1 A: Temp., °C	Fator 2 B: Tempo, min.	Fator 3 C: Umidade,% em peso
5	5	Bloco 1	100	3	14,5
3	8	Bloco 1	100	7	12,5
7	9	Bloco 1	100	7	14,5
1	10	Bloco 1	100	3	12,5
9	4	Bloco 1	120	5	13,5
10	6	Bloco 1	120	5	13,5
2	1	Bloco 1	140	3	12,5
8	2	Bloco 1	140	7	14,5
6	3	Bloco 1	140	3	14,5
4	7	Bloco 1	140	7	12,5

Retenção da Vitamina E (tocoferol), B1 (tiamina) e B2 (riboflavina) no farelo estabilizado foi medida de acordo com métodos padrão para análise de vitamina em alimentos.

O método usado para medição da atividade de lipase esterase envolve: 1) dispensar o farelo em tampão de pH 7,0, 2) adicionar substrato de butirato de p-nitrofenila (Sigma 9876), e 3) medição espectrofotométrica da atividade esterase do farelo através da liberação de p-nitrofenol que absorve perto de 340 nm.

Medição da atividade de lipase

Os materiais, instrumentos, e métodos utilizados para medir atividade de lipase são:

Materiais:

1. Tampão de fosfato (pH 7,5, 0,2 M,);
2. Butirato de p-nitrofenila (Sigma, 1045-5G);
3. acetonitrila;

Instrumentos:

1. Espectrofotômetro;
2. Centrifugador, capaz de 1000g.

Métodos:

1. Dissolver p-NPB em acetonitrila de modo que sua concentração seja 10,75 mM;

2. Pesar as amostras no tubo do centrifugador (para trigo: farinha - 0,05g, farelo e germe - 0,02 g). adicionar 9ml de tampão de fosfato (pH 7,5) no tubo;

3. Adicionar 1ml de p-NPB 10,75 mM, a concentração final de p-NPB é 1,075 mM na solução de amostra). Registrar o tempo de extração da adição de p-NPB; sacudir o tubo da amostra, deixá-lo em banho de água a 25°C;

4. Depois de 20 mM de adição de p-NPB, centrifugar a

amostra em 1000g durante 5 min.;

5. Medir a absorbância do sobrenadante a 400 nm em exatamente 30 min. depois da adição de p-NPB;

6. Usar tampão de fosfato (9 ml) e p-NPB (1 ml) misturar como espaço vazio, deixar o espaço vazio em banho de água a 25°C durante 20 minutos, centrifugar, e medir a absorbância em 30 min a 400 nm;

7. Calcular a absorbância da amostra subtraindo-se absorbância em espaço vazio dela;

A atividade de lipase pode ser expressa como:

(amostra A-espaço vazio A)/tempo unitário/peso unitário ou:

μmol de p-NPB hidrolisado/hora/0,1 g

Cálculo:

mol de p-NPB hidrolisado =(A-0,0555)/1380 fazer ajuste de acordo com tempo e peso da amostra.

Nota:

1.) p-NPB pode ser hidrolisado por água. Assim a solução de substrato (em acetonitrila) deve ser manipulado cuidadosamente para evitar água. Misturando o substrato com tampão (o espaço vazio) resultará em absorbância de 0,25 a 0,3 neste teste;

2.) Um espaço vazio deve ser testado a cada dia.

<u>Determinação da quantidade e perfil de fusão de cristalino do amido no farelo</u>

O método para determinar a quantidade de amido no farelo é adotado e modificado de "Iodimetric Determination of Amylose" Iodine Sorption: "Blue Value" por G.A. Gilbert e S.P. Spragg, Methods in Carbohydrate Chemistry, Volume IV, p. 168 (1964). O método envolve: 1) dissolução do amido em álcali fervente, 2) neutralização e tamponamento, 3) ligação do iodo das regiões de amilose do amido, e 4) medição espectrofotométrica a 600 nm e 525 nm do complexo de amido-iodo formado.

Na determinação da quantidade de amido no farelo, uma solução padrão de amido de trigo purificado é preparada:

Preparação da solução padrão de amido de trigo

Pesar 35 mg de amido de trigo purificado (Aytex-P, ADM) corretamente (mais próximo de 0,1μg) e colocar em um frasco volumétrico de 100ml.

1. Adicionar 1ml de NaOH 1N e 2ml de água destilada.

2. Colocar 3 minutos em um banho de água fervente. Girar a cada minuto para dispersar a amostra. No final de 3 minutos remover e esfriar até a temperatura ambiente.

3. Adicionar um adicional de 9ml de NaOH 1N.

4. Encher o frasco até a marca de 100ml com água destilada.

5. Calcular a concentração final de amido [μg/ml].

Desenvolver a Curva de Concentração de Amido

Medir 0, 2, 5, 10 e 15ml de padrão de amilose em cada um dos 5 frascos volumétricos de 100ml.

1. Medir 15, 13, 10, 5 e 0ml de NaOH 0,1N em cada um dos cinco frascos volumétricos de 100ml de modo que cada frasco contenha agora 15ml de solução, cada.

2. Adicionar 15ml de HCl 0,1N a cada frasco para neutralizar.

3. Adicionar água destilada até que o frasco esteja três quartos cheio.

4. Pesar em cada frasco de 100ml, 0,07g a 0,09g de hidrogeno tartarato de potássio para tamponar a solução.

5. Adicionar 1ml de solução de iodo (200 mg de iodo e 2g de iodeto de potássio em 100ml de água).

6. Encher o frasco até a marca de 100ml, misturar completamente e deixar repousar 30 minutos para que a cor estabilize.

7. Ler a absorbância a 620 nm e 525 nm usando cubetas de

3ml padrão.

8. Desenvolver a curva padrão, abs 620 nm *vs.* [amido, µg/ml}. Verificar a linearidade na faixa de concentração estudada. O coeficiente de regressão linear deve ser pelo menos R^2=0,99.

Preparação de amostras de Farelo para medição

1. Pesar 75 mg de farelo corretamente (até mais próximo de 0,1µg) e colocar em um frasco volumétrico de 100ml.

2. Seguir as etapas 2 a 5 acima.

*Agitação vigorosa do frasco durante o tratamento alcalino ajudará a dispersar o farelo.

Determinar a quantidade de amido no farelo

Medir 2, 5 e 10ml de solução de amostra de farelo preparada acima em cada um dos três frascos volumétricos de 100ml.

1. Adicionar 13ml, 10ml, e 5ml de NaOH 0,1N de modo que cada frasco agora tenha 15ml de solução.

2. Adicionar 15ml de HCl 0,1N para neutralizar.

3. Seguir as etapas 8 a 13 acima.

4. Usar a lei de Beer (y=mx+b) para calcular a concentração de amido na amostra.

O teor de amido, das amostras de farelo e do farelo estabilizado comercial principal, é calculado de acordo com a fórmula:

Abs 620 nm/(grau de inclinação da curva padrão para o amido de trigo purificado)=[amido, µg/ml]+intercepção y (usualmente 0)*100ml.

A proporção de amido nas amostras de farelo é calculada como: (peso do amido medido, µg/peso total da amostra de farelo, µg)*100=% de amido no farelo.

Os resultados são mostrados na FIG. 1 e Tabela 3:

Tabela 3: Proporção do Amido nas Amostras de Farelo

	Peso do amido medido (mg)	620 farelo	525 farelo	Razão	Farelo Pesado antes (mg)	% em peso de amido
Amido de trigo purificado	9,91	0,065	0,048	1,35		
	19,82	0,137	0,114	1,2		
	29,74	0,199	0,161	1,24		
	29,74	0,198	0,16	1,24		
Farelo comercial	25,37	0,085	0,095	0,89	74,79	41,96%
	21,34	0,143	0,159	0,9		35,30%
Farelo	16	0,052	0,051	1,02	72,03	22,21%
	16,31	0,053	0,049	1,08		22,64%
	15,08	0,098	0,097	1,01		20,93%

Determinação do Perfil de fusão de cristalino do Amido no Farelo

O perfil de fusão de cristalino do amido no farelo estabilizado foi determinado por calorimetria por varredura diferencial padrão. O instrumento e método usados para caracterizar o amido no farelo são:

Instrumento: TA Instruments Differential Scanning Calorimeter (DSC), que inclui o software TA Instruments DSC Q1000 Controller, TA Instruments Q1000 Module e a unidade TA Instrumentos RCS.

- Panelas de amostra: cápsulas de alta pressão de aço inoxidável da Perkin-Elmer com anel em o.

- Preparação da amostra: Os ingredientes são misturados com água em uma razão de sólidos para água de 1:1. Aproximadamente 35 a 50 miligramas do ingrediente úmido são pesados em uma panela de amostra DSC.

- Calibração do instrumento: o DSC é calibrado para valor de referência, constante celular, temperatura e capacidade térmica em uma maneira conhecida:

- Calibração do Valor de Referência: usando duas panelas de amostra vazias o grau de inclinação do valor de referência e equivalência do valor de referência são determinados em uma faixa de temperatura de 10°C a 150°C, com uma taxa de aquecimento de 5°C/min.

- Calibração da Constante Celular: índio é usado como um padrão.

- Calibração da temperatura: calibrada em um ponto usando índio.

O programa de software de análise de dados de calibração de DSC é usado para fazer as correções de calibração de DSC apropriadas com o instrumento no modo de calibração. A capacidade térmica é calibrada usando safira, em uma maneira conhecida. A amostra é caracterizada com o DSC no modo padrão usando uma taxa de rampa de 5°C de 50°C a 100°C. Para analisar os resultados, a curva de fluxo térmico total é integrada de 57,5°C a 80°C para medir a entalpia do amido cristalino na amostra de farelo. As amostras são conduzidas pelo menos em duplicata.

Os resultados da análise de DSC para farelo contendo amido são mostrados na FIG. 2. O início da fusão ocorre a cerca de 57,5°C, o pico endotérmico ou ponto de fusão é cerca de 67°C, e o ponto final da fusão ocorre a cerca de 80°C. O software calcula a entalpia do pico endotérmico em J/g de amido no farelo. Valores de entalpia do amido para farelo estabilizado variaram de cerca de 4,8 J/g de amido a cerca de 5,3 J/g de amido e são substancialmente mais altos do que amido valores de entalpia de 0,8 J/g registrados para o farelo estabilizado comercial principal.

Resumidos na Tabela 4 e 5, para o tratamento de estabilização de oito amostras de amostras de farelo de partícula grande e oito amostras de farelo de partícula menor, são: 1) a quantidade de atividade da enzima lipase, base de peso úmido e seco, 2) porcentagem de redução da atividade de lipase, 3) condições de tratamento incluindo umidade, tempo, e temperatura, 4) teor de vitamina, 5) entalpia de fusão de amido, e 6) porcentagem de amido gelatinizado. Como indicado nas Tabelas 4 e 5, o tratamento de farelo em um teor de umidade de 11,5% durante 5 minutos a 120°C reduziu a atividade de lipase de 5,87μmol/h/0,1g de farelo (dwb) abaixo de 1,23μmol/h/0,1g e de 4,23μmol/h/0,1g (dwb) abaixo de 0,83μmol/h/0,1g, dependendo do tamanho de partícula do farelo. Os resultados também indicam que 86% de Vitamina E, 91% de Vitamina B1 e 88% de Vitamina B2 são mantidos. Além disso, como mostrado na Tabela 5, o grau de gelatinização do amido é controlado até <10% do amido total no material tratado:

Tabela 4: Efeito das Condições de Estabilização sobre a Atividade de lipase, Retenção de vitamina e Gelatinização do amido

Fração Grossa														
A	**Farelo**		**Fator 1**	**Fator 2**	**Fator 3**	**Umidade real, % em peso**		**Atividade de lipase (µmol/h/0,1g)**		**% de redução**		**retenção de vitamina**		
Padrão	Rodada	Bloco	A:temp, °C	B:tempo min.	C:umidade, % em peso	Antes do tratamento	Depois do tratamento	Base úmida	Base seca	Base úmida	Base seca	E (IU/100g)	B1 (mg/100g)	B2 (mg,/100g)
1	10	Bloco 1	100	3	12,5	10,23	9,45	2,58	2,85	39,01	32,62	0,6	0,43	0,15
5	5	Bloco 1	100	3	14,5	14,09	13,14	2,04	2,35	51,77	44,44			
3	8	Bloco 1	100	7	12,5	10,23	9,92	1,9	2,11	55,08	50,12	0,6	0,42	0,14
7	9	Bloco 1	100	7	14,5	14,09	12,54	0,9	1,03	78,72	75,65			
9	4	Bloco 1	120	5	13,5	11,19	10,97	0,76	0,83	82,03	80,38			
10	6	Bloco 1	120	5	13,5	11,19	9,23	0,87	0,98	79,43	76,83			
2	1	Bloco 1	140	3	12,5	10,23	9,81	1,05	1,16	75,18	72,58			
6	3	Bloco 1	140	3	14,5	14,09	11,16	0,57	0,64	86,52	84,87	0,6	0,39	0,15
4	7	Bloco 1	140	7	12,5	10,23	5,59	0,88	0,94	79,2	77,78			
8	2	Bloco 1	140	7	14,5	14,09	8,59	0,35	0,38	91,73	91,02			
11	11	Bloco 1	140	7	13,5	11,19	9,37	0,63	0,7	85,11	83,45			
12	12	Bloco 1	140	3	13,5	11,19	9,93	1,98	2,2	53,19	47,99	0,6	0,42	0,14
Material de partida (Uma umidade do farelo=10,51%)								3,83	4,23			0,7	0,43	0,16

Tabela 5: Efeito de Condições de estabilização sobre a Atividade de lipase e Gelatinização do amido

Farelo triturado													
			Fator 1	**Fator 2**	**Fator 3**	**Umidade real,% em peso**		**Atividade de lipase (µmol/h/0,1g)**		**% de redução**		**Gelatinização do amido**	
Padrão	Rodada	Bloco	A:temp, °C	B:tempo, min.	C:umidade, % em peso	antes de tratamento	depois de tratamento	Base úmida	Base seca	Base úmida	Base seca	Entalpia da fusão do amido (J/g)	% de gelatinizado
1	10	Bloco 1	100	3	12,5	9,56	7,49	3,51	3,79	35,6	35,43	5,327	0
5	5	Bloco 1	100	3	14,5	13,94	11,87	2,15	2,44	60,55	58,43		
3	8	Bloco 1	100	7	12,5	9,56	7,7	2,5	2,71	54,13	53,83		
7	9	Bloco 1	100	7	14,5	13,94	11,36	1,08	1,22	80,18	79,22		
9	4	Bloco 1	120	5	13,5	11,58	9,6	1,12	1,23	79,45	79,05	4,784	8,86
10	6	Bloco 1	120	5	13,5	11,58	9,38	1,19	1,32	78,17	77,51		
2	1	Bloco 1	140	3	12,5	9,56	8,35	1,57	1,71	71,19	70,87		
6	3	Bloco 1	140	3	14,5	13,94	11,79	0,88	0,99	83,85	83,13	4,943	5,83
4	7	Bloco 1	140	7	12,5	9,56	7,64	1,17	1,27	78,53	78,36		
8	2	Bloco 1	140	7	14,5	13,94	9,13	0,7	0,77	87,16	86,88		
Material de partida (farelo triturado, umidade=7,19%)								5,45	5,87			5,249	

EXEMPLO 2

Preparação do componente de farelo estabilizado

Neste exemplo, um componente de farelo de trigo estabilizado, contendo farelo, germe e amido da moagem da moagem de farinha de trigo de grão integral vermelho macio não temperado, é preparado e analisado para determinar a atividade de lipase, retenção de vitamina, e formação de acrilamida na mistura do componente estabilizado.

Um componente de farelo estabilizado foi produzido usando farelo e germe obtido da moagem de trigo vermelho macio não temperado usado na produção de farinha de trigo de grão integral. A mistura tem um teor de cinzas de 5,5% em peso, um teor de umidade de cerca de 10% em peso a cerca de 12% em peso, uma umidade relativa de cerca de 50%, e uma densidade de cerca de 0,2 g/ml a 0,4 g/ml. O tamanho de partícula do componente de farelo foi medido usando um agitador RoTap com a ajuda de pérolas de silício para separar agregados da partícula. Os tamanhos de partícula da mistura foram: cerca de 17% a 20% em peso da partícula >500 mícrons; cerca de 40% em peso a cerca de 42% em peso <500 mícrons mas >250 mícrons; cerca de 18% em peso a cerca de 20% em peso <250 mas >149 mícrons; e cerca de 20% em peso <149 mícrons. A mistura conteve cerca de 22% em peso a cerca de 25% em peso de amido como determinado por medição iodimétrica como no Exemplo 1. Antes da estabilização, a umidade foi ajustada como no Exemplo 1, para ajustar uniformemente a umidade do componente de farelo no aumento de cerca de 9,5% a 14% de teor de umidade de acordo com a Tabela 6:

Tabela 6: Teor de umidade do componente de farelo

Solução salina saturada	**Umidade relativa**	**Umidade do componente de farelo,% em peso**
$Mg(NO_3)_2$-$6H_2O$	52%	10,84%
Ambiente de atmosfera controlada	63%	11,33%
NH_4Cl	79%	12,89%

O componente de farelo, 200g, foi colocado em um saco laminado

selado com três a quatro furos de alfinete pequenos para liberar a pressão no aquecimento. O estudo foi realizado de acordo com um projeto experimental resumido na Tabela 7. O farelo foi aquecido em um forno de convecção de ar forçado pré-aquecido (Thelco Model 26, Precision Scientific) durante 3, 5 ou 7 minutos e a 100°C, 120°C, ou 140°C, de modo a determinar o efeito da umidade do farelo, tempo de aquecimento e temperatura em atividade de lipase, retenção de vitamina e produção de acrilamida. Depois do aquecimento o componente de farelo foi esfriado em um refrigerador e depois foi colocado em um recipiente selado e armazenado congelado. Uma porção da amostra foi analisada para determinar: 1) atividade de lipase, 2) retenção de vitamina, e 3) teor de acrilamida.

Determinação de atividade de lipase

A atividade de lipase, expressa como produto de hidrólise em μmol formado por hora por peso unitário de farelo, descobriu-se ser cerca de 4,4 mol/h/0,1g para o material de partida e foi reduzida a cerca de 1,25 a 1,52μmol/h/0,1g a 11,33% em peso de umidade depois do tratamento de estabilização durante 5 minutos a 120°C. Medição da atividade de lipase foi de acordo com o método apresentado no Exemplo 1.

O projeto experimental para as condições de estabilização para o componente de farelo é mostrado na Tabela 7 onde o Fator 3 é um número do teor de umidade arbitrário que o estatístico usa como um marcador de posição até que os valores de umidade baixa, média e alta reais sejam determinados como mostrado na Tabela 9:

Tabela 7: Projeto experimental para a estabilização de componente de farelo

Padrão	Rodada	Bloco	Fator 1 A: Temp., °C	Fator 2 B: Tempo, Min.	Fator 3 C: Umidade, % em peso
5	5	Bloco 1	100	3	14,5
3	8	Bloco 1	100	7	12,5
7	9	Bloco 1	100	7	14,5
1	10	Bloco 1	100	3	12,5
9	4	Bloco 1	120	5	13,5
10	6	Bloco 1	120	5	13,5
2	1	Bloco 1	140	3	12,5
8	2	Bloco 1	140	7	14,5
6	3	Bloco 1	140	3	14,5
4	7	Bloco 1	140	7	12,5

Determinação de Acrilamida

Formação de acrilamida no farelo estabilizado foi medida de acordo com "Acrylamides by LCMS", United States Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Office of Plant and Dairy Foods and Beverages, "Detection and Quantization of Acrylamide in Foods". (2002).

