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

Efeitos da parboilização do arroz (*Oryza sativa* L.) integral sobre os compostos bioativos e a disponibilidade do amido

Cristina de Simone Carlos Iglesias Pascual

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:
Profa.Dra.Ursula Maria Lanfer Marquez
Co-orientador:
Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias

São Paulo
2010

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

Efeitos da parboilização do arroz (*Oryza sativa* L.) integral sobre os compostos bioativos e a disponibilidade do amido

Cristina de Simone Carlos Iglesias Pascual

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:
Profa.Dra.Ursula Maria Lanfer Marquez
Co-orientador:
Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias

São Paulo
2010

Cristina de Simone Carlos Iglesias Pascual

Efeitos da parboilização do arroz (*Oryza sativa* L.) integral sobre os compostos bioativos e a disponibilidade do amido

Comissão Julgadora da
Tese para obtenção do grau de DOUTOR

Profa. Dra. Ursula Maria Lanfer Marquez
Orientador/presidente

Profa. Dra. Helena Teixeira Godoy

Profa. Dra. Deborah Helena Markowicz Bastos

Profa. Dra. Beatriz Rosana Cordenunsi

Profa. Dra. Elizabete Wenzel de Menezes

São Paulo, _____ de _____.

Dedico este trabalho com muito carinho ao meu pai Celeste Carlos por incentivar e motivar continuamente o caminhar desta jornada.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Profa. Dra. Ursula Maria Lanfer Marquez pela orientação, dedicação, paciência e confiança durante estes quatro anos de convivência. Obrigada pelas excelentes sugestões, opiniões e por me fazer acreditar que sempre é possível melhorar;

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Moacir Cardoso Elias pela oportunidade em executar o processo de parboilização do arroz em seu laboratório na UFPEL com a ajuda de todos os seus alunos e pela agradável hospitalidade que recebi durante minha estadia em Pelotas/RS;

Ao CNPq, pela concessão de bolsa de estudos e financiamento da pesquisa;

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, pela disponibilidade de recursos necessários para a execução e desenvolvimento do trabalho;

Aos pesquisadores José Alberto Noldin e Carlos Alberto Fagundes, dos Institutos Agronômicos de Pesquisa EPAGRI e IRGA, respectivamente, pelo fornecimento de amostras e sugestões para a realização deste trabalho;

À Profa. Dra. Elizabete Wenzel de Menezes e sua aluna Milana Dan pelo auxílio nas análises de amido resistente;

À técnica Rosa Maria Cerdeira Barros, pelo suporte técnico nas metodologias de análise, na utilização do HPLC, sugestões e discussões nas interpretações dos resultados obtidos, além da grande amizade que desenvolvemos durante estes quatro anos;

À Dra. Nádia Valéria Mussi de Mira, pela colaboração na determinação da atividade antioxidante do arroz utilizando o fluorímetro e amizade durante os seus dois anos de pós-doutorado. Senti muito sua falta no laboratório quando você terminou!

À amiga doutoranda Luciana Tedesco Yoshime, que além de ser uma querida amiga, sempre me ajudou em tudo que se tratava de assuntos de informática. Tudo que hoje sei mexer no computador devo a ela;

Ao amigo Dr. Carlos Eduardo Chagas, pela ajuda na correção de traduções para o inglês de resumos e abstract que precisei durante o meu trabalho;

Às amigas, doutoranda Isabel Louro Massaretto e mestranda Fabiana Kawassaki, pela ajuda na análise estatística deste trabalho e pela forte amizade que tivemos. Vocês são muito queridas!

Gostaria de agradecer aos demais colegas do Laboratório de Análise de Alimentos (Alexandre Bera, Simone, Vanilda, Klaus, Renato, Lenny) e aos que passaram por ele (Daniela Borrmann, Illana, Flávia Garbin, Helena, Lilian, Priscila) que em algum momento me ajudaram durante o trabalho, seja no estudo ou nos momentos de descontração durante os famosos cafezinhos na copa tornando os dias bem mais agradáveis;

Às novatas mestrandas Diana e Cynthia, e ao novo técnico Elias, apesar de pouco tempo de convivência, obrigada pelo carinho e apoio neste final de trabalho. Sucesso a vocês!

Aos amigos, Dr. Rubison Olivo, Prof. Dr. Massami Shimokomaki e a mestre Juliane Schneider, pelo apoio e incentivo dado para ingressar na área científica. Nunca me esquecerei de vocês!

Gostaria de agradecer muito ao meu marido Jorge Luis, pelo apoio, paciência e o grande incentivo na realização deste trabalho, sempre acreditando no meu potencial e tendo orgulho de mim.

À minha mãe Maria Aparecida de Simone Carlos, por ter me ajudado muito a cuidar da minha filha Bianca, principalmente nos dois meses que estive em Pelotas e em todos os congressos que participei fora de São Paulo. Muito obrigada mãe!

À todos os demais familiares, pela torcida e incentivo em cada conquista do meu doutorado;

Enfim, a todos os professores, alunos e funcionários do departamento que contribuíram para a minha formação e realização desse trabalho.

“Feliz é aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina”
(Cora Carolina)

PASCUAL, C.S.C.I. **Efeitos da parboilização do arroz (*Oryza sativa* L.) integral sobre os compostos bioativos e a disponibilidade do amido.** São Paulo, 102p. FCF/USP, 2010.

O arroz (*Oryza sativa* L.) é consumido principalmente na forma polida, porém uma alternativa nutricionalmente melhor seria o arroz integral, que contém ao redor de 10% de farelo, rico em micronutrientes e compostos bioativos. Dentre esses destacam-se a vitamina E e γ -orizanol, aos quais se atribuem diversos efeitos benéficos à saúde. A literatura descreve vários estudos relacionados à presença desses compostos no arroz integral, porém pouco se sabe a respeito da sua estabilidade com o armazenamento, a parboilização e a cocção caseira. Pelo fato do arroz integral apresentar curta vida de prateleira, uma alternativa para aumentar o prazo para o consumo é o emprego da parboilização. A parboilização, que consiste em um processo hidrotérmico, provoca alterações estruturais no amido do grão e a literatura é controversa no que diz respeito à diminuição da digestibilidade do amido e consequentemente à redução do índice glicêmico (IG). Este trabalho teve como objetivos: avaliar os efeitos da parboilização sobre a disponibilidade do amido por meio da cinética de hidrólise do amido estimando o índice glicêmico (IG) em cultivares de arroz integral com diferentes teores de amilose; analisar o efeito da parboilização, do armazenamento por seis meses e da cocção caseira do arroz integral sobre a estabilidade dos compostos bioativos, e correlacionar os compostos bioativos com a atividade antioxidante do arroz, antes e após o processamento. Foram analisadas 36 amostras pertencentes a diferentes cultivares selecionadas de arroz integral e parboilizado integral das safras de 2007 e 2008 e outras três amostras de arroz integral e parboilizado integral, adquiridas no comércio local da cidade de São Paulo. A partir do índice de hidrólise (IH) *in vitro*, foi estimado o IG. A vitamina E e o γ -orizanol foram extraídos com metanol, separados por CLAE-fase reversa e quantificados por curvas padrão correspondentes. A atividade antioxidante foi avaliada pelos métodos de DPPH[•] e ORAC. Foi verificado que a disponibilidade do amido de todas as amostras de arroz foi pouco afetada pela parboilização nas condições empregadas de modo que os IH permaneceram similares aos das amostras não parboilizadas. As amostras com teor intermediário de amilose apresentaram os menores IH ($p < 0,05$). O IG estimado nas amostras cruas e parboilizadas foi cerca de 80%, tanto nas cultivares de arroz selecionadas quanto nas amostras comerciais e não foi observada alteração com o processamento. Com relação aos compostos bioativos, os teores de vitamina E e γ -orizanol no arroz integral cru foram, em média de 25 e 188mg/kg, respectivamente. A vitamina E foi sensível ao processo de parboilização, ao armazenamento e à cocção, com perdas de 50% ou mais, em relação à concentração no grão integral *in natura*. Já o γ -orizanol mostrou-se mais estável frente a qualquer tratamento, com perda de no máximo 20% da sua concentração inicial. A maior correlação entre a concentração de compostos bioativos e atividade antioxidante foi encontrada para a vitamina E.

Palavras-chave: arroz integral, parboilização, hidrólise do amido, compostos bioativos, antioxidantes

PASCUAL, C.S.C.I. **Effects of the parboiling process in brown rice (*Oryza sativa* L.) on its both bioactive components and starch availability.** São Paulo, 102p. FCF/USP, 2010.

Rice (*Oryza sativa* L.) is consumed mostly in the milled form. However, due to its content of bran, vitamin E and γ -oryzanol, the intake of brown rice has been recommended. Although previous studies ascribed some important health benefits related to these brown rice's compounds, information regarding the effect of cooking, storage and parboiling on these substances remains to be elucidated. Rice parboiling is a hydrothermal process consisting of soaking, heating and drying that provide technological and nutritional benefits to the consumer. Until now, if parboiling process decreases the starch digestibility and consequently reduces the glycemic index (GI) is unclear. The objectives of the present study were: to evaluate the effect of the parboiling process on starch digestibility through a GI estimation by the kinetics of starch hydrolysis in rice cultivars with different levels of amylose; to analyze the effect of traditional parboiling, cooking and storage for six months on the stability of bioactive components as well as to correlate the content of bioactive components of rice with its antioxidant activity before and after parboiling. Thirty-six samples of brown rice and parboiled brown rice harvested in 2007 and 2008 were analyzed. In addition, three commercial cultivars of both brown and parboiled brown samples from local market that were obtained in São Paulo were also studied. The glycemic index (IG) was estimated from the hydrolysis index (IH). Vitamin E homologues and γ -oryzanol were extracted simultaneously with methanol and analyzed by HPLC-RP/UV and fluorescence detection in a single run. Peak areas were converted to the corresponding by the standards of α - and γ -tocopherol, α - and γ -tocotrienol and γ -oryzanol. The antioxidant capacity was evaluated by both, DPPH[•] and ORAC methods. The results indicated that starch digestibility from all rice samples was little affected by parboiling under the conditions employed in the present study. Samples with intermediate amylose content had the lowest HI ($p < 0.05$). The estimated GI in raw and parboiled samples was 80% in all rice cultivars selected and in commercial samples as well. The parboiling showed no effect on GI. The total tocols and γ -orizanol contents in raw rice were 25 and 188 mg/kg, respectively. The vitamin E homologues were the most affected by parboiling, storage and cooking than γ -oryzanol with a decrease of 50% or more when compared to the raw grain. However, γ -oryzanol was more stable during either treatment with 20% loss of when compared to raw rice. The most significant correlation between the concentration of bioactive compounds and antioxidant activity was found for vitamin E.

Key-words: brown rice, parboiling, hydrolysis index, bioactive components, antioxidant

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	I
LISTA DE TABELAS	II
LISTA DE QUADROS	III
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1 Produção e consumo de arroz	3
2.2 O grão de arroz: aspectos morfológicos	4
2.3 Beneficiamento do grão de arroz	5
2.4 Composição química e valor nutricional	9
2.4.1 Carboidratos.....	10
2.4.2 Proteínas.....	17
2.4.3 Minerais e vitaminas.....	18
2.4.4 Lipídeos.....	19
2.4.5 γ -orizanol e vitamina E	19
2.4.6 Compostos fenólicos	25
2.4.7 Ácido fítico.....	26
3. OBJETIVOS	27
3.1 Geral.....	27
3.2 Específicos	27
4. MATERIAL E MÉTODOS	28
4.1 Arroz	28
4.1.1 Amostras de arroz integral para o estudo da disponibilidade do amido	28
4.1.2 Amostras de arroz integral para o estudo dos compostos bioativos	28
4.1.3 Amostras de arroz comercial para comparação dos resultados obtidos e para o estudo do efeito da cocção nos compostos bioativos	30
4.1.4 Parboilização do arroz.....	30
4.1.5 Preparo das amostras	32
4.2 Análises químicas.....	33
4.2.1 Teor de Umidade.....	33
4.2.2 Teor de amilose.....	33
4.2.3 Teor de amido total (AT)	34
4.2.4 Teor de amido resistente (AR)	35

4.2.5 Teor de amido disponível (AD).....	36
4.2.6 Índice de hidrólise do amido de arroz cozido in vitro (IH).....	36
4.2.7 Extração do γ -orizanol e da vitamina E	37
4.2.8 Análise da vitamina E e γ -orizanol por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	38
4.2.9 Preparo dos padrões, curva de calibração e quantificação dos tocóis, tocotrienóis e γ -orizanol.....	39
4.2.10 Estimativa da atividade antioxidante dos extratos metanólicos das amostras de arroz	40
4.3 Análise estatística	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
5.1 Teores de amido total (AT), amido resistente (AR) e amido disponível (AD) no arroz integral e parboilizado integral	46
5.2 Índice de hidrólise do amido (IH) in vitro do arroz integral e do parboilizado integral	49
5.3 Compostos bioativos no arroz integral.....	58
5.3.1 Análise do γ -oryzanol e homólogos da vitamina E	58
5.3.2 Efeito da parboilização, da cocção caseira e do armazenamento por seis meses nos compostos bioativos do arroz integral.....	63
5.3.3 Estimativa da atividade antioxidante do arroz integral e integral parboilizado.....	67
6. CONCLUSÕES	73
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
APÊNDICE A – Mapa do Estado de Santa Catarina indicando as regiões de origem das amostras de arroz: (1) Litoral Sul; (2) Litoral Norte; (3) Alto Vale do Itajaí.	95
APÊNDICE B – Isotermas de adsorção de água das cultivares de arroz na etapa de encharcamento durante o processo de parboilização.	97
ANEXO A – Informações para os Membros da Banca Julgadora de Doutorado.....	99
ANEXO B – Currículo Lattes do candidato.....	100

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Corte longitudinal de um grão de arroz.	5
Figura 2 – (A) Estrutura da amilose (polímero linear composto por D-glicoses unidade em α -1,4); (B) Estrutura da amilopectina (polímero ramificado composto por D-glicoses unidas em α -1,4 e α -1,6).	11
Figura 3 – Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilum.	12
Figura 4 – Estrutura dos componentes majoritários do γ -orizanol.	20
Figura 5 – Estrutura química do colesterol.	21
Figura 6 – Estrutura dos isômeros do tocoferol e tocotrienol.	24
Figura 7 – Etapas de operação para construção de isotermas de adsorção de água das amostras de arroz: (A) e (B) = amostras de 50 g arroz durante a fase de encharcamento; (C) = remoção do excesso de água sob peneira; (D) centrifugação.	31
Figura 8 – Curva representativa da velocidade de hidrólise do amido da amostra de arroz em relação ao pão de forma branco (alimento referência).	37
Figura 9 – Estrutura do DPPH• antes e após a reação com o antioxidante (A-H). ...	40
Figura 10 – Ilustração da determinação da atividade antioxidante expressa como área líquida debaixo da curva (AUC).	42
Figura 11 – Curva padrão de Trolox pelo método ORAC.	44
Figura 12 – Hidrólise <i>in vitro</i> do amido de arroz cozido.	50
Figura 13 – Hidrólise <i>in vitro</i> do amido de arroz parboilizado integral cozido.	54
Figura 14 – Cromatograma representativo por CLAE-fase reversa da mistura de padrões: (A) - homólogos da vitamina E: (a) γ -tocotrienol (2 μ g/mL), (b) α -tocotrienol (2,5 μ g/mL), (c) γ -tocoferol (10 μ g/mL), (d) α -tocoferol (10 μ g/mL)); (B) - γ - orizanol: (e,f,g,h) os quatro principais componentes (330 μ g/mL).	59
Figura 15 – (A e B) Cromatograma representativo por CLAE-fase reversa de extrato de arroz integral. (a) γ -tocotrienol, (b) α -tocotrienol, (c) γ -tocoferol, (d) α -tocoferol por fluorescência nos comprimentos de excitação e emissão de 298 e 328 nm, respectivamente e (e,f,g,h) γ -orizanol por UV/Vis a 325nm.	59
Figura 16 – Redução do radical DPPH• por soluções padrão de trolox, γ -orizanol, γ -tocotrienol, α -tocotrienol e α -tocoferol.	71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Formas de comercialização do arroz beneficiado e a descrição do beneficiamento segundo regulamento técnico do arroz no Brasil.	6
Tabela 2 – Classificação e descrição quanto às classes de arroz beneficiado segundo regulamento técnico do arroz no Brasil.	9
Tabela 3 – Composição centesimal média de arroz integral e polido com aproximadamente 13% de umidade.	10
Tabela 4 - Delineamento de coleta de arroz integral das cultivares Epagri 109, SCSBRS Tio Taka e SCS 114 Andosam em três regiões de Santa Catarina.	29
Tabela 5 – Absorbância máxima (A_{λ}), absortividade molar (ϵ) e faixa de concentração para a construção das curvas padrão.	39
Tabela 6 – Classificação das amostras de arroz integral de acordo com os teores de amilose.	46
Tabela 7 - Teores de amido total (AT), amido resistente (AR) e amido disponível (AD) das amostras de arroz integral e parboilizado integral pertencentes a duas subespécies e com diferentes teores de amilose.	48
Tabela 8 – Porcentagens de amido hidrolisado em 20 e 180 minutos, área abaixo da curva de hidrólise e índice de hidrólise do amido <i>in vitro</i> em base seca do pão de forma (alimento referência), do arroz integral e do arroz polido.	52
Tabela 9 – Porcentagens de hidrólise <i>in vitro</i> do pão de forma (alimento referência), arroz integral, parboilizado integral, polido e a área abaixo da curva de hidrólise.	55
Tabela 10 – Comparação dos valores de Índice de Hidrólise, Índice Glicêmico estimado e Índice Glicêmico compilado da Tabela Internacional de Índice Glicêmico.	56
Tabela 11 – Teores de vitamina E (α -, γ -tocotrienol, α -, γ -tocoferol, tocóis totais) e γ -orizanol em arroz integral das cultivares Epagri 109, SCSBRS Tio Taka e SCS 114 Andosam de diferentes regiões de cultivo em base seca.	61
Tabela 12 – Teores de vitamina E (α -, γ -tocotrienol, α -, γ -tocoferol, tocóis totais) e γ -orizanol em arroz integral de cada cultivar (SCS 114 Andosam, SCSBRS Tio Taka e Epagri 109).	62
Tabela 13 – Efeito da parboilização sobre tocóis totais, α -, γ -tocotrienol, α -, γ -tocoferol e γ -orizanol em arroz integral e porcentagem de perda da concentração destes compostos após processamento (mg/kg arroz (base seca)).	63

Tabela 14 – Teores de vitamina E (α -, γ -tocotrienol, α -, γ -tocoferol, tocóis totais) e γ -orizanol em arroz integral e parboilizado integral de três marcas comerciais (mg/kg), antes e após o cozimento (mg/kg arroz (base seca)).....	64
Tabela 15 – Teores de tocóis totais, α -, γ -tocotrienol, α -, γ -tocoferol e γ -orizanol em arroz integral e parboilizado integral e porcentagem de perda da concentração destes compostos após estocagem (mg/kg arroz (base seca)).	65
Tabela 16 – Teores de tocóis totais e γ -orizanol em arroz integral e parboilizado integral recém-colhidos, armazenados, cozidos recém-colhidos e cozidos após armazenamento (mg/kg arroz (base seca)).....	66
Tabela 17 – Atividade antioxidante de arroz integral e parboilizado integral medida pelo método do radical estável DPPH [•] , expressa em μ mol equivalentes de trolox por 100g arroz, e porcentagem de perda da intensidade com o processamento.....	68
Tabela 18 – Atividade antioxidante de extratos metanólicos das amostras de arroz integral e parboilizado integral medida pelo ORAC, expressa em equivalentes de Trolox (μ mol/100g arroz), e porcentagem de perda com o processamento.....	69
Tabela 19 – Correlação de Pearson entre a capacidade antioxidante pelas metodologias do DPPH [•] e ORAC e os teores de cada um dos compostos bioativos de arroz integral e parboilizado integral.	69

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Dados da literatura que descrevem o efeito da parboilização do arroz sobre o índice glicêmico.....	17
--	----

1. INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um alimento básico na dieta da população brasileira e de vários outros países e, devido ao seu consumo diário, tem importância destacada como fonte de nutrientes contribuindo, em média, com 21% do suprimento calórico da população mundial.

Considerando-se o volume mundial de produção de arroz, o Brasil apresenta posição de destaque como o 9º produtor, o que corresponde a 2,5% da produção mundial e 50% da produção da América Latina. No Brasil, a cultura de arroz ocupa o terceiro lugar na produção de grãos, estando atrás da soja e do milho (FAOSTAT, 2009).

O arroz é consumido principalmente na forma polida, porém uma alternativa nutricionalmente melhor é o consumo de arroz integral ou parboilizado integral. O grão integral contém ao redor de 10% de farelo, rico em micronutrientes, principalmente minerais, vitaminas do complexo B e compostos bioativos, tais como γ -orizanol e homólogos da vitamina E (HEINEMANN *et al.*, 2005).

Pelo fato do arroz integral apresentar curta vida de prateleira, uma alternativa para aumentar o prazo para o consumo é o emprego da parboilização, que consiste em um processo hidrotérmico onde o grão ainda com casca é imerso em água potável para o encharcamento em temperatura acima de 60°C, seguido de gelatinização total ou parcial do amido em autoclave, e secagem. Posteriormente, pode ser comercializado na forma “parboilizado integral” ou “parboilizado polido” (AMATO & ELIAS, 2005; SLOAN, 2005; HELBIG *et al.*, 2007b).

A literatura descreve vários estudos relacionados à presença de homólogos da vitamina E e γ - orizanol no grão de arroz integral, porém pouco se sabe a respeito da estabilidade e alteração na atividade antioxidante desses compostos após o processo de parboilização, bem como após a cocção e armazenamento.

Atribui-se ao γ -orizanol a capacidade de reduzir os níveis de colesterol, lipoproteínas totais e LDL e, elevar os níveis de HDL, demonstrado em experimentos com animais e humanos. Parece exercer ainda outros benefícios à saúde, reduzindo o risco de incidência de tumores, inibindo a agregação plaquetária e apresentando atividade anti-inflamatória (LERMA-GARCIA *et al.*, 2009).

Aos homólogos da vitamina E (tocoferóis e tocotrienóis), além da atividade antioxidante, atribui-se possíveis efeitos anticarcinogênicos e proteção contra doenças cardiovasculares (TIWARI & CUMMINS, 2009).

O processo de parboilização provoca ainda mudanças na estrutura do amido do arroz, que passa de cristalina para amorfa, migração de vitaminas hidrossolúveis e minerais das camadas mais externas do grão para o endosperma e fixação dos mesmos durante a etapa de gelatinização. Este fato indica que o arroz parboilizado, mesmo que polido, apresenta vantagens nutricionais em relação ao arroz integral (AMATO & ELIAS, 2005).

No entanto, não há muita informação a respeito de alteração da digestibilidade do amido ou do índice glicêmico do arroz após este processamento. O efeito de tratamentos térmicos, em especial o processo de parboilização do arroz, parece favorecer a formação de amido resistente, que por sua vez pode resultar em menor digestibilidade e, portanto causar, uma redução no seu aproveitamento biológico (BRAND-MILLER *et al.*, 1992).

O índice glicêmico (IG) é um importante biomarcador que orienta sobre o aproveitamento biológico dos carboidratos. Após a ingestão de carboidratos, um achatamento da curva glicêmica pós-prandial pode ser benéfico sob o ponto de vista nutricional, especialmente para indivíduos com restrição à glicose e outras desordens, como obesidade e diabetes. Para estes indivíduos a ingestão de alimentos que resultem em menor índice glicêmico pode ser interessante como tratamento dietético coadjuvante (WOLEVER, 2006). Por outro lado, a elevada disponibilidade do amido é importante quando se almeja um melhor aproveitamento energético.

A literatura é unânime em afirmar que o arroz branco cozido apresenta IG elevado. Quanto ao arroz parboilizado, os dados da literatura não são uniformes, embora haja certa tendência em afirmar que este tipo de processamento resulta em IG inferiores (FOSTER-POWELL *et al.*, 2002).

Portanto, este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da parboilização sobre a digestibilidade do amido *in vitro* (IH) estimando-se o índice glicêmico (IG), verificar a influência desse processamento na concentração e na atividade antioxidante de extratos de arroz contendo vitamina E e γ -orizanol e o impacto do cozimento e armazenamento do arroz sobre estes compostos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Produção e consumo de arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) é originário da Ásia onde é cultivado há pelo menos cinco mil anos. Atualmente é produzido e consumido em todos os continentes e além de ser um dos principais alimentos de subsistência, o plantio do arroz desempenha importante papel tanto no aspecto econômico quanto social (FAOSTAT, 2009).

