



Área: Ciência de Alimentos

COMPOSTOS FENÓLICOS LIVRES E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DOS RESÍDUOS DE EXTRAÇÃO PROTEICA DE FARELO DE ARROZ PRETO

MIREGE ROBAINA VIVIAM*; INAJARA BEATRIZ BROSE PIOTROWICZ; ADRIANO HIRSCH RAMOS; MAURÍCIO DE OLIVEIRA

*Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos, Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas – viviamirege@gmail.com

RESUMO – O arroz é um alimento que está presente diariamente na mesa dos consumidores. As variedades pigmentadas, que possuem muitos benefícios a saúde, podem auxiliar na prevenção de danos celulares e doenças crônicas, como diabetes e câncer. No processo de extração proteica desta matriz, resíduos da extração normalmente são descartados. Este estudo objetivou avaliar o teor de proteína bruta, rendimento proteico, compostos fenólicos livres e atividade antioxidante das frações de arroz preto. Os resultados obtidos das frações de concentrado proteico e resíduo ácido, apresentam valores significativos de atividade antioxidante, de 663,06 mg TROLOX/g e 508,12 mg TROLOX/g, respectivamente, que indica o potencial de prevenção/auxílio no combate à determinadas doenças e além disso, determinando um caminho para o resíduo ácido, além do descarte, pois pode ser aplicado em outros processos industriais na área de alimentos, farmacêutica e nutracêutica.

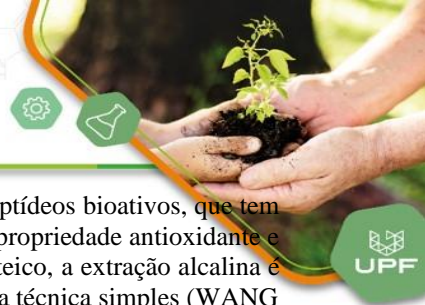
Palavras-chave: compostos fenólicos; antioxidante; farelo de arroz; arroz preto; resíduos proteicos;

1 INTRODUÇÃO

A população mundial tem como base alimentar o arroz, um dos principais cereais cultivado no mundo (SELLAPAN et al., 2009). Dentre muitas variedades do grão, o arroz preto é considerado um tipo especial de arroz devido ao pericarpo escuro. A coloração do pericarpo dos grãos está vinculada ao acúmulo de compostos fenólicos, principalmente antocianinas e proantocianidinas, ausentes em variedades não pigmentadas (MASSARETTO, et al., 2013; Oliveira, M., 2021). A riqueza de nutrientes presentes em arroz de coloração escura, como a preta, está voltada principalmente para o seu pericarpo (Piotrowicz et al., 2019). A coloração do pericarpo dos grãos, uma das principais características que os diferencia visualmente, está vinculada ao acúmulo de compostos fenólicos (Walter, 2009). A pigmentação está associada aos compostos bioativos, que são componentes extra nutricionais e que ocorrem habitualmente em pequenas concentrações nos alimentos. Os chamados metabólitos secundários, que realizam biossíntese de estruturas complexas com atividade biológicas, como alcaloides, terpenoides, derivados de fenilpropanoides, flavonoides, carotenoides, taninos, glicosinolatos, pigmentos, ceras, óleos, esteróis e clorofila (Taiz e Zeiger, 2009), que não é um metabólito secundário, mas que sempre é estudado juntamente com os pigmentos vegetais, sendo chamados de compostos bioativos. Cada material vegetal contém variedade e quantidade de compostos que fortalecem suas características como medicinal, tais características são verificadas pelos teores de compostos bioativos, que são os principais responsáveis pelos efeitos terapêuticos (Simões et al. 2007; Pereira e Cardoso, 2012). A maioria deles são metabólitos secundários e estão associados com os mecanismos de defesa dos vegetais agentes estressores, como fatores bióticos e abióticos (MANACH et al., 2004; HORST; LAJOLO, 2009).

