

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos  
Área de Bromatologia

Características químicas e nutricionais de arroz-preto, vermelho e selvagem e comparação por análise estatística multivariada

Isabel Louro Massaretto

Tese para a obtenção do grau de  
DOUTOR

Orientador:  
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ursula M. Lanfer Marquez

São Paulo  
2013



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos  
Área de Bromatologia

Características químicas e nutricionais de arroz-preto, vermelho e selvagem e comparação por análise estatística multivariada

Isabel Louro Massaretto

Tese para a obtenção do grau de  
DOUTOR

Orientador:  
Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Ursula M. Lanfer Marquez

São Paulo  
2013

**Ficha Catalográfica**  
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e  
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Massaretto, Isabel Louro

M414c Características químicas e nutricionais de arroz preto, vermelho e selvagem e comparação por análise estatística multivariada / Isabel Louro Massaretto. -- São Paulo, 2013.  
153p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental

Orientador : Lanfer Marquez, Ursula Maria

1. Alimento: Composto fenólico : Ciência dos alimentos  
2. Antioxidante : Ciência dos alimentos 3. Arroz : Ciência dos alimentos I. T. II. Lanfer Marquez, Ursula Maria, orientador.

641 CDD

Isabel Louro Massaretto

**Características químicas e nutricionais de arroz-preto, vermelho e selvagem e comparação por análise estatística multivariada**

Comissão Julgadora  
da  
Tese para obtenção do grau de Doutor

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ursula M. Lanfer Marquez  
Presidente/Orientadora

Priscila Zaczuk Bassinello  
1º Examinador

Severino Matias de Alencar  
2º Examinador

José Alberto Noldin  
3º Examinador

Eduardo Purgatto  
4º Examinador

São Paulo, 17 de dezembro de 2013.

*Dedico este trabalho ao meu marido e à minha filha:*

**Gustavo Barbosa Massaretto  
Gabriela Louro Massaretto**

*Pelo amor e apoio incondicional em minhas  
infindáveis atividades pessoais e profissionais.*

## AGRADECIMENTOS

À professora Ursula Maria Lanfer Marquez pela orientação ao longo desses sete anos de pós-graduação, período no qual desenvolvi o mestrado e o doutorado. Agradeço a confiança, o incentivo, as oportunidades e as diversas revisões de resumos, artigos, projetos, apresentações e relatórios. A partir do seu exemplo, aprendi a escrever de forma mais clara e objetiva, valorizando ainda mais os resultados científicos. Obrigada por toda a ajuda e intercessão, especialmente nos momentos mais críticos;

Ao Dr. José Alberto Noldin pelo interesse no desenvolvimento deste trabalho, pela contribuição contínua na revisão de resumos e artigos científicos, e no desenvolvimento de projetos em parceria. Agradeço também pela avaliação da minha dissertação de mestrado e, mais recentemente, pelas sugestões e correções apresentadas na banca de qualificação deste trabalho. E, por último, mas não menos importante pelo carinho e descontração sempre marcantes nos eventos e congressos que compartilhamos;

À Dr<sup>a</sup>. Ester Wickert, à Dr<sup>a</sup>. Gabriela Martins e à toda equipe da Epagri pelo fornecimento da matéria-prima deste trabalho: as amostras de arroz-preto e vermelho. Pelas valiosas informações agrônômicas das amostras e também pela afetuosa acolhida nos congressos de arroz irrigado;

Aos professores, Dr. Eduardo Purgatto e Dr<sup>a</sup>. Neuza Hassimotto, por integrarem a minha banca de qualificação, avaliarem cuidadosamente o meu trabalho e contribuírem com preciosas sugestões;

Ao Dr. Fabiano Cléber Bertoldi pela valiosíssima contribuição na análise de ácidos graxos e também pela parceria na elaboração de trabalhos apresentados em congressos;

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Zerlotti Mercadante e à doutoranda Marcella Marques pelo importante auxílio na separação e identificação de antocianinas do arroz-preto e também na interpretação dos resultados obtidos por CLAE-DAD-MS/MS;

À amiga Diana Rezende por todo o suporte na análise de antocianinas. Sua ajuda foi fundamental, tanto nos procedimentos de extração e de purificação de

antocianinas, como na boa vontade ao levar as minhas amostras para análise na UNICAMP. Agradeço também todos os momentos que compartilhamos, suas palavras amáveis e sua presença serena;

Aos amigos Rosa e Elias por todo o apoio nas análises, na utilização dos equipamentos do laboratório, pelo auxílio com os pedidos de compra e toda a parte administrativa que torna possível o experimento na bancada. Especialmente à Rosa, agradeço a boa vontade e a disposição ao conduzir tantas análises de  $\gamma$ -orizanol e tocóis no HPLC com o pouco tempo que tivemos. Foram igualmente importantes os momentos de descontração mediados por doses nada homeopáticas de café;

À amiga Catharina Maria Wilma Brandi, minha mais profunda gratidão pela constante demonstração de confiança e afeto desde que nos conhecemos, quando eu era sua aluna de graduação. Pela oportunidade na hora certa, pelas palavras sábias e carinhosas. Por enxergar em mim qualidades que nem eu mesma conseguia ver;

À amiga Adriana Florentino de Souza pelos quase vinte anos de amizade, por tantos momentos que compartilhamos na vida pessoal e na carreira profissional, pelos incentivos e conversas francas, sempre repletas de alegria e também pela presença e apoio nos momentos de dor;

À amiga Luciana Yoshime por tantos momentos compartilhados, dos mais alegres aos mais difíceis, uma grande amizade surgiu e fortaleceu a partir dessa convivência. Agradeço por me ouvir pacientemente ao longo desses anos, por me ajudar a descobrir minhas qualidades e também os aspectos que posso melhorar;

À amiga Fabiana Kawassaki pelo apoio, afeto, paciência e tranqüilidade. Pela companhia diária no laboratório, nos congressos, nos almoços especiais ou não, nas conversas triviais e também nas mais profundas, pela grande e forte amizade que cultivamos;

À amiga Natascha Galvão pela valiosa ajuda na dia a dia do laboratório, pela companhia alegre e descontraída, da qual sinto falta desde que concluiu sua iniciação científica; vou levar comigo os preciosos momentos de convivência;

À Jaqueline Sun por toda a ajuda nas análises e auxílio no laboratório no momento que mais precisei, sua contribuição neste trabalho foi muito importante;

A todos os amigos e colegas que fazem ou fizeram parte do Laboratório de Análise de Alimentos: Adriane, Alexandre Bera, Aline, Bianca, Cristina Pascual, Daniela, Lenny, Simone, Vanilda, Renato Souza, Davi, Guto, Silvia Mezza, Tathyana Tumolo, Ellen, Karine, Tarik e Caio, obrigada pela companhia, colaboração e momentos de alegria;

Às também integrantes do Laboratório de Lípidos: Rosângela, Ana Mara, Fernanda, Eliane, Claudimar, Fernanda Shinagawa, Fernanda Santana e, em especial, Illana, Lucília e Milessa pelo carinho e momentos de descontração;

Às amigas, Ligia Ajaimé Azzalis, Marisa Regina Veiga, Tânia Govato, Ana Betriz Pinn, Fernanda Yakel e Júlia Souza pelas trocas de experiências e preciosos momentos de convívio;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão de bolsa de doutorado (processo nº 143067/2009-5);

Aos funcionários da Secretaria de Pós-Graduação Jorge, Miriam e Elaine e aos funcionários da Secretaria do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Edilson, Mônica, Cléo e Roberta pelo auxílio com os trâmites administrativos;

E, por fim, agradeço ao meu pai, Manuel e à minha mãe, Maria (*in memoriam*) que foram exemplo de trabalho, responsabilidade, esforço, compromisso e força. Aos meus irmãos, Antonio e Lucia igualmente fortes e dedicados ao que comprometem realizar. Em especial, agradeço ao meu marido, Gustavo, que me acompanhou e apoiou, nesta caminhada, nos meus dilemas e desânimos, mas também nas minhas conquistas, e à minha filha, Gabriela, que com abraços, cartinhas e palavras amorosas, sempre recarregou minhas forças.

Das pedras

Ajuntei todas as pedras  
Que vieram sobre mim  
Levantei uma escada muito alta  
E no ato subi  
Teci um tapete floreado  
E no sonho me perdi  
Uma estrada,  
Um leito,  
Uma casa,  
Um companheiro,  
Tudo de pedra  
Entre pedras  
Cresceu a minha poesia  
Minha vida...  
Quebrando pedras  
E plantando flores  
Entre pedras que me esmagavam  
Levantei a pedra rude dos meus versos

**Cora Coralina**

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	I
LISTA DE TABELAS .....	IV
<b>RESUMO</b> .....	VI
<b>ABSTRACT</b> .....	VIII
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	3
2.1 Arroz: produção, sistemas de cultivo e consumo .....	3
2.2 Morfologia do grão de arroz .....	6
2.3 Tipos pigmentados de arroz: histórico e aspectos nutricionais .....	8
2.4 Principais características do arroz selvagem .....	10
2.5 Composição química e valor nutricional do arroz integral .....	11
2.5.1 <i>Carboidratos</i> .....	11
2.5.2 <i>Proteínas</i> .....	13
2.5.3 <i>Lipídeos</i> .....	14
2.5.4 <i>Minerais e vitaminas</i> .....	15
2.6 Compostos bioativos .....	16
2.6.1 <i>Compostos fenólicos</i> .....	16
2.6.2 <i>γ-Orizanol</i> .....	26
2.6.3 <i>Vitamina E</i> .....	29
2.7 Atividade antioxidante .....	30
2.8 Biodisponibilidade e metabolização dos compostos fenólicos .....	33
2.9 Efeitos do cozimento do arroz no teor de compostos fenólicos .....	36
3. OBJETIVOS .....	38
3.1 Geral .....	38
3.2 Específicos.....	38
4. MATERIAL E MÉTODOS .....	39
4.1 Instituições colaboradoras.....	39
4.2 Reagentes.....	39
4.3 Amostras .....	40

4.3.1 Amostras de arroz para o estudo da composição centesimal, dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante .....	40
4.3.2 Amostras de arroz para a análise dos compostos bioativos lipossolúveis .....	43
4.4 Análise de composição de nutrientes .....	44
4.4.1 Preparo das amostras .....	44
4.4.2 Determinação de umidade .....	45
4.4.3 Determinação de resíduo mineral .....	45
4.4.4 Determinação de proteínas .....	45
4.4.5 Determinação de lipídeos .....	46
4.4.6 Determinação de fibra alimentar total .....	46
4.4.7 Teor de carboidratos disponíveis por diferença .....	47
4.5 Análise de ácidos graxos .....	47
4.6 Análise de compostos fenólicos .....	48
4.6.1 Cozimento das amostras .....	48
4.6.2 Preparo das amostras para a análise de compostos fenólicos .....	48
4.6.3 Extração de compostos fenólicos totais .....	49
4.6.4 Extração de antocianinas monoméricas totais .....	50
4.6.5 Quantificação de compostos fenólicos totais .....	50
4.6.6 Quantificação de flavonoides .....	51
4.6.7 Quantificação de proantocianidinas .....	51
4.6.8 Quantificação de antocianinas monoméricas totais .....	52
4.7 Análise da composição de antocianinas por CLAE-DAD-MS/MS .....	52
4.7.1 Preparo do extrato .....	52
4.7.2 Separação e identificação por CLAE-DAD-MS/MS .....	53
4.8 Atividade antioxidante .....	54
4.8.1 Método de sequestro do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH') .....	54
4.8.2 Método ORAC (oxygen radical absorbance capacity) .....	55
4.9 Análise de $\gamma$ -orizanol e vitamina E .....	56
4.9.1 Preparo das amostras .....	56
4.9.2 Extração do $\gamma$ -orizanol e da vitamina E .....	56
4.9.3 Separação do $\gamma$ -orizanol e da vitamina E por CLAE .....	56
4.9.4 Preparo dos padrões, curva de calibração e quantificação dos tocóis, tocotrienóis e $\gamma$ -orizanol .....	57
4.10 Análise estatística .....	58
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	61
5.1 Composição em nutrientes .....	61

5.2 Composição em ácidos graxos .....	68
5.3 Análise de compostos fenólicos .....	73
5.3.1 Teores de compostos fenólicos totais (CFT) e flavonoides .....	73
5.3.2 Teores de proantocianidinas.....	79
5.3.3 Teores de antocianinas monoméricas totais.....	80
5.3.4 Separação e identificação das antocianinas por CLAE-DAD-MS/MS.....	83
5.4 Atividade antioxidante pelo método de ORAC e do DPPH' .....	91
5.5 Efeito do cozimento do arroz nos teores de compostos fenólicos totais, flavonoides, proantocianidinas, antocianinas e atividade antioxidante .....	96
5.6 Análise multivariada .....	103
5.6.1 Análise de componentes principais.....	103
5.6.2 Análise de função discriminante (AFD).....	105
5.7 Análise do $\gamma$ -orizanol e homólogos da vitamina E .....	115
6. CONCLUSÕES .....	120
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	122
ANEXO A – Informações para os Membros da Banca Julgadora de Doutorado.....	140
ANEXO B – Ficha do Aluno.....	141
ANEXO C – Currículo Lattes .....	144
ANEXO D – Artigos científicos publicados no período .....	152

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Evolução da área (a), da produção total (b) e da produtividade (c) de arroz nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina e no Brasil no período de 1976/77 a 2010/11 (Fonte: SOSBAI, 2012).....	4
<b>Figura 2.</b> Evolução da média anual do consumo de arroz per capita no Brasil. ....	6
<b>Figura 3.</b> Representação do corte longitudinal de um grão de arroz. ....	7
<b>Figura 4.</b> Estrutura química dos ácidos hidroxibenzóicos. ....	18
<b>Figura 5.</b> Estrutura química dos ácidos hidroxicinâmicos. ....	18
<b>Figura 6.</b> Estruturas químicas das principais classes de flavonoides. ....	20
<b>Figura 7.</b> Estrutura básica das principais antocianidinas encontradas em alimentos. ....	21
<b>Figura 8.</b> Tipos de compostos fenólicos com ênfase nos flavanóis. ....	24
<b>Figura 9.</b> Estrutura básica das proantocianidinas encontradas em alimentos. ....	25
<b>Figura 10.</b> Estrutura dos componentes majoritários do $\gamma$ -orizanol. ....	26
<b>Figura 11.</b> Estrutura química do colesterol. ....	27
<b>Figura 12.</b> Estrutura dos isômeros do tocoferol e tocotrienol.....	29
<b>Figura 13.</b> Amostras de grãos arroz-preto, vermelho e selvagem. ....	41
<b>Figura 14.</b> Cromatogramas representativos dos óleos de arroz-preto (A), vermelho (B) e selvagem (C). ....	69
<b>Figura 15.</b> Cromatograma, obtido por CLAE-DAD, das antocianinas de arroz-preto cru (a) SC 707 (2011) e (b) SCS 120 Ônix Itajaí (2010). Picos identificados de acordo com a Tabela 17.....	84
<b>Figura 16.</b> Cromatograma, obtido por CLAE-DAD, das antocianinas de arroz-preto cozido (a) SC 707 (2011) e (b) SCS 120 Ônix Itajaí (2010). Picos identificados de acordo com a Tabela 17.....	85
<b>Figura 17.</b> Espectro de massas da cianidina di-hexosídeo (pico 1) em arroz-preto (a) cru e (b) cozido.....	87
<b>Figura 18.</b> Espectro de massas da cianidina-3-O-glicosídeo (pico 2) em arroz-preto (a) cru e (b) cozido. ....	88
<b>Figura 19.</b> Espectro de massas da peonidina-3-O-glicosídeo (pico 3) em arroz-preto (a) cru e (b) cozido. ....	89

<b>Figura 20.</b> Teor de compostos fenólicos totais dos extratos de arroz-preto, vermelho e selvagem, antes e após o cozimento. ....	97
<b>Figura 21.</b> Teor de flavonoides dos extratos de compostos fenólicos de arroz-preto, vermelho e selvagem, antes e após o cozimento.....	98
<b>Figura 22.</b> Análise por componentes principais (PC1 x PC2): representação da dispersão das variáveis.....	104
<b>Figura 23.</b> Análise por componentes principais (PC1 x PC2): representação das amostras de arroz-preto grãos longos (vermelho), arroz-preto grãos médios (verde), arroz-vermelho (azul) e arroz selvagem (roxo).....	105
<b>Figura 24.</b> Dendograma de análise hierárquica de agrupamento: arroz selvagem (linha verde), arroz-preto grãos longos (linha azul), arroz-preto grãos médios (linha vermelha) e arroz-vermelho (linha amarela).....	106
<b>Figura 25.</b> Análise de função discriminante entre amostras de arroz-preto grãos médios (verde) e de arroz-vermelho (azul). (A) Gráfico de dispersão das amostras, (B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo, (C) gráfico da contribuição das variáveis na predição do modelo e (D) análise de validação cruzada ANOVA do modelo.....	107
<b>Figura 26.</b> Análise de função discriminante entre amostras de arroz-preto grãos médios (verde) e de arroz-preto grãos longos (azul). (A) Gráfico de dispersão das amostras, (B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo, (C) gráfico da contribuição das variáveis na predição do modelo e (D) análise de validação cruzada ANOVA do modelo.....	109
<b>Figura 27.</b> Análise de função discriminante entre amostras de arroz-preto grãos longos (azul) e de arroz-vermelho (vermelho). (A) Gráfico de dispersão das amostras, (B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo, (C) gráfico da contribuição das variáveis na predição do modelo e (D) análise de validação cruzada ANOVA do modelo.....	110
<b>Figura 28.</b> Análise de função discriminante entre amostras de arroz-preto grãos longos (azul) e de arroz selvagem (amarelo). (A) Gráfico de dispersão das amostras, (B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo, (C) gráfico da contribuição das variáveis na predição do modelo e (D) análise de validação cruzada ANOVA do modelo.....	111
<b>Figura 29.</b> Análise de função discriminante entre amostras de arroz selvagem (laranja) e de arroz-preto grãos médios (verde). (A) Gráfico de dispersão das amostras, (B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo, (C) gráfico da contribuição das variáveis na predição do modelo e (D) análise de validação cruzada ANOVA do modelo.....	112

- Figura 30.** Análise de função discriminante entre amostras de arroz selvagem (laranja) e de arroz-vermelho (vermelho). (A) Gráfico de dispersão das amostras, (B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo, (C) gráfico da contribuição das variáveis na predição do modelo e (D) análise de validação cruzada ANOVA do modelo..... 113
- Figura 31.** Gráfico biplot da análise de função discriminante de amostras de arroz-preto grãos médios, arroz-preto grãos longos, arroz-vermelho e arroz selvagem, antes e após o cozimento..... 114
- Figura 32.** Cromatograma representativo por CLAE-fase reversa da mistura de padrões: (A) - homólogos da vitamina E: (a)  $\gamma$ -tocotrienol (2 $\mu$ g/mL), (b)  $\alpha$ -tocotrienol (2,5 $\mu$ g/mL), (c)  $\gamma$ -tocoferol (10 $\mu$ g/mL), (d)  $\alpha$ -tocoferol (10 $\mu$ g/mL)); (B) -  $\gamma$ - orizanol: (e,f,g,h) os quatro principais componentes (330 $\mu$ g/mL). ..... 115
- Figura 33.** (A e B) Cromatograma representativo por CLAE - fase reversa de extrato de arroz integral. (a)  $\gamma$ -tocotrienol, (b)  $\alpha$ -tocotrienol, (c)  $\gamma$ -tocoferol, (d)  $\alpha$ -tocoferol por fluorescência nos comprimentos de excitação e emissão de 298 e 328 nm, respectivamente e (e,f,g,h)  $\gamma$ -orizanol por UV/Vis a 325nm (PASCUAL et al., 2013). ..... 116

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Principais antocianinas encontradas em frutas vermelhas e outros alimentos.....	23
<b>Tabela 2.</b> Amostras comerciais e/ou genótipos de arroz integral preto, vermelho e selvagem.....	42
<b>Tabela 3.</b> Amostras comerciais e/ou genótipos de arroz-preto e vermelho. ....	44
<b>Tabela 4.</b> Absorbância máxima ( $A_{\lambda}$ ), absorvidade molar ( $\epsilon$ ) e faixa de concentração para a construção das curvas padrão. ....	58
<b>Tabela 5.</b> Teores de umidade, proteínas, lipídeos e resíduo mineral de arroz-preto. ....	61
<b>Tabela 6.</b> Teores de umidade, proteínas, lipídeos e resíduo mineral de arroz-vermelho e selvagem. ....	62
<b>Tabela 7.</b> Teores médios de proteínas, lipídeos e resíduo mineral de arroz-vermelho, preto e selvagem.....	63
<b>Tabela 8.</b> Teores de fibras solúveis, insolúveis, totais e carboidratos disponíveis, em base seca.....	67
<b>Tabela 9.</b> Perfil de ácidos graxos de arroz-preto. ....	70
<b>Tabela 10.</b> Perfil de ácidos graxos de arroz-vermelho e arroz selvagem.....	71
<b>Tabela 11.</b> Teores médios de ácidos graxos de arroz-preto, vermelho e selvagem. ....	72
<b>Tabela 12.</b> Teores de compostos fenólicos totais e flavonoides de arroz-preto.....	73
<b>Tabela 13.</b> Teores de compostos fenólicos totais e flavonoides de arroz-vermelho e arroz selvagem.....	74
<b>Tabela 14.</b> Teores médios de compostos fenólicos totais e flavonoides de arroz-vermelho, preto e selvagem. ....	75
<b>Tabela 15.</b> Teores de proantocianidinas em arroz-vermelho.....	79
<b>Tabela 16.</b> Teores de antocianinas totais em arroz-preto.....	81
<b>Tabela 17.</b> Características cromatográficas e espectroscópicas, obtidas por CLAE-DAD-MS/MS, das antocianinas de arroz-preto cru e cozido. ....	86
<b>Tabela 18.</b> Proporção (porcentagem de área) das antocianinas presentes em arroz-preto cru e cozido.....	90
<b>Tabela 19.</b> Atividade antioxidante dos extratos de compostos fenólicos de arroz-preto. ....	92
<b>Tabela 20.</b> Atividade antioxidante dos extratos de compostos fenólicos de arroz-vermelho e selvagem. ....	93

<b>Tabela 21.</b> Atividade antioxidante dos extratos de arroz-preto, vermelho e selvagem. ....	93
<b>Tabela 22.</b> Teores de antocianinas de arroz-preto cru e cozido .....	99
<b>Tabela 23.</b> Teores de proantocianidinas de arroz-vermelho cru e cozido.....	99
<b>Tabela 24.</b> Efeito do cozimento sobre a atividade antioxidante de arroz-preto, vermelho e selvagem, determinada pelos métodos de DPPH <sup>·</sup> e ORAC. ....	101
<b>Tabela 25.</b> Teores de vitamina E ( $\alpha$ -, $\gamma$ -tocotrienol, $\alpha$ -, $\gamma$ -tocoferol, tocóis totais) e $\gamma$ -orizanol em arroz-preto e vermelho.....	117

## RESUMO

### **MASSARETTO, I.L. Características químicas e nutricionais de arroz-preto, vermelho e selvagem e comparação por análise estatística multivariada.**

[Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.]

O arroz (*Oryza sativa* L.) é consumido predominantemente na forma polida, porém há uma tendência na procura por grãos integrais não pigmentados e pigmentados, como o preto e o vermelho, e também pelo arroz selvagem, que pertence ao gênero *Zizania*. Além da composição nutricional e propriedades sensoriais distintas, os tipos pigmentados possuem compostos bioativos, que atribuem cor aos grãos e que têm sido relacionados a efeitos benéficos à saúde. Contudo, uma comparação em termos nutricionais e de bioativos entre esses grãos ainda inexistente. Este projeto visou comparar a composição química, incluindo os compostos fenólicos totais (CFT), os polifenóis majoritários e a capacidade antioxidante de três amostras de arroz-preto produzido no Estado de São Paulo, duas de arroz-preto produzido no Estado do Rio Grande do Sul e 11 de arroz-preto produzido no Estado de Santa Catarina, 9 de arroz-vermelho, produzido nos estados mencionados e, 6 amostras de arroz selvagem, importadas do Canadá e comercializadas em São Paulo; todas as amostras foram produzidas e/ou comercializadas no período de 2009 a 2011. A comparação das variáveis foi feita pelo uso de análise estatística uni- e multivariada. Fez parte do escopo do projeto avaliar o efeito do cozimento sobre a estabilidade dos CFT e a atividade antioxidante. Também foi conduzida uma comparação preliminar dos teores de fitoquímicos lipossolúveis,  $\gamma$ -orizanól, tocoferóis e tocotrienóis, entre 7 amostras de arroz-preto e 4 de arroz-vermelho, todas da safra de 2013. Com base nas análises químicas e na análise estatística multivariada, foi possível agrupar os vários tipos de arroz em quatro grupos, significativamente diferentes entre si: arroz selvagem, arroz-preto de grãos longos, arroz-preto de grãos médios e arroz-vermelho. O grupo que mais se diferenciou dos demais foi o arroz selvagem, por apresentar os maiores teores proteicos (12,9 g/100g) e de ácido  $\alpha$ -linolênico (0,12 g/100g) e os menores teores de lipídeos (0,9 g/100g), de compostos fenólicos e atividade antioxidante, entre os grupos estudados. Outro grupo com características distintas foi o arroz-preto de grãos longos que se destacou principalmente pelo elevado teor de compostos fenólicos, representados pelas antocianinas, e elevada atividade antioxidante. A cianidina-3-O-glicosídeo foi identificada por CLAE-DAD-MS/MS, como sendo a antocianina majoritária. Os teores de proteínas e de lipídeos, da ordem de 9,8 e 3,6 g/100g, respectivamente, foram maiores do que dos outros dois grupos estudados. O arroz-preto de grãos médios e o vermelho foram similares em termos de composição de nutrientes e CFT. Os teores proteicos em ambos os grupos foi, em média, de 8,8 g/100g. Porém, enquanto no arroz-preto predominam antocianinas, a coloração do arroz-vermelho é conferida por proantocianidinas, com diferenças na sua atividade antioxidante. O arroz-preto de grãos médios apresentou atividade antioxidante mais do que o dobro do arroz-vermelho, no entanto próxima ao do arroz-preto de grãos longos. Este resultado indica que o elevado teor de antocianinas, independente do formato do grão, é responsável pela alta capacidade antioxidante no arroz-preto. A análise multivariada demonstrou que o formato do grão é determinante na diferenciação dos dois grupos de arroz-preto em termos de composição de nutrientes, como proteínas e lipídeos, mas não de fitoquímicos e de atividade antioxidante. O método ORAC foi mais apropriado para avaliar a atividade antioxidante do arroz-preto, por ser mais sensível à presença de antocianinas do que o método de DPPH'. Nos outros dois grupos, vermelho e selvagem o método de DPPH' também pode ser utilizado. O cozimento do arroz provocou perda significativa nos teores de CFT e na atividade antioxidante do arroz-preto e vermelho. No arroz-preto, a perda de CFT foi de 26%, em média, enquanto a perda das antocianinas foi de 50%. A explicação pode ser que durante o cozimento uma

parte das antocianinas seja convertida em ácido protocatecólico, que é dosado como CFT. No arroz-vermelho, a redução de CFT foi de 60%, possivelmente devido a uma insolubilização de parte das proantocianidinas. No arroz selvagem, o cozimento não causou perdas significativas. A capacidade antioxidante dos vários grupos de arroz após o cozimento depende do método empregado, sendo fortemente correlacionada com os teores de CFT remanescentes. Assim, o arroz-preto, mesmo depois de cozido, apresentou a maior capacidade antioxidante, seguido do arroz vermelho e do selvagem. Numa avaliação inicial, os teores dos fitoquímicos lipossolúveis,  $\gamma$ -orizanol e homólogos da vitamina E, foram semelhantes em arroz-preto e vermelho, indicando que independem da coloração do pericarpo.

**Palavras chave:** arroz pigmentado, nutrientes, compostos fenólicos, compostos bioativos, atividade antioxidante, efeito do cozimento, ORAC, DPPH.

## ABSTRACT

**MASSARETTO, I.L. Chemical and nutritional characterization of black, red and wild rice and comparison by multivariate analysis.** [Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, São Paulo - Brazil, 2013.]

Rice (*Oryza sativa* L.) is mostly consumed in its milled form; however there is an increasing demand for whole non-pigmented and pigmented rice, such as black, red, and wild rice, which the latter belongs to the genus *Zizania*. Pigmented rice has particular nutritional composition and sensory characteristics, and in addition high amounts of phenolic compounds, which not only confer color but also has been linked to beneficial effects on human health. To date, little is known about the nutritional and bioactive contents of these grains. The aim of this study was to compare the chemical composition, including the total phenolic compounds (TPC), the majoritarian polyphenols and the antioxidant radical efficiency of the following accessions: three black rice from the state of São Paulo, two black rice from the state of Rio Grande do Sul, eleven black rice genotypes from Santa Catarina state, nine red rice from those states and six wild rice, imported from Canada and marketed in São Paulo. All samples were cultivated and/or marketed from 2009 to 2011. Data were evaluated by uni- and multivariate statistical analysis. The effect of cooking on the stability of TPC and antioxidant capacity was also evaluated. In addition, a preliminary comparison of  $\gamma$ -oryzanol, tocopherols and tocotrienols was carried out between two groups: seven black rice and four red rice samples, all of them cultivated in 2013. Based on chemical results and multivariate statistical analysis it was possible to cluster the various types of rice in four groups, significantly different among themselves: wild rice, black long grain rice, black medium grain rice, and red rice. Wild rice was the most dissimilar group due to its highest contents of protein (12.9 g/100g) and  $\alpha$ -linolenic acid (0.12 g/100g), and the lowest amounts of lipids (0.9 g/100g), TPC, and antioxidant capacity. Black long grain rice was characterized mainly by its high contents of TPC, especially anthocyanins and by its elevated antioxidant capacity. Cyanidin-3-O-glycoside was identified by HPLC-DAD-MS/MS as being the main anthocyanin. The protein and lipid mean contents in these groups were respectively, 9.8 and 3.6 g/100g and were higher than the amounts in the other next two types of rice. The black medium grain rice and red rice were similar in terms of nutrient composition and TPC. The average amount of protein in both groups was about 8.8 g/100g. However, in black rice prevails anthocyanins, while in red rice coloration is provided by proanthocyanidins, which results in differences in antioxidant activity. Medium and long black grain rice showed a 2-fold higher antioxidant activity than red rice. These findings indicate that the high content of anthocyanins, independent of the grain shape, is responsible for the high antioxidant capacity in black rice. The multivariate analysis demonstrated that the grain shape is fundamental to differentiate black rice in terms of nutrient composition, like protein and lipids, but not in relation to amounts of phytochemicals and antioxidant capacity. ORAC was more suitable than DPPH' methodology to evaluate the antioxidant activity of black rice, due to its high correlation to anthocyanin contents. Conversely, DPPH' can be a consistent method to evaluate antioxidant capacity of red and wild rice. Cooking resulted in significant loss on TPC contents and on the antioxidant capacity of black and red rice. In black rice, 26% of TPC was reduced on average, while the loss of anthocyanins was 50%. The reason may be that during cooking, part of the anthocyanins is converted into protocatechuic acid, which is quantified as TPC. The reduction in TPC in red rice was 60%, possibly due to a partial insolubilization of proanthocyanidins. In wild rice, cooking caused no significant loss of TPC. The antioxidant capacity of different types of cooked rice was dependent on the method used, being strongly correlated with the remaining levels of TPC. Thus, black rice even after cooking showed the highest antioxidant capacity, followed by red and wild rice. From a preliminary evaluation, the contents of lipophilic phytochemicals,  $\gamma$ -oryzanol and vitamin E

homologues were similar in black and red rice, which indicates that the contents of these compounds are not dependent of the pericarp color.

**Keywords:** pigmented rice, nutrients, phenolic compounds, bioactive substances, antioxidant capacity, effect of cooking, ORAC, DPPH.

## 1. INTRODUÇÃO

---

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um alimento básico na dieta da população brasileira, no entanto, o consumo médio do grão polido que, até a década de 90 manteve-se próximo a 40 kg por habitante em um ano, vem apresentando nas últimas décadas uma tendência à redução e nos últimos anos está em torno de 27 kg por habitante/ano (IBGE, 2013). Tal fato deve-se à mudança de hábitos alimentares, tanto pela introdução de novos alimentos industrializados no mercado, como pelo aumento do número de refeições realizadas fora de casa e também devido à busca de alimentos diferenciados pelo consumidor.

De fato, observa-se uma tendência no aumento do consumo de grãos integrais, impulsionada pela contínua divulgação de seus benefícios à saúde, associados principalmente, à redução do risco de doenças crônicas, tais como doenças cardíacas, câncer, diabetes e obesidade (SLOAN, 2005). Além disso, os tipos pigmentados de arroz, embora sejam consumidos principalmente por nichos específicos de mercado, vêm ganhando espaço nas prateleiras dos mercados e na mesa do consumidor.

Algumas pesquisas colaboram para a divulgação de propriedades nutricionais diferenciadas dos tipos pigmentados de arroz em relação ao arroz integral branco, como o alto teor de proteínas e fibras. Além disso, a coloração do pericarpo dos grãos, uma das principais características que os diferencia visualmente, está vinculada ao acúmulo de compostos fenólicos, os quais têm sido relacionados a efeitos benéficos à saúde.

As propriedades mais conhecidas destes grãos são o alto teor de compostos fenólicos e a alta capacidade antioxidante, capaz de fornecer proteção contra espécies reativas de oxigênio e radicais livres (HU et al., 2003). Tanto o arroz-preto como o vermelho estão associados a uma notável atividade antioxidante *in vitro* em função da presença de compostos bioativos específicos, tais como antocianinas e proantocianidinas, ausentes nas variedades não pigmentadas (FINOCCHIARO et al., 2007; FINOCCHIARO; FERRARI; GIANINETTI, 2010).

O arroz selvagem é frequentemente considerado arroz-preto pelo consumidor, mas pertence ao gênero *Zizania* e tem composição nutricional e propriedades sensoriais muito diferentes em relação ao arroz-preto. No Brasil, o grão proveniente do Canadá, é apreciado como uma especialidade gastronômica por seu aspecto, de grãos longos e escuros, sua textura, firme na parte externa escura e macia na parte central branca, e por seu sabor e aroma característicos, semelhantes ao de castanhas ou ervas torradas. Embora sejam escassos os trabalhos de caracterização química, sabe-se que o arroz selvagem apresenta características nutricionais diferenciadas em relação ao arroz integral branco, tais como alto teor protéico e baixo teor lipídico.

De modo geral, são escassos os estudos comparativos de composição química, incluindo os compostos bioativos, de arroz-preto, vermelho e selvagem, sobretudo de cultivares produzidas ou comercializadas no Brasil. E ainda, o efeito do cozimento do arroz sobre os teores desses fitoquímicos, bem como sobre a capacidade antioxidante desses grãos é praticamente desconhecido.

O objetivo deste trabalho foi avaliar as diferenças de composição de macronutrientes, compostos fenólicos e atividade antioxidante do arroz-preto, vermelho e selvagem, antes e após o seu cozimento. E também avaliar os teores de  $\gamma$ -orizanol e homólogos da vitamina E em arroz-preto e vermelho.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

---

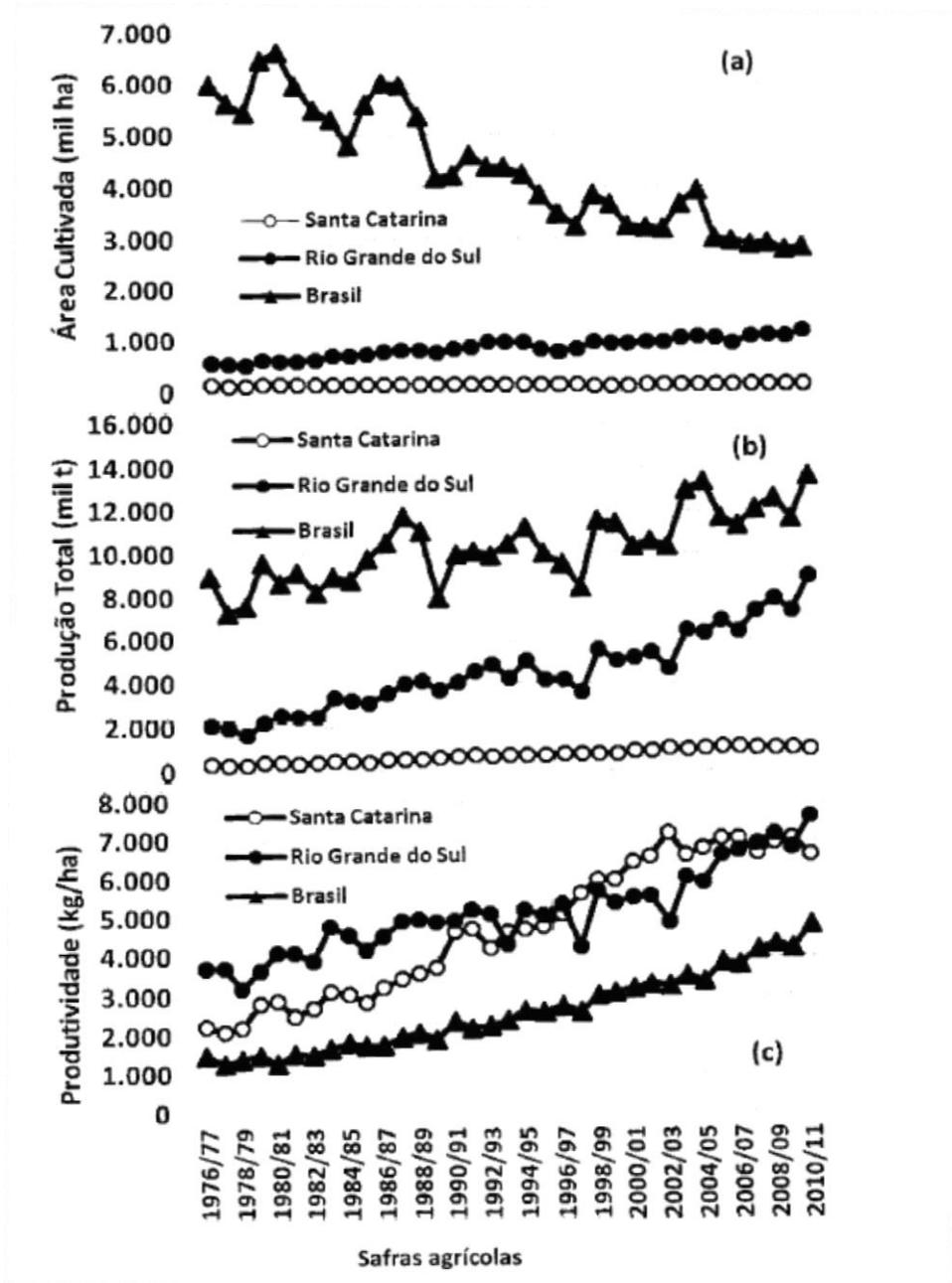
### 2.1 Arroz: produção, sistemas de cultivo e consumo

Do ponto de vista da alimentação humana, duas espécies de arroz são consideradas importantes: *Oryza sativa* L. e *Oryza glaberrima* L., sendo que a primeira é cultivada em todo o mundo, enquanto que a última tem seu cultivo restrito a algumas regiões da África Ocidental; ambas pertencem ao gênero *Oryza* que inclui mais outras vinte espécies (IRRI, 2011).

O arroz é cultivado em mais de cem países totalizando uma produção anual de cerca de 662 milhões de toneladas, que correspondem a 450 milhões de toneladas de arroz polido. O continente asiático é responsável por aproximadamente 90% desse total e a China, o principal país produtor, contribui com 30% da produção mundial. Na América Latina, segundo maior continente produtor, 25 milhões de toneladas de arroz em casca são obtidas anualmente e o Brasil se destaca como o maior fora do continente asiático e o maior produtor do continente americano com uma produção de 11 a 13 milhões de toneladas nas últimas safras, o que o posiciona em 9º lugar no *ranking* mundial de produção. A partir da safra de 2003/2004, o Brasil alcançou a autossuficiência em termos de produção e abastecimento do grão e, então passou a atuar no mercado como importador e exportador de arroz (FAO, 2010; SOSBAI, 2012).

Os sistemas de cultivo de arroz podem ser classificados de acordo com as características do solo e de irrigação, incluindo o sistema irrigado, de terras altas e o de várzeas. Aproximadamente 75% do arroz produzido no mundo é proveniente do sistema de cultivo irrigado, enquanto que os sistemas de várzeas e terras altas contribuem com 20% e 5% da produção mundial, respectivamente (IRRI, 2011). No Brasil são utilizados: o sistema irrigado por inundação controlada, que responde em média por 69% da produção nacional, e o de terras altas, onde a disponibilidade de água para a cultura do arroz é totalmente dependente da precipitação pluvial, com produção oscilante devido à dependência das condições climáticas (EMBRAPA, 2010).

No Brasil, os principais estados responsáveis pela produção de arroz, o Rio Grande do Sul e Santa Catarina, utilizam o sistema de cultivo irrigado. A área cultivada com arroz no estado do Rio Grande do Sul aumentou até a safra de 2004/2005, estabilizando-se em torno de um milhão de hectares, enquanto a de Santa Catarina tem se mantido constante ao longo do tempo, em torno de 150 mil hectares (Figura 1).



**Figura 1.** Evolução da área (a), da produção total (b) e da produtividade (c) de arroz nos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina e no Brasil no período de 1976/77 a 2010/11 (Fonte: SOSBAI, 2012).

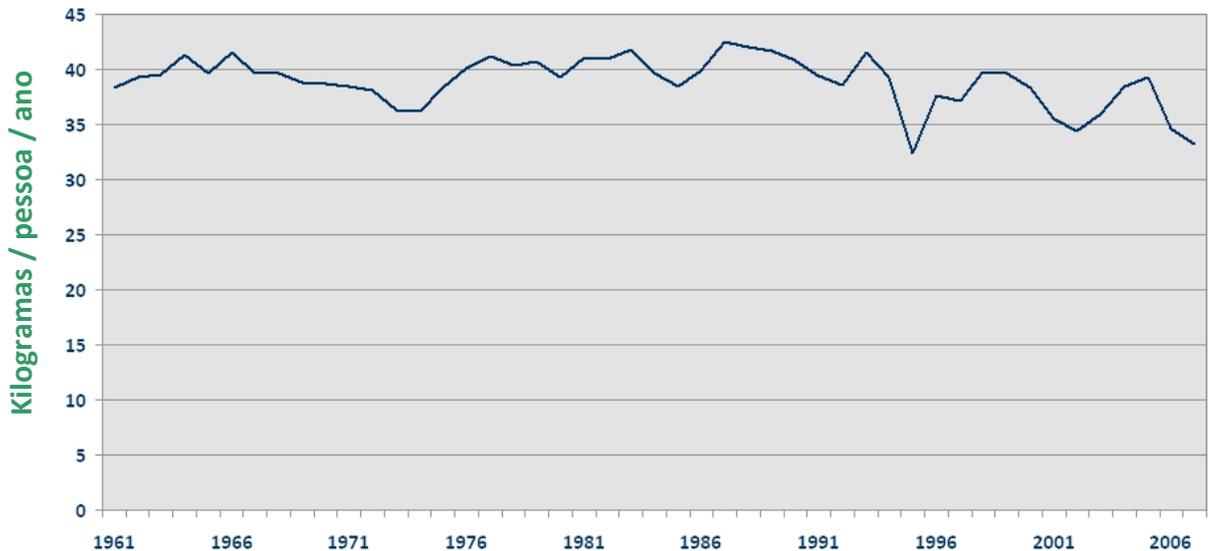
Exceção feita a algumas safras, consideradas atípicas, tem havido aumento, tanto na produção (Figura 1B) como na produtividade (Figura 1C) de arroz nesses dois estados. Em Santa Catarina, a produtividade está estabilizada desde a safra de 2004/2005, enquanto no Rio Grande do Sul continuou a aumentar, estando ambas, atualmente, próximas de 7000 kg/ha (Figura 1C). No Brasil, até a década de 80, o uso de terras altas principalmente na região Centro-Oeste foi responsável por grande parte da área cultivada, chegando a ocupar mais de 4,5 milhões de hectares (EMBRAPA, 2010). A partir de então, programas de melhoramento genético resultaram em produtividade e qualidade crescente dos grãos produzidos pelo sistema de cultivo irrigado no sul do país, provocando gradativamente a redução do cultivo de terras altas, que atualmente ocupa em torno de 2,8 milhões de hectares (Figura 1A).

O arroz é um alimento básico para três bilhões de pessoas, sendo responsável por fornecer cerca de 20% do suprimento calórico diário necessário. O consumo médio mundial de arroz é de 60 kg/pessoa/ano. Nos países em desenvolvimento, ele adquire importância ainda maior na alimentação da população. Na Ásia, onde cerca de 640 milhões de pessoas vivem em condições de pobreza, o consumo de arroz *per capita* costuma exceder 100 kg por ano, sendo que a metade das necessidades calóricas diárias é suprida por esse grão (IRRI, 2011).

Na América Latina, são consumidos anualmente, em média, 30 kg/pessoa (SOSBAI, 2012). No Brasil, o consumo médio de arroz até a década de 90 manteve-se próximo a 40 kg por habitante em um ano (Figura 2). A partir de então houve uma redução do consumo do grão, e nos últimos anos está em torno de 27 kg por habitante/ano (IBGE, 2011). Tal fato deve-se à mudança de hábitos alimentares, tanto pela introdução de novos alimentos industrializados no mercado, como pelo aumento do número de refeições realizadas fora de casa e também devido à busca de alimentos diferenciados pelo consumidor.

No Brasil, como na maioria dos países, o arroz é consumido principalmente na forma polida (70-80%), sendo esta a forma que consta nas estatísticas de produção, consumo e comércio globalizado. Contudo, o consumo do arroz parboilizado vem aumentando gradualmente e de acordo com dados divulgados

pelo IRGA (Instituto Rio Grandense do Arroz) contribui com 25% do consumo total de arroz no Brasil (IRGA, 2005).



(Fonte: adaptado de IRRI, 2011)

**Figura 2.** Evolução da média anual do consumo de arroz per capita no Brasil.

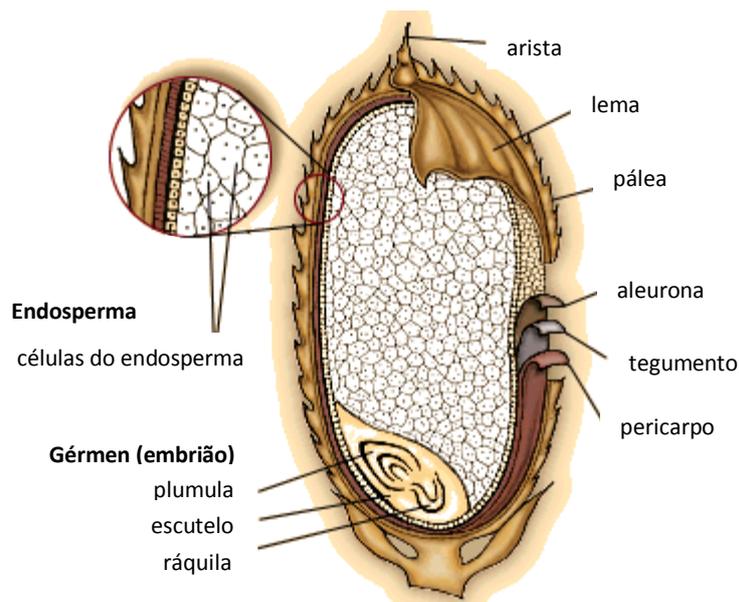
Observa-se também uma tendência de aumento no consumo de grãos integrais, impulsionada pela contínua divulgação de seus benefícios à saúde, associados principalmente, à redução do risco de doenças crônicas, tais como doenças cardíacas, câncer, diabetes e obesidade (CHUN et al., 2005; SLOAN, 2005). Além disso, a queda no consumo de arroz branco vem estimulando o desenvolvimento, a produção e a comercialização de tipos especiais de arroz, tais como o arroz-preto e o vermelho, visando à retomada do consumo do grão.

## 2.2 Morfologia do grão de arroz

O grão de arroz *in natura* é constituído de casca e cariopse. A casca corresponde a cerca de 20% do peso do grão e possui minerais (sílica) e celulose, sendo formada por duas folhas modificadas denominadas pálea e lema, que

protegem o grão. Após a retirada da casca obtém-se a cariopse, que consiste em farelo, endosperma e embrião (JULIANO, 2003).

O farelo corresponde a aproximadamente 10% do grão integral (8,5 a 14,5%) e é constituído de diferentes camadas (Figura 3), sendo a mais externa o pericarpo, que corresponde a uma fina película que contém de uma a cinco células de espessura. Em seguida, encontram-se o tegumento e a aleurona, que envolvem o endosperma. O pericarpo fornece proteção ao tegumento e proporciona cor ao arroz integral, conferindo aos grãos cor parda clara, vermelha, preta entre outras. O pericarpo é rico em proteínas, lipídeos, vitaminas e sais minerais (ZHOU et al., 2002; SIDHU; KABIR; HUFFMAN, 2007).



(Fonte: adaptado de ENCYCLOPEDIA BRITANNICA, 2013)

**Figura 3.** Representação do corte longitudinal de um grão de arroz.

O endosperma representa 80% do grão e é constituído de células ricas em grânulos de amido e por uma camada mais externa que contém proteínas, denominada de subaleurona. O gérmen ou embrião, localizado na base do grão, é rico em proteínas e lipídeos e representa 2 a 3% do arroz integral (JULIANO, 2003).

Quando submetido ao polimento, o grão perde o farelo (pericarpo, tegumento, aleurona) e, freqüentemente, também o embrião e um pouco do endosperma restando apenas o endosperma amiláceo, sendo denominado arroz branco (MATSUO; HOSHIKAWA, 1993).

### **2.3 Tipos pigmentados de arroz: histórico e aspectos nutricionais**

Há séculos, o arroz pigmentado é cultivado principalmente no sul da Ásia e em países como Itália, Grécia e Estados Unidos e ainda hoje são encontrados principalmente como variedades selvagens. O arroz pigmentado há muito tempo vem sendo consumido no Japão e China e, nestas regiões, é popularmente considerado um alimento saudável (FINOCCHIARO; FERRARI; GIANINETTI, 2010).

Atualmente no Brasil, os tipos pigmentados de arroz são consumidos por nichos específicos de mercado, associados a tradições culturais de algumas regiões ou mesmo oferecidos em restaurantes especializados ou étnicos. A produção destes tipos especiais de arroz é pequena, mas recentemente vem crescendo no país. O aumento do interesse dos consumidores por alimentos mais saudáveis e a mudança de seus padrões de alimentação têm estimulado o desenvolvimento de genótipos melhorados de arroz pigmentado, por programas de melhoramento genético, com vistas ao aumento na disponibilidade desses grãos para consumo.

No Brasil, o arroz-vermelho, ainda pouco conhecido, é cultivado em áreas isoladas no centro-oeste, no norte e no nordeste, onde recebe também os nomes de arroz da terra, arroz de veneza, arroz maranhão, entre outros. É no sertão do estado da Paraíba que se concentra a maior produção de arroz-vermelho do Brasil e este é plantado principalmente por pequenos agricultores, utilizando sistemas de produção bastante rudimentares. Na Paraíba, em particular, é considerado um ingrediente comum da culinária regional, mas na maioria das regiões de arroz irrigado, o arroz-vermelho é visto como uma planta daninha a ser eliminada das lavouras comerciais de arroz branco devido aos prejuízos às plantações ocasionados pela competição por água, luz e nutrientes, afetando o desenvolvimento do arroz cultivado e pela depreciação do produto final (EMBRAPA, 2011).

Embora o consumo de grãos de arroz com pericarpo vermelho e preto ainda esteja mais relacionado às características sensoriais, algumas pesquisas colaboram para a divulgação de suas propriedades nutricionais diferenciadas em relação ao arroz integral branco, como o seu alto teor de proteínas. Além disso, a coloração do pericarpo dos grãos, uma das principais características que os diferencia visualmente, está vinculada ao acúmulo de compostos fenólicos, os quais têm sido relacionados a efeitos benéficos à saúde.

A propriedade mais conhecida destes grãos é a capacidade antioxidante, capaz de fornecer proteção contra espécies reativas de oxigênio e radicais livres (HU et al., 2003). Estas substâncias são geradas no corpo humano por várias fontes e são necessárias para o metabolismo normal, desempenhando importante papel nas funções bioquímicas e fisiológicas do organismo. Entretanto, quando presentes em excesso, podem causar danos. Todos os componentes das células são suscetíveis à ação dos radicais livres, porém a membrana celular é a mais prejudicada em decorrência da lipoperoxidação, que pode estar associada aos mecanismos de câncer, envelhecimento, entre outros (SLAVIN, 2003).