Determinação da Quantidade de Amido em Componente de Farelo

O método para determinar amido no componente de farelo é de acordo com o método apresentado no Exemplo 1. Os resultados são mostrados na FIG. 3 e Tabela 8:

Tabela 8: Proporção de amido nas amostras

ID da amostra	Peso do amido medido (mg)	620 nm	525 nm	Razão	Peso do farelo-germe (mg)	% em peso de amido
Amido de trigo purificado	0	0	0			
	12,5	0,079	0,061	1,3		
	31,2	0,207	0,156	1,33		
	62,4	0,405	0,298	1,36		
	93,6	0,605	0,443	1,37		
Farelo-germe	33,73	0,113	0,104	1,09	132,81	25,40%
	34,18	0,229	0,213	1,08	132,81	25,74%
Farelo-germe	68,55	0,104	0,098	1,06	15,52	22,64%
	137,1	0,217	0,205	1,06	32,39	23,62%

Resumidos na Tabela 9, para a estabilização de oito amostras do componente de farelo estabilizado estão: (1) a quantidade de atividade da enzima lipase, base úmida e seca, (2) porcentagem da redução da atividade de lipase, (3) condições de tratamento incluindo umidade, tempo, e temperatura, (4) teor de vitamina, e (5) acrilamida formada:

Tabela 9: Efeito das condições de estabilização de componente de farelo na atividade de lipase, retenção de vitamina e formação de acrilamida

Fator 1	**Fator 2**	**Fator 3**	**Umidade real% em peso**		**Atividade de lipase, µmol/h/0,1g**		**% de redução de lipase**		**Retenção de vitamina**			**Acrilamida (ppb)**
A:temp, °C	B:tempo, min.	C:umidade, % em peso	Antes de tratamento	Depois de tratamento	Base úmida	Base seca	Base úmida	Base seca	E (IU/100g)	B1 (mg/100g)	B2 (mg/100g)	
nenhum	nenhum	10,12			4,03	4,43			1,7	0,38	0,16	50,5
100	3	12,5	10,84	9,64	2,69	2,98	33,18	32,71	1,6	0,38	0,15	33
100	7	14,5	12,89	12,4	1,55	1,77	61,42	59,92	1,5	0,4	0,15	95,7
120	5	13,5	11,33	10,06	1,12	1,25	72,2	71,87	1,7	0,43		56,1
120	5	13,5	11,33	10,56	1,36	1,52	66,21	65,62	1,6	0,37	0,13	81,1
140	3	12,5	10,84	9,83	1,86	2,06	53,87	53,45	1,7	0,41	0,16	67,8
140	7	14,5	12,89	10,84	0,48	0,54	88	87,75	1,8	0,35	0,15	138
Mistura de farelo & germe estabilizada comercial, Grain Millers					1,25							132

Como indicado na Tabela 9, o tratamento do componente de farelo em um teor de umidade na faixa de cerca de 9% em peso a cerca de 13% em peso durante cerca de 3 minutos a cerca de 7 minutos a cerca de 100°C a cerca de 140°C reduziu a atividade de lipase de cerca de 4,4μmol/hora/0,1g para o material de partida não estabilizado abaixo da faixa de 2,98μmol/hora/0,1g a cerca de 0,5μmol/hora/0,1g, dependendo das condições de tratamento, com o tempo de tratamento mais longo, teor de umidade mais alto e temperatura de tratamento mais alta fornecendo a atividade de lipase mais baixa. Os resultados também indicam os valores de Vitamina E (tocoferol), Vitamina B1 (Tiamina), e Vitamina B2 (Riboflavina) que foram apropriadamente mantidos. Além disso, a produção de acrilamida aumentou com temperaturas e tempos de estabilização crescentes.

EXEMPLO 3

Efeito de trituração e estabilização em características funcionais do farelo

Neste exemplo tamanho de partícula e capacidade de retenção de solvente (SRC) de uma fração grossa não triturada, não estabilizada, uma fração grossa triturada não estabilizada ou componente de farelo, e uma fração grossa triturada ou componente de farelo estabilizado de acordo com a presente invenção, foram comparados a ingredientes de farelo-germe estabilizados comerciais fabricados pela Grain Millers.

Determinação da distribuição de tamanho de partícula

Tamanho de partícula da mistura de farelo-germe triturada ou componente de farelo foi determinado usando um agitador RoTap. O método é aplicável a uma ampla variedade de produtos e ingredientes e usa uma ação mecânica uniforme para garantir resultados exatos, seguros. O agitador reproduz o movimento circular e de batida usado na peneiração manual. O método foi adaptado do método do Agitador RoTap ASTA 10.0 com as seguintes modificações e adaptações:

Aparelho

1. Agitador de peneira de teste elétrico Tyler RoTap (Fisher Scientific), com cronômetro automático.

2. Peneiras Padrão U.S., #20, #35, #40, #50, #60, #80, #100, panela com separador de fundo, e tampa.

3. Equilíbrio de peso, exato até 0,1 g

4. Escovas para limpar as telas

5. Auxiliar de fluxo de pó de silício (Syloid #244, W.R. Grace & Co.)

Procedimento

1. Usar peneiras limpas, completamente secas, taradas.

2. Pesar corretamente o tamanho designado da amostra (até mais próximo de 0,1 g) em um béquer de 250ml ou 400ml.

3. Tarar as peneiras apropriadas e a panela de fundo individualmente.

4. Empilhar as peneiras no agitador com a abertura mais grossa no topo e aumentar em finura até que a abertura mais fina esteja no fundo. Colocar uma panela de fundo por baixo.

5. Transferir a amostra quantitativamente do béquer para a peneira de topo.

6. Colocar a tampa da peneira no topo, depois a placa agitadora, estrutura circular e abaixar o braço de punção.

7. Ajustar o cronômetro para 5 minutos.

8. Depois da conclusão da agitação, remover as peneiras do RoTap e cuidadosamente pesar cada peneira e a panela separadamente.

Cálculos

1. Usando uma peneira

a) $\%\ on = \frac{(peso\ da\ peneira+material) - peso\ da\ peneira\ X\ 100}{peso\ da\ amostra}$

b) %thru=100 -%on

c) Usando três peneiras ou mais

Peneira A (S_a), grossa, topo

Peneira B (S_b), média, intermediária

Peneira C (S_c), fina, fundo

Etc.

a. $\%on_a = \frac{\text{(peso de } S_a\text{+material) - peso de } S_a \text{ x } 100}{\text{peso da amostra}}$

b. $\%on_b = \frac{\text{(peso de } S_b\text{+material) - peso de } S_b \text{ x } 100}{\text{peso da amostra}}$

c .$\%on_c = \frac{\text{(peso de } S_c\text{+material - peso de } S_c \text{ x } 100}{\text{peso da amostra}}$

d) A quantidade de auxiliar de fluxo de pó de silício adicionada à amostra deve ser subtraída do peso na panela antes de fazer o cálculo acima.

e) A soma das porcentagens em todas as telas (panela adicional) deve ser igual a ou aproximar-se estritamente de 100%.

Os resultados da análise do tamanho de partícula da fração grossa e da fração grossa triturada estão presentes na Tabela 10. A FIG. 4 mostra uma distribuição típica para uma fração grossa e uma fração grossa triturada ou componente de farelo.

Determinação da capacidade de retenção de solvente (SRC)

Capacidade de retenção de solvente (SRC) serve como um teste prático para monitorar a função de componentes de farinha específicos, tal como a quantidade de amido danificado. O método de ensaio de SRC usado foi adaptado e modificado do método AACC 56-10, de acordo com o seguinte procedimento:

Materiais:

- tubos centrifugadores de 50 ml+caps
- 5% em peso de solvente de carbonato de sódio

- Centrifugador (IEC, Centra GP8, 269 rotor, 2130 rpm)

Procedimento:

1. Pesar os tubos centrifugadores de 50 ml+caps (para tubos especiais pesar selos de anel em O).

2. Pesar e adicionar 5,00g de mistura de farelo-germe a cada tubo (determinar o teor de umidade da mistura).

3. Adicionar 25g de solvente (alíquotas de solvente pré-pesado) a cada tubo.

4. Deixá-lo hidratar durante 20 minutos, agitando a cada 5 min. (5, 10, 15, 20 minutos)

5. Centrifugar durante 15 minutos a 1000xg.

6. Decantar o sobrenadante e drenar 5 minutos no ângulo de 45° e 5 minutos no ângulo de 90°.

7. Recolocar a tampa e pesar a pelota.

8. Calcular:

$$\%SRC = \frac{\text{tubo, tampa, gel - tubo, tampa}}{farinha} * \frac{86}{100 - umidade\,da\,farinha}$$

Resumidos na Tabela 10 para os farelos testados estão: (1) teor de umidade, (2) teor de proteína, (3) teor de cinzas, (4)% de retenção de água, (5)% de retenção de água no carbonato, (6) condições de estabilização, (7) atividade de lipase, e (8) tamanho de partícula. Na Tabela 10, SRU significa uma amostra de farelo obtida de um farelo de trigo vermelho macio, não temperado, com SRU-9 indicando uma fração grossa, e SRU-10 indicando uma fração grossa triturada, e SWW significa uma amostra de farelo obtida de um trigo branco macio, não temperado, cada amostra sendo não estabilizada, a menos que indicado ao contrário:

Tabela 10: Características do ingrediente

Características do farelo	Umidade (% em peso)	Proteína (% em peso)	Cinzas (% em peso)	Água SRC (%)	Água no carbonato SRC (%)	Água no carbonato SRC (%) <149µm	Atividade de Lipase (µmol/h/0,1g)	Tamanho de partícula,% em peso			
								>500µm	>250µm	>149µm	<149µm
SRU-09 Fração grossa, vermelha macia	12,1	14,7	5,2	nm	nm	--	3,2	93,2	4,6	0,2	1,2
SRU-09 Fração grossa, vermelha macia	10,9	15	5,89	285,37	297	--	nm	84,8	15	0,4	0,6
SRU-09 Fração grossa, vermelha macia	11,7	15,3	5,15	269,27	263	--	2,8	79	16,8	0,4	1,8
SRU-09 Fração grossa, vermelha macia Reciclagem	11,8	13,9	5,47	281,07	281	--	3,7	77,8	20,2	0,8	1,2
SRU-09 Fração grossa, vermelha macia	10,3	14,1	5,11	253,6	246	--	nm	90,2	8,6	0,4	0,6
SRU 9 Fração grossa, vermelha macia 70% de extração	11,2	14	5,16	283,6	268	--	nm	89,6	8,8	0,8	0,2
SRU 9 Fração grossa, vermelha macia 60% de extração	11,5	12,6	4,44	254,3	241	--	nm	92,4	6,6	1	0,8
SRU-10 Fração grossa, vermelha macia triturada	8,6	13,5	5,42	nm	187	--	4,8	25,8	31	14,2	28,6
SRU-10 Fração grossa, vermelha macia triturada	8	16,1	6,15	219,07	187	--	nm	25,2	36,8	15,2	23,2
SRU-10 Fração grossa, vermelha macia triturada	14,1	15,5	5,35	156,72	211	--	5,1	17,6	41,6	18	22,6
SRU trituração regular 12-9	9,3	14,6	5,26	180,87	187,9	60	nm	23	33	26	16,8
SRU trituração média 12-9 (60% de extração)	9,1	14,6	5,26	97,89	177,2	82	5,5	2	25,2	21,8	51,5
SRU trituração média 12-9 (60% de extração); estabilizada @ 120°C, 5 min.	9,1	14,6	5,26	99,91	124,81	--	1,15	0,4	25,2	21,8	54,0
SRU trituração fina 12-9	9,0	14,6	5,26	97,6	113,9	86	nm	0,0	10,8	6,8	87,6
SWW farelo triturado 12-9 (60% de extração)	7,2	nm	6,03	199,22	200,95	--	– nm	31	30,6	22,4	15,8
Farelo SWW estabilizado triturado fino Grain Millers	9	nm	5	137,3	161,2	153	0,44	59,6	29,8	5,8	3,8
Farelo SWW estabilizado triturado fino Grain Millers	9	nm	5	148,8	178,5	149	1,43	0,8	1,6	4,8	92,0

Como indicado na Tabela 10 e mostrado na FIG. 4, exceto para o SRU-trituração fina, a trituração da fração grossa ou mistura de germe-farelo reduziu a quantidade de partículas grossas maiores do que 500 mícrons de mais do que cerca de 75% abaixo de menos do que ou igual a cerca de 31% e aumentou a quantidade de partículas mais finas, na faixa de tamanho menor do que 500 mícrons a maior do que 149 mícrons, de menos do que cerca de 21% até pelo menos cerca de 45% enquanto a quantidade de partículas menores do que 149 mícrons não foi mais do que 55%. Dentro de uma distribuição de tamanho de partícula dada, especialmente para partículas grossas, SRC aumenta conforme o teor de cinzas aumenta. É conhecido que o revestimento do farelo, aleurona e germe carregam a maior concentração de cinzas (minerais), do que o endosperma. O teor de cinzas é um índice amplamente usado de pureza de farinha refinada e fornece um meio para medir a separação mecânica dos componentes do grão durante o processo de moagem. Cinzas são medidas pelo método AOAC 923.03. Para misturas de farelo-germe trituradas estabilizadas e não estabilizadas produzidas de acordo com a presente invenção, a água no carbonato de sódio SRC não aumentou com a trituração ou estabilização, e o SRC do produto estabilizado da presente invenção permaneceu abaixo daquele do farelo estabilizado comercial. O tamanho de partícula do farelo influenciou a água no carbonato de sódio retida tal que quanto menores as partículas de farelo, menor a quantidade de solvente retido. Acredita-se que durante a trituração a rede esponjosa, fibrosa do revestimento do farelo é quebrada e torna-se menos absortiva em água/água no carbonato de sódio. A remoção de grandes partículas de farelo, de modo que todas as partículas, amido e farelo, fossem do mesmo tamanho pequeno, por exemplo o teste apenas da porção do componente de farelo <149 mícrons, permitiu uma melhor avaliação do amido danificado devido à trituração excessiva e/ou, no caso de farelo estabilizado, amido gelatinizado por tratamento de estabilização. A água no

carbonato SRC não aumentou além de um limite aceitável, por exemplo >85%, até que houvesse pelo menos 55% de partículas abaixo de 149 mícrons em tamanho. Acredita-se que isto resulte em uma quantidade crítica de amido danificado, como medido por um aumento líquido na retenção de solvente de água no carbonato solvente da fração abaixo do tamanho de partícula de 149 mícrons, além do qual a função prejudicial na assadura resultaria.

EXEMPLO 4

Função da assadura de Farinha de trigo de grão integral estabilizada fabricado com Componente de farelo estabilizado

Neste exemplo a funcionalidade da assadura da farinha de trigo de grão integral fabricada com uma fração grossa triturada ou componente de farelo estabilizado de acordo com a presente invenção foi comparada à funcionalidade da assadura da farinha de trigo de grão integral fabricada com farelo e germe estabilizados triturados comercialmente disponíveis, e uma farinha de trigo de grão integral não estabilizada comercialmente disponível usando uma farinha de trigo refinada como um controle. Farinhas de trigo de grão integral fabricadas com proporções naturais de farelo e germe triturados estabilizados e não estabilizados, ou componentes de farelo, e endosperma são listadas na Tabela 11 junto com as fórmulas de teste usadas na assadura. Distribuições de tamanho de partícula das farinhas de trigo de grão integral foram medidas usando o método RoTap descrito no Exemplo 3. Umidade da farinha, cinzas, capacidade de retenção de água, capacidade de retenção de água no carbonato ou capacidade de retenção de solvente (SRC) e atividade de lipase também foram medidos de acordo com métodos descritos em exemplos anteriores. O método de assadura de teste de biscoito usado para avaliar a funcionalidade da assadura das farinhas de trigo de grão integral foi a Assadura de Teste de Biscoito AACC 10-53.

O método, equipamento, formulação padrão, método de

mistura, condições de assadura, e medições de geometria do biscoito utilizados para avaliar a funcionalidade da assadura foram:

Método:

Método de assadura de teste de biscoito AACC 10-53 foi projetado na Nabisco Biscuit Company para a avaliação da funcionalidade do ingrediente e correlação predizível entre análise de textura mecânica e sensorial (análise de textura mecânica por teste de punctura ou combinação de 3 pontos no analisador de Textura TAXT2). O teste é uma melhora no método de assadura de teste de biscoito de quebra do açúcar AACC 10-52 como confirmado por USDA Soft Wheat Quality Lab (Wooster Ohio). O teste AACC 10-53 foi adotado como o método oficial da American Association of Cereal Chemists depois do teste colaborador pelo Soft Wheat Quality Committee em 1992. O equipamento, composição da massa do biscoito, procedimento de mistura, procedimento de assadura, procedimento de medição, etc. usados no teste são:

Equipamento

O equipamento utilizado no teste de assadura do biscoito é:

1. Analisador de umidade, panelas de amostra descartáveis para determinação da umidade da farinha.

2. Termômetro digital (Omega modelo 872A) com termopar.

3. Misturador Hobart C-100 com tigela e pá de mistura de 3-quartos.

4. Forno de assadura de teste nacional.

5. Forma de biscoito de alumínio - 26cm de largura x 30cm de comprimento com barras de calibre 2 de 12mm de largura x 30cm de comprimento x 7mm de altura.

6. Cortador de biscoito (60mm de diâmetro interno).

7. Pino giratório com luva (linhas de luva conduzidas ao longo do comprimento do pino).

8. Espátulas, papel absorvente marrom, folha de alumínio,

béqueres plásticos.

9. Analisador de Textura TA-XT2**Teste opcional para reologia da massa** - dimensões da panela especial com 10cm, comprimento de 10,5cm, altura de 3,2 cm

Batelada única de AACC 10-53 de Formulação Padrão para fabricar 4 Biscoitos de Teste:

Os ingredientes e suas quantidades usados para fabricar os biscoitos de teste são:

Estágio-1

Leite em pó desnatado	2,25g
Sal	2,81g
Bicarbonato de sódio	2,25g
Gordura vegetal (Sans Trans 39, Cargill)	90,00g

Estágio-2

Bicarbonato de amônio	1,13g
Xarope de milho com alto teor de frutose; 42% de frutose, 71% de sólidos	3,38g
Água	49,50g

Estágio-3

Farinha (a 13% de umidade)	225,00g

Medir o teor de umidade da farinha em cada dia de assadura; ajustar níveis de farinha e água para compensar quanto aos desvios de teor de umidade a 13%:

a. Registrar o teor de umidade da farinha e inserir como FM na equação para calcular o peso real da farinha por batelada:

$$\text{Peso real da farinha (g)} = \frac{87}{(100 - FM)} * 225\,g$$

b. Registrar o peso real da farinha por batelada e inserir como AFW na equação para calcular o peso real de água adicionada por batelada:

Água real adicionada (g)=49,5g+225 - AFW*225 g

Procedimento de mistura geral:

O procedimento de mistura utilizado para obter uma massa de biscoito é:

1. Estágio-1: combinar os ingredientes secos (leite em pó desnatado, sal, bicarbonato, açúcar).

2. Adicionar gordura.

3. Misturar em misturador Hobart 3 minutos em velocidade baixa; raspar a pá e laterais da tigela depois de cada minuto de mistura.

4. Estágio-2: dissolver bicarbonato de amônio em água; adicionar xarope de milho com alto teor de frutose.

5. Adicionar a solução total dos ingredientes do Estágio 2 aos ingredientes do estágio-1.

6. Misturar 1 minuto em velocidade baixa, raspando a tigela e a pá depois de cada 30 segundos.

7. Misturar 2 minutos em velocidade média, raspando a tigela e a pá depois de cada 30 segundos.

8. Estágio-3: Adicionar farinha, incorporar a mistura líquida 3 vezes; misturar 2 minutos em velocidade baixa raspando a pá e a tigela depois de cada 30 segundos.

Determinação do tempo de assadura:

O tempo de assadura é definido como o tempo necessário para produzir uma perda de peso de 13,85% durante a assadura da formulação a 400°F (204°C).

Medição do Tempo de Assadura:

Formulação de assadura a 400°F (204°C) durante 10, 11, 12, 13 minutos e para algumas farinhas de grão integral até 16 minutos, pesando a forma+biscoitos depois de cada intervalo de minuto. Marcar a% de perda de peso durante a assadura *vs.* tempo de assadura em minutos, depois interpolar o tempo de assadura necessário para obter uma perda de peso de 13,58%.

Especificações da assadura:

Pré-aquecer o forno até 400°F (202°C), registrar o peso da forma de biscoito fria, e depois colocar a forma de biscoito no forno durante o tempo de assadura padrão, registrar o peso da forma quente.

Procedimento para a Preparação de 4 Espaços vazios de Massa para Assadura de Teste de Biscoito:

Partir quatro pedaços de 60g de massa com deformação mínima e colocar em uma forma de biscoito. Colocar um pino giratório através das barras de medida da forma de biscoito permitindo que o peso do pino comprima os pedaços de massa sem força compressiva adicional. Pegar o pino giratório e colocá-lo nas barras de medida no final da forma de biscoito, e girar apenas uma vez longe de você. Cortar os pedaços de massa de biscoito com um cortador de 60mm, e cuidadosamente erguer a massa em pedaço com uma pequena espátula. Erguer o cortador em linha reta para evitar a distorção horizontal. Registrar o peso dos espaços vazios de massa e forma de biscoito.

Assadura da massa de biscoito:

Colocar os espaços vazios de massa e forma de biscoito no forno na direção da forma. Assar os biscoitos a 400°F (204°C) durante o tempo de assadura predeterminado. Pesar a forma de biscoito com biscoitos nela imediatamente na remoção do forno. Remover cuidadosamente os biscoitos da forma com uma espátula plana e colocá-los horizontalmente em papel pardo na mesma direção em que eles foram enformados e assados.

Medições de geometria:

Medições de geometria são tomadas quando os biscoitos são esfriados, pelo menos 30 minutos, depois da assadura. A largura, comprimento, e altura da pilha são medidos como segue:

A. Largura-diâmetro perpendiculares à direção da forma: Colocar 4 biscoitos em uma fileira com linhas de pino giratório-luva paralela ao comprimento da barra de medida. Registrar a medição em centímetros.

B. Comprimento-diâmetro paralelos à forma: Girar os biscoitos 90° de modo que as linhas de pino giratório-luva sejam perpendiculares à barra de medida. Registrar a medição em centímetros.

C. Altura da pilha: Empilhar 4 biscoitos e colocar a pilha no lado entre as guias planas. Registrar a medição em centímetros. Misturar suavemente a ordem do biscoito e repetir a medição.