O grão de arroz é constituído por casca, película, germe e endosperma (SOUSA, 2019). O processo de beneficiamento industrial, consiste principalmente nas etapas de limpeza, descascamento, separação, brunimento, homogeneização e classificação para obter o arroz branco polido para a comercialização (FERREIRA, OLIVEIRA & ZIEGLER, 2020). Para Walter et al. (2008), situa-se nas camadas externas do grão a origem do farelo por polimento, local onde estão presentes as maiores concentrações de proteínas, lipídios, fibra, minerais e vitaminas, enquanto o interior é rico em amido. O farelo compreende aproximadamente 15% de proteínas de alto valor biológico (AHMAD et al., 2005), embora variações são passíveis de ocorrer devido à grande variedade existente neste grão, assim como do grau de polimento realizado na indústria durante o beneficiamento para obtenção do arroz polido. Durante esse processo, a película e o germe são retirados pelo polimento dos grãos, dando originando o farelo (SOUSA, 2019).

Uma alta atividade antioxidante é observada em grãos de arroz integrais, que se devem especialmente à concentração de polifenóis no pericarpo, que são ainda mais presentes em grãos pigmentados como os vermelhos e pretos, tornando a atividade ainda maior (NAM et al., 2005). Nos últimos anos, grãos de arroz pigmentado ganharam atenção devido aos benefícios a saúde em virtude destes compostos bioativos, como os compostos fenólicos que agem como antioxidantes, não somente pela sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons, mas também por seus radicais intermediários estáveis, que impedem a oxidação de vários ingredientes do alimento (BRAND-WILLIAMS; CUVÉLIER; BERSET, 1995), além de auxiliar na prevenção de danos celulares e de doenças crônicas, incluindo doenças cardiovasculares, envelhecimento, diabetes e câncer (HYUN e CHUNG, 2004).



Este produto pode ser considerado uma fonte de proteínas e, conseqüentemente de peptídeos bioativos, que tem sido definido como fragmentos de proteínas específicas (KITTS et al. 2003), com importante propriedade antioxidante e anti-hipertensiva (PIOTROWICZ, 2016). No processo para a obtenção deste concentrado proteico, a extração alcalina é uma das diversas técnicas para a extração, sendo vista como convencional, por se tratar de uma técnica simples (WANG et al., 1999) e no final desse processo alguns resíduos são gerados e normalmente descartados. No entanto, estes produtos considerados resíduos podem apresentar importantes componentes nutricionais. Por isso, este trabalho objetivou avaliar a concentração de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante da matéria-prima e das diferentes frações formadas no processo de obtenção do concentrado proteico de farelo de arroz preto.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Lotes de arroz preto da variedade IAC 600, doados pela Empresa JOSAPAR, localizada em Pelotas (RS), foram levados até o Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de grãos (LABGRÃOS) na Universidade Federal de Pelotas, e utilizados neste estudo. Após a recepção do lote de grãos descascados, foram removidas matérias estranhas e impurezas, e acondicionados sob refrigeração (<16°C). Após, os grãos foram submetidos ao polimento (ZACCARIA, PAZ/1-DTA, São Paulo) até atingir o índice de remoção de 8,0%, obtendo-se o farelo integral de arroz preto (FIP). Então procedeu-se a remoção dos lipídios com extração via solvente apolar, com o uso de hexano em extrator Soxhlet. O Farelo desengordurado (FD), foi utilizado para o processo de concentração proteica (*pH-shifting*) utilizando a proporção 1:7 (farelo:água), temperatura de processo de 40°C, pH de solubilização e precipitação de 11,0±0,1 e 4,5±0,1, respectivamente (PIOTROWICZ e SALAS-MELLADO, 2017). Este processo gerou três frações, denominadas de resíduo alcalino (RAP), concentrado proteico (CPP) e resíduo ácido (RACp). Na sequência, o FIP, FD, RAP, CPP e RACp foram submetidos à análise de proteína bruta, conforme proposto pela *American Association of Cereal Chemists* (AACC, 1995), verificando o rendimento proteico das frações de RAP, CPP e RACp (Equação 1), relacionando as massas de produto obtido (Mproduto) com a massa de farelo (MFD) e seus respectivos conteúdos proteicos (Pt produto e Pt FD).

$$RP = [(M_{\text{produto}} \times Pt_{\text{produto}}) / (M_{\text{FD}} \times Pt_{\text{FD}})] \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