De acordo com a FAO (Food and Agriculture Organization), a estimativa de produção mundial de arroz em 2010 será 3,6% superior a de 2009, passando de 682 milhões de toneladas para 707 milhões de toneladas de arroz em casca, plantados em cerca de 150 milhões de hectares (FAOSTAT, 2009; INFOCOMM, 2010).

Aproximadamente 90% do arroz colhido é cultivado e consumido na Ásia. A China lidera o ranking de maior produtor mundial de arroz, detendo mais de 30% do volume total produzido no planeta (INFOCOMM, 2010).

No Brasil, apesar da redução da produção nos últimos anos, devido às adversidades climáticas, o país destaca-se como maior produtor de fora do continente asiático e ocupa posição de destaque como o 9º produtor, o que corresponde a 2,5% da produção mundial e 50% da produção da América Latina. A cultura de arroz no Brasil ocupa o terceiro lugar na produção de grãos, estando atrás apenas da cultura de soja e milho (FAOSTAT, 2009; IRGA, 2009).

De acordo com estatísticas de março e abril de 2010 da Companhia Nacional de Abastecimento, a safra brasileira 2009/2010 alcançou 11,5 milhões toneladas de arroz em casca. A maior parcela da produção de arroz no Brasil é proveniente do ecossistema de várzeas, irrigado por inundação controlada, e o de terras altas (sequeiro), englobando o sem irrigação e com irrigação suplementar por aspersão, sendo a disponibilidade de água para a cultura de arroz sem irrigação totalmente dependente da precipitação pluvial (EMBRAPA 2004; CONAB, 2010).

A orizicultura irrigada é responsável por 69% da produção nacional, sendo considerada um estabilizador da safra nacional, uma vez que não é tão dependente das condições climáticas como no caso dos cultivos em terras altas (EMBRAPA, 2004).

Os estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina são os maiores produtores de arroz irrigado do país, contribuindo com mais de 70% da produção anual nacional, sendo que cerca de 84% do arroz produzido é exportado para outros estados. O arroz cultivado em terras altas concentra-se na região Centro-Oeste, onde o estado do Mato Grosso é o maior produtor (CONAB, 2010).

Em todo Brasil, o arroz faz parte da alimentação básica da população sendo consumido ao redor de 45,3kg de arroz beneficiado por habitante em um ano. Tanto no Brasil, como na maioria dos países, o arroz é consumido principalmente na forma polida (70-80%), sendo que esta é a forma que consta nas estatísticas de produção, consumo e comércio globalizado (IRGA, 2005; HAUBER GAMEIRO & PERROZZI GAMEIRO, 2008).

2.2 O grão de arroz: aspectos morfológicos

O grão de arroz *in natura* (Figura 1) é formado por uma camada externa protetora, a casca e a cariopse. A casca, composta de duas folhas modificadas, a pálea e a lema, possui minerais (sílica) e celulose, e corresponde à cerca de 20% do peso bruto do grão. A cariopse é formada por diferentes camadas, sendo as mais externas o pericarpo, o tegumento e a camada de aleurona, que representam 5-8% da massa do arroz integral, que constitui o farelo (JULIANO, 2003).

O pericarpo é a camada externa da cariopse, fornece proteção ao tegumento e proporciona a cor parda ao arroz integral, sendo rico em proteínas, lipídeos, vitaminas e sais minerais. Logo abaixo, encontra-se o tegumento, uma película fina e delicada (0,5µm), e a camada de aleurona que apresenta duas estruturas de armazenamento proeminentes, os grãos de aleurona (corpos protéicos) e os corpos lipídicos (JULIANO, 2003).

O embrião ou gérmen é extremamente pequeno e está localizado no lado ventral na base do grão; é rico em proteínas e lipídeos, e representa 2-3% do arroz integral. O endosperma forma a maior parte do grão (89-94% do arroz integral) e consiste de células ricas em grânulos de amido e com alguns corpos protéicos (JULIANO, 2003).

Figura 1 – Corte longitudinal de um grão de arroz.

Fonte: Adaptado de ENCYCLOPEDIA BRITANNICA, INC, 2009.

2.3 Beneficiamento do grão de arroz

Após o recebimento do produto bruto na empresa, o arroz passa por uma etapa de amostragem e classificação para aferição da qualidade. O próximo passo refere-se à limpeza do produto e beneficiamento (AMATO & Elias, 2005).

De acordo com o Regulamento Técnico do Arroz no Brasil, recentemente atualizado aprovado pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento e descrito na Instrução Normativa No 6 (IN 6/2009), arroz beneficiado é o produto maduro que foi submetido a algum processo de beneficiamento e se encontra desprovido, no mínimo, da sua casca.

No Brasil, o arroz é consumido e comercializado principalmente na forma polida, mas outras formas de beneficiamento como integral, parboilizado polido e parboilizado integral são comercializados em menor escala (AMATO & Elias, 2005). Na Tabela 1 estão descritas as principais formas de comercialização dos grãos de arroz e a descrição do beneficiamento.

Tabela 1 – Formas de comercialização do arroz beneficiado e a descrição do beneficiamento segundo regulamento técnico do arroz no Brasil.

Formas de comercialização	Descrição beneficiamento
Arroz descascado ou arroz integral (esbramado)	Produto do qual somente a casca foi retirada possuindo ainda ao redor de 10% farelo.
Arroz polido	Produto desprovido do germe e do pericarpo.
Arroz parboilizado integral	Produto submetido ao processo de parboilização e apenas descascado.
Arroz parboilizado	Produto submetido ao processo de parboilização, descascado e polido.

Fonte: Adaptado da Instrução Normativa No 6 (IN 6/2009).

O arroz polido apresenta maior aceitação pelo consumidor, pois possui um sabor neutro que permite melhor combinação com outros alimentos (AMATO & Elias, 2005). No entanto, o polimento torna o arroz pobre em micronutrientes, visto que neste processo, são perdidas parte das vitaminas, minerais e fibras dietéticas (WHFOODS, 2009).

O arroz integral é mais nutritivo em relação ao polido, porém é menos consumido devido, principalmente, ao seu sabor diferenciado e sua reduzida vida de prateleira (BARATA, 2005).

No caso do arroz parboilizado, embora não existam dados estatísticos oficiais, estima-se que, cerca de 170 milhões de toneladas de arroz em casca por ano, sejam beneficiados industrialmente por parboilização em todo o mundo, ou seja, em média, um quinto de toda produção arrozeira mundial (AMATO & ELIAS, 2005).

Segundo dados da Associação Brasileira da Indústria do Arroz Parboilizado (ABIAP, 2007), a aceitação do arroz parboilizado no Brasil vem aumentando continuamente a ponto de sua produção, em menos de duas décadas (1986-2005), ter passado de 5% para 20% do total de arroz industrializado no país. Este fato indica que existe ainda espaço no mercado a ser explorado e conquistado.

A parboilização é um tratamento hidrotérmico onde o arroz ainda com casca é imerso em água potável para o encharcamento em temperatura acima de 58°C, seguido de gelatinização total ou parcial do amido em autoclave, e secagem. Posteriormente, o grão parboilizado é descascado podendo ser comercializado na forma “parboilizado integral” ou “parboilizado polido”, sendo que o consumo de arroz

parboilizado polido apresenta maior aceitação (AMATO & ELIAS, 2005; ABIAP, 2007).

Um processo que seria denominado hoje de “parboilização” teve início há dezenas de anos em povoados da Ásia e África. Sua descoberta provavelmente ocorreu ao acaso, quando grãos foram acidentalmente encharcados com água e, na tentativa de reaproveitá-los foram secos ao sol. O procedimento passou a ser repetido de forma intencional, depois da observação que ele facilitava o descascamento dos grãos no pilão. O químico inglês Eric Huzenlaub, no início do século XX, ao percorrer a Índia e a África, cuja população se alimentava basicamente de arroz, descobriu que as tribos que parboilizavam o arroz não apresentavam incidência da doença beribéri causada por insuficiência da vitamina B1 (AMATO & ELIAS, 2005).

No Brasil, a tecnologia de parboilização foi introduzida na década de 1950, com a instalação de uma planta industrial no Rio Grande do Sul, que se baseou numa patente norte-americana, denominada Malek, dando origem à primeira marca conhecida como arroz Malekizado e, também, como amarelão, amarelo e macerado, o qual possuía características sensoriais bastante marcantes (AMATO & ELIAS, 2005).

A palavra parboilizado teve origem a partir da adaptação do termo inglês “parboiled” que por sua vez se refere a “partial boiled”, parcialmente fervido (AMATO & ELIAS, 2005).

Muitas vantagens foram descobertas com a parboilização do arroz, como maior retenção do teor de tiamina (vitamina B1) nos grãos, redução na quebra durante a moagem e mudanças na qualidade do grão durante o cozimento (AMATO & ELIAS, 2005).

Atualmente, o Brasil detém a tecnologia de parboilização mais avançada do mundo, o quê proporcionou aumento significativo na qualidade tecnológica e mercadológica do arroz parboilizado, conquistando cada vez mais os diferentes nichos do mercado consumidor (AMATO & ELIAS, 2005).

As principais vantagens tecnológicas e nutricionais do processo de parboilização sobre as outras formas de beneficiamento são aumento no rendimento industrial, redução da adesividade do arroz, esterilização do grão, aumento da vida de prateleira e migração de vitaminas hidrossolúveis e minerais do farelo para o centro do grão (AMATO & ELIAS, 2005; HEINEMANN *et al.*, 2005). Porém, durante

as etapas deste processo ocorrem muitas outras modificações físicas, químicas e sensoriais nos grãos de arroz, entre as quais destaca-se: a redistribuição e concentração de substâncias solúveis em água (vitaminas e sais minerais); a alteração na estrutura poliédrica do amido durante a gelatinização; a desnaturação de enzimas; o aumento na transparência e brilho do grão e a menor adesividade e maior dureza dos grãos cozidos, que não empapam e são resistentes à desintegração (BHATTACHARYA, 1985; JULIANO & FAO, 1993).

A gelatinização é responsável pelo diferencial nutricional e econômico do arroz parboilizado devido às modificações nos grânulos de amido presentes nas células do endosperma (STORCK, 2005; AMATO & ELIAS, 2005).

Após a gelatinização, com o esfriamento e secagem dos grãos ocorre o fenômeno chamado retrogradação, onde as moléculas de amido começam a reassociar-se formando áreas cristalinas. Como a área cristalizada altera o índice de refração, o grão de arroz torna-se mais opaco à medida que a retrogradação progride (ELIASSON, 1996). A amilose que foi exsudada dos grânulos inchados forma uma rede por meio da associação com cadeias que rodeiam os grânulos gelatinizados.

Alguns estudos mostram que durante a parboilização as variáveis de processo como água de enchacamento, temperatura e tempo estão diretamente relacionados com a qualidade final dos grãos, havendo necessidade em se determinar condições ideais de operação para cada tipo de arroz, pois o comportamento e as alterações físico-química dos grãos podem ser diferentes (FALCONE, 1988; SILVA *et al.*, 2005).

Além disso, existem indícios de que algumas das mudanças que afetam a forma física e o grau de gelatinização do amido deste cereal poderiam exercer um efeito na sua digestibilidade, de forma a gerar produtos com impacto glicêmico diferente ao obtido com o consumo de arroz branco (CASIRAGHI *et al.*, 1993).

Além das diferentes formas de beneficiamento, o arroz é caracterizado em cinco classes, em função das dimensões do grão que variam de acordo com cada cultivar e subespécie, independentemente do sistema de cultivo (Instrução Normativa No 6 (IN 6/2009). As classes e suas respectivas descrições estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 – Classificação e descrição quanto às classes de arroz beneficiado segundo regulamento técnico do arroz no Brasil.

Classes	Descrição
Longo-Fino	Contém, no mínimo, 80% do peso de grãos inteiros, com comprimento igual ou superior a 6,00mm e no máximo 1,90mm de espessura. A relação comprimento/largura deve ser superior a 2,75 após o polimento.
Longo	Contém, no mínimo, 80% do peso de grãos inteiros, com comprimento igual ou superior a 6,00mm após o polimento.
Médio	Contém, no mínimo, 80% do peso de grãos inteiros, medindo entre 5,00 e 6,00mm de comprimento após o polimento dos grãos.
Curto	Contém, no mínimo, 80% do peso de grãos inteiros, de comprimento inferior a 5,00 mm após o polimento dos grãos.
Misturado	Produto que não se enquadra em nenhuma das classes anteriores.

Fonte: Adaptado da Instrução Normativa No 6 (IN 6/2009).

A preferência nacional de consumo é o arroz da classe longo-fino comercialmente conhecido como “arroz-agulhinha”. Esse tipo de arroz é translúcido e apresenta a característica de ser mais solto, macio e firme após o cozimento (BARATA, 2005).

2.4 Composição química e valor nutricional

O arroz é constituído principalmente por amido e pequenas quantidades de proteínas, lipídeos, fibras e cinzas que cujos teores variam principalmente em função do tipo de beneficiamento conforme apresentado na Tabela 3. A literatura ainda descreve variações na composição dos grãos em função da cultivar, das condições ambientais, manejo, processamento e armazenamento (CHAMPAGNE, 2004). Além disso, os nutrientes não estão distribuídos de maneira uniforme nas frações do grão. No arroz integral, as camadas externas apresentam maiores concentrações de proteínas, lipídeos, fibras e vitaminas, enquanto o endosperma é fundamentalmente constituído de amido (WALTER *et al.*, 2008).

Tabela 3 – Composição centesimal média de arroz integral e polido com aproximadamente 13% de umidade.

Constituinte	Arroz integral	Arroz polido
Carboidratos Totais	75,6	79,6
Proteínas	7,8	6,7
Lipídeos Totais	2,0	0,9
Cinzas	1,2	0,5
Fibra Alimentar Total	3,0	1,7
Energia (kcal)	340	346

Fonte: TBCA-USP (2008)

2.4.1 Carboidratos

O arroz é composto majoritariamente de carboidratos presentes na maior parte sob a forma de amido (90%) localizado no endosperma, e de fibra, presente no farelo e no gérmen. Além destes, existem pequenas quantidades de açúcares solúveis, localizados principalmente nas camadas externas do arroz integral (JULIANO, 1993).

O amido é um homopolissacarídeo composto por cadeias de amilose e amilopectina associadas entre si por pontes de hidrogênio, formando áreas cristalinas radialmente ordenadas (Figura 2). A amilose é formada por moléculas de glicose ($C_6H_{10}O_5$) unidas por ligações glicosídicas α -1,4, originando uma cadeia linear e massa molecular da ordem de 250kDa ($\cong$ 1500 unidades de glicose). Já a amilopectina se caracteriza por uma longa cadeia ramificada de glicose, sendo que a cada 30 ligações α -1,4 existe uma ligação α -1,6. Sua massa molecular é da ordem de 50.000 – 500.000kDa e o comprimento das ramificações é variável contendo entre 20 e 30 unidades de glicose (DENARDIN & SILVA, 2009).

O tamanho dos grânulos do amido de arroz é muito pequeno quando comparado com os de milho (15 μ m) e de trigo (30 μ m), variando de 3 a 5 μ m em formas poligonais irregulares. Sua estrutura apresenta formato dodecahedro pentagonal, contendo aglomerados com cerca de 20 a 60 grânulos individuais, onde os espaços entre eles são preenchidos por células do endosperma (JULIANO, 2003; CHAMPAGNE, 2004).

Figura 2 – (A) Estrutura da amilose (polímero linear composto por D-glicoses unidas em α -1,4); (B) Estrutura da amilopectina (polímero ramificado composto por D-glicoses unidas em α -1,4 e α -1,6).

Fonte: 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 ramificações 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).

Em solução aquosa, os grânulos tornam-se birrefringentes quando vistos microscopicamente sob luz polarizada, sendo que a refração pelas suas regiões cristalinas resulta na imagem típica de “Cruz de Malta”, o que caracteriza a orientação radial das macromoléculas. O centro ou “hilum” encontrado no meio da cruz (Figura 3) é considerado o ponto original de crescimento do grânulo (DENARDIN & SILVA, 2009).

Esta propriedade de birrefringência é devida ao alto grau de orientação molecular dentro do grânulo, não tendo relação com a forma cristalina em particular (VANDEPUTTE & DELCOUR, 2004; LAJOLO & MENEZES, 2006).

Figura 3 – Modelo da estrutura interna do grânulo de amido com visualização dos anéis de crescimento e centro ou hilum.

Fonte: DENARDIN & SILVA, 2009.

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 por isso essa característica é avaliada e valorizada no desenvolvimento de novas cultivares. Entretanto, outros fatores, como a estrutura das cadeias de amilopectina e o teor de proteína também influenciam na textura do grão (ONG & BLANSHARD, 1995).

A amilose pode estar presente sob a forma de complexos com lipídeos. Estes complexos, embora detectados no amido nativo, possivelmente sejam formados em maior extensão durante o tratamento hidrotérmico (VANDEPUTTE & DELCOUR, 2004).

Segundo Juliano (1993) o arroz, pode ser classificado quanto ao teor de amilose em ceroso ou glutinoso (1 a 2% de amilose), teor muito baixo de amilose (2 a 12%), baixo (12 a 20%), intermediário (20 a 25%) e alto (25 a 33%). Além dessas, existem cultivares de arroz mutante que apresentam teores de amilose na faixa de 35 a 40%, denominados “amilose extender” (ae) (NISHI et al., 2001; VANDEPUTTE & DELCOUR, 2004).

O arroz glutinoso é usado principalmente na fabricação de doces, alimentos infantis e cereais matinais, pois durante o cozimento não se expande permanecendo firme e pegajoso (GUIMARÃES, 1989).

O tipo não glutinoso constitui a maior parte do arroz consumido no mundo em forma de grãos. Cultivares 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 coreana. Os grãos com teores de amilose intermediários e altos, quando cozidos, ficam um pouco mais enxutos, soltos e macios e são os preferidos pelo consumidor brasileiro (GUIMARÃES, 1989).

No arroz, além das variações nas concentrações de amido são observadas diferenças na sua digestibilidade, influenciadas pela proporção amilose:amilopectina, processamento do grão, propriedades físico-químicas, tamanho do grão e presença de complexos lipídio-amilose (GODDARD *et al.*, 1984). Estas diferenças afetam significativamente algumas respostas metabólicas importantes no organismo.

Os polissacarídeos não digeridos pelas enzimas do trato gastrintestinal, 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 (Tabela 3).

A fibra alimentar exerce diferentes funções no organismo humano e pode ser classificada em solúvel e insolúvel. As fibras solúveis possuem capacidade de retenção de água e formação de géis que auxiliam no aumento do bolo fecal e na diminuição do trânsito intestinal, prevenindo a constipação. Já, as fibras insolúveis por não serem digeridas no intestino delgado, tornam-se disponíveis como substrato para fermentação colônica que resultam em gases (hidrogênio, metano e dióxido de carbono) e ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) voláteis, importantes para o metabolismo intestinal, podendo reduzir o risco de colite ulcerativa e câncer de colon (MARLETT *et al.*, 2002; LÓPEZ *et al.*, 1997).

Um componente presente na fração fibra alimentar que tem despertado interesse na literatura científica é o amido resistente que possui a funcionalidade de uma fibra insolúvel (SHAMAI, 2003).

Englyst & Cummings (1987) classificaram este amido como: amido resistente, tipo 1, fisicamente inacessível na matriz do alimento (AR₁); amido resistente, tipo 2, grânulos resistentes no interior da célula vegetal (AR₂); e amido resistente, tipo 3, retrogradado, após o alimento ter passado por processamento (AR₃). Embora os três tipos ocorram naturalmente na dieta humana, podendo coexistir em um mesmo alimento, o AR₃ é o mais comumente encontrado (LOBO & LEMOS SILVA, 2003).

No arroz, a concentração de amido resistente situa-se na faixa de 0,5 a 2% podendo ser maior no arroz parboilizado, pois dependendo das condições do tratamento hidrotérmico ocorrem modificações na estrutura físico-química dos constituintes do grão, que parecem proporcionar um aumento da fração não digerível de AR₃ (HELBIG *et al.*, 2007a).

Estudos mostram que o conteúdo de amilose, temperatura, forma física do grão, grau de gelatinização, resfriamento e armazenamento, afetam o conteúdo de AR₃ não só no arroz, mas também dos demais alimentos amiláceos processados (GARCÍA-ALONSO *et al.*, 1999, GOÑI *et al.*, 1996).

Estes indicativos sugerem que as quantidades de amido resistente nos alimentos podem ser altos conforme as técnicas de processamento empregadas influenciando a taxa e extensão da digestão do amido. Esta forma de manipulação poderia ser utilizada para obter alimentos diferenciados, agregando valor ao produto final (ENGLYST & HUDSON, 1996).

A taxa e extensão de digestão do amido no trato gastrointestinal são de grande importância, visto que podem afetar de forma significativa algumas respostas metabólicas, como os níveis de glicose e insulina.

Como dito anteriormente, o amido não é totalmente digerido e absorvido na mesma velocidade pelo intestino delgado, sendo que a fração não digerida passa pelo cólon onde é fermentada. Englyst *et al.* (1992) propuseram uma classificação nutricional do amido baseada na velocidade com que um alimento é digerido *in vitro*, distinguindo três tipos principais:

- Amido rapidamente digerido (ARD): apresenta uma rápida digestão no intestino delgado;
- Amido lentamente digerido (ALD): apresenta lenta, mas completa digestão no intestino delgado;
- Amido resistente: o qual não é digerido no intestino delgado, passando pelo intestino grosso, onde é fermentado (já definido anteriormente).

Segundo Englyst *et al.* (1999), dietas contendo altos teores de carboidratos rapidamente digeríveis, ou seja, que elevam rapidamente os níveis de glicose e insulina pós prandial podem ser prejudiciais à saúde. Com isso, o risco de doenças como obesidade, diabetes e distúrbios cardiovasculares é aumentado com o consumo de alimentos que produzem altos picos de liberação de glicose.

Muitos fatores podem influenciar a cinética da digestão e absorção do amido, entre eles, a quantidade de amido disponível, origem botânica, teores de amilose, amilopectina, interações amido-nutrientes, amido resistente, processamento do alimento (grau de gelatinização do amido, tamanho da partícula, forma do alimento, estrutura celular) e presença de outros componentes do alimento (lípidos e proteína, fibra alimentar, fatores anti-nutricionais, ácidos orgânicos) (BJÖRCK, 1996; FAO/WHO, 1998; LAJOLO *et al.*, 2001).

O índice de hidrólise (IH) é um método de triagem e estimativa do índice glicêmico (IG) de determinado alimento, baseado na hidrólise enzimática controlada do amido *in vitro* (CAPRILES *et al.*, 2009). A ingestão de diferentes tipos de amido resulta em variadas respostas glicêmicas, frequentemente expressas pelo índice glicêmico (IG) (JENKINS *et al.*, 1981; MENEZES *et al.*, 1996).

O índice glicêmico (IG) é um importante biomarcador que orienta sobre o aproveitamento biológico dos carboidratos. Após a ingestão de carboidratos, um achatamento da curva glicêmica pós-prandial pode ser benéfico sob o ponto de vista

nutricional, especialmente para indivíduos com restrições à glicose e outras desordens, como obesidade e diabetes. Para estes indivíduos a ingestão de alimentos que apresentem menor índice glicêmico pode ser interessante como tratamento dietético coadjuvante (WOLEVER *et al.*, 2006).

Existem cada vez mais evidências de que a grande variação nas respostas glicêmicas resultantes do consumo de arroz ocorrem, em parte, devido as variações nas propriedades físico-químicas das cultivares, mas também podem estar relacionadas ao tipo de processamento ao qual os grãos são submetidos (LARSEN *et al.*, 2000).

A literatura é unânime em afirmar que o arroz branco polido é um alimento altamente digerível, entretanto vários fatores como proporção amilose:amilopectina e o processamento, parecem afetar sua digestibilidade (BRAND-MILLER, *et al.*, 1992; FREI *et al.*, 2003). De uma maneira geral, acredita-se que a parboilização reduza a resposta glicêmica do arroz devido às mudanças físico-químicas nos grânulos de amido. Contudo, poucos estudos têm investigado este tópico e os resultados existentes não são uniformes, pois alguns autores reportam um decréscimo significativo no IG enquanto outros relatam não haver alterações com esse tipo de processamento. O Quadro 1 ilustra esta controvérsia em estudos realizados *in vivo* e *in vitro*.

Quadro 1 – Dados da literatura que descrevem o efeito da parboilização do arroz sobre o índice glicêmico.

