

## Área: Ciência de Alimentos

# ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DE COMPOSTOS FENÓLICOS EXTRAÍDOS DE FARELO DE ARROZ FERMENTADO

**Carolina da Silva Graça, Anelise Christ-Ribeiro, Lidiane Muniz Moreira, Antônio Matias N. de Toledo, Adriana Rodrigues Machado, Eliana Badiale-Furlong e Leonor Almeida de Souza-Soares.**

*Laboratório de Ciência de Alimentos, Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos,  
Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS*

*\*E-mail: carolinasgraca@terra.com.br*

**RESUMO** – O Rio Grande do Sul é responsável por 64,3% da produção nacional de arroz, cujo beneficiamento resulta entre 8 e 11% de farelo de arroz, sendo obtido a partir do seu polimento e é fonte potencial de minerais, fibras, proteínas, vitaminas e óleo. Porém, o farelo de arroz é considerado resíduo agroindustrial. Este é um dos fatos que tem motivado a busca por alternativas de valorá-lo através de diferentes processos, incluindo a fermentação em estado sólido. O objetivo deste trabalho foi extrair compostos fenólicos do farelo de arroz fermentado e avaliar a sua atividade antioxidante através dos métodos de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) e ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfônico) sal diamônio). Os resultados indicam que os compostos fenólicos extraídos do farelo de arroz fermentado pelo fungo *Rhizopusoryzae* em 48 horas mostram-se promissores como inibidores de radicais livres como DPPH e ABTS tendo os maiores valores de inibição em 61,58 e 29,93%, respectivamente.

**Palavras-chave:** DPPH, ABTS, *Rhizopusoryzae*.

## 1 INTRODUÇÃO

O farelo integral é um subproduto originado do processo do beneficiamento do grão descascado, que gera o arroz polido (ou branco). Em geral, contém 12-20% do peso total do grão incluindo pericarpo, tegumento, camada nucelar, camada de aleurona, embrião, e a porção externa do endosperma amiláceo. O farelo de arroz é a parte mais nutritiva do arroz e uma boa fonte de fitoquímicos bioativos, como  $\gamma$ -orizanol, tocoferóis, tocotrienóis e compostos fenólicos, que possuem atividades antioxidantes que são benéficas à saúde (MOONGNARM et al., 2012).

Nos últimos anos, o farelo de arroz tem sido extensivamente estudado por sua atividade antioxidante com o processo de fermentação do farelo de arroz pelo fungo *Rhizopusoryzae*, um micro-organismo que não inclui espécies toxigênicas e é geralmente reconhecido como GRAS (Generally recognized as safe), torna-se

promissor para o aumento do teor de compostos fenólicos e, conseqüentemente, a atividade antioxidante (CHRIST-RIBEIRO et al., 2013). A fermentação em estado sólido propicia transformações decorrentes da atividade metabólica de micro-organismos com conseqüente liberação de compostos de interesse tais como proteínas, compostos fenólicos e outros (FEDDERN et al., 2008; OLIVEIRA; 2009).

Portanto, o objetivo do trabalho foi extrair compostos fenólicos do farelo de arroz desengordurado fermentado por *Rhizopusoryzae* e avaliar a sua atividade antioxidante através dos métodos de DPPH e ABTS.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### Matéria prima

Para este trabalho foi utilizado farelo de arroz desengordurado, com granulometria padronizada de 32 mesh, como substrato para o fungo filamentosso *Rhizopusoryzae* CCT 7560 (Banco de Colônias da Fundação Tropical André Tosello) onde o tempo de 48 horas foi utilizado para a análise dos antioxidantes.

### Extração de compostos fenólicos

Os compostos fenólicos da biomassa de farelo de arroz fermentado foram extraídos a frio com metanol, na proporção de 1:8 (p/v) a 25 °C durante 120 minutos, sob agitação orbital a 160rpm, com uma interrupção de 15 minutos, com nova adição de solvente e agitação por mais 60 min. As soluções metanólicas foram secas em rotaevaporador e o resíduo foi dissolvido em água destilada. O extrato foi clarificado com hidróxido de bário 0,1 M e sulfato de zinco a 5%, deixado em repouso por 20 minutos, centrifugado a 3220xg por 15 minutos, filtrado e avolumado com água destilada em balão volumétrico de 50 mL. O conteúdo fenólico livre foi determinado pelo método de Folin-Ciocateau, onde a concentração foi determinada por espectrofotometria no comprimento de onda 750 nm, utilizando uma curva padrão de ácido gálico (2,5 a 22,5 µg/mL) (SOUZA et al., 2009).