Tanto o arroz-preto, como o vermelho estão associados a uma notável atividade antioxidante *in vitro* em função da presença de compostos bioativos específicos, ausentes nas variedades não pigmentadas (FINOCCHIARO et al., 2007). Alguns estudos ainda demonstram que a substituição do arroz branco por arroz-preto na dieta ou a administração de extratos de arroz-preto diminui o estresse oxidativo *in vivo* e o aumento simultâneo da capacidade antioxidante, fatores que estão associados com a redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 e alguns tipos de câncer (LING et al., 2001; HU et al., 2003; XIA et al., 2003; KIM et al., 2013<sup>b</sup>).

Recentemente, variedades pigmentadas de arroz-preto e vermelho também vêm sendo utilizadas em pesquisas científicas como ingredientes na elaboração de alimentos processados tais como cereais infantis (HIRAWAN; DIEHL-JONES; BETA, 2011) e macarrão (KONG et al., 2011), na busca pelo desenvolvimento de produtos com propriedades diferenciadas. No entanto, ainda

pouco se sabe sobre a estabilidade dos fitoquímicos e de suas propriedades antioxidantes frente ao processamento.

#### **2.4 Principais características do arroz selvagem**

O arroz selvagem é frequentemente considerado um tipo de arroz-preto pelo consumidor brasileiro, mas pertence ao gênero *Zizania* e acredita-se que tenha composição nutricional e propriedades sensoriais distintas em relação ao arroz-preto (IWRA, 2012).

O gênero *Zizania* é constituído por quatro espécies, sendo as espécies *Zizania palustris*, *Zizania aquatica* e *Zizania texana*, nativas da América do Norte e a *Zizania latifolia* nativa da Ásia. A *Zizania palustris* é a principal espécie de arroz selvagem cultivada para fins alimentícios (IWRA, 2012).

Trata-se de uma planta aquática que cresce de forma espontânea em lagos e em leitos de rios, localizados principalmente no continente norte americano. Também é nativa de regiões ecologicamente semelhantes localizadas no continente asiático. Esses grãos e suas variedades ancestrais têm desempenhado papel fundamental na alimentação dos povos dessas regiões há séculos e também na formação de um habitat único para peixes e aves aquáticas.

No início da década de 60, variedades de arroz selvagem foram domesticadas com objetivo de aumentar a produtividade e expandir o grão para os mercados internacionais. A partir de então, a produção comercial de arroz selvagem passou também a se desenvolver na Hungria e na Austrália. Atualmente a produção mundial de arroz selvagem é de cerca de 10 mil toneladas/ano (IWRA, 2012). Não foram encontrados registros de produção deste grão no Brasil.

Nos países onde o arroz selvagem é tradicionalmente consumido, o mesmo costuma ser utilizado em uma ampla variedade de pratos *gourmet*, tais como sopas, saladas e sobremesas. No Brasil, o grão proveniente do Canadá, é apreciado como uma especialidade gastronômica por seu aspecto, de grãos longos e escuros, sua textura, firme na parte externa escura e macia na parte central branca, e por seu sabor e aroma característicos, semelhantes ao de castanhas ou ervas torradas.

Embora sejam escassos os trabalhos de caracterização química, sabe-se que o arroz selvagem apresenta características nutricionais diferenciadas em relação ao arroz integral branco, tais como alto teor protéico e baixo teor lipídico. Já o conteúdo de amilose em relação ao amido total é de 21 a 24%, semelhante ao do arroz (*Oryza sativa* L.) com teor de amilose intermediário (IWRA, 2012).

## **2.5 Composição química e valor nutricional do arroz integral**

O arroz é constituído principalmente por amido e pequenas quantidades de proteínas, lipídeos, fibras e cinzas. Variações na composição dos grãos podem ocorrer em função do genótipo, de fatores ambientais, de manejo, de processamento e de armazenamento (ZHOU et al., 2002).

A distribuição dos nutrientes no grão não ocorre de maneira uniforme, sendo que, no arroz integral, as camadas externas apresentam maiores concentrações de proteínas, lipídeos, fibras e vitaminas, enquanto o endosperma é fundamentalmente constituído de amido (WALTER; MARCHESAN; AVILA, 2008).

### **2.5.1 Carboidratos**

O arroz é composto majoritariamente de carboidratos sob a forma de amido, que corresponde a aproximadamente 84 g/100g base seca, localizado no endosperma (USP, 2008). Além destes, existem pequenas quantidades de açúcares solúveis, localizados principalmente nas camadas externas do arroz integral (JULIANO, 2003).

O amido é um homopolissacarídeo composto por cadeias de amilose e amilopectina associadas entre si por pontes de hidrogênio, formando áreas cristalinas radialmente ordenadas. A amilose é formada por moléculas de glicose unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4, originando uma cadeia linear e massa molecular da ordem de 250 kDa ( $\cong$ 1500 unidades de glicose). Já a amilopectina se caracteriza por uma longa cadeia ramificada de glicose, sendo que a cada 30 ligações  $\alpha$ -1,4 existe uma ligação  $\alpha$ -1,6. Sua massa molecular é da ordem de 50.000

– 500.000 kDa e o comprimento das ramificações é variável contendo entre 20 e 30 unidades de glicose (DENARDIN; SILVA, 2009).

O grânulo de amido contém uma região cristalina e uma amorfa, definida como semicristalina. A estrutura linear da amilopectina encontra-se empacotada no sentido paralelo da camada cristalina na forma de micelas, enquanto que os pontos de ramificação estão na região amorfa. A localização exata das moléculas de amilose ainda é desconhecida, mas acredita-se que estejam dispersas entre as moléculas de amilopectina, presentes em maior quantidade na região amorfa, mantidas juntas por pontes de hidrogênio (JULIANO, 2003).

A proporção entre as duas frações, amilose e amilopectina, o comprimento das cadeias e a distribuição espacial das moléculas dos polissacarídeos, diferem muito entre as espécies de plantas e dentro da mesma espécie, dependendo do grau de maturação. Geralmente, as moléculas de amilose em cereais são menores do que as de outras origens, como os tubérculos e as leguminosas (DENARDIN; SILVA, 2009).

O conteúdo de amilose é considerado um dos principais parâmetros para a qualidade tecnológica e de consumo do arroz. De maneira geral, grãos com maior teor de amilose apresentam textura mais firme após o cozimento, sendo preferidos em diversos países, inclusive no Brasil, e essa característica é empregada como parâmetro no desenvolvimento de novas cultivares. Grãos com baixos teores de amilose apresentam adesividade após o cozimento, ficando mais pegajosos tendendo a desintegrar-se. É o tipo preferido na culinária japonesa e italiana. Segundo Juliano (2003), o arroz pode ser classificado, quanto ao teor de amilose, em ceroso ou glutinoso (0 a 2% de amilose), teor muito baixo de amilose (5 a 12%), baixo (12 a 20%), intermediário (20 a 25%) e alto (25 a 33%).

Entretanto, outros fatores, como a estrutura das cadeias de amilopectina e o teor de proteína também influenciam na textura do grão (ONG; BLANSHARD, 1995).

Os polissacarídeos não digeridos pelas enzimas do trato gastrointestinal, como a celulose, hemicelulose, amido resistente e pectinas, fazem parte da fração

fibra alimentar. No arroz, esta fração está concentrada nas camadas externas do grão e diminui em direção ao centro, resultando em baixa concentração no arroz polido.

O teor de fibras no arroz integral é baixo quando comparado aos demais cereais. Em ordem decrescente de teor de fibra total encontram-se a cevada (17,3%), o centeio (14,6%), o trigo (12,2%), a aveia (10,6%), o sorgo (9,0%), o milho (7,3%) e por fim, o arroz integral (3,5%).

A fibra alimentar é composta pelas frações solúvel e insolúvel, que exercem diferentes funções no organismo humano. A fração solúvel é constituída por hemicelulose solúvel, pectina, goma e mucilagem e a fração insolúvel por celulose, hemicelulose, lignina e amido resistente. A fibra solúvel é encontrada predominantemente em ervilhas, feijões, aveia, cevada, sementes e frutas e apresenta a capacidade de reter e interagir com a água no trato gastrointestinal formando géis, os quais retardam a digestão e a absorção de nutrientes; seus principais efeitos no organismo humano são a redução do colesterol plasmático e da resposta glicêmica. A fibra insolúvel é encontrada em maior quantidade nos cereais integrais, legumes e verduras, no organismo esse tipo de fibra confere volume e corpo às fezes o que estimula o trânsito intestinal prevenindo a constipação (MARLETT; MCBURNEY; SLAVIN, 2002). No arroz integral, a fibra insolúvel corresponde a 75% do total (KAWASSAKI, 2011).

### **2.5.2 Proteínas**

O teor protéico no arroz integral é, em média, 8% em base seca, sendo que as variações em torno desse valor ocorrem principalmente em função do genótipo e de condições ambientais, tais como a composição do solo e aplicação de fertilizantes, bem como fatores climáticos, especialmente a disponibilidade de radiação solar (ZHOU et al., 2002; JULIANO, 2003).

Embora o componente majoritário seja o amido, o arroz constitui também uma fonte proteica para a alimentação humana, especialmente importante para indivíduos com doença celíaca. O arroz, ao contrário de outros cereais como trigo,

aveia, centeio e cevada, é isento de glúten, e portanto das proteínas que o compõe, glutenina e gliadina, que desencadeiam o quadro clínico da doença celíaca.

As proteínas no grão de arroz estão principalmente distribuídas no farelo, nas camadas mais externas do endosperma e no gérmen.

As proteínas do arroz podem ser classificadas de acordo com a sua solubilidade, sendo as principais as glutelinas, solúveis em soluções alcalinas, que representam 70% do total. As globulinas, albuminas e prolaminas correspondem a aproximadamente 10%, 6% e 3% das proteínas totais do arroz, respectivamente. O arroz difere dos outros cereais por ser rico em glutelinas, enquanto os demais cereais são ricos em proteínas solúveis em álcool como as prolaminas, que representam somente 3% das proteínas do arroz (ZHOU et al., 2002).

No endosperma do grão, as proteínas estão organizadas em dois tipos de corpos protéicos: I e II. Os corpos protéicos I são grandes estruturas esféricas, com anéis concêntricos, ricos em prolamina, os corpos protéicos II são ricos em glutelina e globulina e não se apresentam na forma de anéis concêntricos (ZHOU et al., 2002).

A qualidade da proteína depende de seu conteúdo em aminoácidos essenciais e da sua digestibilidade. As proteínas do arroz, além de apresentarem boa digestibilidade contêm todos os aminoácidos essenciais embora a lisina esteja em baixas concentrações, o que a torna um aminoácido limitante. No entanto, em comparação a outros cereais o valor biológico das proteínas do arroz é maior devido à presença de lisina em maior quantidade do que a encontrada no trigo, no milho e no sorgo (JULIANO, 2003).

### **2.5.3 Lipídeos**

O grão de arroz tem um conteúdo de lipídeos relativamente baixo, da ordem de 2,2 a 3,2% (TAIRA; ITANI, 1988). Os lipídeos estão distribuídos de forma heterogênea no grão e podem ser encontrados organizados em corpos lipídicos na camada de aleurona, no gérmen e no pericarpo ou associados a grânulos de amido (LUMEN; CHOW, 1995). Dessa forma, a concentração de lipídeos é maior no arroz

integral, sendo reduzida com o polimento, apresentando concentrações inferiores a 1% no arroz polido.

Quimicamente, os lipídeos do arroz são classificados em dois grandes grupos: lipídeos saponificáveis constituídos por triacilgliceróis, diacilgliceróis, monoacilgliceróis, ácidos graxos livres e ceras; e lipídeos insaponificáveis constituídos por fitoesteróis, álcoois triterpênicos, ésteres de ácido ferúlico ( $\gamma$ -orizanol) e homólogos da vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis).

Os ácidos graxos insaturados são predominantes no óleo de arroz compondo aproximadamente 75% do total. Embora ocorram variações na proporção de ácidos graxos em decorrência de fatores genotípicos e ambientais uma composição básica consiste em 14-21% de ácido palmítico (C16:0), 2-3% de ácido esteárico (C18:0), 38-45% de ácido oléico (C18:1), 34-37% de ácido linoléico (C18:2) e 1-2% de ácido linolênico (C18:3) (RUKMINI; RAGHURAM, 1991). Portanto os principais ácidos graxos do arroz são os ácidos, palmítico, oléico e linoléico, que correspondem a mais de 90% dos ácidos graxos totais.

#### **2.5.4 Minerais e vitaminas**

As vitaminas e os minerais estão presentes no arroz principalmente nas camadas externas do grão. Os minerais predominantes no arroz integral são fósforo, potássio e magnésio e, em menor quantidade, são encontrados ferro, zinco, cobre, sódio, cálcio e manganês (JULIANO, 2003). De forma geral, os minerais apresentam-se em maior concentração nas camadas externas do grão, com aproximadamente 72% no farelo e 28% no endosperma. O arroz contém principalmente vitaminas do complexo B e E presentes no farelo. As vitaminas A, D e C são encontradas em concentrações muito pequenas.

As condições de cultivo e de solo, fertilização, processamento bem como fatores genotípicos exercem influência no conteúdo de micronutrientes do arroz.

## **2.6 Compostos bioativos**

Compostos bioativos são definidos como fitoquímicos biologicamente ativos presentes em frutas, legumes, hortaliças, grãos e outros alimentos que quando ingeridos promovem benefícios à saúde, relacionados principalmente à redução do risco de algumas doenças crônicas como diabetes, doenças cardiovasculares e determinados tipos de câncer.

Um volume crescente de evidências sugere que os benefícios dos compostos bioativos sejam importantes na manutenção da saúde reduzindo os riscos de desenvolvimento de diversas doenças crônicas. Alimentos de origem vegetal diferem muito na quantidade e composição dos fitoquímicos e, frequentemente, têm ações complementares, dessa forma, estimula-se o consumo de ampla variedade desses alimentos.

Os compostos fenólicos, fitoquímicos importantes no arroz integral, têm recebido atenção pelos seus potenciais efeitos biológicos benéficos para a saúde humana; a literatura descreve propriedades, antioxidante, antiinflamatória, antimutagênica e anticarcinogênica, além da capacidade antioxidante (BELOBRAJDIC; BIRD, 2013).

### **2.6.1 Compostos fenólicos**

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários e constituem a maior classe de fitoquímicos do reino vegetal. Possuem funções essenciais na reprodução e no crescimento das plantas, agindo na defesa contra patógenos, parasitas e predadores, além de contribuir com a coloração das plantas. Em alimentos, alguns compostos fenólicos contribuem para coloração, acidez, adstringência, sabor, odor e estabilidade oxidativa atuando como agentes de proteção contra luz UV (NACZK; SHAI, 2004).

Caracterizam-se por possuírem um ou mais anéis aromáticos e ao menos uma hidroxila. Geralmente são subdivididos em ácidos fenólicos, flavonoides,

taninos, estilbenos e cumarinas, sendo que as três primeiras classes são encontradas com maior frequência em alimentos.

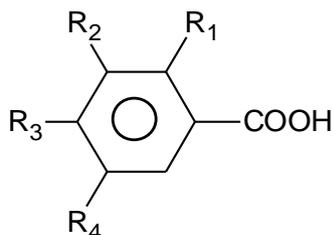
Os teores de compostos fenólicos totais no arroz variam muito em função da pigmentação do pericarpo e também entre genótipos com a mesma cor. A literatura menciona teores de 240 a 1056 mg equivalentes de ácido gálico/100g no arroz-preto e variações de 79 a 700 mg equivalentes de ácido gálico/100g no arroz-vermelho (SHEN et al., 2009; SOMPONG et al., 2011; CHEN et al., 2012; MIN et al., 2012). Embora existam cultivares de arroz-vermelho com elevados teores de compostos fenólicos, de forma geral, as cultivares de arroz-preto apresentam teores maiores do que as de arroz-vermelho.

No arroz selvagem os teores de compostos fenólicos estão ao redor de 350 mg equivalentes de ácido gálico/100g de arroz (QIU; LIU; BETA, 2009). O arroz integral branco apresenta os menores teores com quantidades que variam de 25 a 150 mg equivalentes de ácido gálico/100g de arroz (MASSARETTO et al., 2011; MIN et al., 2012).

#### *2.6.1.1 Ácidos fenólicos*

Os ácidos fenólicos caracterizam-se pela presença de um anel benzênico, um grupamento carboxílico e pelo menos uma hidroxila e/ou metoxila na molécula. Os compostos pertencentes a essa classe podem ser divididos em derivados do ácido hidroxibenzóico e derivados do ácido hidroxicinâmico (SOARES, 2002).

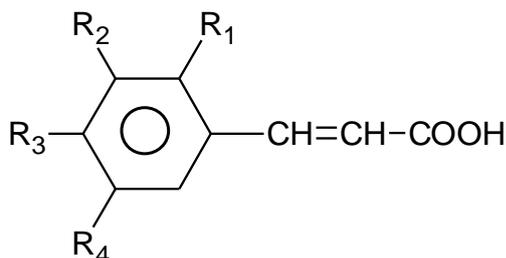
A quantidade de derivados do ácido hidroxibenzóico na forma livre, contida nos vegetais comestíveis, é geralmente muito baixa (MANACH et al., 2004). Normalmente fazem parte de estruturas complexas como taninos hidrolisáveis (galotaninos e elagiotaninos) e incluem os ácidos, salicílico, gentílico, gálico, *p*-hidroxibenzóico, protocatecóico, vanílico e siríngico, com estrutura básica de sete átomos de carbono, C6-C1 (Figura 4).



$R_1 = OH \rightarrow$ Ácido Salicílico;  $R_1 = R_4 = OH \rightarrow$ Ácido Gentísico;  $R_3 = OH \rightarrow$ Ácido *p*-Hidroxibenzóico;  $R_2 = R_3 = OH \rightarrow$ Ácido Protocatecóico;  $R_2 = OCH_3$ ;  $R_3 = OH \rightarrow$ Ácido Vanílico;  $R_2 = R_3 = R_4 = OH \rightarrow$ Ácido Gálico;  $R_2 = R_4 = OCH_3$ ;  $R_3 = OH \rightarrow$ Ácido Siríngico

**Figura 4.** Estrutura química dos ácidos hidroxibenzóicos.

Os ácidos hidroxicinâmicos são compostos com nove átomos de carbono (C6-C3), sendo que três formam uma cadeia lateral. Esses compostos são mais comuns do que os ácidos hidroxibenzóicos e fazem parte dessa classe os ácidos *o*-cumárico, *m*-cumárico, *p*-cumárico, caféico, ferúlico e sinápico (SOARES, 2002) (Figura 5).



$R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = H \rightarrow$ Ácido Cinâmico;  $R_1 = OH \rightarrow$ Ácido *o*-cumárico;  $R_2 = OH \rightarrow$ Ácido *m*-cumárico;  $R_3 = OH \rightarrow$ Ácido *p*-cumárico;  $R_2 = R_3 = OH \rightarrow$ Ácido Caféico;  $R_2 = OCH_3$ ;  $R_3 = OH \rightarrow$ Ácido Ferúlico;  $R_2 = R_4 = OCH_3$ ;  $R_3 = OH \rightarrow$ Ácido Sinápico

**Figura 5.** Estrutura química dos ácidos hidroxicinâmicos.

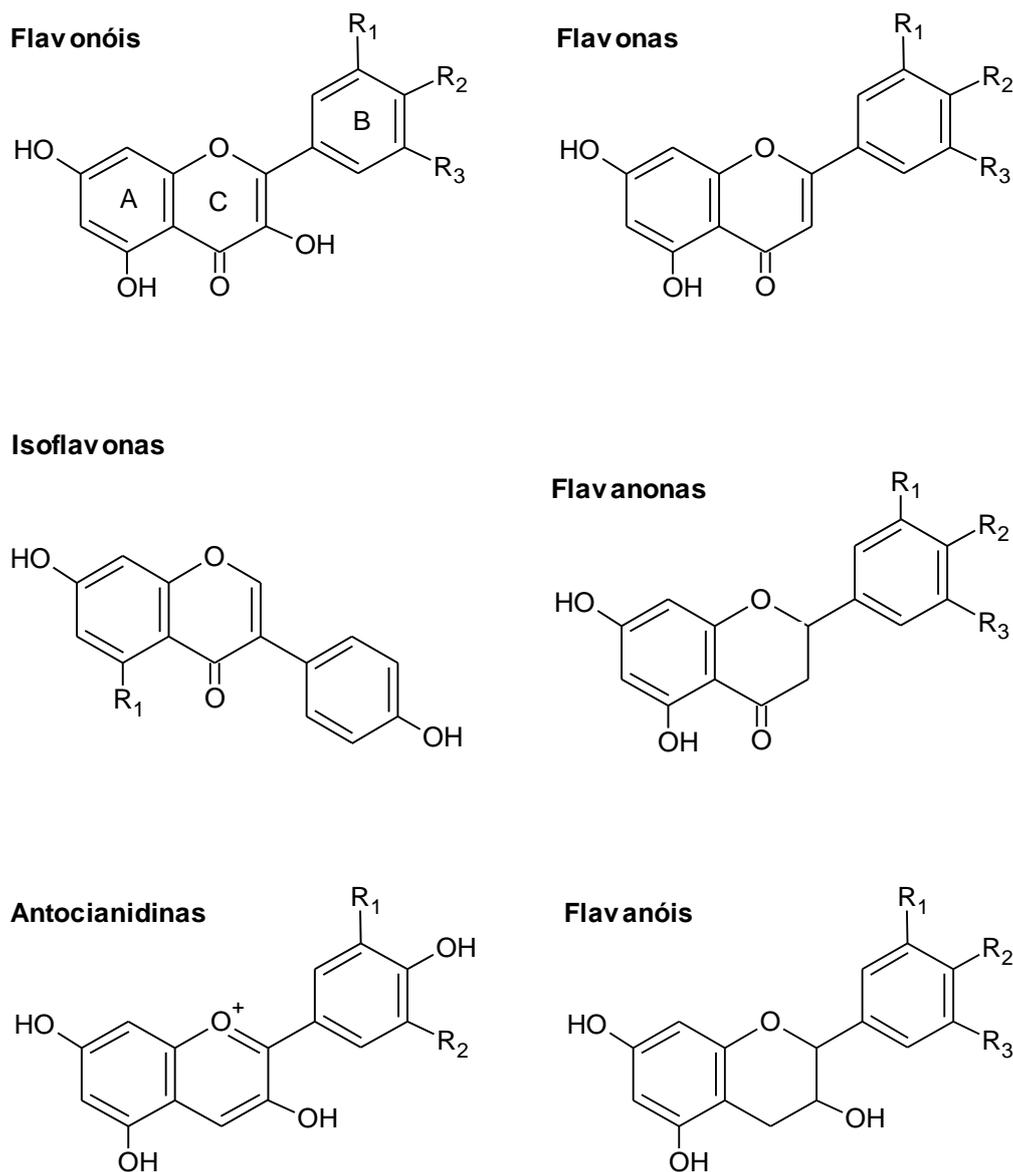
Os ácidos fenólicos nos genótipos não pigmentados de arroz estão presentes em concentrações próximas a 3,0 mg/100g, sendo predominantes os ácidos ferúlico, *p*-cumárico e vanílico (ZHOU et al., 2004; IRAKLI et al., 2012). No arroz-vermelho e no arroz-preto os teores são maiores, 5,2 e 8,8 mg/100g, respectivamente. Nas variedades pigmentadas o ácido protocatecóico torna-se o ácido fenólico majoritário, seguido dos ácidos ferúlico e *p*-cumárico no arroz-vermelho e dos ácidos vanílico e ferúlico no arroz-preto (IRAKLI et al., 2012).

### 2.6.1.2 Flavonoides

Os flavonoides são compostos amplamente distribuídos no reino vegetal, sendo importantes para o crescimento, desenvolvimento e defesa das plantas. Estão presentes em frutas, hortaliças, sementes, ervas, além de produtos alimentícios processados, tais como chás e vinhos. De forma geral, são compostos de baixo peso molecular, consistindo em quinze átomos de carbono, organizados na disposição C6-C3-C6. A estrutura química básica dos flavonoides é composta de dois anéis aromáticos (A e B) ligados por três átomos de carbono (difênilpropano) que formam um anel heterocíclico oxigenado (anel C). Diferenças na oxidação do anel C e na ligação deste com o anel B resultam nas seis subclasses de flavonoides: flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas e flavanóis (Figura 6). Substituições nos anéis A e B originam diferentes compostos dentro de cada subclasse (HOLLMAN; KATAN, 1999).

Os flavonóis formam o grupo de flavonoides mais abundantes e estão geralmente na forma glicosilada na posição C<sub>3</sub>. As agliconas mais comuns de flavonóis são kaempferol, quercetina e miricetina (KIM; LEE, 2002). As flavonas são os flavonoides menos frequentes, mas podem ser encontradas em plantas cítricas e ervas. Estes fitoquímicos são encontrados na forma polimetoxilada e incluem apigenina e luteonina. As isoflavonas são pouco distribuídas na natureza e dentre os alimentos consumidos por humanos, apenas a soja contém quantidades significativas. As principais agliconas são genisteína, daidzeína e gliciteína. As flavanonas, contendo o anel heterocíclico saturado, são principalmente encontradas em frutas cítricas, na forma glicosilada. A principal aglicona representante dessa subclasse é a hesperitina (KIM; LEE, 2002).

Os flavanóis ou flavan-3-óis apresentam-se nas formas monomérica, como catequinas, e polimérica, como proantocianidinas. Os monômeros mais comuns são catequina, epicatequina e epigallocatequina, e são encontrados predominantemente em chá verde e chá preto. Em geral, essas substâncias estão na forma de aglicona, diferentemente dos outros flavonoides que são encontrados em sua forma glicosilada. As proantocianidinas, também conhecidas como taninos condensados, são dímeros, oligômeros e polímeros de catequinas (MANACH et al., 2004).



(Fonte: adaptado de MANACH et al., 2004)

**Figura 6.** Estruturas químicas das principais classes de flavonoides.

As antocianinas e as proantocianidinas, por serem os polifenóis mais frequentes em variedades pigmentadas de arroz, serão discutidas mais detalhadamente a seguir.

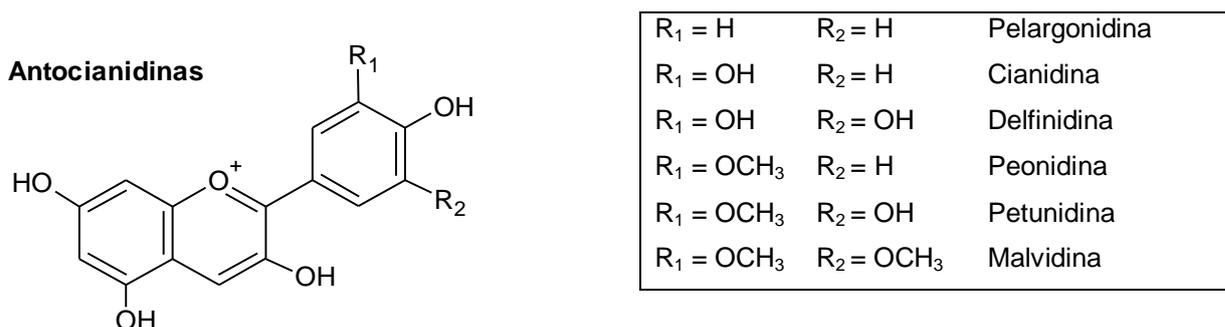
É comum ocorrer variações nos teores de flavonoides em função da cor do pericarpo. Teores de 88 a 1030 mg equivalentes de catequina/100g no arroz-preto e variações de 134 a 500 mg equivalentes de catequina/100g no arroz-vermelho já foram descritos (SHEN et al., 2009; SOMPONG et al., 2011; CHEN et al., 2012; MIN et al., 2012). De forma geral, as variedades de arroz-preto apresentam

teores maiores do que as de arroz-vermelho. No arroz selvagem, os principais flavonoides são as catequinas e epicatequinas, e quantidades menores de flavonas como apigeninas e seus glicosídeos também estão presentes (QIU; LIU; BETA, 2009). O arroz integral branco possui quantidades insignificantes de flavonoides.

### 2.6.1.2.1 Antocianinas

As antocianinas encontram-se nos vacúolos dos tecidos epidérmicos de vegetais, e são responsáveis pelos tons vermelhos, roxos e azuis em frutos, folhas, flores e grãos, constituindo o maior grupo de pigmentos hidrossolúveis do reino vegetal. Além disso, possuem um importante papel na fisiologia das plantas e no processo de polinização por insetos e outros dispersores de sementes (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).

As antocianidinas ou agliconas são as estruturas básicas das antocianinas (Figura 7) e quando as antocianidinas são encontradas em sua forma glicosilada (ligada a uma molécula de açúcar) são denominadas antocianinas (CASTAÑEDA-OVANDO et al., 2009).



**Figura 7.** Estrutura básica das principais antocianidinas encontradas em alimentos.

Já foram identificadas mais de 500 antocianinas distintas e 23 agliconas distribuídas na natureza, sendo as principais diferenças entre elas, o número e a posição dos grupos hidroxila e metoxila (CASTAÑEDA-OVANDO et al, 2009). As

seis antocianidinas importantes em alimentos são: cianidina, pelargonidina, delphinidina, peonidina, petunidina e malvidina (MALACRIDA; DA MOTA, 2006).

No tecido das plantas, esses compostos raramente são encontrados na forma aglicona por causa da sua baixa estabilidade, são encontrados principalmente na forma glicosilada, ligados a açúcares simples, sendo os mais freqüentes, glicose, galactose, xilose, ramnose e arabinose. As antocianinas podem ainda estar ou não aciladas, neste caso, ácidos fenólicos aromáticos (ácido ferúlico, caféico) e/ou ácidos alifáticos (malônico, acético, oxálico) são ligados às antocianinas por meio de ligações éster (CASTAÑEDA-OVANDO et al, 2009).

Frutas vermelhas invariavelmente lideram a classificação de alimentos fonte de compostos antioxidantes, devido à alta concentração de compostos fenólicos, especialmente antocianinas. As principais antocianinas presentes nessas frutas são cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutenosídeo. Da mesma forma, alimentos de coloração escura como arroz-preto, trigo azul, cenoura roxa, feijão preto e outros, já tiveram suas principais antocianinas identificadas e podem representar importante fonte de compostos antioxidantes, principalmente em países onde a disponibilidade e o consumo de frutas vermelhas são baixos (Tabela 1).

Especificamente no caso do arroz-preto, quantidades variáveis de antocianinas foram encontradas, podendo alcançar teores de 500 mg/100g de arroz, semelhante ao teor no mirtilo, considerado uma das principais fontes de antocianinas (FINOCCHIARO et al., 2007; SOMPONG et al., 2011). Em contrapartida, quantidades insignificantes foram observadas em arroz-vermelho, sendo que os principais compostos fenólicos desses grãos são as proantocianidinas, descritas no item 2.6.1.2.2 (ABDEL-AAL; YOUNG; RABALSKI, 2006).

**Tabela 1.** Principais antocianinas encontradas em frutas vermelhas e outros alimentos.

ALIMENTOS	ANTOCIANINAS	REFERÊNCIA
<b>FRUTAS</b>		
Açaí	Cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-rutenosídeo	SANTIAGO,2010
Amora silvestre	Cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-rutenosídeo	HASSIMOTO; GENOVESE; LAJOLO, 2008
Cereja	Cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3- rutinosídeo, cianidina-3-glicosilrutenosídeo	BLANDO; GERARDI; NICOLETTI, 2004
Framboesa	Cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, cianidina-3-glicosilrutenosídeo, malvidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-glicosídeo, pelargonidina-3-glicosídeo	ANCOS; GONZALEZ; CANO, 1998
Groselha preta	Cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3- rutinosídeo, Delphinidina-3-glicosídeo, delphinidina-3- rutinosídeo, peonidina-3-rutinosídeo, petunidina-3-rutinosídeo	OGAWA et al., 2008
<b>CEREAIS</b>		
Arroz-preto	Cianidina-3-glicosídeo, peonidina-3-glicosídeo	SOMPONG et al., 2011
Arroz-vermelho	Cianidina-3-glicosídeo	ABDEL-AAL; YOUNG; RABALSKI, 2006
Cevada azul	Delphinidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-rutinosídeo	ABDEL-AAL; YOUNG; RABALSKI, 2006
Trigo azul	Delphinidina-3-glicosídeo, delphinidina-3-rutinosídeo	ABDEL-AAL; YOUNG; RABALSKI, 2006
<b>TUBÉRCULOS, HORTALIÇAS E LEGUMINOSAS</b>		
Cenoura roxa	Cianidina-3-xilosilglicosilgalactosídeo, cianidina-3-xilosilgalactosídeo, pelargonidina-3-xilosil-galactosídeo, peonidina-3-xilosilgalactosídeo	MONTILLA et al., 2011
Chicória roxa	Cianidina-3-malonil-glicopiranosídeo	MULABAGAL et al., 2009
Feijão preto	Delphinidina-3-glicosídeo, petunidina-3-glicosídeo, malvidina-3-glicosídeo	TAKEOKA et al., 1997
Rabanete	Pelargonidina-3-soforosídeo-5-glicosídeo	GIUSTI ; WROLSTAD, 1996
Repolho roxo	Cianidina-3,5-diglicosídeo, cianidina-3-soforosídeo-5-glicosídeo, cianidina-3-soforosídeo-5-glicosídeo	XU et al., 2010

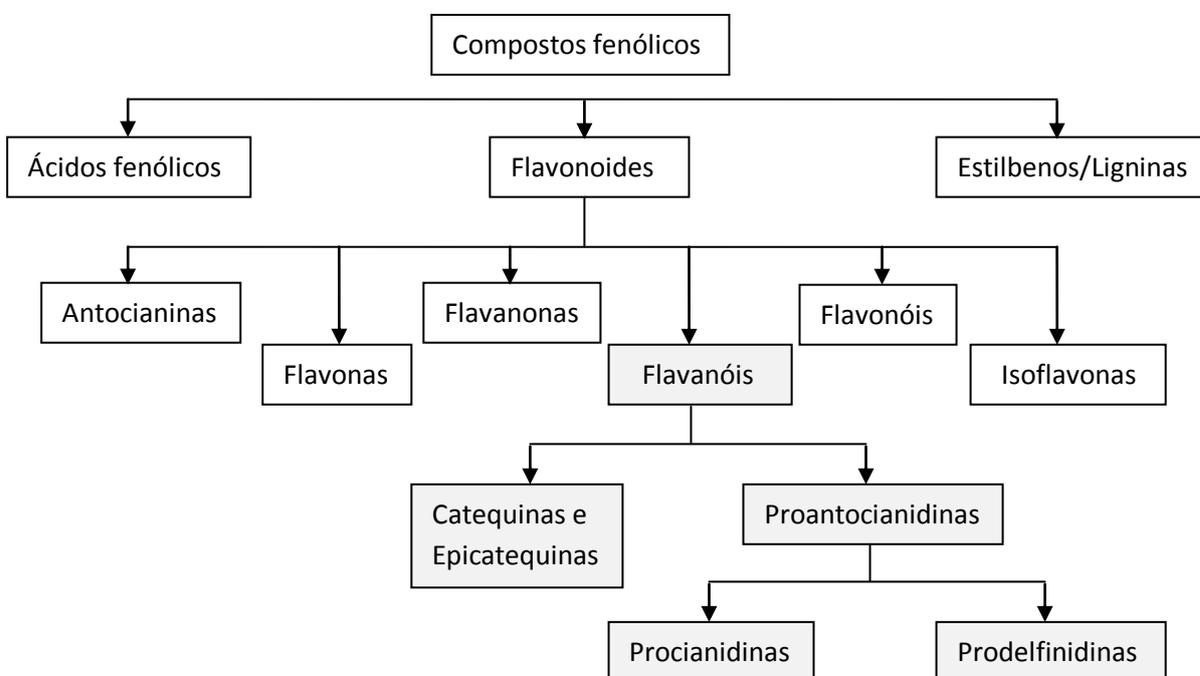
Há vários fatores que afetam a estabilidade das antocianinas como pH, luz, oxigênio, degradação enzimática, temperatura e interação com outros componentes dos alimentos. Hou et al. (2013) avaliaram a degradação de antocianinas isoladas do arroz-preto em diferentes temperaturas (80, 90 e 100°C) e valores de pH (1,0 a 6,0) e concluíram que a reação de degradação das

antocianinas segue cinética de primeira ordem de acordo com a temperatura e que, a estabilidade delas é maior em temperaturas menores, em pH mais baixo e com menor tempo de aquecimento.

#### 2.6.1.2.2 Proantocianidinas

As proantocianidinas, também denominadas de taninos condensados, são oligômeros ou polímeros de flavan-3-óis, como catequinas ou epicatequinas (Figura 8).

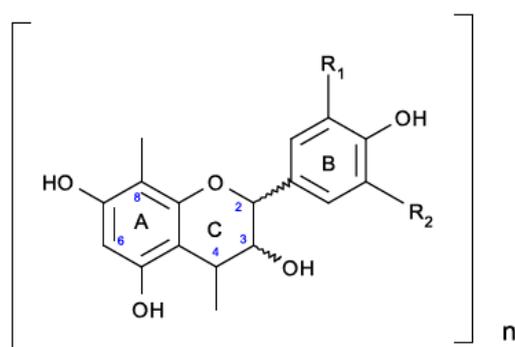
São compostos diferentes dos taninos hidrolisáveis, que correspondem a ácidos fenólicos, ácido gálico nos galotaninos ou ácido elágico no elagitaninos, esterificados a um poliol, usualmente a glicose. As proantocianidinas são mais comuns na dieta do que os taninos hidrolisáveis (SANTOS-BUELGA; SCALBERT, 2000).



(Fonte: adaptado de BUENO et al., 2012)

**Figura 8.** Tipos de compostos fenólicos com ênfase nos flavanóis.

A estrutura química das proantocianidinas é definida tanto pelo tipo de monômero que a constitui, como pelo tipo de ligação entre os monômeros. As estruturas mais comuns em alimentos são procianidinas, que apresentam uma substituição 3',4'-dihidroxi e prodelfinidina com uma substituição 3',4',5'-trihidroxi, ambas no anel B da estrutura básica (Figura 9) (BUENO et al., 2012).



(Fonte: SANTOS-BUELGA; SCALBERT, 2000)

**Figura 9.** Estrutura básica das proantocianidinas encontradas em alimentos.

Desde a elucidação da estrutura básica das proantocianidinas, nos anos 60, mais de 200 compostos diferentes, incluindo polímeros de alto peso molecular, já foram completamente identificados e caracterizados.

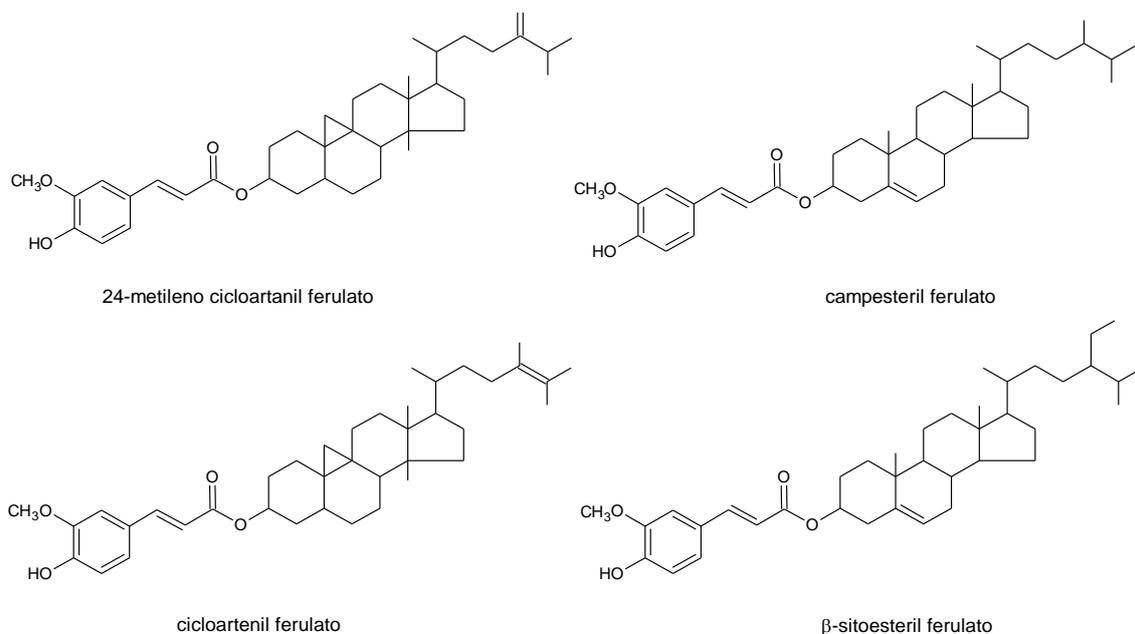
Estes compostos estão presentes em cereais, sementes de leguminosas e são particularmente abundantes em algumas frutas e sucos de fruta; o grau de polimerização pode variar de acordo com a espécie e com os tecidos de um mesmo vegetal (SANTOS-BUELGA; SCALBERT, 2000).

As proantocianidinas com diferentes graus de polimerização, majoritariamente constituídas de tetrâmeros a decâmeros, são os flavonoides mais abundantes no arroz-vermelho. Porém, são escassos os trabalhos de quantificação destes compostos em arroz pigmentado, e os teores encontrados na literatura variam de 9,4 mg/100g a 202 mg/100g de arroz-vermelho, dependendo da cultivar e do método de extração e análise empregados (FINOCCHIARO; FERRARI; GIANINETTI., 2010; MIN et al., 2012).

## 2.6.2 $\gamma$ -Orizanol

O  $\gamma$ -orizanol foi descoberto no óleo de arroz em 1954 por Kaneko e Tsuchiya, no Japão, e inicialmente descrito como um único componente, mas estudos subsequentes revelaram que ele é uma mistura de ácidos ferúlicos esterificados com esteróis ou álcoois triterpênicos, chamados de  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -orizanol (SCAVARIELLO; ARELLANO, 1998). Destes, o  $\gamma$ -orizanol tem sido mais estudado devido às suas propriedades benéficas à saúde, tais como redução do colesterol plasmático, inibição da agregação plaquetária, redução na biosíntese do colesterol hepático, redução da absorção do colesterol, aumento da excreção fecal de ácidos biliares, sendo utilizado na indústria farmacêutica e cosmética, assim como aditivo de alimentos, devido às suas propriedades antioxidantes (JULIANO et al., 2005).

O  $\gamma$ -orizanol é composto por até 10 componentes, embora os quatro mais importantes sob ponto de vista quantitativo são: 24-metileno cicloartanil ferulato, cicloartenil ferulato, campesteril ferulato e  $\beta$ -sitoesteril ferulato (Figura 10) (XU; GODBER, 1999; MILLER et al., 2003; IMSANGUAN et al., 2008).



(Fonte: IMSANGUAN et al., 2008)

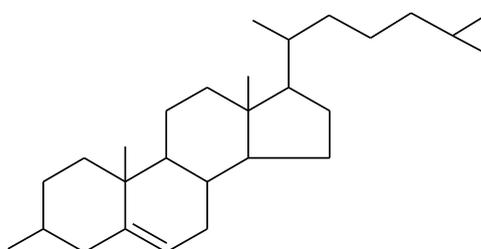
**Figura 10.** Estrutura dos componentes majoritários do  $\gamma$ -orizanol.

A concentração de cada componente pode variar de acordo com a cultivar e o tipo de extração. O cicloartenil ferulato e o 24-metileno cicloartenil ferulato são os componentes majoritários na mistura, com cerca de 42% e 31% da concentração total de  $\gamma$ -orizanol, respectivamente. O teor de  $\gamma$ -orizanol no arroz integral varia entre 180 a 380 mg/kg, dependendo da subespécie e cultivar (SCAVARIELLO; ARELLANO, 1998, AGUILAR-GARCIA et al., 2007; HEINEMANN et al., 2008).

Alguns componentes do  $\gamma$ -orizanol também podem ser encontrados no interior do pericarpo de grãos de milho, trigo e centeio, principalmente os ferulatos de sitostanil e campestanil, e em menores quantidades os ferulatos de sitosteril e campesteril (SEITZ, 1989).

A ação do  $\gamma$ -orizanol no organismo humano não está totalmente elucidada, mas há muitos estudos na literatura científica que descrevem atividade hipocolesterolêmica e antioxidante deste composto. Além disso, a concentração de cada componente isolado do  $\gamma$ -orizanol parece influenciar na intensidade da atividade bioativa (MILLER; ENGEL, 2006; LERMA-GARCIA et al., 2009).

A redução dos níveis de colesterol pela ingestão de  $\gamma$ -orizanol parece estar relacionada com a semelhança estrutural com o colesterol (Figura 11). Desta forma, a presença do  $\gamma$ -orizanol levaria à redução da biossíntese do colesterol (SCAVARIELLO; ARELLANO, 1998). A elevada ação antioxidante do  $\gamma$ -orizanol também poderia ser responsável, ao menos potencialmente na inibição da oxidação do colesterol pelos principais componentes do  $\gamma$ -orizanol, embora em grau variável (XU; GODBER, 2001).



Colesterol

**Figura 11.** Estrutura química do colesterol. (Fonte: SCAVARIELLO; ARELLANO, 1998)

O 24-metileno cicloartanil ferulato e o cicloartenil ferulato, parecem exercer principalmente função antioxidante, enquanto o campesteril ferulato e o  $\beta$ -sitoesteril ferulato agem mais na diminuição da síntese do colesterol (KIKUZAKI et al., 2002; BERGER et al., 2005).

A ação hipocolesterolêmica do  $\gamma$ -orizanol foi avaliada em camundongos submetidos a uma dieta hiperlipídica por 7 semanas. Os animais alimentados com ração adicionada de 0,5%  $\gamma$ -orizanol não apresentaram aumento nos níveis de colesterol total plasmático e hepático em relação ao grupo controle (sem adição de gordura e  $\gamma$ -orizanol), porém houve um incremento significativo do colesterol plasmático HDL. Com isso, aparentemente o  $\gamma$ -orizanol é capaz de melhorar o perfil de colesterol plasmático e hepático em dieta hiperlipídica (SON et al., 2010).

Resultados semelhantes foram encontrados em estudos com animais utilizando óleo de farelo de arroz, onde foi observada redução de mais de 50% no colesterol plasmático total e no LDL (WILSON et al., 2000; TSUJI et al., 2003; WILSON et al., 2007).

Em humanos, também já foram descritos os efeitos do  $\gamma$ -orizanol na síntese de colesterol. Em pacientes hipercolesterolêmicos e hiperlipidêmicos foram administrados 300 mg  $\gamma$ -orizanol/dia e foi observada diminuição no colesterol plasmático total e no LDL em ambos os casos, enquanto um aumento relevante no HDL foi constatado apenas no grupo de pacientes hipercolesterolêmicos (CICERO; GADDI, 2001).

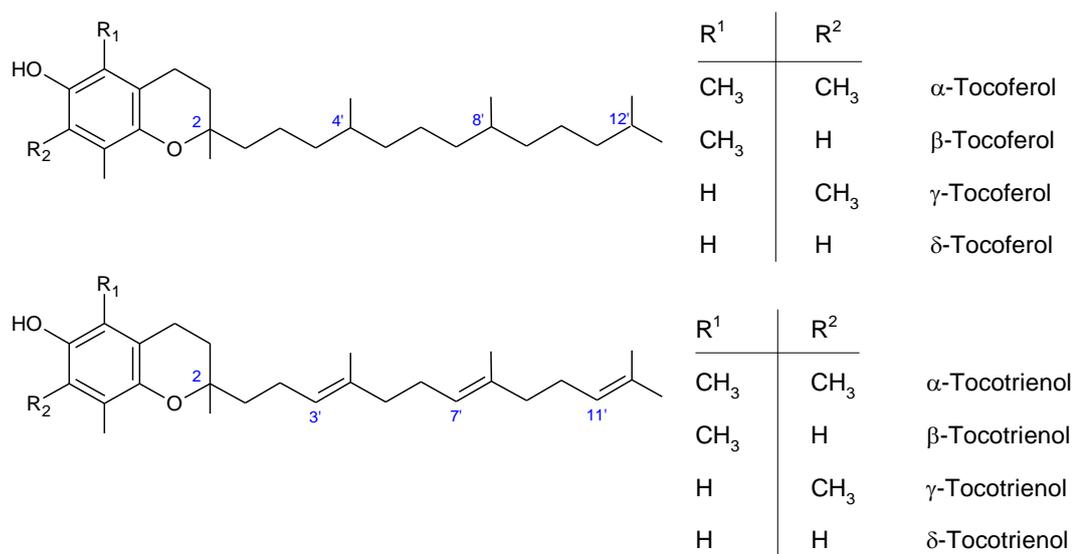
Outras pesquisas ainda atribuem ao  $\gamma$ -orizanol importante capacidade de inibir o aparecimento de tumores, sugerindo uma ação quimiopreventiva (XU; GODBER, 2001). Outros efeitos como, ação antiinflamatória, antialérgica e a prevenção de algumas outras patologias crônicas, como a doença de Alzheimer foram descritos (MAMIYA et al., 2004; OKA et al., 2010).

A ação antiinflamatória do  $\gamma$ -orizanol foi constatada na inibição de reações inflamatórias como a colite grave, em camundongos, com uma dieta contendo 100 mg/dia de  $\gamma$ -orizanol por um período de 18 dias. Os autores propuseram a utilização

deste composto como agente preventivo e/ou terapia no tratamento de doenças inflamatórias no sistema gastrointestinal (ISLAM et al., 2008).

### 2.6.3 Vitamina E

Além do  $\gamma$ -orizanol, a vitamina E, também está presente na fração insaponificável dos lipídeos no arroz e os principais homólogos encontrados são  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocoferol e  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - e  $\delta$ -tocotrienol (Figura 12). Todos os componentes da vitamina E são classificados conforme o número e posição dos grupos metil ligados ao anel aromático e à insaturação da cauda fetal (BERGMANN; XU, 2003).



(Fonte: QURESHI et al., 2001)

**Figura 12.** Estrutura dos isômeros do tocoferol e tocotrienol.

No arroz integral, o conteúdo de tocóis totais é de 10 a 50 mg/kg enquanto no óleo de farelo de arroz os teores são maiores na faixa de 196 a 219 mg/kg (AGUILAR-GARCIA et al., 2007; HEINEMANN et al., 2008). Estas concentrações podem ser influenciadas pelo tipo de cultivar e fatores ambientais de cultivo do grão (LLOYD; SIEBENMORGEN; BEERS, 2000).

Os homólogos da vitamina E em cereais apresentam, além do efeito vitamínico, elevada atividade antioxidante podendo desempenhar papel importante na redução do risco de doenças crônico-degenerativas, doenças cardiovasculares e aparecimento de tumores (BRAMLEY et al., 2000; QURESHI et al., 2001; TIWARI; CUMMINS, 2009).

Ao contrário de outras fontes de vitamina E, normalmente ricas em  $\alpha$ -tocoferol, o arroz se destaca pela elevada quantidade de  $\gamma$ -tocotrienol. Alguns estudos afirmam que os tocotrienóis são mais efetivos na ação antioxidante do que os tocoferóis e que possuem maior proteção contra alguns radicais livres (KHOR; NG, 2000; CICERO; GADDI, 2001).

O efeito hipolipidêmico do tocotrienol está relacionado com um mecanismo de inibição da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A redutase (HMGCoA), enzima chave na síntese endógena de colesterol. Esse mecanismo de inibição funciona de maneira dose-dependente, além de ser influenciada pela concentração de  $\alpha$ -tocoferol que ativa a transcrição da enzima, causando o efeito contrário (CICERO; GADDI, 2001).

Esse efeito foi observado em um estudo realizado com suínos, que receberam injeções intraperitoneais de tocoferol e tocotrienol por seis dias consecutivos. O tocoferol em baixa concentração (5 mg) inibiu em 46% a atividade da HMGCoA redutase, porém em dose maior (50 mg) ocorreu uma estimulação na atividade da enzima em 90%, em relação ao controle. Já, com relação ao tocotrienol, uma dose de 10 mg foi suficiente para reduzir a atividade da HMGCoA redutase em 48%, porém uma inibição menor (13%) foi observada quando a mesma dose de tocotrienol foi administrada juntamente com 5 mg de tocoferol (KHOR; NG, 2000).

## **2.7 Atividade antioxidante**

O termo antioxidante refere-se a qualquer substância que, presente em baixas concentrações quando comparada a do substrato oxidável, retarda ou inibe a oxidação deste substrato, impedindo ou diminuindo o excesso de radicais livres e o conseqüente dano celular (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2007).

As características de um bom antioxidante em sistema biológico são a presença de substituintes doadores de elétrons ou de hidrogênio ao radical livre, a capacidade de deslocamento do radical formado em sua estrutura, a capacidade de quelar metais de transição envolvidos nos processos oxidativos e a acessibilidade ao local de ação (MANACH et al., 2004).