Após, foi utilizado 2g do farelo, extraído duas vezes com acetona:água (70:30 v/v). Para a extração, a mistura foi mantida em um agitador mecânico por 1 h a 150 rpm em temperatura ambiente. Após a centrifugação a 4000 rpm por 5 min, os sobrenadantes obtidos foram combinados e concentrados. Após, os extratos foram secos usando um evaporador rotativo a 35 °C. Esses extratos após estarem secos, foram redissolvidos em 20 mL do solvente acetona:água e usado como extrato bruto para quantificação do conteúdo de fenólicos livres, conforme Alves et al. (2016). Para a extração do conteúdo de fenólicos livres, foi utilizado 100 µL do diluído em solução mãe com 400 µL de água destilada, 0,25 mL de Folin-Ciocalteu 1 N, conforme descrito por Singleton e Rossi (1965), com a utilização do ácido gálico como composto padrão usado para calibração em modelo 6705 UV/Vis Spectrophotometer, JENWAY. A atividade antioxidante, pela técnica de sequestro de radical livre DPPH, que consiste em um meio polar em temperatura ambiente e sem qualquer oxigênio adicional, foi realizada conforme Brand-Williams et al. (1995). A análise estatística dos resultados foi submetida a Análise de Variância (ANOVA) e ao teste de Tukey para comparação das médias. Os resultados foram calculados com um nível de significância de 95% (p<0.05).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor de proteína bruta, rendimento proteico, compostos fenólicos livres e a atividade antioxidante do farelo de arroz e frações estão apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Valores de proteína, rendimento proteico, fenólicos livres e DPPH das amostras provenientes do farelo de arroz preto

Fração	Proteína bruta (%)	Rendimento proteico (%)	Fenólicos livres totais (mg eq. ácido gálico g ⁻¹)	DPPH (mg Trolox*/g)
FIP	14,1±0,0 ^b	-	38,67±0,78 ^c	281,08±11,79 ^d
FD	14,9±0,7 ^b	-	45,69±0,73 ^c	334,77±11,66 ^c
RAP	12,2±0,3 ^c	41,30±0,96 ^b	3,24±0,04 ^d	19,45±0,22 ^e
CPP	43,5±0,2 ^a	53,70±0,23 ^a	99,71±3,23 ^a	663,06±5,40 ^a
RACp	3,8±0,1 ^d	5,45±0,13 ^c	80,14±2,37 ^b	508,12±20,77 ^b



FIP: farelo integral preto; FD: farelo desengordurado preto; RAP: resíduo alcalino preto; CPP: concentrado proteico preto; RAcP: resíduo ácido. Valores expressos como Média \pm Desvio padrão de três repetições. *Padrão Antioxidante. Letras distintas na mesma coluna representam diferenças significativas entre as amostras ($p < 0,05$).

Silva et al. (2012), observou que o isolado proteico de farelo de arroz, apresentou 78% de proteína em base seca, no presente estudo é possível observar que a proteína bruta, apresenta maiores concentrações na fração de concentrado proteico (CPP). Diante dos valores observados nas frações do processo, notou-se que a proteína bruta se manteve no concentrado proteico e a parte que não foi precipitada, apresentou-se em menor proporção no sobrenadante (RAcP). O resíduo alcalino (RAP), segundo componente com maior rendimento em proteína, ainda possui componentes importantes e pode ser disponibilizado para ração animal, da mesma forma como faz-se com o farelo (FIREMAN, 1999), compreendendo 12,2% de proteínas, além de fibra alimentar e amido. Nos demais resultados não foram observados diferenças entre as frações em relação a proteína bruta.

Piotrowicz e Salas-Mellado (2017) trabalharam com o concentrado de farelo de arroz pardo e obtiveram diferentes rendimentos proteicos, influenciados pelas condições de diferentes temperaturas, concentrações de reagentes e tempo em centrifuga para extração das proteínas, variando de 46,8% a 63,7%. Desta forma, o rendimento proteico do concentrado de farelo de arroz preto foi de aproximadamente 54%, componente este que pode ser direcionado à alimentação e proporcionando proteínas de alto valor biológico, ou ainda ser modificada por hidrólise enzimática, produzindo peptídeos com propriedades bioativas, como antioxidante e anti-hipertensiva (PIOTROWICZ, 2016).