Trabalhos	Nºamostras	Altera IG	Não altera IG
Wolever <i>et al</i> , 1986 (ensaio <i>in vivo</i>)	n=6	Diminui o IG Arroz não parboilizado IG=83 Arroz parboilizado IG=67	
Brand-Miller <i>et al</i> , 1992 (ensaio <i>in vivo</i>)	n=20	Aumenta o IG Arroz não parboilizado IG=76 Arroz parboilizado IG=87	
Casiraghi <i>et al</i> , 1993 (ensaios <i>in vivo</i> e <i>in vitro</i>)	n=3	Diminui o IG A dureza do grão parboilizado reduz a susctibilidade à hidrólise enzimática.	
Tetens <i>et al</i> , 1997 (ensaio <i>in vitro</i>)	n=22	Diminui o IG Dependendo da severidade do processo de parboilização (alta pressão e temperatura de secagem)	Não houve alteração no IG em amostras parboilizadas em condições brandas.
Larsen <i>et al</i> , 2000 (ensaio <i>in vivo</i>)	n=3	Diminui o IG Houve diminuição do IG em amostras que foram parboilizadas severamente (alta temperatura e pressão).	Não houve alteração no IG em amostras parboilizada em condições brandas.
Larsen <i>et al</i> , 1996 Korach-André <i>et al</i> , 2004 (ensaios <i>in vivo</i>)	n=4 n=8	Diminui o IG As amostras tinham alto teor de amilose. Alegam ter ocorrido interação amilose- lipídeos.	
Helbig <i>et al</i> , 2008 (ensaios <i>in vivo</i>)	n=3		Não houve alteração no IG em arroz parboilizado.

2.4.2 Proteínas

O teor protéico no arroz é considerado baixo, em média 7%, sendo as principais, as albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas. As duas primeiras possuem maior valor biológico, pois nelas encontram-se alguns aminoácidos essenciais, como triptofano e metionina. (COFFMAN & JULIANO, 1987).

No arroz, as proteínas estão organizadas em dois tipos de corpos protéicos do endosperma. Os corpos protéicos I são grandes estruturas esféricas, com anéis concêntricos, ricos em prolamina. Já os corpos protéicos II não apresentam a estrutura em anéis e são ricos em glutelina e globulina (ZHOU *et al.*, 2002).

No endosperma, a glutelina corresponde a aproximadamente 80% das proteínas totais, com menor contribuição de albumina e globulina (15%) e prolamina (5-8%). Já o farelo apresenta aproximadamente 60% de albumina, seguido por prolamina e glutelina (27%) e globulina (7%) (JULIANO, 1993). Portanto, a composição em proteínas do endosperma difere do farelo.

Além dos aminoácidos protéicos, o arroz também apresenta pequena quantidade de aminoácidos livres, localizados principalmente no gérmen (0,60%) e no farelo (0,36%), com pequena concentração no endosperma (0,05%). Entre os aminoácidos livres, predominam o aspartato e o glutamato, que correspondem a aproximadamente 60% do total (SAIKUSA *et al.*, 1994).

2.4.3 Minerais e vitaminas

As vitaminas e os minerais estão presentes no grão de arroz principalmente nas camadas externas do grão. Os principais minerais encontrados são o fósforo, o potássio e o magnésio em maiores concentrações e o ferro, o zinco, o cobre, o sódio, o cálcio e o manganês em menores quantidades. Já as vitaminas estão presentes em maiores quantidades as do complexo B e α -tocoferol (vitamina E) e concentrações insignificantes das vitaminas A, D e C. A (JULIANO & BECHTEL, 1985, HEINEMANN *et al.*, 2005).

O conteúdo desses micronutrientes é influenciado pelas condições de cultivo, fertilização, condições do solo, e processamento. Embora o arroz integral tenha maior concentração de vitaminas e minerais do que o polido, isso não significa necessariamente maior absorção pelo organismo, visto que a biodisponibilidade pode ser afetada pela presença de maiores teores de fibra e ácido fítico no arroz integral (JULIANO, 1993).

Na etapa de encharcamento durante a parboilização, observa-se aumento no conteúdo de minerais e vitaminas (principalmente do complexo B) em relação ao

arroz polido (Tabela 3), devido à migração desses micronutrientes das camadas externas do grão para o endosperma (JULIANO, 1993, HEINEMANN *et al.*, 2005).

2.4.4 Lipídeos

O grão de arroz tem um conteúdo de lipídeos relativamente baixo. A maior parte está concentrada no pericarpo, no embrião e na aleurona, podendo constituir cerca de 20% da massa seca do farelo de arroz (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 (Tabela 3).

Quimicamente, os lipídeos do arroz são classificados em saponificáveis (triacilgliceróis, diacilgliceróis, monoacilgliceróis, ácidos graxos livres e ceras) e insaponificáveis (fitoesteróis, álcoois triterpênicos, ésteres de ácido ferúlico (γ -orizanol), homólogos da vitamina E (tocoferóis, tocotrienóis), distribuídos de forma heterogênea no grão. Dentre os ácidos graxos, destacam-se o palmítico (21-26%), linoléico (31-33%) e oléico (37-42%) (QURESHI *et al.*, 1997).

As substâncias que compõem a fração insaponificável são conhecidas por serem consideradas substâncias bioativas aos quais se atribuem efeitos benéficos à saúde (LLOYD *et al.*, 2000; ROHRER & SIEBENMORGEN, 2004). Dentre estas as mais estudadas no arroz são: γ -orizanol, vitamina E e compostos fenólicos.

2.4.5 γ -orizanol e vitamina E

O γ -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 não é uma substância simples, e sim uma mistura de ácidos ferúlicos esterificados com esteróis ou álcoois triterpênicos, chamados de α , β e γ -orizanol (SCAVARIELLO & ARELLANO, 1998). Destes, o γ -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 γ -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 β -sitoesteril ferulato (Figura 4) (XU & GODBER, 1999; MILLER *et al.*, 2003; IMSANGUAN *et al.*, 2008).

Figura 4 – Estrutura dos componentes majoritários do γ -orizanol.

Fonte: Adaptado de IMSANGUAN *et al.*, 2008.

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

Alguns componentes do γ -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).

Os mecanismos de ação do γ -orizanol no organismo humano não estão totalmente elucidados, mas há muitos estudos na literatura científica que descrevem a ação hipocolesterolêmica e a atividade antioxidante deste composto. Além disso, a concentração de cada componente do γ -orizanol isoladamente parece influenciar na intensidade da ação bioativa (NAKAYAMA *et al.*, 1987; MILLER & ENGEL, 2006).

A redução dos níveis de colesterol pela ingestão de γ -orizanol parece ser devido à semelhança estrutural com a do colesterol (Figura 5). Desta forma, o organismo entenderia a presença do γ -orizanol como sendo colesterol, reduzindo a sua síntese (SCAVARIELLO & ARELLANO, 1998). A elevada ação antioxidante do γ -orizanol também poderia ser responsável, ao menos potencialmente na inibição da oxidação do colesterol pelos principais componentes do γ -orizanol, embora em grau variável (XU *et al.*, 2001).

Colesterol

Figura 5 – Estrutura química do colesterol.

Fonte: SCAVARIELLO & ARELLANO, 1998.

O 24-metileno cicloartanil ferulato e o cicloartenil ferulato, parecem exercer principalmente função antioxidante, enquanto o campesterol ferulato e o β -sitosteril ferulato agem mais na diminuição da síntese do colesterol (KIKUZAKI *et al.*, 2002; BERGER *et al.*, 2005).

Recentemente, um estudo sobre a ação hipocolesterolêmica do γ -orizanol foi realizado em camundongos submetidos a uma dieta hiperlipídica por 7 semanas. Os animais alimentados com ração adicionado de 0,5% γ -orizanol não apresentaram aumento nos níveis de colesterol total plasmático e hepático em relação ao grupo controle (sem adição de gordura e γ -orizanol), porém houve um incremento significativo do colesterol plasmático HDL. Com isso, aparentemente o γ -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 observado 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 há relatos sobre efeitos do γ -orizanol na síntese de colesterol. Em pacientes hipercolesterolêmicos e hiperlipidêmicos foram administrados 300mg γ -orizanol/dia e foi observada diminuição no colesterol plasmático total e no LDL em ambos os casos, enquanto um relevante aumento no HDL foi constatado apenas no grupo de pacientes hipercolesterolêmicos (CICERO & GADDI, 2001).

Outras pesquisas ainda sugerem que o γ -orizanol possua importante ação na inibição do aparecimento de tumores, sugerindo uma ação quimiopreventiva (XU *et al.*, 2001; XU & GODBER, 2001), ação antiinflamatória, possíveis efeitos antialérgicos (OKA *et al.*, 2010), bem como na prevenção de doenças crônicas, como a doença de Alzheimer (MAMIYA *et al.*, 2004), embora os mecanismos envolvidos ainda não estejam totalmente elucidados.

Uma ação antiinflamatória do γ -orizanol foi constatada na inibição de reações inflamatórias de colite grave, em camundongos, com uma dieta contendo 100mg/dia de γ -orizanol por um período de 18 dias. Os autores prepuseram a utilização deste composto como agente preventivo e/ou terapia contra doenças inflamatórias no sistema gastrointestinal (ISLAM *et al.*, 2008).

Alguns ensaios laboratoriais relacionados à atividade antioxidante do γ -orizanol foram testados demonstrando exercer uma atividade antioxidante maior ou menor em relação a outros antioxidantes sintéticos consagrados pelo uso. Um sistema emulsionado de 200ppm de γ -orizanol foram mais eficientes que a mesma concentração de TBHQ, BHT e BHA na prevenção da formação de hidroperóxidos (KIM *et al.* 2002). No entanto, utilizando o modelo de oxidação do ácido linoléico, o γ -orizanol apresentou menor potencial antioxidante na prevenção de formação de hidroperóxidos que o α -tocoferol e o ácido ferúlico (XU & GODBER, 2001). Já em um estudo subsequente empregando um modelo de oxidação acelerada do colesterol, os componentes do γ -orizanol exerceram uma proteção maior na

prevenção da oxidação do colesterol que os componentes da vitamina E (XU *et al.*, 2001).

Em outro ensaio, aplicou-se uma solução de 100ppm de γ -orizanol na superfície de bifes submetidos à estocagem e foi observado aumento na estabilidade oxidativa com o armazenamento (KIM *et al.*, 2003). A adição de 0,1% de γ -orizanol foi suficiente para inibir a oxidação de leite em pó integral após concentração e secagem, sem afetar suas características sensoriais (NANUA *et al.*, 2000).

O γ -orizanol também já foi utilizado como suplemento alimentar por esportistas. No entanto, em testes da efetividade na suplementação oral (500mg γ -orizanol /dia) não foram observadas diferenças significativas nos níveis de hormônio circulantes (testosterona, cortisol, estradiol, GH, insulina, beta-endorfina), minerais (cálcio e magnésio), albumina ou lipídeos sanguíneos por esportistas que fizeram uso desse suplemento (FRY *et al.*, 1997).

Com relação à vitamina E, também presente na fração insaponificável dos lipídeos no arroz, os principais homólogos encontrados são α -, β -, γ - e δ -tocoferol e α -, β -, γ - e δ -tocotrienol (Figura 6). Todos os componentes da vitamina E são classificados conforme o número e posição dos grupos metil ligados ao anel aromático (RYYNANEN *et al.*, 2004; BERGMANN & XU, 2003).

No arroz integral o conteúdo de tocóis é de 10 a 50mg/kg enquanto no óleo de farelo de arroz os teores são maiores na faixa de 196 a 219mg/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 *et al.*, 2000).

Os homólogos da vitamina E em cereais tem demonstrado que além do efeito vitamínico apresentam elevada atividade antioxidante podendo desempenhar papel importante reduzindo o risco de doenças crônico-degenerativas, doenças cardiovasculares e aparecimento de tumores (THERIAULT, *et al.*, 1999; BRAMLEY *et al.*, 2000; QURESHI *et al.*, 2001).

Alguns dados da literatura 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 *et al.*, 2001).

Figura 6 – Estrutura dos isômeros do tocoferol e tocotrienol.

Fonte: QURESHI *et al.*, 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 α-tocoferol que ativa a transcrição da enzima, causando o efeito contrário (CÍCERO *et al.*, 2001).

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

2.4.6 Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários e constituem a maior classe de fitoquímicos do reino vegetal. Caracterizam-se por possuírem um ou mais anéis aromáticos e ao menos uma hidroxila. Geralmente são subdivididos em ácidos fenólicos, flavonóides, estilbenos, cumarinas e taninos. No arroz integral os principais compostos fenólicos pertencem ao grupo dos ácidos fenólicos e dos flavonóides (ADOM & LIU, 2002).

Estes compostos podem ser solúveis, compartimentalizados nos vacúolos celulares, ou insolúveis ligados covalentemente a estruturas da parede celular (NACZK & SHAHIDI, 2004). Podem ainda estar na forma livre, conjugada e ligada. Os fenólicos conjugados e ligados são os mais abundantes e representam respectivamente, 60 e 40% dos fenólicos totais do arroz (Adom & Liu, 2002; Mira et al., 2009).

O estudo desses compostos quanto a sua biodisponibilidade e efeitos fisiológicos é bem complexo devido à grande diversidade estrutural existentes entre eles.

No entanto, potenciais efeitos biológicos benéficos para a saúde humana vêm sendo atribuídos aos compostos fenólicos relacionados às suas propriedades antioxidante, antiinflamatória, antimutagênica e anticarcinogênica, além da habilidade de modular algumas atividades enzimáticas (LIU, 2004; CHUN *et al.*, 2005; SOOBRATTEE *et al.*, 2005).

Em estudo realizado em nosso laboratório, a contribuição dos fenólicos ligados em análise de dez diferentes genótipos de arroz não pigmentado produzidos no Brasil foi de 47% em média, com uma variação entre 28,5-65,8% do total (Mira et al., 2009).

Estudos *in vitro* atestam forte atividade antioxidante aos alimentos ricos em compostos fenólicos, sendo hábeis no sequestro de substâncias reativas do oxigênio. O número de estudos que são realizados para determinar o papel destes antioxidantes, presentes em chás, frutos e vegetais e também os presentes em cereais integrais, na patogênese de várias doenças degenerativas vêm crescendo (Ross & Kasum, 2002; Liu, 2004; Prior *et al.*, 2005; Chun *et al.*, 2005; Soobrattee *et al.*, 2005; Halliwell *et al.*, 2005). No arroz, maior atividade antioxidante é observada

nos grãos integrais e naqueles co pericarpo vermelho e preto, devido à maior concentração de polifenóis (NAM *et al.*, 2005)

2.4.7 Ácido fítico

O ácido fítico (mioinositol hexafosfato, IP6) é uma forma de armazenamento de fósforo, constituindo aproximadamente 70% do conteúdo desse mineral em sementes. Ele pode ser encontrado na forma de fitato, ligado a cátions como potássio, magnésio, cálcio, ferro e zinco (LIU *et al.*, 2005). O teor é maior nas camadas externas do grão (aproximadamente 88%), estando associado principalmente à camada de aleurona. Dessa forma, o polimento resulta em redução significativa da sua concentração, como observado por Hunt *et al.* (2002), que obtiveram 0,065% de ácido fítico para o arroz branco polido, comparado a 0,78% para o arroz integral. Também são observadas diferenças genotípicas na sua concentração (LIU *et al.*, 2005).

Devido a sua capacidade quelante, historicamente o ácido fítico tem sido considerado um composto com ação prejudicial à nutrição, contribuindo para a menor absorção de vários minerais importantes, como cálcio, ferro e zinco, podendo provocar deficiências (HURRELL *et al.*, 2003). Entretanto, pesquisas têm demonstrado que esse composto pode auxiliar na manutenção da saúde. Devido a sua capacidade de quelar ferro, o qual participa de reações oxidantes, ele apresenta efeito antioxidante (GRAF & EATON, 1990). O ácido fítico também tem sido relacionado à redução nos riscos de desenvolvimento de diferentes tipos de câncer devido a sua ação antioxidante, redução da proliferação celular (GRAF & EATON, 1990), indução à diferenciação celular (SHAMSUDDIN *et al.*, 1997) e à apoptose (VERGHESE *et al.*, 2006). Lee *et al.* (2005) e Lee *et al.* (2006) relatam também a redução de lipídios no soro e no fígado e dos níveis sanguíneos de glicose em ratos diabéticos, podendo assim auxiliar no controle do diabetes.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o valor nutricional do arroz integral em termos da disponibilidade do amido e da estabilidade dos compostos bioativos.

3.2 Específicos

- Avaliar os efeitos da parboilização sobre a disponibilidade do amido por meio da cinética de hidrólise do amido estimando o índice glicêmico (IG) em cultivares de arroz integral com diferentes teores de amilose;
- Analisar os efeitos da parboilização, do armazenamento por seis meses e da cocção caseira do arroz integral sobre a estabilidade dos compostos bioativos;
- Correlacionar os compostos bioativos com a atividade antioxidante do arroz, antes e após o processamento.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Arroz

4.1.1 Amostras de arroz integral para o estudo da disponibilidade do amido

No estudo da disponibilidade do amido foram utilizadas amostras de nove cultivares de arroz da subespécies *indica* e *japonica*, da safra 2007, fornecidas pelo IRGA (Instituto Rio Grandense do Arroz) ainda em casca. As cultivares da subespécie *indica* foram Irga 410, Irga 417, Irga 418, Irga 422 e Irga 424, classificados como grãos longos. Da subespécie *japonica* foram estudadas as cultivares, Carnaroli, da classe de grãos longos, Formosa, da classe de grãos médios, e as cultivares Sasanishiki e Koshihikari, ambas da classe de grãos curtos. Estas amostras foram analisadas quanto aos teores de amilose e classificadas em: teor alto (superior a 25%), intermediário (de 20% a 25%), baixo (12% a 20%) e muito baixo (2 a 12%), seguindo a recomendação de Juliano (1993).

4.1.2 Amostras de arroz integral para o estudo dos compostos bioativos

Um segundo lote de amostras de arroz integral da safra de 2008 foi fornecido pela Estação Experimental de Itajaí/SC (EPAGRI), pertencentes a três cultivares (SCS 114 Andosam, SCSBRS Tio Taka e Epagri 109) da subespécie *indica*, da classe de grãos longo-finos. Estas três cultivares foram produzidas simultaneamente em três localidades do Estado de Santa Catarina, por três produtores, totalizando 27 amostras.

As coordenadas geográficas das regiões onde o arroz foi plantado em sistema irrigado foram: Litoral Sul (latitude: 29°S; longitude: 49°30"W), Alto Vale do Itajaí (latitude: 27°S; longitude: 49°30"W) e Litoral Norte (latitude: 26°S; longitude: 49°W). Enquanto a região Sul e Litoral Norte estão na faixa litorânea (altitude média de 2 a 50 metros), o Alto Vale do Itajaí está numa altitude de 300 metros.

As diferenças entre as regiões estudadas são edafoclimáticas, ou seja, apresentam diferenças em tipos de solo e variações climáticas, principalmente temperatura e altitude. O mapa do Estado de Santa Catarina, bem como a descrição completa das coordenadas geográficas e das condições climáticas, encontram-se no Apêndice A.

O delineamento experimental foi de blocos ao acaso com três repetições, elaborado em colaboração com a Epagri, Estação Experimental de Itajaí/SC, conforme descrito na Tabela 4.

Tabela 4 - Delineamento de coleta de arroz integral das cultivares Epagri 109, SCSBRS Tio Taka e SCS 114 Andosam em três regiões de Santa Catarina.

Região de produção	Cultivares	Produtor/Lote
Litoral Sul	SCS 114 Andosam	Alberto Giusti/lote 23
	SCS 114 Andosam	**/lote 159
	SCS 114 Andosam	**/lote 155
	SCSBRS Tio Taka	Alberto Giusti/lote 132
	SCSBRS Tio Taka	**/lote 146
	SCSBRS Tio Taka	**/lote 151
	Epagri 109	Alberto Giusti/lote 26
	Epagri 109	Josemir Fernandes/lote 1
	Epagri 109	Ricardo Tonetto/lote 32
Alto Vale do Itajaí	SCS 114 Andosam	AntonioF. Venturi/lote 21
	SCS 114 Andosam	Veronil Prada/ lote10
	SCS 114 Andosam	Valmir da Silva/lote 7
	SCSBRS Tio Taka	Silvério Tomazeli/lote 526
	SCSBRS Tio Taka	Ivaor Venturi/ lote 43
	SCSBRS Tio Taka	Veronil Prada/ lote 520
	Epagri 109	João Prada/ lote 70
	Epagri 109	Otávio da Silva/ lote 65
	Epagri 109	Miguel Venturi/ lote 55
Litoral Norte	SCS 114 Andosam	Evair Belegante/ lote 54
	SCS 114 Andosam	Wilmar Voigt/ lote 78
	SCS 114 Andosam	João Feldmann/ lote 88
	SCSBRS Tio Taka	Geomar Rausisse/ lote 82
	SCSBRS Tio Taka	Ivo Voigt/ lote 74
	SCSBRS Tio Taka	Gilmar Jacobi/ lote 72
	Epagri 109	Antenor Borgonha/ lote 56
	Epagri 109	Acyr Tassi/ lote 20
	Epagri 109	Jorge Feldmann/ lote 26

** Não foi possível identificar o produtor

Todas as amostras descritas na Tabela 4 foram analisadas quanto aos teores de γ -orizanol, vitamina E e atividade antioxidante.

4.1.3 Amostras de arroz comercial para comparação dos resultados obtidos e para o estudo do efeito da cocção nos compostos bioativos

Amostras de três marcas e de produtores diferentes de arroz comercial da classe longo fino, do tipo 1 e com prazo de validade entre setembro e outubro de 2010 foram adquiridas no comércio de São Paulo beneficiados de três formas: integral, parboilizado integral e polido. Todas foram cultivadas em sistema irrigado, na região Sul do estado do Rio Grande do Sul,

Estas amostras foram utilizadas nos ensaios da disponibilidade do amido e na análise do efeito da cocção sobre os compostos bioativos.

4.1.4 Parboilização do arroz

A parboilização do primeiro lote de arroz foi realizado em escala piloto no laboratório de grãos da Universidade Federal de Pelotas, RS (UFPeI), de acordo com a metodologia desenvolvida pelo próprio laboratório e descrita por ELIAS, 1998.

Foram efetuados testes prévios para determinar o tempo de encharcamento de cada cultivar por meio da construção de isotermas de hidratação. A partir de 25 kg de arroz em casca, de cada uma das cultivares, foram pesadas 14 alíquotas de 50g, acondicionadas em saquinhos de filó e colocadas em recipientes de alumínio com água na proporção 1:1,5 (p/v) nas temperaturas de $63\pm 2^{\circ}\text{C}$, para o arroz da subespécie *indica*, e de $70\pm 2^{\circ}\text{C}$ para a subespécie *japonica*. Os recipientes de alumínio foram colocados em tanques de encharcamento com temperatura termatizada (Figuras 7 A e 7 B).

A cada 30 minutos era retirada uma alíquota, até completar 7horas. O excesso de água foi escorrido e cada amostra centrifugada durante 2 minutos a 1000xg. Calculou-se a absorção de água para cada tempo. O tempo ideal de encharcamento de cada cultivar é aquele em que os grãos absorvem 30% de umidade para garantir a completa gelatinização do amido e manutenção da estrutura do grão, sem romper a cariopse (Figuras 7 C e 7 D).

Figura 7 – Etapas de operação para construção de isotermas de adsorção de água das amostras de arroz: (A) e (B) = amostras de 50 g arroz durante a fase de encharcamento; (C) = remoção do excesso de água sob peneira; (D) centrifugação.

A escolha das temperaturas da água de imersão para o encharcamento dos grãos, de 63°C para a subespécie *indica* e de 70°C para a *japonica*, foi feita com base nos estudos de Helbig *et al.*, 2007b, onde os autores explicam que nestas temperaturas ocorre uma absorção de água lenta e uniforme com manutenção da integridade do grão e com ótimo rendimento industrial.

Nas condições empregadas, os tempos de encharcamento variaram entre 5 e 6,5h, dependendo do comportamento de adsorção de água de cada cultivar, conforme isotermas apresentadas no Apêndice B.

Estabelecidas as condições ideais de encharcamento, aproximadamente 4 kg de arroz em casca de cada cultivar foram parboilizadas empregando temperatura de autoclave 110°C e pressão de 0,5 atm., durante 10 minutos. Posteriormente os grãos foram secos em esteira com circulação forçada de ar aquecido ($\pm 40^\circ\text{C}$), até atingir umidade de aproximadamente 13%.

As amostras foram descascadas em engenho de provas Zaccaria, modelo PAZ-1DTA, previamente regulado para as dimensões dos grãos de cada cultivar, conforme procedimento preconizado pelo próprio laboratório de grãos da UFPel

(ELIAS, 1998), e armazenadas em câmara fria a 4°C com circulação forçada de ar. Amostras de arroz não parboilizadas de cada cultivar também foram descascadas e armazenadas à vácuo em câmara fria para serem usadas nas análises como comparação.

Todas as cultivares foram embaladas e identificadas em sacos plásticos para envio ao laboratório do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da FCF/USP.