### Atividade antioxidante por DPPH

Foi utilizado padrão de DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) na proporção p/v de (1:5000) dissolvidos em metanol e refrigerados. A partir desta solução foram coletados 10 mL e diluídos com metanol em 100 mL armazenados em frasco âmbar, e refrigerado. A atividade antioxidante foi avaliada adicionando-se em tubos de ensaio 0,5 mL de extrato, 0,5 mL de metanol e 3 mL da solução de DPPH na concentração de  $5,2 \cdot 10^{-5}$  mol/L. Sendo testados nos tempos 0, 30, 60, 90, 120, 150, 180 min em espectrofotômetro a 515 nm, em ausência de luz. (Santos et al., 2011).

### Atividade antioxidante por ABTS

O padrão de ABTS (2,2' - azino-bis(3-etilbenzotiazolona-6-ácido sulfônico) sal de amônio) foi dissolvido em água destilada na concentração de 7mM. Simultaneamente foi preparada uma solução de persulfato de potássio na concentração de 2,45 mM. Para a avaliação da atividade antioxidante foi realizada a mistura das 2 soluções citadas anteriormente e deixadas em repouso por 12-16 horas em temperatura ambiente. Logo, foram diluídas as soluções de ABTS em etanol para alcançar a absorvância de 0,7 + ou - 0,02 lidas a 734 nm. Para a reação em

tubos de ensaio, foram usados 3 mL da solução diluída para três concentrações do extrato. Os testes foram mantidos no escuro para que evitar contato com a luz. As amostras foram lidas a cada 1 minuto até 6 minutos (Rufino et al., 2007).

#### Tratamento dos dados

Todas as atividades antioxidantes avaliadas nesse trabalho foram submetidas a um controle onde não havia adição do extrato antioxidante. Além disso, as atividades antioxidantes foram expressas como o percentual de inibição (100%) conforme a equação 1.

$$\% \text{Inibição} = ((ADPPH - A_{\text{Extr}}) / ADPPH) * 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Onde ADPPH é a absorvância da solução de DPPH e A<sub>Extr</sub> é a absorvância da amostra em solução.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com os tempos da fermentação estudados para a extração de compostos fenólicos de 0, 24, 48, 72 e 96 horas, foram avaliados os melhores resultados, para que fossem aplicados os testes antioxidantes. Na Tabela 1 encontram-se os resultados dos compostos fenólicos obtidos nos diferentes tempos de fermentação.

Tabela 1. Compostos fenólicos extraídos em diferentes tempos de fermentação.

Tempo de fermentação	Compostos fenólicos (µg/g de amostra)
0 h	1588,9 <sup>e</sup>
24 h	2496,65 <sup>d</sup>
48 h	5396,45 <sup>a</sup>
72 h	3267,62 <sup>c</sup>
96 h	4236,76 <sup>b</sup>

Letras distintas na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

A partir destes resultados foi então escolhido o tempo de fermentação que apresentasse a maior extração de compostos fenólicos, que foi o de 48 horas, e utilizado para a avaliação antioxidante. Foi então utilizado concentrações menores, equivalente a 142,75 µg/mL. Na Tabela 2 estão demonstrados os resultados encontrados para os testes antioxidantes de DPPH nas três concentrações estudadas.

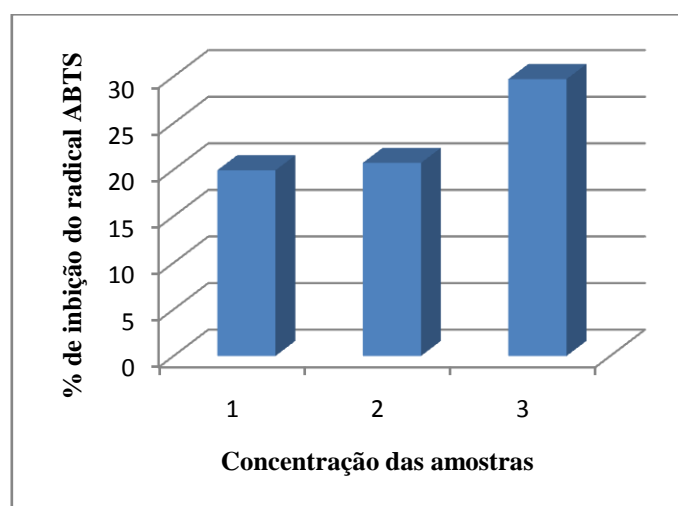
Tabela 2. Atividade antioxidante pelo método de DPPH do farelo de arroz fermentado em 48 horas.