Na Tabela 12, para cada farinha, componente de farelo ou mistura de farelo-germe usado, teor de cinzas, capacidade de retenção de água, capacidade de retenção de água no carbonato, ou capacidade de retenção de solvente (SRC), atividade de lipase, largura do biscoito, tempo de assadura do biscoito e distribuição de tamanho de partícula da farinha são mostrados. As fórmulas de teste de assadura de farinha de trigo de grão integral são mostradas na Tabela 11. As condições de estabilização para a farinha estabilizada da presente invenção (a amostra com 29,6% em peso de Farelo estabilizado triturado médio SRU e 70,4% em peso de endosperma de farinha) são 120°C a 9,9% em peso de umidade durante 5 minutos. A farinha Climax, farinha Graham, e Farinha de Grão Integral Ultrafina ConAgra, foram todas farinhas comerciais usadas "como são". As primeiras cinco farinhas listadas (SRU 3-05, HRU 7-26, SWW 7-26, SRU 8-26, e SWW 8-26) e a farinha de trigo branco macio, farelo triturado SWW 12-9 foram todos moídos em um processo de planta contínuo. Para as farinhas reconstruídas, farelo estabilizado comercial Grain Millers foi recombinado com endosperma refinado branco na mesma razão como usado para as farinhas trituradas SRU, finas e médias (29,6% em peso de farelo e 70,4% em peso de endosperma). Nas Tabelas 11 e 12, SRU significa uma amostra obtida de um farelo de trigo vermelho macio, não temperado, SWW significa uma amostra obtida de um trigo branco macio, não temperado, HRU significa uma amostra obtida de um trigo vermelho duro, não temperado, e GM significa Grain Millers, cada amostra sendo não estabilizada, a menos que indicado ao contrário:

Tabela 11: Fórmulas de Teste de Assadura de Farinha de Trigo de Grão Integral,% em peso

Ingrediente	Amostra												
		Controle do Climax	SWW não estabilizado	SRU não estabilizado	SRU estabilizado	GM, triturado, estabilizado comercial	GM, grosso, estabilizado comercial	Trigo integral Con Agra	SRU 3-05	HRU 7-26	SWW 7-26	SRU 8-26	SWW 8-26
ESTÁGIO 1													
Leite em pó desnatado		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
sal		5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
bicarbonato de sódio		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
Açúcar granulado fino		168	168	168	168	168	168	168	168	168	168	168	168
san trans 39		160	160	160	160	160	160	160	160	160	160	/60	160
ESTÁGIO 2													
Bicarbonato de amônio		2	2	2	2	2	2	2	2-	2	2	2	2
xarope de milho com alto teor de frutose		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
água		88,09	96,24	96,86	100,9	100,13	97,69	105,54	95,31	90,79	93,58	92,19	92,55
	Umidades da farinha												
ESTÁGIO 3													
Climax	12,98	400	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-
SWW não estabilizado	11,17	-	400	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SRO não estabilizado	11,03	-	-	400	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SRU estabilizado	10,11	-	-	-	400	-	-	-	-	-	-	-	-
Grain Millers, triturado, estabilizado comercial	10,28	-	-	-	-	400	-	-	-	-	-	-	-
Grain Millers, grosso, estabilizado comercial	10,84	-	-	-	-	-	400	-	-	-	-	-	-
Trigo integral Con Agra	9,01	-	-	-	-	-	-	400	-	-	-	-	-
SRU 3-05	11,38	-	-	-	-	-	-	-	400	-	-	-	-
HEW 7-26	12,39	-	-	-	-	-	-	-	-	400	-	-	-
SWW 7-26	11,77	-	-	-	-	-	-	-	-	-	400	-	-
SRU 8-26	12,08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	400	-
SWW 8-26	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	400
peso real da farinha		399,91	391,76	391,1	387,1	387,87	390,31	382,46	392,69	397,21	394,42	395,81	395,45

Tabela 12: Farinha de trigo de grão integral Características e Funcionalidade da assadura

Farinha de Trigo de Grão integral Reconstituído	Cinzas	água SRC	Água no Carbonato SRC	Atividade de lipase (µmol/h/0,1g)	Largura do biscoito, 4 (cm)	Tempo de assadura (min)	Tamanho de partícula,% em peso				
							>500	>250	>149	<149	soma >250 mícrons
SRU 3-05 (27,2% de farelo-germe:72,8% de endosperma)	1,67	66,5	77,6	nm	33,6	nm	5,2	26,6	14,8	52,6	31,8
HRU 7-26	1,54	68	78,7	nm	33,8	13	8	28,2	19,6	44,8	36,2
SWW 7-26	1,47	65,3	74,5	nm	34,6	12	8,2	36	18,4	34,2	44,2
SRU 8-26	1,52	63,85	78,27	2	33,8	13	2,8	35,8	23,2	38,6	38,6
SWW 8-26	1,53	62,57	76,58	nm	34,5	13	1,8	33,6	17,4	45,6	35,4
29,6% de farelo triturado fino SRU+70,4% de endosperma de farinha	1,58	67,3	81,7	nm	29,7	16	1,4	35	54	8	36,4
29,6% de farelo triturado médio SRU+70,4% de endosperma de farinha	1,58	67,3	81,7	2,5	30,4	13	1,6	26,4	35,6	35,8	28
29,6% de Farelo estabilizado triturado médio SRU+70,4% de endosperma de farinha	1,58	62	80	0,9	33,7	13	1,6	26,4	35,6	35,8	28
farelo triturado SWW 12-9 (29,6% de farelo+70,4% de endosperma de farinha)	1,66	64	80	2,5	33,7	12	2	25,8	29,4	42,4	27,8
Farelo SWW estabilizado triturado grosso Grain Millers (29,6% de farelo+70,4% de endosperma de farinha)	1,67	71	88	1,2	34,9	13	28	21	14	39	49
Farelo SWW estabilizado triturado fino Grain Millers (29,6% de farelo+70,4% de endosperma de farinha)	1,67	79	102	1,1	28,8	16	0,6	12,2	45,2	38,6	12,8 –
Farinha Ultra Fina Con Agra	1,48	75,2	89,5	2,2	27,6	16,5	0	1	5	95	1
Farinha Climax	0,51	64,9	71,32	0,74	34,7	13	0,4	1	20,56	79,4	1,4
Farinha Graham	1,56	64,9	71,3	1,9	34,4	11	25	27,6	20,8	27,6	52,6

Farinha de trigo de grão integral fabricada com componente de farelo triturado médio estabilizado ou farelo-germe é a farinha que demonstra as qualidades de assadura mais similares à farinha de trigo refinada branca padrão. Para as quatro farinhas de trigo de grão integral com menos do que 30% em peso da partícula maior do que ou igual a 250 mícrons, a farinha de trigo de grão integral estabilizada, triturada média estabilizada a 120°C durante 5 minutos demonstra características de assadura inesperadamente superiores com uma largura do biscoito e tempo de assadura mais próximos ao controle de farinha refinada branca comparadas àquelas de: (1) farinha de trigo de grão integral fabricada com farelo-germe estabilizado comercial, (2) farinha de trigo de grão integral triturada fina não estabilizada comercial, e (3) farinha de trigo de grão integral fabricada com farelo-germe não estabilizado.

Na FIG. 5, a retenção de água no carbonato de todas as farinhas é marcada como uma função da% em peso de partículas maiores do que 250 mícrons. No eixo y à esquerda é mostrada a capacidade de retenção de água no carbonato. No eixo y à direita é mostrado o diâmetro do biscoito relativo. Como mostrado na FIG. 5 e Tabela 12, a farinha de trigo de grão integral fabricada com um componente de farelo ou mistura de farelo-germe estabilizada de acordo com a presente invenção, demonstra uma redução da capacidade de retenção de água no carbonato de 81,7% a 80%, diâmetro do biscoito aumentado de 30,4cm até 33,7cm, e tempo de assadura mantido similar à farinha refinada branca de controle de 13 minutos a 400°F (204°C).

EXEMPLO 5

Efeito da Estabilização na Formação de Ácido graxo livre

Neste exemplo a quantidade de ácidos graxos livres formados, sob condições de armazenamento aceleradas, em farinha de trigo de grão integral fabricada com componente de farelo triturado, estabilizado de acordo com a presente invenção é determinada. As quatro farinhas de trigo seguintes foram fabricadas com componente de farelo triturado fabricado na produção

de farinha de trigo de grão integral: (1) Farinha não estabilizada vermelha macia, (2) Farinha não estabilizada branca macia, (3) Farinha estabilizada vermelha macia, e (4) Farinha estabilizada branca macia. As duas farinhas seguintes foram fabricadas com subproduto de farelo triturado de moagem de farinha refinada branca: (5) Farinha de grão integral, não estabilizada, e (6) Farinha de grão integral, estabilizada. Os resultados foram comparados à quantidade de ácidos graxos livres formados na farinha de trigo de grão integral comercial não estabilizada: (7) ConAgra Ultrafino. Farinhas de grão integral foram fabricadas com uma proporção natural de componente de farelo e endosperma obtidos da moagem de farinha. Idealmente, a estabilização do componente de farelo ocorreria imediatamente depois da moagem para impedir a ação da lipase. Entretanto, componentes de farelo de farinha para este estudo foram em torno de uma a duas semanas de idade antes que a estabilização pudesse ser realizada. O componente de farelo (indicado como BG) e endosperma (indicado como Endo) foram combinados nas razões mostradas na Tabela 14. Teor de cinzas da farinha de grão integral foi usado para confirmar a composição. Os componentes de farelo, que contêm farelo e germe foram estabilizados em torno de 120°C durante cerca de 5 minutos a cerca de 11% de umidade. Atividades de lipase e distribuições de tamanho de partícula foram medidas como no Exemplo 1 e Exemplo 3, respectivamente, e são mostradas na Tabela 14. Farinhas foram armazenadas em jarras de vidro seladas durante 29 dias sob condições de armazenamento aceleradas de 95°F (35°C).

O teor de ácido graxo livre das farinhas foi adaptado a partir do método apresentado em "Jong, C.; Badings, H.T.; Journal of High Resolution Chromatography; 1990; Determination of Free Fatty Acids in Milk and Cheese Procedures for Extraction, Clean up, and Capillary Gas Chromatography Analysis". Extratos de lipídeo, contendo ácidos graxos livres, são obtidos de alimentos por extração com solventes orgânicos

acidificado. Os extratos de lipídeo anidros são passados através de um cartucho SPE de troca de ânion fraco para isolar os ácidos graxos livres do material co-extraído, particularmente glicerídeos neutros. O procedimento é como segue:

Aparelho

O aparelho utilizado na determinação dos ácidos graxos livres é:

a. Cromatografia gasosa (GC) adequada para injeção em coluna capilar em colunas de diâmetro interno de 0,53mm com controle de pressão eletrônica (EPC) e detector de ionização de chama (FID), [exemplo: HP5890 Series II],

b. Auto-amostrador compatível com a GC, [exemplo: HP7673],

c. Sistema de software capaz de coletar dados cromatográficos, calculando estatística e resultados de tabulação,

d. Equilíbrio analítico com resolução de 0,0001g, capacidade de 150g,

e. Centrifugador capaz de 3000 rpm (2050 rcf), com controle de temperatura, (opcional),

f. Polytron capaz de homogeneizar amostras a 25000 rpm [exemplo: Brinkmann Instruments, Polytron Kinematica AG Modelo PT 1300 D],

g. Misturador de turbilhão,

h. Dispensadores de solvente com componentes plásticos inertes [exemplo: Brinkmann - dois de capacidade de 1 a 5ml Cat #2222010-1 e um de capacidade de 5 a 25ml Cat #2222030-6], e

i. Pinça para frascos auto-amostradores.

Suprimentos

Os suprimentos utilizados na determinação de ácidos graxos

livres são:

1. Coluna: StabilwaxDA 0,25u, 0,53mm x 15 m [Restek Corp. #11022],

2. Cartuchos SPE: Ligação eluem NH_2, 3cc, 500 mg, com fritas de aço inoxidável [Varian Part #1212-4038],

3. Tubos de teste de centrífuga de vidro com tampas de rosca revestidas com TEFLON, tamanho: 16 X 125mm,

4. Tubos de centrífuga de vidro Corex com tampas de rosca revestidas com TEFLON, 45ml [exemplo: COREX II Nº 8422-A],

5. Papel de filtro Whatman #1, 125mm de Diâmetro,

6. Funil de filtração da marca Pyrex, haste curta,

7. Tubos de cultura descartáveis, vidro de borossilicato 16 X 150mm [exemplo: VWR Cat #47729-580],

8. Frascos de vidro com tampas de rosca revestidas com TEFLON, 4ml. [exemplo: Kimble Cat #60940A 4],

9. Frascos auto-amostradores, vidro de borossilicato, encaixe com tampas revestidas com TEFLON,

10. Frascos de borossilicato amarelo-âmbar com tampa de rosca revestida com TEFLON, 100ml,

11. Frasco de borossilicato claro com tampa de rosca revestida com TEFLON, 250ml,

12. Cilindros graduados: 250ml, 100ml,

13. Frascos volumétricos: 250ml, 100ml,

14. Pipetas volumétricas de vidro classe A 5, 2, 1ml e graduadas 10, 5ml,

15. Pipetas Pasteur descartáveis: 5 3/4 e 9 polegadas, e

16. Microespátula, espátula, e tubos de transferência de amostra de polipropileno.

<u>Reagentes/Soluções</u>

Os reagentes, padrões, e soluções utilizados na determinação dos ácidos graxos livres são:

Reagentes e Padrões

Os reagentes e padrões utilizados na determinação dos ácidos graxos livres são:

1. Etanol - exame 200, anidro, 99,5%+, armazenado em vidro amarelo-âmbar [Aldrich #45,983-6 ou equivalente],

2. Hexanos - Grau GC [B&J #216-4 ou equivalente],

3. iso-Propanol - Grau GC [B&J #323-4 ou equivalente], Metil - terc-butiléter (MTBE) - Grau GC [B&J #242-4 ou equivalente],

4. Cloreto de metileno - Grau GC [B&J #299-4 ou equivalente],

5. Ácido acético - pureza a ser monitorada quanto ao nível de ácido propiônico [Aldrich #32,009-9 ou equivalente],

6. Ácido sulfúrico - reagente ACS, 95,0 a 98,0% [Fisher Reagent ACS #A800-500 ou equivalente],

7. Água Tipo 1 [Fisher HPLC #W5-4 ou equivalente],

8. Terra diatomácea [Leco parte #502-327 ou equivalente], e

9. Padrões >99,0% de pureza 3:0; 4:0; 6:0; 8:0; 9:0; 10:0; 11:0, 12:0; 13:0; 14:0; 16:0; 18:0 [exemplos: 3:0 Aldrich #24.035-4; 4:0 Aldrich #B10.350-0; 6:0 Aldrich #15.374-5; 8:0 Aldrich #0-390-7; 9:0 Sigma #-5502; 10:0 Aldrich #15,376-1; 11:0 Sigma #U- 5503; 12:0 Aldrich #15.378-8; 13:0 Sigma #T-0502; 14:0 Aldrich #15-379-6; 16:0 Nu-Check- Prep, Inc. >99%; 18:0 Nu-Check-Prep, Inc. >99%].

Soluções a serem preparadas

As soluções que precisam ser preparadas para a determinação dos ácidos graxos livres são:

1. Sulfúrico 2,5 M: Diluir 7ml de ácido concentrado com água Tipo 1 a 50ml volumetricamente.

2. 1:1 (v/v) MTBE:Hexanos

3. 2:1 (v/v) Cloreto de metileno:2-Propanol

4. Ácido acético a 2% em MTBE: Diluir 5ml de ácido concentrado com MTBE a 250ml volumetricamente

5. 1:1 (v/v) Hexanos:2-Propanol, enxaguar com solvente para limpar entre as rodadas

6. Padrões (Preparação Padrão Ver Appendix 13.1)

a.. Padrão interno: 11:0; Substitutos: 9:0 e 13:0.

b. Solução de trabalho padrão de Reforço de matriz (MS) em etanol: MS @ ~50µg/ml. Este nível pode ser apropriado para determinações de nível baixo a médio. Geralmente os níveis de FFA variam tremendamente dentro de uma matriz dada. Conseqüentemente uma solução de reforço de quantidades variadas por FFA individual pode ser necessária por matriz.

c. Padrões de Calibração em hexanos estabelecem faixa linear: Faixa em coluna 1 a 200µg/g (ppm), Padrões de ácido graxo livre: 3:0, 4:0, 6:0, 8:0, 9:0 padrão substituto, 10:0, 11:0 padrão interno, 12:0, 13:0 padrão substituto, 14:0, 16:0, e 18:0. Observação: cálculos de 18:1 e 18:2 são fundamentados em fator de resposta de 18:0.

d. Padrões de calibração contínuos são preparados em Ácido acético a 2% em MTBE, a solução de eluição final: Padrão de calibração #3 @ ~50µg/ml preparado em Ácido acético a 2%/MTBE é correntemente usado para agrupar as amostras.

Verificar Amostras, Espaços vazios, Duplicatas, e Reforços de Matriz

Antes de usar uma nova batelada de Cartuchos SPE, a fração de eluição apropriada deve ser determinada com um padrão de nível médio. Um espaço vazio é preparado com cada batelada de amostras. Dentro da batelada cada estudo conterá uma duplicata. Um reforço de matriz será realizado para todas as novas matrizes e em casos onde a homogeneidade é um problema. Uma Verificação de Calibração Inicial (ICV) deve ser

preparada para verificar a preparação correta de padrões de calibração. Correntemente, não existe nenhuma amostra de verificação apropriada para esta análise.

Preparação da amostra e armazenamento

A preparação da amostra e condições de armazenamento utilizadas para a determinação dos ácidos graxos livres são:

a. Armazenamento de amostra inicial: congelado, refrigerado, ou temperatura ambiente como especificado por amostra individual.

b. Amostras com lipases ativas podem requerer manejo especial, tal como inativação enzimática.

c. Amostragem: temperatura ambiente, bem misturada - homogênea

d. Extratos de amostra: soluções armazenadas em frascos revestidos com TEFLON, de tampa de rosca, firmemente selados em uma coifa bem ventilada ou refrigerador resistente à explosão.

e. Isolados de amostra: O eluído final é uma mistura de ácido e solvente orgânico. Estes isolados devem ser armazenados em aprovada área de armazenamento inflamável longe de quaisquer bases.

Limpeza da amostra

Procedimento para Extração da Amostra: Matriz Sólida e Líquida

Em tubo de teste de centrífuga de vidro de 45ml adicionar e misturar na seguinte ordem:

1. Amostra, 1,0 a 1,05g registrar o peso até ±0,0001g,
2. Solução Padrão Interno de Trabalho, 1,0ml, por pipeta,
3. Etanol, 1,0ml, por pipeta,
4. H_2SO_4 2,5M,0,3ml, por pipeta,
5. Turbilhonar para formar uma mistura homogênea,
6. Adicionar: Terra diatomácea, 4,5±0,1g (Em casos de

amostras de umidade muito baixa (exemplo - farinha) de terra diatomácea absorve muito dos solventes.

7. Turbilhonar completamente,

8. Equilibrar pelo menos 10 minutos (Tempo mínimo para a interação da amostra e terra diatomácea é 5 minutos. A terra diatomácea absorve água. A presença de umidade na amostra pode resultar em resultados não reproduzíveis. Dividir prontamente 3:0 e 4:0 na camada aquosa. Dez minutos foram ajustados como o mínimo. Isto fornece uma margem segura para permitir que a interação acabe.), e

9. Adicionar 1:1 (v/v) MTBE: Hexanos, 15,0ml por dispensador de solvente.

Processo de extração

O procedimento utilizado para a extração na determinação dos ácidos graxos livres é:

O ajuste para o Polytron são 24.000 rpm, com um tempo de 25 a 45 segundos dependendo da firmeza da matriz. Como uma precaução, luvas devem ser usadas. Enxaguar a ponta de Polytron com água quente, secar com toalha seguido por enxágüe com 2-propanol e secar com toalha a ponta novamente. Kimwipes ou toalhas de papel descartáveis podem ser usados. A sonda de Polytron pode requerer enxágües adicionais. Alguns problemas de transporte potenciais incluem alto teor de gordura, alto teor de FFA e lipases ativas. O enxágüe final antes das amostras deve ser 2-propanol. Em seguida, turbilhonar a amostra, filtrar os conteúdos inteiros do tubo do centrifugador através de papel Whatman #1. Coletar o filtrado em tubos de teste de tampa de rosca de vidro de 16 X 125mm. Uma opção alternativa é maximizar o volume do sobrenadante, centrifugar a @3000 rpm por 30 minutos. Se esta opção for escolhida, precauções com respeito à volatilidade do solvente devem ser tomadas em consideração. Transferir o sobrenadante em tubos de teste de tampa de rosca de vidro de 16 X 125mm.

Isolamento de Ácido Graxo Livre

Condicionar cartucho SPE com 3ml de hexanos. Um dispensador de solvente é apropriado neste caso. Solvente adicional pode ser adicionado nesta etapa sem nenhum efeito adverso, especialmente se extratos de amostra não estão prontos para transferência neste ponto. Os hexanos adicionais impedirá que o cartucho seque completamente. Encher o tambor do cartucho SPE com o extrato de amostra. Uma pipeta Pasteur será suficiente nesta transferência. O volume do extrato carregado sobre o SPE é aproximadamente de 3ml. Permitir drenar totalmente sem secagem. Lavar duas vezes com 2ml de solução de cloreto de metileno:2-propanol para remover os glicerídeos neutros. Um dispensador de solvente é recomendado. Permitir drenar totalmente. Pipetar 2,5ml de ácido acético a 2% - MTBE. Descartar o eluído. Transferir o cartucho SPE para frascos de coleta de amostra. Pipetar uma segunda vez 2,5ml de ácido acético a 2% - MTBE. Coletar os FFAs contendo eluído em um frasco de 4ml diretamente. Misturar completamente.