Notou-se que os compostos fenólicos também estão presentes nas frações RAC, CPP, RAcP, que são obtidas a partir do farelo de arroz preto. Esses compostos foram extraídos durante o processo pH-shifting, sendo detectado 54 % mais fenólicos no concentrado proteico em comparação as frações de FIP e FD. Jun et al. (2012) apresentaram resultados na concentração de compostos fenólicos extraídos do farelo de arroz preto, por concentrações de acetona de 0%, 20%, 40%, 60%, 80% e 100%. A solução de 40% que apresentou 479,4 μg EAG/mL de extrato, com esse estudo foi possível observar que realizando a extração com solução de acetona 70%, foi possível obter 804,81 μg EAG/mL de extrato (dados não apresentados), portanto esses resultados podem sofrer influência da variedade do arroz e da concentração do solvente utilizada para a extração.

Na avaliação de atividade antioxidante, realizada pelo ensaio de sequestro do radical livre DPPH, notou-se uma alta atividade na fração resíduo ácido (RAcP), que pode estar relacionada ao valor de compostos fenólicos encontrados, pois a concentração de íons H^+ do meio ácido que, conseqüentemente, favorece o sequestro do radical DPPH, realizado pelo mecanismo de doação de íons hidrogênio. Walter et al. (2009) verificaram valores na atividade antioxidante de variedades de arroz vermelho e preto, sendo que a variedade IAC 600, com o pericarpo preto, foi de 60,04 mmol Trolox/g de grão. Nesse estudo, na amostra de resíduo alcalino preto (RAP) foi encontrado baixo valor da atividade, pois está fração consiste no restante de sólidos resultante da extração das proteínas do farelo desengordurado (FD). No estudo de Laokuldilok et al. (2011), foi avaliado o farelo de arroz preto em três cultivares, sendo elas, arroz de grão longo, arroz aromático vermelho e preto e arroz preto japonês, verificando que os farelos possuíam elementos que podem agir como antioxidantes, como os ácidos fenólicos (43,2% a 33,1%) e o γ -orizanol (41,1% a 38,7%), que é uma mistura de ésteres de ácido ferúlico de álcoois triterpênicos (Cicero, A.F.G., & Gaddi, A., 2001), como as antocianinas (20,1% a 17,7%) e o α -tocoferol (0,4% a 0,2%), que é o mais abundante nos alimentos, pertencente ao grupo de tocoferóis que estão presentes de forma natural na maioria dos óleos vegetais (RAMALHO, V.C., JORGE, N., 2006).

Desta forma, a possível presença de diferentes concentrações destes compostos no farelo e nas diferentes frações obtidas a partir dele, faz com que estes produtos sejam importantes ao consumo quando presentes em alimentos ou rações, apresentando um aporte nutricional de interessante e com benefícios contra o acúmulo de radicais livres nas células, além da redução do acúmulo de resíduos provenientes do processo.

4 CONCLUSÃO

Os resultados desse trabalho demonstram que a variedade de arroz preto, gera dois produtos (CPP e RAcP) a partir do farelo desengordurado (FD). Essas frações têm altos teores de compostos fenólicos e capacidade antioxidante, tendo notória riqueza nutricional e apresentaram um grande potencial para aplicação na indústria alimentícia e/ou farmacêutica. O resíduo ácido (RAcP) pode ser utilizado em outras etapas industriais, como alternativa ao descarte, em razão de apresentar 61,04% a mais de compostos fenólicos que o farelo integral (FIP).

5 AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), à IRGOVEL, ao Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de grãos (LABGRÃOS) e à Universidade Federal de Pelotas (UFPEL).