As amostras do segundo lote foram parboilizadas na EPAGRI em escala laboratorial em condições semelhantes às empregadas no primeiro lote: encharcamento dos grãos de arroz em casca com água a 65°C, durante 6 horas, seguido de autoclavagem a 110°C, com pressão de 0,5 atm por 7 minutos e posterior secagem em estufa a 95°C por 24 horas (condições normalmente utilizadas atualmente nas indústrias). Após 48 horas da secagem, os grãos foram descascados em engenho de provas da marca SUZUKI, embalados e identificados para envio imediato ao laboratório do Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da FCF/USP.

Até o momento das análises, os dois lotes foram armazenados em câmara fria a 5°C.

4.1.5 Preparo das amostras

Imediatamente antes das análises químicas, cerca de 50g de cada uma das amostras foi moída em moinho analítico (Analytical Mill A10, Kinematica GAC, Luzern, Switzerland) e peneirada em tamis com malha de 80 mesh (< 0,177mm) originando a farinha de arroz.

As amostras destinadas à quantificação de amilose foram previamente desengorduradas em extrator de Soxhlet com éter etílico por 18h, conforme descrito no método da AOAC (1995).

Cerca de 50g de cada cultivar de arroz integral e parboilizado integral, pertencentes ao segundo lote, foram separadas e armazenadas a temperatura ambiente, em potes plásticos fechados, por um período de 6 meses. Estas amostras foram analisadas no estudo da estabilidade dos compostos bioativos do arroz durante a estocagem.

As amostras de arroz comercial foram analisadas imediatamente após a aquisição, porém parte de cada amostra foi cozida utilizando-se ao redor de 30g de arroz e 120mL de água, mantendo sempre uma proporção arroz:água de 1:4 (p/v). O cozimento foi realizado em béquer, semi-tampado com vidro relógio por 30 minutos, até a secagem da água, mimetizando condições caseiras. O arroz cozido foi congelado, liofilizado, moído e tamisado.

4.2 Análises químicas

Todas as análises químicas foram realizadas em triplicata genuínas e os resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão.

4.2.1 Teor de Umidade

A umidade foi determinada por secagem em estufa a 105°C até peso constante, de acordo com método descrito pela AOAC (1995), para que os resultados pudessem ser expressos em base seca, facilitando a comparação com a literatura.

4.2.2 Teor de amilose

O teor de amilose foi determinado colorimetricamente com base na ISO (International Organization for Standardization) CD:6647, (1987), utilizando como padrão amilose de batata (Sigma A-0512) e amilopectina (Sigma A-8515).

Todas as amostras foram previamente desengorduradas, visando evitar interferência da gordura na interação iodo-amilose.

Cerca de 150mg de arroz finamente pulverizado e desengordurado foram transferidos para tubos de ensaio de 25mL, acrescentados de 1mL de etanol (95%) e 9mL de NaOH 1M. Estes tubos foram colocados em banho-maria fervente por 10 minutos e, em seguida, resfriados em banho de gelo. O conteúdo dos tubos foi transferido quantitativamente para balão volumétrico de 100mL e o volume aferido com água destilada. De cada balão, foi retirada uma alíquota de 18mL e misturada a 2mL de NaOH 0,09M em tubos de ensaio. Após agitação, 5mL foram transferidos

para balão volumétrico de 100mL contendo 20mL de água destilada com 1mL de ácido acético 1M. Os balões foram agitados e protegidos da luz. A eles adicionou-se 2mL de solução de iodo-iodeto (I_2 10mM e KI 14mM) recém preparada, completando o volume de cada balão volumétrico com água destilada. Após 20 minutos de reação a absorbância foi lida em espectrofotômetro da marca Shimadzu UV-1650PC, em 620nm contra um branco contendo ácido acético, solução iodo-iodeto e água destilada na proporção 1:2:97 (v/v).

A construção da curva padrão foi realizada com uma mistura de amilose/amilopectina nas concentrações 0/0,9; 0,1/0,8; 0,2/0,7; 0,3/0,6 e 0,4/0,5mg/mL, respectivamente, contendo ácido acético, solução KI/ I_2 e água destilada na proporção 2,2:97,8 (v/v).

4.2.3 Teor de amido total (AT)

O teor de amido total foi determinado enzimaticamente pelo método proposto por Goñi *et al.*(1997), com modificações propostas por Rosin *et al.*(2002).

Cerca de 30mg de farinha de arroz foram transferidos para tubos de centrífuga de 50mL com tampa, homogeneizadas vigorosamente em agitador tipo “vortex” e adicionados lentamente 6mL de KOH 2,0M por um período de tempo de no máximo 2 minutos. Os tubos foram mantidos sob agitação constante e suave à temperatura ambiente por 30 minutos. Em seguida, as amostras foram incubadas a 60°C por 45 minutos com 3mL de tampão acetato 0,4M pH 4,75 contendo 20mM de $CaCl_2$ e 60μL amiloglicosidase (Sigma A-7255, 140U/mL), para a hidrólise do amido. Posteriormente, os tubos foram centrifugados a 2000xg por 15 minutos e coletados os sobrenadantes. Os resíduos foram lavados duas vezes com 10mL de água destilada, centrifugados, os sobrenadantes combinados foram transferidos para balão volumétrico de 50mL e o volume ajustado com água destilada.

O teor de glicose liberado foi quantificado por método enzimático (glicose oxidase/peroxidase/ABTS), utilizando-se o kit da marca BIOCLIN Diagnóstica®. O amido total foi calculado como a porcentagem de glicose livre x 0,9, utilizando amido de batata (Sigma S-2630) como padrão e “testemunha” da reação em cada determinação.

4.2.4 Teor de amido resistente (AR)

O teor de amido resistente foi determinado usando metodologia padronizada pela AOAC 2002.02 *apud* McCleary & Monaghan (2002), com modificações sugeridas por Tribess *et al.* (2009). O princípio deste método baseia-se na hidrólise enzimática do amido, simulando a hidrólise que ocorre no trato digestório.

Aproximadamente 100mg de farinha de arroz foram pesadas em triplicata em tubos de centrífuga de 50mL com tampa. As amostras foram lavadas duas vezes com 8mL etanol 80%, centrifugadas a 2000xg por 15 minutos e os sobrenadantes descartados. Os resíduos foram tratados com 10mL de tampão cloreto de potássio/HCl 0,1M (pH 1,5) contendo 0,1mL de solução de pepsina 300mg/mL (Sigma P-7000) e incubados em banho-maria a 40°C por 1 hora sob agitação. Os tubos foram centrifugados a 2000xg por 15 minutos e os sobrenadantes descartados. Aos resíduos adicionou-se 4mL de tampão trismaleato/NaOH 0,1M (pH 6,0) contendo 1mM CaCl₂, 0,02% azida sódica, 4U/mL de amiloglicosidase (Sigma A-7095) e 300U/mL de α -amilase (Sigma A-3176). Os tubos foram tampados, agitados em agitador tipo vortex e colocados em banho-maria a 37°C por 16 horas com agitação contínua.

Após este período, a reação foi interrompida esfriando os tubos em banho de gelo, adicionando-se em seguida 8mL de etanol 99%. Após centrifugação a 2000xg por 15 minutos, o sobrenadante foi descartado. Este procedimento de suspensão e centrifugação foi repetido mais duas vezes, porém com etanol 50%. Os tubos contendo os resíduos não hidrolisados enzimaticamente foram acondicionando em banho de gelo e adicionou-se 3mL de KOH 2M e agitando-se o conteúdo por exatos 20 minutos. Após este período, adicionou-se 10mL de tampão acetato de sódio 1,2M (pH 3,8) e 0,1mL amiloglicosidase 300U/mL (Sigma A-7095). O pH das amostras foi ajustado para a faixa de 4,7 a 5,0. Finalmente, os tubos foram fechados com tampa de rosca e incubados em banho com agitação a 50°C por 30 minutos.

Após esta incubação, os tubos foram centrifugados e os sobrenadantes transferidos para balões volumétricos de 25mL, completando o volume com água destilada. O teor de glicose nessa solução foi determinado pelo método enzimático (glicose oxidase/peroxidase/ABTS), utilizando-se o kit da marca BIOCLIN Diagnóstica®.

O teor de amido resistente foi calculado como a porcentagem de glicose livre x 0,9, utilizando em cada determinação, como “testemunha”, o feijão cozido e liofilizado, com concentração conhecida pela literatura (%AR do feijão cozido = $\pm 7,0\%$ (ROSIN *et al.*, 2002; CARREIRA *et al.*, 2004)

4.2.5 Teor de amido disponível (AD)

O amido disponível foi calculado pela diferença entre os teores de amido total e de amido resistente.

4.2.6 Índice de hidrólise do amido de arroz cozido *in vitro* (IH)

O índice de hidrólise do amido de arroz *in vitro* foi calculado após determinação da velocidade de digestão do amido, seguindo o método proposto por Goñi *et al.* (1997), com adaptações sugeridas por Hu *et al.* (2004).

Aproximadamente, 50mg de arroz (3-4 grãos), em triplicata, foram cozidas em tubos de vidro com 2,5cm de diâmetro e 25cm de altura, com 30mL de água destilada até a secagem da água de cozimento ($\cong 1h$). As análises foram realizadas imediatamente após o cozimento para que não ocorresse a retrogradação do amido.

A amostra cozida foi transferida para tubo de centrífuga de 50mL com tampa com o auxílio de 10mL de tampão KCl/HCl 0,1M (pH 1,5). Em seguida, adicionou-se 0,1mL solução de pepsina 300mg/mL (Sigma P-7000) e os tubos incubados em banho a 40°C com agitação por 1 hora. Após esse período, adicionou-se 15mL de tampão trismaleato 0,1M (pH 6,9) e o pH foi ajustado para 6,0. Os tubos foram agitados e levados ao banho com agitação a 37°C.

Adicionou-se 1mL de solução de α -amilase (Sigma A-3176) 40mg/mL preparada com tampão trismaleato. Alíquotas de 100 μ L eram retiradas após 20, 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos. Cada alíquota foi acondicionada em tubo plástico, com capacidade de 2mL e colocado em banho fervente por 5 minutos, para interromper a reação, e em seguida mantido refrigerado até o final da incubação.

Posteriormente, foi adicionado a cada tubo 1mL de tampão acetato de sódio 0,4M (pH 4,75) e 30 μ L de amiloglicosidase 140U/mL (Sigma A-7095). O tubo foi mantido em banho com agitação a 60°C por 45 minutos. O volume foi ajustado para

5mL em balão volumétrico com água destilada e o teor de glicose determinado pelo método enzimático (glicose oxidase/peroxidase/ABTS), conforme o item 4.6.3. A porcentagem de amido hidrolisado em cada período de tempo foi calculada a partir da porcentagem de glicose liberada, multiplicada por 0,9.

O índice de hidrólise do amido (IH) foi calculado por meio da relação entre a área debaixo da curva, entre o tempo 0 – 180 minutos de hidrólise, das amostras de arroz e a área correspondente do alimento referência (pão de forma branco), expresso em porcentagem (Figura 8). O pão de forma branco foi considerado o alimento referência com valor de IH = 100%.

$$\% \text{ IH} = \frac{\text{Área debaixo da curva de hidrólise da amostra de arroz (0-180 min.)}}{\text{Área debaixo da curva de hidrólise do pão de forma branco (0-180 min.)}} \times 100$$

Figura 8 – Curva representativa da velocidade de hidrólise do amido da amostra de arroz em relação ao pão de forma branco (alimento referência).

4.2.7 Extração do γ -orizanol e da vitamina E

A extração dos compostos bioativos das amostras de arroz integral e parboilizado integral (2º lote) foi realizada conforme método descrito por Aguilar-Garcia *et al.* (2007), com adaptações. Partiu-se de 2g de farinha de arroz e adicionou-se 20mL de metanol grau HPLC. A suspensão foi fortemente agitada por 2

minutos em agitador tipo vortex, seguida de centrifugação a 4500xg por 10 minutos. O sobrenadante foi transferido para balão de 250mL e o precipitado lavado por mais duas vezes com 10mL de metanol, seguindo o mesmo procedimento descrito anteriormente. Os sobrenadantes foram combinados e concentrados em rotaevaporador até secura. Em seguida, o resíduo foi ressuspenso em metanol ajustando-se o volume em balão volumétrico de 5 e 3mL para as amostras de arroz integral e parboilizado integral, respectivamente. Posteriormente, as soluções foram filtradas em membrana de 0,22 μ m (PTFE – Millipore) para análise dos homólogos da vitamina E e do γ -orizanol por cromatografia de alta eficiência (CLAE). Todas as extrações foram realizadas em triplicata genuínas.

4.2.8 Análise da vitamina E e γ -orizanol por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Os extratos metanólicos contendo os homólogos da vitamina E e γ -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 250mm, 5 μ m, Phenomenex, Torrance, CA), fluxo de 1 mL/min, volume de injeção de 50 μ L, com gradiente. A fase móvel consistia inicialmente de acetonitrila, metanol e isopropanol na proporção 45:45:10. Esta condição foi mantida durante 6 minutos; em seguida e até os 16 minutos mudada linearmente para proporção acetonitrila:metanol:isopropanol, na razão de 25:70:5 (v/v). Esta proporção foi mantida por 12 minutos, retornando após esse período à condição inicial.

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

4.2.9 Preparo dos padrões, curva de calibração e quantificação dos tocóis, tocotrienóis e γ -orizanol

Soluções estoque dos padrões de α - e γ -tocotrienol, α - e γ -tocoferol (Sigma T0452, T0702, T3251 e T1782) foram preparados em hexano, grau HPLC, nas concentrações 2,5mg/mL, 5,0mg/mL, 5,0mg/mL e 10mg/mL, respectivamente. Alíquotas entre 50-100 μ L foram diluídas em etanol grau HPLC para quantificação espectrofotométrica da concentração de cada padrão. A partir do comprimento de onda de absorbância máxima e das absorvidades molares em etanol (ϵ), de cada substância (Tabela 5), 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 absorbância máxima de cada substância; ϵ é a absorvidade 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 5 – Absorbância máxima ($A\lambda$), absorvidade molar (ϵ) e faixa de concentração para a construção das curvas padrão.

Composto	$A\lambda$ (nm)	ϵ (em etanol)	Intervalo de concentração (ng/mL)
α -tocotrienol	292	3864	25 – 2000
γ -tocotrienol	296	3716	25 – 750
α -tocoferol	292	3264	25 – 2000
γ -tocoferol	298	3808	25 – 750

Fonte: Adaptado de CHEN & BERGMAN (2005).

Para o γ -orizanol a curva de calibração foi preparada a partir de uma solução estoque em metanol na faixa de concentração de 30 - 150 μ 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 γ -orizanol foi calculado pela somatória das áreas dos quatro principais picos comparada à soma das áreas do padrão.

4.2.10 Estimativa da atividade antioxidante dos extratos metanólicos das amostras de arroz

A capacidade antioxidante dos extratos de arroz foi avaliada por dois métodos: um baseado na reação de oxido-redução utilizando o radical oxidante DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazina) originalmente descrito por Blois (1958) e modificado por Brand-Williams *et al.* (1995); e outro baseado na transferência de átomos de hidrogênio através do método de ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) descrito por Ou *et al.* (2001) e Huang *et al.* (2002,2005).

Método do radical DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazina)

O método DPPH[•] tem por base a redução do radical livre estável DPPH[•] (2,2-difenil-1-picrilhidrazina) que, ao capturar um A-H[•] de um antioxidante em estudo, leva a um decréscimo da absorbância a 517nm, permitindo calcular, após estabelecido o equilíbrio da reação, a quantidade de antioxidante gasta para reduzir 50% do radical DPPH[•] (Figura 9).

Figura 9 – Estrutura do DPPH[•] antes e após a reação com o antioxidante (A-H).
Fonte: HALLIWELL & GUTTERIDGE (2007).

O ensaio foi realizado em fluorímetro com leitor de placas da marca Synergy HT Multi-Detections Microplate Reader (BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT). Na micro-placa transparente, composta de 96 poços com capacidade de 300µL por poço, foram adicionados 50µL do extrato de arroz em cada poço e com o auxílio de uma pipeta multi-canal, foram aplicados 150µL de solução metanólica de DPPH[•] (9x10⁻⁵M). A placa foi inserida imediatamente no equipamento e a cinética da

redução do radical DPPH• foi monitorada pela medida da absorbância em 517nm a cada 10 minutos até reduzir a concentração de DPPH• inicial em 50% (EC₅₀). O branco com 150μL DPPH• e 50μL de metanol foi utilizado como controle do descoloramento da reação.

Estabelecido o tempo para se atingir EC₅₀, a porcentagem do radical DPPH• remanescente no meio de reação foi calculada de acordo com a equação abaixo:

$$\% \text{ DPPH}^{\bullet}_{\text{remanescente}} = (\text{Absorbância média}_{t=\text{EC}_{50}} / \text{Absorbância média}_{t=0 \text{ min.}}) \times 100$$

Também foram testadas soluções padrão de γ-orizanol, γ-tocotrienol, α-tocotrienol e α-tocoferol, em concentrações equimolares (100, 50 e 25μM), a fim de correlacionar a participação de cada composto na atividade antioxidante total do extrato de arroz.

O antioxidante padrão sintético utilizado para a construção da curva padrão foi o Trolox (Sigma 23.881-3). Em todos os ensaios, curvas de calibração de Trolox foram construídas, em triplicata, com seis concentrações entre 12,5 – 100μM em metanol (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995; BONDET, 1997; MOLYNEUX, 2004). A partir da curva padrão e das porcentagens de DPPH• remanescente, calculou-se a atividade antioxidante do arroz integral e parboilizado integral.

Os resultados foram expressos em μmol de equivalentes de Trolox / 100g de arroz em base seca.

Método ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)

O método de ORAC mede a capacidade do antioxidante em sequestrar radicais peroxil que são gerados por uma fonte radicalar, AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropano) dihidroclorado), a 37°C, levando em consideração o tempo de inibição da oxidação (TABART *et al.*, 2009).

Este método, relativamente simples e sensível, utiliza a fluoresceína (FL), uma sonda sintética fluorescente, que presente no sistema age como indicador da extensão do dano oxidativo. A queda na fluorescência da FL indica a extensão do dano causado pela sua reação com os radicais gerados (OU *et al.*, 2001).

O antioxidante adicionado à reação reage rapidamente com os radicais da fluoresceína, doando átomos de hidrogênio e inibindo a perda da intensidade da

fluorescência. Essa inibição é proporcional à atividade antioxidante (WU *et al.*, 2004).

A perda da fluorescência na presença dos radicais peroxila não segue uma cinética linear com o tempo, mas sim exponencial. Portanto, para a quantificação da capacidade antioxidante mede-se a área sob a curva de decréscimo (AUC) (Figura 10). Isso permite combinar tanto a porcentagem de inibição como o tempo necessário para sequestro total do radical livre por um antioxidante (CAO & PRIOR, 1999).

Figura 10 – Ilustração da determinação da atividade antioxidante expressa como área líquida debaixo da curva (AUC).

O ensaio de ORAC foi realizado no mesmo fluorímetro empregado para as análises pelo método DPPH[•] com injetor automático de AAPH e fluoresceína. As microplacas utilizadas eram pretas de fundo transparente com 96 cavidades (Corning Incorporated, Lowell, MA).

Os extratos metanólicos das amostras de arroz, obtidos conforme o item 4.5.8, foram diluídos com água milliQ na proporção de 1:150 (v/v) para os extratos de arroz integral e de 1:75 (v/v) para os de arroz parboilizado integral. Estas proporções foram definidas após testes prévios com diferentes diluições para definir os limites de detecção.

A solução estoque de fluoresceína foi preparada em tampão fosfato 75mM pH 7,4 na concentração de 4 μ M, com validade de 2 dias. Imediatamente antes do uso, a solução estoque era diluída com tampão fosfato 75mM pH 7,4 para uma concentração de 0,04 μ M.

O AAPH (2,2'-azobis 2-amidinopropane dihydrochloride), extremamente instável em solução, foi preparado no momento de cada análise, na concentração de 153 mM em tampão fosfato 75mM pH 7,4.

Na montagem da microplaca para análise, os poços externos foram preenchidos com 300µL de água MilliQ, a fim de manter o equilíbrio térmico das amostras dos demais poços. O interior da placa foi preenchido na sequência horizontal, da esquerda para a direita e depois da direita para a esquerda e assim por diante, até completar a placa. Nos três primeiros poços foram adicionados 25µL de tampão fosfato (branco) e nos demais, 25µL dos extratos das amostras diluídas adequadamente. A placa foi inserida no fluorímetro e em cada poço foram acrescentados 150µL de fluoresceína por meio de injetor automático. A placa foi mantida em repouso por 30 minutos, e em seguida foram adicionados 25µL da solução de AAPH para dar início à reação. A fluorescência foi medida a cada minuto durante 1 hora. Foi utilizado um comprimento de excitação em 493 nm (filtro 485/20) e emissão em 515 nm (filtro 528/20).

Foram preparadas seis concentrações entre 6,25 – 100µM de antioxidante padrão sintético Trolox (Sigma cat. 23881-3) preparado em tampão fosfato 75mM pH 7,4 em triplicata para a construção da curva.

O resultado de atividade antioxidante foi calculado por meio da subtração entre a área abaixo da curva de decaimento da fluoresceína de cada amostra, e a área abaixo da curva do branco, sendo o resultado denominado de área líquida (Net AUC – Figura 11). Os valores de área líquida foram interpolados na curva de regressão linear do Trolox conforme representado na Figura 11. Os resultados foram expressos em µmol equivalente de Trolox/100g de arroz.

Figura 11 – Curva padrão de Trolox pelo método ORAC.

4.3 Análise estatística

A análise estatística foi realizada utilizando o programa STATISTICA 8.0 e adotando nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Os dados obtidos referentes à disponibilidade do amido e teores de compostos bioativos do arroz foram testados quanto à distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk) e à homogeneidade das variâncias (testes de Levene e Brown-Forsythe).

Quando satisfeitas as condições para aplicação dos testes estatísticos paramétricos de comparação de médias, foram realizadas as seguintes análises estatísticas:

a) Análise de Variância Unidimensional (ANOVA) seguida do teste Tukey para comparar os teores de amido total, amido resistente, amido disponível e índice de hidrólise do amido de arroz integral com diferentes teores de amilose (alto, intermediário e baixo), entre as amostras do primeiro lote, e na composição do arroz integral de três diferentes regiões de plantio e de três diferentes cultivares, quanto aos teores de compostos bioativos;

b) Teste t de Student para amostras dependentes na comparação das variáveis (composição e aos compostos bioativos) com relação aos efeitos de processamento e armazenamento, nas amostras do primeiro e do segundo lote;

c) Correlação de Pearson, para verificar a existência de correlação entre os teores de compostos bioativos e a atividade antioxidante, adotando-se o coeficiente de correlação (r) como parâmetro para avaliar a natureza (diretamente ou inversamente proporcionais) e a intensidade dessas correlações (0 a 1, sendo 1 indicativo de correlação máxima).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Teores de amido total (AT), amido resistente (AR) e amido disponível (AD) no arroz integral e parboilizado integral

As cultivares selecionadas para o nosso estudo incluíram os tipos longo-fino (Irga 417, Irga 418, Irga 422, Irga 424, Irga 410) da subespécie *indica*, e do tipo longo (Carnaroli e Formosa) e curto (Sasanishiki e Koshihikari), da subespécie *japonica*. Foi utilizado maior número de cultivares da classe longo-fino (“agulhinha”) por ser a mais cultivada e consumida no Brasil.

Na tabela 6 estão apresentados os teores de amilose total nas amostras de nove cultivares de arroz integral das subespécies *indica* e *japonica* que permitiram classificá-las em alto, intermediário, baixo e muito baixo teor de amilose, conforme recomendação de Juliano (1993). Este pesquisador propôs que os teores de amilose acima de 25% fossem considerados altos; de 20 a 25% intermediários; de 12 a 20% baixos e de 5 a 12% muito baixos.

Tabela 6 – Classificação das amostras de arroz integral de acordo com os teores de amilose.

Subespécie	Cultivares	Amilose (% bs) ¹	Classificação teor de amilose
<i>Indica</i>	Irga 417	30,0±0,4	Alto
	Irga 418	27,3±1,8	Alto
	Irga 422	28,5±1,5	Alto
	Irga 424	23,4±1,6	Intermediário
	Irga 410	22,8±0,9	Intermediário
<i>Japonica</i>	Carnaroli	21,2±0,4	Intermediário
	Formosa	12,5±0,9	Baixo
	Sasanishiki	11,1±0,5	Muito Baixo
	Koshihikari	10,6±0,5	Muito Baixo

(% bs)¹: Porcentagem em base seca. Resultados médios expressos como média das análises em triplicata, ± desvio padrão.