A respiração celular e o conseqüente consumo de oxigênio oferecem vantagem metabólica sobre a vida anaeróbia porque a oxidação de combustíveis moleculares, como glicose e ácidos graxos, pode ser completa e produzir quantidades consideráveis de energia livre, indispensável para o funcionamento das vias metabólicas. Todavia, o metabolismo do oxigênio também gera, intencionalmente ou não, uma série de subprodutos reativos e potencialmente tóxicos conhecidos como radicais livres, moléculas com um elétron desemparelhado em sua órbita externa. Esta configuração faz dos radicais livres moléculas altamente instáveis, de meia-vida curta e quimicamente muito reativas (AUGUSTO, 2006).

Os radicais livres são formados por fontes endógenas, originando-se de processos que normalmente ocorrem no organismo como o transporte de elétrons na cadeia respiratória e a redução de flavinas e tióis, que são coenzimas de cicloxigenases, lipoxigenases, desidrogenases e peroxidases. Fatores externos como tabagismo, poluição do ar, exercício físico intenso, consumo excessivo de álcool, medicamentos como anestésicos, radiação e ingestão de pesticidas constituem importantes fontes exógenas, geradoras de radicais livres (SOARES, 2002).

A partir do primeiro radical de oxigênio (ânion radical superóxido,  $O_2^{\cdot-}$ ), que resulta da redução de um elétron do oxigênio molecular na cadeia de transporte de elétrons, podem formar-se várias espécies secundárias que disparam reações em cadeia, que, por sua vez, amplificam o processo e ocasionam a oxidação de biomoléculas, incluindo proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos e açúcares. As alterações oxidativas nas biomoléculas podem conduzir a mudanças nas funções biológicas e, às vezes, provocar injúria celular. Por isso, a geração de radicais livres nas células é considerada classicamente um evento indesejável e, intimamente, ligado ao envelhecimento (AUGUSTO, 2006).

O organismo humano dispõe de um efetivo sistema de desintoxicação do excesso de radicais livres, capaz de neutralizar suas ações prejudiciais. Este sistema inclui enzimas com ação antioxidante, como a superóxido dismutase, glutaciona peroxidase, glutaciona redutase e catalase. Além de enzimas, o organismo utiliza moléculas que atuam como antioxidantes e são classificadas em dois grupos: as de alto peso molecular como as proteínas albumina e ferritina, e as de baixo peso molecular como a glutaciona e o ácido úrico.

Adicionalmente, o organismo pode se beneficiar da presença de micronutrientes e compostos bioativos em alimentos, tais como as vitaminas E e C, flavonoides, ácidos fenólicos e seus derivados, taninos entre outros, que possuem capacidade antioxidante e podem atuar como auxiliares do sistema antioxidante endógeno (ISSA; VOLATE; WARGOVICH., 2006).

Em função do balanço entre as velocidades de produção e a capacidade de desintoxicação do organismo, os radicais livres tanto podem colaborar na destruição de invasores patogênicos durante a resposta imunológica celular provocada por macrófagos, neutrófilos e eosinófilos, como participar de eventos indesejáveis, disparando processos agudos e crônicos, principalmente, inflamação, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas. Diante da crescente compreensão do papel que os radicais livres podem assumir na patologia humana, grande esforço de pesquisa tem sido feito para a busca de moléculas antioxidantes especialmente as que estejam naturalmente presentes na alimentação humana.

A função protetora dos compostos fenólicos e outros fitoquímicos, como  $\gamma$ -orizanol e tocóis, contra danos oxidativos ocorre tanto nos alimentos que os contêm, como também no organismo humano, após a sua ingestão. É por esse motivo que, além de quantificar o teor dos fitoquímicos, é comum avaliar a atividade antioxidante desses extratos pelos mais diversos métodos. Algumas dessas análises envolvem transferência de hidrogênio e outras, transferência de elétrons (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

A maioria dos procedimentos com transferência de átomos de hidrogênio está baseada na competição entre o antioxidante e o substrato pelos radicais peróxidos gerados. Alguns desses ensaios mais conhecidos são ORAC (*oxygen*

*radical absorbance capacity*), TRAP (*total radical trapping antioxidant parameter*) e inibição de oxidação de LDL (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

Em contrapartida, os ensaios baseados em transferência de elétrons medem a capacidade de um antioxidante reduzir um oxidante, que muda de cor ao ser reduzido. Esses ensaios incluem DPPH<sup>·</sup> (método de seqüestro do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil), FRAP (ferric ion reducing antioxidant Power) e ABTS<sup>·+</sup> (método de seqüestro do radical (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin) 6-ácido sulfônico) (HUANG; OU; PRIOR, 2005).

Assim, não existe atualmente um único método de referência para a avaliação da capacidade antioxidante em diferentes matrizes alimentares. Nesse caso, é comum utilizar dois ou mais métodos de forma que haja a complementação das informações e um melhor entendimento sobre as características dos antioxidantes presentes na amostra.

Em trabalhos recentes sobre atividade antioxidante de arroz integral, há um consenso de que as variedades pigmentadas apresentam atividade antioxidante muito maior, da ordem de pelo menos 3 vezes, do que as não pigmentadas em função da presença acentuada de compostos fenólicos no pericarpo dos grãos (KAWASSAKI, 2011; CHEN et al., 2012; MIN et al., 2012).

## **2.8 Biodisponibilidade e metabolização dos compostos fenólicos**

A absorção e o metabolismo dos compostos fenólicos são determinados primariamente pela sua estrutura química, conjugação com outras substâncias, grau de polimerização e solubilidade (KARAKAYA, 2004).

A biodisponibilidade dos compostos fenólicos ainda é regida por outras variáveis, tais como metabolização pela microflora intestinal, cinética plasmática, natureza dos metabólitos circulantes, ligação à albumina, captação celular, metabolismo intracelular, acúmulo nos tecidos e excreção biliar e urinária. Todas essas variáveis dificultam a integração das informações e a relação com seus efeitos fisiológicos (MANACH et al., 2005).

Um dos fatores que afeta a absorção é o peso molecular. Os fenólicos de menor peso molecular, em especial os ácidos fenólicos solúveis, parecem ser facilmente absorvidos no intestino delgado.

Outro fator é a glicosilação dos compostos fenólicos. Nos alimentos, estes se encontram majoritariamente na forma glicosilada. De maneira geral, os flavonoides podem ser absorvidos tanto na forma glicosilada quanto na forma aglicona. No intestino de ratos, a absorção da forma glicosilada parece ocorrer através do transportador de glicose sódio-dependente (SGLT1) encontrado no epitélio do intestino delgado e, depois a forma aglicona é liberada pela ação de glicosidases citossólicas. Os flavonoides podem também ser absorvidos na forma aglicona por meio de difusão passiva após a hidrólise da ligação glicosídica por meio da ação de hidrolases intestinais, como a LPH (lactase/floridzinahidrolase). E ainda, a deglicosilação pode ocorrer pela flora colônica (MANACH et al., 2004).

A concentração de compostos fenólicos no cólon pode chegar a centenas de micromols por litro (SCALBERT et al., 2002) fazendo com que, junto com carotenóides, essas substâncias constituam os antioxidantes da dieta presentes no cólon, já que as vitaminas C e E são absorvidas nos segmentos superiores do intestino.

A acilação também influencia na biodisponibilidade. Antocianinas não-aciladas parecem ser mais biodisponíveis que as aciladas, provavelmente porque a acilação aumenta a hidrofobicidade da antocianina diminuindo a interação desta com transportadores, como a bilitranslocase, que interagem principalmente com moléculas hidrofílicas (CHARRON; CLEVIDENCE, 2007).

Diversas classes dos flavonoides, como flavonóis, isoflavonas, flavonas e antocianinas estão presentes nos alimentos na forma de glicosídeos. Assim, o primeiro passo para metabolização desses compostos é a remoção do açúcar por glicosidases. Após a hidrólise, as agliconas passam a ser metabolizadas em vários ácidos aromáticos. Assim, os flavonóis produzem principalmente ácido hidroxifenilacético, enquanto, flavonas e flavanonas, principalmente, ácido hidroxifenilpropiônico. Já os flavanóis geram majoritariamente, fenilvalerolactonas e ácidos hidroxifenilpropiônicos. Esses ácidos são posteriormente metabolizados em

derivados do ácido benzóico (MANACH et al., 2004). Os compostos fenólicos podem ainda chegar intactos ao intestino grosso onde são metabolizados pela microflora colônica. A cianidina-3-glicosídeo, antocianina majoritária no arroz-preto que não foi absorvida é metabolizada pela microflora intestinal à cianidina e, a partir desta, a ácido protocatecóico. Estes metabólitos podem então ser absorvidos e apresentar efeitos anti-inflamatórios por meio da inibição da expressão de TNF- $\alpha$ , IL- $\beta$  e COX-2 (MIN; RYU; KIM, 2010).

A absorção das proantocianidinas difere da dos demais flavanóides devido ao alto peso molecular que limita a sua absorção no intestino delgado, pois os oligômeros maiores que trímeros parecem não ser absorvidos na forma nativa. Em estudos *in vitro*, utilizando monocamada de células Caco-2 como modelo de absorção no intestino delgado, foi demonstrado que apenas dímeros e trímeros de flavanóis são capazes de atravessar o epitélio intestinal (DEPREZ et al., 2001). Dímeros de proantocianidinas já foram detectados em plasma humano e mostraram potente atividade antioxidante (SOBRATTEE et al., 2005). Assim, as proantocianidinas, presentes em alta concentração nas dietas ricas em polifenóis, podem exercer principalmente efeitos locais no trato gastrointestinal ou atividade mediada por ácidos fenólicos produzidos por meio da degradação microbiana. Essa atividade local apresenta grande importância, pois o intestino é particularmente exposto a agentes oxidantes e pode ser afetado por inflamação e inúmeras doenças, como câncer (HALLIWELL; ZHAO; WHITEMAN, 2000).

Uma vez absorvidos, os compostos fenólicos são sujeitos a três tipos de conjugação: metilação, sulfatação e glicuronidação. Cada uma dessas reações é catalisada por enzimas distintas. Algumas enzimas envolvidas apresentam polimorfismos e podem ser induzidas ou inibidas pela dieta. Os locais de expressão de cada enzima nos tecidos humanos determinam o metabolismo e a farmacocinética dos compostos fenólicos ingeridos (SCALBERT et al., 2002).

Os metabólitos podem seguir duas vias de excreção: biliar ou urinária. A conjugação atua como uma destoxificação metabólica, comum a vários xenobióticos, facilitando a excreção biliar e urinária, pelo aumento do caráter hidrofílico das estruturas. Os metabólitos com maior grau de conjugação são preferencialmente

eliminados com a bile e passam novamente por ação da  $\beta$ -glicuronidase microbiana, nos segmentos distais do intestino, para serem posteriormente reabsorvidos. Essa reciclagem entero-hepática pode levar a uma permanência prolongada dos compostos fenólicos no organismo, após a ingestão. Já os metabólitos pouco conjugados, como os monossulfatos, são preferencialmente excretados na urina (MANACH et al., 2004).

## **2.9 Efeitos do cozimento do arroz no teor de compostos fenólicos**

Os estudos sobre o efeito do cozimento do arroz nos teores de compostos fenólicos e na sua capacidade antioxidante ainda são praticamente inexistentes.

Em relação aos compostos fenólicos, o cozimento do arroz pode causar reações químicas e alterações físicas complexas, incluindo a liberação de ácidos fenólicos livres a partir de suas formas ligadas, degradação de polifenóis, polimerização de fenólicos e formação de produtos complexos a partir da interação de fenólicos com outros componentes do grão como, por exemplo, proteínas (MASSARETTO et al., 2011).

Poucos estudos com cereais têm sido realizados visando avaliar o efeito do processamento térmico. A maioria demonstrou uma redução significativa nos teores de compostos fenólicos. Tortilhas fabricadas a partir de variedades de milho vermelho, por exemplo, tiveram seus teores de fenólicos solúveis reduzidos em 44% após o processamento em relação aos grãos de milho cru, redução maior do que a observada para as tortilhas produzidas a partir de variedades de milho não pigmentado (35%) (PARRA; SALDIVAR; LIU., 2007). O trigo sarraceno também apresentou teores muito menores de fenólicos solúveis após o processamento térmico. Os principais compostos fenólicos deste cereal são os flavonoides, incluindo proantocianidinas, e com a extrusão, um processo que combina umidade, pressão, temperatura e agitação mecânica, ocorreu redução de 65 a 80% destes compostos (ZIELINSKI et al., 2006).

Finocchiaro et al. (2007) analisaram dois genótipos de arroz integral, um não pigmentado e outro pigmentado (pericarpo vermelho), antes e após o cozimento. Os teores dos ácidos ferúlico e sinápico foram significativamente reduzidos com o cozimento, tanto na amostra pigmentada como na não-pigmentada, e as proantocianidinas do arroz de pericarpo vermelho foram drasticamente reduzidas (70%) na amostra cozida.

Em um estudo com amostras de arroz-vermelho e de arroz não pigmentado, observou-se que o cozimento provocou redução dos fenólicos totais e alteração na proporção entre fenólicos solúveis e insolúveis, sendo que estes últimos passaram a ser predominantes. Essas alterações foram mais pronunciadas no arroz-vermelho, onde o teor de fenólicos totais foi reduzido à metade e os fenólicos insolúveis passaram a representar a maioria dos compostos fenólicos (MASSARETTO et al., 2011).

### 3. OBJETIVOS

---

#### 3.1 Geral

Comparar a composição centesimal, de compostos bioativos e atividade antioxidante entre arroz-preto, vermelho e selvagem por análise multivariada.

#### 3.2 Específicos

- Estudar comparativamente a composição em nutrientes e o perfil de ácidos graxos do arroz-preto, vermelho e selvagem.
- Avaliar quantitativamente os teores de compostos fenólicos totais, flavonoides, proantocianidinas e antocianinas monoméricas presentes no arroz-preto, vermelho e selvagem, cru e cozido.
- Avaliar a capacidade antioxidante de extratos de arroz-preto, vermelho e selvagem, cru e cozido, pelos métodos de seqüestro do radical DPPH<sup>•</sup> e de ORAC.
- Determinar quais variáveis são determinantes na diferenciação do arroz-preto, vermelho e selvagem, utilizando métodos estatísticos multivariados.
- Determinar a composição qualitativa das antocianinas de arroz-preto, cru e cozido, por CLAE-DAD-MS/MS.
- Avaliar quantitativamente os teores de tocoferóis, tocotrienóis e  $\gamma$ -orizanol em arroz-preto e vermelho.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

---

### 4.1 Instituições colaboradoras

\* Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) – Estação Experimental de Itajaí: doação de amostras de arroz-preto e vermelho, desenvolvidas localmente e análise de composição de ácidos graxos por cromatografia a gás.

\* Faculdade de Engenharia de Alimentos / UNICAMP – Laboratório de Química de Alimentos I: análise de separação e identificação de antocianinas do arroz-preto por CLAE-DAD-MS/MS.

\* Faculdade de Ciências Farmacêuticas / USP – Laboratório de Química, Bioquímica e Biologia Molecular de Alimentos: análise de fibra alimentar.

### 4.2 Reagentes

Os solventes, ácidos e bases, grau P.A. foram adquiridos da Labsynth (Brasil). Os solventes e reagentes grau cromatográfico (CLAE) foram obtidos da Merck (Alemanha) e da Mallinckrodt Baker (EUA). Para as análises cromatográficas, as amostras e os solventes foram filtrados utilizando, respectivamente, membranas de 0,22 e 0,45  $\mu\text{m}$  da Millipore.

Padrões de cianidina-3-glicosídeo, cianidina-3-galactosídeo, cianidina-3-rutinosídeo, cianidina-3,5-diglicosídeo, cianidina-3-ramnosídeo, pelargonidina-3-glicosídeo, peonidina-3-glicosídeo, cianidina e pelargonidina foram adquiridos da Extrasynthèse (Genay, França). Padrões de  $\alpha$ -tocoferol,  $\gamma$ -tocoferol,  $\alpha$ -tocotrienol e  $\gamma$ -tocotrienol foram adquiridos da Sigma-Aldrich. O  $\gamma$ -orizanol purificado foi gentilmente cedido pelo laboratório do Dr. Z. Xu e Dr. J. S. Godber (Department of Food Science, LSU Agricultural Center, Baton Rouge, Louisiana).

### 4.3 Amostras

Todas as amostras correspondem a grãos integrais. Foram utilizados dois conjuntos de amostras, o primeiro para comparação da composição centesimal, perfil e teor de compostos fenólicos e atividade antioxidante entre arroz-vermelho, preto e selvagem; o segundo conjunto de amostras foi utilizado para comparar os teores dos fitoquímicos lipossolúveis,  $\gamma$ -orizanol, tocoferol e tocotrienol entre arroz-vermelho e preto.

Foram obtidos cerca de 500 g de cada amostra, as mesmas foram armazenadas em refrigerador ( $4\pm 1^\circ\text{C}$ ) em recipientes de plástico fechados e ao abrigo da luz até o momento das análises e utilizadas até a data de validade.

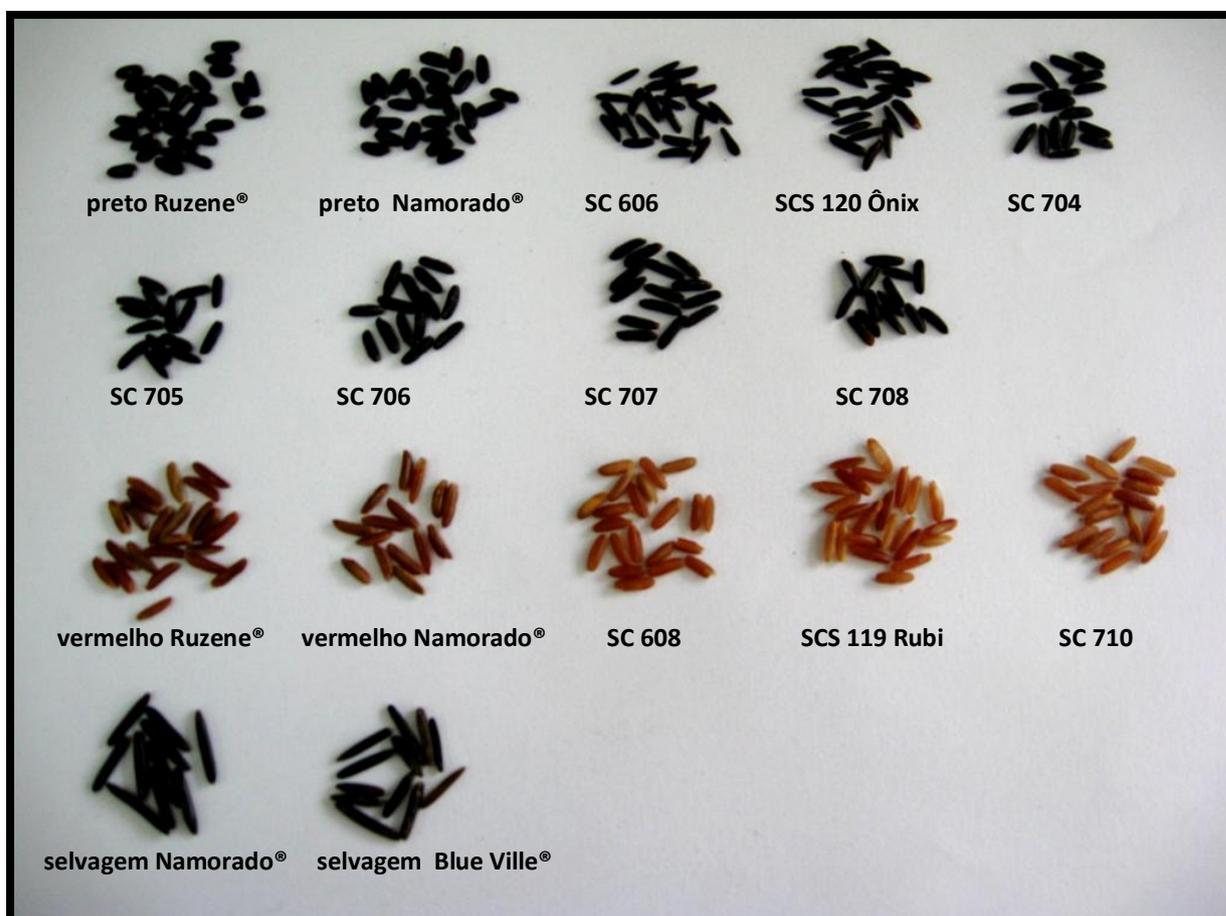
#### **4.3.1 Amostras de arroz para o estudo da composição centesimal, dos compostos fenólicos e da atividade antioxidante**

As amostras utilizadas neste estudo estão ilustradas na Figura 13 e informações como ano da colheita, local de cultivo e dimensões dos grãos estão descritas na Tabela 2.

As amostras de arroz-preto e vermelho (*Oryza sativa* L.) das marcas Ruzene<sup>®</sup> e Namorado<sup>®</sup> foram adquiridas no comércio local da cidade de São Paulo-SP nos anos de 2009 a 2011. As demais amostras de arroz-preto e vermelho, identificadas como “SC” representam genótipos em fase de pesquisa na Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) / Estação Experimental de Itajaí, SC, cultivados em sistema de manejo irrigado e colhidos nos anos de 2009, 2010 e/ou 2011. As cultivares SCS 120 Ônix e SCS 119 Rubi de arroz-preto e de arroz-vermelho, respectivamente, foram lançadas pela Epagri para cultivo comercial em março de 2013.

Foram utilizadas amostras de diferentes safras com o objetivo de aumentar o volume de dados (n) e o poder das inferências estatísticas a partir dos mesmos.

O arroz selvagem (*Zizania* spp.) das marcas Blue Ville® e Namorado® foi adquirido no comércio local da cidade de São Paulo-SP nos anos de 2009 a 2011. O arroz selvagem disponível no mercado brasileiro é importado do Canadá.



**Figura 13.** Amostras de grãos arroz-preto, vermelho e selvagem.

De acordo com a escala proposta por Fonseca, Cutrim e Rangel (2002), o formato dos grãos de arroz (*Oryza sativa* L.) pode ser utilizado para classificá-lo conforme a relação comprimento/largura (C/L) em: arredondado (C/L < 1,50), semi-arredondado (C/L 1,50-2,00), meio-alongado (C/L 2,01-2,75), alongado (C/L 2,76-3,50) e muito alongado (C/L > 3,50).

Essa escala é diferente da descrita na Instrução Normativa IN 6/2009 do Ministério da Agricultura (BRASIL, 2009), que classifica e descreve os grãos de arroz beneficiado no Brasil. Segundo a referida Instrução, o arroz pode ser classificado em longo-fino (comprimento > 6,00 mm e espessura máxima de 1,90 mm, relação C/L >

2,75), longo (comprimento > 6,00 mm), médio (comprimento entre 5,00 e 6,00 mm) ou curto (comprimento < 5,00 mm).

**Tabela 2.** Amostras comerciais e/ou genótipos de arroz integral preto, vermelho e selvagem.

Grupos de amostras	Ano da colheita	Local de produção	Comprimento / Largura (média de 20 grãos em mm)	Relação C/ L
<b>Arroz-preto (grãos médios) - <i>Oryza sativa</i> L.</b>				
Ruzene® (IAC 600)	2009, 2010 e 2011	Pindamonhangaba/SP	5,73 / 2,58	2,22
Namorado®	2009 e 2010	Capão do Leão/RS	5,95 / 2,62	2,27
<b>Arroz-preto (grãos longos) - <i>Oryza sativa</i> L.</b>				
SC 606	2009	Itajaí/SC	6,7 / 1,8	3,72
	2010	Araranguá e Itajaí/SC		
SCS 120 Ônix	2009	Itajaí/SC	7,41 / 1,91	3,88
	2010	Araranguá e Itajaí/SC		
SC 704	2011	Itajaí/ SC	7,54 / 2,20	3,43
SC 705	2011	Itajaí/ SC	8,19 / 2,12	3,86
SC 706	2011	Itajaí/ SC	8,09 / 2,26	3,58
SC 707	2011	Itajaí/ SC	7,94 / 2,22	3,57
SC 708	2011	Itajaí/ SC	7,18 / 2,24	3,20
<b>Arroz-vermelho - <i>Oryza sativa</i> L.</b>				
Ruzene®	2009, 2010 e 2011	Pindamonhangaba/SP	7,92 / 2,32	3,40
Namorado®	2009 e 2011	Capão do Leão/RS	7,45 / 2,33	3,19
SCS 119 Rubi	2010 e 2011	Itajaí/ SC	7,21 / 2,24	3,22
SC 709	2011	Itajaí/ SC	7,15 / 1,98	3,61
SC 710	2011	Itajaí/ SC	6,78 / 1,97	3,44
<b>Arroz selvagem – <i>Zizania spp.</i></b>				
Blue Ville®	2009, 2010 e 2011	Canadá	N.A.	N.A.
Namorado®	2009, 2010 e 2011	Canadá	N.A.	N.A.

C/L: relação comprimento:largura

N.A.: não se aplica, classificação utilizada somente para grãos da espécie *Oryza sativa* L.

SC – Linhagens em desenvolvimento

SCS – Cultivares comerciais

A escala proposta por Fonseca, Cutrim e Rangel (2002) fornece informações mais detalhadas a respeito do formato do grão e da relação deste com a proporção farelo:endosperma no grão. Assim, quanto maior a relação C/L do grão, maior a superfície de revestimento do farelo e, portanto, maior a proporção farelo:endosperma.

As amostras de arroz-preto deste trabalho eram heterogêneas em relação às dimensões dos grãos e, em função disso, foram divididas em dois grupos de acordo com a relação comprimento / largura (C/L) do grão: grãos médios ou meio-alongados (C/L 2,01-2,75) e grãos longos que compreendem os grãos alongados (C/L 2,76-3,50) e muito alongados (C/L > 3,50), sendo que os grãos muito alongados corresponderam a cinco dos sete genótipos desse grupo.

As amostras de arroz-vermelho, constituídas de grãos com dimensões semelhantes entre si e de formato alongado, foram todas reunidas em um só grupo para o tratamento estatístico dos dados.

#### **4.3.2 Amostras de arroz para a análise dos compostos bioativos lipossolúveis**

As amostras de arroz-preto e vermelho (*Oryza sativa* L.) da marca Ruzene<sup>®</sup> foram adquiridas no comércio local da cidade de São Paulo-SP enquanto que as demais representam cultivares ou genótipos em fase de pesquisa na Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) / Estação Experimental de Itajaí, SC, todas provenientes da safra de 2012/2013, com ano de colheita em 2013.

Neste estudo não foram utilizadas amostras de arroz selvagem porque em testes preliminares, a fração insaponificável deste grão apresentou um perfil muito diferente do encontrado nas amostras de arroz (*Oryza sativa* L.). Portanto, serão necessários no futuro estudos mais aprofundados para a identificação e quantificação dos fitoquímicos lipossolúveis presentes no arroz selvagem.

As amostras foram armazenadas em refrigerador ( $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) em recipientes plásticos fechados e ao abrigo da luz até o momento das análises. Informações como safra ou lote, local de cultivo e dimensões dos grãos estão descritas na Tabela 3.

**Tabela 3.** Amostras comerciais e/ou genótipos de arroz-preto e vermelho.

Grupos de amostras	Ano da colheita	Local de produção	Comprimento / Largura (média de 20 grãos em mm)	Relação C/ L
<b>Arroz-preto</b>				
Ruzene <sup>®</sup>	2013	Pindamonhangaba/SP	5,73 / 2,58	2,22
SCS 120 Ônix	2013	Itajaí/SC	7,41 / 1,91	3,88
SC 704	2013	Itajaí/ SC	7,54 / 2,20	3,43
SC 705	2013	Itajaí/ SC	8,19 / 2,12	3,86
SC 706	2013	Itajaí/ SC	8,09 / 2,26	3,58
SC 707	2013	Itajaí/ SC	7,94 / 2,22	3,57
SC 708	2013	Itajaí/ SC	7,18 / 2,24	3,20
<b>Arroz-vermelho</b>				
Ruzene <sup>®</sup>	2013	Pindamonhangaba/SP	7,92 / 2,32	3,40
SCS 119 Rubi	2013	Itajaí/ SC	7,21 / 2,24	3,22
SC 709	2013	Itajaí/ SC	7,15 / 1,98	3,61
SC 710	2013	Itajaí/ SC	6,78 / 1,97	3,44

C/L: relação comprimento:largura  
 SC – Linhagens em desenvolvimento  
 SCS – Cultivares comerciais

#### 4.4 Análise de composição de nutrientes

##### 4.4.1 Preparo das amostras

Os grãos de arroz para análise centesimal foram selecionados, excluindo-se impurezas, grãos partidos ou avariados. As amostras foram trituradas em moinho analítico (Analytical Mill A10, Kinematica GAC, Luzern, Switzerland) e a farinha passada por peneira com malha de 80 mesh (<0,177 mm) e armazenada em refrigerador. Todas as análises foram realizadas em triplicata e em até 24 horas após a moagem dos grãos e os resultados expressos em g por 100 g de arroz em base seca.

#### **4.4.2 Determinação de umidade**

A umidade das amostras foi determinada por secagem em estufa a 105 °C até peso constante (AOAC, 1995). A análise foi feita em triplicata com 5 g de cada amostra e foram necessárias aproximadamente 6 horas para que as amostras atingissem peso constante.

#### **4.4.3 Determinação de resíduo mineral**

O resíduo mineral foi determinado por combustão da matéria orgânica em mufla a 550 °C (AOAC, 1995). Cada amostra de 5 g foi pesada em cadinho de porcelana calcinado e previamente tarado. A amostra foi previamente incinerada em chapa elétrica até total carbonização e, posteriormente, submetida à combustão completa da matéria orgânica em mufla por aproximadamente 8 horas.

#### **4.4.4 Determinação de proteínas**

O teor de protéico foi determinado pelo método de micro-Kjeldahl (N x 5,75) (AOAC, 1995). O método consiste na digestão da amostra (100 mg) com ácido sulfúrico na presença de sulfato de cobre e sulfato de potássio. O nitrogênio presente na proteína é reduzido e convertido a sulfato de amônio, que após a adição de hidróxido de sódio 40% é liberado na forma de amônia e recolhida em ácido bórico. Em seguida, o borato de amônio formado é titulado com ácido clorídrico 0,01M padronizado com carbonato de sódio. A quantidade de nitrogênio total é calculada pela fórmula abaixo:

$$\% \text{ Nitrogênio} = \frac{(V_{\text{HCl}} - V_{\text{branco}}) \times M \times fc \times 14,007 \times 100}{M_{\text{arroz}}}$$

Sendo:

$V_{\text{HCl}}$  = volume (mL) de HCl gasto na titulação da amostra

$V_{\text{branco}}$  = volume (mL) de HCl gasto na titulação do branco

M = molaridade do HCl

$fc$  = fator de correção do HCl

14,007 = massa molecular do nitrogênio

100 = fator de conversão para porcentagem

$M_{\text{arroz}}$  = massa inicial (g) da amostra

Para a conversão do teor de nitrogênio em proteína o resultado obtido a partir da fórmula acima foi multiplicado por 5,75. Este é o fator proposto pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) para alimentos de origem vegetal.

#### **4.4.5 Determinação de lipídeos**

Os lipídeos totais foram quantificados por extração contínua em aparelho tipo Soxhlet, empregando-se éter etílico como solvente (AOAC, 1995). Os cartuchos para extração, contendo 5 g de amostra, foram preparados com papel de filtro e, então, colocados em extratores de Soxhlet e acoplados a balões de fundo chato, previamente tarados. Foi adicionado éter etílico a cada extrator e o sistema aquecido durante 8 horas, provocando o refluxo do éter e o arraste dos lipídeos da amostra. Após esse período, o éter condensado no extrator foi recolhido e o solvente residual eliminado por meio do aquecimento do balão em capela. O balão contendo o óleo foi tarado em estufa a 105 °C durante uma hora para posterior resfriamento e pesagem.

#### **4.4.6 Determinação de fibra alimentar total**

A fibra alimentar total foi determinada pela soma dos teores de fibra solúvel e insolúvel, analisadas de acordo com o método no. 991.43 da AOAC (1995) baseado em princípio enzimático e gravimétrico. Um grama de amostra foi submetido à digestão enzimática seqüencial com  $\alpha$ -amilase termoestável, protease e amiloglicosidase, para a solubilização e remoção de amido e proteínas, utilizando o kit Total Dietary Fibre Assay Kit K-TDFR (Megazyme). Em seguida, a fibra insolúvel foi separada da suspensão em cadinho filtrante de placa porosa forrado com lã de vidro. O filtrado foi adicionado de etanol para a precipitação da fibra solúvel. O precipitado e o resíduo, contendo fibra solúvel e fibra insolúvel, respectivamente,

foram lavados com etanol e acetona, em concentrações crescentes, secos e depois pesados.

#### **4.4.7 Teor de carboidratos disponíveis por diferença**

Os carboidratos disponíveis foram calculados descontando-se de 100 os teores percentuais de umidade, proteínas, lipídeos, resíduo mineral e fibra alimentar conforme AOAC (1995).

#### **4.5 Análise de ácidos graxos**

Os lipídeos das amostras foram primeiramente extraídos com hexano e depois submetidos à hidrólise alcalina com KOH 0,5 M em metanol a 80 °C por uma hora, em seguida foram esterificados com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1,0 M em metanol sob aquecimento de 80 °C por uma hora. Os ésteres metílicos formados foram recuperados com hexano.

A análise dos ésteres foi realizada em cromatógrafo a gás GC 17A Shimadzu, equipado com detector de ionização de chama (FID) e coluna capilar de sílica fundida Supelco SP2340 de 60 m, 0,25 mm de d.i. e 0,2 µm de espessura da fase estacionária. As temperaturas do detector e do injetor foram de 260 °C e 240 °C, respectivamente. A programação de aquecimento da coluna foi iniciada com 140 °C por 5 minutos e aumento gradual de 4 °C/min até a temperatura final de 240 °C, permanecendo nesta temperatura por 5 minutos. O gás de arraste utilizado foi hidrogênio a uma vazão de 17 mL/min. O volume de injeção foi de 0,5 µL com razão de split de 1:100. A composição qualitativa e quantitativa dos ácidos graxos foi determinada por comparação de tempo de retenção e da área dos picos das amostras com os respectivos padrões de ésteres metílicos de ácidos graxos (47885-U FAME mix, Supelco, EUA). Os teores de ácidos graxos foram apresentados em g por 100 g de amostra.

## **4.6 Análise de compostos fenólicos**

Os teores de compostos fenólicos totais e de flavonoides foram determinados em todas as amostras de arroz-preto, vermelho e selvagem. Já as antocianinas monoméricas totais foram quantificadas somente no arroz-preto, uma vez que o arroz-vermelho e o arroz selvagem apresentaram teores destes compostos abaixo do limite de quantificação do método (15,5 mg/100g de arroz). A quantificação dos taninos condensados foi realizada somente no arroz-vermelho e no arroz selvagem, pois as antocianinas presentes no arroz-preto interferem nos métodos espectrofotométricos de quantificação taninos.

### **4.6.1 Cozimento das amostras**

Cada amostra foi cozida em fogão elétrico, partindo-se de 100 g de arroz e cerca de 300 mL de água destilada. A proporção arroz:água e o tempo de cozimento variaram em função da pigmentação do pericarpo. De forma geral, a proporção arroz:água (g:mL) para as amostras de arroz-preto e de arroz-vermelho foi de 100:300 e para o arroz selvagem foi de 100:350. O tempo de cozimento necessário para a obtenção de grãos “al dente” do arroz-preto e vermelho foi de 35 minutos e do arroz selvagem foi de 45 min. As amostras de arroz cozido foram congeladas e liofilizadas.

### **4.6.2 Preparo das amostras para a análise de compostos fenólicos**

As amostras cruas e as amostras cozidas liofilizadas foram trituradas em moinho analítico (Analytical Mill A10, Kinematica GAC, Luzern, Switzerland), peneiradas a 80 mesh (<0,177 mm). Todas as extrações foram realizadas em triplicata.

#### **4.6.3 Extração de compostos fenólicos totais**

A metodologia de extração dos compostos fenólicos foi baseada no método descrito por Mira et al. (2009), com adaptações realizadas a partir de testes de otimização.

Os compostos fenólicos de arroz-vermelho cru foram extraídos a partir de 2,0 g de farinha de arroz com 15 mL de metanol/água (70:30; v/v) utilizando banho ultrassônico por 30 minutos à temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C). A suspensão foi então agitada em vórtex por 1 minuto e centrifugada a 7000 g por 5 minutos e o sobrenadante filtrado em papel de filtro e recolhido em balão volumétrico âmbar de 50 mL. O processo de extração foi repetido mais uma vez empregando 15 mL de solução extratora. Após centrifugação, o sobrenadante foi filtrado e combinado ao sobrenadante previamente recolhido. O volume foi ajustado para 50 mL com solução extratora e o extrato armazenado a -18°C no escuro.

Os compostos fenólicos de arroz selvagem cru, arroz selvagem cozido e arroz-vermelho cozido foram extraídos a partir de 2,0 g de farinha de arroz com 10 mL de metanol/água (70:30; v/v) utilizando banho ultrassônico por 30 minutos à temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C). A suspensão foi então agitada em vórtex por 1 minuto e centrifugada a 7000 g por 5 minutos e o sobrenadante filtrado em papel de filtro e recolhido em balão volumétrico âmbar de 25 mL. O processo de extração foi repetido mais uma vez empregando 10 mL de solução extratora. Após centrifugação, o sobrenadante foi filtrado e combinado ao sobrenadante previamente recolhido. O volume foi ajustado para 25 mL com solução extratora e o extrato armazenado a -18°C no escuro. O mesmo procedimento acima foi utilizado para a extração de compostos fenólicos de arroz-preto cozido utilizando metanol/água/ácido acético (70:30:0,5; v/v/v) como solvente.

Os compostos fenólicos de arroz-preto cru foram extraídos a partir de 1,0 g de farinha de arroz com 15 mL de metanol/água/ácido acético (70:30:0,5; v/v/v) utilizando banho ultrassônico por 30 minutos à temperatura ambiente ( $25 \pm 2$  °C). A suspensão foi então agitada em vórtex por 1 minuto e centrifugada a 7000 g por 5 minutos e o sobrenadante filtrado em lã de vidro e recolhido em balão volumétrico âmbar de 50 mL. O processo de extração foi repetido mais uma vez empregando 15

mL de solução extratora. Após centrifugação, o sobrenadante foi filtrado e combinado ao sobrenadante previamente recolhido. O volume foi ajustado para 50 mL com solução extratora e o extrato armazenado a  $-18^{\circ}\text{C}$  no escuro.

#### **4.6.4 Extração de antocianinas monoméricas totais**

A metodologia de extração de antocianinas monoméricas totais foi baseada nos métodos descritos por Sompong et al. (2011), com adaptações.

As antocianinas foram extraídas a partir de 1,0 g de farinha de arroz-preto cru com 50 mL de etanol 95%/HCl (85:15; v/v) utilizando banho ultrassônico por 30 minutos à temperatura ambiente ( $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ). A suspensão foi então centrifugada a 7000 g por 10 minutos e o sobrenadante filtrado em lã de vidro e recolhido em balão volumétrico âmbar de 250 mL. O processo de extração foi repetido mais uma vez empregando 50 mL de solução extratora. Após centrifugação, o sobrenadante foi filtrado e combinado ao sobrenadante previamente recolhido. A lã de vidro foi lavada com o volume de solução extratora necessário para completar 250 mL de extrato e, em seguida, o mesmo foi armazenado a  $-18^{\circ}\text{C}$  no escuro.

As antocianinas das amostras de arroz-preto cozido foram extraídas empregando o mesmo procedimento descrito acima, no entanto foram utilizados 2,0 g de amostra.

#### **4.6.5 Quantificação de compostos fenólicos totais**

O teor de compostos fenólicos totais foi determinado pela reação com o reagente Folin-Ciocalteu de acordo com o método de Singleton et al. (1999), com pequenas modificações. Diluições apropriadas de cada extrato obtido no item 4.5.4 foram oxidadas com 500  $\mu\text{L}$  de reagente de Folin-Ciocalteu e após 3 a 8 minutos alcalinizadas com 4000  $\mu\text{L}$  de NaOH 0,5 M. À solução resultante foi adicionada água destilada de forma a completar 10 mL de volume de reação e, então, homogeneizada com vórtex e deixada em repouso por 2 horas no escuro. A absorbância da cor azul resultante foi medida utilizando o espectrofotômetro de UV-visível (UV 160, Shimadzu, Japan) no comprimento de onda de 760 nm contra um

branco de reagentes. O teor de fenólicos de cada extrato foi calculado utilizando curva padrão de ácido ferúlico (2,5-10,0 mg/L), o principal ácido fenólico do arroz, e expresso em mg equivalentes de ácido ferúlico por 100 g de arroz em base seca.

#### **4.6.6 Quantificação de flavonoides**

O teor de flavonoides foi determinado utilizando o método colorimétrico descrito por Xu e Chang (2007). Alíquotas de 500 µL de cada extrato obtido no item 4.5.4 foram diluídas com 1275 µL de água destilada e depois reagiram com 75 µL de NaNO<sub>2</sub> a 5%. Após 6 minutos de reação foram adicionados 150 µL de AlCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O a 10% e a mistura homogeneizada com vórtex. Após mais 5 minutos, foram adicionados 500 µL NaOH 1 M. A absorbância da solução resultante foi medida em 510 nm em espectrofotômetro de UV-visível (UV 160, Shimadzu, Japan) contra um branco de reagentes. O teor de flavonoides de cada extrato foi calculado utilizando curva padrão de catequina (7,5-25,0 mg/L) e expresso em mg equivalentes de catequina por 100 g de arroz em base seca.

#### **4.6.7 Quantificação de proantocianidinas**

A quantificação de proantocianidinas foi realizada utilizando o método descrito por Xu e Chang (2007), com modificações. Alíquotas de 500 µL de cada extrato obtido no item 4.5.4 foram adicionadas de 3000 µL de vanilina a 4% em metanol e, em seguida, reagiram com 1500 µL de HCl concentrado. A absorbância da solução resultante foi medida em 500 nm em espectrofotômetro de UV-visível (UV 160, Shimadzu, Japan) contra um branco de reagentes. O teor de taninos condensados de cada extrato foi calculado utilizando curva padrão de catequina (5,0-25,0 mg/L) e expresso em mg equivalentes de catequina por 100 g de arroz em base seca.

#### 4.6.8 Quantificação de antocianinas monoméricas totais

O teor de antocianinas monoméricas totais foi determinado de acordo com o método proposto por Abdel-Aal e Hucl (1999), com pequenas modificações na quantidade de amostra e no volume de solvente utilizados. As absorvâncias dos extratos obtidos em 4.5.5 foram medidas utilizando o espectrofotômetro de UV-visível (UV 160, Shimadzu, Japan) no comprimento de onda de 535 nm.

O teor de antocianinas monoméricas totais foi calculado de acordo com a fórmula abaixo que leva em consideração a absorvidade molar da cianidina-3-glicosídeo, a antocianina predominante em arroz-preto:

$$AMT = \frac{A_{535 \text{ nm}} \times MM \times V}{\times l \times m}$$

Sendo:

$A_{535 \text{ nm}}$  = absorvância em 535 nm;

MM = massa molar de cianidina-3-glicosídeo (449 g/mol);

V = volume total (250 mL);

$\epsilon$  = coeficiente de extinção molar de cianidina-3-glicosídeo a 535 nm (25965 L.mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>) em etanol 95%/HCl;

l = distância percorrida pela luz (1 cm);

m = massa inicial da amostra, em base seca (g)

O teor de cada amostra foi expresso em mg equivalentes de cianidina-3-glicosídeo por 100 gramas de amostra em base seca.

### 4.7 Análise da composição de antocianinas por CLAE-DAD-MS/MS

#### 4.7.1 Preparo do extrato

As antocianinas foram extraídas a partir de 5,0 g de farinha de arroz-preto, utilizando 50 mL de solução de metanol contendo 1% de HCl durante 8 h em repouso sob refrigeração (DEGENHARDT et al., 2000). O extrato foi filtrado à vácuo

e o resíduo reextraído. Os extratos filtrados foram combinados e concentrados em evaporador rotativo a 30 °C e depois secos com nitrogênio líquido.

O extrato seco foi ressuspenso com solução aquosa 0,5% de ácido clorídrico para um volume final de 25 mL. O precipitado foi descartado e uma alíquota de 15 g do sobrenadante foi diluída com 50 mL de solução aquosa de ácido fórmico 10%. O extrato diluído foi então particionado três vezes com 150 mL de acetato de etila em um funil de separação e a fase aquosa foi recolhida. Para a remoção principalmente de açúcares, o extrato diluído foi aplicado em coluna aberta de 25 x 3 cm empacotada com resina Amberlite-XAD 7 (Sigma-Aldrich, Alemanha), seguido de lavagem com 1 L de água deionizada. A eluição das antocianinas foi realizada com 500 mL de solução de metanol/ácido acético (19:1, v/v) (DEGENHARDT et al., 2000). O eluato foi concentrado em evaporador rotativo e armazenado sob atmosfera de nitrogênio a -35 °C até a análise por CLAE-DAD-MS/MS.

Imediatamente antes da injeção no cromatógrafo CLAE-DAD-MS/MS, o extrato concentrado foi suspenso em solução 5% de ácido fórmico em água/metanol (90:10, v/v) (condição inicial do gradiente da fase móvel), agitado em vortex por um minuto e filtrado em membrana de 0,22 µm.

#### **4.7.2 Separação e identificação por CLAE-DAD-MS/MS**

A análise por CLAE-DAD-MS/MS foi realizada em um cromatógrafo líquido de alta eficiência (modelo LC-20AD, Shimadzu, Japão) acoplado aos detectores de arranjo de diodos (modelo SPD-M20, Shimadzu) e ao espectrômetro de massas equipado com analisador de massa/carga *ion trap* (Bruker Daltonics, modelo Esquire 4000, Alemanha). A separação foi realizada em uma coluna C<sub>18</sub> Shim-pack CLC-ODS (5 µm, 250 mm x 4,6 mm) (Shimadzu) utilizando como fase móvel um gradiente linear de água/metanol, ambos acrescidos de 5% de ácido fórmico, de 90:10 para 60:40 em 20 min., seguindo para 20:80 em 15 min e mantendo esta proporção por mais 5 min. O fluxo foi de 0,9 mL/min e a temperatura da coluna foi ajustada para 29 °C (FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011). Após a passagem pelo detector DAD, o fluxo foi dividido de forma que apenas 0,15

mL/min entrassem na fonte de ionização. A ionização foi realizada por eletrospray (ESI) no modo positivo e os parâmetros foram ajustados em: voltagem no capilar de 2,5 kV; voltagem de saída no capilar de 95,2 kV; energia de fragmentação de 1,2 V; temperatura do gás secante (N<sub>2</sub>) foi de 350 °C, com fluxo de 8 L/min; nebulizador a 30 psi; *end plate offset* -500 V. Os espectros de massas foram adquiridos na faixa de valores de *m/z* entre 100 e 1000 e o MS/MS foi adquirido no modo automático com energia de fragmentação MS/MS de 1,2 V.

A identificação das antocianinas foi realizada com base na combinação dos seguintes parâmetros: ordem de eluição em coluna de fase reversa e características dos espectros de UV-vis e de massas bem como por comparação com dados disponíveis na literatura (HIEMORI; KOH; MITCHELL, 2009).

#### **4.8 Atividade antioxidante**

A atividade antioxidante dos extratos de compostos fenólicos (4.5.4) foi medida pelos métodos de DPPH<sup>·</sup> e ORAC.

##### **4.8.1 Método de sequestro do radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH<sup>·</sup>)**

A reação foi realizada com base no método descrito por Brand-Williams et al. (1995) e adaptado para microplaca transparente de poliestireno de fundo chato, com 96 poços e capacidade de 300 µL por poço. Alíquotas de 50 µL de extratos de arroz foram pipetadas em cada cavidade e, imediatamente antes da primeira leitura de absorbância foram adicionados 150 µL de solução metanólica de DPPH<sup>·</sup> (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) 7x10<sup>-5</sup>M. Foram utilizados 50 µL de metanol 70%, como branco e controle da reação.

A cinética da redução do radical DPPH foi monitorada medindo-se o decréscimo da absorbância a 517 nm em leitor de placas (Synergy HT, Bio Tek Instruments, Inc., USA) a cada 10 minutos, até a absorbância permanecer constante. A partir dos valores de absorbância nos tempos de 0 e 30 min, foram determinados os percentuais de DPPH<sup>·</sup> remanescentes (% DPPH<sup>·</sup><sub>REM</sub>), conforme a equação:

$$\% \text{ DPPH}^{\cdot}_{\text{REM}} = (\text{Abs}_{\text{T=t}} / \text{Abs}_{\text{controle}}) \times 100$$

Sendo:

$\text{Abs}_{\text{T=t}}$  = média das absorvâncias das amostras após 30 minutos de reação

$\text{Abs}_{\text{controle}}$  = média das absorvâncias do controle

A atividade antioxidante foi calculada a partir da curva de calibração determinada por regressão linear com concentrações de Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico, Sigma Aldrich, St. Louis, MO) variando de 12,5 a 100  $\mu\text{M}$ . Os resultados foram expressos como mmoles equivalentes de Trolox por 100 gramas de amostra em base seca.

#### **4.8.2 Método ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*)**

Alíquotas de 25  $\mu\text{L}$  de extratos diluídos de arroz foram pipetadas em uma microplaca preta de fundo chato de poliestireno, composta de 96 poços com capacidade de 300  $\mu\text{L}$  por poço. As amostras foram homogeneizadas com 150  $\mu\text{L}$  de fluoresceína (Sigma Aldrich, St. Louis, MO)  $40 \times 10^{-9}$  M e, após 30 minutos de reação, a mistura foi adicionada de 25  $\mu\text{L}$  de AAPH (Sigma Aldrich, St. Louis, MO) 0,15 M. A temperatura foi mantida em 37 °C e o pH em 7,4, pelo emprego de tampão fosfato (HUANG; OU; PRIOR, 2005; PRIOR; WU; SCHAICH, 2005).

O decaimento da fluorescência foi monitorado a cada minuto durante uma hora, utilizando-se um comprimento de excitação em 493 nm (filtro 485/20) e emissão em 515 nm (filtro 528/20) no leitor de microplacas (Synergy HT, Bio Tek Instruments, Inc., USA).

O cálculo da atividade antioxidante foi feito com base na diferença entre as áreas sob as curvas de decréscimo (AUC) do branco e da amostra relacionando-a a uma curva padrão de Trolox (6,25-100,0  $\mu\text{M}$ ). A atividade antioxidante foi expressa em mmoles de equivalentes de Trolox por 100 gramas de arroz em base seca.

## **4.9 Análise de $\gamma$ -orizanol e vitamina E**

Os teores dos fitoquímicos lipossolúveis foram determinados em amostras de arroz-preto e vermelho (item 4.2.2.).

### **4.9.1 Preparo das amostras**

As amostras foram trituradas em moinho analítico (Analytical Mill A10, Kinematica GAC, Luzern, Switzerland), peneiradas a 80 mesh (<0,177mm). Todas as extrações foram realizadas em triplicata.

### **4.9.2 Extração do $\gamma$ -orizanol e da vitamina E**

A extração do  $\gamma$ -orizanol e da vitamina E foi realizada conforme método descrito por Pascual et al (2013), com adaptações. Partiu-se de 2 g de farinha de arroz e adicionaram-se 20 mL de isopropanol grau CLAE. A suspensão foi agitada por 2 minutos em agitador tipo vortex, seguida de centrifugação a 4500xg por 10 minutos à temperatura ambiente. O sobrenadante foi então transferido para balão de rotoevaporador e o precipitado lavado por mais duas vezes com 10 mL de isopropanol, seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente. Os sobrenadantes foram combinados e concentrados em rotaevaporador até secura. Em seguida, o resíduo foi ressuspenso em metanol grau CLAE ajustando-se o volume em balão volumétrico de 5 mL. Posteriormente, as soluções foram filtradas em membrana de 0,22  $\mu$ m (PTFE – Millipore) para análise dos homólogos da vitamina E e do  $\gamma$ -orizanol por CLAE. Todas as extrações foram realizadas em triplicatas genuínas.

### **4.9.3 Separação do $\gamma$ -orizanol e da vitamina E por CLAE**

Os extratos metanólicos contendo os homólogos da vitamina E e  $\gamma$ -orizanol foram separados por CLAE – fase reversa em sistema modular controlado por computador da marca Shimadzu, equipado com três bombas, auto-amostrador e detectores de arranjo de fotodiodos e de fluorescência. A separação desses

compostos foi realizada em uma única corrida em coluna Synergi HydroRP (4,6x 250 mm, 5 µm, Phenomenex, Torrance, CA), fluxo de 1 mL/min, temperatura da coluna no forno de 25 °C e volume de injeção de 50 µL, com gradiente. A fase móvel consistia inicialmente de acetonitrila:metanol: isopropanol, na proporção 45:45:10 (v/v). Esta condição foi mantida durante 6 minutos e em seguida alterada linearmente por 10 minutos com acetonitrila:metanol:isopropanol, na razão de 25:70:5 (v/v), as quais foram mantidas por 12 minutos. Após esse período, retornou-se a proporção inicial por um período de 7 minutos e mantidas por mais 10 minutos. O tempo total de corrida foi de 60 minutos.