6 REFERÊNCIAS

- AACC. American Association of Cereal Chemists. Approved methods. 9th ed. Saint Paul, 1995.
- AHMAD, R.; SALIM, M.; RAUF, R.; BALOACH, M.K. Medicinal and nutritional importance of rice bran. **Science Technology and Development**, v. 24, n. 2, p. 39-44, 2005.
- ALVES, G.H.; FERREIRA, C.D.; VIVIAN, P.G.; MONKS, J.L.F.; ELIAS, M.C.; VANIER, N.L.; OLIVEIRA, M. The revisited levels of free and bound phenolics in rice: Effects of the extraction procedure. **Food Chemistry**, v. 208, p. 116–123, 2016.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT – Food Science and Technology**, v. 30, p. 25-30, 1995.
- Cicero, A. F. G., & Gaddi, A. (2001). Rice Bran Oil and γ -Oryzanol in the Treatment of Hyperlipoproteinaemias and Other Conditions. **Phytotherapy Research**, 15(4), 277–289.
- FIREMAN, A. K. B. T.; LÓPEZ, J.; FIREMAN, F. A. T. Qualidade da casca do ovo de poedeiras alimentadas com diferentes níveis de farelo de arroz desengordurado e fitase. **Arquivo Latinoamericano de Producción Animal**, v. 7, n. 2, p. 97–108, 1999.
- FERREIRA, C.D.; OLIVEIRA, M.; ZIEGLER, V. Tecnologia industrial de grãos e derivados. 1. ed. Curitiba: Editora CRV, 2020. v. I. 326p .
- HYUN, J.W.; CHUNG, H.S. Cyanidin and malvidin from *Oryza sativa* cv. Heugjinjubycy mediate cytotoxicity against human monocytic leukemia cells by arrest of G₂/M phase and induction of apoptosis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 52, n. 8, p. 2213-2217, Apr. 2004.
- JUN, H. I.; SONG, G. S.; YANG, E. I.; YOUN, Y.; KIM, Y. S. Antioxidant activities and phenolic compounds of pigmented rice bran extracts. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 7, p. 759-764, 2012.
- KITTS, D.D.; WEILER, K. Bioactive proteins and peptides from food sources. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Current Pharmaceutical Design*, v. 9, n. 16, 1309-1323, 2003.
- LAOKULDILOK, T., SHOEMAKER, C. F., JONGKAEWWATTANA, S., TULYATHAN, V. Antioxidants and antioxidant activity of several pigmented rice brans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, n. 1, p. 193–199, 2011.
- NAM, S. H. et al. Antioxidant, antimutagenic, and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, p.816-822, 2005.
- OLIVEIRA, M. **Arroz um alimento de verdade**: Fonte de nutrientes, aliado da saúde. 1. ed. Porto Alegre: Gráfica e Editora Gaúcha LTDA, 2021. v. 1. 92p.
- PIOTROWICZ, I.B.B. **Avaliação das propriedades antioxidante e anti-hipertensiva de peptídeos derivados do concentrado proteico de farelo de arroz (*Oryza sativa* L.)**. 2016. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Universidade Federal de Rio Grande.
- SELLAPAN, K.; DATTA, K.; PARKHI, V.; DATTA, S.K. Rice caryopsis structure in relation to distribution of micronutrients (iron, zinc, β -carotene) of rice cultivars including transgenic indica rice. **Plant Science**, v. 177, p. 557–562, 2009.
- SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. JR. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n.1, p.144–158, 1965.
- SOUSA, Jade Vieira. Industrialização e gestão de resíduos de arroz no Brasil. 2019. 32 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos) - Universidade Federal de Uberlândia, Patos de Minas, 2020.
- Valéria C. RAMALHO*1, Neuza JORGE. Atividade antioxidante do α -tocoferol e do extrato de alecrim em óleo de soja purificado. *Rev Inst Adolfo Lutz*, 65(1):15-20, 2006.
- WALTER, M. **Composição química e propriedades antioxidantes de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto**. 2009. Tese (Doutorado em Fisiologia Vegetal) - Curso de Pós-graduação em Área de Concentração em Produção Vegetal, Universidade Federal de Santa Maria.
- WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p. 1184-1192, 2008.



WANG, M.; HETTIARACHCHY, N. S.; QI, M.; BURKS, W.; SIEBENMORGEN, T. Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 411-416, 1999.

Taiz L & Zeiger E. (2009) *Fisiologia Vegetal*. 4ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2009. 820p.

Simões CMO, Schenkel EP, Gosman G, Mello JCP, Mentz LA, Petrovick PR. (2007). **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Florianópolis: Editora da UFSC, 1102p.

Pereira RJ & Cardoso M das G. (2012). Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. **Journal of Biotechnology and Biodiversity**, 3(4):146-152.