Os volumes de eluição para ácidos graxos livres devem ser verificados quanto a cada nova batelada de Cartuchos SPE. Aplicar um ml de um padrão de trabalho de nível médio, Cal #3, em hexanos a um cartucho condicionado, depois eluir como segue como mostrado na Tabela 13:

Tabela 13: Eluição

Fração 1	**2x2 ml**	**Cloreto de metileno:2-Propanol**	**Descartar**
Fração 2	1,5 ml	2% de Acético em MTBE	Descartar
Fração 3	1,0 ml	2% de Acético em MTBE	Coletar
Fração 4	1,5 ml	2% de Acético em MTBE	Coletar
Fração 5	1,0 ml	2% de Acético em MTBE	Coletar
Fração 6	1,0 ml	2% de Acético em MTBE	Coletar

Analisar as frações 3 a 6 para determinar o volume ideal de solução necessário para eluir todos os ácidos graxos livres. Uma vez que a fração apropriada é determinada, um processo de triagem pode ser usado para validar a nova batelada seguinte de Cartuchos SPE. Um extrato de espaço vazio pode ser dividido entre cartuchos de batelada velhos e novos. Se a

análise de GC dos isolados correlaciona-se, então nenhuma outra ação é necessária. De outro modo, a fração correta deve ser otimizada seguindo-se as etapas anteriormente mencionadas.

Configuração do instrumento

A configuração do instrumento utilizado para a determinação dos ácidos graxos livres é:

1. Instrumento: GC capaz de injeção em coluna, 0,53mm de coluna, EPC, auto-amostrador

2. Coluna: StabilwaxDA: 0,25 mícrons, 0,53mm x 15 m

3. Gás carregador: Fluxo constante de hidrogênio a 10,0 ml/min ou ajustar EPC para 2,0 psi (13,8 kPa) @60°C

4. Programa de temperatura: retenção de 60°C em 0,5 min. @50°/min a 100°C, @10°/min a 250°C, 1 min de retenção

5. Temp de Injeção: Modo de rasto do forno diferencial 3°C

6. Volume de injeção: 1 uL

7. Detector: Detector de ionização de chama @ 260°C, Faixa 0

Análise

Análise inicial

Primeiro, uma análise de espaço vazio de instrumento, ácido acético a 2% em MTBE, deve demonstrar um sistema livre de contaminante. Segundo, uma solução padrão, 1ppm, deve mostrar detecção aceitável para cada composto. Terceiro, uma calibração de cinco pontos, 5 a 200ppm, deve ser preparada para estabelecer a faixa de operação aceitável para quantificação.

O cálculo pode ser fundamentado no fator de resposta médio ou regressão linear. Se o cálculo do fator de resposta for escolhido, então o desvio padrão relativo (RSD) deve estar dentro de 20% da média para cada composto. Alternativamente, com o método de coeficiente linear de regressão (R^2), um valor de 0,999 é necessário para cada composto de interesse. Esta

calibração deve ser verificada com um ICV preparado de uma fonte secundária de padrões. Todos os compostos no ICV devem estar dentro de ± 5% da calibração corrente.

Análise contínua

Em cada arranque, um espaço vazio de instrumento e um padrão de nível médio devem ser analisados antes de qualquer amostra. O espaço vazio deve demonstrar carência da presença de contaminante. O padrão de nível médio deve estar dentro de 10% de valores esperados com base na calibração corrente. Todas as quinze amostras devem ser agrupadas com um padrão de nível médio. Se um padrão de nível médio excede o limite de 10%, ação corretiva deve ser tomada e todas as amostras antes deste padrão devem ser re-analisadas. Forma de pico de 18:0 pode ser usada para monitorar o estado da entrada. Degradação - resíduo de forma de pico de ácido esteárico é indicativo da construção na extremidade frontal da coluna. Perda real de ácido esteárico é indicativo de vazamento na porta de injeção ou contaminação.

Avaliação, Cálculo e Expressão dos Resultados

Avaliação, cálculo, e expressão de resultados para a determinação dos ácidos graxos livres são:

Avaliação & Cálculo

Todos os cromatogramas são avaliados quanto à forma de pico. A forma de pico mais deficiente representa um problema com a configuração de operação. Este problema deve ser tratado antes de outra análise. Padrões são adicionalmente avaliados quanto aos tempos de retenção. A janela de tempo de retenção aceitável para FFAs individuais é 0,02 minutos de padrões de calibração correntes. Além disso, níveis de FFA de amostra devem estar dentro de limites de calibração estabelecidos. Se algum componente excede a quantidade de calibração superior, esta amostra deve ser diluída apropriadamente e re-analisada.

Este método é fundamentado na quantificação de padrão interno. A curva de calibração de cinco pontos varia de 5 a 200ppm. Os cinco fatores de resposta são ponderados. Depois o fator de resposta médio é usado para calcular FFAs desconhecidos. Cada composto tem seu próprio fator de resposta.

Cálculo do fator de resposta:

O fator de resposta pode ser calculado como:

Fator de resposta (RF): $RF_x=(A_x\ C_{is})/(A_{is}\ C_x)$

Fator de resposta médio (RF_{avg}): $RF_{Xavg}=(RF_{x1}+RF_{x2}+RF_{x3}+RF_{x4}+RF_{x5})/5$

onde: RF_x=Fator de resposta do composto X; A_x=Área de pico do composto X; C_{is}=Total (μg) de padrão interno adicionado; A_{is},=Área de pico de padrão interno; C_x=Total (μg) do composto X; RF_{xavg}=fator de resposta médio para o composto X derivado de uma calibração de cinco pontos.

Cálculo de concentração desconhecida

A concentração de amostra desconhecida pode ser calculada como: Concentração de amostra desconhecida (μg/g)==$(A_x*C_{is})/(A_{is}*RF_{Xavg}*W)$

onde: W=Peso da amostra em (g).

Expressão dos Resultados

Os resultados são relatados em ppm, μg/g ou mg/Kg, arredondados para o número inteiro mais próximo. Antes da geração de dados de amostra, o laboratório deve estabelecer limites de detecção e quantificação prática. Quaisquer resultados abaixo do ponto de calibração mais baixo são relatados como menores do que aquele valor, <5ppm.

Os FFAs retidos em uma fase de amina são eluídos com ácido acético a 2% em metil-terc-butiléter (MTBE). O extrato é submetido à cromatografia em uma coluna capilar, Stabilwax. Os compostos são detectados por ionização com chama (FID). Quantidades de ácidos graxos

numerados igualmente, 4:0 a 18:0, incluindo 3:0, são determinadas usando quantificação de padrão interno, 11:0. Os cálculos 18:1 e 18:2 são fundamentados em padrão de 18:0. A quantidade de tetradecanóico (14:0), hexadecanóico (16:0), octadecanóico (18:0), octadecenóico (18:1) e octadecadienóico (18:2) encontrados nas farinhas foram adicionadas juntas para compor o teor de ácido graxo livre total da farinha mostrada na Tabela 14. Condições de estabilização e distribuições de tamanho de partícula para as farinhas também são mostradas na Tabela 14:

Tabela 14: Efeito de Estabilização em Formação de Ácido Graxo Livre Total em Farinhas de Trigo de Grão Integral

Farinha de grão integral	Condições de estabilização			Distribuição de tamanho de partícula,% em peso				% em peso de BG	% em peso de Endo	% em peso de Cinzas	Lipase (µmol/h/0,1g)	Ácido graxo livre total, ppm				
												Tempo, dias				
	Temp, °C	Tempo, min.	Umidade % em peso	>500 µm	>250 µm	>149 µm	<149 µm					0	9	15	21	29
farinha não estabilizada vermelha macia 7-26	-	-	-	25,8	31	14,2	28,6	17	83	1,3	1,37	1127	1592	1702	2005	2218
farinha não estabilizada branca macia 7-26	-	-	-	26,6	37,4	17,8	26,8	17	83	1,28	1,54	932	1434	1582	1751	2005
Farinha estabilizada vermelha macia 7-26	120	5	11	25,8	31	14,2	28,6	17	83	1,2	0,67	862	1062	1244	1276	1414
farinha estabilizada branca macia 7-26	120	5	11	26,6	37,4	17,8	26,8	17	83	1,33	0,79	725	918	1054	1078	1235
Farinha de grão integral, não estabilizada	-	-	-	25	35	20	20	17	83	1,21	1,61	1561	2551	2704	2998	3354
Farinha de grão integral, estabilizada	120	5	11	25	35	20	20	17	83	1,2	0,83	1394	1914	2243	2403	2713
Farinha de grão integral comercial	-	-	-	0	1	2	97	na	na	1,29	1,86	2221	2879	3088	3379	3715

A FIG. 6 mostra um gráfico dos ácidos graxos livres totais na farinha de grão integral fabricada com componente de farelo triturado como uma função da duração do tempo em armazenamento acelerado. Como mostrado na Tabela 14 e FIG. 6, a estabilização reduziu a quantidade de ácidos graxos livres no componente de farelo de 2218ppm a 1414ppm para a farinha de trigo vermelha macia, e de 2005ppm a 1235ppm para a farinha de trigo branca macia em 29 dias de armazenamento acelerado. Acredita-se que esta redução em ácidos graxos livres, um substrato crítico da enzima lipoxigenase, substancialmente reduz a quantidade de gordura oxidada na farinha abaixo do limiar de aroma/sabor de cerca de 3.000ppm (ou 10% do teor de lipídeo total) e assim prolonga a vida de prateleira substancialmente. A FIG. 7 mostra um gráfico dos ácidos graxos livres totais nas farinhas de grão integral fabricadas com subproduto de farelo triturado a partir da produção de moagem de farinha refinada branca como uma função da duração do tempo em armazenamento acelerado. Como mostrado na Tabela 14 e FIG. 7, a estabilização reduziu a quantidade de ácidos graxos livres na farinha de 3354ppm a 2713ppm para a farinha de trigo de grão integral em 29 dias de armazenamento acelerado, que está substancialmente abaixo dos 3715ppm de ácidos graxos livres totais na farinha de trigo de grão integral comercial.

EXEMPLO 6

Efeito da estabilização sobre capacidade antioxidante total do componente de farelo

Neste exemplo, um componente de farelo de trigo triturado estabilizado, da moagem de moagem da farinha de grão integral vermelho macio não temperado, é preparada de acordo com a presente invenção e analisada para determinar a capacidade antioxidante total comparado a farelo triturado não estabilizado e um farelo estabilizado comercial principal, farelo Grain Millers. O método usado para determinar a capacidade antioxidante total é a medição da capacidade de absorbância do radical oxigênio (ORAC).

O ensaio ORAC é fundamentado em reações de transferência do átomo de hidrogênio em que um antioxidante e substrato competem para gerar termicamente radicais peroxila através da decomposição de compostos azo. O método usado é como segue:

PROTOCOLO DE EXTRAÇÃO PARA FARELO DE TRIGO

O protocolo de extração para farelo de trigo utilizado na determinação de capacidade antioxidante total é:

1. Amostras de farelo de trigo (1 grama) foram pesadas nos tubos centrifugadores de 50ml e depois 15ml de éter de petróleo foi adicionado à cada tubo.

2. Os tubos foram turbilhonados durante 30 segundos e depois centrifugados a 8.000 rpm durante 10 minutos.

3. O sobrenadante foi coletado e a pelota foi re-extraída duas vezes com éter de petróleo.

4. Os sobrenadantes misturados foram secos em um Thermo Savant SPD 1010 SpeedVac e os resíduos reconstruídos em 1ml de acetona (extrato lipofílico).

5. À pelota remanescente, 15ml de NaOH 2M (pulverizada com N_2) foi adicionado.

6. Depois de lavar com N_2 e tampar, os tubos foram agitados na temperatura ambiente durante 1 hora.

7. Seguindo a centrifugação a 8.000 rpm durante 10 minutos os sobrenadantes foram neutralizados com HCl e levados a 100ml de volume com diH_2O (extrato hidrofílico).

PROCEDIMENTO ORAC

Os reagentes e solventes, preparação do reagente, procedimento de microplaca, análise de dados e cálculos usados no procedimento de ORAC utilizados na determinação de capacidade antioxidante total são:

REAGENTES E SOLVENTES

Os reagentes e solventes usados no procedimento de ORAC são:

1. Trolox, Ácido 6-hidróxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, Aldrich Chemicals, Item 238813- 5G, CAS#53188-07-1, F.W. 250,29.

2. Sal de fluoresceína disódio, Aldrich Chemicals, Item 166308-100G, CAS#518-47-8, F.W. 376,28.

3. AAPH, Dicloridreto de 2,2'-azobis(2-amidinopropano), Wako Chemicals, Item 992-11062 RN#2997-92-4. F. W. 271,193.

4. Fosfato de potássio dibásico, Fisher Chemical, CAS#7758-11-4, F.W. 174,18.

5. Fosfato de sódio monobásico, Sigma-Aldrich, CAS#10049-21-5, F.W. 138,00.

6. β-Ciclodextrina aleatoriamente metilada, Pharm Grade, Cat. Nº TRMBP, Cyclodextrin Technologies.

7. Acetona, grau HPLC, Fisher Chemicals.

8. diH_2O

PREPARAÇÃO DO REAGENTE

Os métodos para preparação dos reagentes de ORAC são:

Tampão de fosfato

O tampão de fosfato é preparado fabricando-se soluções de estoque de tampão de fosfato e usando-as para fabricar um solução tampão de trabalho.

Solução de estoque de tampão: Para fabricar tampão de fosfato, preparar K_2HPO_4 0,75M e NaH_2PO_4 0,75M. Para K_2HPO_4 0,75M: 130g de fosfato de potássio são dissolvidos em 1 L de água DI. Para NaH_2PO_4 0,75M: 90g de fosfato de sódio é dissolvido em 1 L de água DI.

Solução tampão de trabalho: Para fabricar um solução de

trabalho de tampão de fosfato, misturar soluções de K_2HPO_4 0,75M e NaH_2PO_4 0,75M (K_2HPO_4/NaH_2PO_4, 61,6:38,9, v/v) e diluir com água DI (1:9, v/v). Isto renderá uma solução de trabalho de 75MM, pH 7,0. Armazenar esta solução tampão no refrigerador até que ela seja usada.

7% de solução de RMCD

Uma solução de RMCD a 7% em peso é fabricada produzindo-se 70 gramas de ciclodextrina aleatoriamente metilada até 1 litro em 50% de acetona:água.

Solução de fluoresceína

A solução de fluoresceína é preparada fabricando-se soluções de estoque de fluoresceína e depois usando-as para fabricar uma solução de fluoresceína de trabalho.

Solução de Estoque de Fluoresceína: Solução de estoque fluoresceína #1 é fabricada dissolvendo-se 0,0225g em 50ml de tampão de fosfato de trabalho e misturando bem. Solução de estoque de fluoresceína #2 é fabricada dissolvendo-se 50µL, de solução de estoque #1 em 10ml de tampão de trabalho e turbilhando-se. Depois, alíquota da solução de estoque #2 em 1,8ml em tubos Eppendorf e armazenada a -20°C até que ela seja usada.

Solução de fluoresceína de trabalho: Pipeta 800µL, de solução de estoque #2 em 50ml de tampão de fosfato (durante duas rodadas) em um tubo cônico de 50ml. Antes do uso, incubar no banho de água a 37°C até que completamente aquecida. Esta solução pode ser mantida no banho de água durante muitas horas.

Solução de AAPH

Uma solução de AAPH é fabricada dissolvendo-se 0,108g de AAPH em 5ml de tampão de fosfato incubado (37°C) para hidrofílico (ou 2,5ml de tampão incubado para lipofílico) justamente antes do início do ensaio.

PROCEDIMENTO DE MICROPLACA

O procedimento de microplaca utilizado no procedimento de

ORAC usado na determinação da capacidade antioxidante total é:

1. Amostras foram diluídas em tampão de fosfato durante ORAC hidrofílico e solução de RMCD a 7% para ORAC lipofílico.

2. Pipeta 40 de μL de amostra, soluções padrão de espaço vazio e Trolox nos poços apropriados. Também a pipeta 400 da solução de fluoresceína de trabalho no poço selecionado para o ajuste de ganho.

4. Verificar que leitor da placa é aquecido até 37°C e pronto para ler as amostras.

5. Leitor de microplaca adicionou 40μL de solução de fluoresceína de trabalho a cada poço em 2 ciclos.

6. Leitor de microplaca adicionou 40μL de solução de AAPH de trabalho em 4 ciclos.

7. Nº de ciclos 35 a 201 segundos por ciclo.

ANÁLISE DE DADOS E CÁLCULOS

A análise de dados e cálculos usados no procedimento de ORAC utilizados na determinação de capacidade antioxidante total são:

Cálculo da área sob a curva (AUC)

A área sob a curva (AUC) foi calculada como:

$$AUC = (0{,}5 + f_s/f_4 + f_6/f_4 + f7/f4 + + fi/f_4)\ CT$$

onde = f_i leitura da fluorescência em ciclo *I* (isto é, f_4 = leitura da fluorescência inicial em 4 ciclos), e CT = tempo de ciclo em minutos. A AUC líquida foi obtida subtraindo-se a AUC do espaço vazio daquela de uma amostra.

<u>Cálculo do valor de $ORAC_{FL}$</u>

Os valores de $ORAC_{FL}$ finais foram calculados usando-se uma equação de regressão (y=a+bx, linear; ou $y=a+bx+cx^2$, quadrático) entre concentração padrão (1M) e a área líquida sob a curva de declínio de FL (AUC líquida). Regressão linear foi usada na faixa de 6,25 a 50 de Trolox. Dados são expressos como micromol de Equivalentes de Trolox (TE) por peso seco em grama da amostra (μmol TE/g).

ESTABILIZAÇÃO

Componente de farelo triturado (Um farelo BM), com 25% em peso da partícula >500 mícrons, 35% em peso >250 mícrons, 20% em peso >150 mícrons e 20% em peso <150 mícrons foi estabilizado usando três condições mostradas na Tabela 15. A umidade do farelo foi ajustada, antes da estabilização, de acordo com o método debatido no Exemplo 1. As condições de estabilização na Tabela 15 utilizadas são:

Tabela 15: Condições de estabilização para componentes de farelo

	Temperatura, °C	Tempo, min.	% em peso de umidade
LLL	100	3	10,29
MMM	120	5	11,17
HHH	140	7	14,73

Capacidade antioxidante total de cada componente de farelo depois da estabilização (amostras B, C, e D) foi medida em triplicata, expressa como equivalentes de Trolox, e comparado a controle não estabilizado (amostra A) e um farelo estabilizado comercial principal. Os resultados são mostrados na Tabela 16:

Tabela 16: Capacidade antioxidante total para componentes de farelo estabilizados e não estabilizados

Amostra do componente de farelo		TROLOX hidrofílico µmol TE*/g	TROLOX lipofílico µmol TE/g	TROLOX total µmol TE/g
Um farelo de moagem BM	A	165,79	19,06	184,86
Um farelo de moagem BM	A	169,52	17,74	187,26
Um farelo de moagem BM	A	165,22	19,48	184,70
	média	166,84	18,76	185,61
Um farelo de moagem BM LLL	B	196,54	26,23	222,76
Um farelo de moagem BM LLL	B	190,45	26,19	216,64
Um farelo de moagem BM LLL	B	195,39	26,00	221,40
	média	194,13	26,14	220,27
Um farelo de moagem BM MMM	C	175,93	14,92	190,85
Um farelo de moagem BM MMM	C	181,33	15,65	196,98
Um farelo de moagem BM MMM	C	178,21	16,76	194,97
	média	178,49	15,78	194,27
Um farelo de moagem BM HHH	D	191,83	13,97	205,80
Um farelo de moagem BM HHH	D	186,12	14,58	200,71
Um farelo de moagem BM HHH	D	179,14	14,78	193,92
	média	185,70	14,44	200,14
Farelo Grain Millers	E	109,54	3,05	112,59
Farelo Grain Millers	E	125,59	3,22	128,80
Farelo Grain Millers	E	129,75	3,34	133,08
	média	121,62	3,20	124,83

*TE=equivalentes de trolox

Usando equivalentes de Trolox como a medida da capacidade antioxidante para farelo estabilizado, como mostrado na Tabela 16, o farelo estabilizado antioxidante variou de cerca de 191 a cerca de 223μmol de TE por g comparado com a capacidade antioxidante de farelo não estabilizado de controle de cerca de 185 a cerca de 187μmol de TE por grama que indica que o farelo estabilizado de acordo com o processo apresentado no Exemplo 6 retém toda a original capacidade antioxidante sua e supera a capacidade antioxidante do farelo estabilizado comercial principal de cerca de 112 a cerca de 133μmol de TE por g.

EXEMPLO 7

Estabilização do farelo de arroz

Neste exemplo, um componente de farelo de arroz estabilizado, da moagem de arroz integral, é preparado e analisado para determinar a atividade de lipase e retenção de vitamina.