Os tocóis e tocotrienóis foram detectados por fluorescência nos comprimentos de excitação e emissão de 298 e 328 nm, respectivamente, e o  $\gamma$ -orizanol por UV/Vis a 325 nm (BERGMAN; XU, 2003; CHEN; BERGMAN, 2005).

#### **4.9.4 Preparo dos padrões, curva de calibração e quantificação dos tocóis, tocotrienóis e $\gamma$ -orizanol**

Soluções estoque dos padrões de  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocotrienol,  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferol (Sigma T0452, T0702, T3251 e T1782) foram preparados em hexano, grau HPLC, nas concentrações 2,0 mg/mL, 2,0 mg/mL, 2,0 mg/mL e 2,5 mg/mL, respectivamente. Alíquotas entre 100-250µL foram transferidas para balão volumétrico de 5 mL e diluídas em etanol grau HPLC para quantificação espectrofotométrica da concentração de cada padrão. A partir do comprimento de onda de absorvância máxima e das absortividades molares em etanol ( $\epsilon$ ), de cada substância (Tabela 4), foi calculada a concentração real da solução diluída em etanol utilizando a equação:

$$A_{\lambda} = \epsilon \cdot c \cdot l ,$$

onde,  $A_{\lambda}$  é a absorvância máxima de cada substância;  $\epsilon$  é a absortividade molar;  $l$  é a espessura da cubeta em cm;  $c$  é a concentração molar (M).

A curva de calibração para cada padrão foi preparada nos intervalos de concentração indicados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Absorbância máxima ( $A\lambda$ ), absorvidade molar ( $\epsilon$ ) e faixa de concentração para a construção das curvas padrão.

Composto	$A\lambda$ (nm)	$\epsilon$ (em etanol)	Intervalo de concentração (ng/mL)
$\alpha$ -tocotrienol	292	3864	50 – 1750
$\gamma$ -tocotrienol	296	3716	50 – 900
$\alpha$ -tocoferol	292	3264	50 – 1750
$\gamma$ -tocoferol	298	3808	25 – 700

Fonte: Adaptado de CHEN; BERGMAN (2005).

A curva de calibração do  $\gamma$ -orizanol foi preparada a partir de alíquotas de uma solução estoque em metanol (2,0 mg/mL) diluídas na faixa de concentração de 35 – 175  $\mu$ g/mL.

A concentração dos homólogos da vitamina E foi calculada a partir da área dos picos em relação às áreas dos respectivos padrões. O teor de  $\gamma$ -orizanol foi calculado pela somatória das áreas dos quatro principais picos comparada à soma das áreas do padrão.

#### 4.10 Análise estatística

##### Análise estatística univariada

Os dados foram testados quanto à distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e à homogeneidade das variâncias (testes de Levene e Brown-Forsythe). As médias dos grupos foram comparadas pelo teste one-way ANOVA (Análise de Variância), seguido do teste Tukey, quando apresentavam distribuição normal e homogeneidade de variância, caso contrário, foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis. As médias dos teores no arroz cru e cozido foram comparadas aplicando o teste t-Student para amostras dependentes ou, caso os dados exigissem tratamento estatístico não-paramétrico, utilizou-se o teste de Wilcoxon. A comparação dos teores médios de tocóis e  $\gamma$ -orizanol do arroz-preto e vermelho foi feita pelo teste t-Student para amostras independentes ou pelo teste de Mann-Whitney, caso os dados não apresentassem distribuição normal e homogeneidade

de variância. Todas as variáveis de respostas também foram avaliadas utilizando a análise de correlação linear de Pearson ( $r$ ) e o valor- $p$  para cada coeficiente foi fornecido. Valores de probabilidade ( $p$ -valor) abaixo de 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão.

### Análise multivariada

A análise multivariada envolve a observação e análise de mais de uma variável estatística ao mesmo tempo. De forma geral, essa ferramenta foi utilizada neste trabalho com o objetivo de caracterizar as diferentes amostras considerando a informação de todas as variáveis simultaneamente. Assim, foram utilizados dois métodos multivariados: Análise de Componentes Principais (ACP) e Análise de Função Discriminante (AFD) de acordo com os métodos preconizados por Correia e Ferreira (2007).

A ACP é uma análise multivariada não supervisionada, não requer que os dados apresentem distribuição normal e homocedasticidade, já que não se fazem inferências estatísticas a partir desta análise. Trata-se de uma ferramenta matemática, mas não estatística, para reorganizar a informação a partir de um conjunto de dados e converter um número de variáveis possivelmente correlacionadas em um menor número de variáveis não correlacionadas, chamadas de componentes principais. O primeiro componente principal concentra a maior variância possível do conjunto de dados inicial e cada componente posterior acumula sucessivamente a máxima variância remanescente. O objetivo principal ao utilizar esta análise foi reduzir os dados a um número menor de dimensões preservando o máximo possível de informação. Assim, as novas variáveis ou componentes principais esclareceram similaridades e diferenças entre as amostras de arroz-preto de grãos médios ( $n=5$ ), arroz-preto de grãos longos ( $n=11$ ), arroz-vermelho ( $n=9$ ) e arroz selvagem ( $n=6$ ).

A AFD é uma análise estatística multivariada supervisionada, que requer distribuição normal e homocedasticidade dos dados, e um de seus objetivos é a separação dos grupos de amostras com significância estatística. Essa separação se

dá por uma equação construída a partir de uma combinação linear de características observadas que apresente maior poder de discriminação entre as populações de amostras. Neste trabalho, a AFD além de ser utilizada para separar os quatro grupos de amostras (arroz-preto grão médios, arroz-preto grãos longos, arroz-vermelho e arroz selvagem) com significância estatística, também trouxe informações sobre quais variáveis foram mais relevantes na separação desses grupos. A AFD também foi utilizada para avaliar o impacto do cozimento dos grãos na separação dos grupos levando em conta as modificações nos teores de compostos fenólicos e na atividade antioxidante.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Composição em nutrientes

Os teores de umidade, proteínas, lipídeos e resíduo mineral das amostras de arroz-preto de grãos médios e de grãos longos estão apresentados na Tabela 5. As mesmas informações referentes ao arroz-vermelho e arroz selvagem estão apresentadas na Tabela 6.

**Tabela 5.** Teores de umidade, proteínas, lipídeos e resíduo mineral de arroz-preto.

Amostras	Umidade	Proteína (Nx5,75)*	Lípídeo*	Resíduo Mineral*
	g/100g arroz			
<b>Arroz-preto (grãos médios)</b>				
Ruzene <sup>®</sup> 2009	12,9 ± 0,6	8,3 ± 0,1	2,6 ± 0,0	1,5 ± 0,0
Ruzene <sup>®</sup> 2010	13,5 ± 0,5	8,9 ± 0,1	2,9 ± 0,0	1,6 ± 0,0
Ruzene <sup>®</sup> 2011	13,5 ± 0,5	9,4 ± 0,1	2,5 ± 0,0	1,7 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2009	11,5 ± 0,4	8,6 ± 0,0	2,6 ± 0,0	1,8 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2010	12,6 ± 0,4	9,0 ± 0,0	2,8 ± 0,1	1,8 ± 0,0
<b>Média ± dp</b>	<b>12,8 ± 0,8</b>	<b>8,8 ± 0,4</b>	<b>2,7 ± 0,2</b>	<b>1,7 ± 0,1</b>
<b>Arroz-preto (grãos longos)</b>				
SC 606 2009	12,7 ± 0,2	10,4 ± 0,1	3,6 ± 0,1	1,7 ± 0,0
SC 606 2010 Itajaí	12,7 ± 0,3	11,2 ± 0,1	3,7 ± 0,1	1,8 ± 0,0
SC 606 2010 Araranguá	12,5 ± 0,3	9,7 ± 0,1	3,5 ± 0,1	1,7 ± 0,0
SCS 120 Ônix 2009	11,9 ± 0,3	10,0 ± 0,1	3,4 ± 0,1	1,8 ± 0,0
SCS 120 Ônix 2010 Itajaí	13,2 ± 0,4	11,1 ± 0,1	3,2 ± 0,1	1,9 ± 0,0
SCS 120 Ônix 2010 Araranguá	12,4 ± 0,3	9,8 ± 0,1	3,3 ± 0,1	1,8 ± 0,0
SC 704 2011	13,8 ± 0,6	8,9 ± 0,0	3,9 ± 0,1	1,7 ± 0,0
SC 705 2011	14,2 ± 0,3	9,3 ± 0,0	3,8 ± 0,1	1,9 ± 0,0
SC 706 2011	13,4 ± 0,4	9,2 ± 0,0	4,3 ± 0,1	1,8 ± 0,0
SC 707 2011	14,3 ± 0,2	9,7 ± 0,1	3,5 ± 0,1	1,9 ± 0,0
SC 708 2011	13,7 ± 0,3	8,8 ± 0,0	3,5 ± 0,1	1,6 ± 0,0
<b>Média ± dp</b>	<b>13,2 ± 0,8</b>	<b>9,8 ± 0,8</b>	<b>3,6 ± 0,3</b>	<b>1,8 ± 0,1</b>

Média das análises em triplicata. \*Em base seca.

**Tabela 6.** Teores de umidade, proteínas, lipídeos e resíduo mineral de arroz-vermelho e selvagem.

Amostras	Umidade	Proteína (Nx5,75)*	Lípídeo*	Resíduo Mineral*
<b>Arroz-vermelho</b>				
Ruzene <sup>®</sup> 2009	12,7 ± 0,5	8,9 ± 0,1	2,6 ± 0,0	1,5 ± 0,0
Ruzene <sup>®</sup> 2010	13,0 ± 0,3	9,4 ± 0,1	2,8 ± 0,0	1,7 ± 0,0
Ruzene <sup>®</sup> 2011	13,1 ± 0,3	9,2 ± 0,1	2,6 ± 0,0	1,6 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2009	11,2 ± 0,4	9,3 ± 0,1	3,0 ± 0,0	1,6 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2011	12,6 ± 0,5	8,2 ± 0,1	2,9 ± 0,0	1,5 ± 0,0
SCS 119 Rubi 2010	12,5 ± 0,2	8,4 ± 0,0	2,7 ± 0,0	1,4 ± 0,0
SCS 119 Rubi 2011	13,4 ± 0,3	9,7 ± 0,0	2,5 ± 0,0	1,5 ± 0,0
SC 709 2011	14,4 ± 0,2	8,3 ± 0,1	2,3 ± 0,0	1,3 ± 0,0
SC 710 2011	14,1 ± 0,5	8,6 ± 0,0	2,3 ± 0,0	1,3 ± 0,0
<b>Média ± dp</b>	<b>13,0 ± 0,9</b>	<b>8,9 ± 0,5</b>	<b>2,6 ± 0,2</b>	<b>1,5 ± 0,1</b>
<b>Arroz selvagem</b>				
Blue Ville <sup>®</sup> 2009	10,6 ± 0,2	13,3 ± 0,0	0,9 ± 0,0	1,6 ± 0,0
Blue Ville <sup>®</sup> 2010	9,9 ± 0,1	12,4 ± 0,0	1,1 ± 0,0	1,6 ± 0,0
Blue Ville <sup>®</sup> 2011	10,4 ± 0,1	12,7 ± 0,1	1,0 ± 0,0	1,6 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2009	9,2 ± 0,2	12,5 ± 0,0	0,7 ± 0,0	1,5 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2010	11,1 ± 0,1	13,3 ± 0,1	1,0 ± 0,0	1,5 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2011	10,9 ± 0,1	12,9 ± 0,1	0,9 ± 0,0	1,6 ± 0,0
<b>Média ± dp</b>	<b>10,4 ± 0,7</b>	<b>12,9 ± 0,4</b>	<b>0,9 ± 0,1</b>	<b>1,6 ± 0,1</b>

Média das análises em triplicata. \* Em base seca.

Nas amostras de arroz-preto e vermelho, a umidade média foi de aproximadamente 13% e os valores individuais variaram de 11,2 a 14,4 g/100g. No arroz selvagem, os teores de umidade foram menores, sendo a umidade média de 10,4 g/100g.

Os teores de proteína no arroz-preto de grãos médios variaram de 8,3 a 9,4 g/100g e foram semelhantes aos encontrados nas amostras de arroz-vermelho (8,2 a 9,7 g/100g). No arroz-preto de grãos longos os teores variaram de 8,8 a 11,2 g/100g e no arroz selvagem de 12,4 e 13,3 g/100g.

Ao comparar os teores protéicos médios dos quatro grupos observa-se que o arroz selvagem tem o maior teor, 25% superior ao do arroz-preto de grãos longos e 45% superior aos demais grãos. Em seguida, está o arroz-preto de grãos longos e por fim, o arroz-vermelho e o preto de grãos médios. Estes resultados estão apresentados de forma concisa e com significado estatístico na Tabela 7.

**Tabela 7.** Teores médios de proteínas, lipídeos e resíduo mineral de arroz-vermelho, preto e selvagem.

Grupos	Proteína (Nx5,75)	Lipídeo	Resíduo Mineral
	g/100g arroz (base seca)		
<b>Arroz-preto - grãos médios</b> (n=5)	8,8 <sup>b</sup> ± 0,4	2,7 <sup>b</sup> ± 0,2	1,7 <sup>a,b</sup> ± 0,1
<b>Arroz-preto - grãos longos</b> (n=11)	9,8 <sup>a,b</sup> ± 0,8	3,6 <sup>a</sup> ± 0,3	1,8 <sup>a</sup> ± 0,1
<b>Arroz-vermelho</b> (n=9)	8,9 <sup>b</sup> ± 0,5	2,6 <sup>b</sup> ± 0,2	1,5 <sup>b</sup> ± 0,1
<b>Arroz selvagem</b> (n=6)	12,9 <sup>a</sup> ± 0,4	0,9 <sup>c</sup> ± 0,1	1,6 <sup>b</sup> ± 0,1

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

Em um estudo anterior com três cultivares de arroz integral não pigmentado produzidas em Santa Catarina, o teor protéico das amostras, foi em média, 8,6 g/100g o que torna o arroz não pigmentado semelhante, nesse aspecto, ao arroz-vermelho e ao arroz-preto de grãos médios (KAWASSAKI, 2011).

A presença de maior teor protéico no arroz-preto de grãos longos em relação aos demais grãos da espécie *Oryza sativa*, possivelmente ocorre em função do formato do grão. Esse nutriente encontra-se em maior concentração nas camadas mais externas do grão e, o fato da proporção de farelo rico em proteínas ser maior nos grãos mais longos, em relação aos grãos médios, pode justificar a maior concentração protéica nos grãos longos.

A comparação dos resultados obtidos neste trabalho com outros estudos torna-se difícil em função da divergência nos fatores de conversão do nitrogênio em proteína utilizados na expressão dos teores. De forma geral, os estudos utilizam

fatores que variam entre 5,26 a 6,25 e em alguns casos, o fator utilizado no trabalho nem mesmo é mencionado, podendo gerar uma grande amplitude de concentrações proteicas para amostras com teores similares (FUJIHARA et al., 2008).

O fator de conversão de 5,75 utilizado neste trabalho é recomendado pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) sendo o fator preconizado para vegetais em geral segundo orientações internacionais (SOSULSKI; IMAFIDON, 1990).

No trabalho publicado por Sompong et al. (2011), os teores de proteínas em nove variedades de arroz-vermelho variaram de 7,2 a 10,4 g/100g e foram semelhantes aos encontrados nas três variedades de arroz-preto (8,2 a 10,8 g/100g). Teores protéicos de 7,6 a 9,4 g/100g foram encontrados em 16 genótipos de arroz-vermelho, sendo que onze deles foram cultivados na região sul e cinco na região nordeste do Brasil (WALTER; MARCHESAN; AVILA, 2008). Segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (USP, 2008) o teor protéico em base seca é de 9,0 g/100g. Nos três casos foi utilizado o fator de correção de 5,95.

Frank et al. (2012) atribuem ao arroz pigmentado preto e vermelho teores protéicos maiores quando comparados aos do arroz não pigmentado, enquanto que, em outro trabalho, Sompong et al. (2011) não constataram tais diferenças. É importante mencionar que nesses estudos não foram descritas as dimensões dos grãos.

No presente trabalho, os teores de proteínas de arroz-preto de grãos médios e de arroz-vermelho foram comparáveis aos obtidos anteriormente nas amostras de arroz não pigmentado (KAWASSAKI, 2011). O que sugere que o teor de proteínas do arroz está mais relacionado ao formato do grão do que à coloração do pericarpo, sendo que grãos mais finos e longos tendem a apresentar teores protéicos maiores.

Já o arroz selvagem tem mais proteínas do que qualquer variedade de arroz do gênero *Oryza*. O conteúdo deste nutriente avaliado em 12 amostras de arroz selvagem (*Zizania* spp.) foi em média de 13,8 g/100g no trabalho publicado por Watts e Dronzek (1981) (fator de conversão igual a 5,7), valor semelhante ao encontrado neste trabalho.

Os teores de lipídeos também foram diferentes nos grupos de amostras analisadas. O arroz-preto de grãos longos apresentou o maior teor médio de 3,6 (3,2 – 4,3) g/100g seguido pelo arroz-vermelho e arroz-preto de grãos médios com teores lipídicos de 2,6 (2,3 – 3,0) g/100g e 2,7 (2,5 – 2,9) g/100g, respectivamente. O arroz selvagem foi o que apresentou o menor teor lipídico, 0,9 (0,7 -1,1) g/100g.

O arroz integral não pigmentado apresentou teores lipídicos semelhantes aos encontrados no arroz-vermelho e no arroz-preto de grãos médios. Um teor médio de 2,8 g/100g foi determinado em três cultivares de arroz integral não pigmentado (KAWASSAKI, 2011). Tabelas de composição de alimentos brasileiras descrevem teores semelhantes (2,2 a 2,3 g/100g) de lipídeos para arroz integral em base seca, valores comparáveis aos obtidos neste estudo (UNICAMP, 2006; USP, 2008). Em relação ao arroz pigmentado, os teores lipídicos de 16 genótipos de arroz-vermelho produzidos no Brasil variaram de 2,6 a 3,3 g/100g (WALTER; MARCHESAN; AVILA, 2008). Enquanto que genótipos de arroz-vermelho e preto, provenientes da Tailândia, Sri Lanka e China, apresentaram teores de lipídeos, respectivamente, entre 1,2 e 3,2 g/100g e entre 2,8 e 3,7 g/100g (SOMPONG et al., 2011).

O arroz-preto de grão longos, além de apresentar mais proteínas dentre os grãos da espécie *Oryza sativa*, também contém maior teor lipídico. O formato alongado do grão dessa espécie pode justificar nos dois casos os maiores teores, já que esses nutrientes estão concentrados nas camadas mais externas do grão.

O baixo teor lipídico é característico no arroz selvagem; em 12 amostras de arroz selvagem (*Zizania* spp.) provenientes do Canadá, o conteúdo deste nutriente foi em média de 0,5 g/100g (WATTS; DRONZEK, 1981), valor semelhante ao encontrado neste trabalho.

Ainda nas Tabelas 5 e 6 observa-se que a variação dos teores de resíduo mineral nos quatro grupos avaliados foi pequena, embora o arroz-preto de grãos longos tenha apresentado teor de 1,8 (1,6 – 1,9) g/100g, significativamente maior do que o encontrado no arroz-vermelho e no arroz selvagem, com teores de resíduo mineral de 1,5 (1,3 – 1,7) g/100g e 1,6 (1,5 – 1,6) g/100g, respectivamente. O arroz-preto de grãos médios apresentou teores estatisticamente iguais aos demais tipos de arroz 1,7 (1,5 – 1,8) g/100 g.

Variações maiores nos teores de resíduo mineral foram encontradas em dezesseis amostras de arroz-vermelho (1,1-2,1 g/100g). No mesmo estudo, uma amostra de arroz-preto e uma de arroz integral não pigmentado apresentaram o mesmo teor de resíduo de mineral (1,8 g/100g) (WALTER; MARCHESAN; AVILA, 2008).

No arroz integral branco os teores de resíduo mineral variam entre 1,4 a 1,5 g/100g (KAWASSAKI, 2011; UNICAMP, 2006, USP, 2008).

Esses dados indicam que o teor de minerais totais não caracteriza uma propriedade que diferencie grãos não pigmentados, de grãos vermelhos ou pretos. Novamente observa-se uma tendência de encontrar maiores teores em grãos mais longos e alongados, assim como maiores teores de proteínas e lipídeos. Os minerais também estão distribuídos nas camadas mais externas do grão que compõem o farelo.

O teor de minerais no arroz selvagem encontrado neste trabalho foi muito semelhante ao conteúdo médio de 12 amostras de arroz selvagem (1,7 g/100g) descrito no trabalho de Watts e Dronzek (1981).

Na Tabela 8 estão apresentados os teores de fibras solúveis, insolúveis e totais bem como de carboidratos disponíveis nos grupos de amostras de arroz-preto de grãos longos, arroz-preto de grãos médios, arroz-vermelho e arroz selvagem.

De forma geral, não houve diferença significativa nos teores de fibra solúvel, insolúvel e total nos quatro grupos de amostras estudados. A fibra do arroz, em todos os grupos, é predominantemente do tipo insolúvel e variou de 3,5 a 5,4 g/100g, enquanto a fibra solúvel variou de 0,2 a 1,4 g/100g. Em termos percentuais a fibra insolúvel corresponde de 71 a 95% da fibra total.

Os teores de fibra solúvel e insolúvel no arroz integral branco foram em média de 1,0 e 3,1 g/100g, respectivamente, sendo que a fibra insolúvel representou 74% da fibra total (KAWASSAKI, 2011). Embora o teor de fibra total no arroz integral branco (4,1 g/100g) tenha sido semelhante ao de algumas amostras analisadas neste trabalho, o mesmo tende a ser menor do que o teor médio encontrado no arroz-preto, vermelho e selvagem.

**Tabela 8.** Teores de fibras solúveis, insolúveis, totais e carboidratos disponíveis, em base seca.

Amostras	Fibras Solúveis	Fibras Insolúveis	Fibras Totais	Carboidratos disponíveis
	g/100g arroz base seca			
<b>Arroz-preto (grãos médios)</b>				
Ruzene <sup>®</sup> 2009	1,4 ± 0,1	3,5 ± 0,1	4,9 ± 0,1	82,7 ± 0,4
Ruzene <sup>®</sup> 2010	0,7 ± 0,0	3,6 ± 0,1	4,3 ± 0,1	82,3 ± 0,4
Ruzene <sup>®</sup> 2011	0,3 ± 0,0	3,6 ± 0,0	3,9 ± 0,1	82,5 ± 0,6
Namorado <sup>®</sup> 2009	1,2 ± 0,0	3,6 ± 0,1	4,8 ± 0,2	82,2 ± 0,2
Namorado <sup>®</sup> 2010	0,4 ± 0,0	4,3 ± 0,2	4,7 ± 0,1	81,7 ± 0,2
<b>Média ± dp</b>	<b>0,8 ± 0,4</b>	<b>3,7 ± 0,3</b>	<b>4,5 ± 0,4</b>	<b>82,3 ± 0,4</b>
<b>Arroz-preto (grãos longos)</b>				
SC 606 2009	1,2 ± 0,0	4,4 ± 0,2	5,6 ± 0,2	78,7 ± 0,3
SCS 120 Ônix 2009	0,9 ± 0,0	4,9 ± 0,2	5,8 ± 0,2	79,0 ± 0,3
SC 704 2011	0,5 ± 0,0	4,1 ± 0,1	4,6 ± 0,1	80,9 ± 0,4
SC 705 2011	0,6 ± 0,0	4,3 ± 0,1	4,9 ± 0,1	80,1 ± 0,4
SC 706 2011	0,9 ± 0,0	4,1 ± 0,2	5,0 ± 0,1	79,7 ± 0,2
SC 707 2011	0,7 ± 0,0	4,5 ± 0,1	5,2 ± 0,2	79,7 ± 0,2
SC 708 2011	0,9 ± 0,0	4,7 ± 0,2	5,6 ± 0,2	80,5 ± 0,5
<b>Média ± dp</b>	<b>0,8 ± 0,2</b>	<b>4,4 ± 0,3</b>	<b>5,2 ± 0,4</b>	<b>79,8 ± 0,8</b>
<b>Arroz-vermelho</b>				
Ruzene <sup>®</sup> 2010	1,0 ± 0,0	4,5 ± 0,2	5,5 ± 0,2	80,6 ± 0,2
Namorado <sup>®</sup> 2009	0,5 ± 0,0	5,4 ± 0,2	5,9 ± 0,2	80,2 ± 0,2
SCS 119 Rubi 2010	0,2 ± 0,0	3,5 ± 0,2	3,7 ± 0,1	83,8 ± 0,3
SC 709 2011	0,2 ± 0,0	3,8 ± 0,2	4,0 ± 0,2	84,1 ± 0,2
SC 710 2011	0,2 ± 0,0	3,6 ± 0,1	3,8 ± 0,1	84,0 ± 0,2
<b>Média ± dp</b>	<b>0,4 ± 0,4</b>	<b>4,2 ± 1,2</b>	<b>4,6 ± 1,4</b>	<b>82,5 ± 2,0</b>
<b>Arroz selvagem</b>				
Blue Ville <sup>®</sup> 2009	0,3 ± 0,0	4,4 ± 0,1	4,7 ± 0,1	79,5 ± 0,3
Blue Ville <sup>®</sup> 2010	0,7 ± 0,0	4,0 ± 0,1	4,7 ± 0,1	80,2 ± 0,3
Namorado <sup>®</sup> 2010	0,5 ± 0,0	4,9 ± 0,2	5,4 ± 0,2	78,8 ± 0,3
<b>Média ± dp</b>	<b>0,5 ± 0,2</b>	<b>4,4 ± 0,5</b>	<b>4,9 ± 0,4</b>	<b>79,5 ± 0,7</b>

Média das análises em triplicata. Médias ± desvio padrão com diferentes letras na mesma coluna têm diferença significativa (p<0,05).

Em tabelas brasileiras de composição de alimentos o teor de fibra total do arroz integral branco varia de 3,5 g/100g a 5,5 g/100g, em base seca (UNICAMP, 2006; USP, 2008). Genótipos de arroz pigmentado, provenientes da Tailândia, Sri

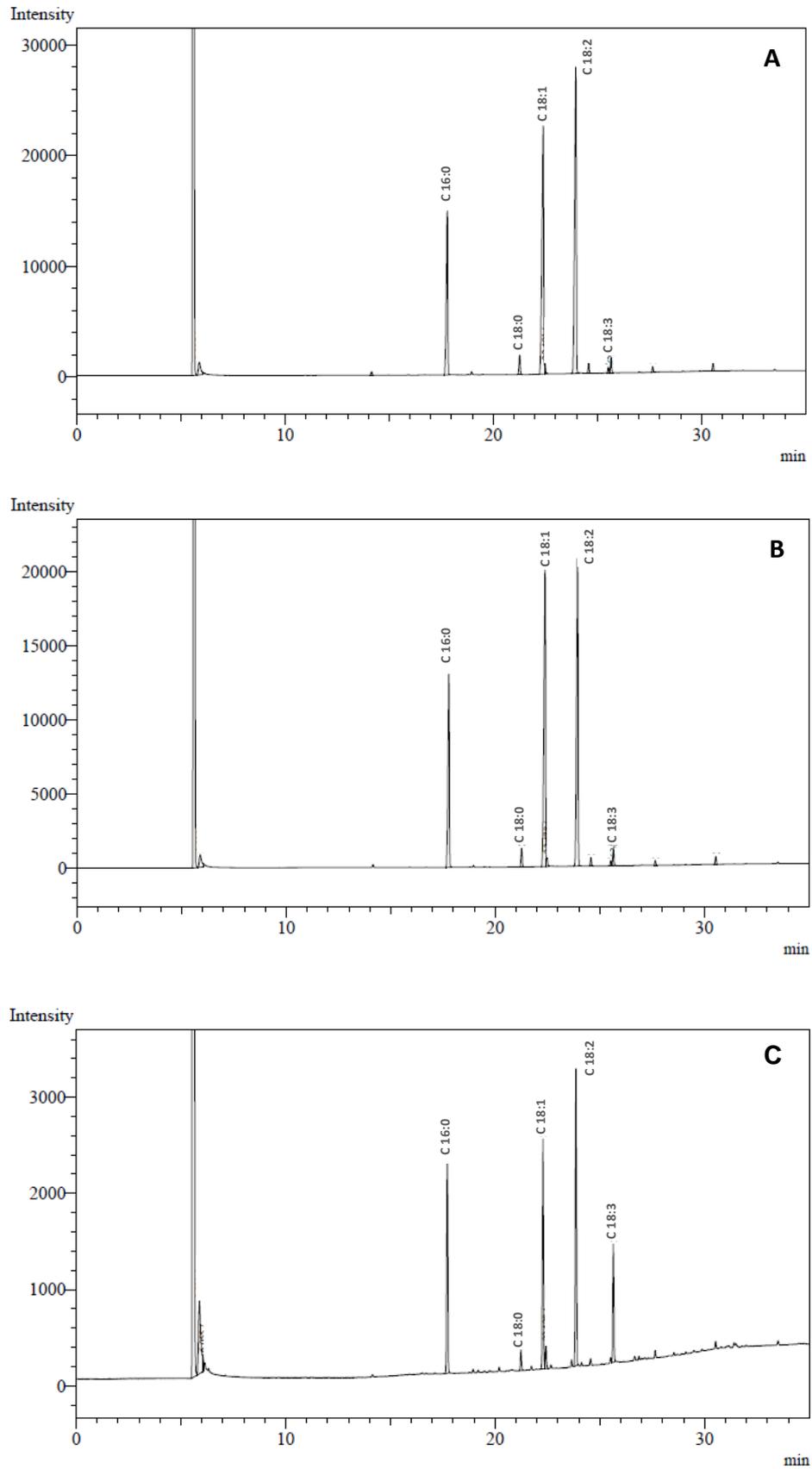
Lanka e China, apresentaram teores de fibra, entre 2,5 e 4,5 g/100g nos grãos de pericarpo vermelho e entre 3,4 e 4,1 g/100g nos grão de pericarpo preto (SOMPONG *et al.*, 2011). Nos quatro casos não são mencionados os teores das frações solúvel e insolúvel.

Dentre as amostras analisadas, os teores de carboidratos disponíveis variaram de 78,7 a 84,1 g/100g, entretanto os teores médios dos grupos de arroz-preto, vermelho e selvagem não foram estatisticamente diferentes. Segundo as tabelas de composição centesimal brasileiras, o arroz integral não pigmentado apresenta teores que variam de 82,8 a 83,8 g/100g de carboidratos disponíveis (UNICAMP, 2006; USP, 2008), que estão dentro da faixa de variação encontrada neste estudo.

## 5.2 Composição em ácidos graxos

Na Figura 14 estão apresentados cromatogramas representativos obtidos a partir da análise do óleo de arroz-preto, vermelho e selvagem, por cromatografia gasosa. Nas tabelas 9 e 10 estão apresentados os teores de ácidos graxos de arroz-preto, vermelho e selvagem. Os principais ácidos graxos do óleo de arroz-preto de grãos médios e de grãos longos, bem como de arroz-vermelho, são os ácidos: oléico (37-41%), linoléico (36-41%), palmítico (17-19%), esteárico (1-2%) e  $\alpha$ -linolênico (1-2%). Portanto, os ácidos graxos insaturados representam cerca de 80% dos ácidos graxos totais.

O perfil de ácidos graxos de arroz não pigmentado, descrito na literatura, é semelhante ao encontrado nesse estudo para arroz pigmentado. Embora ocorram variações na proporção de ácidos graxos em decorrência de fatores genotípicos e ambientais uma composição básica do óleo de arroz não pigmentado consiste em 36-49% de ácido oléico, 27-41% de ácido linoléico, 14-22% de ácido palmítico, 2-3% de ácido esteárico e 1-2% de ácido  $\alpha$ -linolênico (RUKMINI; RAGHURAM, 1991).



**Figura 14.** Cromatogramas representativos dos óleos de arroz-preto (A), vermelho (B) e selvagem (C).

**Tabela 9.** Perfil de ácidos graxos de arroz-preto.

Amostras	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Saturados	Insaturados
	Palmítico	Esteárico	Oléico	Linoléico	$\alpha$ -Linolênico	totais	totais
<b>Teor (g/100g arroz base seca)</b>							
<b>Arroz-preto (grãos médios)</b>							
Ruzene <sup>®</sup> 2009	0,44 ± 0,01	0,06 ± 0,00	1,00 ± 0,03	1,06 ± 0,02	0,04 ± 0,00	0,50 ± 0,01	2,10 ± 0,08
Ruzene <sup>®</sup> 2010	0,50 ± 0,02	0,05 ± 0,00	1,11 ± 0,05	1,19 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,55 ± 0,01	2,34 ± 0,07
Ruzene <sup>®</sup> 2011	0,43 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,94 ± 0,02	1,05 ± 0,04	0,04 ± 0,00	0,48 ± 0,01	2,03 ± 0,08
Namorado <sup>®</sup> 2009	0,45 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,99 ± 0,01	1,07 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,50 ± 0,01	2,10 ± 0,06
Namorado <sup>®</sup> 2010	0,49 ± 0,01	0,06 ± 0,00	1,07 ± 0,01	1,14 ± 0,02	0,04 ± 0,00	0,55 ± 0,01	2,25 ± 0,05
<b>Média ± dp</b>	<b>0,46 ± 0,03</b>	<b>0,05 ± 0,01</b>	<b>1,02 ± 0,07</b>	<b>1,10 ± 0,06</b>	<b>0,04 ± 0,00</b>	<b>0,52 ± 0,03</b>	<b>2,16 ± 0,13</b>
<b>Arroz-preto (grãos longos)</b>							
SC 606 2009	0,67 ± 0,02	0,08 ± 0,00	1,31 ± 0,05	1,49 ± 0,4	0,05 ± 0,00	0,75 ± 0,01	2,85 ± 0,06
SC 606 2010 Itajaí	0,70 ± 0,01	0,08 ± 0,00	1,35 ± 0,06	1,52 ± 0,06	0,05 ± 0,00	0,78 ± 0,02	2,92 ± 0,05
SC 606 2010 Araranguá	0,65 ± 0,03	0,07 ± 0,00	1,29 ± 0,08	1,44 ± 0,04	0,05 ± 0,00	0,72 ± 0,02	2,78 ± 0,06
SCS 120 Ônix 2009	0,68 ± 0,01	0,08 ± 0,00	1,19 ± 0,07	1,41 ± 0,07	0,04 ± 0,00	0,76 ± 0,02	2,64 ± 0,07
SCS 120 Ônix 2010 Itajaí	0,64 ± 0,01	0,06 ± 0,00	1,10 ± 0,03	1,35 ± 0,08	0,05 ± 0,00	0,70 ± 0,03	2,50 ± 0,07
SCS 120 Ônix 2010 Araranguá	0,64 ± 0,02	0,07 ± 0,00	1,19 ± 0,03	1,36 ± 0,03	0,04 ± 0,00	0,71 ± 0,02	2,59 ± 0,04
SC 704 2011	0,79 ± 0,04	0,06 ± 0,00	1,42 ± 0,03	1,59 ± 0,04	0,05 ± 0,00	0,85 ± 0,02	3,06 ± 0,09
SC 705 2011	0,76 ± 0,06	0,06 ± 0,00	1,40 ± 0,05	1,53 ± 0,03	0,05 ± 0,00	0,82 ± 0,03	2,98 ± 0,04
SC 706 2011	0,81 ± 0,04	0,07 ± 0,00	1,74 ± 0,06	1,62 ± 0,04	0,06 ± 0,00	0,88 ± 0,03	3,42 ± 0,06
SC 707 2011	0,65 ± 0,05	0,05 ± 0,00	1,27 ± 0,04	1,48 ± 0,03	0,04 ± 0,00	0,70 ± 0,02	2,79 ± 0,08
SC 708 2011	0,75 ± 0,06	0,08 ± 0,00	1,37 ± 0,03	1,26 ± 0,05	0,05 ± 0,00	0,83 ± 0,02	2,68 ± 0,04
<b>Média ± dp</b>	<b>0,70 ± 0,06</b>	<b>0,07 ± 0,01</b>	<b>1,33 ± 0,17</b>	<b>1,46 ± 0,11</b>	<b>0,05 ± 0,01</b>	<b>0,77 ± 0,06</b>	<b>2,84 ± 0,26</b>

Média das análises em triplicata.

**Tabela 10.** Perfil de ácidos graxos de arroz-vermelho e arroz selvagem.

Amostras	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3	Saturados totais	Insaturados totais
	Palmítico	Esteárico	Oléico	Linoléico	$\alpha$ -Linolênico		
Teor (g/100g arroz base seca)							
<b>Arroz-vermelho</b>							
Ruzene <sup>®</sup> 2009	0,43 ± 0,01	0,05 ± 0,00	1,15 ± 0,04	0,92 ± 0,04	0,04 ± 0,00	0,48 ± 0,02	2,11 ± 0,10
Ruzene <sup>®</sup> 2010	0,47 ± 0,02	0,06 ± 0,00	1,21 ± 0,01	1,02 ± 0,03	0,04 ± 0,00	0,53 ± 0,02	2,27 ± 0,08
Ruzene <sup>®</sup> 2011	0,41 ± 0,01	0,06 ± 0,00	1,13 ± 0,03	0,96 ± 0,05	0,04 ± 0,00	0,47 ± 0,03	2,13 ± 0,09
Namorado <sup>®</sup> 2009	0,63 ± 0,02	0,06 ± 0,00	1,22 ± 0,05	1,05 ± 0,03	0,05 ± 0,00	0,69 ± 0,02	2,32 ± 0,08
Namorado <sup>®</sup> 2011	0,62 ± 0,02	0,06 ± 0,00	1,19 ± 0,04	1,00 ± 0,04	0,04 ± 0,00	0,68 ± 0,02	2,23 ± 0,06
SCS 119 Rubi 2010	0,50 ± 0,01	0,05 ± 0,00	1,09 ± 0,07	1,01 ± 0,03	0,04 ± 0,00	0,55 ± 0,03	2,14 ± 0,07
SCS 119 Rubi 2011	0,47 ± 0,01	0,05 ± 0,00	0,95 ± 0,06	0,99 ± 0,03	0,04 ± 0,00	0,52 ± 0,02	1,98 ± 0,09
SC 709 2011	0,49 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,91 ± 0,08	0,82 ± 0,05	0,04 ± 0,00	0,53 ± 0,03	1,77 ± 0,08
SC 710 2011	0,48 ± 0,01	0,04 ± 0,00	0,93 ± 0,05	0,81 ± 0,03	0,04 ± 0,00	0,52 ± 0,02	1,78 ± 0,06
<b>Média ± dp</b>	<b>0,50 ± 0,08</b>	<b>0,05 ± 0,01</b>	<b>1,09 ± 0,12</b>	<b>0,95 ± 0,09</b>	<b>0,04 ± 0,00</b>	<b>0,55 ± 0,08</b>	<b>2,08 ± 0,20</b>
<b>Arroz selvagem</b>							
Blue Ville <sup>®</sup> 2010	0,27 ± 0,01	0,03 ± 0,00	0,32 ± 0,01	0,36 ± 0,03	0,13 ± 0,01	0,30 ± 0,02	0,81 ± 0,03
Blue Ville <sup>®</sup> 2011	0,25 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,28 ± 0,00	0,32 ± 0,05	0,12 ± 0,00	0,27 ± 0,01	0,72 ± 0,06
Namorado <sup>®</sup> 2009	0,18 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,18 ± 0,00	0,23 ± 0,03	0,09 ± 0,00	0,20 ± 0,02	0,50 ± 0,03
Namorado <sup>®</sup> 2010	0,24 ± 0,01	0,02 ± 0,00	0,27 ± 0,00	0,34 ± 0,04	0,13 ± 0,01	0,26 ± 0,02	0,74 ± 0,05
Namorado <sup>®</sup> 2011	0,24 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,24 ± 0,00	0,29 ± 0,03	0,11 ± 0,00	0,26 ± 0,01	0,64 ± 0,04
<b>Média ± dp</b>	<b>0,24 ± 0,03</b>	<b>0,02 ± 0,00</b>	<b>0,26 ± 0,05</b>	<b>0,31 ± 0,05</b>	<b>0,12 ± 0,02</b>	<b>0,26 ± 0,04</b>	<b>0,68 ± 0,12</b>

Média das análises em triplicata.

O arroz selvagem apresentou perfil diferente em relação a todas as amostras do gênero *Oryza*, sendo que os principais ácidos graxos foram ácido linoléico (33%), oléico (27%), palmítico (25%),  $\alpha$ -linolênico (13%) e esteárico (2%). As principais diferenças estão nos teores mais baixos de ácido oléico e maiores de ácido  $\alpha$ -linolênico.

O arroz-preto de grãos longos apresentou os maiores teores de ácido palmítico, esteárico, oléico e linoléico, e tal fato deve-se ao maior teor de lipídeos totais nesses grãos em relação às demais amostras. O arroz-preto de grãos médios e o arroz-vermelho apresentaram teores de ácidos graxos semelhantes e, de forma geral, menores do que o arroz-preto de grãos longos (Tabela 11).

O arroz selvagem teve os menores teores de ácidos graxos, exceto de ácido  $\alpha$ -linolênico. Esse ácido graxo representa 13% dos ácidos graxos totais do arroz selvagem, enquanto que representa somente 1-2% nos grãos de arroz pigmentado vermelho e preto. Embora essa característica seja um diferencial do arroz selvagem, não parece ser relevante do ponto de vista nutricional, uma vez que o teor no grão é baixo. No entanto, pode ser uma característica importante quanto à estabilidade do grão frente às reações de oxidação, pois quanto maior o grau de insaturação do lipídeo maior a velocidade das reações de oxidação lipídica.

**Tabela 11.** Teores médios de ácidos graxos de arroz-preto, vermelho e selvagem.

Grupos	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
	Palmítico	Esteárico	Oléico	Linoléico	$\alpha$ -Linolênico
g/100g arroz (base seca)					
<b>Arroz-preto - grãos médios</b> (n=5)	0,46 <sup>b</sup> $\pm$ 0,03	0,05 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0,01	1,02 <sup>b</sup> $\pm$ 0,07	1,10 <sup>b</sup> $\pm$ 0,06	0,04 <sup>b</sup> $\pm$ 0,00
<b>Arroz-preto - grãos longos</b> (n=11)	0,70 <sup>a</sup> $\pm$ 0,06	0,07 <sup>a</sup> $\pm$ 0,01	1,33 <sup>a</sup> $\pm$ 0,17	1,46 <sup>a</sup> $\pm$ 0,11	0,05 <sup>b</sup> $\pm$ 0,01
<b>Arroz-vermelho</b> (n=9)	0,50 <sup>b</sup> $\pm$ 0,08	0,05 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0,01	1,09 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0,12	0,95 <sup>b</sup> $\pm$ 0,09	0,04 <sup>b</sup> $\pm$ 0,00
<b>Arroz selvagem</b> (n=6)	0,24 <sup>c</sup> $\pm$ 0,03	0,02 <sup>b</sup> $\pm$ 0,00	0,26 <sup>c</sup> $\pm$ 0,05	0,31 <sup>c</sup> $\pm$ 0,05	0,12 <sup>a</sup> $\pm$ 0,02

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

### 5.3 Análise de compostos fenólicos

#### 5.3.1 Teores de compostos fenólicos totais (CFT) e flavonoides

Nas Tabelas 12 e 13 estão apresentados os teores de CFT e flavonoides de arroz-preto, arroz-vermelho e arroz selvagem, expressos em mg eq. ácido ferúlico e catequina/100g de arroz (base seca), respectivamente.

De forma geral, o arroz-preto apresentou os maiores teores CFT; no arroz-preto de grãos longos a variação foi de 358,6 a 593,8 mg eq. ác. ferúlico/100 g, enquanto que no arroz de grãos médios foi de 339,8 a 509,3 mg eq. ác. ferúlico/100g.

**Tabela 12.** Teores de compostos fenólicos totais e flavonoides de arroz-preto

Amostras	CFT	Flavonoides
	mg eq. ác. ferúlico/100 g arroz base seca	mg eq. catequina/100 g arroz base seca
<b>Arroz-preto (grãos médios)</b>		
Ruzene <sup>®</sup> 2009	339,8 ± 16,3	320,2 ± 8,0
Ruzene <sup>®</sup> 2010	426,6 ± 3,1	393,0 ± 5,5
Ruzene <sup>®</sup> 2011	509,3 ± 39,6	392,7 ± 3,1
Namorado <sup>®</sup> 2009	410,6 ± 7,5	367,8 ± 6,6
Namorado <sup>®</sup> 2010	411,8 ± 7,0	404,6 ± 8,2
<b>Média ± dp</b>	<b>419,6 ± 60,4</b>	<b>375,7 ± 33,8</b>
<b>Arroz-preto (grãos longos)</b>		
SC 606 2009	358,6 ± 8,8	341,0 ± 11,9
SC 606 2010 Itajaí	470,1 ± 15,3	405,5 ± 3,7
SC 606 2010 Araranguá	322,1 ± 16,4	322,2 ± 10,2
SCS 120 Ônix 2009	402,3 ± 16,3	402,1 ± 8,5
SCS 120 Ônix 2010 Itajaí	434,7 ± 8,5	397,9 ± 13,2
SCS 120 Ônix 2010 Araranguá	436,2 ± 19,6	361,9 ± 12,7
SC 704 2011	512,8 ± 15,3	428,3 ± 13,2
SC 705 2011	564,7 ± 22,5	470,9 ± 8,8
SC 706 2011	593,8 ± 10,2	400,2 ± 4,9
SC 707 2011	499,4 ± 9,6	444,2 ± 4,8
<b>Média ± dp</b>	<b>459,5 ± 86,4</b>	<b>397,4 ± 45,6</b>

Média das análises em triplicata.

**Tabela 13.** Teores de compostos fenólicos totais e flavonoides de arroz-vermelho e arroz selvagem

Amostras	CFT	Flavonoides
	mg eq. ác. ferúlico/ 100 g arroz base seca	mg eq. catequina/ 100 g arroz base seca
<b>Arroz-vermelho</b>		
Ruzene <sup>®</sup> 2009	328,2 ± 21,0	241,6 ± 5,2
Ruzene <sup>®</sup> 2010	365,1 ± 6,5	247,8 ± 7,9
Ruzene <sup>®</sup> 2011	338,1 ± 14,4	199,2 ± 4,6
Namorado <sup>®</sup> 2009	333,0 ± 3,8	204,4 ± 6,3
Namorado <sup>®</sup> 2011	347,7 ± 6,3	189,6 ± 4,0
SCS 119 Rubi 2010 Araranguá	307,5 ± 4,0	173,4 ± 2,4
SCS 119 Rubi 2010 Itajaí	335,5 ± 8,2	190,6 ± 2,2
SC 608 2011	432,3 ± 14,5	208,3 ± 6,2
SC 709 2011	489,6 ± 19,7	238,2 ± 5,0
SC 710 2011	437,3 ± 12,0	278,4 ± 6,3
<b>Média ± dp</b>	<b>371,4 ± 60,0</b>	<b>217,2 ± 32,8</b>
<b>Arroz selvagem</b>		
Blue Ville <sup>®</sup> 2010	187,7 ± 2,7	99,0 ± 0,8
Blue Ville <sup>®</sup> 2011	233,4 ± 5,2	109,1 ± 1,5
Namorado <sup>®</sup> 2009	219,4 ± 4,8	108,2 ± 0,8
Namorado <sup>®</sup> 2010	224,3 ± 1,7	109,3 ± 2,0
Namorado <sup>®</sup> 2011	212,3 ± 7,8	104,6 ± 1,3
<b>Média ± dp</b>	<b>215,4 ± 17,3</b>	<b>106,0 ± 4,4</b>

Média das análises em triplicata.

No arroz-vermelho a variação foi de 307,5 a 489,6 mg eq. ác. ferúlico/100g , enquanto que no arroz selvagem foi de 187,7 a 233,4 mg eq. ác. ferúlico/100g.

O arroz não pigmentado tem teores muito menores de CFT do que as variedades pigmentadas e o arroz selvagem. Em um estudo anterior, com dez genótipos de arroz não pigmentado os teores variaram de 38,8 a 89,3 mg eq. ác. ferúlico/100g (MASSARETTO et al., 2011).

O teor médio de CFT no arroz-preto de grãos longos foi de 459,5 mg eq. ác. ferúlico/100g, estatisticamente igual ao de grãos médios. Em comparação com o arroz-vermelho (371,4 mg eq. ác. ferúlico/100g) e com o arroz selvagem (215,4 mg

eq. ác. ferúlico/100g), o arroz-preto de grãos longos apresentou, respectivamente, 20% e 110% mais CFT (Tabela 14).

**Tabela 14.** Teores médios de compostos fenólicos totais e flavonoides de arroz-vermelho, preto e selvagem.

Grupos	CFT	Flavonoides
	mg eq. ác. ferúlico/ 100 g arroz base seca	mg eq. catequina/ 100 g arroz base seca
<b>Arroz-preto - grãos médios</b> (n=5)	419,6 <sup>a,b</sup> ± 60,4	375,7 <sup>a</sup> ± 33,8
<b>Arroz-preto - grãos longos</b> (n=11)	459,5 <sup>a</sup> ± 86,4	397,4 <sup>a</sup> ± 45,6
<b>Arroz-vermelho</b> (n=9)	371,4 <sup>b</sup> ± 60,0	217,2 <sup>b</sup> ± 32,8
<b>Arroz selvagem</b> (n=6)	215,4 <sup>c</sup> ± 17,3	106,0 <sup>c</sup> ± 4,4

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

Comparando-se os teores médios de CFT das variedades analisadas neste trabalho com o teor de CFT do arroz não pigmentado (57,0 mg eq. ác. ferúlico/100g) obtido a partir de um estudo anterior com dez genótipos de arroz integral produzidos em Santa Catarina (MASSARETTO et al, 2011), concluímos que o arroz-preto, o arroz-vermelho e o arroz selvagem, têm em média, oito, seis e quatro vezes mais CFT do que o arroz integral não pigmentado, respectivamente.

A diferença de teores de CFT entre variedades não pigmentadas de arroz e variedades pigmentadas também foi evidenciada em outros estudos. Goffman e Bergman (2004), num trabalho de triagem, quantificaram os fenólicos de 320 genótipos de arroz integral que haviam sido agrupados em diferentes classes de acordo com a cor do pericarpo. Os resultados para as linhagens roxas e vermelhas variaram entre 29,0 e 583,0 mg eq. ác. gálico/100g, enquanto que as linhagens de coloração marrom variaram de 25,0 a 286,0 mg eq. ác. gálico/100g. Em linhagens com pericarpo mais claro os teores encontrados foram de 23,0 a 62,0 mg eq. ác. gálico/100g.

Outros autores também observaram diferenças significativas nos teores de CFT de acordo com a coloração dos grãos de arroz.

Shen et al. (2009) descreveram teores médios de 1056, 470 e 152 mg eq. ácido gálico/100g em amostras de arroz-preto, vermelho e não pigmentado, respectivamente. Os autores verificaram que o arroz-preto apresenta o maior teor de CFT, sete vezes maior do que o encontrado em amostras não pigmentadas, enquanto que o arroz-vermelho apresentou teor três vezes maior do que o encontrado nos grãos não pigmentados.

Min et al. (2012) ao contrário do trabalho anterior, encontraram teor maior no arroz-vermelho (697 mg eq. ácido gálico/100g) do que em duas variedades de arroz-preto (540 e 240 mg eq. ácido gálico/100g) e o arroz não pigmentado apresentou os menores teores (58 e 62 mg eq. ácido gálico/100g).

Chen et al. (2012) analisaram três cultivares de arroz-preto, quatro de arroz-vermelho e uma de arroz não pigmentado; as variedades pigmentadas apresentaram teores de CFT semelhantes, quatro a sete vezes maiores do que a variedade não pigmentada. No arroz-vermelho os teores variaram de 450 a 700 mg eq. ácido gálico/100g, no arroz-preto a variação foi de 400 a 650 mg eq. ácido gálico/100g e a variedade não pigmentada apresentou teor de 100 mg eq. ácido gálico/100g. O mesmo foi observado por Sompong *et al.* (2011), em um estudo com três cultivares de arroz-preto e dez de arroz-vermelho. Os autores quantificaram os teores de CFT e verificaram variação de 336,7 a 665,0 mg eq. ácido gálico/100g nas amostras de arroz-preto e uma variação ainda maior nas amostras de arroz-vermelho, de 79,2 a 691,4 mg eq. ácido gálico/100g.