A escolha de cultivares com teores extremos de amilose teve como propósito observar se a porcentagem de amilose influencia na disponibilidade do amido e na velocidade da sua hidrólise *in vitro*.

Os teores de amilose são importantes por conferirem características físico-químicas e sensoriais peculiares ao arroz. O arroz com alto teor de amilose é mais solto, macio e firme após o cozimento, característica muito apreciada pela população brasileira. Já os grãos com teores mais baixos de amilose tendem a ser mais “grudentos” sendo preferidos na culinária italiana (Carnaroli), indiana (Formosa) e japonesa (Sasanishiki e Koshihikari), já que originam um arroz mais pegajoso, típico dos pratos desses países (EMBRAPA, 2005).

Os maiores teores de amilose foram encontrados nas cultivares de arroz da subespécie *indica*, variando de 22 a 30% e os menores teores na subespécie *japonica*, entre 10 e 21%.

Na tabela 7 estão apresentados os teores de amido total (AT), amido resistente (AR) e amido disponível (AD) das nove cultivares de arroz integral. As cultivares foram agrupadas de acordo com os teores de amilose, em alto, intermediário e baixo teor, sendo os resultados apresentados também como a média de cada grupo. Ainda foi calculada uma média geral, com todos os valores, independente do teor de amilose. Na mesma tabela encontram-se os resultados de AT, AR e AD após a parboilização.

Os teores de AT variaram entre 75 – 85% e não foi observada diferença significativa nas médias entre os grupos com diferentes teores de amilose. Os teores de AR foram muito baixos, em torno de 1,2 – 1,6%, e os maiores teores corresponderam às cultivares de teores baixos e intermediários de amilose ($p < 0,05$).

Considerando o conjunto das nove cultivares de arroz integral, a média geral de AT e AR foi de 82,5% e 1,5%, respectivamente.

Em outro estudo realizado com arroz integral com diferentes teores de amilose, os teores de AT e AR foram da mesma ordem de grandeza deste trabalho, variando entre 72 a 82% e 0,1 a 1,3%, respectivamente. Os autores encontraram os maiores valores de AR (1,3%) nos grãos com teor intermediário de amilose (Frei *et al.*, 2003).

Portanto, com porcentagens muito baixas e pequenas diferenças entre os teores de AR, o AD foi alto para todas as cultivares de arroz, independente do teor de amilose e subespécie.

Tabela 7 - Teores de amido total (AT), amido resistente (AR) e amido disponível (AD) das amostras de arroz integral e parboilizado integral pertencentes a duas subespécies e com diferentes teores de amilose.

Cultivar	Teor de amilose	Beneficiamento	AT (%bs) ¹	AR (%bs) ¹	AD (AT- AR) (%bs) ¹
Irga 417	Alto	Integral Parboilizado	85,2	1,4	83,8
			82,9	1,5	81,4
Irga 418	Alto	Integral Parboilizado	83,0	1,2	81,8
			82,5	1,4	81,1
Irga 422	Alto	Integral Parboilizado	85,1	1,3	83,8
			84,9	1,2	83,8
Teor Médio (n=3)		Integral Parboilizado	84,5 ± 1,7 ^a 83,4 ± 1,4	1,3 ± 0,1 ^b 1,4 ± 0,1	83,1 ± 1,7 ^a 82,1 ± 1,5
Irga 424	Intermediário	Integral Parboilizado	75,0	1,3	73,7
			73,0	1,6	71,4
Irga 410	Intermediário	Integral Parboilizado	87,0	1,5	85,5
			83,1	1,7	81,4
Carnaroli	Intermediário	Integral Parboilizado	81,5	1,5	80,0
			80,2	1,4	78,8
Teor Médio (n=3)		Integral Parboilizado	81,4 ± 5,2 ^a 78,8 ± 4,6	1,5 ± 0,1 ^a 1,6 ± 0,1	79,6 ± 5,1 ^a 77,2 ± 4,6
Formosa	Baixo	Integral Parboilizado	83,0	1,6	81,4
			85,4	1,5	83,9
Sasanishiki	Muito Baixo	Integral Parboilizado	80,7	1,5	79,2
			81,6	1,4	80,2
Koshihikari	Muito Baixo	Integral Parboilizado	82,6	1,6	81,0
			81,2	2,3	78,9
Teor Médio (n=3)		Integral Parboilizado	82,1 ± 1,7 ^a 82,8 ± 2,3	1,5 ± 0,1 ^a 1,7 ± 0,4	80,6 ± 1,7 ^a 81,1 ± 2,5
Média Geral (n=9)		Integral Parboilizado	82,5 ± 3,5 ^a 81,7 ± 3,6	1,5 ± 0,1 ^a 1,6 ± 0,3	81,1 ± 3,5 ^a 80,1 ± 3,6
Amido de batata			100,1±0,7%		
Feijão cozido liofilizado			6.95±0.2%		

AT: amido total; AR: amido resistente e AD: amido disponível. (%bs)¹: Porcentagem em base seca. Resultados médios expressos como média do grupo ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05).

Após a parboilização, os teores médios de AT e AR dos nove cultivares foram de 81,7% e 1,6%, respectivamente, sem nenhuma diferença estatística em relação ao arroz integral, indicando que o processo de parboilização, ao menos nas condições empregadas, não interferiu na proporção entre as várias formas de amido.

Analizando cada cultivar isoladamente, embora na cultivar Koshihikari, de baixo teor de amilose, a parboilização tenha proporcionado um aumento significativo no teor de AR de 1,6 para 2,3%, este valor pode ser considerado muito baixo e acreditamos que não interfira no aproveitamento nutricional do amido.

Helbig *et al.* (2007a) estudaram o efeito da parboilização e da concentração de amilose na formação de amido resistente e observaram que o processamento promovia em algumas cultivares de arroz polido um pequeno aumento no AR. O teor de AR no arroz antes da parboilização foi da ordem de 0,6% passando a 1,9% após o processo no arroz com teor intermediário de amilose e para 1,7% no de baixo teor de amilose. Os autores atribuíram o pequeno aumento de AR a modificações na estrutura do amido e interações com a matriz protéica e os lipídeos.

As amostras de arroz integral adquiridas no comércio, com teor de amilose de 23,2%, apresentaram teores de AT e AR de 81,9 e 1,7, respectivamente, porcentagens coerentes as cultivares com teor intermediário de amilose.

O amido de batata foi analisado em cada determinação de AT e o feijão cozido liofilizado junto às determinações de AR, como controle das reações (“testemunhas”), cujos teores foram de $100,1 \pm 0,7\%$ e $6,95 \pm 0,2\%$, respectivamente. Estes valores validam as metodologias utilizadas, já que são coerentes com dados da literatura (ROSIN *et al.*, 2002; CARREIRA *et al.*, 2004).

Portanto, uma vez que os teores de amido resistente foram muito reduzidos, a disponibilidade do amido parece ser pouco afetada, tanto no arroz integral como no parboilizado integral, podendo ser considerados alimentos com elevado índice glicêmico.

5.2 Índice de hidrólise do amido (IH) *in vitro* do arroz integral e do parboilizado integral

O índice de hidrólise (IH) *in vitro* baseia-se na hidrólise enzimática controlada do amido, com posterior dosagem da glicose liberada ao longo de 180 minutos, sendo o IH expresso como a porcentagem do amido hidrolisado durante esse

período (CAPRILES *et al.*, 2009). Este índice é calculado pela razão entre a área da curva de hidrólise do alimento estudado e a área do alimento referência (pão branco) (GOÑI *et al.*, 1997).

O IH do amido das nove cultivares de arroz integral e parboilizado integral foi calculado e utilizado como um marcador *in vitro* para a estimativa do índice glicêmico. Na Figura 12 estão ilustradas as curvas de hidrólise do amido entre zero a 180 minutos de cada cultivar de arroz integral estudada e das amostras de arroz comercial, integral (n=3) e polido (n=3) inclusas no estudo para comparação, representadas por uma única curva média.

Figura 12 – Hidrólise *in vitro* do amido de arroz cozido.

A porcentagem de hidrólise do amido ao final dos 180 minutos atingiu valores entre 40 e 50% nas cultivares de alto e baixo teor de amilose. Já nas cultivares com teor intermediário de amilose, as porcentagens de hidrólise foram menores, variando entre 30-40%, no mesmo período. No arroz integral comercial, a porcentagem média de hidrólise foi de 40%. No caso do arroz polido, a porcentagem foi de 52%, bem próximo ao pão de forma (alimento referência) que foi de 53%.

De acordo com Englyst *et al.* (1999) o amido hidrolisado nos primeiros 20 minutos corresponde ao amido rapidamente digerido (ARD) e o hidrolisado em 180 minutos ao amido lentamente digerido (ALD).

Nos primeiros 20 minutos, a porcentagem de ARD nas amostras de arroz integral variou entre 40-42% para as amostras com alto teor de amilose, 30-39% nas de teor de amilose intermediário e 42-47% para as de baixo teor de amilose. Após esse período a liberação de glicose foi insignificante, formando um plato ao longo dos 160 minutos restantes. O arroz integral comercial apresentou o mesmo comportamento do grupo de cultivares de teor de amilose intermediário e o arroz polido apresentou perfil similar ao pão de forma.

A velocidade de hidrólise do amido *in vitro* de determinado alimento pelas amilases pode estar relacionada com a origem botânica e a estrutura celular do amido. Rosin *et al.* (2002) observaram diferentes porcentagens de hidrólise do amido em vários alimentos. Assim, a ervilha, o feijão, a lentilha e o grão de bico, cozidos, foram lentamente hidrolisados, com 26,6-28,4% de amido hidrolisado em 30 minutos de reação, enquanto o arroz, o milho e a batata foram rapidamente hidrolisados apresentando porcentagens entre 32,9-41,9%. Diversos fatores podem estar relacionados com a reduzida porcentagem de hidrólise *in vitro* observada em leguminosas, entre eles, a forma física, a presença de fibra alimentar e de amido resistente, o teor de proteína, a relação amilose/amilopectina e a forma com que a parede celular encapsula os grânulos de amido (WONG *et al.*, 1985, MENEZES & LAJOLO, 1995, ROSIN *et al.*, 2002).

Wong *et al.* (1985) também observaram que a porcentagem de hidrólise *in vitro* do amido de leguminosas (feijão e lentilha) foi menor do que a de cereais (trigo) e tubérculos (batata).

Na Tabela 8 estão tabulados as porcentagens do amido hidrolisado das amostras de arroz integral e das amostras adquiridas no comércio, integral e polido, e do pão de forma (alimento referência), após 20 e 180 minutos de hidrólise, representando o ARD e o ALD, respectivamente. Nesta tabela também encontram-se os índices de hidrólise do amido *in vitro* (IH) calculados a partir da área debaixo da curva de hidrólise de cada amostra (Figura 12) durante os 180 minutos. As cultivares foram agrupadas de acordo com o teor de amilose, os resultados apresentados como média de cada grupo e ainda como média geral com todos os valores, independente do teor de amilose.

Tabela 8 – Porcentagens de amido hidrolisado em 20 e 180 minutos, área abaixo da curva de hidrólise e índice de hidrólise do amido *in vitro* em base seca do pão de forma (alimento referência), do arroz integral e do arroz polido.

Cultivar	Amilose	(%) Amido hidrolisado		Área (%AH = f(t)) ¹	IH (%bs) ²
		20 minutos	180 minutos		
Irga 417	Alto	41,9	44,8	7361	84,0
Irga 418	Alto	40,5	42,3	7024	80,1
Irga 422	Alto	40,0	41,6	6947	79,2
Média (n=3)					81,1 ± 2,5 ^b
Irga 424	Intermediário	39,4	43,0	6983	79,7
Irga 410	Intermediário	31,2	33,8	5567	63,5
Carnaroli	Intermediário	30,4	33,9	5451	62,2
Média (n=3)					68,5 ± 9,7 ^c
Formosa	Baixo	46,6	49,3	8172	93,2
Sasanishiki	Muito Baixo	41,7	44,0	7314	83,4
Koshihikari	Muito Baixo	44,4	47,3	7823	89,2
Média (n=3)					88,6 ± 4,9 ^b
Comercial integral (n=3)	Intermediário	37,6	39,7	6555	74,8± 3,3 ^c
Comercial polido (n=3)	Intermediário	48,3	52,0	8550	97,5± 0,9 ^a
Pão de forma (referência)	---	49,3	53,4	8766	100

¹: Porcentagem de amido hidrolisado em função do tempo em minutos;

²: Porcentagem em base seca; IH: índice de hidrólise.

Resultados médios expressos como média do grupo ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05) pela análise estatística ANOVA, seguida pelo teste de Tukey.

Dependendo da subespécie, da cultivar, do teor de amilose e da safra do arroz, pode haver alguma variação no IH. Neste trabalho, analisando cada cultivar isoladamente, houve uma variação entre elas no IH de 62 a 93%, os menores valores corresponderam às cultivares Irga 410 e Carnaroli, e o valor mais elevado foi alcançado pela Formosa. No entanto, cada cultivar estudada pertencia a uma única safra o que impossibilitou uma análise estatística sobre estas diferenças.

O teor de amilose teve relação com o IH apenas nas amostras com teor intermediário de amilose, onde foram encontrados os menores valores de IH, variando entre 62 e 79% (p<0,05), com um IH médio de 68,5±9,7%.

O IH do arroz integral comercial foi de 74,8%. Este índice está de acordo com o descrito por Rosin *et al.* (2002) que avaliaram o IH em diversos alimentos amiláceos incluindo o arroz integral comercial, onde foi encontrado IH de $73 \pm 0,2\%$.

Algumas pesquisas atribuem os menores valores de IH e de índice glicêmico a arroz com alto teor de amilose (FREI *et al.*, 2003; HU *et al.*, 2004; HELBIG *et al.*, 2008). Estes autores alegam que o amido com elevada participação da amilose está associado a uma menor resposta glicêmica e a um esvaziamento mais lento do trato gastrointestinal do que aquele com baixos níveis deste polímero, devido à linearidade da sua cadeia que tende a propiciar a retrogradação e a formação de amido resistente do tipo 3 (amido resistente formado após a retrogradação do amido conforme classificação de ENGLYST & CUMMINGS, 1987).

No entanto, Panlasigui *et al.* (1991) ao investigarem o índice de hidrólise de três cultivares de arroz com o mesmo teor de amilose (27%), obtiveram diferentes respostas tanto no estudo *in vivo* quanto *in vitro*. Desta forma, é possível concluir que o conteúdo de amilose por si só, não parece ser um bom indicador para predizer a taxa de digestão e de resposta glicêmica para o arroz, já que existem diferenças nas suas propriedades físico-químicas, como por exemplo, a temperatura de gelatinização. A temperatura de gelatinização e o grau de hidratação do amido são geralmente afetados pelo tamanho do grânulo, porosidade do endosperma, natureza e presença de componentes não amiláceos, razão amilose:amilopectina, peso molecular e tamanho da cadeia carbônica (PANLASIGUI *et al.*, 1991).

No arroz comercial polido o IH encontrado foi de 97,5%, valor muito próximo a 100%, referente ao do pão de forma, nosso alimento referência. Embora este valor esteja perto de 100%, a hipótese de usar arroz polido como alimento de referência foi descartada, em razão das prováveis variações existentes em sua composição e até mesmo pela dificuldade de comparação dos resultados obtidos com os da literatura.

Após a parboilização do arroz, o perfil de hidrólise *in vitro* do amido de cada amostra estudada não apresentou alteração em relação ao arroz parboilizado (Figura 13).

Figura 13 – Hidrólise *in vitro* do amido de arroz parboilizado integral cozido.

Na Tabela 9 estão apresentados os IH das nove amostras de arroz integral e de parboilizado. As cultivares também foram novamente agrupadas de acordo com o teor de amilose e os resultados apresentados como a média de cada grupo. Ainda foi calculada a média geral de todas as cultivares com todos os valores, independente do teor de amilose. O IH das amostras adquiridas no comércio, integral, parboilizado integral e polido, e do pão de forma (alimento referência), também estão na Tabela 9.

Observa-se que em ambas as formas de beneficiamento o IH foi elevado indicando que o processo de parboilização, ao menos nas condições utilizadas neste trabalho, não alterou significativamente a disponibilidade do amido.

Estes resultados são condizentes com o estudo realizado em ratos Wistar que avaliou a glicemia após consumo de arroz polido e parboilizado polido, cozidos, com diferentes teores de amilose. Neste estudo não foi observada redução significativa na resposta glicêmica dos ratos em função do teor de amilose e do tipo de beneficiamento industrial do arroz (Helbig *et al.*, 2008).

Tabela 9 – Porcentagens de hidrólise *in vitro* do pão de forma (alimento referência), arroz integral, parboilizado integral, polido e a área abaixo da curva de hidrólise.

Cultivar	Amilose	Beneficiamento	(% Amido hidrolisado)		Área (%AH = f(t)) ¹	IH (%bs) ²
			20 minutos	180 minutos		
Irga 417	Alto	Integral	41,9	44,8	7361	84,0
		Parboilizado	41,0	42,5	7128	81,3
Irga 418	Alto	Integral	40,5	42,3	7024	80,1
		Parboilizado	39,3	41,8	6922	79,0
Irga 422	Alto	Integral	40,0	41,6	6947	79,2
		Parboilizado	40,4	42,7	7025	80,1
Média (n=3)		Integral				81,1 ± 2,5 ^b
		Parboilizado				80,1 ± 1,2
Irga 424	Intermediário	Integral	39,4	43,0	6983	79,7
		Parboilizado	40,8	43,3	7150	81,6
Irga 410	Intermediário	Integral	31,2	33,8	5567	63,5
		Parboilizado	31,9	34,46	5686	64,7
Carnaroli	Intermediário	Integral	30,4	33,9	5451	62,2
		Parboilizado	29,8	32,64	5302	60,48
Média (n=3)		Integral				68,5 ± 9,7 ^c
		Parboilizado				68,9 ± 11,1
Formosa	Baixo	Integral	46,6	49,3	8172	93,2
		Parboilizado	45,7	48,4	8000	91,3
Sasanishiki	Muito Baixo	Integral	41,7	44,0	7314	83,4
		Parboilizado	41,3	43,8	7247	82,7
Koshihikari	Muito Baixo	Integral	44,4	47,3	7823	89,2
		Parboilizado	45,5	48,0	7948	90,7
Média (n=3)		Integral				88,6 ± 4,9 ^b
		Parboilizado				88,2 ± 4,8
Comercial (n=3)	Intermediário	Integral	37,6	39,7	6555	74,8± 3,3 ^c
		Parboilizado	36,2	39,3	6443	73,5± 1,9
Arroz Polido (n=3)	Intermediário	---	48,3	52,0	8550	97,5± 0,9 ^a
Pão	---	Referência	49,3	53,4	8766	100

¹: Porcentagem de amido hidrolisado em função do tempo em minutos;

²: Porcentagem em base seca; IH: índice de hidrólise.

Resultados médios expressos como média do grupo ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas (p<0,05) pela análise estatística ANOVA, seguida pelo teste de Tukey.

A partir dos valores de IH foi possível estimar o índice glicêmico *in vivo* utilizando a equação de correlação $IG = 39,71 + 0,549 \cdot (IH)$, proposta por Goñi, et al. (1997). Segundo os autores, o IG estimado apresenta uma boa correlação com modelos *in vivo* quando comparado aos dados expressos na Tabela Internacional de IG (FOSTER-POWELL *et al.*, 2002).

Na Tabela 10 estão expressos o IH e o IG médios estimados para as amostras de arroz estudadas, junto com o IG compilado da Tabela Internacional de Índice Glicêmico (FOSTER-POWELL *et al.*, 2002).

Tabela 10 – Comparação dos valores de Índice de Hidrólise, Índice Glicêmico estimado e Índice Glicêmico compilado da Tabela Internacional de Índice Glicêmico.

Formas de beneficiamento	IH ¹	IG ^{*2}	IG ³
Integral (n=9)	79,4 ± 10,4	83,3 ± 5,9	79,0 ± 6,0
Parboilizado integral (n=9)	79,1 ± 10,3	83,1 ± 5,3	68,0 ± 6,0
Comercial integral (n=3)	74,8 ± 3,3	80,8 ± 2,8	79,0 ± 6,0
Comercial integral parboilizado (n=3)	73,5 ± 1,9	80,1 ± 1,7	68,0 ± 6,0
Comercial polido (n=3)	97,5 ± 2,9	93,2 ± 1,2	91,0 ± 9,0
Pão forma (alimento referência)	100	100	100

¹: índice de hidrólise; ²: índice glicêmico estimado; ³: índice glicêmico tabelado.
Resultados médios expressos como a média do grupo ± desvio padrão.

A porcentagem de IG estimada do arroz integral e do polido foram muito próximos aos compilados da Tabela Internacional de Índice Glicêmico. No entanto a diferença do IG entre o arroz integral e o parboilizado integral não foi observada. Os valores de IG estimados foram similares entre os grupos de arroz integral e parboilizado integral e, portanto, não confirmam as diferenças descritas na Tabela Internacional de índice Glicêmico. É possível que as condições brandas de temperatura, pressão e secagem no processo de parboilização empregadas no presente trabalho, não alteraram a estrutura do amido, de forma que pudesse afetar a liberação de glicose pelas enzimas amilolíticas utilizadas no sistema *in vitro*, não alterando com isso o IG em relação ao arroz integral.

Os estudos realizados por Tetens *et al.* (1997) e Larsen *et al.* (2000) apóiam esta hipótese. Tetens *et al.* (1997) avaliaram o efeito da parboilização sobre a digestibilidade do arroz *in vitro* e concluíram que a parboilização reduz significativamente a taxa de digestão do amido, dependendo da extensão e severidade do processo. Os resultados ainda mostraram que o processo de

parboilização sob pressão muito alta aumenta a formação de complexos amilose-lipídios, que por sua vez podem estar relacionados à menor digestibilidade do amido em ratos, quando comparado com um processo de parboilização mais brando.

Larsen *et al.* (2000), investigaram o efeito da parboilização e da severidade das condições de processo nas respostas glicêmicas e insulinêmicas em indivíduos com diabetes tipo 2 e concluíram que a resposta glicêmica não variava com a parboilização em condições brandas de pressão, temperatura e secagem dos grãos.

De fato, a temperatura parece exercer efeito sobre o IH e IG. Jaisut *et al.* (2008) avaliaram o efeito da temperatura de secagem pós-colheita sobre o índice de hidrólise do amido de arroz integral aromático. As temperaturas utilizadas foram de 130 a 150°C por 120 minutos com circulação forçada de ar seco, e observou-se uma queda no IH de 24% e 52%, respectivamente.

De acordo com a literatura, o alimento pode ser classificado em três categorias de acordo com os valores de IG em alto índice glicêmico (AIG) ≥ 70 , moderado índice glicêmico (MIG) entre 56 e 69, e baixo índice glicêmico (BIG) ≤ 55 (FOSTER-POWELL *et al.*, 2002; LLONA, 2006).

Contudo, parece lícito afirmar que o arroz integral, mesmo parboilizado, é um alimento de alta disponibilidade de amido, com valores de IH e IG estimados elevados. As variações nas respostas glicêmicas entre as cultivares de arroz podem estar relacionadas às variações das propriedades físico-químicas inerentes às diferentes cultivares e também ao tipo e severidade de processamento ao quais os grãos são submetidos.

5.3 Compostos bioativos no arroz integral

5.3.1 Análise do γ -oryzanol e homólogos da vitamina E

Muitos estudos relacionados com os principais compostos bioativos do arroz tem evidenciado que a concentração desses componentes depende de características genéticas das cultivares e/ou subespécie, safra de plantio e condições edafoclimáticas (BERGMAN & XU, 2003, HEINEMANN *et al.*, 2005). Assim, foi objetivo analisar o arroz integral de três cultivares plantadas simultaneamente em três localidades do Estado de Santa Catarina, por diferentes produtores.

A extração e quantificação dos compostos de interesse, presentes na fração insaponificável do arroz integral, γ -oryzanol e homólogos da vitamina E, inicialmente foram feitas extrações com metanol, hexano e isopropanol. O metanol foi o solvente que apresentou a melhor separação e picos mais definidos destes compostos.

A extração de compostos bioativos do arroz com diferentes tipos de solvente foi estudada também por Lai *et al.* (2009) que observaram que o metanol foi o mais eficiente na extração dos compostos bioativos do arroz (tocóis totais, γ -orizanol e compostos fenólicos) em comparação com o hexano e a acetonitrila.

Chen & Bergman (2005) utilizaram metanol para extração dos principais fitoquímicos presente em farelo de arroz e conseguiram uma recuperação entre 92-102% dos tocois totais e γ -orizanol em apenas 1 minuto de extração.