Preparação de componente de farelo estabilizado

Componente de farelo de arroz estabilizado foi produzido usando farelo obtido da moagem de arroz integral usado na produção de farinha de arroz. O farelo teve um teor de umidade de cerca de 9,9% e uma umidade relativa de cerca de 51%. O tamanho de partícula do farelo de arroz não estabilizado foi medido usando um agitador RoTap com a ajuda de pérolas de silício para separar agregados da partícula. O farelo de arroz não triturado teve uma distribuição de tamanho de partícula representativa dentre uma fração grossa não triturada e um componente grosso triturado ou moído. O farelo de arroz não triturado teve uma distribuição de tamanho de partícula de cerca de 9,1% em peso da partícula >841 mícron, cerca de 36% >500 mícrons mas menos do que 841 mícrons, cerca de 38,17% >250 mícrons, mas menos do que 500 mícrons, cerca de 7,1% >149 mícrons mas menos do que 250 mícrons, e cerca de 9,7% <149 mícrons. O farelo conteve cerca de 12,9% em peso de amido como determinado pela medição iodimétrica usando um

método como descrito no Exemplo 1. Antes da estabilização, a umidade do farelo foi ajustada colocando-se o farelo em um dessecador contendo uma solução salina saturada durante uma semana na temperatura ambiente, ou em um ambiente de atmosfera controlada, para ajustar uniformemente a umidade do farelo no aumento de cerca de 9,5% a 12,13% de teor de umidade de acordo com a Tabela 17:

Tabela 17: Condições de equilíbrio da umidade para farelo de arroz

Solução salina saturada	**Umidade relativa**	**Umidade do farelo de arroz**
$Mg(NO_3)_2.6H_2O$	52%	9,45%
Ambiente de atmosfera controlada	63%	10,01%
NH_4Cl	79%	12,13%

O farelo, 20 g, foi colocado em um saco laminado selado com três a quatro furos de alfinete pequenos para liberar a pressão no aquecimento. Um rótulo não reversível de temperatura Omega foi colocado dentro de cada saco para servir como um instrumento de registro de temperatura interno. O estudo foi realizado de acordo com o projeto experimental resumido na Tabela 18. O farelo foi aquecido em um forno de convecção de ar forçado pré-aquecido (Thelco Model 26, Precision Scientific) durante 3, 5 ou 7 minutos e a 100°C, 120°C e 140°C, de modo a determinar o efeito da umidade do farelo, tempo de aquecimento e temperatura em atividade de lipase e retenção de vitamina. Imediatamente depois do aquecimento, os sacos laminados contendo o farelo foram esfriados em um refrigerador, e o farelo foi colocado em um recipiente de vidro selado e armazenado congelado. Uma porção da amostra foi analisada para determinar atividade de lipase e retenção de vitamina.

Determinação da atividade de lipase

A atividade de lipase, expressa como produto de hidrólise em μmol formado por hora por peso unitário de farelo, descobriu-se ser 10,72μmol/h/0,1g para o material de partida e foi reduzido a 1,57 a 2,09μmol/h/0,1g a 10,01% de umidade depois do tratamento de estabilização

durante 5 minutos a 120°C.

O projeto experimental para as condições de estabilização tratando-se a fração de farelo de arroz grossa é mostrada na Tabela 18:

Tabela 18: Projeto experimental para a fração de farelo de arroz grossa

Amostra Nº	Fator 1 A: Temp, °C	Fator 2 B: Tempo, min.	Fator 3 C: Umidade (% em peso de umidade)
1	100	3	9,45
2	100	3	12,13
3	100	7	9,45
4	100	7	12,13
5	120	5	10,01
6	120	5	10,01
7	140	3	9,45
8	140	3	12,13
9	140	7	9,45
10	140	7	12,13
11	140	7	10,01
12	140	3	10,01

Análise de vitamina

Retenção de Vitamina E (tocoferol), B1 (tiamina) e B2 (riboflavina) no farelo estabilizado foi medida de acordo com métodos padrão para análise de vitamina em alimentos.

Medição da atividade de lipase

O método usado para medição da atividade de lipase esterase envolve: 1) determinar o substrato ideal (butirato de p-nitrofenila (Sigma, 9876-5G) em acetonitrila) concentração para atividade de lipase máxima; 2) dispersar o farelo em tampão de pH 7,5; 3) adicionar substrato de p-nitrofenil butirato; 4) medição espectrofotométrica da atividade esterase do farelo através da liberação de p-nitrofenol que absorve em 340 nm.

Os materiais, instrumentos, e métodos utilizados para medir atividade de lipase são:

Materiais:

1. Tampão de fosfato (pH 7,5, 0,2M)
2. Butirato de p-nitrofenila (p-NPB) (Sigma, 9876-5G)
3. acetonitrila

Instrumentos:

1. Espectrofotômetro

2. Centrifugador, capaz de alcançar 1000 g's

Método:

A. Determinação da concentração de substrato ideal

1. Dissolver p-NPB em acetonitrila de modo que sua concentração seja 10,75 mM.

2. Pesar 0,02g de amostra de farelo no tubo do centrifugador.

3. Adicionar 9,7, 9,5 ou 9,3ml de tampão de fosfato (pH 7,5) no tubo.

4. Adicionar 0,3, 0,5, ou 0,7ml de 10,75mM de p-NPB, correspondentemente, para compor um volume de amostra total de 10ml. Registrar o tempo exato de adição de p-NPB e sacudir o tubo da amostra. Colocar em banho de água a 25°C durante 20 min.

5. Depois de 20 min de adição de p-NPB, centrifugar a amostra a 1000 g's durante 5 min.

6. Medir a absorbância do sobrenadante (absorbância total, A) a 400 nm a exatamente 30 min. depois da adição de p-NPB.

8. Determinar a absorbância do farelo (A,), repetir as etapas 2 e 3 acima, exceto quando 10ml de tampão de fosfato e nenhum p-NPB deva ser adicionado, e o tempo deve ser registrado depois da adição de tampão. Repetir etapas 5, 6 e 7.

9. Usar água deionizada como espaço vazio (A_0).

10. Calcular a absorbância da amostra (A) subtraindo-se espaço vazio e absorbância do farelo da absorbância total, como segue:

absorbância da amostra (A)=absorbância total (A)-absorbância em branco (A_0) - absorbância do farelo (A_s)

11. Calcular a atividade de lipase com base nos seguintes valores da curva de calibração:

μmol de p-NPB hidrolisado = (A-0,0555)/1380 e fazer ajustes

para o peso da amostra e tempo de reação, como segue:

μmol de p-NPB hidrolisado/hora/0,1g

12. Escolher a concentração de substrato ideal com base na atividade de lipase mais alta registrada (ver Tabela 19):

Tabela 19: Determinação da concentração de substrato ideal

Volume de 10,75 mM de p-NPB adicionado (ml)	Volume de tampão de fosfato de pH 7,5 adicionado (ml)	Atividade de lipase (μmol/h/0,1g)
0,3	9,7	6,91
0,5	9,5	8,74
0,7	9,3	5,32

B. Determinação da atividade de lipase nas amostras do projeto experimental

1. Com base nos resultados mostrados na Tabela 19, a concentração de substrato ideal foi 0,5ml de 10,75 mM de p-NPB.

2. De modo a obter valores de absorbância abaixo de 0,8 (para estar dentro da Faixa linear do espectrofotômetro), e manter a mesma amostra à concentração do substrato ($0,02^g$ de farelo+0,5ml de p-NPB), um extra de 10ml de solução tampão (total de 19,5ml de solução tampão) têm que ser adicionado. A absorbância da amostra depois é ajustada como segue:

absorbância da amostra (A)=[absorbância total (A_t) - absorbância em branco (A_0) - absorbância do farelo (A_s)]*2 para corrigir a diluição da amostra.

3. Seguir o mesmo procedimento como em (A) "Determination of Optimum Substrate Concentration."

Resultados:

Resumidos na Tabela 20, para o tratamento de estabilização de doze amostras de farelo de arroz de curso, duas amostras de farelo de arroz estabilizadas comercialmente disponíveis, e uma amostra de controle de farelo de arroz não estabilizado, estão: 1) a quantidade de atividade da enzima lipase, base de peso seco, 2) porcentagem da redução da atividade de lipase, 3) condições de tratamento incluindo umidade, tempo, e temperatura, e 4) teor de vitamina:

Tabela 20: Atividade de lipase e retenção de vitamina em farelo de arroz

Amostra Nº	Armazenamento da Amostra	Temp °C	Temp Real °C	Tempo min	Umidade		RH Antes %, °C	Atividade de lipase µmol/h/0,1g	% de Vermelho	Retenção de vitamina		
					Antes % em peso	Depois % em peso				E (IU/100g)	B1 (mg/100g)	B2 (mg/100g)
1	$Mg(NO_3)_2$	100	82-88	3	9,455	9,422	47,4, 23,7	6,43	40,00	4,8	2,19	0,18
2	NH_4Cl	100	82-88	3	12,129	11,807	69,9, 24,6	1,64	84,72			
3	$Mg(NO_3)_2$	100	88	7	9,455	8,717	47,4, 23,7	1,91	82,19	4,4	2,25	0,17
4	NH_4Cl	100	88	7	12,129	11,007	69,9, 24,6	1,31	87,78			
5	ambiente a 63%	120	99	5	10,013	9,694	54,9, 22,9	2,09	80,48			
6	ambiente a 63%	120	99	5	10,013	9,495	54,9, 22,9	1,57	85,35			
7	$Mg(NO_3)_2$	140	104	3	9,455	9,003	47,4, 23,7	1,94	81,90	4,5	2,14	0,17
8	NH_4Cl	140	104	3	12,129	11,56	69,9, 24,6	1,36	87,28	2,2	2,12	0,17
9	$Mg(NO_3)_2$	140	121	7	9,455	6,762	47,4, 23,7	1,30	87,83			
10	NH_4Cl	140	121	7	12,129	8,312	69,9, 24,6	1,30	87,88			
11	ambiente a 63%	140	121	7	10,013	7,054	54,9, 22,9	1,59	85,12			
12	ambiente a 63%	140	104	3	10,013	8,067	54,9, 22,9	1,36	87,29			
Farelo de arroz não estabilizado					9,924		51,2, 23,9	10,72		7,0	2,2	0,17
Farelo de arroz estabilizado (gordura total), Comercial					8,177		46,1, 25,4	0,00	100,00	4,0	1,74	0,11
Farelo de arroz estabilizado (sem gordura), comercialmente					10,446		51,5, 26,0	0,00	100,00	1,2	1,91	0,17

Como indicado na Tabela 20, tratamento do componente de farelo de arroz grosso, não triturado em um teor de umidade na faixa de cerca de 9,5% em peso a cerca de 12,13% em peso durante cerca de 3 minutos a cerca de 7 minutos a cerca de 100°C a cerca de 140°C reduziu a atividade de lipase de cerca de 10,72μmol/hora/0,1g para o material de partida não estabilizado abaixo da faixa de 6,43μmol/hora/0,1g a cerca de 1,30μmol/hora/0,1g, dependendo de condições de tratamento, com o tempo de tratamento mais longo, teor de umidade mais alto e temperatura de tratamento mais alta fornecendo a atividade de lipase mais baixa. Os resultados também indicam que os valores de Vitamina E (tocoferol), Vitamina B1 (Tiamina), e Vitamina B2 (Riboflavina) foram bem retidos. O farelo de arroz grosso não triturado exibiu reduções da porcentagem de lipase variando de 40% a 87,88%, dependendo de condições de estabilização. Reduções de porcentagem mais altas em atividade de lipase, em qualquer condição de estabilização fornecida seria obtida se o farelo de arroz fosse triturado a um tamanho de partícula menor de um componente de farelo triturado grosso antes da estabilização porque a trituração aumentaria o acesso de umidade e calor para desativação. Entretanto, conduzindo a trituração depois da estabilização pode aumentar a atividade de lipase porque a lipase é uma enzima ativa de superfície, e a trituração aumenta a área de superfície e aumenta acessibilidade ao substrato de enzima.

EXEMPLO 8

Estabilização do farelo de aveia

Neste exemplo, um componente de farelo de aveia estabilizado, da moagem de sementes de aveia descascadas. integrais, é preparado e analisado para determinar a atividade de lipase e retenção de vitamina.

Preparação de componente de farelo estabilizado

Componente de farelo de aveia estabilizado foi produzido

usando farelo obtido da moagem de sementes de aveia descascadas, integrais na farinha de aveia integral. A porção da farinha de aveia integral remanescente na peneira #60 (padrão U.S.) foi considerada ser a porção de farelo. O farelo teve um teor de umidade de cerca de 9,8% e uma umidade relativa de cerca de 29%. O tamanho de partícula do farelo de aveia triturado, não estabilizado foi medido usando um agitador RoTap com a ajuda de pérolas de silício para separar agregados da partícula. O farelo de aveia triturado teve uma distribuição de tamanho de partícula de cerca de 0% em peso da partícula >841 mícron, cerca de 32,87% >500 mícrons mas menos do que 841 mícrons, cerca de 35,12% >250 mícrons, mas menos do que 500 mícrons, cerca de 5,59% >149 mícrons mas menos do que 250 mícrons, e cerca de 26,42% <149 mícrons. O farelo conteve cerca de 22,5% em peso de amido como determinado pela medição iodimétrica usando um método como descrito no Exemplo 1. Antes da estabilização, a umidade do farelo foi ajustada colocando-se o farelo em um dessecador contendo uma solução salina saturada durante uma semana na temperatura ambiente, ou em um ambiente de atmosfera controlada, para ajustar uniformemente a umidade do farelo no aumento de cerca de 10,97% a 13,89% do teor de umidade de acordo com a Tabela 21:

Tabela 21: Condições de equilíbrio da umidade para farelo de aveia

Solução salina saturada	Umidade relativa	Umidade do farelo de aveia
$Mg(NO_3)_2,6H_2O$	52%	10,97%
Ambiente de atmosfera controlada	63%	12,25%
NH_4Cl	79%	13,89%

O farelo, 20 g, foi colocado em um saco laminado selado com três a quatro furos de alfinete pequenos para liberar a pressão no aquecimento. Um rótulo não reversível de temperatura Omega foi colocado dentro de cada saco para servir como um instrumento de registro de temperatura interno. O estudo foi realizado de acordo com o projeto experimental resumido na Tabela 22. O farelo foi aquecido em um forno de convecção de ar forçado pré-aquecido (Thelco Model 26, Precision Scientific) durante 3, 5 ou 7

minutos e a 100°C, 120°C e 140°C, de modo a determinar o efeito da umidade do farelo, tempo de aquecimento e temperatura em atividade de lipase e retenção de vitamina. Imediatamente depois do aquecimento, os sacos laminados contendo o farelo foram esfriados em um refrigerador, o farelo foi colocado em um recipiente de vidro selado e armazenado congelado. Uma porção da amostra foi analisada para determinar atividade de lipase e retenção de vitamina.

Determinação da atividade de lipase

A atividade de lipase, expressa como produto de hidrólise em μmol formado por hora por peso unitário de farelo, descobriu-se ser 5,81μmol/h/0,1g para o material de partida e foi reduzido a 0,60 a 0,63μmol/h/0,1g a 12,25% de umidade depois do tratamento de estabilização durante 5 minutos a 120°C.

O projeto experimental para as condições de estabilização tratando-se a fração de farelo de aveia grossa triturada é mostrada na Tabela 22:

Tabela 22: Projeto experimental para fração de farelo de aveia grossa triturada

Nº da Amostra	Fator 1 A: Temp, °C	Fator 2 B: Tempo, min.	Fator 3 C: Umidade (% em peso)
1	100	3	10,97
2	100	3	13,89
3	100	7	10,97
4	100	7	13,89
5	120	5	12,25
6	120	5	12,25
7	140	3	10,97
8	140	3	13,89
9	140	7	10,97
10	140	7	13,89
11	140	7	12,25
12	140	3	12,25

Análise de vitamina

Retenção de Vitamina E (tocoferol), B1 (tiamina) e B2 (riboflavina) no farelo estabilizado foi medida de acordo com métodos padrão para análise de vitamina em alimentos.

Medição da atividade de lipase

O método usado para medição da atividade de lipase esterase envolve: 1) determinar o substrato ideal (butirato de p-nitrofenila (Sigma, 9876-5G) em acetonitrila) concentração para atividade de lipase máxima; 2) dispersar o farelo em tampão de pH 7,5; 3) adicionar substrato de p-nitrofenil butirato; 4) medição espectrofotométrica da atividade esterase do farelo através da liberação de p-nitrofenol que absorve em 340 nm.

Os materiais, instrumentos, e métodos utilizados para medir atividade de lipase são:

Materiais:

1. Tampão de fosfato (pH 7,5, 0,2 M)
2. Butirato de p-nitrofenila (p-NPB)(Sigma, 9876-5G)
3. Acetonitrila

Instrumentos:

1. Espectrofotômetro
2. Centrifugador, capaz de alcançar 1000 g's

Método:

A. Determinação da concentração de substrato ideal

1. Dissolver p-NPB em acetonitrila de modo que sua concentração seja 10,75 mM.
2. Pesar 0,02g de amostra de farelo no tubo do centrifugador.
3. Adicionar 9,5, 9,0 ou 8,5ml de tampão de fosfato (pH 7,5) no tubo.
4. Adicionar 0,5, 1,0, ou 1,5ml de p-NPB 10,75 mM, correspondentemente, para compor um volume de amostra total de 10ml.

Registrar o tempo exato de adição de p-NPB e sacudir o tubo da amostra.

5. Colocar em banho de água a 25°C durante 20 min.
6. Depois de 20 min de adição de p-NPB, centrifugar a

amostra a 1000 g's durante 5 min.

7. Medir a absorbância do sobrenadante (absorbância total, A) a 400 nm a exatamente 30 min. depois da adição de p-NPB.

8. Determinar a absorbância do farelo (A_s), repetir as etapas 2 e 3 acima, exceto quando 10ml de tampão de fosfato e nenhum p-NPB deva ser adicionado, e o tempo deve ser registrado depois da adição de tampão. Repetir as etapas 5, 6 e 7.

9. Usar água deionizada como espaço vazio (A_0).

10. Calcular a absorbância da amostra (A) subtraindo-se espaço vazio e absorbância do farelo da absorbância total, como segue:

absorbância da amostra (A)=absorbância total (A_s) - absorbância em branco (A_0) - absorbância do farelo (A_s)

11. Calcular a atividade de lipase com base nos seguintes valores da curva de calibração:

μmol de p-NPB hidrolisado =(A-0,0555)/1380 e fazer ajustes para o peso da amostra e tempo de reação, como segue:

μmol de p-NPB hidrolisado/hora/0,1g

12. Escolher a concentração de substrato ideal com base na atividade de lipase mais alta registrada (ver Tabela 23):

Tabela 23: Determinação da concentração de substrato ideal

Volume de 10,75 mM de p-NPB adicionado (ml)	**Volume de tampão de fosfato de pH 7,5 adicionado (ml)**	**Atividade de lipase (μmol/h/0,1g)**
0,5	9,5	6,91
1	9,0	8,74
1,5	8,5	5,32

B. Determinação de atividade de lipase em amostras de projeto experimental

1. Com base nos resultados mostrados na Tabela 23, a concentração do substrato ideal foi 1,0ml de p-NPB 10,75 mM.

2. De modo a obter valores de absorbância abaixo de 0,8 (para estar dentro da faixa linear do espectrofotômetro), e manter a mesma amostra

à concentração do substrato (0,02g de farelo+1,0 mM de p-NPB), um extra de 10ml de solução tampão (total de 19,0ml de solução tampão) têm que ser adicionado. A absorbância da amostra depois é ajustada como segue:

absorbância da amostra (A)=[absorbância total (A_t) - absorbância em branco (A_0) - absorbância do farelo (A_s)]*2 para corrigir a diluição da amostra.

2. Seguir o mesmo procedimento como em (A) "Determination of optimum substrate concentration."

Resultados:

Resumidos na Tabela 24, para o tratamento de estabilização de doze amostras de farelo de aveia de curso trituradas, uma amostra de farelo de aveia estabilizada comercialmente disponível, e uma amostra de controle de farelo de aveia grossa triturada não estabilizada, estão: 1) a quantidade de atividade da enzima lipase, base de peso seco, 2) porcentagem da redução da atividade de lipase, 3) condições de tratamento incluindo umidade, tempo, e temperatura, e 4) teor de vitamina:

Tabela 24: Atividade de lipase e retenção de vitamina no farelo de aveia

Amostra Nº	Armazenamento da Amostra	Temp °C	Temp Real °C	Tempo min	Umidade		RH Antes %, °C	Atividade de Lipase Mmol/h/0,1g	% de Vermelho	Retenção de vitamina		
					Antes % em peso	Depois % em peso				E (1U/100g)	B1 (mg/100g)	B2 (mg/100g)
1	$Mg(NO_3)_2$	10D	82-88	3	10,968	10,813	48,4, 24,7	4,39	24,51	0,90	0,99	0,12
2	NH_4Cl	100	82-88	3	13,891	13,015	68,2, 23,8	1,46	74,90			
3	$Mg(NO_3)_2$	100	88-93	7	10,968	10,251	48,4, 24,7	2,03	65,11	1,00	1,01	0,12
4	NH_4Cl	100	88-93	7	13,891	12,762	68,2, 23,8	0,18	96,92			
5	ambiente a 63%	120	99-104	5	12,252	11,237	55,5, 22,6	0,60	89,66			
6	ambiente a 63%	120	99-104	5	12,252	10,641	55,5, 22,6	0,63	89,13			
7	$Mg(NO_3)_2$	140	104-110	3	10,968	10,150	48,4, 24,7	0,87	85,07	0,90	0,97	0,12
8	NH_4Cl	140	104-110	3	13,891	12,164	68,2, 23,8	0,77	86,82	0,80	0,95	0,12
9	$Mg(NO_3)_2$	140	121-127	7	10,968	9,100	48,4, 24,7	0,65	88,74			
10	NH_4Cl	140	121-127	7	13,891	7,700	68,2, 23,8	0,26	95,50			
11	ambiente a 63%	140	121-127	7	12,252	8,088	55,5, 22,6	0,18	96,90			
12	ambiente a 63%	140	104-110	3	12,252	11,101	55,5, 22,6	0,32	94,47			
Farelo de aveia não estabilizado					9,842		29,3, 23,6	5,81		1,00	1,10	0,13
Farelo de aveia estabilizado, comercialmente					6,156		16,5, 23,3	0,00	100,00	0,50	0,74	0,10

Como indicado na Tabela 24, tratamento do componente de farelo de aveia grosso, triturado em um teor de umidade na faixa de cerca de 10,97% em peso a cerca de 13,89% em peso durante cerca de 3 minutos a cerca de 7 minutos a cerca de 100°C a cerca de 140°C reduziu a atividade de lipase de cerca de 5,81μmol/hora/0,1g para o material de partida não estabilizado abaixo da faixa de 4,39μmol/hora/0,1g a cerca de 0,18μmol/hora/0,1g, dependendo de condições de tratamento, com ambos: 1) o tempo de tratamento mais longo, e temperatura de tratamento mais alta, e 2) o tempo de tratamento mais longo e teor de umidade mais alto fornecendo a atividade de lipase mais baixa. Os resultados também indicam que os valores de Vitamina E (tocoferol), Vitamina B1 (Tiamina), e Vitamina B2 (Riboflavina) foram bem retidos. O farelo de aveia grosso triturado exibiu reduções da porcentagem de lipase variando de 24,51% a 96,92%, dependendo de condições de estabilização.