De fato, no presente trabalho alguns genótipos de arroz-vermelho também apresentaram teores de CFT maiores do que determinados genótipos de arroz-preto, embora, em média, o grupo de arroz-preto tivesse quantidades significativamente maiores. O arroz-preto de grãos longos, teve 20% mais CFT do que o arroz-vermelho, o que demonstra que existe uma tendência para que as amostras de arroz-preto tenham maiores teores de CFT, embora nem sempre isso aconteça para todas as amostras.

Em um estudo com dezesseis amostras de arroz-vermelho, todas cultivadas no Brasil, sendo cinco provenientes do nordeste, dez do estado do Rio Grande do Sul e uma de Santa Catarina, os teores de CFT variaram de 478,7 a 973,0 mg eq, ác. gálico/100g e a variação observada não estava relacionada ao local de cultivo do arroz (WALTER et al., 2011). Nesse trabalho, os teores de CFT foram maiores do que os observados em nossas amostras de arroz-vermelho. Tal fato eventualmente esteja relacionado ao método de extração empregado pelos autores, que combina a utilização sequencial com três solventes: metanol 80%, metanol 80% acidificado (pH 1,0) e acetona 70%. Nos demais estudos, incluindo o nosso, foi empregado somente um dos solventes para a extração dos compostos fenólicos.

Em um dos poucos estudos de fitoquímicos do arroz selvagem, os autores avaliaram nove amostras comerciais de arroz selvagem produzidas no Canadá, e observaram grande variação nos teores de CFT, de 247,2 a 407,2 mg eq. ác. ferúlico/100g (QIU; LIU; BETA, 2009). Os teores foram da mesma ordem de grandeza dos encontrados neste trabalho.

De forma geral, por meio da avaliação dos resultados deste e de outros estudos, o arroz-preto tende a apresentar os maiores teores de CFT, seguido do arroz-vermelho, do arroz selvagem e por fim do arroz integral não pigmentado. Porém, devido à grande variação dos teores entre genótipos com mesma cor de pericarpo, é comum encontrar variedades de arroz-vermelho com maiores teores de CFT do que alguns genótipos de arroz-preto.

Os compostos fenólicos majoritários em variedades pigmentadas de arroz integral são flavonoides, enquanto que em variedades não pigmentadas são os ácidos fenólicos (SHEN et al., 2009; FINOCCHIARO; FERRARI; GIANINETTI, 2010; MIN; RYU; KIM., 2010).

Neste trabalho os teores de flavonoides foram maiores no arroz-preto do que no arroz-vermelho e no arroz selvagem. Os teores variaram de 320,2 a 404,6 mg eq. catequina/100g no arroz-preto de grãos médios e de 322,2 a 470,9 mg eq. catequina/100g no de grãos longos. No arroz-vermelho e no arroz selvagem os teores variaram de 173,4 a 278,4 e de 99,0 a 109,3 mg eq. catequina/100g, respectivamente (Tabelas 12 e 13).

Os teores médios de flavonoides nos dois grupos de arroz-preto não foram significativamente diferentes (375,7 e 397,4 mg eq. catequina/100g) entre si e, de forma geral, foram 80% superiores ao teor médio de flavonoides do arroz-vermelho (217,2 mg eq. catequina/100g) e 260% superiores ao do arroz selvagem (106,0 mg eq. catequina/100g).

De forma geral, os teores de flavonoides são bastante variáveis nos trabalhos com arroz pigmentado, tanto em grãos com diferentes colorações como também entre grãos com a mesma cor.

Min et al. (2012) quantificaram os teores de flavonoides em duas variedades de arroz-preto e uma de arroz-vermelho e os teores foram menores do que os observados no presente estudo; o arroz-preto apresentou 88 e 228 mg eq catequina/100g e no arroz-vermelho 134 mg eq. catequina/100g. No trabalho de Huang e Ng (2012) com variedades pigmentadas de arroz, produzidas em Taiwan, as duas amostras de arroz-preto apresentaram teores de flavonoides discrepantes (234 e 590 mg eq catequina/100g) enquanto nas duas variedades de arroz-vermelho os teores foram semelhantes (441 e 473 mg eq catequina/100g).

Em outro estudo, todos os teores de flavonoides foram maiores, principalmente no arroz-preto. Nesse estudo as duas variedades de arroz-preto avaliadas apresentaram 420 e 1030 mg eq. catequina/100g enquanto que as cinco variedades de arroz-vermelho tiveram os teores de flavonoides variando entre 300 e 500 mg eq. catequina/100g (FINOCCHIARO; FERRARI; GIANINETTI, 2010).

Ainda que seja difícil comparar os dados apresentados por Shen et al. (2009) por terem utilizado rutina como padrão e não catequina é interessante citá-los pois trata-se de um estudo com 52 cultivares de arroz-vermelho e 6 de arroz-preto. O teor médio de flavonoides no arroz-preto (240,6 mg eq. rutina/100g) foi maior do que o teor no arroz-vermelho (147,2 mg eq. rutina/100g), e por esse motivo se assemelha ao presente trabalho.

A grande variação nos teores de compostos fenólicos e de flavonoides no arroz pigmentado, observada nos trabalhos publicados, pode ser decorrente não só das diferenças varietais, mas também das condições de cultivo dos grãos, tais como o clima, o solo e a safra. Ainda, as diferenças nos métodos de extração e análise

empregados, para a quantificação desses fitoquímicos, também podem contribuir para essa variação.

### 5.3.2 Teores de proantocianidinas

Os teores de proantocianidinas ou taninos condensados foram determinados nas amostras de arroz-vermelho e selvagem. O arroz-preto não foi submetido a essa quantificação devido à interferência das antocianinas, principais compostos fenólicos presentes nesses grãos e que são simultaneamente extraídos com os taninos.

No arroz selvagem os teores de taninos condensados foram menores do que o limite de quantificação do método analítico empregado e, portanto, estão apresentados somente os teores de taninos condensados do arroz-vermelho (Tabela 15). Os teores de proantocianidinas no arroz-vermelho variaram de 105,6 a 198,5 mg eq. catequina/100 g, sendo o teor médio igual a 146,83 mg eq. catequina/100g.

**Tabela 15.** Teores de proantocianidinas em arroz-vermelho.

Amostras	Proantocianidinas mg eq. catequina/ 100 g arroz base seca
<b>Arroz-vermelho</b>	
Ruzene <sup>®</sup> 2009	133,8 ± 5,5
Ruzene <sup>®</sup> 2010	169,0 ± 6,8
Ruzene <sup>®</sup> 2011	105,6 ± 3,0
Namorado <sup>®</sup> 2009	143,3 ± 5,0
Namorado <sup>®</sup> 2011	116,5 ± 4,3
SCS 119 Rubi 2010 Araranguá	145,0 ± 2,4
SCS 119 Rubi 2010 Itajaí	155,0 ± 1,2
SCS 119 Rubi 2011	127,3 ± 1,4
SC 709 2011	173,9 ± 5,9
SC 710 2011	198,5 ± 6,2
<b>Média ± dp</b>	<b>146,8 ± 28,2</b>

Média das análises em triplicata.

Existem poucos trabalhos de quantificação de proantocianidinas em arroz pigmentado. Em dois trabalhos publicados por Finocchiaro et al. (2007 e 2010), os teores foram muito baixos quando comparados aos obtidos neste estudo e, talvez seja em decorrência da utilização de diferentes métodos analíticos e diferentes padrões para elaboração da curva de calibração. Os autores obtiveram, no primeiro estudo, o teor de 7,6 mg eq. cianidina/100g para uma amostra de arroz-vermelho. No estudo mais recente, quantificaram as proantocianidinas em cinco diferentes cultivares de arroz-vermelho e os teores variaram de 9,4 a 11,8 mg eq. cianidina/100g.

Em um estudo recente realizado por Min et al. (2012), o procedimento analítico e o padrão utilizado foram iguais aos empregados neste trabalho e, portanto, as informações podem ser comparadas. Os autores quantificaram as proantocianidinas totais em uma variedade de arroz-vermelho e o teor foi 202 mg eq. catequina/100g, conteúdo semelhante ao encontrado neste trabalho. Também foram quantificadas as frações de proantocianidinas de diferentes graus de polimerização, com estruturas variando de monômeros a decâmeros, por CLAE. No arroz-vermelho as proantocianidinas encontram-se sob diferentes graus de polimerização predominando estruturas maiores que trímeros. A distribuição observada foi: 6,5% dos compostos com estruturas de monômeros a trímeros, 33,5% com estruturas de tetrâmeros a hexâmeros, 30,6% com estruturas de heptâmero a decâmero e 29,4% com estruturas de polímeros, compostos por mais de 10 unidades de catequina ou epicatequina.

### **5.3.3 Teores de antocianinas monoméricas totais**

Os teores de antocianinas foram determinados nas amostras de arroz-preto, vermelho e selvagem. No arroz-vermelho e no arroz selvagem os teores de antocianinas foram menores do que o limite de quantificação do método analítico empregado e, portanto, estão apresentados na Tabela 16 somente os teores de antocianinas do arroz-preto.

Dentre as amostras de arroz-preto, tanto médios como longos, os teores de antocianinas monoméricas totais variaram de 275,1 a 551,8 mg eq. cianidina-3-

glicosídeo/100g. Os teores médios do grupo de grãos médios e do grupo de grãos longos foram significativamente diferentes, sendo que o de grãos longos apresentou o maior conteúdo médio de antocianinas.

**Tabela 16.** Teores de antocianinas totais em arroz-preto.

Amostras	Antocianinas totais
	mg eq. cianidina-3-glicosídeo/ 100 g arroz base seca
<b>Arroz-preto (grãos médios)</b>	
Ruzene <sup>®</sup> 2009	278,5 ± 3,3
Ruzene <sup>®</sup> 2010	354,9 ± 3,9
Ruzene <sup>®</sup> 2011	293,8 ± 5,5
Namorado <sup>®</sup> 2009	337,9 ± 4,2
Namorado <sup>®</sup> 2010	320,9 ± 3,1
	<b>Média ± dp</b>
	<b>317,2 ± 31,3</b>
<b>Arroz-preto (grãos longos)</b>	
SC 606 2009	280,2 ± 2,0
SC 606 2010 Itajaí	400,7 ± 3,1
SC 606 2010 Araranguá	224,1 ± 4,7
SCS 120 Ônix 2009	368,5 ± 3,1
SCS 120 Ônix 2010 Itajaí	378,6 ± 4,1
SCS 120 Ônix 2010 Araranguá	275,1 ± 1,9
SC 704 2011	420,2 ± 4,1
SC 705 2011	426,4 ± 7,4
SC 706 2011	551,8 ± 6,8
SC 707 2011	428,6 ± 2,6
SC 708 2011	498,8 ± 4,1
	<b>Média ± dp</b>
	<b>386,6 ± 97,5</b>

Média das análises em triplicata.

O arroz-preto foi o cereal pigmentado com maior teor de antocianinas segundo estudo conduzido por Abdel-Aal, Young e Rabalski *et al.* (2006). Os autores quantificaram as antocianinas totais em variedades pigmentadas de arroz, milho, trigo e cevada. Em cultivares pigmentadas de milho os teores variaram de 5,1 a 127,7 mg eq. cianidina-3-glicosídeo/100g; em amostras de trigo pigmentado os teores ficaram entre 0,7 a 21,2 mg eq. cianidina-3-glicosídeo/100g e na cevada azul o teor foi de 3,5 mg eq. cianidina-3-glicosídeo/100g. No arroz, os teores variaram

muito de acordo com a pigmentação do grão; o arroz selvagem e o arroz-vermelho apresentaram somente 2,7 e 9,4 mg eq. cianidina-3-glicosídeo/100g, respectivamente, enquanto o arroz-preto apresentou 327,6 mg eq. cianidina-3-glicosídeo/100g, o maior teor entre todos os cereais analisados e que foi semelhante ao observado em genótipos de arroz-preto avaliados no presente trabalho.

Em outros estudos foram descritos teores mais baixos de antocianinas totais em arroz-preto do que o encontrado neste trabalho. Finocchiaro, Ferrari e Gianinetti (2010) quantificaram as antocianinas em cinco cultivares de arroz-vermelho e duas de arroz-preto. Enquanto não foram detectadas antocianinas no arroz-vermelho; o arroz-preto apresentou teores que variaram de 70 a 130 mg eq. cianidina-3-glicosídeo. Sompong et al. (2011) quantificaram as antocianinas em dez cultivares de arroz-vermelho e três cultivares de arroz-preto. O arroz-vermelho apresentou teores insignificantes de antocianinas, enquanto no arroz-preto o conteúdo desses compostos variou de 109,5 a 256,6 mg cianidina-3-glicosídeo /100g.

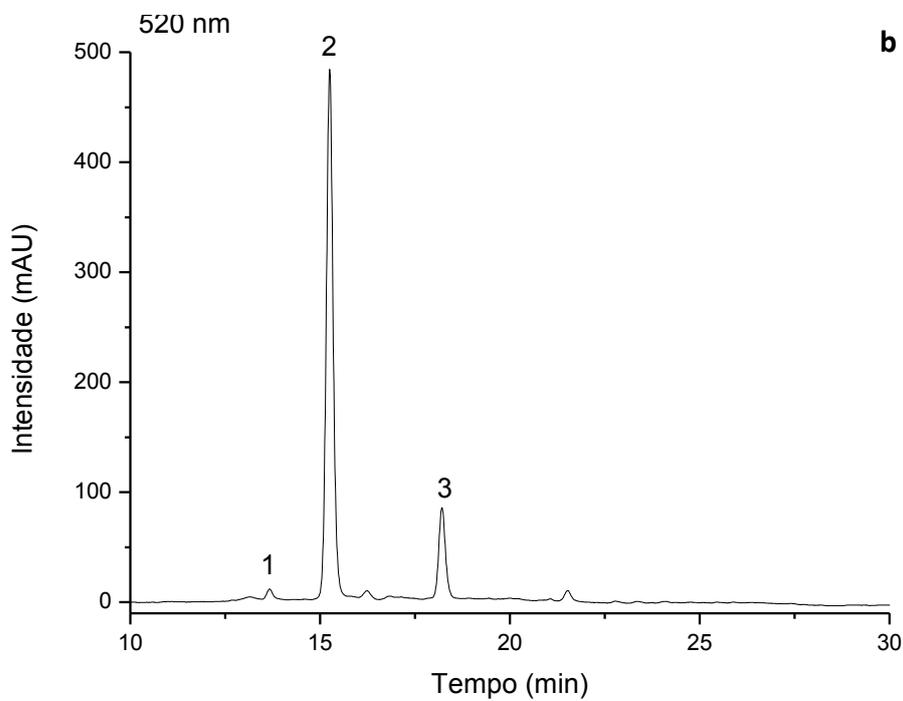
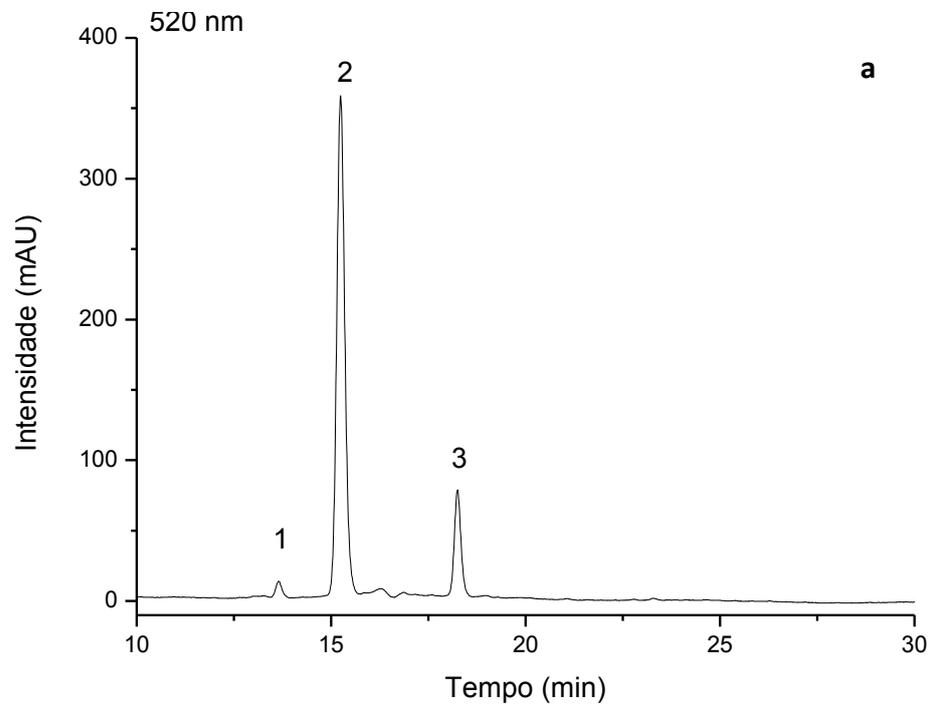
Alguns trabalhos mostram grande variação nos conteúdos de antocianinas em amostras de arroz-preto ou de farelo extraído dos grãos. Min et al. (2012) descreveram teores de 123,0 e de 470,0 mg cianidina-3-glicosídeo para duas variedades de arroz-preto, enquanto nas cinco variedades de arroz-vermelho os teores foram insignificantes. Em um trabalho de quantificação de fitoquímicos em farelo de doze variedades diferentes de arroz-preto, os teores de antocianinas totais variaram entre 1227 e 5096 mg eq. cianidina-3-glicosídeo/100g, o que corresponde a teores nos grãos de arroz equivalentes a 122,7 a 509,6 mg eq. cianidina-3-glicosídeo/100g , uma vez que o farelo representa cerca de 10% do peso do grão (ZHANG et al., 2010).

O conteúdo de antocianinas totais também pode ser determinado por CLAE por meio do cálculo da área debaixo do pico e da utilização de um padrão externo. Embora haja indícios de que os teores medidos por meio dessa análise possam ser maiores do que os encontrados por método espectrofotométrico, há forte correlação entre as duas metodologias. Utilizando CLAE, Kim et al. (2010) quantificaram as antocianinas em duas variedades de arroz não pigmentado, duas de arroz-vermelho e três de arroz-preto. No arroz não pigmentado não foram

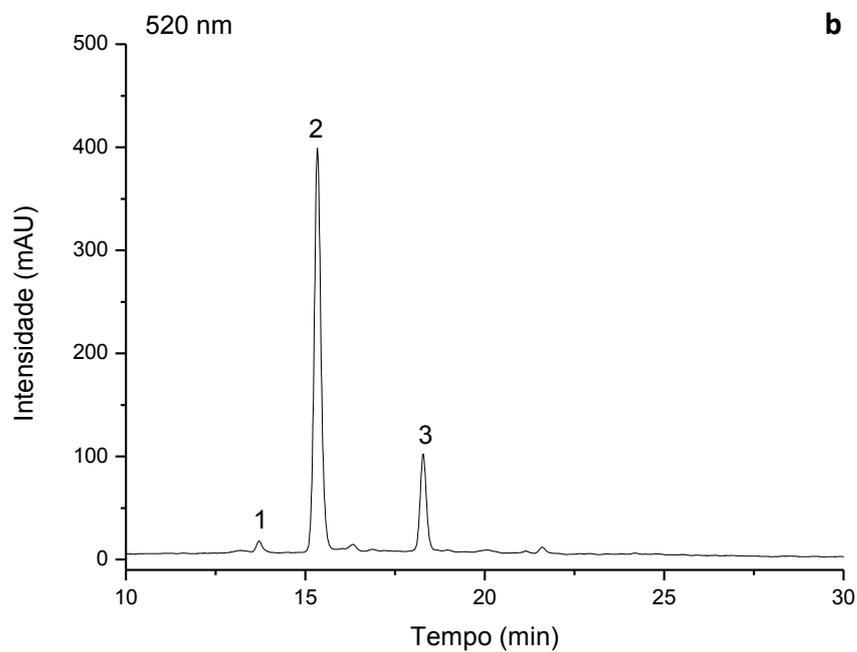
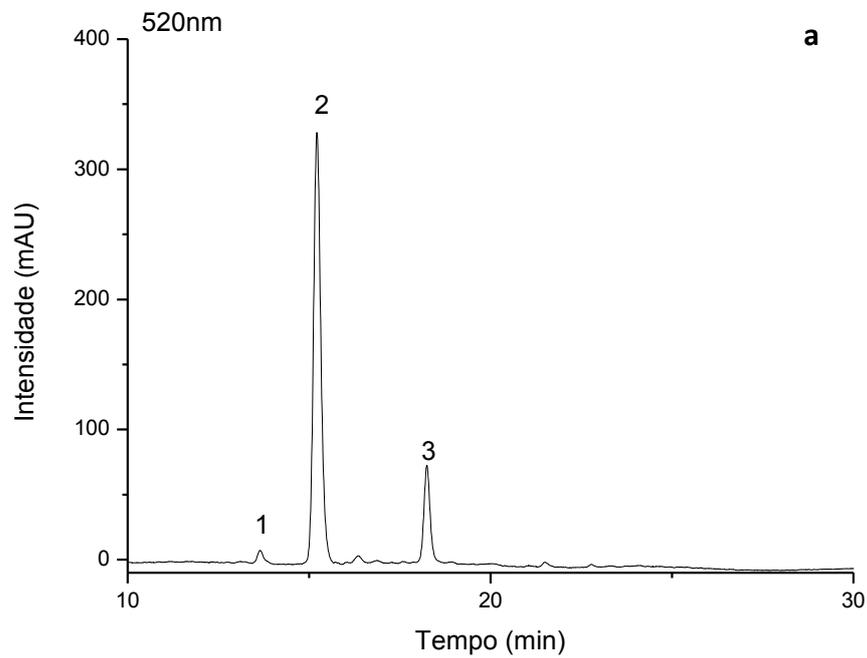
detectadas antocianinas e no arroz-vermelho seus teores foram baixos (15,7 e 62,7 mg cianidina-3-glicosídeo /100g), no arroz-preto os conteúdos foram 143,2, 311,3 e 344,5 mg cianidina-3-glicosídeo /100g nas três cultivares analisadas. O mesmo método foi utilizado por Chen et al. (2012) e, enquanto não foram detectadas antocianinas na variedade de arroz não pigmentado, nas quatro variedades de arroz-vermelho os teores foram baixos e variaram de 7,9 a 34,4 mg cianidina-3-glicosídeo /100g, no arroz-preto os teores foram maiores e variaram muito nas três cultivares (79,5 a 473,7 mg cianidina-3-glicosídeo /100g).

#### ***5.3.4 Separação e identificação das antocianinas por CLAE-DAD-MS/MS***

As antocianinas de dois genótipos de arroz-preto, SCS 120 Ônix Itajaí (2010) e SC 707 (2011), antes e após o cozimento, foram identificadas por CLAE-DAD-MS/MS (Figuras 15 e 16).



**Figura 15.** Cromatograma, obtido por CLAE-DAD, das antocianinas de arroz-preto cru (a) SC 707 (2011) e (b) SCS 120 Ônix Itajaí (2010). Picos identificados de acordo com a Tabela 17.



**Figura 16.** Cromatograma, obtido por CLAE-DAD, das antocianinas de arroz-preto cozido (a) SC 707 (2011) e (b) SCS 120 Ônix Itajaí (2010). Picos identificados de acordo com a Tabela 17.

Na Tabela 17 reúnem-se as características cromatográficas e dos espectros de UV-vis e de massas apresentadas por esses fitoquímicos. Três antocianinas foram encontradas tanto no arroz cru quanto no cozido, a cianidina-di-hexosídeo (pico 1), a cianidina-3-O-glicosídeo (pico 2) e a peonidina-3-O-glicosídeo (pico 3).

**Tabela 17.** Características cromatográficas e espectroscópicas, obtidas por CLAE-DAD-MS/MS, das antocianinas de arroz-preto cru e cozido.

Pico <sup>a</sup>	Composto	t <sub>R</sub> (min) <sup>b</sup>	λ <sub>max</sub> (nm) <sup>c</sup>	[M] <sup>+</sup> (m/z)	Íons fragmentos obtidos por MS/MS (m/z)
1	Cianidina di-hexosídeo	13,6	280, 518	611	287 [M-324] <sup>+</sup>
2	Cianidina 3-O-glicosídeo	15,4	280, 517	449	287 [M-162] <sup>+</sup>
3	Peonidina 3-O-glicosídeo	18,3	301, 518 - 521	463	301 [M-162] <sup>+</sup>

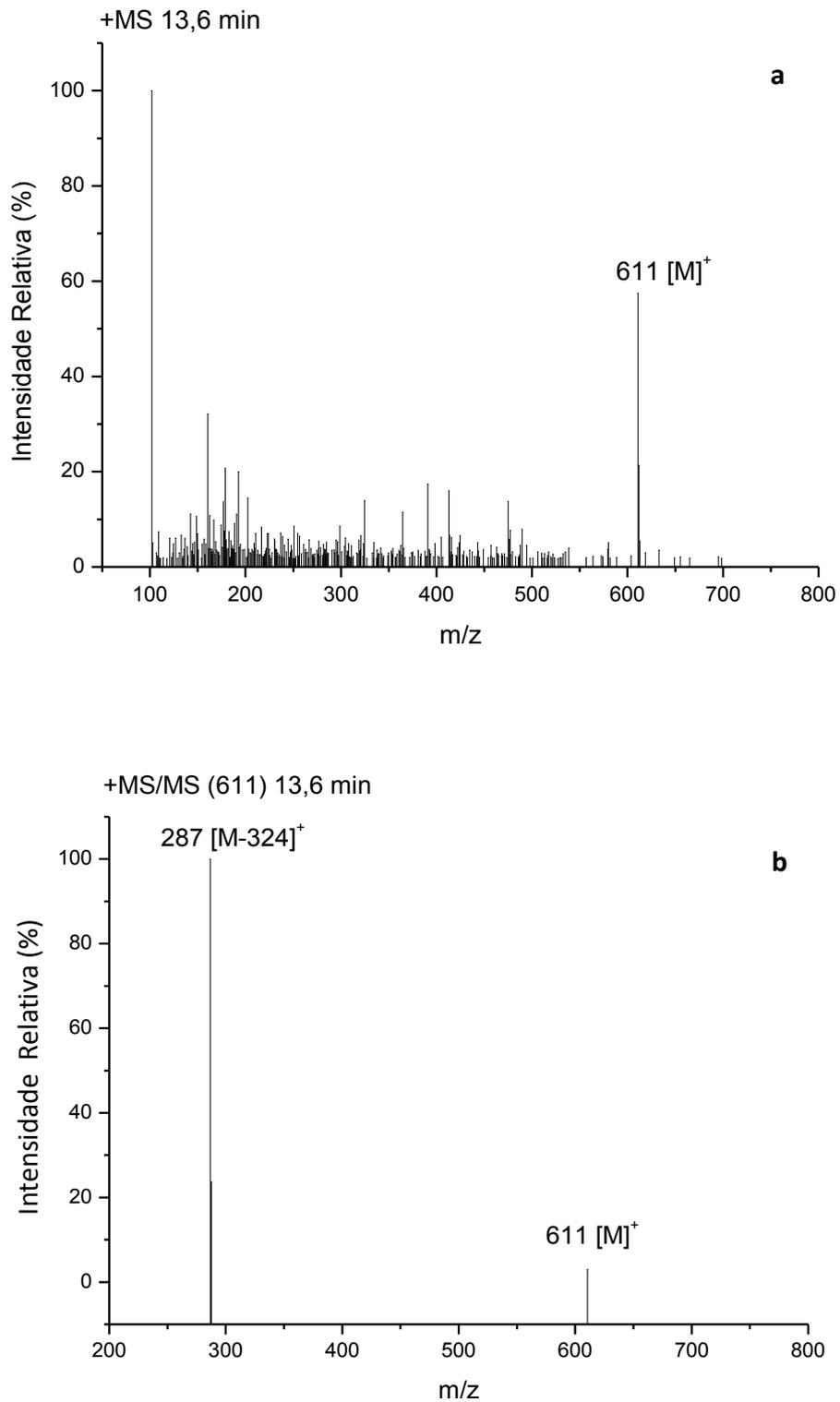
<sup>a</sup> picos numerados de acordo com as Figuras 15 e 16.

<sup>b</sup> tempo de retenção na coluna C<sub>18</sub> Shim-pack.

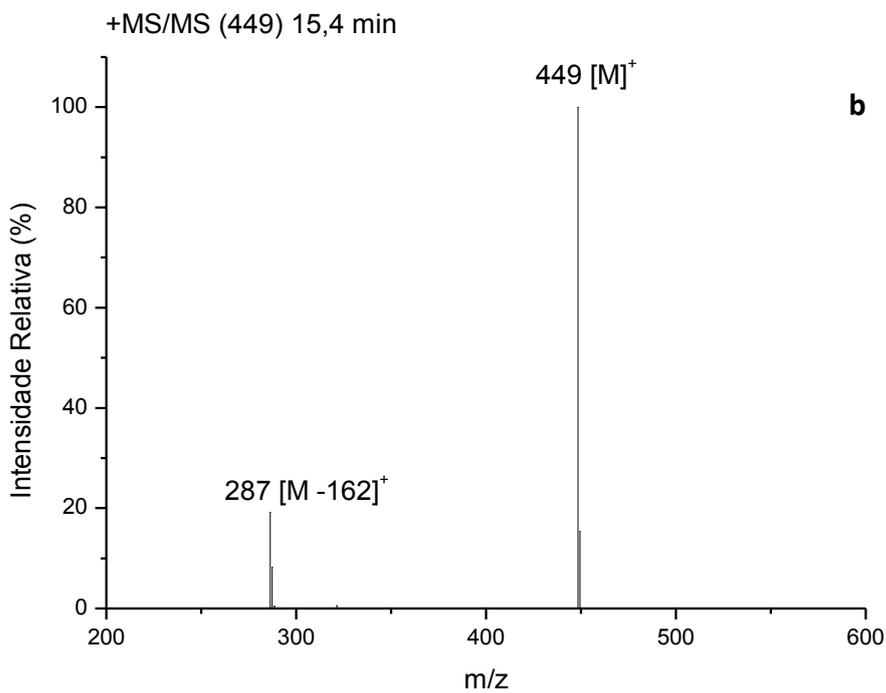
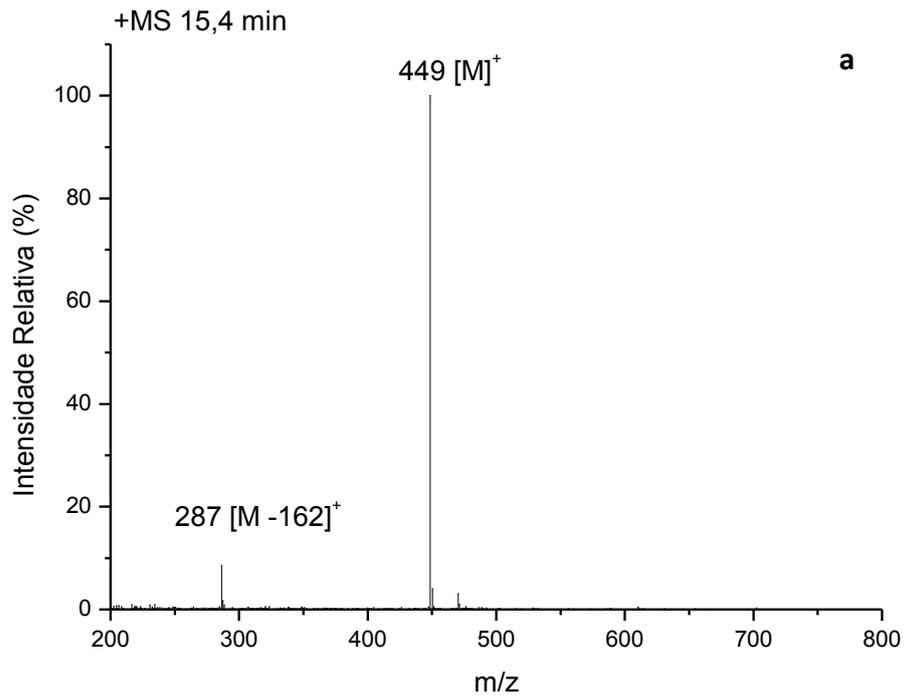
<sup>c</sup> gradiente linear de água/metanol, ambos com 5% de ácido fórmico.

Foram encontradas somente duas agliconas, a cianidina e a peonidina, as quais foram identificadas devido à presença do íon fragmento no MS/MS a m/z 287 e a m/z 301, respectivamente.

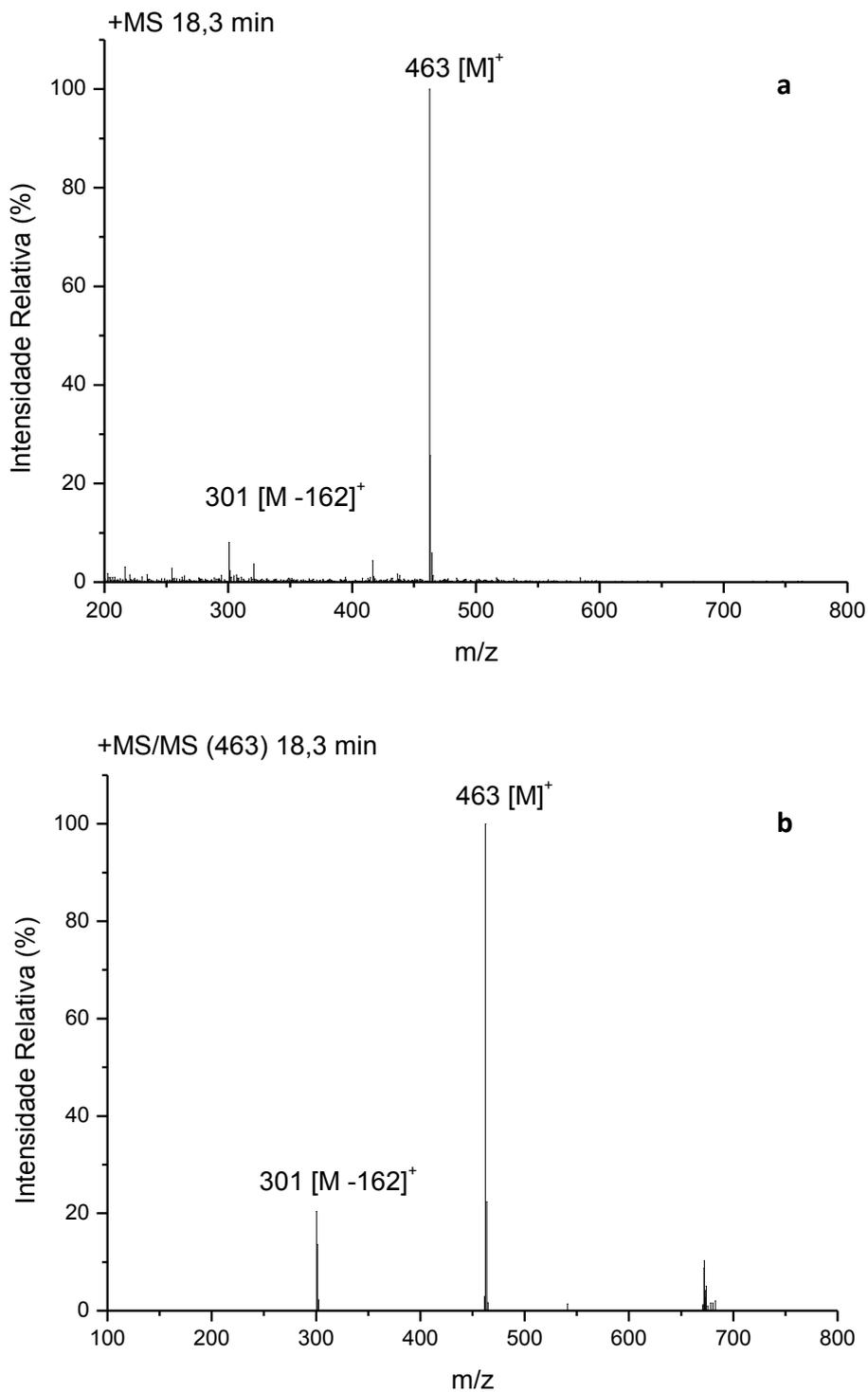
O pico 1 foi tentativamente identificado como cianidina di-hexosídeo por apresentar íon molecular ([M]<sup>+</sup>) a m/z 611 (Figura 17) e fragmento no MS/MS resultante da perda de 324 u, o qual corresponde à perda de duas unidades de hexose, semelhantemente a dados encontrados na literatura (HIEMORI; KOH; MITCHELL, 2009). Nas demais antocianinas identificadas (picos 2 e 3), a fragmentação do [M]<sup>+</sup> no MS/MS (Figuras 18 e 19) resultou na perda de 162 u (Tabela 17), o que corresponde à perda de uma unidade de hexose. A hexose presente nos picos 2 e 3 foi identificada como glicose por comparação do tempo de retenção com padrões de cianidina 3-O-glicosídeo e peonidina 3-O-glicosídeo.



**Figura 17.** Espectro de massas da cianidina di-hexosídeo (pico 1) em arroz-preto (a) cru e (b) cozido.



**Figura 18.** Espectro de massas da cianidina-3-O-glicosídeo (pico 2) em arroz-preto (a) cru e (b) cozido.



**Figura 19.** Espectro de massas da peonidina-3-O-glicosídeo (pico 3) em arroz-preto (a) cru e (b) cozido.

Resultados similares foram encontrados por Lee (2010) e Yawadio, Tanimori e Morita (2007), que empregaram ressonância magnética nuclear (RMN)

das estruturas, hexoses e posição de substituição para a identificação da cianidina-3-O-glicosídeo e da peonidina-3-O-glicosídeo em arroz-preto.

A proporção de antocianinas observada em cada amostra encontra-se descrita na Tabela 18.

**Tabela 18.** Proporção (porcentagem de área) das antocianinas presentes em arroz-preto cru e cozido.

Arroz-preto	cianidina di-hexosídeo	cianidina 3-O-glicosídeo	peonidina 3-O-glicosídeo
SC 707 cru	1,7	83,5	14,8
SC 707 cozido	1,6	82,7	15,7
SCS 120 Ônix cru	0,6	85,0	14,4
SCS 120 Ônix cozido	0,7	84,3	15,0

Observa-se que a proporção das antocianinas é semelhante nos grãos crus e cozidos das duas cultivares analisadas.

Vários trabalhos de identificação de antocianinas a partir de arroz-preto ou farelo de arroz-preto descrevem uma distribuição semelhante à encontrada neste estudo, com a cianidina-3-O-glicosídeo como o composto predominante (>70%), seguido de quantidades menores de peonidina-3-O-glicosídeo (5 a 25%) (ABDEL-AAL; YOUNG; RABALSKI, 2006; YAWADIO; TANIMORI; MORITA., 2007; KIM et al., 2010; ZHANG et al., 2010; LAOKULDILOK et al., 2011; SOMPONG et al., 2011; FRANK et al., 2012; MIN et al., 2012). Diferentes antocianinas, presentes em quantidades pouco significativas, foram identificadas nesses trabalhos, sendo a cianidina-3-O-galactosídeo, cianidina-3-O-rutenosídeo e de cianidina-di-glicosídeo, os mais frequentemente identificados.

Embora a petunidina-3-O-glicosídeo seja raramente encontrada em arroz-preto, é a antocianina predominante na cultivar Chinakuromai, proveniente do Japão, correspondendo a 50% do total, seguida da peonidina-3-O-glicosídeo (30%) e de

pequena quantidade de cianidina-3-O-glicosídeo (10%); tal composição difere essa cultivar de arroz-preto de outras já estudadas (CHEN et al., 2012).

#### **5.4 Atividade antioxidante pelo método de ORAC e do DPPH'**

Os extratos de compostos fenólicos do arroz-preto apresentaram, pelo método do ORAC, 125% e 165% mais atividade que os extratos de arroz-vermelho e selvagem, respectivamente.

Não houve diferença significativa entre a atividade antioxidante média dos dois grupos de arroz-preto (17,2 e 18,8 mmoles eq. Trolox/100g) e os valores individuais variaram de 14,2 a 22,2 mmoles eq. Trolox/100g de arroz (Tabela 19). No arroz-vermelho e no arroz selvagem a atividade antioxidante variou de 6,3 a 9,5 e de 6,2 a 7,9 mmoles eq. Trolox/100g, respectivamente (Tabela 20), sendo a atividade antioxidante média significativamente maior no arroz-preto (Tabela 21).

Em um trabalho anterior, com 27 amostras de arroz integral não pigmentado, cultivadas no estado de Santa Catarina, a atividade antioxidante média das amostras foi de 2,1 mmoles eq. Trolox/100g com variação de 1,0 a 2,8 mmoles eq. Trolox/100g (KAWASSAKI, 2011). A partir desses dados conclui-se que as variedades de arroz-preto, vermelho e selvagem analisadas neste trabalho têm, respectivamente, atividades antioxidantes, nove, quatro e três vezes maiores do que o arroz integral não pigmentado, pelo método do ORAC.

Em trabalhos recentes sobre atividade antioxidante de arroz integral, há um consenso de que as variedades pigmentadas apresentam atividade antioxidante maior do que as não pigmentadas em função da presença acentuada de compostos fenólicos no pericarpo dos grãos. Em um estudo publicado por ZHANG et al. (2010) com 14 amostras de farelo, 12 de arroz-preto e 2 de arroz não pigmentado, embora tenha sido observada grande variação na atividade antioxidante do farelo de arroz-preto, de 47,7 a 180 mmoles eq. Trolox/100g, a atividade antioxidante média dessas amostras foi nove vezes maior do que a do farelo de arroz não pigmentado.

**Tabela 19.** Atividade antioxidante dos extratos de compostos fenólicos de arroz-preto.

Amostras	ORAC	DPPH'
	mmoles eq. trolox/100 g arroz base seca	
<b>Arroz-preto (grãos médios)</b>		
Ruzene <sup>®</sup> 2009	14,2 ± 0,7	1,7 ± 0,0
Ruzene <sup>®</sup> 2010	17,1 ± 0,5	2,0 ± 0,1
Ruzene <sup>®</sup> 2011	19,1 ± 0,9	2,0 ± 0,1
Namorado <sup>®</sup> 2009	15,8 ± 0,1	2,0 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2010	19,9 ± 0,7	1,8 ± 0,0
<b>Média ± dp</b>	<b>17,2 ± 2,3</b>	<b>1,9 ± 0,1</b>
<b>Arroz-preto (grãos longos)</b>		
SC 606 2009	14,8 ± 0,6	1,7 ± 0,0
SC 606 2010 Itajaí	22,2 ± 0,8	2,4 ± 0,1
SC 606 2010 Araranguá	16,7 ± 0,6	1,6 ± 0,0
SCS 120 Ônix 2009	21,1 ± 0,9	2,2 ± 0,1
SCS 120 Ônix 2010 Itajaí	17,0 ± 0,7	2,0 ± 0,1
SCS 120 Ônix 2010 Araranguá	16,8 ± 0,4	2,0 ± 0,1
SC 704 2011	20,8 ± 1,0	2,4 ± 0,1
SC 705 2011	20,4 ± 0,5	2,4 ± 0,1
SC 706 2011	20,6 ± 0,5	2,7 ± 0,1
SC 707 2011	17,6 ± 0,2	2,4 ± 0,1
<b>Média ± dp</b>	<b>18,8 ± 2,5</b>	<b>2,2 ± 0,3</b>

Média das análises em triplicata.

**Tabela 20.** Atividade antioxidante dos extratos de compostos fenólicos de arroz-vermelho e selvagem.

Amostras	ORAC	DPPH'
	mmoles eq. trolox/100 g arroz base seca	
<b>Arroz-vermelho</b>		
Ruzene® 2009	7,7 ± 0,2	1,2 ± 0,0
Ruzene® 2010	9,4 ± 0,4	1,9 ± 0,1
Ruzene® 2011	6,3 ± 0,2	1,7 ± 0,0
Namorado® 2009	8,4 ± 0,2	1,7 ± 0,0
Namorado® 2011	7,2 ± 0,2	1,3 ± 0,0
SCS 119 Rubi 2010 Araranguá	7,2 ± 0,1	1,5 ± 0,0
SCS 119 Rubi 2010 Itajaí	8,5 ± 0,1	1,7 ± 0,0
SCS 119 Rubi 2011	7,2 ± 0,2	1,7 ± 0,0
SC 709 2011	9,5 ± 0,2	2,3 ± 0,1
SC 710 2011	9,4 ± 0,4	2,2 ± 0,1
<b>Média ± dp</b>	<b>8,1 ± 1,1</b>	<b>1,7 ± 0,3</b>
<b>Arroz selvagem</b>		
Blue Ville® 2010	7,9 ± 0,4	1,0 ± 0,0
Blue Ville® 2011	6,6 ± 0,2	0,9 ± 0,0
Namorado® 2009	6,7 ± 0,1	0,8 ± 0,0
Namorado® 2010	6,4 ± 0,1	0,8 ± 0,0
Namorado® 2011	6,2 ± 0,2	0,8 ± 0,0
<b>Média ± dp</b>	<b>6,9 ± 2,4</b>	<b>0,9 ± 0,1</b>

Média das análises em triplicata.

**Tabela 21.** Atividade antioxidante dos extratos de arroz-preto, vermelho e selvagem.

Grupos	ORAC	DPPH'
	mmoles eq. trolox/100 g arroz base seca	
<b>Arroz-preto - grãos médios</b> (n=5)	17,2 <sup>a</sup> ± 2,3	1,9 <sup>a,b</sup> ± 0,1
<b>Arroz-preto - grãos longos</b> (n=11)	18,8 <sup>a</sup> ± 2,5	2,2 <sup>a</sup> ± 0,3
<b>Arroz-vermelho</b> (n=9)	8,1 <sup>b</sup> ± 1,1	1,7 <sup>b</sup> ± 0,3
<b>Arroz selvagem</b> (n=6)	6,9 <sup>c</sup> ± 2,4	0,9 <sup>c</sup> ± 0,1

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças significativas (p<0,05).

Em outro trabalho, no qual as atividades antioxidantes de três cultivares de arroz-preto, quatro de arroz-vermelho e uma de arroz não pigmentado foram avaliadas pelo método do ORAC, a maior atividade foi apresentada pelo arroz-vermelho (6,9 a 13,0 mmoles eq. Trolox/100g), seguida do arroz-preto (5,5 a 6,5 mmoles eq. Trolox/100g) e por fim do arroz não pigmentado (2,2 mmoles eq. Trolox/100g) (CHEN et al., 2012).

Segundo os resultados de Min et al. (2012), duas cultivares de arroz-preto diferiram muito em relação à atividade antioxidante (4,1 e 7,7 mmoles eq. Trolox/100g) e o arroz-vermelho apresentou valor muito próximo ao arroz-preto de menor atividade antioxidante (4,8 mmoles eq. Trolox/100g), enquanto o arroz não pigmentado, como em todos os estudos comparativos, apresentou a menor atividade (1,2 mmol eq. Trolox/100g). Todos esses dados demonstram que a atividade antioxidante é sempre maior em grãos de arroz pigmentados do que em grãos não pigmentados, mas a cor do pericarpo não define se o grão terá maior atividade antioxidante ou não. Grãos de arroz-preto nem sempre apresentam maior atividade antioxidante do que grãos vermelhos e parece que essa propriedade está mais relacionada às características genóticas das variedades.

No único estudo encontrado sobre a atividade antioxidante do arroz selvagem, foram analisadas nove amostras e a atividade antioxidante, avaliada pelo método do ORAC, variou de 4,0 a 6,0 mmoles eq. Trolox/100g, valores semelhantes aos obtidos no presente estudo (QIU; LIU; BETA, 2009).

Na análise de atividade antioxidante dos extratos de compostos fenólicos pelo método envolvendo seqüestro de DPPH<sup>·</sup>, os valores absolutos tiveram uma ordem de grandeza menor dos que os obtidos pelo método do ORAC.

Os valores médios de atividade antioxidante pelo método do DPPH<sup>·</sup> do arroz-preto e do arroz-vermelho foram muito próximos, mesmo havendo diferença significativa entre o arroz-preto de grãos longos e o arroz-vermelho.

O arroz-preto de grãos longos apresentou a maior atividade antioxidante média (2,2 mmoles eq. Trolox/100g) dentre as amostras e os valores individuais variaram de 1,7 a 2,7 mmoles eq. Trolox/100g; o arroz-preto de grãos médios teve atividade antioxidante média (1,9 mmol eq. Trolox/100g) estatisticamente igual a do

arroz-preto de grãos longos e a do arroz-vermelho e os valores individuais variaram de 1,7 a 2,0 mmoles eq. Trolox/100g. No arroz-vermelho e no arroz selvagem a atividade antioxidante variou de 1,2 a 2,3 e de 0,8 a 1,0 mmoles eq. Trolox/100g, respectivamente (Tabela 20), sendo a atividade antioxidante média significativamente maior no arroz-vermelho (Tabela 21).

Em um trabalho anterior, com 27 amostras de arroz integral não pigmentado, cultivadas no estado de Santa Catarina, a atividade antioxidante média das amostras foi de 0,09 mmol eq. Trolox/100g com variação de 0,07 a 0,12 mmoles eq. Trolox/100g (KAWASSAKI, 2011). A partir desses dados conclui-se que as variedades de arroz-preto, vermelho e selvagem analisadas no presente trabalho têm, respectivamente, atividades antioxidantes, vinte e três, dezenove e dez vezes maiores do que o arroz integral não pigmentado, pelo método do DPPH<sup>·</sup>.

Em um trabalho realizado por Goffman e Bergman (2004) foi avaliada a atividade antioxidante, pelo método do DPPH<sup>·</sup>, em cinco variedades de arroz integral não pimentado, dez variedades de arroz-vermelho e duas de arroz-preto. Os valores absolutos foram muito maiores do que os obtidos no presente trabalho. Nesse estudo, o arroz-vermelho apresentou a maior atividade antioxidante, que variou de 19,8 a 31,2 mmoles eq. Trolox/100g, seguido do arroz-preto com valores de 5,6 a 34,5 mmoles eq. Trolox/100g e por fim do não pigmentado com 1,0 a 1,3 mmol eq. Trolox/100g de atividade antioxidante.

No trabalho publicado por Min et al. (2012), o arroz-vermelho também apresentou maior atividade antioxidante (4,2 mmoles eq. Trolox/100g), pelo método do DPPH<sup>·</sup>, do que as duas cultivares de arroz-preto (1,2 e 3,2 mmoles eq. Trolox/100g) e do que o arroz não pigmentado (0,2 a 0,4 mmol eq. Trolox/100g).

No único estudo encontrado sobre a atividade antioxidante do arroz selvagem, foram analisadas nove amostras e a atividade antioxidante, avaliada pelo método do DPPH<sup>·</sup>, variou de 0,7 a 0,9 mmoles eq. Trolox/100g, valores semelhantes aos obtidos no presente estudo (QIU; LIU; BETA, 2009).