Neste estudo, os extratos de arroz foram analisados por CLAE – fase reversa, conforme descrito nos itens 4.2.8 e 4.2.9, baseado na descrição de Aguilar-Garcia *et al.* (2007), com adaptações. Estas condições permitiram a análise quantitativa, simultânea, dos quatro principais constituintes dos homólogos da vitamina E e do γ -oryzanol, em uma mesma corrida.

Na Figura 14 (A e B) estão apresentados os cromatogramas de uma mistura de padrões dos homólogos da vitamina E e do γ -oryzanol em concentrações conhecidas. Na mistura, os isômeros da vitamina E foram detectados por fluorescência e o γ -oryzanol por UV/Visível, conforme descrito no item 4.6.9.

Figura 14 – Cromatograma representativo por CLAE-fase reversa da mistura de padrões: (A) - homólogos da vitamina E: (a) γ -tocotrienol ($2\mu\text{g/mL}$), (b) α -tocotrienol ($2,5\mu\text{g/mL}$), (c) γ -tocoferol ($10\mu\text{g/mL}$), (d) α -tocoferol ($10\mu\text{g/mL}$); (B) - γ - 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 15 A e B).

Figura 15 – (A e B) Cromatograma representativo por CLAE-fase reversa de extrato de arroz integral. (a) γ -tocotrienol, (b) α -tocotrienol, (c) γ -tocoferol, (d) α -tocoferol por fluorescência nos comprimentos de excitação e emissão de 298 e 328 nm, respectivamente e (e,f,g,h) γ -oryzanol por UV/Vis a 325nm.

Pelo fato do arroz ser rico em γ -tocotrienol houve a necessidade de uma corrida adicional com o extrato diluído, pois com uma concentração 10 vezes superior dos demais tocóis, o γ -tocotrienol ultrapassa o limite de linearidade da absorbância.

A concentração dos compostos bioativos das 27 amostras de arroz integral está apresentada na Tabela 11. Os teores médios de tocóis totais, tocotrienóis (α -T3 e γ -T3), tocoferóis (α -T e γ -T) e γ -oryzanol foram calculados com base nos tempos de retenção de seus padrões a partir das curvas de calibração, expressos em mg por kg de arroz em base seca.

Os tocóis totais, que representam a somatória dos quatro homólogos da vitamina E variaram entre 17,5 – 30,8mg/kg de arroz, enquanto para o γ -oryzanol o valor esteve entre 151,0 – 228,1mg/kg de arroz. O γ -tocotrienol foi o componente encontrado em maior concentração, variando entre 13,6 – 21,6mg/kg para as cultivares das diferentes regiões, contribuindo com 70% da quantidade total de tocóis.

Estes resultados estão de acordo com a literatura que relata concentrações de tocóis totais na faixa de 10-50mg/kg de arroz (FINOCCHIARO *et al.*, 2007) e de 150-300mg/kg para o γ -oryzanol (HEINEMANN *et al.*, 2008) em arroz integral.

A sequência de eluição e o perfil dos picos dos compostos detectados apresentaram boa resolução e foram semelhantes aos resultados descritos por Chen & Bergman (2005) e Cunha *et al.* (2006) e Aguilar-Garcia *et al.* (2007).

A média dos teores de cada um dos componentes dos compostos bioativos não apresentou diferença significativa na concentração entre as regiões de plantio, exceto na região Alto Vale do Itajaí cujo teor de α -tocoferol foi menor, embora com um desvio padrão maior, o que pode justificar a diferença estatística. Já na somatória dos quatro homólogos da vitamina E esta diferença desapareceu.

Portanto, concluímos que nas amostras de arroz integral estudadas a região de plantio não afetou a concentração de vitamina E e γ -oryzanol.

Tabela 11 – Teores de vitamina E (α -, γ -tocotrienol, α -, γ -tocoferol, tocóis totais) e γ -orizanol em arroz integral das cultivares Epagri 109, SCSBRS Tio Taka e SCS 114 Andosam de diferentes regiões de cultivo em base seca.

Região de Produção	Cultivar	α -T3	γ -T3	α -T	γ -T	Tocóis Totais	γ -orizanol
		mg/kg arroz (base seca)*					
Litoral Sul	SCS 114 Andosam	1,7	16,0	2,6	1,6	21,9	174,2
	SCS 114 Andosam	2,0	17,7	3,4	1,9	25,0	151,0
	SCS 114 Andosam	1,9	15,3	3,1	1,7	22,0	168,3
	SCSBRS Tio Taka	2,5	17,4	3,5	5,3	27,9	195,9
	SCSBRS Tio Taka	2,4	21,6	2,9	1,5	28,4	219,2
	SCSBRS Tio Taka	1,9	18,7	2,6	1,5	24,7	194,0
	Epagri 109	2,3	21,0	3,1	1,8	28,2	209,7
	Epagri 109	2,0	19,5	4,0	1,3	26,8	183,9
	Epagri 1090	2,5	21,4	5,1	1,7	30,8	205,1
Alto Vale do Itajaí	SCS 114 Andosam	1,5	19,5	2,9	1,3	25,3	168,4
	SCS 114 Andosam	1,2	14,7	1,7	1,0	18,7	170,2
	SCS 114 Andosam	1,2	13,6	1,7	1,0	17,5	176,5
	SCSBRS Tio Taka	1,6	14,2	1,8	1,2	18,8	155,6
	SCSBRS Tio Taka	2,5	24,0	3,3	1,7	31,5	184,4
	SCSBRS Tio Taka	2,1	18,0	2,9	1,8	24,8	200,0
	Epagri 109	1,6	15,4	2,0	1,3	20,3	192,2
	Epagri 109	2,1	16,5	2,3	1,6	22,4	184,2
	Epagri 109	2,6	19,8	3,4	1,9	27,8	217,1
Litoral Norte	SCS 114 Andosam	1,6	19,3	2,5	1,5	24,9	201,3
	SCS 114 Andosam	1,74	19,2	3,6	1,5	26,0	171,8
	SCS 114 Andosam	1,3	15,6	2,0	1,4	20,3	155,3
	SCSBRS Tio Taka	1,4	18,2	2,0	1,6	23,1	186,5
	SCSBRS Tio Taka	2,0	20,8	2,5	1,3	26,7	206,2
	SCSBRS Tio Taka	2,2	19,3	3,2	1,9	26,6	197,0
	Epagri 109	1,8	19,5	2,5	1,6	25,3	203,5
	Epagri 109	1,8	19,4	2,6	1,8	25,6	228,1
	Epagri 109	2,6	21,4	3,7	1,8	29,5	214,7
Litoral Sul**		2,1 $\pm$ 0,3 ^a	18,7 $\pm$ 2,3 ^a	3,4 $\pm$ 0,8 ^a	1,9 $\pm$ 1,0 ^a	26,2 $\pm$ 3,0 ^a	189,1 $\pm$ 21,8 ^a
Alto Vale Itajaí**		1,8 $\pm$ 0,5 ^a	17,3 $\pm$ 3,4 ^a	2,4 $\pm$ 0,7 ^b	1,4 $\pm$ 0,3 ^a	23,0 $\pm$ 4,7 ^a	183,2 $\pm$ 18,4 ^a
Litoral Norte**		1,8 $\pm$ 0,4 ^a	19,2 $\pm$ 1,7 ^a	2,7 $\pm$ 0,6 ^{ab}	1,6 $\pm$ 0,2 ^a	25,3 $\pm$ 2,5 ^a	192,2 $\pm$ 24,0 ^a

Tocotrienóis (α -T3 e γ -T3), tocoferóis (α -T e γ -T). *Média das análises em triplicata. **Resultados expressos como a média das cultivares de cada região $\pm$ desvio padrão (n=9). Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) pela análise estatística ANOVA, seguida pelo teste de Tukey.

As três cultivares de arroz analisadas (SCS 114 Andosam, SCSBRS Tio Taka e Epagri 109) foram agrupadas, independente da região de plantio e suas médias avaliadas quanto à concentração de vitamina E e γ -orizanol (Tabela 12). Na comparação entre elas, foi observado que apenas a cultivar SCS 114 Andosam apresentou menor concentração de α -tocotrienol e de γ -orizanol ($p < 0,05$). Porém, a diferença foi pequena e não alterou a concentração da somatória dos quatro homólogos da vitamina E. Nas demais cultivares não foram observadas variações na concentração destes compostos.

Tabela 12 – Teores de vitamina E (α -, γ -tocotrienol, α -, γ -tocoferol, tocóis totais) e γ -orizanol em arroz integral de cada cultivar (SCS 114 Andosam, SCSBRS Tio Taka e Epagri 109).

Cultivar	α -T3	γ -T3	α -T	γ -T	Tocóis Totais	γ -orizanol
	mg/kg arroz (base seca)					
SCS 114 Andosam (n=9)	1,6 $\pm$ 0,3 ^b	16,8 $\pm$ 2,2 ^a	2,6 $\pm$ 0,7 ^a	1,4 $\pm$ 0,3 ^a	22,4 $\pm$ 3,1 ^a	167,3 $\pm$ 8,6 ^b
SCSBRS Tio Taka (n=9)	2,1 $\pm$ 0,4 ^a	19,1 $\pm$ 2,8 ^a	2,7 $\pm$ 0,6 ^a	2,0 $\pm$ 1,3 ^a	25,9 $\pm$ 3,7 ^a	193,2 $\pm$ 17,5 ^a
Epagri 109 (n=9)	2,1 $\pm$ 0,4 ^a	19,3 $\pm$ 2,1 ^a	3,2 $\pm$ 1,0 ^a	1,6 $\pm$ 0,2 ^a	26,3 $\pm$ 3,3 ^a	203,2 $\pm$ 15,1 ^a
Média (n=27)	1,9 $\pm$ 0,4	18,4 $\pm$ 2,6	2,8 $\pm$ 0,8	1,7 $\pm$ 0,8	24,9 $\pm$ 3,7	187,9 $\pm$ 20,6

Tocotrienóis (α -T3 e γ -T3), tocoferóis (α -T e γ -T). Resultados expressos como a média das cultivares $\pm$ desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferenças estatisticamente significativas entre as cultivares de arroz integral ($p < 0,05$) pela análise estatística ANOVA, seguida pelo teste de Tukey.

Heinemann *et al.* (2005), quantificaram estes compostos em 32 cultivares de arroz das subespécies, *japonica* (n=10) e *indica* (n=22). Nas cultivares da subespécie *indica* (a mesma utilizada neste trabalho), os teores médios de tocóis totais e γ -orizanol encontrados por estes autores foram, 17,1 e 190,1mg/kg de arroz, respectivamente, e portanto similares aos valores encontrados por nós.

Neste contexto, outro estudo foi realizado por Bergman & Xu (2003), que quantificaram as concentrações de compostos bioativos em farelo de arroz de várias cultivares e de diferentes safras e locais de plantio. Estes autores verificaram que as diferenças genéticas e safras estão mais relacionadas às variações na concentração destes compostos que a região de cultivo.

Embora possa haver influência das safras de plantio de uma mesma cultivar na síntese de vitamina E e γ -orizanol, a possível alteração na concentração desses compostos parece ser pequena de modo que não altere a biodisponibilidade destes compostos no sistema *in vivo*. Portanto, faz-se necessário maior estudo a respeito desse aproveitamento biológico no que se refere a sua capacidade antioxidante.

5.3.2 Efeito da parboilização, da cocção caseira e do armazenamento por seis meses nos compostos bioativos do arroz integral

Com base na concentração dos homólogos da vitamina E e do γ -oryzanol no arroz integral foi realizada uma análise da estabilidade destes compostos após o processo de parboilização, cocção e armazenamento por seis meses.

Na Tabela 13 estão apresentados os teores médios $\pm$ desvio padrão de tocotrienóis (α -T3 e γ -T3), tocoferóis (α -T e γ -T), tocóis totais, e γ -oryzanol das 27 cultivares de arroz integral estudadas, antes e após o processo de parboilização.

Tabela 13 – Efeito da parboilização sobre tocóis totais, α -, γ -tocotrienol, α -, γ -tocoferol e γ -orizanol em arroz integral e porcentagem de perda da concentração destes compostos após processamento (mg/kg arroz (base seca)).

Compostos bioativos	Integral (n=27)	Parboilizado (n=27)	% Perda
α -T3	1,9 $\pm$ 0,4	0,5 $\pm$ 0,6*	73
γ -T3	18,4 $\pm$ 2,6	7,3 $\pm$ 3,0*	60
α -T	2,8 $\pm$ 0,8	0,2 $\pm$ 0,3*	93
γ -T	1,7 $\pm$ 0,8	0,4 $\pm$ 0,3*	76
Tocois totais	24,9 $\pm$ 3,7	8,4 $\pm$ 3,7*	66
γ -orizanol	187,9 $\pm$ 20,6	154,3 $\pm$ 20,7*	17

Tocotrienóis (α -T3 e γ -T3), tocoferóis (α -T e γ -T) e γ -orizanol. Resultados expressos como média das cultivares $\pm$ desvio padrão. *valores na mesma coluna, apresentam diferenças estatísticas ($p < 0,05$) pelo teste estatístico *t* de Student para amostras dependentes.

A parboilização causou uma perda significativa na concentração de todos os compostos bioativos avaliados ($p < 0,05$).

Os homólogos da vitamina E foram as substâncias mais sensíveis à parboilização, com uma perda média superior a 60%. O α -tocoferol foi o mais afetado, com perda de 93%. Já o γ -orizanol mostrou-se mais estável mantendo ao redor de 83% da concentração original.

Estes resultados foram similares aos encontrados por Khatoon & Gopalakrishna (2004) em que os autores quantificaram os teores de vitamina E em uma única amostra comercial de arroz parboilizado indiano. Foram encontrados teores muito baixos de tocoferóis (α - e γ -), em torno de 2,18mg/kg arroz, e não foi possível detectar os tocotrienóis.

Quanto ao γ -orizanol, outro estudo avaliou a estabilidade desta substância em farelo de arroz submetido a 120°C para a inativação de enzimas. Pelo mesmo processo, os tocóis foram perdidos quase que na sua totalidade (Lloyd *et al.*, 2000).

Na Tabela 14 estão os teores de vitamina E e do γ -orizanol de três amostras de arroz integral e parboilizado integral, adquiridas no comércio antes e após serem cozidas em condições caseiras, uma vez que o cozimento pode acarretar uma perda adicional desses compostos.

Tabela 14 – Teores de vitamina E (α -, γ -tocotrienol, α -, γ -tocoferol, tocóis totais) e γ -orizanol em arroz integral e parboilizado integral de três marcas comerciais (mg/kg), antes e após o cozimento (mg/kg arroz (base seca)).

Compostos bioativos	Integral (n=3)		Parboilizado (n=3)		Int. ¹	Parb. ²
	Antes	Após	Antes	Após	% Perda	
α -T3	0,6 $\pm$ 0,1	0,2 $\pm$ 0,05*	0,0	0,0	67	0
γ -T3	10,5 $\pm$ 2,6	5,7 $\pm$ 0,9*	3,1 $\pm$ 0,6	2,3 $\pm$ 0,7*	46	26
α -T	3,7 $\pm$ 0,4	0,2 $\pm$ 0,05*	0,0	0,0	95	0
γ -T	1,6 $\pm$ 0,6	0,7 $\pm$ 0,5*	0,0	0,0	56	0
Tocois totais	16,4 $\pm$ 3,1	6,8 $\pm$ 1,0*	3,1 $\pm$ 0,6	2,3 $\pm$ 0,7*	59	25
γ -orizanol	146,8 $\pm$ 31,5	136,2 $\pm$ 27,7*	133,0 $\pm$ 8,4	130,4 $\pm$ 7,7*	7	2

Tocotrienóis (α -T3 e γ -T3), tocoferóis (α -T e γ -T). ¹: Integral; ²: Parboilizado.

Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão. *valores na mesma coluna, apresentam diferenças estatísticas (p<0,05) pelo teste estatístico *t* de Student para amostras dependentes.

O cozimento mostrou ter um importante efeito na concentração dos compostos bioativos; causou em média redução de 56% da vitamina E e 7% do γ -orizanol no arroz integral, o que confirma a maior sensibilidade da vitamina E a estabilidade do γ -orizanol frente à processamentos que envolvam elevadas temperaturas.

As amostras parboilizadas apresentaram após o cozimento uma perda adicional de 25% da vitamina E restando um teor de apenas 2,4mg/kg arroz. Dentre os homólogos da vitamina E, o γ -tocotrienol foi o único ainda presente no arroz parboilizado cozido. Já, o γ -orizanol mostrou-se bastante estável, não apresentando perdas adicionais significativas após a cocção.

A concentração dos compostos bioativos quantificados nas amostras adquiridas no comércio foi um pouco inferior aos teores encontrados no arroz de cultivares selecionadas, tanto na forma integral quanto parboilizada integral. No arroz comercial os teores de vitamina E e de γ -orizanol foram em média 16,4 e 146,8mg/kg, respectivamente, cerca de 34% e 22% menor do que nas cultivares selecionadas. No arroz parboilizado os teores foram 3,2 e 130,4mg/kg, respectivamente, 62 e 15% menores que nas amostras selecionadas.

Estas menores concentrações das amostras comerciais parecem indicar que além do efeito da temperatura, os compostos bioativos podem ser degradados durante o armazenamento, uma vez que as amostras adquiridas no comércio estavam estocadas em temperatura ambiente até o momento da análise, enquanto as cultivares selecionadas estavam sob refrigeração e hermeticamente fechadas desde a colheita.

Na Tabela 15 estão apresentados os teores de tocotrienóis (α -T3 e γ -T3), tocoferóis (α -T e γ -T), tocóis totais, e γ -oryzanol de nove amostras contendo as três cultivares de arroz integral e parboilizado integral estudadas neste trabalho, antes e após o armazenamento por seis meses.

Tabela 15 – Teores de tocóis totais, α -, γ -tocotrienol, α , γ -tocoferol e γ -orizanol em arroz integral e parboilizado integral e porcentagem de perda da concentração destes compostos após estocagem (mg/kg arroz (base seca)).

Compostos bioativos	Integral (n=9)		Parboilizado (n=9)		Int. ¹	Parb. ²
	Antes	Após	Antes	Após	% Perda	
α -T3	2,0 $\pm$ 0,3	0,6 $\pm$ 0,4*	0,3 $\pm$ 0,2	0,0*	69	100
γ -T3	19,0 $\pm$ 2,1	5,0 $\pm$ 2,5*	7,6 $\pm$ 1,2	3,5 $\pm$ 1,6*	74	54
α -T	2,9 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 0,6*	0,2 $\pm$ 0,1	0,0*	75	100
γ -T	1,5 $\pm$ 0,1	0,5 $\pm$ 0,3*	0,4 $\pm$ 0,1	0,0*	67	100
Tocois totais	25,4 $\pm$ 2,5	7,5 $\pm$ 5,6*	8,5 $\pm$ 0,8	3,7 $\pm$ 1,6*	71	56
γ -orizanol	188,8 $\pm$ 21,3	150,5 $\pm$ 20,7*	156,7 $\pm$ 3,4	118,6 $\pm$ 11,4*	20	24

Tocotrienóis (α -T3 e γ -T3), tocoferóis (α -T e γ -T). ¹: Integral; ²: Parboilizado.

Resultados expressos como média das cultivares $\pm$ desvio padrão. *valores na mesma coluna, houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) pelo teste t de Student para amostras dependentes.

Todas as amostras, independente do tipo de beneficiamento perdas significativas na concentração de vitamina E e γ -orizanol ($p < 0,05$) ocorreram com o armazenamento.

No arroz integral, a vitamina E mostrou-se sensível também ao tempo de estocagem, perdendo 71% da sua concentração após seis meses, restando apenas

7,5mg/kg de arroz da concentração inicial. Já, o γ -orizanol foi mais estável em relação à vitamina E, com perda de apenas 20% da sua concentração inicial.

A perda de compostos bioativos durante o armazenamento do arroz integral pode estar relacionada à oxidação lipídica pela presença de oxigênio, lipases e lipoxigenases, uma vez que as amostras não foram armazenadas a vácuo e estes compostos se encontram na fração lipídica saponificável do arroz.

Os fatores que mais afetam a concentração de vitamina E nos cereais são as temperaturas de cocção e armazenamento, o tempo de exposição à luz e a oxidação lipídica (WYATT *et al.*, 1998).

Em um estudo realizado com grãos de trigo durante estocagem à temperatura ambiente e exposto ao ar, maiores perdas dos isômeros α -tocóis foram observadas quando comparado com outras vitaminas presentes no grão (PETERSON, 1995).

Nas cultivares parboilizadas que já tinham perdido grande parte da vitamina E com o processamento, após a estocagem houve perda quase total da vitamina. O γ -orizanol que teve uma perda menor após a parboilização, com o armazenamento apresentou perda adicional de 24% de sua concentração.

Estes resultados confirmam a sensibilidade dos compostos bioativos durante estocagem à temperatura ambiente.

A concentração de tocóis totais e de γ -orizanol diminui em cerca de 56% e 7%, respectivamente, no arroz integral, e ao redor de 25% e 2% no arroz parboilizado integral, após o cozimento. Portanto, é possível fazer uma estimativa da concentração remanescente dos compostos bioativos no arroz integral e/ou parboilizado, desde a colheita até o momento do consumo considerando as perdas durante o armazenamento e o cozimento (Tabela 16).

Tabela 16 – Teores de tocóis totais e γ -orizanol em arroz integral e parboilizado integral recém-colhidos, armazenados, cozidos recém-colhidos e cozidos após armazenamento (mg/kg arroz (base seca)).

Processamento	Integral		Parboilizado integral	
	Totóis totais	γ -orizanol	Totóis totais	γ -orizanol
Recém-colhido (n=27)	24,8 $\pm$ 3,7	187,9 $\pm$ 20,6	8,4 $\pm$ 3,7	154,3 $\pm$ 20,7
Armazenado (n=9)	7,5 $\pm$ 5,6	150,5 $\pm$ 20,7	3,7 $\pm$ 1,6	118,6 $\pm$ 11,4
Armazenado e cozido (n=9)	3,3 $\pm$ 2,5	140,0 $\pm$ 19,2	1,6 $\pm$ 0,7	110,3 $\pm$ 10,6

A parboilização, o armazenamento por seis meses e a cocção caseira do arroz causaram perdas significativas na concentração de todos os compostos bioativos.

No arroz armazenado e cozido, tanto integral quanto parboilizado integral, os teores de vitamina E são insignificantes, mas o γ -orizanol ainda mantém uma quantidade significativa, retendo no mínimo 70% da sua concentração inicial cujo efeito biológico merece ser investigado.

Apesar do processo de parboilização e armazenamento, o γ -orizanol permanece ser bem estável. Possivelmente essa concentração exerça a atividade antioxidante mensurável sob o ponto de vista hipocolesterolêmico.

5.3.3 Estimativa da atividade antioxidante do arroz integral e integral parboilizado

Diversas técnicas têm sido utilizadas para determinar a atividade antioxidante *in vitro*, de forma a permitir uma rápida seleção de substâncias e/ou misturas potencialmente interessantes para simular a inibição da peroxidação *in vivo*.

Dentre esses métodos, os ensaios antioxidantes hoje disponíveis podem ser baseados em reações de oxido-redução, conhecidos como métodos indiretos, ou ensaios mediados por estudos de cinética química, também denominados de métodos diretos (HUANG *et al.*, 2005).

Um dos testes *in vitro* indireto é o teste que avalia a capacidade sequestrante do radical estável DPPH $^{\bullet}$ (2,2-difenil-1-picril-hidrazina). Este método baseia-se na redução do radical DPPH $^{\bullet}$ pela captura de um H $^{\bullet}$ de um antioxidante em estudo (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995).

Este método foi escolhido para estimar a atividade antioxidante dos extratos de arroz, pois é muito utilizado na determinação de compostos em meio metanólico, além de ser um método rápido e simples, útil quando se pretende analisar elevado número de amostras.

Os valores apresentados na Tabela 17 representam a atividade antioxidante dos extratos de arroz integral e parboilizado integral, expressos em % do radical DPPH $^{\bullet}$ remanescente e em μ moles equivalentes de Trolox (TE) por 100g de arroz.

Tabela 17 – Atividade antioxidante de arroz integral e parboilizado integral medida pelo método do radical estável DPPH[•], expressa em μmol equivalentes de trolox por 100g arroz, e porcentagem de perda da intensidade com o processamento.

Beneficiamento	% DPPH rem.	Atividade Antioxidante	% Perda
		$\mu\text{moleqTE}/100\text{g}^1$	
Integral (n=27)	20,1	26,5 $\pm$ 1,4	58%
Parboilizado (n=27)	43,1*	11,3 $\pm$ 1,8*	

¹: atividade antioxidante expressa em μmol equivalentes de Trolox por 100g arroz em base seca. Resultados expressos como média das cultivares $\pm$ desvio padrão. *valores na mesma coluna, houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) pelo teste *t* de Student para amostras dependentes.