EXEMPLO 9

Estabilização do farelo de milho

Neste exemplo, um componente de farelo de milho estabilizado, da moagem de grãos de milho integrais, é preparado e analisado para determinar a atividade de lipase e retenção de vitamina.

Preparação of Componente de farelo estabilizado

Componente de farelo de milho estabilizado foi produzido usando farelo obtido da moagem de grãos de milho integrais na farinha de milho integral. A porção da farinha de milho integral retida na peneira #50 (Padrão U.S.) foi considerada ser a porção de farelo. O farelo teve um teor de umidade de cerca de 10,76% e uma umidade relativa de cerca de 42,0%. O tamanho de partícula do farelo de milho triturado, não estabilizado foi medido usando um agitador RoTap com a ajuda de pérolas de silício para separar agregados da partícula. O farelo de milho triturado teve uma distribuição de tamanho de partícula de cerca de 0% em peso da partícula >841 mícron, cerca

de 6,94% >500 mícrons mas menos do que 841 mícrons, cerca de 51,53% >250 mícrons, mas menos do que 500 mícrons, cerca de 27,92% >149 mícrons mas menos do que 250 mícrons, e cerca de 13,61% <149 mícrons. O farelo conteve cerca de 34,6% em peso de amido como determinado pela medição iodimétrica usando um método como descrito no Exemplo 1. Antes da estabilização, a umidade do farelo foi ajustada colocando-se o farelo em um dessecador contendo uma solução salina saturada durante uma semana na temperatura ambiente, ou em um ambiente de atmosfera controlada, para ajustar uniformemente a umidade do farelo no aumento de cerca de 11,42% a 13,85% do teor de umidade de acordo com a Tabela 25:

Tabela 25: Condições de equilíbrio da umidade para o farelo de milho

Solução salina saturada	Umidade relativa	Umidade do farelo de milho
$Mg(NO_3)_2$, $6H_2O$	52%	11,42%
Ambiente de atmosfera controlada	63%	11,74%
NH_4Cl	79%	13,85%

O farelo, 20 g, foi colocado em um saco selado com três a quatro furos de alfinete pequenos para liberar a pressão no aquecimento. Um rótulo não reversível de temperatura Omega foi colocado dentro de cada saco para servir como um instrumento de registro de temperatura interno. O estudo foi realizado de acordo com projeto experimental resumido na Tabela 26. O farelo foi aquecido em um forno de convecção de ar forçado pré-aquecido (Thelco Model 26, Precision Scientific) durante 3, 5 ou 7 minutos e a 100°C, 120°C e 140°C, de modo a determinar o efeito da umidade do farelo, tempo de aquecimento e temperatura em atividade de lipase e retenção de vitamina. Imediatamente depois do aquecimento, os sacos laminados contendo o farelo foram esfriados em um refrigerador, o farelo foi colocado em um recipiente de vidro selado e armazenado congelado. Uma porção da amostra foi analisada para determinar atividade de lipase e retenção de vitamina.

Determinação da atividade de lipase

A atividade de lipase, expressa como produto de hidrólise em μmol formado por hora por peso unitário de farelo, descobriu-se ser

1,96μmole/h/0,1g para o material de partida e foi reduzido a 0μmol/h/0,1g a 11,74% de umidade depois do tratamento de estabilização durante 5 minutos a 120°C.

O projeto experimental para as condições de estabilização tratando-se a fração de farelo de milho grossa triturada é mostrada na Tabela 26:

Tabela 26: Projeto experimental para fração de farelo de milho grossa triturada

Amostra Nº	Fator 1 A: Temp, °C	Fator 2 B: Tempo, min.	Fator 3 C: Umidade (% em peso de umidade)
1	100	3	11,42
2	100	3	13,85
3	100	7	11,42
4	100	7	13,85
5	120	5	11,74
6	120	5	11,74
7	140	3	11,42
8	140	3	13,85
9	140	7	11,42
10	140	7	13,85
11	140	7	11,74
12	140	3	11,74

Análise de vitamina

Retenção de Vitamina E (tocoferol), B1 (tiamina) e B2 (riboflavina) no farelo estabilizado foi medida de acordo com métodos padrão para análise de vitamina em alimentos.

Medição da atividade de lipase

O método usado para medição da atividade de lipase esterase envolve: 1) determinar o substrato ideal (butirato de p-nitrofenila (Sigma, 9876-5G) em acetonitrila) concentração para atividade de lipase máxima; 2) dispersar o farelo em tampão de pH 7,5; 3) adicionar substrato de p-nitrofenil butirato; 4) medição espectrofotométrica da atividade esterase do farelo através da liberação de p-nitrofenol que absorve em 340 nm.

Os materiais, instrumentos, e métodos utilizados para medir atividade de lipase são:

Materiais:

1. Tampão de fosfato (pH 7,5, 0,2 M)

2. Butirato de p-nitrofenila (p-NPB)(Sigma, 9876-5G)

3. Acetonitrila

Instrumentos:

1. Espectrofotômetro

2. Centrifugador, capaz de alcançar 1000 g's

Método:

A. Determinação da concentração de substrato ideal

1. Dissolver p-NPB em acetonitrila de modo que sua concentração seja 10,75 mM.

2. Pesar 0,02g de amostra de farelo no tubo do centrifugador.

3. Adicionar 9,8, 9,5 ou 9,0ml de tampão de fosfato (pH 7,5) no tubo.

4. Adicionar 0,2, 0,5, ou 1,0ml de p-NPB 10,75 mM, correspondentemente, para compor um volume de amostra total de 10ml. Registrar o tempo exato de adição de p-NPB e sacudir o tubo da amostra.

5. Colocar em banho de água a 25°C durante 20 min.

6. Depois de 20 min de adição de p-NPB, centrifugar a amostra a 1000 g's durante 5 min.

7. Medir a absorbância do sobrenadante (absorbância total, A_t) a 400 nm a exatamente 30 min. depois da adição de p-NPB.

8. Determinar a absorbância do farelo (A_s), repetir as etapas 2 e 3 acima, exceto quando 10ml de tampão de fosfato e nenhum p-NPB deva ser adicionado, e o tempo deve ser registrado depois da adição de tampão. Repetir etapas 5, 6 e 7.

9. Usar água deionizada como espaço vazio (A_0).

10. Calcular a absorbância da amostra (A) subtraindo-se espaço vazio e absorbância do farelo da absorbância total, como segue:

absorbância da amostra (A)=absorbância total (A_t)

-absorbância em branco (A_0) - absorbância do farelo (A_s)

11. Calcular a atividade de lipase com base nos seguintes valores da curva de calibração:

μmol de p-NPB hidrolisado =(A-0,0555)/1380 e fazer ajustes para o peso da amostra e tempo de reação, como segue:

μmol de p-NPB hidrolisado/hora/0,1g

12. Escolher a concentração de substrato ideal com base na atividade de lipase mais alta registrada (ver Tabela 27):

Tabela 27: Determinação da concentração de substrato ideal

Volume de 10,75 mM de p-NPB adicionado (ml)	Volume de tampão fosfato de pH 7,5 adicionado (ml)	Atividade de lipase (μmol/h/0,1g)
0,2	9,8	1,21
0,5	9,5	1,60
1,0	9,0	1,46

B. Determinação da atividade de lipase em amostras de projeto experimental

1. Com base nos resultados mostrados na Tabela 27, a concentração do substrato ideal foi 0,5ml de p-NPB 10,75 mM.

2. os valores de absorbância foram abaixo de 0,8, assim, nenhuma necessidade de ajuste foi necessária para estar dentro da faixa linear do espectrofotômetro. Volume de amostra total foi mantida em 10ml.

3. Seguir o mesmo procedimento como em (A) "Determination of optimum substrate concentration."

Resultados:

Resumidos na Tabela 28, para o tratamento de estabilização de doze amostras de farelo de milho trituradas de curso, uma amostra de farelo de milho estabilizada comercialmente disponível, e uma amostra de controle de farelo de milho grosso triturado não estabilizado, estão: 1) a quantidade de atividade da enzima lipase, base de peso seco, 2) porcentagem de redução da atividade de lipase, 3) condições de tratamento incluindo umidade, tempo, e temperatura, e 4) teor de vitamina:

Tabela 28: Atividade de lipase e retenção de vitamina em farelo de milho

Amostra Nº	Armazenamento da Amostra	Temp °C	Temp Real °C	Tempo min	Umidade		RH Antes %, °C	Atividade de Lipase µmol/h/0,1g	% de Vermelho	Retenção de vitamina		
					Antes % em peso	Depois % em peso				E (IU/100g)	B1 (mg/100g)	B2 (mg/100g)
1	$Mg(NO_3)_2$	100	82-88	3	11,423	11,373	51,1, 24,0	1,37	30,07	0,80	0,18	0,04
2	NH_4Cl	100	82-88	3	13,847	13,647	72,9, 24,2	0,20	89,73			
3	$Mg(NO_3)_2$	100	88-93	7	11,423	10,767	51,1, 24,0	0,35	82,40	0,70	0,16	0,04
4	NH_4Cl	100	88-93	7	13,847	12,998	72,9, 24,2	0,01	99,74			
5	ambiente a 63%	120	99-104	5	11,743	10,756	56,2, 24,2	0,00	100,00			
6	ambiente a 63%	120	99-104	5	11,743	11,334	56,2, 24,2	0,00	100,00			
7	$Mg(NO_3)_2$	140	104-110	3	11,423	10,922	51,1, 24,0	0,24	87,94	0,90	0,16	0,03
8	NH_4Cl	140	104-110	3	13,847	13,755	72,9, 24,2	0,00	100,00	0,80	0,16	0,04
9	$Mg(NO_3)_2$	140	116-121	7	11,423	9,212	51,1, 24,0	0,00	100,00			
10	NH_4Cl	140	104-110	7	13,847	9,772	72,9, 24,2	0,00	100,00			
11	ambiente a 63%	140	116-121	7	11,743	9,040	56,2, 24,2	0,00	100,00		-	
12	ambiente a 63%	140	99-104	3	11,743	11,735	56,2, 24,2	0,00	100,00			
Farelo de milho não estabilizado					10,764		42,0, 22,3	1,96		0,80	0,16	0,04
Maize Wise 80					8,880		43,1, 23,2	0,90	54,18	0,80	0,07	0,05

Como indicado na Tabela 28, tratamento do componente de farelo de aveia grosso, triturado em um teor de umidade na faixa de cerca de 11,42% em peso a cerca de 13,85% em peso durante cerca de 3 minutos a cerca de 7 minutos a cerca de 100°C a cerca de 140°C reduziu a atividade de lipase de cerca de 1,96μmol/hora/0,1g para o material de partida não estabilizado abaixo da faixa de 1,37μmol/hora/0,1g a 0,00μmol/hora/0,1g, dependendo de condições de tratamento, com o tempo de tratamento mais longo, o teor de umidade mais alto, e a temperatura de tratamento mais alta, fornecendo a atividade de lipase mais baixa. Os resultados também indicam que os valores de Vitamina E (tocoferol), Vitamina B1 (Tiamina), e Vitamina B2 (Riboflavina) foram bem retidos. O farelo de milho grosso triturado exibiu reduções da porcentagem de lipase variando de 30,07% a 100,00%, dependendo de condições de estabilização.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para fabricar uma farinha de grão integral estabilizada, caracterizado pelo fato de compreender:

a. submeter uma fração grossa compreendendo farelo, germe e amido à trituração ou moagem para reduzir arenosidade da fração grossa sem substancialmente danificar o amido, a quantidade de farelo sendo pelo menos cerca de 50% em peso, com base no peso da fração grossa,

b. estabilizar a fração grossa aquecendo-se a fração grossa para reduzir substancialmente a atividade de lipase da fração grossa, e

c. combinar a fração grossa estabilizada com uma fração fina compreendendo endosperma para obter uma farinha de grão integral estabilizada.

2. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a dita estabilização da fração grossa evita a produção substancial de acrilamida, enquanto também evitando perda substancial de tocoferóis, tiamina e riboflavina, e mantendo uma capacidade de remoção de radical livre antioxidante de não menos do que cerca de 150 micromol de equivalentes de Trolox por grama.

3. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a dita fração grossa é submetida à dita trituração ou moagem antes da dita estabilização da fração grossa.

4. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a dita fração grossa é submetida à dita trituração ou moagem depois da dita estabilização da fração grossa.

5. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a quantidade de amido é de cerca de 15% em peso a cerca de 35% em peso, com base no peso da fração grossa.

6. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que antes da dita trituração ou moagem da fração grossa tem uma

distribuição de tamanho de partícula de pelo menos cerca de 75% em peso tendo um tamanho de partícula de mais do que ou igual a 500 mícrons, menos do que ou igual a cerca de 5% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 149 mícrons, e cerca de 15% em peso a cerca de 25% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 500 mícrons mas maior do que ou igual a 149 mícrons, e a fração grossa é triturada ou moída para obter uma fração triturada ou moída ou componente de farelo com pelo menos cerca de 40% em peso da fração tendo um tamanho de partícula maior do que ou igual a 149 mícrons, e menor do que ou igual a cerca de 35% em peso tendo um tamanho de partícula maior do que ou igual a 500 mícrons.

7. Método de acordo com a reivindicação 6 caracterizado pelo fato de que a dita fração triturada ou moída ou componente de farelo tem uma distribuição de tamanho de partícula de cerca de 0,5% em peso a cerca de 5% em peso maior do que ou igual a 841 mícrons, cerca de 10% em peso a cerca de 30% em peso menor do que 841 mícrons mas maior do que ou igual a 500 mícrons, cerca de 25% em peso a cerca de 70% em peso maior do que ou igual a 149 mícrons mas menor do que 500 mícrons, e menor do que ou igual a cerca de 60% em peso menor do que 149 mícrons, as ditas porcentagens somando até um total de 100% em peso.

8. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a fração fina não é submetida à estabilização, de modo a evitar gelatinização substancial de amido, e estabilização da fração grossa por aquecimento evita gelatinização substancial de amido contido na fração grossa.

9. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a atividade de lipase é reduzida a menos do que cerca de 3 micromol de ácido livre de butirato formado por hora por 0,1 grama da fração grossa estabilizada.

10. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado

pelo fato de que a dita estabilização da fração grossa evita um teor de acrilamida de mais do que cerca de 150 ppb, com base no peso da fração grossa estabilizada.

11. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a dita estabilização compreende aquecimento em uma temperatura de cerca de 100°C a cerca de 140°C.

12. Método de acordo com a reivindicação 11 caracterizado pelo fato de que a dita fração grossa que é submetida à dita estabilização tem um teor de umidade de cerca de 9% em peso a cerca de 14% em peso, com base no peso da fração grossa.

13. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a dita fração grossa compreende pelo menos cerca de 60% em peso de farelo, e pelo menos cerca de 10% em peso de germe, com base no peso da fração grossa, e a dita fração fina compreende pelo menos cerca de 90% em peso endosperma em uma base de sólidos, e tem uma distribuição de tamanho de partícula de menos do que cerca de 10% em peso tendo um tamanho de partícula de mais do que ou igual a 500 mícrons, menos do que ou igual a cerca de 80% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 149 mícrons, e cerca de 20% em peso a cerca de 65% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 500 mícrons mas maior do que ou igual a 149 mícrons.

14. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a fração grossa triturada, estabilizada tem uma entalpia de fusão de amido de mais do que cerca de 4 J/g, com base no peso de amido na fração grossa triturada estabilizada, como medido por calorimetria por varredura diferencial (DSC), em uma temperatura de pico de cerca de 65°C a cerca de 70°C, e uma capacidade de retenção de solvente de carbonato de sódio-água (carbonato de sódio SRC) de menos do que cerca de 200%.

15. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado

pelo fato de que a dita estabilização inclui tratar a dita fração grossa com um metabissulfito de álcali comestível em uma quantidade de estabilização.

16. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a dita farinha de grão integral estabilizada tem uma distribuição de tamanho de partícula de menos do que cerca de 10% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 35 (500 mícrons), e menos do que cerca de 70% em peso através de uma Peneira Padrão U.S. Nº 100 (149 mícrons):

17. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a dita farinha de grão integral estabilizada tem uma distribuição de tamanho de partícula de menos do que cerca de 10% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 35 (500 mícrons), cerca de 20% em peso a cerca de 40% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 60 (250 mícrons), cerca de 10% em peso a cerca de 60% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 100 (149 mícrons), e menos do que cerca de 70% em peso através de uma Peneira Padrão U.S. Nº 100 (149 mícrons).

18. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a dita farinha de grão integral estabilizada tem uma capacidade de retenção de solvente de carbonato de sódio-água (carbonato de sódio SRC) de menos do que cerca de 85%, um teor de ácido graxo livre de menos do que cerca de 10% em peso de lipídeos totais da farinha em três meses ou menos do que cerca de 3.000ppm, com base no peso da farinha de grão integral estabilizada, e um teor de hexanal de menos do que cerca de 10ppm depois de 1 mês de armazenamento acelerado a 95°C, com base no peso da farinha de grão integral estabilizada.

19. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a dita farinha de grão integral estabilizada é produzida continuamente e a dita estabilização da fração grossa é conduzida de cerca de 0,25 minutos a cerca de 12 minutos.

20. Método para fabricar uma farinha de grão integral

estabilizada caracterizado pelo fato de compreender:

a. fragmentar grãos de cereais integrais para obter grãos de cereais integrais triturados,

b. submeter os grãos de cereais triturados a uma operação de separação para obter uma fração grossa compreendendo farelo, germe, e amido, e uma fração fina compreendendo endosperma, a dita fração grossa tendo um teor de farelo de pelo menos cerca de 50% em peso, com base no peso da fração grossa,

c. triturar a fração grossa para obter uma fração triturada tendo uma distribuição de tamanho de partícula de pelo menos cerca de 40% em peso tendo um tamanho de partícula de mais do que ou igual a 149 mícrons, e menos do que ou igual a cerca de 35% em peso tendo um tamanho de partícula maior do que ou igual a 500 mícrons,

d. estabilizar a fração triturada por aquecimento para reduzir a atividade de lipase a menos do que cerca de 3 micromol de ácido livre de butirato formado por hora por 0,1 grama da fração triturada estabilizada, enquanto evitando um teor de acrilamida de mais do que cerca de 150 ppb, com base no peso da fração triturada estabilizada, e

e. combinar a fração fina com a fração triturada estabilizada para obter uma farinha de grão integral estabilizada com uma atividade de lipase de menos do que cerca de 1,5 micromol de ácido livre de butirato formado por hora por 0,1 grama da farinha de grão integral estabilizada e um teor de acrilamida de menos do que cerca de 45 ppb, com base no peso da farinha de grão integral estabilizada.

21. Método para fabricar um componente de farelo estabilizado caracterizado pelo fato de compreender:

a. submeter uma fração grossa compreendendo farelo, germe e amido à trituração ou moagem para reduzir arenosidade da fração grossa sem substancialmente danificar o amido, a quantidade de farelo sendo pelo menos

cerca de, 50% em peso, com base no peso da fração grossa, e

b. estabilizar a fração grossa aquecendo-se a fração grossa para reduzir substancialmente a atividade de lipase da fração grossa, a fração grossa triturada, estabilizada tendo uma distribuição de tamanho de partícula de pelo menos cerca de 40% em peso da fração tendo um tamanho de partícula de pelo menos 149 mícrons, e menos do que ou igual a cerca de 35% em peso tendo um tamanho de partícula maior do que ou igual a 500 mícrons.

22. Método de acordo com a reivindicação 21 caracterizado pelo fato de que a dita estabilização da fração grossa evita a produção substancial de acrilamida, enquanto também evitando perda substancial de tocoferóis, tiamina e riboflavina, e mantendo uma capacidade de remoção de radical livre antioxidante de não menos do que cerca de 150 micromol de equivalentes de Trolox por grama.