Os resultados obtidos neste trabalho, empregando duas metodologias diferentes, podem fornecer informações importantes a respeito das propriedades antioxidantes dos fitoquímicos do arroz integral. Os dados aqui apresentados

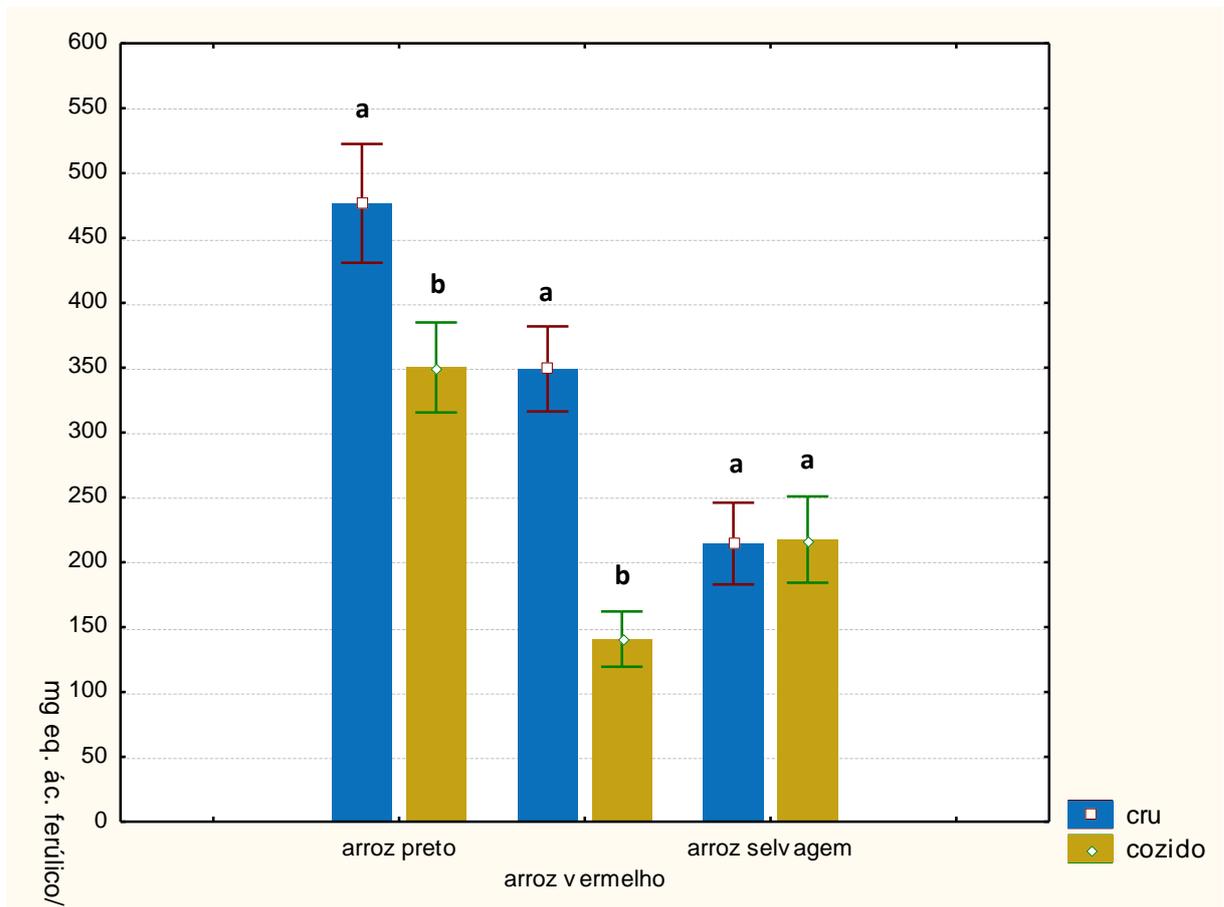
mostram que, pelo método do ORAC, o arroz-preto apresentou atividade antioxidante muito maior do que o arroz-vermelho, enquanto que, pelo método do DPPH', os valores foram muito próximos. Tal fato parece estar relacionado à presença de diferentes compostos antioxidantes, no arroz-preto e no arroz-vermelho, e também aos diferentes mecanismos de ação antioxidante envolvidos nas análises por DPPH' e ORAC. As antocianinas são os principais compostos antioxidantes do arroz-preto que, comparativamente às outras amostras, apresentou a maior atividade antioxidante pelo método do ORAC. Tal dado leva a crer que as antocianinas apresentem ação antioxidante baseada principalmente na competição entre o antioxidante e o substrato pelos radicais peróxidos doando a estes, átomos de hidrogênio. As proantocianidinas são os principais compostos antioxidantes do arroz-vermelho, que apresentou atividade antioxidante semelhante a do arroz-preto pelo método do DPPH'. Este método baseia-se na capacidade de um antioxidante reduzir um agente oxidante pela transferência de elétrons. Assim, as proantocianidinas do arroz-vermelho parecem atuar melhor transferindo elétrons do que as antocianinas do arroz-preto. Min et al. (2012) também observaram o mesmo no seu trabalho e concluíram que os antioxidantes do arroz-preto atuam melhor como agentes que interrompem as reações em cadeia dos radicais livres, pois doam hidrogênios a esses radicais estabilizando-os, enquanto os antioxidantes do arroz-vermelho podem atuar melhor como agentes redutores, impedindo as reações de iniciação dos radicais livres. Os autores sugerem que as proantocianidinas sejam, em comparação às antocianinas, melhores doadores de elétrons do que de átomos de hidrogênio e que as antocianinas, por sua vez, são melhores doadores de átomos de hidrogênio do que doadores de elétrons.

### **5.5 Efeito do cozimento do arroz nos teores de compostos fenólicos totais, flavonoides, proantocianidinas, antocianinas e atividade antioxidante**

Na Figura 20 estão apresentados os teores médios de compostos fenólicos, antes e após o cozimento dos grãos, do arroz-preto, vermelho e selvagem. A estabilidade dos compostos fenólicos frente ao cozimento do arroz foi diferente de acordo com a coloração do grão. No arroz-preto, os compostos fenólicos passaram de 476,7 a 350,2 mg eq. ácido ferúlico/100g, ocorrendo portanto, uma redução de

26% no teor desses compostos. Uma redução maior foi a apresentada pelo arroz-vermelho, que antes do cozimento tinha, em média, 349,1 mg eq. ácido ferúlico/100g e depois do cozimento perdeu 60% dos compostos fenólicos (140,8 mg eq. ácido ferúlico/100g). Já o arroz selvagem não teve alterações significativas no seu teor de compostos fenólicos e apresentou teores de 214,4 e 217,5 mg eq. ácido ferúlico/100g, antes e após o cozimento, respectivamente.

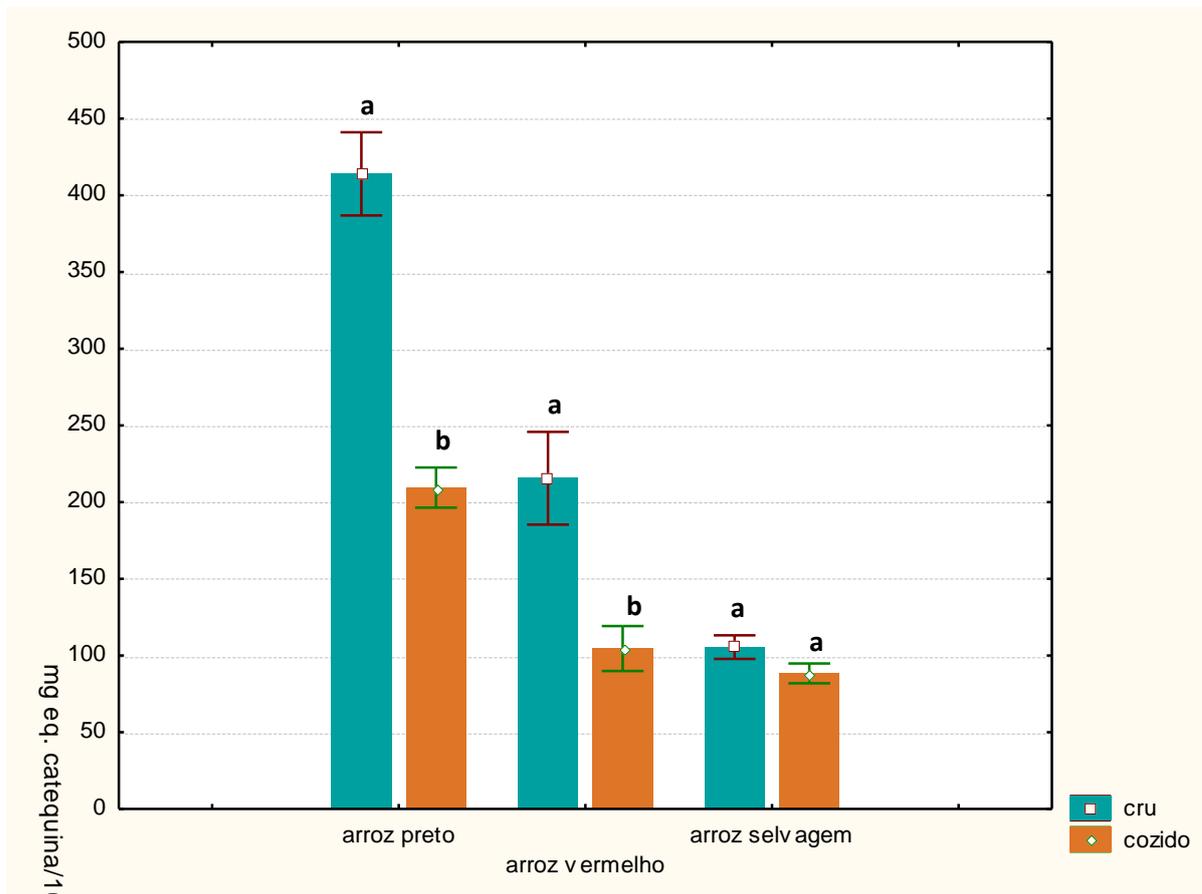
Considerando que o arroz é consumido após o cozimento, pode-se dizer que o arroz-preto apresenta vantagens em relação ao arroz-vermelho e ao selvagem no que diz respeito ao teor de compostos fenólicos totais, uma vez que aquele, mesmo após o cozimento, mantém os maiores teores desses fitoquímicos.



**Figura 20.** Teor de compostos fenólicos totais dos extratos de arroz-preto, vermelho e selvagem, antes e após o cozimento.

Barras de variação representam o desvio padrão dos resultados;  
 Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ );  
 Arroz-preto ( $n=8$ ), arroz-vermelho ( $n=8$ ) e arroz selvagem ( $n=4$ ).

Também ocorreu redução importante dos teores de flavonoides nas amostras de arroz-preto e vermelho, enquanto o arroz selvagem não sofreu alterações significativas desses fitoquímicos (Figura 21). No arroz-preto, os flavonoides passaram de 414,0 a 209,5 mg eq. catequina/100g, ocorrendo portanto, uma redução de cerca de 50% no teor desses compostos. A mesma redução foi observada no arroz-vermelho, que antes do cozimento tinha, em média, 215,6 mg eq. catequina/100g e depois do cozimento passou a ter 104,6 mg eq. catequina/100g. Já o arroz selvagem não mostrou alterações significativas no seu teor de compostos fenólicos e apresentou os teores de 105,5 e 88,4 mg eq. catequina/100g, antes e após o cozimento, respectivamente.



**Figura 21.** Teor de flavonoides dos extratos de compostos fenólicos de arroz-preto, vermelho e selvagem, antes e após o cozimento.

Barras de variação representam o desvio padrão dos resultados;

Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p < 0,05$ );

Arroz-preto ( $n=8$ ), arroz-vermelho ( $n=8$ ) e arroz selvagem ( $n=4$ ).

Os principais flavonoides presentes no arroz-preto e no arroz-vermelho, também foram avaliados, antes e após o cozimento. No arroz-preto, as antocianinas passaram de 313,7 a 148,0 mg eq. glicosídeo de cianidina/100g, ocorrendo portanto, uma redução de 53% no teor desses compostos (Tabela 22). No arroz-vermelho, as proantocianidinas passaram de 145,9 a 45,6 mg eq. catequina/100g, que corresponde à uma redução de 70% no teor inicial desses compostos (Tabela 23).

**Tabela 22.** Teores de antocianinas de arroz-preto cru e cozido

Amostras	Antocianinas		
	mg eq. cianidina-3-glicosídeo /100 g arroz base seca		
	Cru	Cozido	% perda
Ruzene <sup>®</sup> 2009	278,5 ± 3,3	107,0 ± 3,2	62
Ruzene <sup>®</sup> 2011	293,8 ± 5,5	163,0 ± 5,0	44
Namorado <sup>®</sup> 2009	337,9 ± 4,2	144,3 ± 3,1	57
Namorado <sup>®</sup> 2010	320,9 ± 3,1	147,7 ± 2,0	54
SC 606 2010 Araranguá	224,1 ± 4,7	117,2 ± 4,1	48
SC 606 2010 Itajaí	400,7 ± 3,1	204,1 ± 2,1	49
SCS 120 Ônix 2010 Araranguá	275,1 ± 1,9	127,4 ± 3,0	54
SCS 120 Ônix 2010 Itajaí	378,6 ± 4,1	173,2 ± 4,2	54
<b>Média ± dp</b>	<b>313,7<sup>a</sup> ± 58,0</b>	<b>148,0<sup>b</sup> ± 31,8</b>	<b>53</b>

Média das análises em triplicata. Médias ± desvio padrão com diferentes letras têm diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 23.** Teores de proantocianidinas de arroz-vermelho cru e cozido

Amostras	Proantocianidinas		
	mg eq. catequina/100 g arroz base seca		
	Cru	Cozido	% perda
Ruzene <sup>®</sup> 2009	133,8 ± 5,5	31,5 ± 1,5	76
Ruzene <sup>®</sup> 2010	169,0 ± 6,8	43,5 ± 1,3	74
Ruzene <sup>®</sup> 2011	105,6 ± 3,0	22,4 ± 0,8	79
Namorado <sup>®</sup> 2009	143,4 ± 5,0	28,9 ± 1,3	80
Namorado <sup>®</sup> 2011	116,5 ± 4,3	15,2 ± 0,5	87
SCS 119 Rubi 2010 Araranguá	145,0 ± 2,4	50,9 ± 1,1	65
SCS 119 Rubi 2010 Itajaí	155,0 ± 1,2	69,8 ± 1,1	55
SC 710 2011	198,5 ± 6,0	102,9 ± 5,9	48
<b>Média ± dp</b>	<b>145,9<sup>a</sup> ± 29,3</b>	<b>45,6<sup>b</sup> ± 28,9</b>	<b>70</b>

Média das análises em triplicata. Médias ± desvio padrão com diferentes letras têm diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

O efeito do cozimento dos grãos de arroz na atividade antioxidante de seus fitoquímicos foi avaliado pelos métodos de ORAC e DPPH<sup>·</sup> (Tabela 24). De acordo com o método de ORAC a maior redução da atividade antioxidante ocorreu no arroz-preto, que perdeu cerca de 50% da sua atividade com o cozimento, que foi reduzido de 19,1 para 9,8 mmol eq. Trolox/100g, enquanto o arroz-vermelho perdeu 40% de sua atividade antioxidante, que passou de 8,0 para 4,7 mmol eq. Trolox/100g; no arroz selvagem não houve redução significativa. Pelo método envolvendo seqüestro de DPPH<sup>·</sup>, a maior redução da atividade antioxidante ocorreu no arroz-vermelho, que perdeu 65%, reduzindo de 1,7 para 0,6 mmol eq. Trolox/100g, já o arroz-preto perdeu cerca de 40% de sua atividade antioxidante, que reduziu de 2,2 para 1,3 mmol eq. Trolox/100g e no arroz selvagem não houve redução significativa.

É interessante observar que a redução da atividade antioxidante no arroz-preto, pelo método do ORAC, foi de cerca de 50%, a mesma redução observada no teor de antocianinas com o cozimento desses grãos. Como já foi discutido anteriormente, as antocianinas parecem apresentar ação antioxidante baseada principalmente na competição entre o antioxidante e o substrato pelos radicais peróxidos doando, a estes, átomos de hidrogênio, uma vez que a metodologia do ORAC baseia-se na avaliação da capacidade antioxidante por este mecanismo de ação. De acordo com o método do DPPH<sup>·</sup>, a redução da atividade antioxidante foi de 40% e, portanto, o método de ORAC, comparativamente ao do DPPH<sup>·</sup>, mostra ser mais adequado para avaliar a atividade antioxidante de alimentos ricos em antocianinas. De fato, a atividade antioxidante por ORAC se correlaciona melhor com o teor de antocianinas ( $r=0,952$ ;  $p<0,05$ ) do que a atividade antioxidante medida por DPPH<sup>·</sup> ( $r=0,709$ ;  $p<0,05$ ).

Em contrapartida, alimentos ricos em proantocianidinas podem ter sua atividade antioxidante mais bem estimada pelo método do DPPH<sup>·</sup>. Esta hipótese baseia-se na observação de que a redução do teor de proantocianidina se correlaciona com redução proporcional da atividade antioxidante. Nesse trabalho, essa situação ocorreu com o arroz-vermelho: o cozimento do arroz levou à redução de 70% das proantocianidinas dos grãos e à mesma redução da atividade

antioxidante, medida pelo método do DPPH<sup>·</sup> que foi de 65%, enquanto que no método do ORAC foi de apenas 40%.

**Tabela 24.** Efeito do cozimento sobre a atividade antioxidante de arroz-preto, vermelho e selvagem, determinada pelos métodos de DPPH<sup>·</sup> e ORAC.

Amostras	ORAC		DPPH <sup>·</sup>	
	mmol eq. trolox/100 g arroz base seca			
	Cru	Cozido	Cru	Cozido
<b>Arroz-preto</b>				
Ruzene <sup>®</sup> 2011	19,1 ± 0,9	9,9 ± 0,2	2,0 ± 0,1	1,3 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2009	15,8 ± 0,1	9,6 ± 0,4	2,0 ± 0,0	1,2 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2010	19,9 ± 0,7	9,2 ± 0,2	1,8 ± 0,0	1,1 ± 0,0
SC 606 2010 Itajaí	22,2 ± 0,8	9,4 ± 0,3	2,4 ± 0,1	1,2 ± 0,0
SCS 120 Ônix 2010 Itajaí	17,0 ± 0,7	9,1 ± 0,3	2,0 ± 0,1	1,1 ± 0,0
SC 704 2011	20,8 ± 1,0	9,9 ± 0,2	2,4 ± 0,1	1,6 ± 0,0
SC 705 2011	20,4 ± 0,5	11,9 ± 0,6	2,4 ± 0,1	1,4 ± 0,0
SC 707 2011	17,6 ± 0,2	9,6 ± 0,4	2,4 ± 0,1	1,2 ± 0,0
<b>Média ± dp</b>	<b>19,1<sup>a</sup> ± 2,2</b>	<b>9,8<sup>b</sup> ± 0,9</b>	<b>2,2<sup>a</sup> ± 0,2</b>	<b>1,3<sup>b</sup> ± 0,2</b>
<b>Arroz-vermelho</b>				
Ruzene <sup>®</sup> 2009	7,7 ± 0,2	4,4 ± 0,0	1,2 ± 0,0	0,5 ± 0,0
Ruzene <sup>®</sup> 2010	9,4 ± 0,4	6,0 ± 0,3	1,9 ± 0,1	0,8 ± 0,0
Ruzene <sup>®</sup> 2011	6,3 ± 0,2	4,2 ± 0,2	1,7 ± 0,0	0,5 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2009	8,4 ± 0,2	4,2 ± 0,2	1,7 ± 0,0	0,5 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2011	7,2 ± 0,2	3,9 ± 0,1	1,3 ± 0,0	0,4 ± 0,0
SCS 119 Rubi 2010 Araranguá	7,2 ± 0,1	4,4 ± 0,0	1,5 ± 0,0	0,7 ± 0,0
SCS 119 Rubi 2010 Itajaí	8,5 ± 0,1	5,1 ± 0,1	1,7 ± 0,0	0,8 ± 0,0
SC 710 2011	9,4 ± 0,4	5,4 ± 0,1	2,2 ± 0,1	0,9 ± 0,0
<b>Média ± dp</b>	<b>8,0<sup>a</sup> ± 1,1</b>	<b>4,7<sup>b</sup> ± 0,7</b>	<b>1,7<sup>a</sup> ± 0,3</b>	<b>0,6<sup>b</sup> ± 0,2</b>
<b>Arroz selvagem</b>				
Blue Ville <sup>®</sup> 2010	7,9 ± 0,4	5,4 ± 0,1	1,0 ± 0,0	0,7 ± 0,0
Blue Ville <sup>®</sup> 2011	6,6 ± 0,2	5,8 ± 0,0	0,9 ± 0,0	0,8 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2010	6,4 ± 0,1	4,9 ± 0,1	0,8 ± 0,0	0,7 ± 0,0
Namorado <sup>®</sup> 2011	6,2 ± 0,1	5,8 ± 0,2	0,8 ± 0,0	0,7 ± 0,0
<b>Média ± dp</b>	<b>6,8<sup>a</sup> ± 0,8</b>	<b>5,5<sup>a</sup> ± 0,4</b>	<b>0,9<sup>a</sup> ± 0,1</b>	<b>0,7<sup>a</sup> ± 0,0</b>

Média das análises em triplicata.

Médias ± desvio padrão com diferentes letras na linha têm diferença significativa (p<0,05).

Existem poucos trabalhos publicados que avaliam o efeito do cozimento do arroz nos seus teores de compostos fenólicos.

O trabalho realizado por Hiemori, Koh e Mlitchell (2009) traz conclusões interessantes a respeito da degradação das antocianinas de uma cultivar de arroz-preto; em condições de cozimento semelhantes à utilizada no presente trabalho, os autores observaram perda de 65% das antocianinas presentes com o concomitante aumento de 2,7 vezes o teor de ácido protocatecólico no arroz cozido em relação ao arroz cru. As cianidinas não foram detectadas e os autores acreditam que o pH neutro da água e a alta temperatura durante o cozimento do arroz tenha favorecido a conversão rápida da cianidina em ácido protocatecólico. Nesse mesmo trabalho, os autores estudaram os produtos de degradação das antocianinas isoladas, extraídas dos grãos de arroz, e confirmaram que o principal produto de degradação é, de fato, o ácido protocatecólico.

No presente trabalho a redução média do teor de antocianinas no arroz cozido foi de cerca de 50% do teor inicial, a mesma redução foi observada no teor de flavonoides e da capacidade antioxidante do arroz-preto pelo método do ORAC. No entanto, o teor de fenólicos totais foi reduzido em apenas 26% com o cozimento do arroz e tal fato pode ser explicado pelo aumento do teor de ácido protocatecólico, capaz de ser oxidado pelo reagente de Folin-Ciocalteu, empregado no método de quantificação de compostos fenólicos totais.

No que diz respeito ao efeito do cozimento nos teores de compostos fenólicos do arroz-vermelho, observou-se que o teor de compostos fenólicos totais foi reduzido em 60%, o de flavonoides em 50%, o de proantocianidinas em 70% e a atividade antioxidante avaliada pelo método do DPPH<sup>·</sup> foi reduzida em 65%. Finocchiaro et al. (2007) observaram que houve redução de 70% das proantocianidinas após o cozimento do arroz, igual à observada neste estudo. Em relação aos compostos fenólicos, em um estudo prévio, com seis genótipos diferentes de arroz-vermelho, houve redução de cerca de 80% dos compostos fenólicos após o cozimento do arroz, (MASSARETTO *et al.*, 2011). Ainda, observou-se que, com o cozimento, parte dos compostos fenólicos solúveis, capazes de serem extraídos dos grãos por meio de soluções aquosas de metanol, etanol ou acetona, tornou-se insolúvel devido às reações de polimerização ou mesmo de

formação de complexos com outros componentes do grão como as proteínas. Assim, ainda que aumente o conteúdo de compostos insolúveis com o cozimento do arroz-vermelho, a elucidação de suas estruturas químicas e das interações com outros componentes do grão, bem como sua metabolização pela microflora e eventual absorção pelo trato gastrointestinal devem ser mais bem compreendidas.

O cozimento do arroz selvagem não provocou alterações significativas nos teores de compostos fenólicos, flavonoides e de atividade antioxidantes pelos dois métodos empregados. Não foi encontrado nenhum estudo publicado sobre o efeito do cozimento nos teores de seus fitoquímicos e na sua atividade antioxidante. Sabe-se que os principais compostos fenólicos presentes nessas variedades são os glicosídeos de flavonas, diglicosídeo de apigeninas, glicosil-arabnosil apigenina e diarabnosil apigenina e também monômeros e oligômeros de flavan-3-ol, tais como catequinas e epicatequinas e estruturas di, tri, tetra e pentaméricas desses compostos, presentes em teores totais que variam de 0,7 a 23,9 mg/100g, de acordo com o genótipo (QIU; LIU; BETA, 2009). Acredita-se, portanto, que esses compostos não sofram degradação significativa nas condições de cozimento do arroz, mantendo suas propriedades antioxidantes.

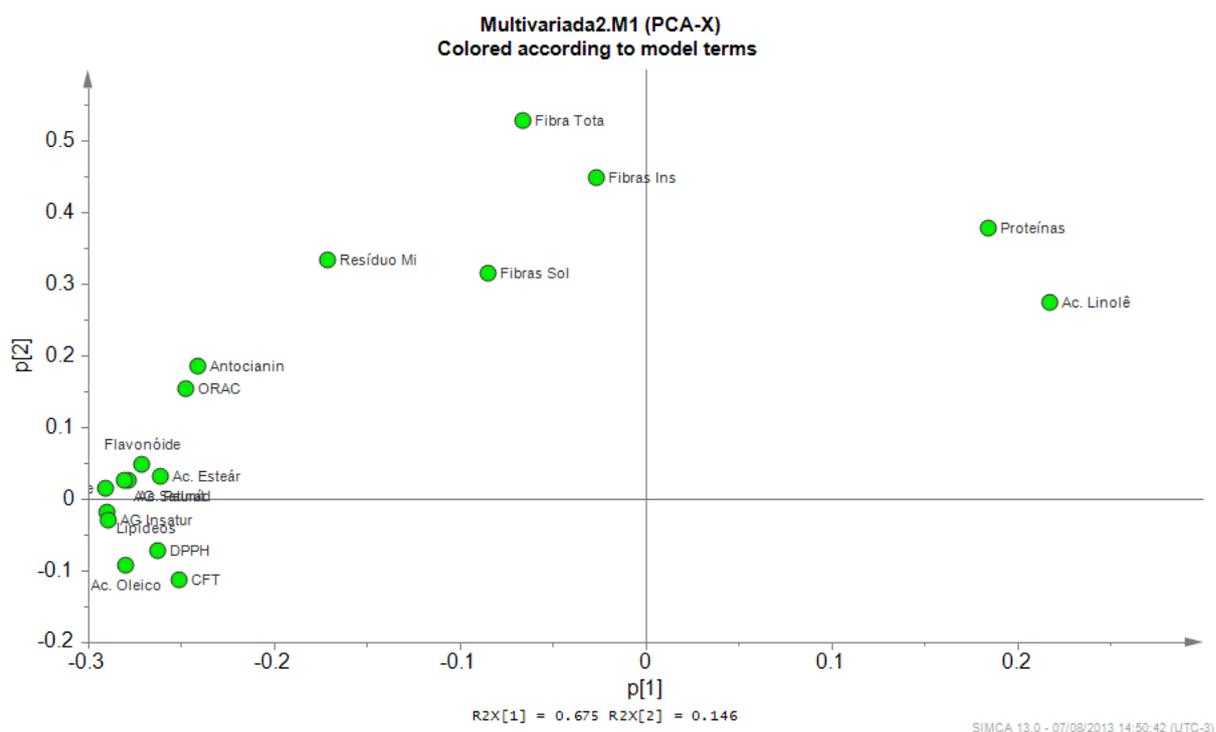
A partir das amostras utilizadas neste estudo conclui-se que o arroz-preto, em comparação ao arroz-vermelho e ao arroz selvagem, contém os maiores teores de compostos fenólicos totais e de flavonoides, bem como, a maior atividade antioxidante, mesmo após o cozimento.

## **5.6 Análise multivariada**

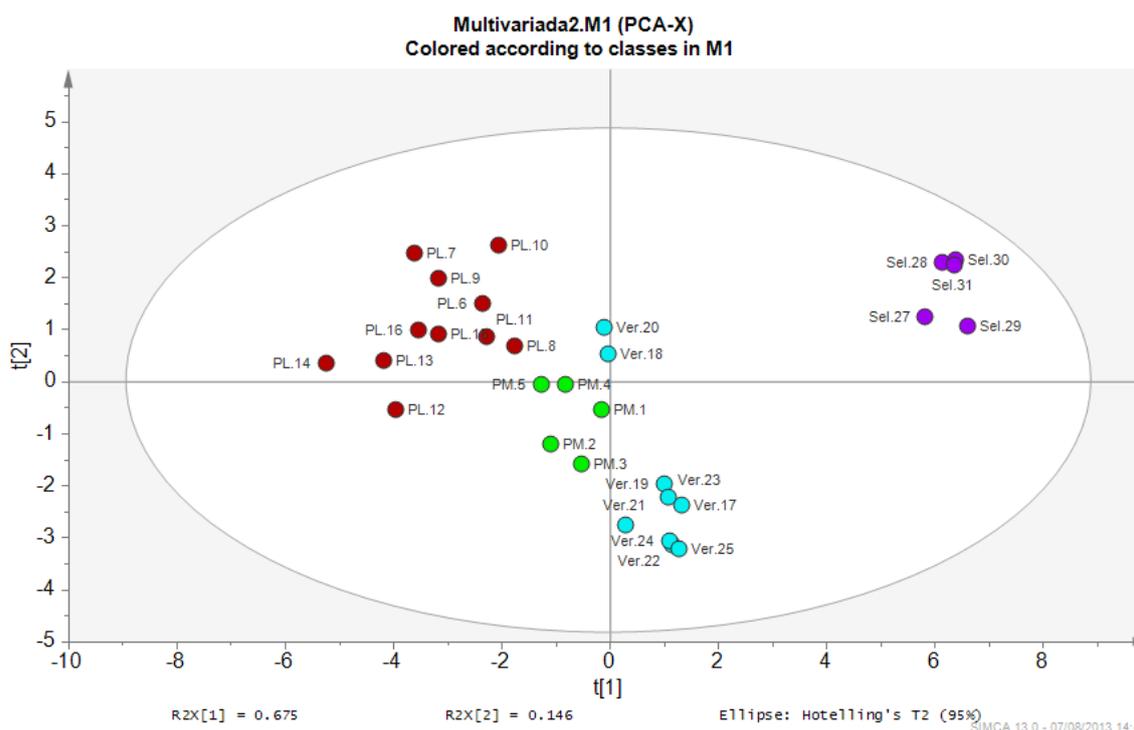
### **5.6.1 Análise de componentes principais**

A análise de componentes principais foi utilizada para reduzir o número de variáveis analisadas a um número menor de índices, que são combinações lineares das variáveis originais. Estes índices são chamados de componentes principais.

Ao avaliar simultaneamente as Figuras 22 e 23, observa-se que o componente principal 1 (p[1]) concentra 67,5% da variância total dos dados. Nos quadrantes à direita estão distribuídos os genótipos com altos teores de proteína e de ácido  $\alpha$ -linolênico em contraste com baixa atividade antioxidante e baixos teores de compostos fenólicos, lipídeos e ácidos graxos (exceto o ác.  $\alpha$ -linolênico). Assim, o arroz selvagem apresenta essas características. Nos quadrantes à esquerda encontram-se os genótipos de arroz-preto de grãos longos, em função de sua alta atividade antioxidante e elevados teores de compostos fenólicos e lipídeos. Em contrapartida, o arroz-preto de grãos médios e o arroz-vermelho estão centralizados, devido aos teores intermediários destes compostos, sendo que o arroz-preto apresenta-se um pouco deslocado para a esquerda em função dos teores maiores de compostos fenólicos e de sua maior atividade antioxidante.



**Figura 22.** Análise por componentes principais (PC1 x PC2): representação da dispersão das variáveis.



**Figura 23.** Análise por componentes principais (PC1 x PC2): representação das amostras de arroz-preto grãos longos (vermelho), arroz-preto grãos médios (verde), arroz-vermelho (azul) e arroz selvagem (roxo).

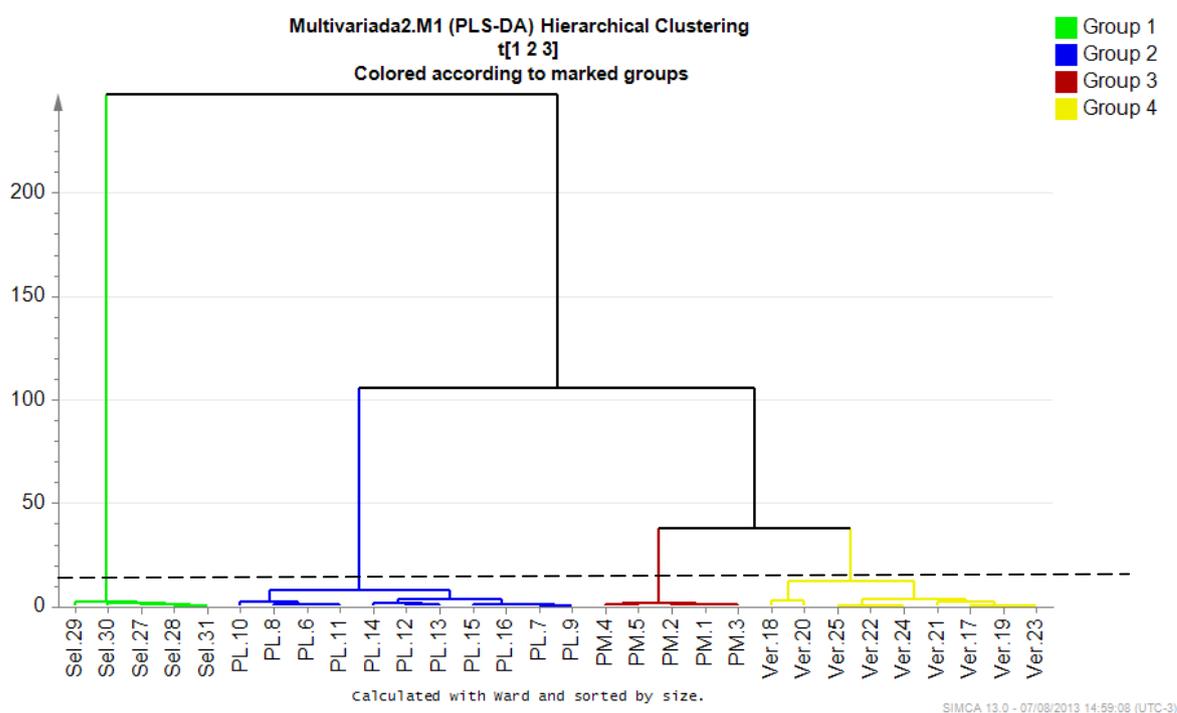
O componente principal 2 ( $p[2]$ ) explica 14,6% da variância total dos dados e desloca para os quadrantes superiores, os genótipos com maiores teores de fibra, proteínas e resíduo mineral e para os quadrantes inferiores, os genótipos com os menores teores destes nutrientes. De forma geral, o arroz-vermelho apresenta os menores teores de fibra em relação aos demais tipos de arroz.

### 5.6.2 Análise de função discriminante (AFD)

A partir da análise de componentes principais utilizou-se uma ferramenta estatística multivariada supervisionada, a análise de função discriminante, que separa os grupos de amostras com significância estatística. Essa separação se dá por uma combinação linear de características observadas que apresenta maior poder de discriminação entre populações de amostras.

Na Figura 24 ilustra-se um dendrograma utilizando a AFD, onde há variação de zero a 250 no eixo Y, sendo que zero representa alta similaridade e 250

baixa similaridade entre os grupos. Observa-se, na altura da linha tracejada, a distribuição das amostras em quatro grupos diferentes: 1-arroz selvagem, 2-arroz-preto grãos longos, 3-arroz-preto grãos médios e 4-arroz-vermelho. Os dois grupos que apresentam menor distância entre si, ou seja, os que mais se assemelham são o arroz-preto grãos médios e o arroz-vermelho. A uma distância maior desses dois grupos está o arroz-preto grãos longos e por fim, o grupo mais distante, o mais diferenciado é o arroz selvagem.



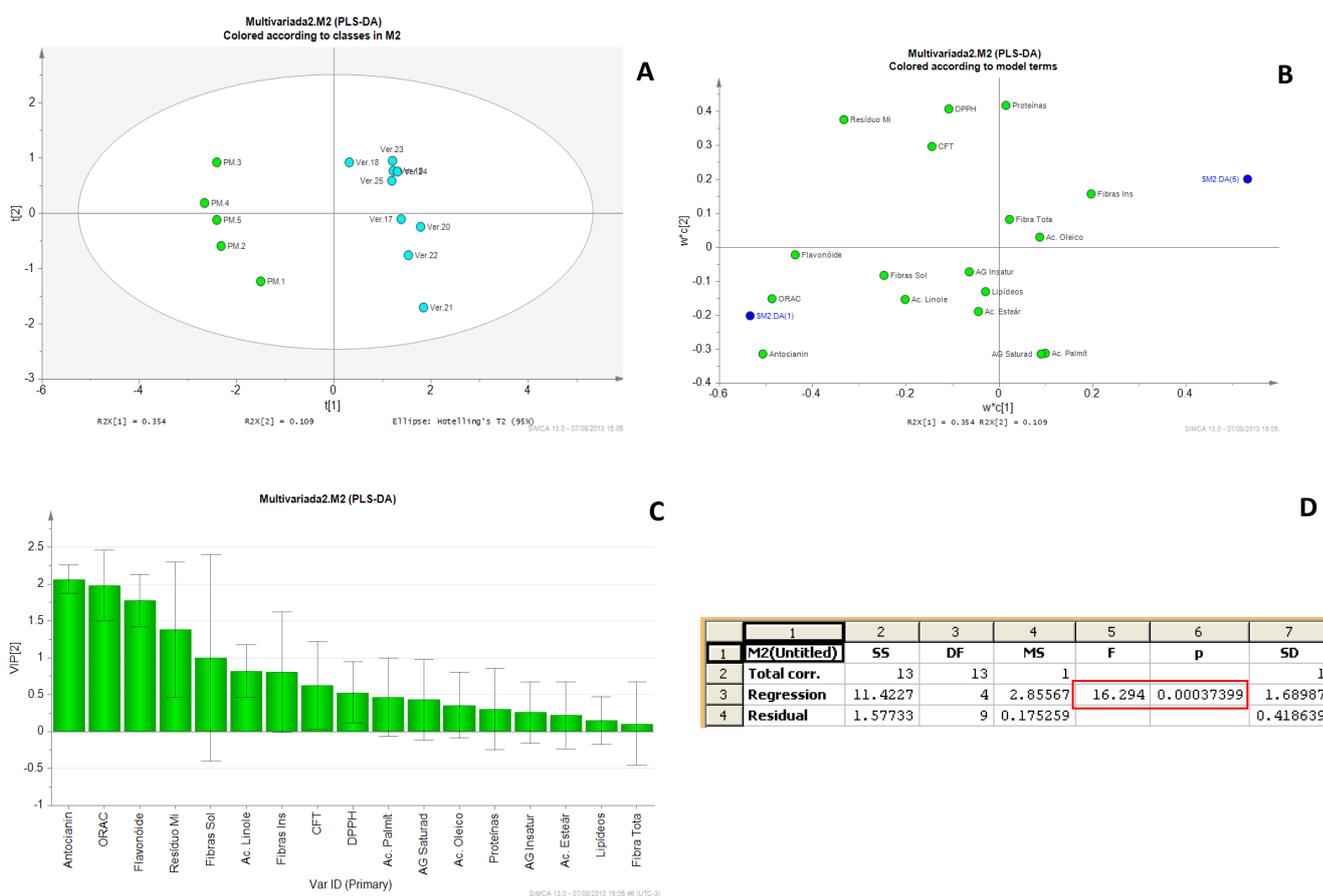
**Figura 24.** Dendrograma de análise hierárquica de agrupamento: arroz selvagem (linha verde), arroz-preto grãos longos (linha azul), arroz-preto grãos médios (linha vermelha) e arroz-vermelho (linha amarela).

Na Figura 25 estão apresentados os dados de análise discriminante entre as amostras de arroz-preto grãos médios e de arroz-vermelho. A partir da avaliação simultânea das Figuras 25A e 25B pode-se dizer que esses dois grupos de amostras são diferenciados principalmente pela presença de antocianinas, pela maior atividade antioxidante (ORAC) e maior teor de flavonoides no arroz-preto grãos médios em relação ao arroz-vermelho. Ainda, pode-se afirmar que variáveis como proteínas, ácidos graxos saturados e atividade antioxidante por DPPH<sup>·</sup> não

discriminam bem os dois grupos de arroz, mas sim as amostras dentro de cada grupo.

Na Figura 25C mostra-se a contribuição das variáveis, que influenciam o modelo estatístico, em ordem decrescente. As variáveis mais importantes na separação dos grupos são aquelas que apresentam a maior contribuição e a menor faixa de variação. Sendo assim, as principais variáveis são antocianinas, ORAC e flavonoides. É interessante notar que a atividade antioxidante medida pelo método de DPPH não consegue discriminar bem o arroz-preto do arroz-vermelho.

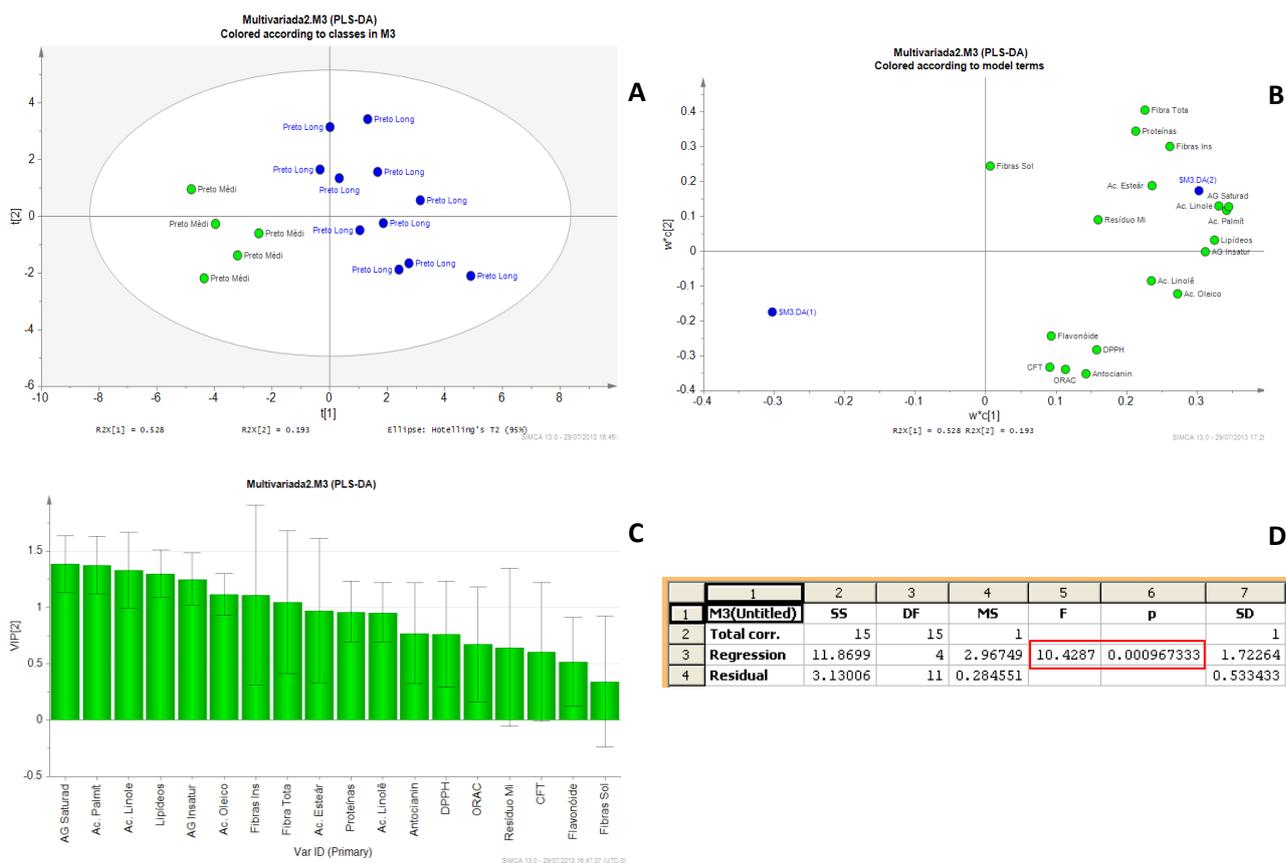
Portanto, o arroz-preto grãos médios e o arroz-vermelho são significativamente diferentes (Figura 25D).



**Figura 25.** Análise de função discriminante entre amostras de arroz-preto grãos médios (verde) e de arroz-vermelho (azul). (A) Gráfico de dispersão das amostras, (B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo, (C) gráfico da contribuição das variáveis na predição do modelo e (D) análise de validação cruzada ANOVA do modelo.

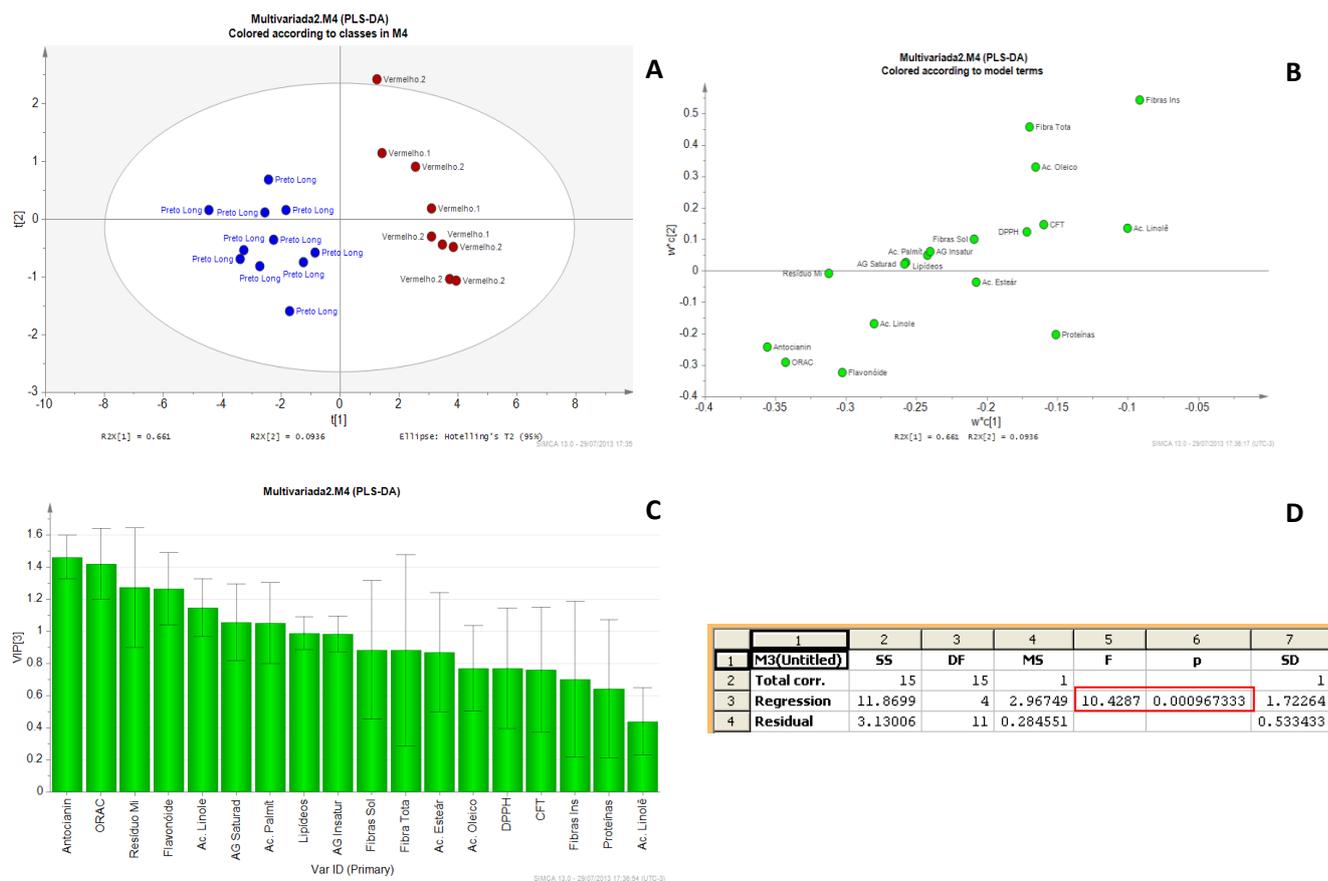
Os dados de análise discriminante entre as amostras de arroz-preto grãos médios e de arroz-preto grãos longos estão apresentados na Figura 26. A partir da avaliação simultânea das Figuras 26A e 26B pode-se dizer que esses dois grupos de amostras são diferenciados principalmente pelos maiores teores de lipídeos e de seus ácidos graxos, fibras insolúveis, fibras totais e proteínas no arroz-preto de grãos longos. Ainda, pode-se afirmar que variáveis como atividade antioxidante (ORAC e DPPH<sup>·</sup>), compostos fenólicos totais, flavonoides e antocianinas não discriminam bem os dois grupos de arroz, mas sim as amostras dentro de cada grupo. Este resultado indica que o elevado teor de antocianinas, independente do formato do grão, é responsável pela alta capacidade antioxidante no arroz-preto.

De acordo com a Figura 26C, as variáveis mais importantes na separação dos grupos são ácidos graxos em geral, lipídeos totais e proteínas. Embora as fibras apresentem contribuição importante, a faixa de variação é grande, o que limita a confiança nesta variável em relação à separação dos grupos. Neste caso, a atividade antioxidante, medida tanto por ORAC quanto por DPPH, apresentam resposta semelhante na diferenciação dos grupos. O arroz-preto grãos médios e o arroz-preto grãos longos são significativamente diferentes (Figura 26D).



**Figura 26.** Análise de função discriminante entre amostras de arroz-preto grãos médios (verde) e de arroz-preto grãos longos (azul). (A) Gráfico de dispersão das amostras, (B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo, (C) gráfico da contribuição das variáveis na predição do modelo e (D) análise de validação cruzada ANOVA do modelo.

Na Figura 27 estão os dados de análise discriminante entre as amostras de arroz-preto grãos longos e de arroz-vermelho. A partir da avaliação simultânea das Figuras 27A e 27B pode-se dizer que esses dois grupos de amostras são diferenciados principalmente pela presença de antocianinas, pela maior atividade antioxidante (ORAC) e maior teor de flavonoides no arroz-preto grãos longos em relação ao arroz-vermelho. Essas observações são semelhantes às realizadas na comparação entre arroz-preto grãos médios e arroz-vermelho.

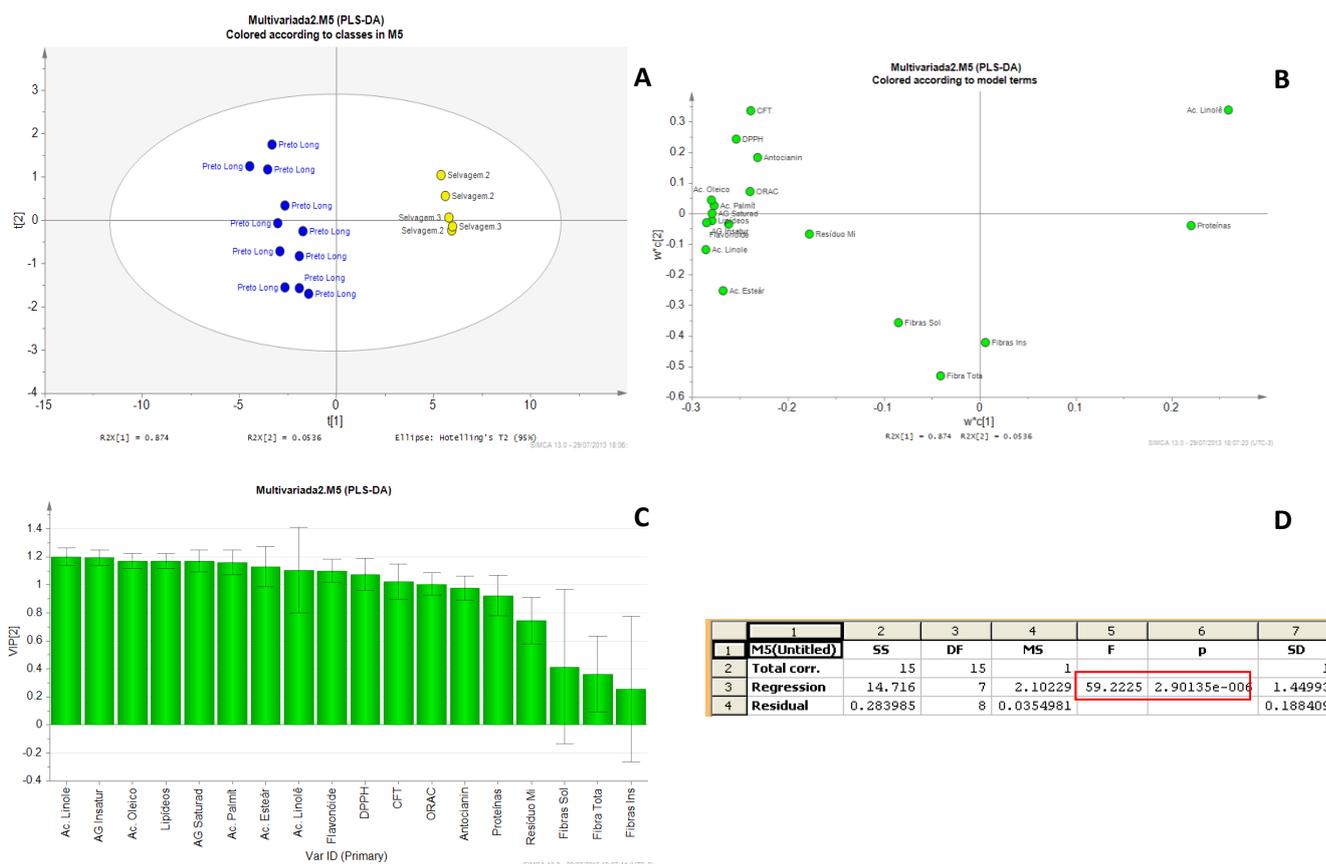


**Figura 27.** Análise de função discriminante entre amostras de arroz-preto grãos longos (azul) e de arroz-vermelho (vermelho). (A) Gráfico de dispersão das amostras, (B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo, (C) gráfico da contribuição das variáveis na predição do modelo e (D) análise de validação cruzada ANOVA do modelo.