A porcentagem de DPPH[•] remanescente, avaliada após 10 minutos de reação entre o extrato de arroz integral e a solução de DPPH[•] foi em torno de 20%. Este resultado significa que o antioxidante presente na amostra de arroz foi capaz de sequestrar aproximadamente 80% do radical livre DPPH[•]. Com essa redução, a atividade antioxidante calculada em μmoles de equivalentes de Trolox (TE) foi de 27 μmoles TE/100g de arroz integral.

Após o tratamento térmico, a capacidade antioxidante diminuiu em mais de 50% ($p < 0,05$). O DPPH[•] remanescente foi 43%, nos 10 minutos de reação, o que representa uma atividade antioxidante da ordem de 11 μmoles de TE/100g de arroz parboilizado integral ($p < 0,05$).

Este resultado mostra que a degradação de parte dos compostos bioativos após o processo de parboilização repercutiu em menores atividades antioxidantes.

Farelo de arroz, proveniente do Paquistão, tratado termicamente em temperaturas acima de 120°C, também apresentou queda na atividade antioxidante avaliada pela mesma metodologia utilizada (IQBAL *et al.*, 2005).

O ensaio da capacidade de absorção do radical oxigênio (ORAC) foi utilizado neste trabalho para complementar à estimativa da capacidade antioxidante do arroz integral e parboilizado integral e fazer uma comparação entre as duas metodologias.

Este ensaio foi desenvolvido por Ou *et al.* (2001) e Huang *et al.* (2002,2005) para a avaliação de antioxidantes cujos mecanismos de ação se assemelham aqueles que ocorrem em sistemas fisiológicos, haja vista que usa um radical peroxila, em meio de reação com pH neutro e temperatura de 37°C. Além disso, a medida de fluorescência não sofre interferência de amostras que possuem pigmentos coloridos, e quantifica os resultados usando a técnica da área sob a curva de decréscimo (AUC) (CAO & PRIOR, 1999).

Os resultados da capacidade antioxidante pelo método de ORAC estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18 – Atividade antioxidante de extratos metanólicos das amostras de arroz integral e parboilizado integral medida pelo ORAC, expressa em equivalentes de Trolox ($\mu\text{mol}/100\text{g}$ arroz), e porcentagem de perda com o processamento.

Beneficiamento	Atividade Antioxidante	% Perda
	$\mu\text{moleqTrolox}/100\text{g}^1$	
Integral (n=27)	1291 $\pm$ 140	62%
Parboilizado (n=27)	486 $\pm$ 164*	

¹: atividade antioxidante expressa em μmol equivalentes de Trolox por 100g arroz em base seca. Resultados expressos como média das cultivares $\pm$ desvio padrão. *valores na mesma coluna, houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) pelo teste t de Student para amostras dependentes.

A capacidade antioxidante das amostras de arroz integral foi 1291 $\mu\text{moles TE}/100\text{g}$ arroz e por este método, a redução na capacidade antioxidante foi de 62%.

A atividade antioxidante determinada pelo método DPPH[•] foi em média 45 vezes menor que a do ORAC indicando uma maior sensibilidade do método ORAC. Porém, a atividade antioxidante obtida pelos dois métodos, revelou que em termos absolutos os valores não são comparáveis entre si, mas por ambos os métodos foi possível identificar a mesma perda causada pela parboilização do arroz.

A partir dos resultados procuramos verificar uma possível correlação entre os teores de compostos bioativos e a capacidade antioxidante apresentada por cada método.

Na tabela 19 estão apresentados os valores de correlação de Pearson entre os compostos bioativos do arroz e a capacidade antioxidante pelas duas metodologias (DPPH[•] e ORAC).

Tabela 19 – Correlação de Pearson entre a capacidade antioxidante pelas metodologias do DPPH[•] e ORAC e os teores de cada um dos compostos bioativos de arroz integral e parboilizado integral.

Metodologia	α -T3	γ -T3	α -T	γ -T	Tocóis Totais	γ -orizanol
DPPH [•]	0,8178	0,7561	0,9096	0,8782	0,8240	0,6069
	(0,0000*)	(0,0000*)	(0,0000*)	(0,0000*)	(0,0000*)	(0,0001*)
ORAC	0,7486	0,6988	0,8554	0,8164	0,7635	0,4846
	(0,0000*)	(0,0000*)	(0,0000*)	(0,0000*)	(0,0000*)	(0,0001*)

Valores dos coeficientes de correlação "r" e de "p" entre parênteses

* significativo a $p < 0,01$

Estatisticamente, o coeficiente de correlação (r) mostra a intensidade da associação entre as duas variáveis envolvidas de acordo com a sua intensidade. Portanto, valor de r entre 0,9-1,0 houve uma correlação muito forte, entre 0,6-0,9 correlação forte, entre 0,3-0,6 correlação regular e entre 0,0-0,3 fraca correlação (RODRIGUES & IEMMA, 2005).

A vitamina E apresentou a maior correlação com a atividade antioxidante do arroz por ambas as metodologias. Os teores de tocóis totais apresentaram uma forte correlação positiva com a atividade antioxidante ($r=0,8240$; $p<0,01$ pelo DPPH; $r=0,7635$; $p<0,01$ pelo ORAC) por ambos os métodos. Avaliando cada homólogo da vitamina E, nota-se que todos participam da atividade antioxidante do arroz.

O teor γ -orizanol apresentou forte correlação positiva e significativa ($r=0,6069$; $p<0,01$) com a atividade antioxidante pelo método de DPPH e correlação regular ($r=0,4846$; $p<0,01$) pelo método de ORAC, indicando também ter contribuído significativamente com a atividade antioxidante, porém em uma intensidade menor.

Com isso, possivelmente, os homólogos da vitamina E sejam os principais responsáveis pela capacidade antioxidante do arroz, mesmo o grão possuindo concentração 10 vezes inferior ao γ -orizanol.

Apesar dos ensaios do DPPH[•] e ORAC diferirem em relação a metodologia, foi observada correlação muito forte positiva e significativa ($r=0,9169$; $p<0,01$) entre eles. Isto indica que, apesar das diferenças, houve paralelismo entre os métodos, ou seja, quanto maior o valor de DPPH[•], maior o valor no ORAC. No entanto, em todos os casos a correlação entre as variáveis foi menor para o ORAC.

Na tentativa de identificar o componente da vitamina E ou o γ -orizanol que contribui majoritariamente na capacidade antioxidante dos extratos de arroz foi realizado um ensaio com os padrões de γ -orizanol, γ -tocotrienol, α -tocotrienol e α -tocoferol. Cada uma destas substâncias, foi avaliada pelo método do DPPH[•] em relação ao Trolox.

Na Figura 16 estão apresentados os valores de % de redução do radical DPPH[•] das soluções padrão de trolox, γ -orizanol, γ -tocotrienol, α -tocotrienol e α -tocoferol em três concentrações.

Figura 16 – Redução do radical DPPH[•] por soluções padrão de trolox, γ-oryzanol, γ-tocotrienol, α-tocotrienol e α-tocoferol.

Nas três concentrações testadas, o α-tocotrienol apresentou o maior poder antioxidante, seguido do α-tocoferol, do γ-tocotrienol e do γ-oryzanol.

A atividade do α-tocotrienol foi apenas 8% inferior à do Trolox; do α-tocoferol 10%; do γ-tocotrienol 32% e do γ-oryzanol 62%, de modo que em termos de atividade absoluta os homólogos da vitamina E foram os mais ativos.

Contudo, é importante observar que apesar da maior capacidade antioxidante, a vitamina E está presente no arroz em concentração 10 vezes menor que o γ-oryzanol.

E ainda, pelo fato da vitamina E ser mais susceptível à grandes perdas durante o armazenamento e qualquer processamento que envolva aquecimento, o γ-oryzanol parece ser o principal responsável pela capacidade antioxidante do arroz integral armazenado ou submetido a parboilização e/ou cozido.

Vale ainda ressaltar que além dos compostos analisados neste estudo, o grão de arroz contém outras substâncias fitoquímicas na sua fração hidrossolúvel, de grande importância biológica. Nesta fração podemos destacar os compostos fenólicos, em especial o ácido ferúlico, que contribuem com propriedades benéficas à saúde humana devido à elevada ação antioxidante, que podem estar presentes

em pequenas concentrações neste extrato de arroz estudado e possuir efeito sinérgico com os compostos bioativos avaliados.

Diversos estudos relatam que a atividade antioxidante dos cereais tem sido subestimada, uma vez que estes apresentam altos teores de fenólicos ligados à fibra (cerca de 70% do total) e que, portanto, não seriam extraídos numa extração convencional com etanol ou metanol acidificado. Estes compostos poderiam ser liberados pela ação enzimática no suco pancreático ou os mais resistentes, com a ação da microflora do colon, no sistema *in vivo*. Desta forma, estes compostos poderiam eventualmente ser liberados durante a digestão e promover efeitos benéficos no intestino (ADOM & LIU, 2002; PEREZ-JIMENES & SAURA-CALIXTO, 2005).

No presente trabalho, o maior interesse foi nas substâncias presentes na fração insaponificável do arroz integral. Porém, a contribuição dos fenólicos, bem como possíveis efeitos sinérgicos com os tocóis e o γ -orizanol, devem ser levados em consideração na avaliação da capacidade antioxidante total do arroz.

O teor e a atividade antioxidante dos tocoferóis, tocotrienóis e γ -orizanol, aliados aos compostos fenólicos, sugerem que o arroz integral e os subprodutos de arroz, como farelo, farinha de arroz integral e óleo de arroz, possam ser importantes na formulação de alimentos funcionais.

Além disso, mais estudos relacionados à atividade biológica *in vivo* são necessários a fim de se entender os mecanismos envolvidos nas propriedades hipocolesterolêmica e antioxidante do arroz.

No entanto, o arroz integral ainda não é consumido em grandes proporções pelos consumidores brasileiros. Estudos relacionados ao desenvolvimento de novos produtos à base de arroz integral e farelo, com características sensoriais aceitáveis devem ser conduzidos, seguindo a tendência mundial de maior consumo de cereais integrais para uma dieta mais saudável.

De modo geral, esta pesquisa mostrou que o arroz integral é uma fonte não apenas de amido de alto índice glicêmico, mas também de diversos compostos antioxidantes, embora o impacto do processamento térmico deva ser levado em consideração pela sensibilidade dessas substâncias.

6. CONCLUSÕES

- As amostras de arroz integral com teores intermediários de amilose resultaram nos menores valores de IH, ao redor de 62 a 79% ($p < 0,05$). Nas demais cultivares com altos ou baixos teores de amilose os IH foram de 81,1 e 88,6%, respectivamente, em relação ao pão, considerado 100%;
- A parboilização, nas condições empregadas, não promoveu redução no índice de hidrólise do amido *in vitro* (IH) do arroz;
- O arroz, independente da forma de beneficiamento e do teor de amilose apresentou alta digestibilidade do amido, com valores de IH e IG estimados semelhantes ao do pão branco. O valor médio do índice glicêmico estimado (IG*) foi de 83%;
- Os teores de vitamina E, como somatória dos homólogos e do γ -orizanol das 27 amostras de arroz integral analisados foram em média 25 mg/kg e 188mg/kg de arroz, respectivamente. Estes teores não variaram entre as cultivares e as diferentes regiões de cultivo;
- A parboilização, o armazenamento por seis meses e a cocção caseira do arroz causaram perdas significativas na concentração de todos os compostos bioativos. Os homólogos da vitamina E foram os mais atingidos em todas as condições, enquanto o γ -orizanol retém no mínimo 70% da sua concentração inicial de modo que o γ -orizanol parece ser o principal responsável pela capacidade antioxidante do arroz integral, armazenado e cozido ou submetido a outro tipo de aquecimento;
- Os teores de vitamina E apresentaram forte correlação com a atividade antioxidante do arroz pelas duas metodologias DPPH• e ORAC ($r = 0,8240$; $p < 0,01$ no DPPH; $r = 0,7635$; $p < 0,01$ no ORAC), apesar da sua concentração ser 10 vezes menor que a do γ -orizanol;

- O teor de γ -orizanol apresentou forte correlação positiva e significativa ($r=0,6069$; $p<0,01$) com atividade antioxidante pelo método de DPPH e correlação regular ($r=0,4846$; $p<0,01$) pelo método de ORAC.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIAP – Associação Brasileira de Arroz Parboilizado. **Dados de 2007**. On-line. Disponível na Internet: <<http://www.abiap.com.br>> Acesso em novembro de 2009.
- ADOM, K.K., LIU, R.H. Antioxidant activity of grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.50, n.21, p.6182-6187, Oct. 2002.
- AGUILAR-GARCIA, C., GAVIANO, G., BARAGÃO-MOSQUEDA, M., HEVIA, P., GAVINO, V.C. Correlation of tocopherol, tocotrienol, γ -oryzanol and total polyphenol content in Rice bran with different antioxidant capacity assays, **Food Chemistry**, v.102, p.1228 – 1232, 2007.
- AMATO, G. W., ELIAS, M. C. **Parboilização do arroz**. Porto Alegre: Editora Ricardo Lenz Ziede, p.160, 2005.
- AOAC. Official methods of analysis of AOAC, 16th. Ed. AOAC International, Arlington, VA, USA, 1995.
- BARATA, T.S. **Caracterização do consumo de arroz no Brasil: um estudo na Região Metropolitana de Porto Alegre**. Dissertação (Mestrado). Porto Alegre: UFRGS/Cepan., p.93, 2005.
- BERGER, A.; REIN, D.; SCHAFER, 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, n.3, p.163-173, 2005.
- BERGMAN, C.J., XU, Z. Genotype and environment effects on tocopherol, tocotrienol, and γ -oryzanol contents of Southern U.S. rice. **Cereal Chemistry**, v. 80 p.446-449, 2003.

- BJORCK, I., GRANFELDT, Y., LILJEBERG, H., TOVAR, J., ASP, N.G. Food properties affecting the digestion and absorption of carbohydrates. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.59, 699S-705S, 1996.
- BLOIS, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical, **Nature**, v.181, p.1199-1200, 1958.
- BONDET, V., BRAND-WILLIAMS, W. & BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DDPH* free radical method. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie (LWT)**, V.30, p.609-615, 1997.
- 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.
- BRAND-MILLER, J., PANG, E., BRAMALL, L. Rice: a high or low glycemic index food? **American Journal of Clinical Nutrition**, v.56, p.1034-1036, 1992.
- BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M.E., BERSET, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie**, v.28, p.25-30, 1995.
- CAO, G., PRIOR, R. Measurement of Oxygen Radical Absorbance Capacity in Biological samples. Oxidants and Antioxidants. **Methods in Enzymology**, v.299, p.50-62, 1999.
- CAPRILES, V.D., GUERRA-MATIAS, A.C., ARÊAS, J.A.G. Marcador *in vitro* da resposta glicêmica dos alimentos como ferramenta de auxílio à prescrição e avaliação de dietas. **Revista da Nutrição**, v.22, n.4, p.549-557, 2009.
- CARREIRA, M.C., LAJOLO, F.M., MENEZES, E.W. Glycemic Index: Effect of Food Storage under Low Temperature. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.47, n.4, p. 569 – 574, 2004.

- CASIRAGHI, M.C., BRIGHENTI, F., PELLEGRINI, N., LEOPARDI, E., TESTOLIN, G. Effects of processing on rice starch digestibility evaluated by in vivo and in vitro methods. **Journal of Cereal Science**, v.17, p.147-156, 1993.
- CICERO, A. F. G., GADDI A. Rice bran oil and γ -oryzanol in the treatment of hyperlipoproteinaemias and other conditions. **Phytotherapy Research**, v.15, p.277 – 289, 2001.
- CHAMPAGNE, E.T. **Rice: Chemistry and Technology**, 3. Ed. Edited by Published, Hardback, p. 640, 2004.
- CHEN, M.H., BERGMAN, C.J. A rapid procedure for analyzing rice bran tocopherol, tocotrienol and γ -oryzanol contents. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, p.319-331, 2005.
- 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 the Science of Food Agriculture**, v.85, 1715-1724, 2005.
- COFFMAN, W.R., JULIANO, B.O. **Rice**. In: Olson, R.A., Frey, K.J. Nutritional quality of cereal grains: Genetic and agronomic improvement. Madison: American Society of Agronomy, cap.5, p.101-131, 1987.
- CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Dados estatísticos publicados no período: 23 a 27.08.2010.** On-line. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>> Acesso em setembro 2010.
- CUNHA, S.C., AMARAL, J.S., FERNANDES, J.O., OLIVEIRA, M. B. Quantification of tocopherols and tocotrienols in portuguese olive oils using HPLC with three different detection systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.54, p.3351-3356, 2006.

DENARDIN, C. C., SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amido e sua relação com propriedades físico-químicas. **Ciência Rural**, v.39, n.3, 2009.

ELIAS, M.C. Espera para secagem e tempo de armazenamento na qualidade de arroz para semente e indústria. In: **Tese Doutorado**, UFPel, Pelotas, 164p, 1998.

ELIASSON A.C., Carbohydrates in food. New York: Marcel Dekker, Inc., 1996.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, **ISSN 1679-8869 Versão eletrônica**, Nov/2004. On-line. Disponível na Internet: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrigadoTocantins/index.htm>> Acesso em setembro de 2010.

EMBRAPA 2005. III Plano Diretor 2004-2007. On-line. Disponível na Internet: <www.cnpaf.embrapa.br/corporativa/pdu2005.pdf> Acesso em outubro de 2009.

ENCYCLOPEDIA BRITANNICA, INC On-line. Disponível na Internet: <www.britannica.com/EBchecked/topic-art/502259/164/the-outer-layer-and-internal-structures-of-a-rice-grain> Acesso em novembro de 2009.

ENGLYST H.N., CUMMINGS J.H. Digestion of polysaccharides of potato in the small intestine of man. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.45, p.423-31, 1987.

ENGLYST, H.N., KINGMAN, S.M., CUMMINGS, J.H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. **European Journal of Clinical Nutrition**,; V.46, (2 Suppl):S33-S50,1992.

ENGLYST, H.N., HUDSON, G. J. The classification and measurement of dietary carbohydrates. **Food Chemistry**, v.57, p.15–21, 1996.

ENGLYST, K.N., ENGLYST, H.N., HUDSON, G.J., COLE,T.J., CUMMINGS, J. Rapidly available glucose in foods: an in vitro measurement that reflects the glycemic response. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.69, p.448-454,1999.

FALCONE, M. Fabricação de arroz parboilizado. **Revista Politécnica**, n.190, 1988.

(FAO/WHO) – Food and Agricultural Organization/World Health Organization Carbohydrates in Human Nutrition: **Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation**, April 14–18, 1997, Food and nutrition paper, FAO, Rome, 140p. 1998.

FAOSTAT – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistical databases**, 2009. On-line. Disponível na Internet: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>> Acesso em setembro de 2010.

FINOCCHIARO, F., FERRARI, B., GIANINETTI, A., DALL'ASTA, 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**, n.51, p.1006-1019, 2007.

FOSTER-POWELL, K., HOLT, S.H.A., BRAND-MILLER, J. International table of glycemic index and glycemic load values: 2002 **American Society for Clinical Nutrition**, 76:5–56, 2002.

FREI, M., SIDDHURAJU, P. BECKER, K. Studies on the *in vitro* starch digestibility and the glycemic index of six different indigenous rice cultivars from the Philippines. **Food Chemistry**, v.83, n.3, p.395-402, 2003.

FRY, A.C., BONNER, E., LEWIS, D.L., JOHNSON, R.L., STONE, M.H., KRAEMER, W.J. The effects of gamma-oryzanol supplementation during resistance exercise training. **International Journal of Sport Nutrition**, v.7, p. 318 – 329, 1997.

GARCÍA-ALONSO, A., JIMÉNEZ-ESCRIG, A., MARTÍN-CARRÓN, N., BRAVO, L., SAURA-CALIXTO, F. Assessment of some parameters involved in the gelatinization and retrogradation of starch. **Food Chemistry**, v.66, p.181-187, 1999.

- GODDARD, M.S., YOUNG, G., MARCUS, R. The effect of amylose content on insulin and glucose responses to ingested rice. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.39, p.388-392, 1984.
- GOÑI, I., GARCIA-DIZ, L., MAÑAS, E., SAURA-CALIXTO, F. Analysis of resistant starch: A method for foods and food products. **Food Chemistry**, Barking, v.56, n.4, p.445-449, 1996.
- GOÑI, I., GARCIA-ALONSO, A., SAURA-CALIXTO, F.A. A starch hydrolysis procedure to estimate glycemic index, **Nutrition Research**, v.17, n.3, p.427-437, 1997.
- GRAF, E., EATON, J.W. Antioxidant functions of phytic acid. **Free Radical Biology and Medicine**, v.8, p.61-69, 1990.
- GUIMARÃES, E.P. **Qualidade de grãos em arroz**. Trabalho apresentado na VII Reunião da Comissão Técnica de Arroz da Região II (CTArroz-II), Campinas, SP, p. 16, 1989.
- HALLIWELL, B. RAFTER, J AND JENNER, A. Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols and other phenols: direct or indirect effects? Antioxidant or Not? **American Journal of Clinical Nutrition**, suppl 81, p.268S-276S, 2005.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C., **Free Radicals in Biology and Medicine**. Fourth Edition; Oxford University Press; pg 268 – 340, 2007.
- HAUBER GAMEIRO, G.; PEROZZI GAMEIRO, M.B. O consumo de arroz no Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v.46, n.4, p. 1043 – 1066, 2008.
- HEINEMANN, R.J.B., FAGUNDES, P.L., PINTO, E.A., PENTEADO, M.V.C., LANFER-MARQUEZ, U.M. Comparative study of nutrient composition of commercial brown, parboiled and milled rice from Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, n.4, p.287-296, 2005.

- HEINEMANN, R.J.B., XU, Z., GODBER, S., LANFER-MARQUEZ, U.M., Tocopherols, tocotrienols and γ -oryzanol contents in *japonica* and *indica* subspecies of rice (*Oryza sativa* L.), cultivated in Brazil. **Cereal Chemistry**, v.85, n.2, p.243-247, 2008.
- HELBIG, E., ROMANO, C. M., RADÜNZ, A. L., RUTZ, D., DIAS, A.R.G., ELIAS M.C. Efeitos da amilose e do procesamneto na formação e estabilidade do amido resistente em arroz. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, p. 296 – 301, 2007a.
- HELBIG, E., AOSANI, E., ROCHA, J.C., KROLOW, W.S., FAGUNDES, C.A.A., DIAS, A.R.G., ELIAS, M.C. Condições operacionais na parboilização de arroz com diferentes teores de amilose. In: **V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 2007, Pelotas. V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado - XXVII Reunião da Cultura do Arroz Irrigado**. Pelotas : Pallotti, v. II. p. 672-675, 2007b.
- HELBIG, E., DIAS, A.R.G., TAVARES, R.A., SCHIRMER, M.A., ELIAS M.C. Arroz parboilizado: efeito na glicemia de ratos *Wistar*. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, V.58, n.2, p.149-155, 2008.
- HU, P., ZHAO H., DUAN Z., LINLIN Z., WU D. Starch digestibility and the estimated glycemic score of different types of rice differing in amylose contents, **Journal of Cereal Science**, v.40, p.231–237, 2004.
- HUANG, D., OU, B., HAMPSCH-WOODILL, M., FLANAGAN, J., PRIOR, R. High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with microplate fluorescence reader in 96-well format. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, p.4437-4444, 2002.
- HUANG, D., OU, B., PRIOR, R.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.6, p1841-1856, 2005.

HUNT, J. R., JOHNSON, L. K., JULIANO, B. O. Bioavailability of zinc from cooked Philippine milled, undermilled, and brown rice, as assessed in rats by using growth, bone zinc and zinc-65 retention. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.50, n.18, p.5229-5235, 2002.

HURRELL, R.F., REDDY, M.B., JUILLERAT, M.A., COOK, J.D. Degradation of phytic acid in cereal porridges improves iron absorption by human subjects. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v.77, n.5, p.1213-1219, 2003.

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

INFOCOMM (2010). Rice information. On-line. Disponível na Internet: < <http://r0.unctad.org/infocomm/anglais/rice/docs/ia0710en.pdf>> Acesso em setembro de 2010.

INSTRUÇÃO NORMATIVA No 6 (IN 6/2009), **Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do Arroz do Ministério da Agricultura**, Publicado no Diário Oficial da União de 28/05/2009 , Seção 1, 28p., 2009.

IQBAL, S., BHANGER, M.I. & ANWAR, F. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan. **Food Chemistry**, v.93, p.265-272, 2005.

IRGA - Instituto Rio Grandense do Arroz, **Nutrição e saúde**, Porto Alegre, 2005.

On-line. Disponível na Internet:

< <http://200.96.107.174/coma-arroz/paginas/nutricao.php>> Acesso em setembro de 2010.