23. Método de acordo com a reivindicação 21 caracterizado pelo fato de que a dita fração grossa é submetida à dita trituração ou moagem antes da dita estabilização da fração grossa.

24. Método de acordo com a reivindicação 21 caracterizado pelo fato de que a dita fração grossa é submetida à dita trituração ou moagem depois da dita estabilização da fração grossa.

25. Método de acordo com a reivindicação 21 caracterizado pelo fato de que a quantidade de amido é de cerca de 15% em peso a cerca de 35% em peso, com base no peso da fração grossa, e antes da dita trituração ou moagem da fração grossa tem uma distribuição de tamanho de partícula de pelo menos cerca de 75% em peso tendo um tamanho de partícula de mais do que ou igual a 500 mícrons, menos do que ou igual a cerca de 5% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 149 mícrons, e cerca de 15% em peso a cerca de 25% em peso tendo um tamanho de partícula de menos do que 500 mícrons mas maior do que ou igual a 149 mícrons, e a fração grossa é triturada ou moída para obter uma fração triturada ou moída ou componente

de farelo com pelo menos cerca de 40% em peso da fração tendo um tamanho de partícula maior do que ou igual a 149 mícrons, e menor do que ou igual a cerca de 35% em peso tendo um tamanho de partícula maior do que ou igual a 500 mícrons.

26. Método de acordo com a reivindicação 25 caracterizado pelo fato de que a dita fração triturada ou moída ou componente de farelo tem uma distribuição de tamanho de partícula de cerca de 0,5% em peso a cerca de 5% em peso maior do que ou igual a 841 mícrons, cerca de 10% em peso a cerca de 30% em peso menor do que 841 mícrons mas maior do que ou igual a 500 mícrons, cerca de 25% em peso a cerca de 70% em peso maior do que ou igual a 149 mícrons mas menor do que 500 mícrons, e menor do que ou igual a cerca de 60% em peso menor do que 149 mícrons, as ditas porcentagens somando até um total de 100% em peso.

27. Método de acordo com a reivindicação 21 caracterizado pelo fato de que a estabilização da fração grossa é por aquecimento que evita a gelatinização substancial do amido contido na fração grossa.

28. Método de acordo com a reivindicação 21 caracterizado pelo fato de que a atividade de lipase é reduzida a menos do que cerca de 3 micromol de ácido livre de butirato formado por hora por 0,1 grama da fração grossa estabilizada.

29. Método de acordo com a reivindicação 21 caracterizado pelo fato de que a dita estabilização da fração grossa evita um teor de acrilamida de mais do que cerca de 150 ppb, com base no peso da fração grossa estabilizada.

30. Método de acordo com a reivindicação 21 caracterizado pelo fato de que a dita estabilização compreende aquecimento em uma temperatura de cerca de 100°C a cerca de 140°C.

31. Método de acordo com a reivindicação 30 caracterizado pelo fato de que a dita fração grossa que é submetida à dita estabilização tem

um teor de umidade de cerca de 9% em peso a cerca de 14% em peso, com base no peso da fração grossa.

32. Método de acordo com a reivindicação 21 caracterizado pelo fato de que a dita fração grossa compreende pelo menos cerca de 60% em peso de farelo, e pelo menos cerca de 10% em peso de germe, com base no peso da fração grossa.

33. Método de acordo com a reivindicação 21 caracterizado pelo fato de que a fração grossa triturada, estabilizada tem uma entalpia de fusão de amido de mais do que cerca de 4 J/g, com base no peso de amido na fração grossa triturada estabilizada, como medido por calorimetria por varredura diferencial (DSC), em uma temperatura de pico de cerca de 65°C a cerca de 70°C, e uma capacidade de retenção de solvente de carbonato de sódio-água (carbonato de sódio SRC) de menos do que cerca de 200%.

34. Componente de farelo estabilizado caracterizado pelo fato de que compreende uma fração grossa triturada ou moída, tratada com calor compreendendo farelo, germe e amido, a quantidade de farelo sendo pelo menos cerca de 50% em peso, com base no peso da fração grossa, a fração grossa triturada, estabilizada tendo:

a. uma distribuição de tamanho de partícula de pelo menos cerca de 40% em peso da fração tendo um tamanho de partícula de pelo menos 149 mícrons, e menos do que ou igual a cerca de 35% em peso tendo um tamanho de partícula maior do que ou igual a 500 mícrons,

b. uma atividade de lipase de menos do que cerca de 3 micromol de ácido livre de butirato formado por hora por 0,1 grama do componente de farelo estabilizado,

c. um teor de acrilamida menor do que ou igual a cerca de 150 ppb, com base no peso do componente de farelo estabilizado,

d. uma entalpia de fusão de amido de mais do que cerca de 4 J/g, com base no peso de amido na fração grossa triturada estabilizada, como

medido por calorimetria por varredura diferencial (DSC), em uma temperatura de pico de cerca de 65°C a cerca de 70°C, e

e. uma capacidade de retenção de solvente de carbonato de sódio-água (carbonato de sódio SRC) de menos do que cerca de 200%.

35. Componente de farelo estabilizado de acordo com a reivindicação 34 caracterizado pelo fato de que a quantidade de amido é de cerca de 15% em peso a cerca de 35% em peso, com base no peso da fração grossa.

36. Componente de farelo estabilizado de acordo com a reivindicação 34 caracterizado pelo fato de que a dita fração triturada ou moída ou componente de farelo tem uma distribuição de tamanho de partícula de cerca de 0,5% em peso a cerca de 5% em peso maior do que ou igual a 841 mícrons, cerca de 10% em peso a cerca de 30% em peso menor do que 841 mícrons mas maior do que ou igual a 500 mícrons, cerca de 25% em peso a cerca de 70% em peso maior do que ou igual a 149 mícrons mas menor do que 500 mícrons, e menos do que ou igual a cerca de 60% em peso menor do que 149 mícrons, as ditas porcentagens somando até um total de 100% em peso.

37. Componente de farelo estabilizado de acordo com a reivindicação 34 caracterizado pelo fato de que a dita fração grossa compreende pelo menos cerca de 60% em peso de farelo, e pelo menos cerca de 10% em peso de germe, com base no peso da fração grossa.

38. Farinha de grão integral estabilizada, caracterizada pelo fato de que compreende farelo, germe e endosperma, em que apenas uma porção do endosperma é submetida à estabilização térmica e pelo menos uma porção substancial do farelo e germe é submetida à estabilização por aquecimento, a farinha de grão integral estabilizada tendo uma distribuição de tamanho de partícula de menos do que cerca de 10% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 35 (500 mícrons).

39. Farinha de grão integral estabilizada de acordo com a reivindicação 38 caracterizada pelo fato de que a atividade de lipase é menor do que cerca de 1,5 micromol de ácido livre de butirato formado por hora por 0,1 grama da farinha de grão integral estabilizada, e o teor de acrilamida é menor do que cerca de 45 ppb, com base no peso de farinha de grão integral estabilizada.

40. Farinha de grão integral estabilizada de acordo com a reivindicação 38 caracterizada pelo fato de que tem uma distribuição de tamanho de partícula de menos do que cerca de 5% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 35 (500 mícrons), e menos do que cerca de 70% em peso através de uma Peneira Padrão U.S. Nº 100 (149 mícrons).

41. Farinha de grão integral estabilizada de acordo com a reivindicação 38 caracterizada pelo fato de que tem uma distribuição de tamanho de partícula de menos do que cerca de 10% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 35 (500 mícrons), cerca de 20% em peso a cerca de 40% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 60 (250 mícrons), cerca de 10% em peso a cerca de 60% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 100 (149 mícrons), e menos do que cerca de 70% em peso através de uma Peneira Padrão U.S. Nº 100 (149 mícrons).

42. Farinha de grão integral estabilizada de acordo com a reivindicação 38 caracterizada pelo fato de que tem uma capacidade de retenção de solvente de carbonato de sódio-água (carbonato de sódio SRC) de menos do que cerca de 85%, um teor de ácido graxo livre de menos do que cerca de 10% em peso de lipídeos totais da farinha em três meses ou menos do que cerca de 3.000ppm, com base no peso da farinha de grão integral estabilizada, e um teor de hexanal de menos do que cerca de 10ppm depois de 1 mês armazenamento acelerado a 95°C, com base no peso da farinha de grão integral estabilizada.

43. Farinha de grão integral estabilizada caracterizada pelo

fato de que compreende farelo, germe e endosperma, a farinha de grão integral estabilizada tendo:

a. uma atividade de lipase de menos do que cerca de 1,5 micromol de ácido livre de butirato formado por hora por 0,1 grama da farinha de grão integral estabilizada,

b. um teor de acrilamida menor do que cerca de 45 ppb, com base no peso de farinha de grão integral estabilizada, e

c. uma distribuição de tamanho de partícula de menos do que cerca de 10% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 35 (500 mícrons), e menos do que cerca de 70% em peso através de uma Peneira Padrão U.S. Nº 100 (149 mícrons).

44. Farinha de grão integral estabilizada de acordo com a reivindicação 43 caracterizada pelo fato de que tem uma distribuição de tamanho de partícula de menos do que cerca de 10% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 35 (500 mícrons), cerca de 20% em peso a cerca de 40% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 60 (250 mícrons), cerca de 10% em peso a cerca de 60% em peso em uma Peneira Padrão U.S. Nº 100 (149 mícrons), e menos do que cerca de 70% em peso através de uma Peneira Padrão U.S. Nº 100 (149 mícrons).

45. Farinha de grão integral estabilizada de acordo com a reivindicação 43 caracterizada pelo fato de que tem uma capacidade de retenção de solvente de carbonato de sódio-água (carbonato de sódio SRC) de menos do que cerca de 85%, um teor de ácido graxo livre de menos do que cerca de 10% em peso de lipídeos totais da farinha em três meses ou menos do que cerca de 3.000ppm, com base no peso da farinha de grão integral estabilizada, e um teor de hexanal de menos do que cerca de 10ppm depois de 1 mês armazenamento acelerado a 95°C, com base no peso da farinha de grão integral estabilizada.

46. Farinha de grão integral estabilizada de acordo com a

reivindicação 43 caracterizada pelo fato de que é fabricada de bagos compreendendo bagos de trigo branco integrais.

47. Farinha de grão integral estabilizada de acordo com a reivindicação 43 caracterizada pelo fato de que é fabricada de bagos compreendendo bagos de trigo vermelho integrais.

48. Produto alimentício caracterizado pelo fato de que compreende um componente de farelo estabilizado como definido na reivindicação 34.

49. Produto alimentício caracterizado pelo fato de que compreende uma farinha de trigo de grão integral estabilizada como definida na reivindicação 43.

50. Produto alimentício farináceo caracterizado pelo fato de que compreende uma farinha de trigo de grão integral estabilizada como definida na reivindicação 43.

51. Produto de bolacha caracterizado pelo fato de que compreende uma farinha de trigo de grão integral estabilizada como definida na reivindicação 43.

52. Produto alimentício, caracterizado pelo fato de ser selecionado do grupo que consiste de produtos de padaria e refeições leves, em que o produto alimentício inclui uma farinha de trigo de grão integral estabilizada como definida na reivindicação 43.

53. Produto alimentício de acordo com a reivindicação 51 caracterizado pelo fato de que o produto alimentício é um produto de padaria selecionado do grupo que consiste de biscoitos, biscoitos finos, bordas de pizza, bordas de torta, pães, pães em forma de anel, roscas salgadas em forma de laço, bolos de chocolate recheado com nozes, bolinhos leves e doces, panquecas, massas para tortas, bolos, pães de minuto, rocamboles, roscas, barras de frutas e grãos, pães redondos feitos de água e farinha de milho, e produtos de padaria semi-assados.

54. Produto alimentício de acordo com a reivindicação 51 caracterizado pelo fato de que o produto alimentício é selecionado do grupo que consiste de biscoitos, biscoitos finos, e barras de cereal crocantes.

55. Produto alimentício de acordo com a reivindicação 54 caracterizado pelo fato de que o produto alimentício é um biscoito.

56. Produto alimentício de acordo com a reivindicação 55 caracterizado pelo fato de que o biscoito tem uma expansão do biscoito de pelo menos cerca de 130% do diâmetro da massa pré-assada original, como medido de acordo com o método de bancada AACC 10-53.

57. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a dita farinha de grão integral estabilizada é uma farinha de trigo de grão integral estabilizada.

58. Método de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo fato de que a dita farinha de grão integral estabilizada é uma farinha de milho de grão integral estabilizada, uma farinha de aveia de grão integral estabilizada, ou uma farinha de arroz de grão integral estabilizada.

59. Farinha de grão integral estabilizada de acordo com a reivindicação 38 caracterizada pelo fato de que é uma farinha de trigo de grão integral estabilizada.

60. Farinha de grão integral estabilizada de acordo com a reivindicação 38 caracterizada pelo fato de que é uma farinha de milho de grão integral estabilizada, uma farinha de aveia de grão integral estabilizada, ou uma farinha de arroz de grão integral estabilizada.

61. Farinha de grão integral estabilizada de acordo com a reivindicação 43 caracterizada pelo fato de que é uma farinha de trigo de grão integral estabilizada.

62. Farinha de grão integral estabilizada de acordo com a reivindicação 43 caracterizada pelo fato de que é uma farinha de milho de grão integral estabilizada, uma farinha de aveia de grão integral estabilizada,

ou uma farinha de arroz de grão integral estabilizada.

63. Método para fabricar um componente de farelo estabilizado de acordo com a reivindicação 21 caracterizado pelo fato de que o dito componente de farelo estabilizado é um componente de farelo de trigo estabilizado.

64. Método para fabricar um componente de farelo estabilizado de acordo com a reivindicação 21 caracterizado pelo fato de que o dito componente de farelo estabilizado é um componente de farelo de milho estabilizado, um componente de farelo de aveia estabilizado, ou um componente de farelo de arroz estabilizado.

65. Método para fabricar um componente de farelo estabilizado de acordo com a reivindicação 21 caracterizado pelo fato de que a quantidade de amido é de cerca de 10% em peso a cerca de 40% em peso, com base no peso da fração grossa.

66. Método de acordo com a reivindicação 57 caracterizado pelo fato de que a quantidade de amido é de cerca de 10% em peso a cerca de 40% em peso, com base no peso da fração grossa.

67. Componente de farelo estabilizado de acordo com a reivindicação 34 caracterizado pelo fato de que o dito componente de farelo estabilizado é um componente de farelo de trigo estabilizado, e a quantidade de amido é de cerca de 10% em peso a cerca de 40% em peso, com base no peso da fração grossa.

68. Componente de farelo estabilizado de acordo com a reivindicação 34 caracterizado pelo fato de que o dito componente de farelo estabilizado é um componente de farelo de milho estabilizado, um componente de farelo de aveia estabilizado, ou um componente de farelo de arroz estabilizado, e a quantidade de amido é de cerca de 10% em peso a cerca de 40% em peso, com base no peso da fração grossa.

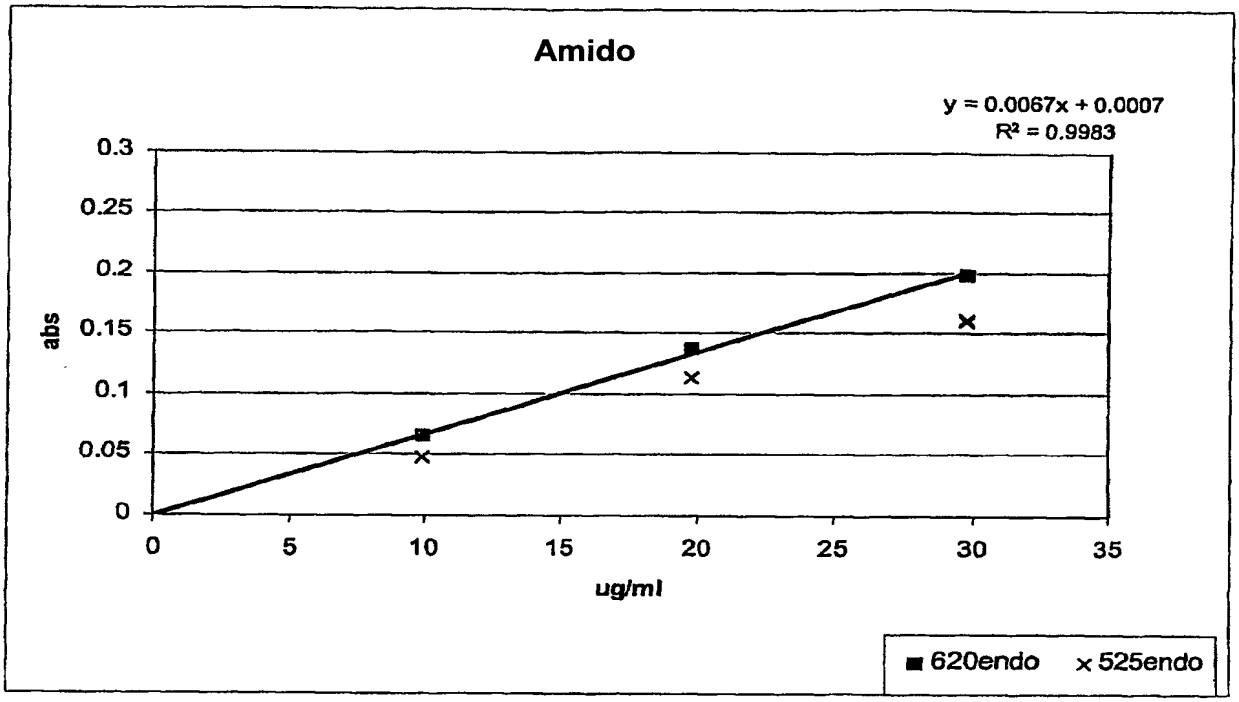

Amido
y = 0.0067x + 0.0007
R² = 0.9983
0.3
0.25
0.2
0.15
0.1
0.05
0
abs
0
5
10
15
20
25
30
35
ug/ml
620endo
525endo

FIG. 1

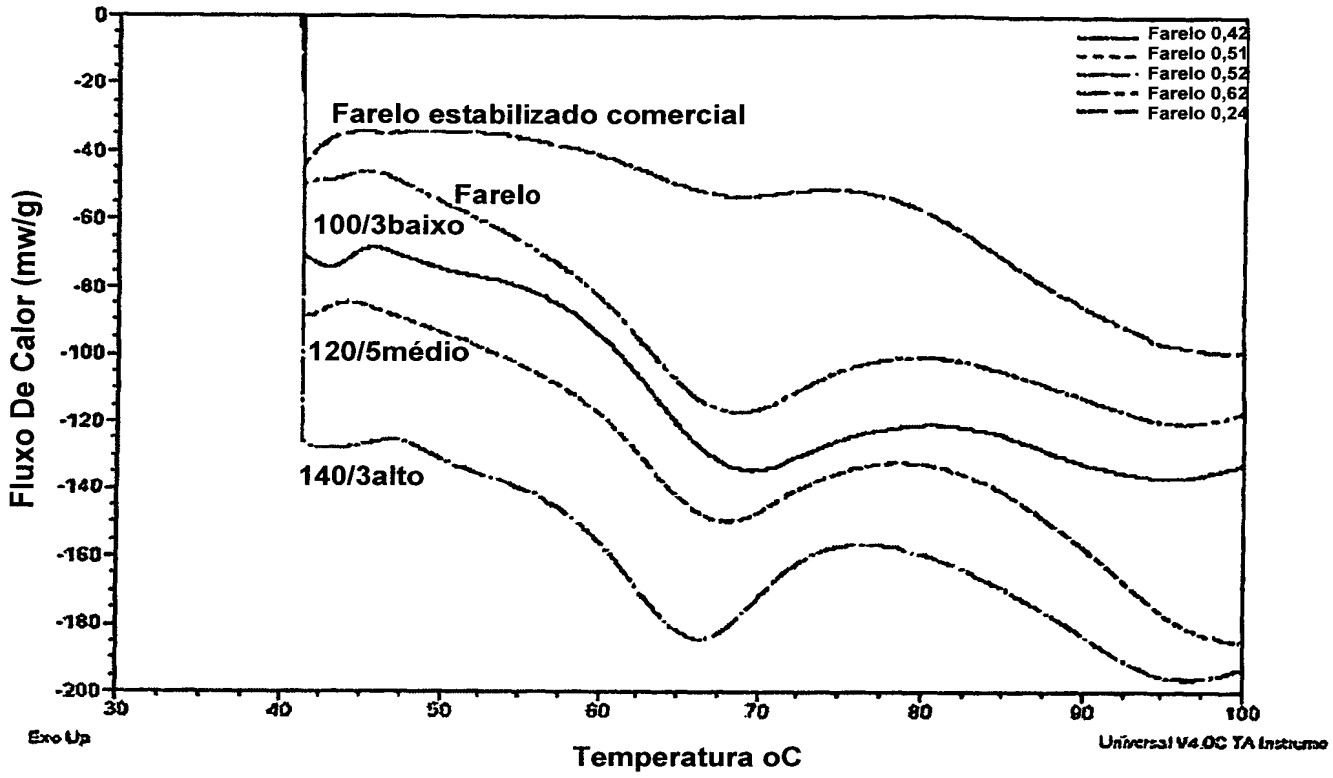

Farelo 0,42
Farelo 0,51
Farelo 0,52
Farelo 0,62
Farelo 0,24
Farelo estabilizado comercial
Farelo
100/3baixo
120/5médio
140/3alto
Fluxo De Calor (mw/g)
0
-20
-40
-60
-80
-100
-120
-140
-160
-180
-200
30
40
50
60
70
80
90
100
Exo Up
Temperatura oC
Universal V4.0C TA Instrume