Tempo (min)	14,27 µg/mL (%)	21,41 µg/mL (%)	28,55 µg/mL (%)
0	0 <sup>b</sup>	0 <sup>b</sup>	3,49 <sup>a</sup>
30	22,97 <sup>c</sup>	34,94 <sup>b</sup>	47,26 <sup>a</sup>
60	27,21 <sup>c</sup>	40,65 <sup>b</sup>	54,15 <sup>a</sup>
90	30 <sup>c</sup>	44,57 <sup>b</sup>	56,79 <sup>a</sup>
120	32,01 <sup>c</sup>	47,86 <sup>b</sup>	61,58 <sup>a</sup>
150	32,01 <sup>c</sup>	47,86 <sup>b</sup>	61,58 <sup>a</sup>

Letras iguais na mesma linha não possuem diferença significativa.

De acordo com a Tabela 2, os resultados mostram que quanto maior a exposição do extrato fenólico ao radical DPPH no decorrer do tempo há maior atividade antioxidante. O tempo de 120 minutos, além de estabilizar a porcentagem de inibição durante a reação, houve as maiores inibições em todas as concentrações utilizadas, destacando-se a concentração de 28,55 µg/mL que inibiram o radical DPPH em 61,58%. Isso indica que o extrato fenólico a partir da doação de hidrogênios, mesmo em baixa concentração, é capaz de reagir com o radical DPPH, reduzindo-o. Na Figura 1 está apresentada a atividade antioxidante em três concentrações diferentes pelo método de ABTS.

Figura 1. Atividade antioxidante por ABTS do farelo de arroz fermentado em 48 horas.



Concentrações das amostras: 1 é referente a 4,28 µg/mL, 2 a 5,71 µg/mL e 3 a 7,13 µg/mL.

A metodologia de ABTS consiste em monitorar o decaimento do cátion-radical ABTS, quando adicionado o extrato antioxidante. Pode-se observar de acordo com a Figura 1, assim como para o método de DPPH, que a porcentagem de inibição do radical ABTS foi diretamente proporcional ao aumento da concentração dos compostos fenólicos aplicados, além disso, os compostos fenólicos apresentaram para o método de ABTS maior inibição na concentração de 7,13 µg/mL equivalente a 29,93%.

## 4 CONCLUSÃO

Os compostos fenólicos extraídos do farelo de arroz desengordurado fermentado por *Rhizopusoryzae* em 48 horas mostram-se promissores como inibidores de radicais livres como DPPH e ABTS tendo os maiores valores de inibição em 61,58 e 29,93%, respectivamente.

## 5 AGRADECIMENTOS

À FAPERGS, CAPES e CNPq.

## 6 REFERÊNCIAS

- CHRIST-RIBEIRO, A., GRAÇA, C. da S., MOREIRA, L. M. e SOUZA-SOARES, L. A. Determinação de compostos funcionais por DPPH em farelo de arroz fermentado. **Cytal – Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, 2013.
- FEDDERN, V.; PINTO, S. S.; NOGUEIRA, K. A.; BADIALE-FURLONG, E.; SOUZA-SOARES, L. A. Influência da composição e da fermentação nas propriedades físico-químicas e nutricionais de multimisturas. **Braz. J. Food Technol.**, v. 11, n. 2, p. 128-133, 2008.
- MOONGNGARMA, A., DAOMUKDA, N., KHUMPIKA, S. Chemical Compositions, Phytochemicals, and Antioxidant Capacity of Rice Bran, Rice Bran Layer, and Rice Germ. **APCBEE Procedia**, 2, 73 – 79, 2012.
- OLIVEIRA, M. S., FEDDERN, V., KUPSKI, L., CIPOLATTI, E. P., BADIALE-FURLONG, E. AND DE SOUZA-SOARES, L. A. Physico-chemical characterization of fermented rice bran biomass. **Food Science and Technology**, p. 7-11, 2009.