Neste caso também, as variáveis mais importantes na separação dos grupos são antocianinas, ORAC e flavonoides (Figura 27C). Embora a variável “resíduo mineral” apresente contribuição importante, a faixa de variação é grande, o que limita a confiança nesta variável em relação à separação dos grupos. Mais uma vez estes dados reforçam que o melhor método de análise de atividade antioxidante é o ORAC, quando se deseja comparar um conjunto de amostras composto por arroz-preto e vermelho. O arroz-preto grãos longos e o arroz-vermelho são significativamente diferentes (Figura 27D).

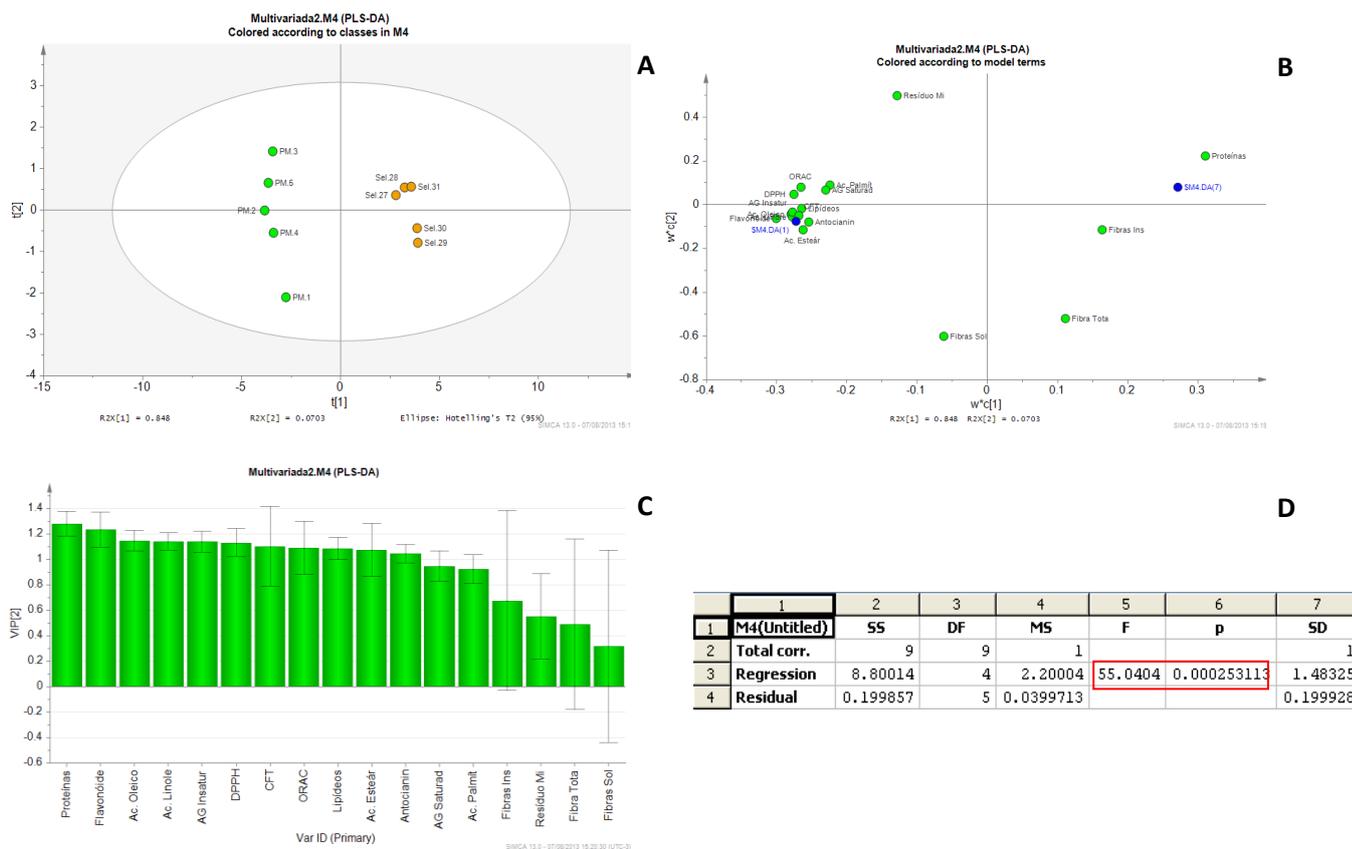
A análise discriminante entre os grupos de arroz-preto grãos longos e de arroz selvagem encontra-se ilustrada na Figura 28. Observa-se que o arroz-preto de grãos longos diferencia-se do arroz selvagem devido à alta atividade antioxidante e aos altos teores de lipídeos, ácidos graxos (exceto ácido  $\alpha$ -linolênico) e de

compostos fenólicos. O arroz selvagem, por sua vez, diferencia-se do arroz-preto grãos longos devido ao seu maior teor de proteína e de ácido  $\alpha$ -linolênico (Figuras 28A e 28B). Assim, praticamente todas as variáveis são importantes na separação significativa (Figura 28D) dos dois grupos exceto resíduo mineral e fibras (Figura 28C).



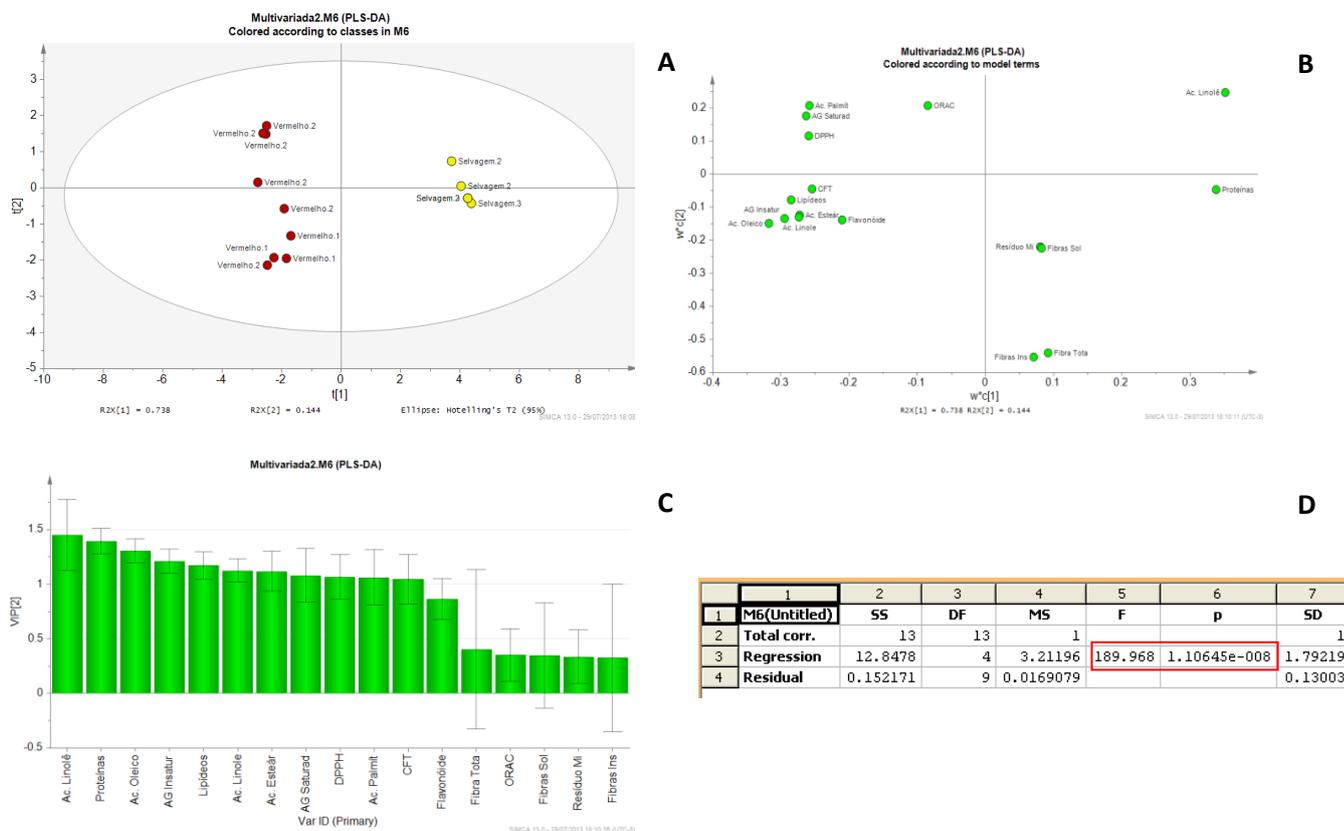
**Figura 28.** Análise de função discriminante entre amostras de arroz-preto grãos longos (azul) e de arroz selvagem (amarelo). (A) Gráfico de dispersão das amostras, (B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo, (C) gráfico da contribuição das variáveis na predição do modelo e (D) análise de validação cruzada ANOVA do modelo.

As mesmas observações descritas acima são válidas quando se avalia a análise discriminante entre os grupos de arroz-preto grãos médios e de arroz selvagem (Figura 29).



**Figura 29.** Análise de função discriminante entre amostras de arroz selvagem (laranja) e de arroz-preto grãos médios (verde). (A) Gráfico de dispersão das amostras, (B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo, (C) gráfico da contribuição das variáveis na predição do modelo e (D) análise de validação cruzada ANOVA do modelo.

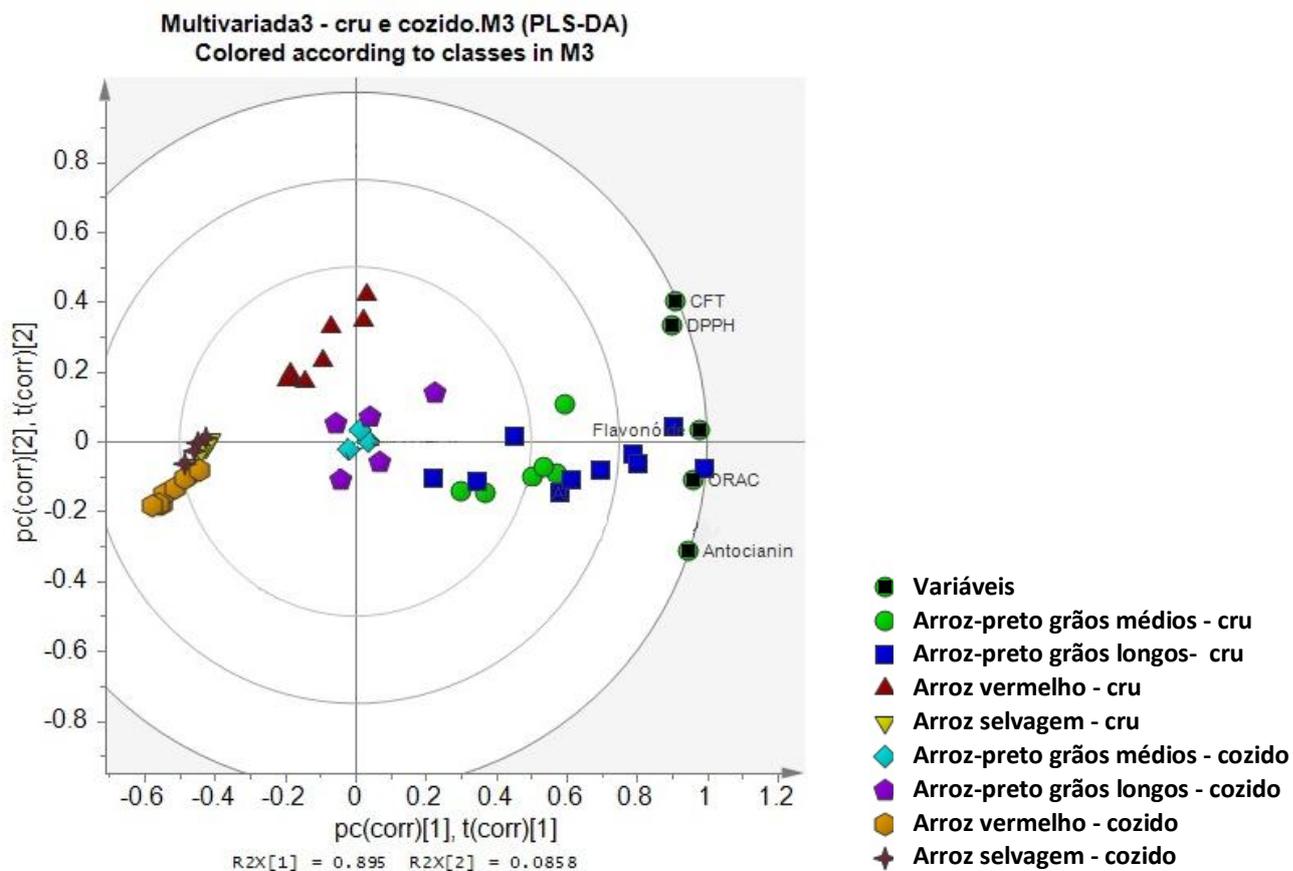
A análise discriminante entre os grupos de arroz-vermelho e de arroz selvagem encontra-se ilustrada na Figura 30. Observa-se que o arroz-vermelho diferencia-se do arroz selvagem devido à sua maior atividade antioxidante e aos maiores teores de lipídeos, ácidos graxos (exceto ácido  $\alpha$ -linolênico) e de compostos fenólicos em geral. O arroz selvagem, por sua vez, diferencia-se do arroz-vermelho devido ao seu maior teor de proteína e de ácido  $\alpha$ -linolênico (Figuras 30A e 30B). Também são essas as observações quando se diferencia o arroz-preto do arroz selvagem. Em relação à contribuição das variáveis na separação dos grupos, há uma diferença neste caso. A atividade antioxidante medida pelo método do ORAC não é uma variável importante para a diferenciação dos dois grupos, assim como fibras e resíduo mineral (Figura 30C) também não são. Sendo assim, ao analisar a atividade antioxidante de um conjunto de amostras contendo arroz selvagem e arroz-vermelho é aconselhável utilizar o método de DPPH'.



**Figura 30.** Análise de função discriminante entre amostras de arroz selvagem (laranja) e de arroz-vermelho (vermelho). (A) Gráfico de dispersão das amostras, (B) gráfico das variáveis que influenciam o modelo, (C) gráfico da contribuição das variáveis na predição do modelo e (D) análise de validação cruzada ANOVA do modelo.

Na Figura 31, referente a um gráfico biplot, resumem-se as informações da análise discriminante de todas as amostras de arroz-preto, vermelho e selvagem, antes e após o cozimento. O objetivo desta análise foi observar a diferenciação das amostras cruas e cozidas dos tipos de arroz, quanto aos compostos fenólicos e sua atividade antioxidante. Portanto, nesse gráfico foram somente consideradas as variáveis: compostos fenólicos totais, antocianinas, flavonoides e atividade antioxidante por DPPH' e ORAC.

No quadrante direito estão alocadas as amostras com maiores teores de compostos fenólicos e maior atividade antioxidante em contraposição ao quadrante esquerdo, onde as amostras alocadas apresentam os menores teores desses compostos e a menor atividade antioxidante.



**Figura 31.** Gráfico biplot da análise de função discriminante de amostras de arroz-preto grãos médios, arroz-preto grãos longos, arroz-vermelho e arroz selvagem, antes e após o cozimento.

Embora algumas vezes não haja a diferenciação clara entre os grupos de arroz nota-se que de forma geral, o arroz-preto grãos longos cru se diferencia dos demais pelos altos teores destes fitoquímicos, em especial de flavonoides e de antocianinas. O arroz-preto grãos médios cru apresenta características semelhantes às do arroz grãos longos, mas com concentração de fitoquímicos e atividade antioxidante inferiores na maior parte das amostras.

O cozimento do arroz-preto grãos médios e grãos longos leva a uma perda significativa nos teores de fitoquímicos e na atividade antioxidante dos grãos reunindo essas amostras praticamente em um único grupo.

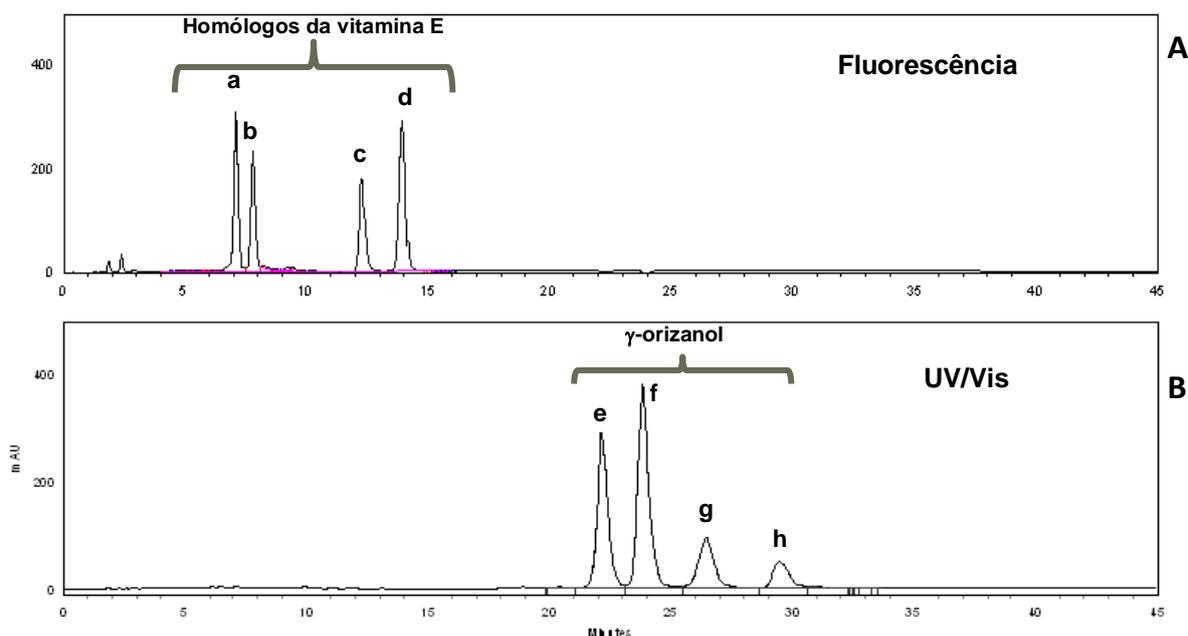
O cozimento do arroz-vermelho torna-o muito semelhante ao arroz selvagem, tanto cru quanto cozido, em termos de teores de compostos fenólicos e atividade antioxidante formando um único grupo.

## 5.7 Análise do $\gamma$ -orizanol e homólogos da vitamina E

As condições cromatográficas utilizadas permitiram a análise quantitativa, simultânea, dos quatro principais constituintes dos homólogos da vitamina E e do  $\gamma$ -orizanol, em uma mesma corrida.

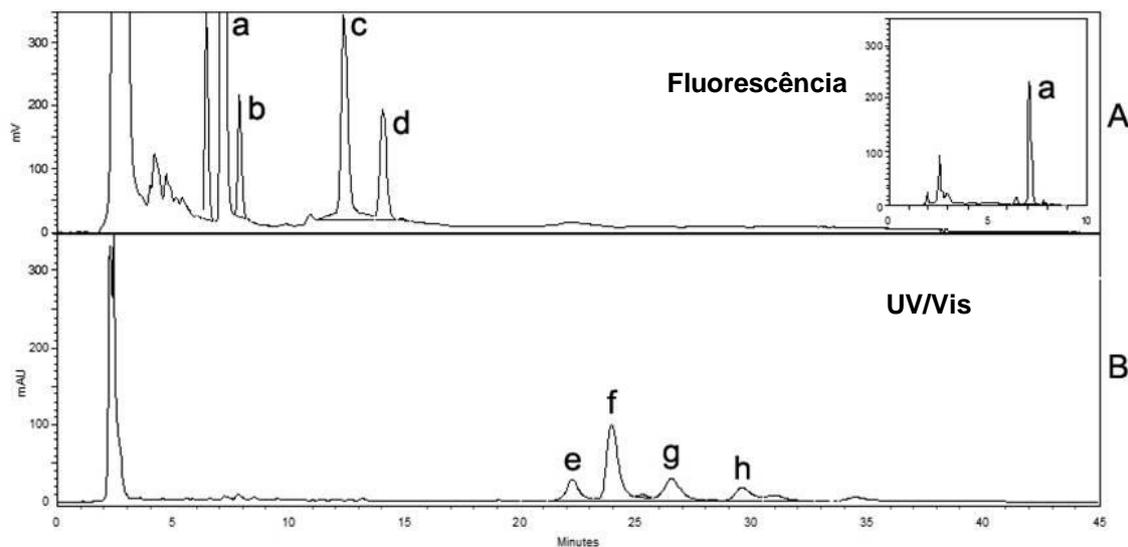
Na Figura 32 (A e B) estão apresentados os cromatogramas de uma mistura de padrões dos homólogos da vitamina E e do  $\gamma$ -orizanol em concentrações conhecidas. Na mistura, os isômeros da vitamina E foram detectados por fluorescência e o  $\gamma$ -orizanol por UV/Visível.

Pelo fato do arroz apresentar maior concentração de  $\gamma$ -tocotrienol em relação aos demais tocóis, houve a necessidade de uma corrida adicional para a quantificação deste composto com o extrato de arroz diluído 50 vezes.



**Figura 32.** Cromatograma representativo por CLAE-fase reversa da mistura de padrões: (A) - homólogos da vitamina E: (a)  $\gamma$ -tocotrienol ( $2\mu\text{g/mL}$ ), (b)  $\alpha$ -tocotrienol ( $2,5\mu\text{g/mL}$ ), (c)  $\gamma$ -tocoferol ( $10\mu\text{g/mL}$ ), (d)  $\alpha$ -tocoferol ( $10\mu\text{g/mL}$ ); (B) -  $\gamma$ - orizanol: (e,f,g,h) os quatro principais componentes ( $330\mu\text{g/mL}$ ).

A identificação das substâncias foi baseada no tempo de retenção, no espectro de absorção e por comparação com dados da literatura (Figura 33 A e B).



**Figura 33.** (A e B) Cromatograma representativo por CLAE - fase reversa de extrato de arroz integral. (a)  $\gamma$ -tocotrienol, (b)  $\alpha$ -tocotrienol, (c)  $\gamma$ -tocoferol, (d)  $\alpha$ -tocoferol por fluorescência nos comprimentos de excitação e emissão de 298 e 328 nm, respectivamente e (e,f,g,h)  $\gamma$ -orizanol por UV/Vis a 325nm (PASCUAL et al., 2013).

Os teores de tocotrienóis ( $\alpha$ -T3 e  $\gamma$ -T3), tocoferóis ( $\alpha$ -T e  $\gamma$ -T), tocóis totais e de  $\gamma$ -orizanol de arroz-preto e vermelho, expressos em mg/100g de arroz (base seca) estão apresentados na Tabela 25.

Os tocóis totais, que representam a somatória dos quatro homólogos separados da vitamina E, variaram no arroz-preto de 2,9 a 5,2 mg/100g e no arroz-vermelho de 2,5 a 4,5 mg/100g. O  $\gamma$ -tocotrienol foi o componente majoritário nos dois tipos de arroz e representou em média 70% dos tocóis totais. Os outros homólogos,  $\gamma$ -tocoferol,  $\alpha$ -tocoferol e  $\alpha$ -tocotrienol, contribuíram respectivamente com 17%, 7% e 5% no arroz-preto e com 11%, 11% e 8% no arroz-vermelho.

Informações sobre o perfil e os teores de tocóis em arroz-vermelho e preto são praticamente inexistentes. O único estudo encontrado na literatura científica foi desenvolvido na Coreia por Kong e Lee (2010). Os autores analisaram duas cultivares de arroz-preto produzidas localmente e encontraram teores de tocóis totais de 4,3 e 4,5 mg/100g, semelhantes aos observados neste trabalho. Embora o  $\gamma$ -tocotrienol tenha sido o composto majoritário nessas cultivares, representando 47% do total, os homólogos  $\alpha$ -tocoferol e  $\alpha$ -tocotrienol também contribuíram com quantidades significativas e representaram respectivamente cerca de 30% e 20%

dos tocóis totais, enquanto que o  $\gamma$ -tocoferol estava presente em quantidades insignificantes.

**Tabela 25.** Teores de vitamina E ( $\alpha$ -,  $\gamma$ -tocotrienol,  $\alpha$ -,  $\gamma$ -tocoferol, tocóis totais) e  $\gamma$ -orizanol em arroz-preto e vermelho.

Amostras	$\alpha$ -T3	$\gamma$ -T3	$\alpha$ -T	$\gamma$ -T	Tocóis Totais	$\gamma$ -orizanol
	mg/100g arroz base seca					
<b>Arroz-preto</b>						
Ruzene® 2013	0,4 ± 0,0	1,7 ± 0,2	0,5 ± 0,0	0,3 ± 0,0	2,9 ± 0,1	33,7 ± 1,2
SCS 120 Ônix 2013	0,2 ± 0,0	2,6 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,6 ± 0,0	3,6 ± 0,1	30,1 ± 1,2
SC 704 2013	0,1 ± 0,0	3,3 ± 0,2	0,2 ± 0,0	1,0 ± 0,0	4,6 ± 0,2	20,4 ± 0,8
SC 705 2013	0,1 ± 0,0	3,2 ± 0,2	0,2 ± 0,0	1,0 ± 0,0	4,5 ± 0,2	18,8 ± 0,8
SC 706 2013	0,2 ± 0,0	3,4 ± 0,2	0,3 ± 0,0	0,9 ± 0,0	4,8 ± 0,2	21,3 ± 1,0
SC 707 2013	0,3 ± 0,0	2,4 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,4 ± 0,0	3,5 ± 0,1	24,2 ± 1,0
SC 708 2013	0,2 ± 0,0	4,1 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,7 ± 0,0	5,2 ± 0,1	22,8 ± 2,1
<b>Média ± dp</b>	<b>0,2 ± 0,1</b>	<b>3,0 ± 0,8</b>	<b>0,3 ± 0,1</b>	<b>0,7 ± 0,3</b>	<b>4,2 ± 0,8</b>	<b>24,5 ± 5,5</b>
<b>Arroz-vermelho</b>						
Ruzene® 2013	0,3 ± 0,0	1,4 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,3 ± 0,0	2,5 ± 0,1	27,0 ± 1,0
SCS 119 Rubi 2013	0,1 ± 0,0	2,8 ± 0,1	0,2 ± 0,0	0,7 ± 0,0	3,8 ± 0,1	15,8 ± 0,5
SC 709 2011	0,2 ± 0,0	3,5 ± 0,1	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	4,5 ± 0,2	26,1 ± 0,8
SC 710 2011	0,4 ± 0,0	2,8 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,3 ± 0,0	4,0 ± 0,2	23,6 ± 0,2
<b>Média ± dp</b>	<b>0,3 ± 0,1</b>	<b>2,6 ± 0,9</b>	<b>0,4 ± 0,1</b>	<b>0,4 ± 0,2</b>	<b>3,7 ± 0,9</b>	<b>23,1 ± 5,1</b>

Média das análises em triplicata. Médias ± desvio padrão. Não houve diferença significativa nos valores da coluna ( $p < 0,05$ ).

Teores variáveis de tocóis totais de cultivares de arroz integral branco de diferentes países já foram descritos na literatura. Finocchiaro et al. (2007) encontraram teor de 4,3 mg/100g em uma única cultivar desenvolvida na Itália. Enquanto Britz et al. (2007) observaram grande variação nos teores de tocóis totais (3,8 – 9,1 mg/100g) de seis cultivares provenientes dos Estados Unidos. Algumas hipóteses que tentam explicar a grande variação nos teores desses compostos levam em conta diferenças nas condições climáticas durante o desenvolvimento e maturação do grão e variabilidade genética das cultivares.

Os teores médios de tocóis de arroz-preto e de arroz-vermelho encontrados no presente trabalho são, respectivamente, 40% e 30% maiores do que os observados no arroz integral não pigmentado cultivado no Brasil. Em um estudo

anterior, com 27 amostras de arroz integral não pigmentado, o teor médio de tocóis totais foi de 2,5 mg/100g (1,8 - 3,1 mg/100g), sendo que o  $\gamma$ -tocotrienol também correspondeu ao componente majoritário, com 70% de contribuição no teor total (PASCUAL et al., 2013). Em um estudo anterior, também realizado por nosso grupo, 32 cultivares de arroz integral das subespécies *japonica* (n=10) e *indica* (n=22) foram analisadas; observou-se que o tocóis totais variaram de 1,0 a 3,2 mg/100g, sendo que na subespécie *japonica* o  $\alpha$ -tocoferol foi o tocol predominante enquanto que na subespécie *indica* foi o  $\gamma$ -tocotrienol (HEINEMANN et al., 2008).

Ao analisar os teores médios de tocóis totais e de cada um dos homólogos de vitamina E, observa-se que não há diferença significativa entre o arroz-preto (4,2 mg/100g) e o arroz-vermelho (3,7 mg/100g), indicando que a concentração desses compostos no grão de arroz não está relacionada à coloração vermelha ou preta do pericarpo.

Na Tabela 25 também estão descritos os teores de  $\gamma$ -orizanol presentes nos genótipos de arroz-preto e vermelho. A variação no arroz-preto foi de 18,8 a 33,7 mg/100g e no arroz-vermelho de 15,8 a 27,0 mg/100g. Os teores médios dos dois grupos foram estatisticamente iguais (24,5 e 23,1 mg/100g) e são 6 vezes maiores do que os teores médios de tocóis totais.

Os teores de  $\gamma$ -orizanol em arroz-preto e vermelho descritos na literatura são bastante variáveis. Kim et al. (2013<sup>a</sup>) quantificaram esse fitoquímico em 28 cultivares de arroz-vermelho e 5 de arroz-preto, provenientes de diferentes países da Ásia e da África; os menores teores foram encontrados em uma cultivar de arroz-vermelho da Índia (3,5 mg/100g) e em uma de arroz-preto de Taiwan (4,0 mg/100g) e os maiores teores em uma cultivar de arroz-vermelho da Libéria (21,0 mg/100g) e em uma de arroz-preto da Malásia (20,3 mg/100g). Em outro estudo, os teores de  $\gamma$ -orizanol em dois genótipos de arroz-preto foram três vezes maiores do que os encontrados neste trabalho; as amostras provenientes da Coreia apresentaram concentrações de 60 e 75 mg/100g de arroz (KONG; LEE, 2010). Pereira-Caro et al. (2013) também analisaram uma cultivar de arroz-preto produzida no Japão e o teor de  $\gamma$ -orizanol encontrado foi de 27,9 mg/100g, semelhante aos teores observados neste trabalho.

Um estudo desenvolvido no Sri Lanka demonstra que a pigmentação do arroz não está relacionada com a maior ou menor concentração de  $\gamma$ -orizanol no grão (GUNARATNE et al., 2013). Os autores concluíram que os teores médios de  $\gamma$ -orizanol de oito variedades de arroz-vermelho foram semelhantes aos das três variedades de arroz integral não pigmentado (41,5 e 48,2 mg/100g, respectivamente).

Os teores médios de  $\gamma$ -orizanol dos genótipos de arroz-preto e de arroz-vermelho analisados neste trabalho são, respectivamente, 30% e 20% maiores do que os observados no arroz integral não pigmentado cultivado no Brasil. Em um estudo anterior, com 27 amostras de arroz integral não pigmentado, o teor médio de  $\gamma$ -orizanol foi de 18,8 mg/100g (15,1 – 21,9 mg/100g) de arroz (PASCUAL et al., 2013).

De forma geral, os teores de tocóis totais e de  $\gamma$ -orizanol nos genótipos de arroz-preto e vermelho avaliados foram maiores do que os do arroz não pigmentado produzido no Brasil. Entretanto, esta diferença deve ocorrer em função de características varietais específicas destas linhagens e/ou interação genótipo x ambiente, independente da coloração do pericarpo.

## 6. CONCLUSÕES

---

- Com base nas análises químicas e na análise estatística multivariada é possível agrupar os diferentes tipos especiais de arroz em quatro grupos, significativamente diferentes entre si: arroz selvagem, arroz-preto de grãos longos, arroz-preto de grãos médios e arroz-vermelho.
- O arroz selvagem é o que mais se diferencia, por apresentar os maiores teores proteicos e de ácido  $\alpha$ -linolênico e os menores teores de lipídeos, de compostos fenólicos e atividade antioxidante.
- O arroz-preto se destaca pela presença de antocianinas, sendo a cianidina-O-glicosídeo, a majoritária. E também pelo alto teor de flavonoides e pela alta atividade antioxidante.
- No arroz-preto, o formato alongado do grão determina os maiores teores de proteínas e lipídeos.
- O método ORAC é mais apropriado do que o DPPH' para avaliar a atividade antioxidante do arroz-preto, por ser mais sensível à presença de antocianinas.
- O arroz-preto de grãos médios e o arroz-vermelho são similares em termos de composição de nutrientes e compostos fenólicos totais. Enquanto no arroz-preto predominam as antocianinas, no vermelho as proantocianidinas são os compostos fenólicos majoritários.
- A análise multivariada demonstrou que o formato do grão é determinante na diferenciação dos dois grupos de arroz-preto em termos de composição de nutrientes, como proteínas e lipídeos, mas não de fitoquímicos e de atividade antioxidante.
- O cozimento do arroz provoca perda significativa nos teores de compostos fenólicos totais e na atividade antioxidante do arroz-preto e vermelho, enquanto que no arroz selvagem não se observa o mesmo efeito.

- Os teores dos fitoquímicos lipossolúveis,  $\gamma$ -orizanol e homólogos da vitamina E, são semelhantes em arroz-preto e vermelho, indicando que independem da coloração do pericarpo.
- Os tipos especiais de arroz apresentam perfil diferente de fitoquímicos e, conseqüentemente, podem exercer funções diferentes no organismo humano.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

ABDEL-AAL, E.S.M.; HUCL, P.A Rapid Method for Quantifying Total Anthocyanins in Blue Aleurone and Purple Pericarp Wheats. **Cereal Chemistry**, v.76, p.350-354, 1999.

ABDEL-AAL, E.M.; YOUNG, J.C.; RABALSKI, I. Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple and red cereal grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.4696-4704, 2006.

AGUILAR-GARCIA, C.; GAVIANO, G.; BARAGAÑO-MOSQUEDA, M.; HEVIA, P.; GAVINO, V.C. Correlation of tocopherol, tocotrienol,  $\gamma$ -oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. **Food Chemistry**, v.102, p.1228-1232, 2007.

ANCOS, B.; GONZALEZ, E.; CANO, M.P. Differentiation of raspberry varieties according to anthocyanin composition. **European Food Research and Technology**, v.208, p.33-38, 1998

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC), **Official Methods of Analysis**. 14ed., 1995.

AUGUSTO, O. **Radicais Livres, Bons, Maus e Naturais**. 1 ed., Oficina de Textos, 115 p., 2006.

BELOBRAJDIC, D.P.; BIRD, A.R. The potential role of phytochemicals in whole grain cereals for the prevention of type-2 diabetes. **Nutritional Journal**, v.12, p.62-74, 2013.

BERGER, A.; REIN, D.; SCHAFFER, A.; MONNARD, I.; GREMAUD, G. LAMBELET, P.; BERTOLI, C. Similar cholesterol-lowering properties of rice bran oil, with varied gamma-oryzanol, in mildly hypercholesterolemic men. **European Journal of Nutrition**, v.44, p.163-173, 2005.

BERGMAN, C.J.; XU, Z. Genotype and environment effects on tocopherol, tocotrienol, and  $\gamma$ -oryzanol contents of Southern U.S. rice. **Cereal Chemistry**, v.80 p.446-449, 2003.

BLANDO, F.; GERARDI, C.; NICOLETTI, I. Sour Cherry (*Prunus cerasus L*) anthocyanins as ingredients for functional food. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, v.5, p.253-258, 2004.

BRAMLEY, P.M.; ELMADFA, I.; KAFATOS, A.; KELLY, F.J.; MANIOS, Y.; ROXBOROUGH, H.E.; SCHUCH, W.; SHEEHY, P.J.A.; WAGNER, K.H. Vitamin E. **Journal of the Science of Food Agriculture**, v.80, p.913-938, 2000.

BRASIL. Instrução Normativa N°6. **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Arroz do Ministério da Agricultura**. Diário Oficial da União de 28/05/2009 , Seção 1, p.28., 2009

BRITZ, S.J.; PRASAD, P.V.V.; MOREAU, R.A.; ALLEN-JR, L.H.; KREMER, D.F.; BOOTE, K.J. Influence of growth temperature on the amounts of tocopherols, tocotrienols and  $\gamma$ -oryzanol in brown rice. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.55, p.7559-7565, 2007.

BUENO, J.M.; RAMOS-ESCUADERO, F.; SÁEZ-PLAZA, P.; MUÑOZ, A.M.; NAVAS, M.J.; ASUERO, A.G. Analysis and antioxidant capacity of anthocyanin pigments. Part I: General considerations concerning polyphenols and flavonoids. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v.42, p.102-125, 2012.

CASTAÑEDA-OVANDO, A.; PACHECO-HERNANDEZ, M.L.; PAEZ-HERNANDEZ, M.E.; RODRIGUEZ, J.A.; GALAN-VIDAL, C.A. Chemical studies of anthocyanins: A review. **Food Chemistry**, v.113, p.859-871, 2009.

CHARRON, C.S.; CLEVIDENCE, B.A. Effect of dose size on bioavailability of acylated and nonacylated anthocyanins from red cabbage (*Brassica oleracea L.*, var capitata). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 55, p. 5354-5362, 2007.

CHEN, M.H.; BERGMAN, C.J. A rapid procedure for analyzing rice bran tocopherol, tocotrienol and  $\gamma$ -oryzanol contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, p.319-331, 2005.

CHEN, X.Q.; NAGAO, N.; ITANI, T.; IRIFUNE, K. Anti-oxidative analysis, and identification and quantification of anthocyanin pigments in different coloured rice. **Food Chemistry**, v.135, p.2783-2788, 2012.

CHUN, O.K.; KIM, D.O.; SMITH, N.; SCHROEDER, D.; HAN, J.T.; LEE, C.Y. Daily consumption of phenolics and total antioxidant capacity from fruit and vegetables in the american diet. **Journal of Science of Food Agriculture**, v.85, p.1715-1724, 2005.

CICERO, A.F.G.; GADDI, A. Rice bran oil and  $\gamma$ -oryzanol in the treatment of hyperlipoproteinaemias and other conditions. **Phytotherapy Research**, v.15, p.277-289, 2001.

CORREIA, P.R.M.; FERREIRA, M.M.C. Reconhecimento de padrões por métodos não supervisionados: explorando conhecimentos quimiométricos para tratamento de dados analíticos. **Química Nova**, v.30, p.481–487, 2007.

DEGENHARDT, A.; KNAPP, H.; WINTERHALTER, P. Separation and purification of anthocyanins by high-speed countercurrent chromatography and screening for antioxidant activity. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.48, p.338–343, 2000.

DENARDIN, C.C.; SILVA, L.P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v.39, 2009.

DÉPREZ, S.; MILA, I.; HUNEAU, J.F.; TOMÉ, D.; SCALBERT, A. Transport of proanthocyanidin dimer, trimer and polymer across monolayers of human intestinal epithelial Caco-2 cells. **Antioxidant Redox Signaling**, v.3, p.957–67, 2001.

EMBRAPA. **Arroz-vermelho em extinção**, 2011. Disponível em: [www.cnpaf.embrapa.br/eventosenoticias/anteriores/anteriores2006/060109.htm](http://www.cnpaf.embrapa.br/eventosenoticias/anteriores/anteriores2006/060109.htm). Acesso em: 12 abr 2013.

EMBRAPA. **Sistema de cultivo**, 2010. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/fontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil.index.htm>. Acesso em 05 abr 2013.

ENCYCLOPEDIA BRITANNICA, Inc. Disponível em: [HTTP://www.britannica.com/EBchecked/topic-art/502259/164/the-outer-layer-and-internal-structures-of-a-rice-grain](http://www.britannica.com/EBchecked/topic-art/502259/164/the-outer-layer-and-internal-structures-of-a-rice-grain). Acesso em 12 abr 2013.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Rice Market Monitor**, 2010. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/013/am016e00.pdf>. Acesso em: 05 abr 2013.

FARIA, A.F.; MARQUES, M.C.; MERCADANTE, A.Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, v.126, p.1571-1578, 2011.

FINOCCHIARO, F.; FERRARI, B.; GIANINETTI, A. A study of biodiversity of flavonoid content in the rice caryopsis evidencing simultaneous accumulation of anthocyanins and proanthocyanidins in a black-grained genotype. **Journal of Cereal Science**, v.51, p.28-34, 2010.

FINOCCHIARO, F.; FERRARI, B.; GIANINETTI, A.; DALLÁSTA, C.; GALAVERNA, G.; SCAZZINA, F.; PELLEGRINI, N. Characterization of antioxidant compounds of red and white rice and changes in total antioxidant capacity during processing. **Molecular Nutrition Food Research**, v.51, p.1006-1019, 2007.

FONSECA, J.R.; CUTRIM, V.A.; RANGEL, P.H.N. **Descritores morfo-agronômicos e fenológicos de cultivares comerciais de arroz de várzeas**, 2002. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão.

FRANK, T.; REICHARDT, B.; SHU, Q.; ENGEL, K. Metabolite profiling of colored rice (*Oryza sativa* L.) grains. **Journal of Cereal Science**, v.55, p.112-119, 2012.

FUJIHARA, S.; SASAKI, H.; AOYAGI, Y.; SUGAHARA, T. Nitrogen-to-protein conversion factors for some cereal products in Japan. **Journal of Food Science**, v.73, p.204-209, 2008.

GHAFOOR, K.; CHOI, Y.H.; JEON, J.Y.; JO, I.H. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p. 4988-4994, 2009.

GIUSTI, M.M.; WROLSTAD, R.E. Characterization of red radish anthocyanins. **Journal of Food Science**, v.61, p.322-326, 1996.

GOFFMAN, F.D.; BERGMAN, C.J. Rice kernel phenolic content and its relationship with antiradical efficiency. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.84, p. 1235-1240, 2004.

GUNARATNE, A.; WU, K.; LI, D.; BENTOTA, A.; CORKE, H.; CAI, Y.Z. Antioxidant activity and nutritional quality of traditional red-grained rice varieties containing proanthocyanidins. **Food Chemistry**, v.138, p.1153-1161, 2013.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 4 ed., Oxford University Press, p.268-340, 2007.

HALLIWELL, B.; ZHAO, K.; WHITEMAN, M. The gastrointestinal tract: a major site of antioxidant action? **Free Radical Research**, v.33, p.819–830, 2000.

HASSIMOTTO, N.M.A.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Absorption and metabolism of cyaniding-3-glucoside and cynidin-3-rutinoside extracted from wild mulberry (*Morus nigra* L.) in rats. **Nutrition Research**, v.28, p.198–207, 2008.

HEINEMANN, R.J.B.; XU, Z.; GODBER, S.; LANFER-MARQUEZ, U.M. Tocopherols, tocotrienols and  $\gamma$ -oryzanol contents in *japonica* and *indica* subspecies of rice (*Oryza sativa* L.), cultivated in Brazil. **Cereal Chemistry**, v.85, p.243-247, 2008.

HIEMORI, M.; KOH, E.; MITCHELL, A.E. Influence of cooking on anthocyanins in black rice (*Oryza sativa* L. *japonica* var. SBR). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p.1908-1914, 2009.

HIRAWAN, R.; DIEHL-JONES, W.; BETA, T. Comparative evaluation of the antioxidant potential of infant cereals produced from purple wheat and red rice grains and LC-MS analysis of their anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.59, p.12330–12341, 2011.

HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability. **Food Chemistry Toxicology**, v.37, p.937-942, 1999.

HOU, Z.; QIN, P.; ZHANG, Y.; CUI, S.; REN, G. Identification of anthocyanin isolated from black rice (*Oryza sativa* L.) and degradation kinetics. **Food Research International**, v.50, p.691-697, 2013.

HU, C.; ZAWISTOWSKI, J.; LING, W.; KITTS, D.D. Black rice (*Oryza sativa* L. *indica*) pigmented fraction suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.51, p.5271-527, 2003.

HUANG, D.; OU, B.; PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.1841-1856, 2005.

HUANG, S.; NG, L. Quantification of polyphenolic content and bioactive constituents of some commercial rice varieties in Taiwan. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.26, p.122-127, 2012.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2013. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003 e 2008-2009**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/>. Acesso em 22 dez 2013.

IMSANGUAN, P.; ROAYSUBTAWEE, A.; BORIRAK, R.; PONGAMPHAI, S.; DOUGLAS, S.; DOUGLAS, P.L. Extraction of  $\alpha$ -tocopherol and  $\gamma$ -oryzanol from rice bran. **LWT– Food Science and Technology**, v.41, p.1417–1424, 2008.

IRAKLI, M.N.; SAMANIDOU, V.F.; BLLADERLS, C.G.; PAPADOYANNIS, I.N. Simultaneous determination of phenolic acids and flavonoids in rice using solid-phase extraction and RP-HPLC with photodiode array detection. **Journal of Separation Science**, v.35, p.1603-1611, 2012.

IRGA - Instituto Rio Grandense do Arroz, **Nutrição e Saúde**, 2005. Disponível em: <http://200.96.107.174/coma-arroz/paginas/nutricao.php>> Acesso em 21 jul 2013.

IRRI – International Rice Research Institute. **Rice in Brazil**, 2011. Disponível em: <http://www.irri.org/index.php>. Acesso em 05 ago 2013.

ISLAM, M. S.; MURATA, T.; FUJISAWA, M.; NAGASAKA, R.; USHIO, H.; BARI, A. M. Anti-inflammatory effects of phytosteryl ferulates in colitis induced by dextran sulphate sodium in mice. **British Journal of Pharmacology**, v.154, p.812–824, 2008.

ISSA, A.Y.; VOLATE, S.R.; WARGOVICH, M.J. The role of phytochemicals in inhibition of cancer and inflammation: New directions and perspectives. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.19, p.40-419, 2006.

IWRA – International Wild Rice Association. **Wild Rice History**, 2012. Disponível em: <http://www.wildrice.org/iwrawebsite/html/wildricehistory.html>. Acesso em 22 ago 2013.

JULIANO, B.O. **Rice Chemistry and Quality**, Island Publishing House, Philippines, Cap. 2: Structure and Gross Composition of the Rice Grain, p.25-54, 2003.

JULIANO, C.; COSSU, M.; ALAMANNI, M.C.; PIU, L. Antioxidant activity of gamma-oryzanol: mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils. **International Journal of Pharmaceutics**, v.299, p.146-154, 2005.

KARAKAYA, S. Bioavailability of phenolic compounds. **Critical Review in Food Science Nutrition**, v.44, p.453-464, 2004.

KAWASSAKI, F. **Efeito da região de plantio, cultivares, safras e parboilização sobre compostos fenólicos em arroz integral produzido no Brasil**. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

KHOR, H.T.; NG, T.T. Effects of administration of  $\alpha$ -tocopherol and tocotrienols on serum lipids and liver HMGCoA reductase activity. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.51, Suppl.: S3-11, 2000.

KIKUZAKI, H.; HISAMOTO, M.; HIROSE, K.; AKIYAMA, K.; TANIGUCHI, H. Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.2161-2168, 2002.

KIM, D.O.; LEE, C.Y. Extraction and isolation of polyphenolics. In: WROLSTAD, R.E. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, John Wiley & Sons, Inc., cap.1 1.2, 2002.

KIM, H.W.; KIM, J.B.; SHANMUGAVELAN, P.; KIM, S.N.; CHO, Y.S.; KIM, H.R.; LEE, J.T.; JEON, W.T.; LEE, D.J. Evaluation of  $\gamma$ -oryzanol content and composition from the grains of pigmented rice-germplasms by LC-DAD-ESI/MS. **BMC Research Notes**, v.53, p.373-390, 2013<sup>a</sup>.

KIM, H.W.; LEE, A.Y.; YEO, S.K.; CHUNG, H.; LEE, J.H.; HOANG, M.H.; JIA, Y;

HAN, S.I.; OH, S.K.; LEE, S.J.; KIM, Y.S. Metabolic profiling and biological mechanisms of body fat reduction in mice fed the ethanolic extract of black-colored rice. **Food Research International**, v.53, p.373-390, 2013<sup>b</sup>.

KIM, J.K.; LEE, S.Y.; CHU, S.M.; LIM, S.H.; SUH, S.; LEE, Y.; CHO, H.S.; HA, S.. Variation and correlation analysis of flavonoids and carotenoids in Korean pigmented rice (*Oryza sativa* L.) cultivars. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.58, p. 12804-12809, 2010.

KONG, S.; KIM, D.; OH, S.; CHOI, I.; JEONG, H.; LEE, J. Black rice bran as an ingredient in noodles: chemical and functional evaluation. **Journal of Food Science**, v.77, p. 303-307, 2011.

KONG, S.; LEE, J. Antioxidants in milling fraction of black rice cultivars. **Food Chemistry**, v.120, p.278-281, 2010.

LAOKULDILOK, T.; SHOEMAKER, C.F.; JONGKAEWWATTANA, S.; TULYATHAN, V. Antioxidants and antioxidant activity of several pigmented rice brans. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.59, p.193-199, 2011.

LEE, J.H. Identification and quantification of anthocyanins from the grains of black rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **Food Science and Biotechnology**, v.19, p.391-397, 2010.

LERMA-GARCIA, M.J.; HERRERO-MARTINEZ, J.M.; SIMÓ-ALFONSO, E.F.; MENDONÇA, C.R.B.; RAMIS-RAMOS, G. Composition, industrial processing and applications of rice bran  $\gamma$ -oryzanol. **Food Chemistry**, v.115, p.389-404, 2009.

LING, W.H.; CHENG, Q.X.; MA, J.; WANG, T. Red and black rice decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status in rabbits. **Journal of Nutrition**, v.131, p.1421-1426, 2001.

LLOYD, B.J.; SIEBENMORGEN, T.J.; BEERS, K.W. Effects of commercial processing on antioxidants in rice bran, **Cereal Chemistry**, v.77, n.5, p.551-555, 2000.

LUMEN, B.O.; CHOW, H. **Nutritional quality of rice endosperm**. In: Luh, B.S. (Ed.). Rice utilization, 2.ed., New York: Van Nostrand Reinhold, v.2, cap.15, p.363-395, 1995.

MALACRIDA, C.R.; DA MOTTA, S. Antocianinas em suco de uva: composição e estabilidade. **Boletim do Ceppa**, v.24, p.59-82, 2006.

MAMIYA T.; ASANUMA, T.; KISE, M.; ITO, Y.; MIZUKUCHI, A.; AOTO, H.; UKAI, M. Effects of pre-germinated brown rice on  $\beta$ -amyloid protein-induced learning and memory deficits in mice. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.27, p.1041-1045, 2004.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMENEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.79, p.727-747, 2004.

MANACH, C.; WILLIAMSON, G.; MORAND, C.; SCALBERT, A.; RÉMÉSY, C. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. Review of 97 bioavailability studies. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.81 (suppl.), p.230S-242S, 2005.

MARLETT J.A.; MCBURNEY M.I.; SLAVIN J.L. Position of the American Dietetic Association: Health implications of dietary fiber. **Journal of the American Dietetic Association**, v.102, p.993-1000, 2002.

MASSARETTO, I.L.; ALVES, M.F.M.; MIRA, N.V.M.; CARMONA, A.K.; MARQUEZ, U.M.L. Phenolic compounds in raw and cooked rice (*Oryza sativa* L.) and their inhibitory effect on the activity of angiotensin I-converting enzyme. **Journal of Cereal Science**, v.54, p.236-240, 2011.

MATSUO, T.; HOSHIKAWA, K. **Science of the rice plant - Morphology**. v.1, Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1993.

MILLER, A.; ENGEL, K. Content of de  $\gamma$ -orizanol and composition of steryl ferulates in brown rice (*Oryza sativa* L.) of european origin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.8127-8133, 2006.

MILLER, A.; FRENZEL, T.; SCHMARR, H. G.; ENGEL, K. H. Coupled liquid chromatography–gas chromatography for the rapid analysis of  $\gamma$ -oryzanol in rice lipids. **Journal of Chromatography A**, v.985, p.403–410, 2003.

MIN, B.; GU, L.; MCCLUNG, A.M.; BERGMAN, C.J.; CHEN, M. Free and bound total phenolic concentrations, antioxidant capacities, and profiles of proanthocyanidins and anthocyanins in whole grain rice (*Oryza sativa* L.) of different bran colours. **Food Chemistry**, v.133, p.715-722, 2012.

MIN, S.; RYU, S.; KIM, D. Anti-inflammatory effects of black rice, cyaniding-3-O-D-glycoside, and its metabolites, cyaniding and protocatechuic acid. **International Immunopharmacology**, v.10, p.959-966, 2010.