FIG. 2

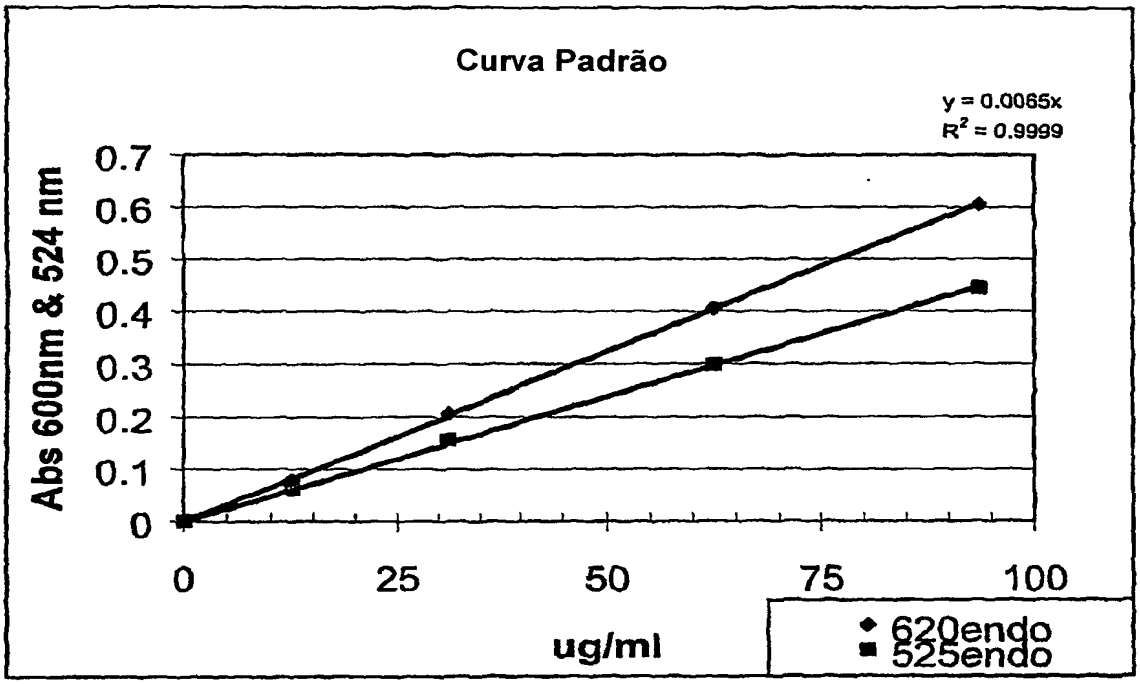
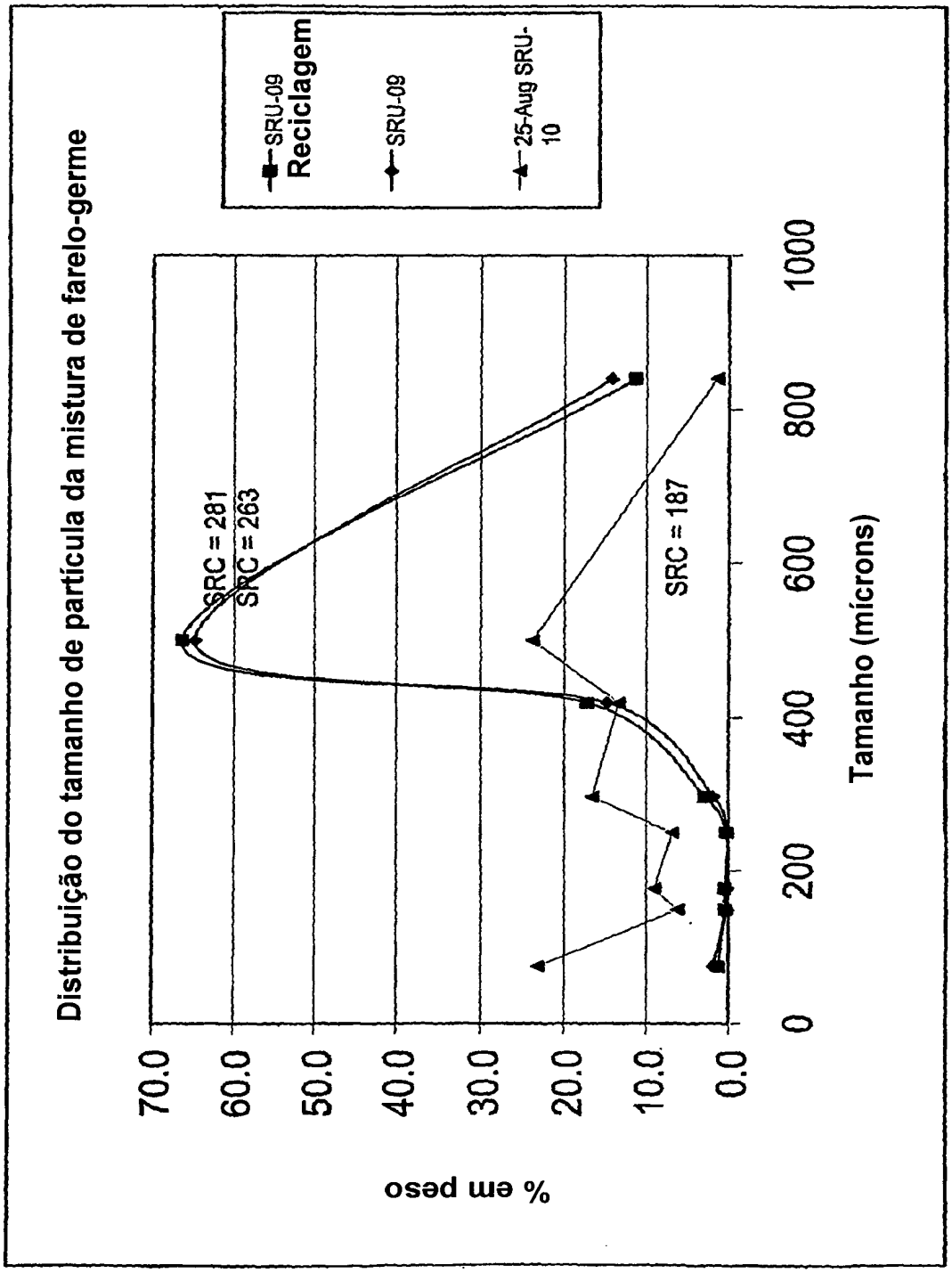

Curva Padrão
y = 0.0065x
R² = 0.9999
Abs 600nm & 524 nm
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
0
25
50
75
100
ug/ml
620endo
525endo

FIG. 3


Distribuição do tamanho de partícula da mistura de farelo-germe
SRU-09 Reciclagem
SRU-09
25-Aug SRU-10
SRC = 281
SRC = 263
SRC = 187
% em peso
70.0
60.0
50.0
40.0
30.0
20.0
10.0
0.0
0
200
400
600
800
1000
Tamanho (mícrons)

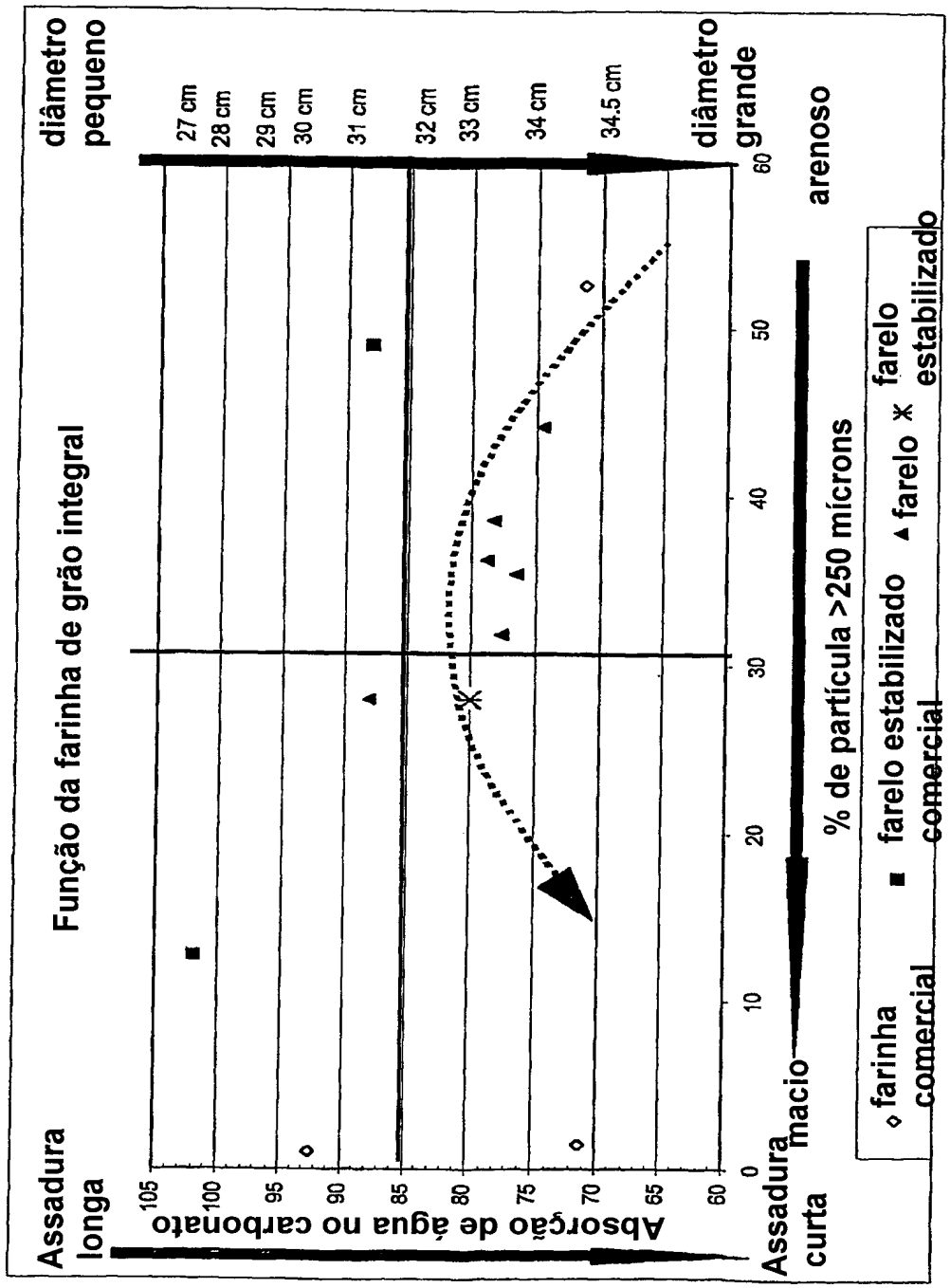

Assadura longa
Função da farinha de grão integral
diâmetro pequeno
27 cm
28 cm
29 cm
30 cm
31 cm
32 cm
33 cm
34 cm
34.5 cm
diâmetro grande
Absorção de água no carbonato
105
100
95
90
85
80
75
70
65
60
0
10
20
30
40
50
60
Assadura curta
macio
% de partícula >250 mícrons
arenoso
farinha comercial
farelo estabilizado comercial
farelo
farelo estabilizado

FIG. 5

FIG. 6

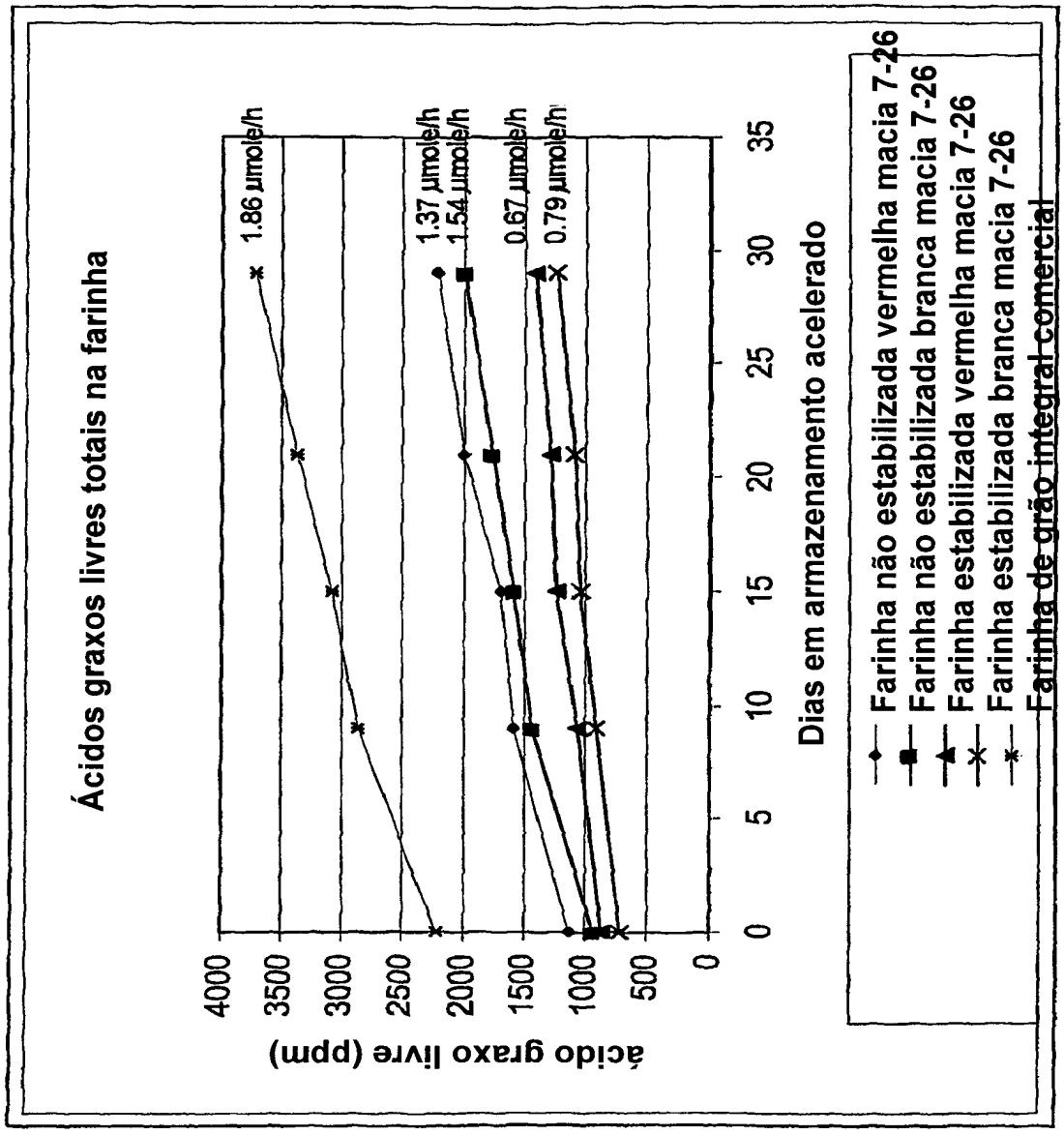
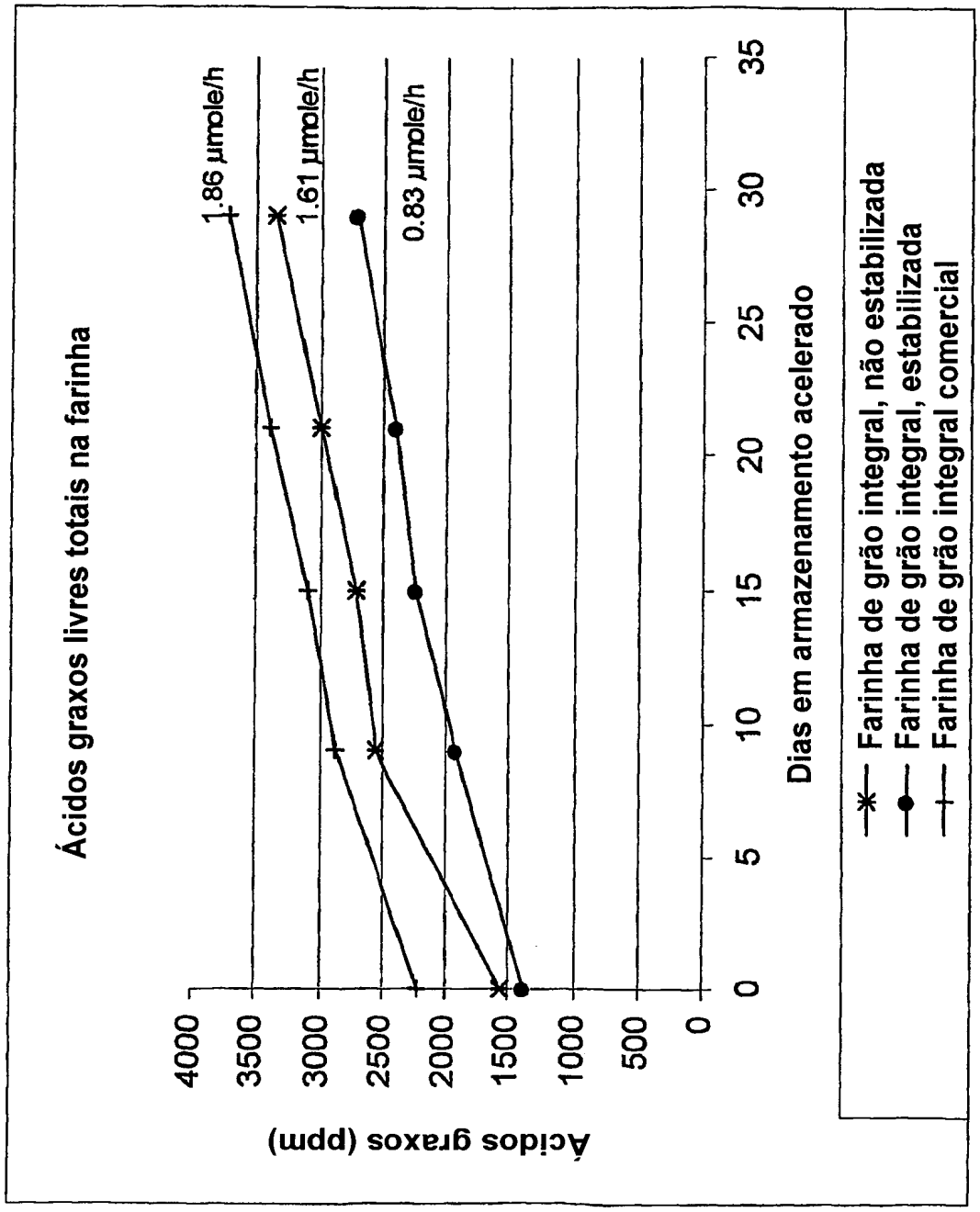

Ácidos graxos livres totais na farinha
ácido graxo livre (ppm)
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
35
Dias em armazenamento acelerado
1.86 µmole/h
1.37 µmole/h
1.54 µmole/h
0.67 µmole/h
0.79 µmole/h
Farinha não estabilizada vermelha macia 7-26
Farinha não estabilizada branca macia 7-26
Farinha estabilizada vermelha macia 7-26
Farinha estabilizada branca macia 7-26
Farinha de grão integral comercial

FIG. 7


Ácidos graxos livres totais na farinha
1.86 µmole/h
1.61 µmole/h
0.83 µmole/h
Ácidos graxos (ppm)
4000
3500
3000
2500
2000
1500
1000
500
0
0
5
10
15
20
25
30
35
Dias em armazenamento acelerado
Farinha de grão integral, não estabilizada
Farinha de grão integral, estabilizada
Farinha de grão integral comercial

RESUMO

"MÉTODOS PARA FABRICAR UMA FARINHA DE GRÃO INTEGRAL ESTABILIZADA E PARA FABRICAR UM COMPONENTE DE FARELO ESTABILIZADO, COMPONENTE DE FARELO ESTABILIZADO, FARINHA DE GRÃO INTEGRAL ESTABILIZADA, PRODUTO ALIMENTÍCIO, E, PRODUTO DE BOLACHA"

Um componente de farelo estabilizado e uma farinha de grão integral estabilizada contendo o componente são produzidos submetendo-se uma fração grossa enriquecida com farelo que contém farelo, germe e amido à trituração ou moagem para reduzir arenosidade da fração grossa sem substancialmente danificar o amido devido à abrasão. A fração grossa pode ser estabilizada por aquecimento para reduzir substancialmente a atividade de lipase e lipoxigenase da fração grossa sem gelatinização substancial do amido. Níveis elevados de natural antioxidantes e vitaminas são retidos enquanto evitando a formação de acrilamida substancial durante a estabilização. A fração grossa estabilizada ou componente de farelo estabilizado podem ser combinados com uma fração fina que contém predominantemente endosperma para obter uma farinha de grão integral estabilizada. As farinhas de grão integral estabilizadas e o componente de farelo estabilizado exibem vida de prateleira prolongada e podem ser usados para fabricar produtos assados, tais como biscoitos, com expansão no forno desejável, e uma sensação de sabor não arenosa.