IRGA - Instituto Rio Grandense do Arroz, **Dados de Safra**, Porto Alegre, 2009.

On-line. Disponível na Internet:

< http://www.irga.rs.gov.br/index.php?action=dados_safra> Acesso em setembro de 2010.

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.

ISO STANDARDS: RICE. Determination of amylose content. Suisse, 4p. (Iso CD: 6647, parte 1 e 2), 1987.

JAISUT, D., PRACHAYAWARAKORN, S., VARANYANOND, W., TUNGTRAKUL, P., SOPONRONNARIT, S. Effects of drying temperature and tempering time on starch digestibility of brown fragrant rice. **Journal of Food Engineering**, v.86, p.251-258, 2008.

JENKINS, D.J.A., WOLEVER, T.M.S., TAYLOR, R.H., BARKER, H., FIELDER, H., BALDWIN, J.M., BOWLING, A.C., NEWMAN, H.C., JENKINS, A.L., GOFF, D.V. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrates exchange. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 34, 362–366, 1981.

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, B.O. **Rice in human nutrition**. Home: FAO, 1993. Disponível On-line <http://www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/t0567e/t0567e00.htm>> Acesso em outubro de 2009.

JULIANO, B.O., BECHTEL, D.B. The rice grain and its gross composition. In: Juliano, B.O. (Ed.). **Rice: chemistry and technology**. Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists, Cap.2, p.17-57, 1985.

- 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.
- KHATOON, S., GOPALAKRISHNA, A.G. Fat-soluble nutraceuticals and fatty acid composition of selected indian rice varieties. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.81, n.10, p.939-943, 2004.
- KHOR, H.T., NG, T.T. Effects of administration of α -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, J.S., KIM, K.N., CHUNG, H.Y. Antioxidant activity of γ -oryzanol and synthetic phenolics compounds. In **IFT Annual Meeting and Food Expo**, 2002. Disponível em: <http://ift.context.com/ift/2002/techprogram/paper_12986.htm>. Acesso em set. 2009.
- KIM, J.S., SUH, M.H., YANG, C.B., LEE, H.G. Effect of gamma-oryzanol on the flavor and oxidative stability of refrigerated cooked beef. **Journal of Food Science**, v.68, p.2423 – 2429, 2003.
- KORACH-ANDRÉ, M. *et al.* Glucose appearance in the peripheral circulation and liver glucose output in men after a large ^{13}C starch meal. **American Society for Clinical Nutrition**, v. 80, p. 881-886, 2004.
- LAI, P., LI, K.Y., LU, S., CHEN, H.H. Phytochemicals and antioxidant properties of solvent extracts from *Japonica* rice bran. **Food Chemistry**, v. 117, p.538-544, 2009.

LAJOLO, F. M., SAURA-CALIXTO, F., WITTIG DE PENNA, E., AND MENEZES, E. W. Fibra dietetica en Iberoamerica: **Tecnologia y salud. Obtencion, caracterizacion, efecto fisiologico y aplicacion en alimentos.** Proyecto CYTED XI.6 "Obtencion y caracterizacion de fibra dietetica para su aplicacion en regimenes especiales"/ CNPq. Editora Varela, São Paulo, 469p., 2001.

LAJOLO, F.M.; MENEZES, E.W. **Carbohidratos en alimentos regionales Iberoamericanos.** São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, p. 648, 2006.

LARSEN, H.N.; CHRISTENSEN, C.; RASMUSSEN, O.W.; TETENS, I.H.; CHOUDHURY, N.H.; THILSTED, S.H.; HERMANSEN, K. Influence of parboiling and physico-chemical characteristics of rice on the glycaemic index in non-insulin-dependent diabetic subjects. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.50, n.1,p.22-27, 1996.

LARSEN, H.N., RASMUSSEN, O.W., RASMUSSEN, P.H., ALSTRUP, K.K., BISWAS, S.K., TETENS, I., THILSTED, S.H., HERMANSEN, K. Glycaemic index of parboiled rice depend on the severity of processing: study in type 2 diabetic subjects. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.54, p.380-385, 2000.

LEE, S., PARK, H., CHUN, H., CHO, S., CHO, S., LILLEHOJ, H. Effects of dietary phytic acid on serum and hepatic lipid levels in diabetic KK mice. **Nutrition Research**, St. Louis, v. 25, n. 9, p. 869-876, Sept. 2005.

LEE, S., PARK, H., CHUN, H., CHO, S., CHO, S., LILLEHOJ, H. Dietary phytic acid lowers the blood glucose level in diabetic KK mice. **Nutrition Research**, St. Louis, v. 26, n. 9, p. 474-479, Sep. 2006.

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 γ -oryzanol. **Food Chemistry**, v.115, p.389-404, 2009. [Review].

- LIU, R.H. Potencial synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **Journal of Nutrition**, v.134, 3479S-3485S, 2004.
- LIU, Z. H., CHENG, F.M., CHENG, W.D., ZHANG, G.P. Positional variations in phytic acid and protein content within a panicle of japonica rice. **Journal of Cereal Science**, v.41, p.297-303, 2005.
- LLONA, A. El índice Glicémico. Uma controvérsia actual. **Nutrición Hospitalaria**, v.21, supl.2, p.55-60, 2006.
- 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.
- LOBO, A.R., LEMOS SILVA, G.M. Amido resistente e suas propriedades físico-químicas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.16, n.2, p. 219-226, 2003.
- LÓPEZ G., ROS G., RINCÓN F., PERIAGO M.J., MARTINEZ C., ORTUÑO J. Propiedades funcionales de la fibra dietética: mecanismos de acción en el tracto gastrointestinal. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.47, n.3, 203-206, 1997.
- 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.
- 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.
- MCCLEARY, B. V., & MONAGHAN, D. A. Measurement of resistant starch. **Journal of AOAC International**, v.85, n.3, p.665–675, 2002.

- MAMIYA T., ASANUMA, T., KISE, M., ITO, Y., MIZUKUCHI, A., AOTO, H., UKAI, M. Effects of pre-germinated brown rice on β -amyloid protein-induced learning and memory deficits in mice, **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.27, p.1041-1045, 2004.
- MENEZES, E.W., LAJOLO, F.M. Utilização do amido de leguminosas. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.45, p.270S–272S, 1995.
- MENEZES, E.W., LAJOLO, F.M., SERAVALLI, E.A.G., VANNUCCHI, H., MOREIRA, E.A.M. Starch availability in Brazilian foods. *In vivo* and *in vitro* assays. **Nutrition Research**, v.16, p.1425–1436, 1996.
- MILLER, A., ENGEL, K. Content of γ -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 γ -oryzanol in rice lipids. **Journal of Chromatography A**, v.985, p.403–410, 2003.
- MIRA, N. V. M., MASSARETTO, I. L., PASCUAL, C.S.C.I, LANFER-MARQUEZ, U. M. 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.
- MOLYNEUX, P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazil (DPPH) for estimating antioxidant activity. **Journal of Science and Technology**, v.26, n.2, p.211-219, 2004.
- NACZK, M. & SAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, v.1054 p.95-111, 2004.

- NAKAYAMA, S.; MANABE, A.; SUZUKI, J.; SAKAMOTO, K.; INAGAKI, T. Comparative effects of two forms of γ -oryzanol in different sterol compositions on hyperlipidemia induced by cholesterol diet in rats. **The Journal of Pharmacological Sciences**, v.44, p.135-143, 1987.
- NAM, S.H., Choi, S.P., Kang, M.Y., Kozukue, N., Friedman, M. Antioxidative, antimutagenic, and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v.53, n.3, p.816-822, Feb. 2005.
- NANUA, J.N., MCGREGOR, J.U., GODBER, J.S. Influence of high-oryzanol rice bran oil on the oxidative stability of whole milk powder. **Journal of Dairy Science.**, v.83, p.2426 – 2431, 2000.
- NISHI, A., NAKAMURA, Y., TANAKA, N., SATOH H. Biochemical and Genetic Analysis of the Effects of Amylose-Extender Mutation in Rice Endosperm. **Plant Physiology**, V. 127, p. 459-472, 2001.
- OKA, T., FUJIMOTO, M., NAGASAKA, R. USHIO, H., HORI, M., OZAKI, H. Cycloartenyl ferulate, a component of rice bran oil-derived γ -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.
- OU, B., HAMPSCH-WOODILL & PRIOR, R. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.4619-4626, 2001.

- PANLASIGUI, L. N., THOMPSON, L. U., JULIANO, B. O., PEREZ, C. M., YIU, S. H., GREENBERG, G. R. Rice varieties with similar amylose content differ in starch digestibility and glycemic response in humans. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.54, p.871-877, 1991.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J e SAURA-CALIXTO, F. Literature data may underestimate the actual antioxidant capacity of cereals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.5036-5040, 2005.
- PETERSON, D. M. Oat tocopherols: concentration and stability in oat products and distribution within the kernel. **Cereal Chemistry**, v.72, p.21 –24, 1995.
- 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.
- QURESHI, A.A., BRADLOW B.A., SALSER W.A., BRACE L.D. Novel tocotrienols of rice bran modulate cardiovascular disease risk parameters of hypercholesterolemic humans. **Journal of Nutritional Biochemistry**, Oxford, v.8, n.5, p.290-298, 1997.
- 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.
- RODRIGUES, M.I., IEMMA, A.F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamentos**. 1ª. Ed. – Campinas, SP: Casa do Pão Editora, 326p., 2005.
- ROHRER, C. A., SIEBENMORGEN, T. J. Nutraceutical Concentrations within the Bran of Various Rice Kernel Thickness Fractions, **Biosystems Engineering**, v.88, n.4, p.453 -460, 2004.

- ROSS, J.A. & KASUM, C.M. Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. **Annual Review of Nutrition**, v.22, p.19-34, 2002.
- ROSIN, P.M., LAJOLO, F.M., MENEZES, E.W. Measurement and Characterization of Dietary Starches, **Journal of Food Composition and Analysis**, v.15, n.4, p.367-377, 2002.
- RYYNANEN, M., LAMPI A.M., SALO-VAANANEN, P., OLLILAINEN, V., PIIRONEN, V. A small-scale sample preparation method with HPLC analysis for determination of tocopherols and tocotrienols in cereals. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.17, p.749–765, 2004.
- SAIKUSA, T., HORINO T., MORI, Y. Distribution of free amino acids in the rice kernel and kernel fractions and the effect of water soaking on the distribution. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.42, p.1122-1125, 1994.
- SHAMAI, K., BIANCO-PELED, H., SHIMONI, E. Polymorphism of resistant starch type III. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v.54, n.3, p.363-369, 2003.
- SCAVARIELLO, E.M.S.; ARELLANO, D.B. γ -orizanol: um importante componente del aceite de salvado de arroz. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v.48, n.1, p.7-12, 1998.
- SEITZ, L.M. Stanol and sterol esters of ferulic and *p*-coumaric acids in wheat, corn, rye, and triticales. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.37, p.662-667, 1989.
- SHAMSUDDIN, A.M. et al. IP6: a novel anti-cancer agent. **Life Sciences**, v.61, p.343-354, 1997.
- SILVA, L.H.; COSTA, P.F.P.; DIAS, A.R.G.; ELIAS, M.C. Temperatura de encharcamento no grau de gelatinização e no rendimento do arroz parboilizado. **Tecnológica**, p.9-18, 2005.

SLOAN, A.E. Wholly grain! **Food Technology**, Chicago, v.59, n.6, p.16, 2005.

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.

STATISTICA 8.0 for Windows, v. 1. Tulsa, OK: StatSoft Inc. Software, 2007.

STORCK, C.R., SILVA, L.P., FAGUNDES, C.A.A. Categorizing rice cultivars based on differences in chemical composition. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, p.333-341, 2005.

TABART, J., KEVERS, C., PINCEMAIL, J., DEFRAIGNE, J.O., DOMMES, J. Comparative antioxidant capacities of phenolic compounds measured by various tests. **Food Chemistry**, v.113, p.1226 – 1233, 2009.

TBCA – USP Tabela Brasileira de Composição de Alimentos, versão 5.0, Agosto de 2008. On-line. Disponível na Internet: <www.fcf.usp.br/tabela>.

TETENS, I., BISWAST, S.K., GLITSO, L.V., KABIR, K.A., THILSTED, S.H., CHOUDHURY, N.H. Physico-chemical characteristics as indicators of starch availability from milled rice. **Journal of Cereal Science**, v.26, p.355-361, 1997.

THERIAULT, A., CHAO, J., WANG, Q., GAPOR, A., ADELI, K. Tocotrienol: A review of its therapeutic potential, **Clinical Biochemistry**, v.32, n.5, p.309-319, 1999.

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

- TRIBESS T.B., HERNÁNDEZ-URIBE J.P., MÉNDEZ-MONTEALVO M.G.C., MENEZES E.W., BELLO-PEREZ L.A., TADINI C.C. Thermal properties and resistant-starch content of green banana flour (*Musa cavendishii*) produced at different drying conditions, **Food Science and Technology**, v.42, p.1022-1025, 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.
- VANDEPUTTE, G.E., DELCOUR, J.A. From sucrose to starch granule to starch physical behavior: a focus on rice starch. **Carbohydrate Polymers**, v.58, p.245-266, 2004.
- VERGHESE, M., RAO, D.R., CHAWAN, C.B., WALKER, L.T., SHACKELFORD, L. Anticarcinogenic effect of phytic acid (IP6): apoptosis as a possible mechanism of action. **LWT Food Science and Technology**, v.39, p.1093-1098, 2006.
- WALTER, M., MARCHESAN, E., AVILA, L.A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v.38, p.1184-1192, 2008.
- WHFOODS – The world's healthiest food. George Metaljan Foundation.
On-line. Disponível na Internet:
<<http://www.whfoos.com/genpage.php?tname=foodspice&dbid=128>> Acesso em outubro de 2009.
- 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.

- WOLEVER, T.M.S.; JENKINS, D.J.A.; KALMUSKY, J.; JENKINS, A.; GIORDANO, C.; GIUDICI, S.; JOSSE, R.G.; WONG, G.S. Comparison of regular and parboiled rices: explanation of discrepancies between reported glycemic responses to rice. **Nutrition Research**, v.6, p.349 – 357, 1986.
- WOLEVER, T.M.S. Physiological mechanisms and observed health impacts related to the glycaemic index: some observations. **International Journal of Obesity**, 30, S72–S78. doi:10.1038/sj.ijo.0803496, 2006.
- WONG, S., TRAIANEDES, K., O'DEA, K. Factors affecting the rate of hydrolysis of starch in legumes. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.42, p.38-43, 1985.
- WU, X., GU, L., HOLDEN, J., HAYTOWITZ, D., GEBHARDT, S., BEECHER, G., AND PRIOR, R. Development of a Database for Total Antioxidant Capacity in Foods: a Preliminary Study. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.17, p.407-422, 2004.
- WYATT, C. J., CARBALLIDO, S., & MENDEZ, R. O. Alpha- and gamma tocopherol content of selected foods in the Mexican diet: effect of cooking. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.4657 – 4661, 1998.
- XU, Z., GODBER, J.S. Purification and identification of components of γ -oryzanol in rice bran 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.; HUA, N.; GODBER, J.S. Antioxidant activity of tocopherol, tocotrienols, and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis (2 methylpropionamidine) dihydrochloride. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 49, p. 2077-2081, 2001.

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.

APÊNDICE A – Mapa do Estado de Santa Catarina indicando as regiões de origem das amostras de arroz: (1) Litoral Sul; (2) Litoral Norte; (3) Alto Vale do Itajaí.

As identificações (1, 2 e 3), referem-se aos municípios de Turvo, Massaranduba e Rio do Sul, respectivamente localizados nas regiões Litoral Sul, Litoral Norte e Alto Vale do Itajaí. Destacamos que em todas as regiões utiliza-se o mesmo sistema de cultivo (pré-germinado).

As principais diferenças são:

a) temperatura:

No Litoral Norte, a estação do ano adequada ao cultivo do arroz é mais ampla. Nesta região, as semeaduras concentram-se no período de agosto a outubro e a colheita, de janeiro a março. No Litoral Sul e Alto Vale, existem mais restrições de temperatura, e o plantio concentra-se nos meses de setembro a novembro. No Alto Vale, devido à altitude mais elevada (300 a 400 m), as noites são mais frias, especialmente no período reprodutivo do arroz, contribuindo para o aumento na fotossíntese líquida, e consequente aumento no

potencial produtivo. Esta região apresenta a maior produtividade média de SC (superior a 9 t/ha), enquanto a média de SC é de 7 t/ha.

b) Altitude:

Enquanto na faixa litorânea (regiões sul e Litoral Norte), a altitude varia de 1 a 50m (em média), no Alto Vale, a maioria das lavouras está numa altitude média de 300 a 400 m.

APÊNDICE B – Isotermas de adsorção de água das cultivares de arroz na etapa de encharcamento durante o processo de parboilização.

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, (11) 3091 3621.

São Paulo, 11 de dezembro de 2009.

Profa. Dra. Bernadette D. G. M. Franco
Presidente da CPG/FCF/USP

ANEXO B – Currículo Lattes do candidato

Dados Pessoais

Nome	Cristina de Simone Carlos Iglesias Pascual
Nascimento	06/03/1977 - São Paulo/SP - Brasil
CPF	26169289813

Formação Acadêmica/Titulação

2006	Doutorado em Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil Título: Efeito da parboilização do arroz (<i>Oryza sativa</i> L.) sobre o índice de hidrólise do amido in vitro e os compostos bioativos Orientador: Ursula Maria Lanfer-Marquez Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
2002 - 2005	Mestrado em Farmácia (Análise de Alimentos). Universidade de São Paulo, USP, São Paulo, Brasil Título: Caracterização físico-química e purificação de enzimas amilolíticas de mandioca (<i>Manihot esculenta</i> Crantz) cv. Zolhudinha, Ano de obtenção: 2005 Orientador: Flavio Finardi Filho Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
1995 - 2000	Graduação em Engenharia de Alimentos. Escola de Engenharia Mauá, IMT, Brasil

Formação complementar

2007 - 2007	Curso de curta duração em Bioestatística Aplicada: Noções de Planejamento. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, FCF, Brasil
2006 - 2006	Curso de curta duração em Compostos Bioativos em alimentos e sua relação com. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, FCF, Brasil

Artigos completos publicados em periódicos

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

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1.	<p>★ PASCUAL, C.S.C.I, Barros, R.M.C., MIRA, N. V. M., LANFER-MARQUEZ, U. M. Impact of parboiling on vitamin E and gamma-oryzanol contents in brown rice (<i>Oryza sativa</i> L.) In: XIV Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 2009, São Paulo. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. , 2009. v.45. p.20 - 20</p>
2.	<p>★ MIRA, N. V. M., MASSARETTO, I. L., PASCUAL, C.S.C.I, LANFER-MARQUEZ, U. M. Comparative study on phytochemical compounds in Brazilian rice (<i>Oryza sativa</i>, L.). In: 7th International Food Data Conference, 2007, São Paulo. Food Composition and Biodiversity. , 2007. p.34 - 34</p>
3.	<p>MASSARETTO, I. L., MIRA, N. V. M., PINTO, P. A., PASCUAL, C.S.C.I, NOLDIN, J. A., LANFER-MARQUEZ, U. M. Teores de compostos fenólicos em genótipos de arroz integral antes e após o cozimento. In: XII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 2007, São Paulo. RBCF Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. , 2007. v.43. p.17 - 17</p>
4.	<p>PASCUAL, C.S.C.I, PINTO, P. A., MIRA, N. V. M., MASSARETTO, I. L., FAGUNDES, C. A. A., LANFER-MARQUEZ, U. M. Teores de gama orizanol em genótipos de arroz integral, cru e cozido. In: XII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 2007, São Paulo. RBCF - Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. , 2007. v.43. p.22 - 22</p>
5.	<p>Sanabria, G.G.R., PIRES, T. C. R., PASCUAL, C.S.C.I, FINARDI FILHO, F. EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACION DE ACTIVIDAD POLIGALACTURONASA DE MACA (<i>Lepidium meyenii</i> Walp). In: XIX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos., 2004, Recife. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. , 2004.</p>
6.	<p>PASCUAL, C.S.C.I, FINARDI FILHO, F. ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE ENZIMAS AMILOLÍTICAS DE MANDIOCA (<i>Manihot esculenta</i> Crantz) SA VARIEDADE ZOLHUDINHA In: IX Semana farmacêutica de Ciência e Tecnologia da FCF - USP, 2004, São Paulo - Brasil. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. , 2004. v.40. p.33 - 33</p>
7.	<p>PIRES, T. C. R., PASCUAL, C.S.C.I, FINARDI FILHO, F. AMYLOLYTIC ENZYMES FROM MACA (<i>Lepidium Meyenii</i> Walp.): A STATISTICAL APROACH. In: 4th Congress of Pharmaceutical Sciences, 2003, Ribeirão Preto. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. , 2003. v.39. p.63 - 63</p>
8.	<p>PIRES, T. C. R., PASCUAL, C.S.C.I, FINARDI FILHO, F. EXTRAÇÃO E DETECÇÃO DE ATIVIDADE PECTINAMETILESTERÁSICA E POLIGALACTURONÁSICA EM MANDIOQUINHA-SALSA (<i>Arracacia Xanthorrhiza</i> Bancroft). In: 5º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 2003, Campinas. Cd rom - 5º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos. , 2003. v.1.</p>
9.	<p>PIRES, T. C. R., PASCUAL, C.S.C.I, FINARDI FILHO, F. EXTRAÇÃO E DETECÇÃO DE PECTINAMETILESTERASE E POLIGALACTURONASE EM MANDIOQUINHA-SALSA (<i>Arracacia xanthorrhiza</i> Bancroft). In: VIII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia da FCF-USP, 2003, São Paulo - Brasil. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. , 2003. v.39. p.70 - 70</p>

10.	PASCUAL, C.S.C.I, PIRES, T. C. R., FINARDI FILHO, F. MANDIOCA CV. ZOLHUDINHA: CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS RAÍZES E A FUNÇÃO DE SUAS ENZIMAS AMILOLÍTICAS In: VIII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia da FCF-USP, 2003, São Paulo - Brazil. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. , 2003. v.39. p.42 - 42
11.	PASCUAL, C.S.C.I, PIRES, T. C. R., FINARDI FILHO, F. MANDIOCA CV. ZOLHUDINHA: CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DAS RAÍZES E O PAPEL DE SUAS ENZIMAS AMILOLÍTICAS In: 5º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos, 2003, Campinas. cd rom - 5º Simpósio Latino americano de Ciência de Alimentos. , 2003. v.1.
12.	PASCUAL, C.S.C.I, PIRES, T. C. R., FINARDI FILHO, F. PARTIAL PURIFICATION OF α -AMYLASE FROM CASSAVA In: 4th Congress of Pharmaceutical Sciences, 2003, Ribeirão Preto. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. , 2003. v.39. p.64 - 64
13.	PIRES, T. C. R., PASCUAL, C.S.C.I, FINARDI FILHO, F. WATER HOLDING CAPACITY AND AMYLOSE CONTENT OF PERUVIAN CARROT (<i>Arracacia xanthorrhiza</i> Bancroft. CV. AMARELO DE SENADOR AMARAL) STARCH In: VIII Semana Farmacêutica de Ciência e Tecnologia da FCF - USP, 2003, São Paulo - Brazil. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. , 2003. v.39. p.69 - 69

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1.	★ PASCUAL, C.S.C.I, Barros, R.M.C., MIRA, N. V. M., ELIAS, M. C., LANFER-MARQUEZ, U. M. Efeito da Parboilização nos Teores de Gama-Orizanol e Vitamina E em Arroz Integral In: VI Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 2009, Porto Alegre/RS. Estresses e sustentabilidade: desafios para a lavoura arrozeira.. Porto Alegre/RS: Orium Comunicações & Marketing, 2009. v.1. p.489 - 492
2.	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. Avaliação do efeito do cozimento no conteúdo de compostos fenólicos em genótipos de arroz integral In: V Congresso brasileiro de arroz irrigado, 2007, Pelotas. Anais do V congresso brasileiro de arroz irrigado. Pelotas / RS: Editado por Ariano Martins de Magalhães Júnior, 2007. v.2. p.636 - 639
3.	★ 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, 2007, Pelotas. Anais do V congresso brasileiro de arroz irrigado. Pelotas / RS: Editado por Ariano Martins de Magalhães Júnior et al, 2007. v.2. p.625 - 628
4.	PASCUAL, C.S.C.I, ARAUJO, V. F., RODRIGUEZ, F. A. T., OLIVEIRA, M., LANFER-MARQUEZ, U. M., ELIAS, M. C. Estabilização de farelo de arroz por imersão em água quente. In: V congresso brasileiro de arroz irrigado, 2007, Pelotas. Anais do V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado. Pelotas / RS: Editado por Ariano Martins de Magalhães Júnior, et al, 2007. v.2