MIRA, N.V.M.; MASSARETTO, I.L.; PASCUAL, C.S.C.I.; MARQUEZ, U.M.L. Comparative study of phenolic compounds in different Brazilian rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.22, p.405-409, 2009.

MONTILLA, E.C.; ARZABA, M.R.; HILLEBRAND, S.; WINTERHALTER, P. Anthocyanin composition of black carrot (*Daucus carota* ssp. *sativus* var. *atrorubens* Alef.) cultivars antonina, beta sweet, deep purple, and purple haze. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.59, p.3385–3390, 2011.

MULABAGAL, V.; WANG, H.; NGOUAJIO, M.; NAIR, M.G. Characterization and quantification of health beneficial anthocyanins in leaf chicory (*Cichorium intybus*) varieties. **European Food Research and Technology**, v. 230, p.47–53, 2009.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v.1054, p.95-111, 2004.

OGAWA, K.; SAKAKIBARA, H.; IWATA, R.; ISHII, T.; SATO, T.; GODA, T.; SHIMOI, K.; KUMAZAWA, S. Anthocyanin composition and antioxidant activity of the crowberry (*Empetrum nigrum*) and other berries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.4457–4462, 2008.

OKA, T.; FUJIMOTO, M.; NAGASAKA, R.; USHIO, H.; HORI, M.; OZAKI, H. Cycloartenyl ferulate, a component of rice bran oil-derived  $\gamma$ -oryzanol, attenuates mast cell degranulation. **Phytomedicine**, v.17, p.152-156, 2010.

ONG, M.H.; BLANSHARD, J.M.V. Texture determinants in cooked, parboiled rice. I: Rice starch amylose and the fine structure of amylopectin. **Journal of Cereal Science**, v.21, p.251-260, 1995.

PARRA, C.; SALDIVAR, S.O.S.; LIU, R.H. Effect of processing on the phytochemical profiles and antioxidant activity of corn for production of masa, tortillas and tortillas chips. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.55, p.4177-4183, 2007.

PASCUAL, C.S.C.I.; MASSARETTO, I.L.; KAWASSAKI, F.; BARROS, R.M.C.; NOLDIN, J.A.; MARQUEZ, U.M.L. Effects of parboiling, storage and cooking on the levels of tocopherols, tocotrienols and  $\gamma$ -oryzanol in brown rice (*Oryza sativa* L.). **Food Research International**, v.50, p.676-681, 2013.

PEREIRA-CARO, G.; WATANABE, S.; CROZIER, A.; FUJIMURA, T.; YOKOTA, T.; ASHIHARA, H. Phytochemical profile of a Japanese black-purple rice. **Food Chemistry**, v.141, p.2821-2827, 2013.

PRIOR, R.L.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.4290-4302, 2005.

QIU, Y.; LIU, Q.; BETA, T. Antioxidant activity of commercial wild rice and identification of flavonoid compounds in active fractions. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, p.7543–1057551, 2009.

QURESHI, A.A.; SALSER, W.A.; PARMAR, R.; EMESON, E.E. Novel tocotrienols of rice bran inhibit atherosclerotic lesions in C57BL/6 ApoE-deficient mice, **Journal of Nutrition**, v.131, p.2606-2618, 2001.

RUKMINI, C.; RAGHURAM, T.C. Nutritional and biochemical aspects of the hypolipidemic action of rice bran oil, a review. **Journal of American College of Nutrition**, v.10, p.593-601, 1991.

SANTIAGO, M.C.P.A. **Avaliação via cromatografia líquida de alta eficiência do efeito da microfiltração do suco da amora-preta (*Rubus spp.*) sobre a composição de suas antocianinas majoritárias**. Dissertação de Mestrado, 2010.

SANTOS-BUELGA, C.; SCALBERT, A. Proanthocyanidins and tannin-like compounds – nature, occurrence, dietary intake and effects on nutrition and health. **Biomedical Journal of Science and Food Agriculture**, v.80, p.1094-1017, 2000.

SCALBERT, A.; MORAND, C.; MANACH, C.; RÉMÉSY, C. Absorption and metabolism of polyphenols in the gut and impact on health. **Biomedical Pharmacotherapy**, v.56, p. 276-282, 2002.

SCAVARIELLO, E.M.S.; ARELLANO, D.B.  $\gamma$ -orizanol: um importante componente del aceite de salvado de arroz. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.48, p.7-12, 1998.

SEITZ, L.M. Stanol and sterol esters of ferulic and *p*-coumaric acids in wheat, corn, rye, and triticale. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.37, p.662-667, 1989.

SHEN, Y.; JIN, L.; XIAO, P.; LU, Y.; BAO, J. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. **Journal of Cereal Science**, v.49, p.106-111, 2009.

SIDHU, J.S.; KABIR, Y.; HUFFMAN, F.G. Functional foods from cereal grains. **International Journal of Food Properties**, v.10, p.231–244, 2007.

SINGLETON, V.L.; ORTHOFER, R.; LAMMELA-RAVENSON, R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. **Methods of Enzymology**, v.299, p.152-178, 1999.

SLAVIN, J. Why whole grains are protective: biological mechanisms. **Proceedings of the Nutrition Society**, n.62, p.129-134, 2003.

SLOAN, A.E. Wholly grain! **Food Technology**, n.59, p.16, 2005.

SOARES, S.E. Ácidos Fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, v.15, p.71-81, 2002.

SOMPONG, R.; SIEBENHANDL-EHN, S.; LINSBERGER-MARTIN, G.; BERGHOFER, E.. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. **Food Chemistry**, v.124, p.132-140, 2011.

SON, M.J.; RICO, C.W.; NAM, S.H.; KANG, M.Y. Influence of oryzanol and ferulic acid on the lipid metabolism and antioxidative status in high fat-fed mice. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, v.46, p.150-156, 2010.

SOBRATTEE, M.A.; NEERGHEEN, U.S.; LUXIMON-RAMMA, A.; ARUOMA, O.I. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: mechanism and actions. **Mutation Research**, v.579, p.200-213, 2005.

SOSBAI. **Arroz Irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**, Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado, Porto Alegre, RS, p.09-12, 2012.

SOSULSKI, F.W.; IMAFIDON, G.I. Aminoacid composition and nitrogen-to-protein conversion factors for animal and plant foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.38, p.351-356, 1990.

TAIRA, H.; ITANI, T. Lipid content and fatty acid composition of brown rice of cultivars of the United States. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.36, p.460-462, 1988.

TAKEOKA, G.R.; DAO, L.T.; FULL, G.H.; WONG, R.Y.; HARDEN, L.A.; EDWARDS, R.H.; BERRIOS, J.J. Characterization of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) anthocyanins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.45, p 3395–3400, 1997.

TIWARI, U.; CUMMINS, E. Nutritional importance and effect of processing on tocols in cereals. **Trends in Food Science & Technology**, v.20, p.511-520, 2009.

TSUJI, E.; TAKAHASHI, M.; KINOSHITA, S.; TANAKA, M.; TSUJI, K. Effects of different contents of gamma-oryzanol in rice bran oil on serum cholesterol levels. **Atherosclerosis Supplements**, v.4, p.278-278, 2003.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS – UNICAMP. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação – NEPA, 2006. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos - TACO**. 2 ed. Disponível em: [http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco\\_versao2.pdf](http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_versao2.pdf). Acesso em: 7 ago 2013.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental/BRASILFOODS. **Tabela Brasileira de Composição de Alimentos-USP**, 2008. Versão 5.0. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tabela>. Acesso em: 07 ago 2013.

XIA, M.; LING, W.H.; MA, J.; KITTS, D.; ZAWISTOWSKI, J. Supplementation of diets with the black rice pigment fraction attenuates atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E deficient mice. **Journal of Nutrition**, v.133, p.744-751, 2003.

XU, B.; CHANG, S.K.C. A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. **Journal of Food Science**, v. 72, p.167–177, 2007.

XU, Z.; GODBER, J.S. Purification and identification of components of  $\gamma$ -oryzanol in rice brain oil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.47, p.2724-2728, 1999.

XU, Z.; GODBER, J.S. Antioxidant activity of major components of gamma-oryzanol from rice bran using a linoleic acid model. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.78, n.6, p.645-649, 2001.

XU, Z.; WU, J.; ZHANG, Y.; HU, X.; LIAO, X.; WANG, Z. Extraction of anthocyanins from red cabbage using high pressure CO<sub>2</sub>. **Bioresource Technology**, v.101, p. 7151–7157, 2010.

WALTER, M.; MARCHESAN, E.; AVILA, L.A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v.38, p.1148-1192, 2008.

WALTER, M.; MARCHESAN, E.; MASSONI, P.F.S.; SILVA, L.P.; SARTORI, G.M.S.; FERREIRA, R. Antioxidant properties of rice grains with light brown, red and black pericarp colors and the effect of processing. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.849-868, 2011.

WATTS, B.M.; DRONZEK, B.L. Chemical composition of wild rice grain. **Canadian Journal of Plant Science**, v.61, p.437-446, 1981.

WILSON, T.A.; AUSMAN, L.M.; LAWTON, C.W.; HEGSTED, D.M.; NICOLOSI, R.J. Comparative cholesterol lowering properties of vegetable oils: Beyond fatty acids. **Journal of the American College of Nutrition**, v.19, p.601–607, 2000.

WILSON, T. A., NICOLOSI, R. J., WOOLFREY, B., & KRITCHEVSKY, D. RBO and oryzanol reduce plasma lipid and lipoprotein cholesterol concentrations and aortic cholesterol ester accumulation to a greater extent than ferulic acid in hypercholesterolemic hamsters. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.18, p.105-112, 2007.

YAWADIO, R.; TANIMORI, S.; MORITA, N. Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. **Food Chemistry**, v.101, p.1616-1625, 2007.

ZHANG, M.W.; ZHANG, R.F.; ZHANG, F.X.; HAI, R. Phenolic profiles and antioxidant activity of black rice bran of different commercially available varieties. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.58, p.7580-7587, 2010.

ZHOU, Z.; ROBARDS, K.; HELLIWELL, S.; BLANCHARD, C. Composition and functional properties of rice. **International Journal of Food Science and Technology**, v.37, p.849-868, 2002.

ZHOU, Z.; ROBARDS, K.; HELLIWELL, S.; BLANCHARD, C. The distribution of phenolic acids in rice. **Food Chemistry**, v.87, p.401-406, 2004.

ZIELINSKI, H.; MICHALSKA, A.; PISKULA, M.K.; KOZLOWSKA, H. Antioxidants in thermally treated buckwheat groats. **Molecular Nutritional Food Research**, v.50, p.824-832, 2006.

# **ANEXOS**

## ANEXO A – Informações para os Membros da Banca Julgadora de Doutorado

---



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

---

Secretaria de Pós-Graduação

1. O candidato fará uma apresentação oral do seu trabalho, com duração máxima de trinta minutos.

2. Os membros da banca farão a arguição oral. Cada examinador disporá, no máximo, de trinta minutos para arguir o candidato, exclusivamente sobre o tema do trabalho apresentado, e o candidato disporá de trinta minutos para sua resposta.

2.1 Com a devida anuência das partes (examinador e candidato), é facultada a arguição na forma de diálogo em até sessenta minutos por examinador.

2.2 Tempo máximo total de arguição: 3 horas para o mestrado e 5 horas para o doutorado.

3. Não serão permitidas correções na dissertação/tese. Assim, havendo extrema necessidade, poderá ser incluída uma errata.

4. A sessão de defesa será aberta ao público.

5. Terminada a arguição por todos os membros da banca, a mesma se reunirá reservadamente e expressará na ata (relatório de defesa) a aprovação ou reprovação do candidato, baseando-se no trabalho escrito e na arguição.

5.1 Será considerado aprovado o aluno que obtiver aprovação por unanimidade ou pela maioria da banca.

5.2 Caso algum membro da banca reprove o candidato, a Comissão Julgadora deverá emitir um parecer a ser escrito em campo exclusivamente indicado na ata.

6. Dúvidas poderão ser esclarecidas junto à Secretaria de Pós-Graduação: [pgfarma@usp.br](mailto:pgfarma@usp.br), (11) 3091 3621.

São Paulo, 11 de dezembro de 2009.

**Profa. Dra. Bernadette D. G. M. Franco**

Presidente da CPG/FCF/USP

## ANEXO B – Ficha do Aluno

---

**Janus**

- Sistema Administrativo da Pós-Graduação



**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Ciências Farmacêuticas**  
**Documento sem validade oficial**  
**FICHA DO ALUNO**

**9131 - 5763689/2 - Isabel Louro Massaretto**

**Email:** isamassaretto@usp.br  
**Data de Nascimento:** 24/08/1973  
**Cédula de Identidade:** RG - 21.563.117-1 - SP  
**Local de Nascimento:** Estado de São Paulo  
**Nacionalidade:** Brasileira  
**Graduação:** Farmacêutico - Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Bioquímicas -  
 Faculdades Oswaldo Cruz - São Paulo - Brasil - 1995  
**Mestrado:** Mestre em Ciência dos Alimentos - Área: Bromatologia - Faculdade de  
 Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo - São Paulo -  
 Brasil - 2009

---

**Curso:** Doutorado  
**Programa:** Ciência dos Alimentos  
**Área:** Bromatologia  
**Data de Matrícula:** 03/06/2009  
**Início da Contagem de Prazo:** 03/06/2009  
**Data Limite:** 01/10/2013  
**Orientador:** Prof(a). Dr(a). Ursula Maria Lanfer Marquez - 03/06/2009 até o presente.  
 E.Mail: lanferum@usp.br

**Prorrogação:** 120 dias  
 Período de 03/06/2013 a 01/10/2013

**Data de Aprovação no Exame de Qualificação:** Aprovado em 05/12/2012

**Data do Depósito do Trabalho:**

**Título do Trabalho:**

**Data Máxima para Aprovação da Banca:**

**Data de Aprovação da Banca:**

**Data Máxima para Defesa:**

**Data da Defesa:**

**Resultado da Defesa:**

**Histórico de Ocorrências:** Ingressou no Doutorado em 03/06/2009  
 Prorrogação em 16/04/2013  
 Matrícula de Acompanhamento em 15/07/2013

---

Última ocorrência: Matrícula de Acompanhamento em 15/07/2013  
 Impresso em: 17/09/13 22:06:10

Janus - Sistema Administrativo da Pós-Graduação



Universidade de São Paulo  
 Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
 Documento sem validade oficial  
 FICHA DO ALUNO

9131 - 5763689/2 - Isabel Louro Massaretto

Sigla	Nome da Disciplina	Início	Término	Carga Horária	Cred.	Freq.	Conc.	Exc.	Situação
QBQ5733-6/1	Radicais Livres em Sistemas Biológicos (Instituto de Química - Universidade de São Paulo)	03/09/2009	26/11/2009	180	0	0		N	Turma cancelada
Atividade do Programa	Participou da Etapa de Estágio Supervisionado em Docência do Programa de Aperfeiçoamento de Ensino junto à Disciplina FBA0413 Alimentos e Nutrição I, ministrada aos alunos de graduação do curso em Farmácia e Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (1)	01/02/2010	30/06/2010	-	3	0		-	-
HEP5800-1/1	Bioestatística (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	02/03/2010	11/05/2010	90	0	0		N	Pré-matrícula indeferida
BMF5864-1/3	Fisiopatologia das Espécies Reativas de Oxigênio (Instituto de Ciências Biomédicas - Universidade de São Paulo)	14/04/2010	26/05/2010	60	0	0		N	Pré-matrícula indeferida
HEP5762-4/5	Estatística não Paramétrica (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	18/05/2010	01/07/2010	60	4	86		N	Concluída
HEP5800-2/2	Bioestatística (Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo)	01/03/2011	10/05/2011	90	0	0		N	Matrícula cancelada
QBQ5751-6/1	Bioquímica Avançada (Instituto de Química - Universidade de São Paulo)	15/03/2011	09/06/2011	180	12	100		N	Concluída

Atividade do Programa	Publicação do trabalho "Phenolic compounds in raw and cooked rice ( <i>Oryza sativa</i> L.) and their inhibitory effect on the activity of angiotensin I-converting enzyme", na Journal of Cereal Science, v. 54, p. 236-240, 2011	08/06/2011	08/06/2011	-	2	0	-	-
-----------------------	--	------------	------------	---	---	---	---	---

	Créditos mínimos exigidos		Créditos obtidos
	Para exame de qualificação	Para depósito de tese	
<b>Disciplinas:</b>	20	20	21
<b>Atividades Programadas:</b>			
<b>Seminários:</b>			
<b>Estágios:</b>			
<b>Total:</b>	20	20	21

**Créditos Atribuídos à Tese: 167**

**Observações:**

1) Créditos atribuídos de acordo com o disposto na Portaria GR-3588 e GR-4391 - PAE, de 31.08.09 e aprovados pela Comissão de Pós-Graduação, em Sessão de 26/11/2010.

<b>Conceito a partir de 02/01/1997:</b>
A - Excelente, com direito a crédito; B - Bom, com direito a crédito; C - Regular, com direito a crédito; R - Reprovado; T - Transferência.
Um(1) crédito equivale a 15 horas de atividade programada.

**Última ocorrência:** Matrícula de Acompanhamento em 15/07/2013

**Impresso em:** 17/09/13 22:06:10

## ANEXO C – Currículo Lattes



Dados Gerais Formação Atuação Projetos Produções Patentes e Registros Inovação Educação e Popularização de C&T Eventos  
Orientações Bancas Citações



### Isabel Louro Massaretto

- **Endereço para acessar este CV:** <http://lattes.cnpq.br/1862775069783681>
- **Última atualização do currículo em 18/09/2013**

### Resumo informado pelo autor

Possui mestrado em Ciência dos Alimentos pela Universidade de São Paulo (2009) e graduação em Farmácia - Habilitação Farmacêutico Industrial - Faculdades Oswaldo Cruz (1996). Tem experiência em indústria farmacêutica na área de validação, desenvolvimento e estabilidade de medicamentos. Atualmente é doutoranda em Ciência dos Alimentos pela Universidade de São Paulo e atua na pesquisa de compostos bioativos de arroz pigmentado.  
(Texto informado pelo autor)

### Dados pessoais

**Nome** Isabel Louro Massaretto  
**Filiação** Manuel Domingues Louro e Maria de Jesus  
**Nascimento** 24/08/1973 - São Paulo/SP - Brasil  
**Carteira de Identidade** 215631171 SSP - SP - 22/07/2003  
**CPF** 169.267.058-10

### Formação acadêmica/titulação

- 2009** Doutorado em Ciências dos Alimentos.  
Universidade de São Paulo, USP, Sao Paulo, Brasil  
Título: Estudos dos compostos bioativos presentes em arroz-preto e vermelho: perfil, teores, efeito do cozimento, atividade antioxidante, inibição da enzima conversora de angiotensina I (ECA)  
Orientador: Ursula Maria Lanfer Marquez
- 2006 - 2009** Mestrado em Ciências dos Alimentos.  
Universidade de São Paulo, USP, Sao Paulo, Brasil  
Título: Efeito do cozimento e ação dos compostos fenólicos de arroz integral na inibição da enzima conversora de angiotensina I e da  $\alpha$ -amilase, Ano de obtenção: 2009  
Orientador: Ursula Maria Lanfer Marquez   
Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
- 1992 - 1996** Graduação em Farmácia com Habilitação Farmacêutico Industrial.  
Faculdades Oswaldo Cruz, FOC, Sao Paulo, Brasil

## Formação complementar

- 2011 - 2011** Bioquímica Avançada.  
Instituto de Química, IQ/USP, Brasil
- 2010 - 2010** Estatística Não Paramétrica.  
Faculdade de Saúde Pública, FSP, Brasil
- 2008 - 2008** Metodologia do Ensino Superior.  
Faculdade de Educação, FE/USP, Brasil
- 2007 - 2007** Fundamentos de Biologia Molecular Aplicados à Nutr.  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Bioquímicas, FCF/USP, USP, Brasil
- 2007 - 2007** Seminário em Ciência dos Alimentos e Nutrição.  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Bioquímicas, FCF/USP, USP, Brasil
- 2007 - 2007** Aprimoramento Didático.  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Bioquímicas, FCF/USP, USP, Brasil
- 2007 - 2007** Compostos Bioativos em Alimentos.  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Bioquímicas, FCF/USP, USP, Brasil
- 2006 - 2006** Química e Análise de Alimentos Lipídicos.  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Bioquímicas, FCF/USP, USP, Brasil

## Atuação profissional

### 1. Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Bioquímicas, FCF/USP - USP

#### Vínculo institucional

- 2010 - 2010** Vínculo: Estagiário , Enquadramento funcional: Monitora da disciplina Alimentos e Nutrição I, Regime: Parcial
- 2009 - Atual** Vínculo: livre , Enquadramento funcional: Aluno de pós-graduação, bolsista CNPq , Carga horária: 40, Regime: Integral
- 2006 - 2009** Vínculo: livre , Enquadramento funcional: Aluno de pós graduação, bolsista FAPESP , Carga horária: 32, Regime: Parcial

### 2. Autônoma - AUTÔNOMA

#### Vínculo institucional

- 2004 - 2005** Vínculo: Profissional autônomo , Enquadramento funcional: Revisor de documentos farmacêuticos , Carga horária: 40, Regime: Integral

#### Atividades

- 02/2002 - 04/2004** Serviço Técnico Especializado

#### Especificação:

*Elaboração e revisão de documentação técnica para a área de indústria farmacêutica: documentação de fabricação e análise, relatórios de estabilidade, documentos de validação, documentos internacionais para transferência de tecnologia*

### 3. DM-Monange - DM-MONANGE

#### Vínculo institucional

**2004 - 2004** Vínculo: Contrato por prazo determinado , Enquadramento funcional: Analista de desenvolvimento , Carga horária: 40, Regime: Integral

#### Atividades

**10/2004 - 12/2004** Serviço Técnico Especializado

##### *Especificação:*

*Estudos de estabilidade de novas fórmulas farmacêuticas. Desenvolvimento de novos produtos farmacêuticos, adequação de fórmulas, testes em escala laboratorial e escala de produção.*

### 4. Boehringer Ingelheim do Brasil - BI - BRASIL

#### Vínculo institucional

**1997 - 2001** Vínculo: Funcionário , Enquadramento funcional: Técnico de Tecnologia Farmacêutica , Carga horária: 40, Regime: Integral

#### Atividades

**07/1997 - 09/2001** Serviço Técnico Especializado, Tecnologia da Qualidade / DQMA

##### *Especificação:*

*Validações de transporte, limpeza e de processo. Estudos de estabilidade de medicamentos. Desenvolvimento de novos produtos. Transferência de tecnologia. Procedimentos operacionais. Otimização de processos. Qualificação de equipamentos.*

### 5. Bayer S/A - SP - BAYER

#### Vínculo institucional

**1996 - 1997** Vínculo: Estágio , Enquadramento funcional: Estágio , Carga horária: 40, Regime: Integral

#### Atividades

**07/1996 - 06/1997** Estágio, Documentação Técnica / Produção Farmacêutica

##### *Estágio:*

*Setor de Documentação Técnica: elaboração de documentos de validação, roteiros de fabricação e embalagem, treinamento técnico para pessoal de produção e elaboração de procedimentos operacionais.*

### 6. Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP

#### Vínculo institucional

**1994 - 1996** Vínculo: Estágio , Enquadramento funcional: Iniciação Científica , Carga horária: 25, Regime: Parcial

#### Atividades

**02/1994 - 07/1996** Estágio, Departamento de Bioquímica

##### *Estágio:*

*Estudos de inibidores de proteases isolados de sementes de *Equinodorus paniculatus* e *Bauhinia bahunioides*. Auxílio na preparação de aulas práticas de Bioquímica na UNIFESP.*

## Projetos

### Projetos de pesquisa

**2008 - 2010** Efeito de cultivares, região de plantio e processamento sobre o perfil de compostos bioativos em arroz integral produzido no Brasil.

Descrição: intenção deste estudo é avaliar a variabilidade dos teores dos compostos bioativos (gama-orizanol, vitamina E e compostos fenólicos) em cultivares de arroz, promissores do ponto de vista comercial, sob influência da região de plantio, diferentes safras, bem como o efeito da parboilização. Para tanto foi desenvolvido junto à EPAGRI (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina) Estação Itajaí, um delineamento amostral de cultivares com estas características..

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (1); Mestrado acadêmico (1); Doutorado (1);

Integrantes: Isabel Louro Massaretto (Responsável); ; Cristina de Simone Carlos Iglesias Pascual; José Alberto Noldin; Ursula Maria Lanfer Marquez; Nádia Valéria Mussi de Mira; Flávia Labonia Garbin

### Projetos de desenvolvimento tecnológico

**2006 - 2008** Contribuição e importância dos compostos fenólicos na capacidade antioxidante do arroz integral

Descrição: A proposta deste projeto é padronizar a extração dos compostos fenólicos, solúveis e insolúveis do arroz integral e a avaliar a contribuição de cada fração na capacidade antioxidante total. O estudo compreende a extração destas substâncias contabilizando todas as frações, comparando-se o uso de diferentes solventes e tratamento alcalino para a sua liberação. A atividade antioxidante será avaliada por duas metodologias em genótipos de arroz integral de pericarpo não pigmentado e pigmentado e será verificado se existe correlação com o conteúdo de compostos fenólicos.

Situação: Concluído Natureza: Projetos de desenvolvimento tecnológico

Alunos envolvidos: Graduação (1); Mestrado acadêmico (1); Doutorado (1);

Integrantes: Isabel Louro Massaretto (Responsável); ; Cristina de Simone Carlos Iglesias Pascual; Ursula Maria Lanfer Marquez; Nádia Valéria Mussi de Mira; Flávia Labonia Garbin

Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

## Áreas de atuação

1. Bromatologia
2. Ciência de Alimentos
3. Análise de Alimentos
4. Fabricação de Medicamentos
5. Análise e Controle de Medicamentos

## Idiomas

**Inglês** Compreende Bem , Fala Razoavelmente , Escreve Bem , Lê Bem

**Espanhol** Compreende Razoavelmente , Fala Pouco , Escreve Pouco , Lê Razoavelmente

## Prêmios e títulos

**2008** Melhor trabalho de Iniciação Científica, XIII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia

## Produção

### Produção bibliográfica

#### Artigos completos publicados em periódicos

1.  [Pascual, Cristina de Simone Carlos Iglesias, Massaretto, Isabel Louro, Kawassaki, Fabiana, Barros,](#)

Rosa Maria Cerdeira, Noldin, José Alberto, Marquez, Ursula Maria Lanfer  
Effects of parboiling, storage and cooking on the levels of tocopherols, tocotrienols and  $\gamma$ -oryzanol in brown rice (Oryza sativa L.). Food Research International. **JCR**, v.50, p.676 - 681, 2013.

2.  [doi](#) **Massaretto, Isabel Louro**, Madureira Alves, Márcio Fernando, Mussi de Mira, Nádia Valéria, Carmona, Adriana Karaoglanovic, Lanfer Marquez, Ursula Maria  
Phenolic compounds in raw and cooked rice (Oryza sativa L.) and their inhibitory effect on the activity of angiotensin I-converting enzyme. Journal of Cereal Science (Print). **JCR**, v.54, p.236 - 240, 2011.
3.  [doi](#) **de Mira, Nádia Valéria Mussi, Massaretto, Isabel Louro, Pascual, Cristina de Simone Carlos Iglesias**, Lanfer Marquez, Ursula Maria  
Comparative study of phenolic compounds in different Brazilian rice (Oryza sativa L.) genotypes. Journal of Food Composition and Analysis (Print). **JCR**, v.22, p.405 - 409, 2009.

### Trabalhos publicados em anais de eventos (completo)

1. **MASSARETTO, I. L.**, KAWASSAKI, F., **GALVAO, N. S.**, MIKARO, A. S., **NOLDIN, J. A.**, **MARQUEZ, U. M. L.**  
Composição centesimal e teor de antocianinas em arroz pigmentado (Oryza sativa, L.) e arroz selvagem (Zizania aquatica, L.) In: VII Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 2011, Balneário Camboriú / S.C..  
**VII Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado.** , 2011. v.2. p.721 - 724
2. KAWASSAKI, F., **MASSARETTO, I. L.**, MIKARO, A. S., **GALVAO, N. S.**, **NOLDIN, J. A.**, RAIMONDI, J.V., **MARQUEZ, U. M. L.**  
Compostos fenólicos no arroz parboilizado e sua correlação com a capacidade antioxidante In: VII Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 2011, Balneário Camboriú - SC.  
**VII Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado.** , 2011. v.2. p.725 - 728

### Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. **MASSARETTO, I. L.**, **GALVAO, N. S.**, SUN, J. J. L., BARROS, R. M. C., **MARQUEZ, U. M. L.**  
Chemical composition of black and red pigmented (Oryza sativa, L.) and wild rice (Zizania aquatica, L.) In: XVII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 2012, São Paulo.  
**Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.** São Paulo: , 2012. v.48. p.43 - 43
2. **MASSARETTO, I. L.**, BERTOLDI, F. C., DESCHAMPS, F. C., **GALVAO, N. S.**, SUN, J. J. L., BARROS, R. M. C., **NOLDIN, J. A.**, **MARQUEZ, U. M. L.**  
Diferenças na composição química de arroz integral preto, vermelho e selvagem In: XXIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2012, Campinas.  
**XXIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos.** , 2012.
3. **MASSARETTO, I. L.**, KAWASSAKI, F., **GALVAO, N. S.**, **MARQUEZ, U. M. L.**  
Chemical composition and anthocyanin content in pigmented rice (Oryza sativa, L.) and wild rice (zizania aquatica, L.) In: XLVI Semana Universitária Paulista de Farmácia e Bioquímica, 2011, São Paulo.  
**Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.** , 2011. v.47. p.74 - 74
4. SILVA, C.M.B, **MARQUEZ, U. M. L.**, **MASSARETTO, I. L.**, KAWASSAKI, F.  
Compostos fenólicos e capacidade antioxidante em arroz (Oryza sativa, L.) de pericarpo pigmentado e não pigmentado e em arroz selvagem (Zizânia aquatica L.) In: XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2010, Salvador - Bahia.  
**Ciência e Tecnologia de Alimentos: potencialidades, desafios e inovações.** , 2010. p.455 - 455
5. KAWASSAKI, F., **MARQUEZ, U. M. L.**, SILVA, C.M.B, **MASSARETTO, I. L.**, PASCUAL, C. S. C. I.  
Correlação entre compostos fenólicos e atividade antioxidante de arroz integral e arroz parboilizado integral In: XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2010, Salvador - Bahia.  
**Ciência e Tecnologia de Alimentos: potencialidades, desafios e inovações.** , 2010. p.468 - 469
6. KAWASSAKI, F., **MASSARETTO, I. L.**, SILVA, C.M.B, **MARQUEZ, U. M. L.**  
Efeito da parboilização nos compostos fenólicos e na atividade antioxidante em arroz integral (Oryza sativa L.) In: XV Semana Farmacêutica de Ciência de Tecnologia da FCF/USP, 2010, São Paulo.  
**Brazilian Journal of Pharmaceutical Science.** , 2010.
7. PASCUAL, C. S. C. I., **MARQUEZ, U. M. L.**, BARROS, R.M.C., **MASSARETTO, I. L.**  
Estabilidade do gama-oryzanol e da viatmaina E durante a cocção de arroz integral e parboilizado (Oriza sativa L.) In: XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2010, Salvador - Bahia.  
**Ciência e Tecnologia de Alimentos: potencialidades, desafios e inovações.** , 2010. p.632 - 632
8. **MASSARETTO, I. L.**, **MARQUEZ, U. M. L.**, KAWASSAKI, F., SILVA, C.M.B, PASCUAL, C. S. C. I.  
Substâncias com atividade inibidora da enzima conversora de angiotensina I (ECA) presentes em alimentos In: XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2010, Salvador - Bahia.  
**Ciência e Tecnologia de alimentos: potencialidades, desafios e inovações.** , 2010. p.827 - 828
9. **MASSARETTO, I. L.**, FERNANDES, H. C., **MARQUEZ, U. M. L.**  
Cooking effect on phenolic compounds of pigmented and non-pigmented rice In: XIV Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 2009, São Paulo.  
**Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.** , 2009. v.45. p.9 - 9
10. FERNANDES, H. C., **Massaretto, Isabel Louro, MARQUEZ, U. M. L.**

Inhibition of angiotensin converting enzyme (ACE) by phenolic compounds in whole rice. In: XIV Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 2009, São Paulo.

**Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.** , 2009. v.45. p.14 - 14

11. **MASSARETTO, I. L.**, KANZAWA, L. A., LANFER-MARQUEZ, U. M.  
Inibição da enzima conversora de angiotensina I (ECA) por compostos fenólicos presentes em arroz integral In: XIII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 2008, São Paulo.  
**Rev. Bras. Ciências Farmacêuticas.** , 2008. v.44. p.17 - 17
12. KANZAWA, L. A., **MASSARETTO, I. L.**, LANFER-MARQUEZ, U. M.  
Inibição da  $\alpha$ -amilase por compostos fenólicos presentes em arroz integral cru e cozido. In: XIII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 2008, São Paulo.  
**XIII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia.** , 2008. v.44. p.25 - 25
13. **MASSARETTO, I. L.**, MIRA, N. V. M., PINTO, P. A., PASCUAL, C. S. C. I., **NOLDIN, J. A.**, SCHIOCCHET, M. A., LANFER-MARQUEZ, U. M.  
Teores de compostos fenólicos em genótipos de arroz integral antes e após o cozimento In: XXI Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia da FCF/USP, 2007, São Paulo.  
**Rev. Bras. Ciências Farmacêuticas.** , 2007. v.43supl. p.9 - 9
14. PASCUAL, C. S. C. I., PINTO, P. A., MIRA, N. V. M., **MASSARETTO, I. L.**, FAGUNDES, C. A. A., **MARQUEZ, U. M. L.**  
Teores de gama-orizanol em genótipos de arroz integral cru e cozido In: XXI Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia da FCF/USP, São Paulo.  
**Rev. Bras. Ciências Farmacêuticas.** , 2007. v.43supl. p.14 - 14
15. Souza, A.F., **LOURO, I.J.**, Oliveira, C., Sampaio, M.U., Oliva, M.L.V.  
Inhibition of blood clotting by Echinodorus paniculatus extract. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular - SBBq, Caxambu - MG.  
**Abstract Book.** , 1996. p.135 - 135
16. Souza, A.F., **MASSARETTO, I. L.**, Oliveira, C., Sallai, R. C., Oliva, M.L.V., Sampaio, C.A.M.  
Characterization of trypsin inhibitor from Echinodorus paniculatus In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular - SBBq, Caxambu - MG.  
**Abstract Book.** , 1995. p.120 - 120

#### Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1. **MASSARETTO, I. L.**, BARROS, R. M. C., BERTOLDI, F. C., **NOLDIN, J. A.**, **MARQUEZ, U. M. L.**  
Estudo comparativo de macronutrientes, compostos bioativos e capacidade antioxidante de arroz-preto, vermelho e selvagem In: VIII Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 2013, Santa Maria / RS.  
**Avaliando cenários para a produção sustentável de arroz.** Gráfica e Editora Pallotti, 2013. v.02. p.1488 - 1491
2. **MASSARETTO, I. L.**, FERNANDES, H. C., **NOLDIN, J. A.**, SCHIOCCHET, M. A., **MARQUEZ, U. M. L.**  
Compostos fenólicos em arroz pigmentado e não pigmentado cru e cozido In: VI Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 2009, Porto Alegre - RS.  
**VI Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado.** , 2009.
3. **MASSARETTO, I. L.**, ALVES, M. F. M., FERNANDES, H. C., CARMONA, A. K., **MARQUEZ, U. M. L.**  
Inibição da enzima conversora de angiotensina I por compostos fenólicos de arroz pigmentado e não pigmentado In: VI Congresso Brasileiro do Arroz Irrigado, 2009, Porto Alegre - RS.  
**VI Congresso Brasileiro do Arroz Irrigado.** , 2009.
4. **MASSARETTO, I. L.**, ALVES, M. F. M., KANZAWA, L. A., CARMONA, A. K., LANFER-MARQUEZ, U. M.  
Inibição da enzima conversora de angiotensina I (ECA) e da  $\alpha$ -amilase por compostos fenólicos presentes em arroz integral cru e cozido. In: XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS E DO XV SEMINÁRIO LATINO AMERICANO E DO CARIBE DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 2008, Belo Horizonte.  
**XXI CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS.** , 2008.
5. LANFER-MARQUEZ, U. M., **MASSARETTO, I. L.**, MIRA, N. V. M.  
Oryzanol y Otros Compuestos Bioactivos en Arroz Producido en Brasil In: IV Encuentro Internacional del Arroz, 2008, Havana.  
**IV Encuentro Internacional del Arroz.** , 2008. p.576 - 581
6. **MASSARETTO, I. L.**, MIRA, N. V. M., PINTO, P. A., PASCUAL, C. S. C. I., SCHIOCCHET, M. A., **NOLDIN, J. A.**, LANFER-MARQUEZ, U. M.  
Avaliação do efeito do cozimento no conteúdo de compostos fenólicos em genótipos de arroz integral In: V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 2007, Pelotas/RS.  
**V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado - Anais.** Pelotas: Magalhães Júnior A. M., 2007. v.2. p.636 - 639
7. PASCUAL, C. S. C. I., PINTO, P. A., MIRA, N. V. M., **MASSARETTO, I. L.**, FAGUNDES, C. A. A., LANFER-MARQUEZ, U. M.  
Efeito da cocção sobre os teores de gama-orizanol em arroz integral In: V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, Pelotas/RS.  
**V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado - Anais.** Pelotas: Magalhães Júnior A. M., 2007. v.2. p.625 - 628

#### Apresentação de trabalho e palestra

1.  **MASSARETTO, I. L.**, BARROS, R. M. C., BERTOLDI, F. C., **NOLDIN, J. A.**, **MARQUEZ, U. M. L.** **Estudo comparativo de macronutrientes, compostos fenólicos e capacidade antioxidante de arroz-preto, vermelho e selvagem.** 2013. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
2. KAWASSAKI, F., MIKARO, A. S., **MASSARETTO, I. L.**, **NOLDIN, J. A.**, **MARQUEZ, U. M. L.** **Correlation between phenolic compounds and antioxidant activity in brown rice before and after parboiling,** 2011. (Congresso, Apresentação de Trabalho)
3. **MASSARETTO, I. L.**, KAWASSAKI, F., **NOLDIN, J. A.**, **MARQUEZ, U. M. L.** **Phenolic compounds in raw and cooked rice (Oryza sativa L.) and their inhibitory effect on the activity of angiotensin I-converting enzyme,** 2011. (Congresso, Apresentação de Trabalho)

## Produção técnica

### Entrevistas, mesas redondas, programas e comentários na mídia

1. **MASSARETTO, I. L.**  
Hábitos de vida e alimentação, 2010

### Orientações e Supervisões

## Orientações e supervisões

### Orientações e supervisões concluídas



(Orientações de teses e dissertações coincidentes com informações na base CAPES, a partir do ano de 1996 orient\_teses\_capes)

1996)

## Trabalhos de conclusão de curso de graduação

1. Desenvolvido em grupo. **Antocianinas - Uma revisão literária.** 2011. Curso (Farmácia) - Faculdades Oswaldo Cruz
2. Lílian Aki Kanzawa. **Efeito da atividade inibidora dos alimentos na Enzima Conversora de Angiotensina (ECA) (co-orientação).** 2009. Curso (Farmácia) - Universidade de São Paulo

### Eventos

## Eventos

### Participação em eventos

1. **VIII Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado,** 2013. (Congresso)  
Estudo comparativo de macronutrientes, compostos bioativos e capacidade antioxidante de arroz-preto, vermelho e selvagem.
2. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XVII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia,** 2012. (Outra)  
Chemical composition of black and red pigmented (Oryza sativa, L.) and wild rice (Zizania aquatica, L.).
3. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XXIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos,** 2012. (Congresso)  
Diferenças na composição química de arroz integral preto, vermelho e selvagem.
4. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XLVI Semana Universitária Paulista de Farmácia e Bioquímica,** 2011. (Outra)  
Chemical composition and anthocyanin content in pigmented rice (Oryza sativa, L.) and wild rice (zizania aquatica,

L.).

5. **VII Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado**, 2011. (Congresso)  
Composição centesimal e teor de antocianinas em arroz pigmentado (*Oryza sativa*, L.) e arroz selvagem (*Zizania aquatica*, L.).
6. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XV Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia da FCF/USP**, 2010. (Congresso)  
Efeito da parboilização nos compostos fenólicos e na atividade antioxidante em arroz integral (*Oryza sativa* L.).
7. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XXII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2010. (Congresso)  
Substâncias com atividade inibidora da enzima conversora de angiotensina I (ECA) presentes em alimentos.
8. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XIV Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia**, 2009. (Congresso)  
Cooking effect on phenolic compounds of pigmented and non-pigmented rice.
9. Apresentação de Poster / Painel no(a) **VI Congresso Brasileiro do Arroz Irrigado**, 2009. (Congresso)  
Inibição da Enzima Conversora de Angiotensina I por Compostos Fenólicos de Arroz Pigmentado e não Pigmentado.
10. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XXI Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos e do XV Seminário Latino Americano e do Caribe de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2008. (Congresso)  
Inibição da enzima conversora de angiotensina I (ECA) e da  $\alpha$ -amilase por compostos fenólicos presentes em arroz integral cru e cozido..
11. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XIII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia**, 2008. (Seminário)  
Inibição da enzima conversora de angiotensina I (ECA) por compostos fenólicos presentes em arroz integral.
12. Apresentação Oral no(a) **IV Encuentro Internacional del Arroz**, 2008. (Encontro)  
Oryzanol y Otros Compuestos Bioactivos en Arroz Porducido em Brasil.
13. Apresentação de Poster / Painel no(a) **V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado**, 2007. (Congresso)  
Avaliação do efeito do cozimento no conteúdo de compostos fenólicos em genótipos de arroz integral.
14. Apresentação Oral no(a) **Seventh International Food Data Conference – Food Composition And Biodiversity**, 2007. (Congresso)  
Comparative study on phytochemical compounds in brazilian rice (*Oryza sativa*, L.).
15. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XXI Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia da FCF/USP**, 2007. (Congresso)  
Teores de compostos fenólicos em genótipos de arroz integral antes e após o cozimento.
16. Apresentação de Poster / Painel no(a) **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular - SBBq**, 1996. (Congresso)  
Inhibition of blood clotting by *Echinodorus paniculatus*.
17. Apresentação de Poster / Painel no(a) **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular - SBBq**, 1995. (Congresso)  
Characterization of trypsin inhibitor from *Echinodorus paniculatus*.

## Bancas

### Bancas

#### Participação em banca de trabalhos de conclusão

#### Graduação

1. **MARQUEZ, U. M. L., MASSARETTO, I. L., MIRA, N. V. M.**  
Participação em banca de Lilian Aki Kanzawa. **Substâncias com atividade inibidora da enzima conversora de angiotensina (ECA) presentes em alimentos**, 2009  
(Graduação em Farmácia) Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Bioquímicas, FCF/USP

Página gerada pelo sistema Currículo Lattes em 18/09/2013 às 07:58:19.

## ANEXO D – Artigos científicos publicados no período

Journal of Cereal Science 54 (2011) 236–240



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Cereal Science

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/jcs](http://www.elsevier.com/locate/jcs)

## Phenolic compounds in raw and cooked rice (*Oryza sativa* L.) and their inhibitory effect on the activity of angiotensin I-converting enzyme

Isabel Louro Massaretto<sup>a</sup>, Márcio Fernando Madureira Alves<sup>b</sup>, Nádia Valéria Mussi de Mira<sup>a</sup>, Adriana Karaoglanovic Carmona<sup>b</sup>, Ursula Maria Lanfer Marquez<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Food and Experimental Nutrition, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 580, CEP 05508-900, São Paulo, SP, Brazil

<sup>b</sup> Department of Biophysics, Federal University of São Paulo, Rua 3 de Maio, 100, CEP 04044-020, São Paulo, SP, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 24 September 2010

Received in revised form

13 April 2011

Accepted 8 June 2011

#### Keywords:

Rice

Phenolic compounds

Angiotensin I-converting enzyme inhibitor

Thermal processing

### ABSTRACT

Whole rice has been widely studied due to the abundance of bioactive compounds in its pericarp. Some of the beneficial effects of these compounds on human health have been attributed to their antioxidant and other biological activities, such as enzyme inhibition. In this work, we evaluated the contents of total, soluble and insoluble phenolic compounds of 6 red and 10 non-pigmented genotypes of whole rice as well as their inhibitory effect on the activity of angiotensin I-converting enzyme (ACE). The effects of cooking on phenolics and their inhibitory activities were also investigated. Red genotypes showed high content of phenolics, mainly soluble compounds, at an average of 409.7 mg ferulic acid eq./100 g, whereas overall lower average levels (99.4 mg ferulic acid eq./100 g) at an approximate soluble/insoluble compound ratio of 1:1 were observed in non-pigmented rice. Pigmented rice displayed a greater inhibitory effect on ACE than non-pigmented rice. In fact, a significant correlation between the content of soluble phenolics and ACE inhibition was observed ( $r = 0.8985$ ,  $p < 0.05$ ). In addition to significantly reducing the levels of total phenolics and ACE inhibition, cooking altered the soluble/insoluble compound ratio, especially among red rice genotypes.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

The angiotensin I-converting enzyme (ACE), distributed in many tissues and biological fluids, is a key component of the renin-angiotensin system (RAS) that controls blood pressure through a cascade of enzymatic reactions.

Despite some side effects that may lead to clinical treatment discontinuation, synthetic ACE inhibitors represent an important therapeutic approach to combating high blood pressure. Clinical management of hypertension requires lifelong commitment as well as drug therapy coupled with changes in lifestyle and the development of healthy eating habits (Chen et al., 2009). Although patients with pre-hypertension do not need anti-hypertensive drugs, they are likely to develop hypertension. Interestingly, they show a good response to non-medical treatment, including weight loss, smoking cessation, reduction in salt and fat intake, regular physical activity and moderate alcohol consumption (Chobanian et al., 2003).

Several food-derived peptides may contribute to reducing blood pressure, especially in pre-hypertensive patients, although flavanol-rich foods, including cocoa products, tea and red wine, as well as purified compounds, such as procyanidins and catechins have been reported to inhibit *in vitro* ACE activity (Actis-Goretta et al., 2006; Grassi et al., 2005; Ottaviani et al., 2006). The inhibitory effects on ACE activity and the activation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS), constitute the probable mechanism since nitric oxide (NO) mediates endothelium-dependent vasodilation by acting as an intracellular and intercellular messenger (Chen et al., 2009).

Consumption of whole-grain rice, especially the red and black pigmented genotypes, has aroused considerable interest because of both its high content of flavonoids, such as proanthocyanidins and anthocyanins, and its wide range of phenolic acids and derivatives.

In general, the biological activities of phenolic compounds depend on their absorption and metabolism, which are closely related to their chemical structure ranging from simple phenolic structures to highly polymerized compounds. Therefore, from an analytical view, they can be classified into soluble (free and conjugated) and insoluble bound forms (Naczk and Shahidi, 2004; Zhou et al., 2004). In non-pigmented rice, soluble phenolics contribute with ~60% of total phenolics, whereas in pigmented

Abbreviations: Abz, ortho-aminobenzoic acid; ACE, angiotensin I-converting enzyme; Dnp, 2,4-dinitrophenyl.

\* Corresponding author. Tel.: +55 11 3091 3684; fax: +55 11 3815 4410.

E-mail address: [lanferum@usp.br](mailto:lanferum@usp.br) (U.M. Lanfer Marquez).

0733-5210/\$ – see front matter © 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.  
doi:10.1016/j.jcs.2011.06.006



## Effects of parboiling, storage and cooking on the levels of tocopherols, tocotrienols and $\gamma$ -oryzanol in brown rice (*Oryza sativa* L.)

Cristina de Simone Carlos Iglesias Pascual <sup>a</sup>, Isabel Louro Massaretto <sup>a</sup>, Fabiana Kawassaki <sup>a</sup>, Rosa Maria Cerdeira Barros <sup>a</sup>, José Alberto Noldin <sup>b</sup>, Ursula Maria Lanfer Marquez <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Food and Experimental Nutrition, Faculty of Pharmaceutical Sciences, University of São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 580, CEP 05508-000, São Paulo, SP, Brazil

<sup>b</sup> Epagri, Estação Experimental de Itajaí, CP 277, CEP 88301-970, Itajaí, SC, Brazil

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 14 December 2010

Accepted 11 July 2011

#### Keywords:

Brown rice

Parboiling

Cooking

Storage

Vitamin E

$\gamma$ -oryzanol

### ABSTRACT

Vitamin E and  $\gamma$ -oryzanol display a wide range of biological activities including hypocholesterolemic, anti-inflammatory and antioxidant activities. Although white rice is far more popular worldwide, consumption of brown rice is increasing, partially on account of the presence of bioactive compounds; however, the effects of parboiling, storage and cooking on them are not well-characterized. The effects of parboiling and a 6-month storage period on the contents of vitamin E and  $\gamma$ -oryzanol in three brown rice cultivars grown in three different locations in Brazil were investigated. Also, their levels in branded non-parboiled and parboiled brown rice were monitored before and after cooking. Vitamin E homologues and  $\gamma$ -oryzanol were separated by RP-HPLC equipped with PDA and fluorescence detectors. The average levels of total tocopherols and  $\gamma$ -oryzanol in the raw brown rice cultivars studied were 25 and 188 mg/kg, respectively. Of the vitamin E homologues,  $\gamma$ -tocotrienol contributed with 74% of total tocopherols, followed by  $\alpha$ -tocopherol,  $\alpha$ -tocotrienol and  $\gamma$ -tocopherol in minor quantities. The combined processes, parboiling, storage and cooking, led to an approximate 90% reduction in tocopherols and only  $\gamma$ -tocotrienol was detectable after any of the processes. Parboiling followed by storage resulted in an approximate 40% loss of  $\gamma$ -oryzanol. Cooking had almost no further effect over  $\gamma$ -oryzanol levels in parboiled rice previously stored for 6 months.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Of all the bioactive lipophilic compounds found in the outer layers of brown rice kernels, vitamin E and  $\gamma$ -oryzanol are of greater scientific interest because of their potential health benefits.

Vitamin E occurs in the form of eight stereoisomers, four tocopherols ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), and four tocotrienols ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), which differ in the saturation state of the isoprenoid side chain. The most abundant tocopherols found in indica rice are:  $\gamma$ -tocotrienol,  $\alpha$ -tocopherol,  $\alpha$ -tocotrienol and  $\gamma$ -tocopherol (Aguilar-García, Gavino, Baragaño-Mosqueda, Hevia, & Gavino, 2007; Heinemann, Xu, Godber, & Lanfer-Marquez, 2008). In addition to their potential antioxidant activity, tocopherols have been reported to reduce lipid peroxidation, attenuate lipid-related risk factors (elevated LDL cholesterol levels, platelet aggregation), display anti-inflammatory properties and show anti-carcinogenic and cardiovascular protective effects. In fact, several novel beneficial structure-related effects of individual tocopherols and tocotrienols have been reported (Tiwari & Cummins, 2009).

Brown rice is also a unique source of  $\gamma$ -oryzanol, which is a mixture of at least 10 lipophilic phytosteroids (Xu & Godber, 1999). Several

studies in animals and human beings have shown that this group of compounds displays antioxidant properties, total-and-LDL-cholesterol-lowering and HDL-cholesterol-increasing effects (Gerhardt & Gallo, 1998; Rong, Ausman, & Nicolosi, 1997; Wilson, Idreis, Taylor, & Nicolosi, 2002). Other health benefits of  $\gamma$ -oryzanol, such as reduction of tumor incidence, inhibition of platelet aggregation and anti-inflammatory activity, have been observed (Lerma-García, Herre-ro-Martínez, Simó-Alfonso, Mendonça, & Ramis-Ramos, 2009).

The factors affecting the accumulation of tocopherols and  $\gamma$ -oryzanol in brown rice have been investigated. Genetic and environmental factors, such as growing locations, harvesting and weather conditions, are suggested to influence their concentration in the grain (Aguilar-García et al., 2007; Britz et al., 2007; Heinemann et al., 2008; Miller & Engel, 2006). Although studies on phytochemicals in brown rice have been widely carried out and have provided valuable information to guide the selection and the development of phytochemical-rich genotypes, little is known about the effects of processing and cooking on their actual contents in ready-to-eat foods. Worldwide, 170 million tons of rough rice is unofficially estimated to be parboiled every year, one-fifth of the average annual production (Amato & Elias, 2005). In fact, the production of parboiled rice is likely to increase, fueled not only by the technical advantages and nutritional benefits of the process, but also by its steadily increasing acceptance by consumers.

\* Corresponding author. Tel.: +55 11 3091 3684; fax: +55 11 3815 4410.  
E-mail address: [lanferum@usp.br](mailto:lanferum@usp.br) (U.M.L. Marquez).