

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU*
DOUTORADO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

VIVIAN CRISTINA ITO

**ARROZ NEGRO (*Oryza sativa* L.): CARACTERIZAÇÃO DAS FRAÇÕES DE
EXTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE NA
COMPOSIÇÃO, PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, TÉRMICAS,
ESTRUTURAIS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE**

PONTA GROSSA

2019

VIVIAN CRISTINA ITO

ARROZ NEGRO (*Oryza sativa* L.): CARACTERIZAÇÃO DAS FRAÇÕES DE
EXTRAÇÃO E AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA RADIAÇÃO IONIZANTE NA
COMPOSIÇÃO, PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, TÉRMICAS, ESTRUTURAIS E
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Tese de Doutorado apresentada como requisito
para obtenção do Título de Doutor em Ciência e
Tecnologia de Alimentos, do Programa de Pós
Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos da Universidade Estadual de Ponta
Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gustavo Lacerda
Coorientador: Prof. Dr. Ricardo António Esteves
de Castro

PONTA GROSSA

2019

I89

Ito, Vivian Cristina

Arroz negro (*oryza sativa* L.): caracterização das frações de extrato e avaliação dos efeitos da radiação ionizante na composição, propriedades físico-químicas, térmicas, estruturais e atividade antioxidante/ Vivian Cristina Ito. Ponta Grossa, 2019.
128 f.

Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos – Área de concentração – Alimentos), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Gustavo Lacerda

Coorientador: Prof. Dr. Ricardo António Esteves de Castro

1. Amidos. 2. Compostos bioativo. 3. Estabilidade. 4. Farinhas. 5. Processos ambientalmente amigáveis. I. Lacerda, Luiz, Luiz Gustavo. II. Castro, Ricardo António Esteves de II. Universidade Estadual de Ponta Grossa - Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. T.

CDD : 664

TERMO DE APROVAÇÃO

VIVIAN CRISTINA ITO

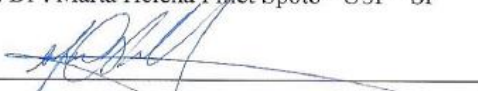
Arroz negro (*Oryza sativa* L.): caracterização das frações de extração e avaliação dos efeitos da radiação ionizante na composição, propriedades físico-química, térmicas, estruturais e atividade antioxidante

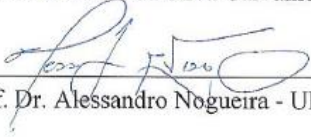
Tese aprovada como requisito para obtenção do grau de Doutor no Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora:

Orientador:

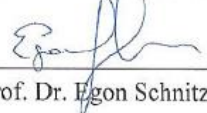

Prof. Dr. Luiz Gustavo Lacerda - UEPG - PR


Prof.ª Dr.ª Marta Helena Fillet Spoto - USP - SP


Prof. Dr. Marco Aurélio da Silva Carvalho Filho - UP- PR


Prof. Dr. Alessandro Nogueira - UEPG- PR


Prof. Dr. Ivo Mottin Demiate - UEPG- PR


Prof. Dr. Egon Schnitzler - UEPG- PR

Ponta Grossa, 05 de julho de 2019.

Dedico este trabalho ao ilustre Professor Dr. Gilvan Wosiacki (*in memoriam*), durante sua trajetória transmitiu seus conhecimentos de forma muito especial. Foi um privilégio conviver e aprender com esse grande mestre, visionário e fomentador de ideias, responsável por instigar minha capacidade crítica e construtiva na pesquisa científica. Mesmo tão distante, continua muito presente.

AGRADECIMENTOS

A DEUS,

Por sempre me dar fé, força, dedicação e esperança.

Por ter uma família maravilhosa que me apoia incondicionalmente em todos os momentos. Em especial a minha mãe, Luiza, minha professora preferida, que me ensina constantemente como encarar os desafios da vida.

Por colocar em minha vida, meu marido e melhor amigo, Giovane, pelo otimismo e cumplicidade, sempre ao meu lado alimentando os meus e os nossos sonhos.

Pela oportunidade de conhecer e conviver com pessoas que me ajudaram durante esse período:

Ao Professor Dr. Luiz Gustavo Lacerda, pela orientação deste trabalho, por toda atenção, ensinamentos, paciência, amizade, parceria e principalmente pela confiança. Sempre muito querido e disposto a ajudar em tudo e a todos que estão ao seu redor. Valeu Professor!!!

Ao Professor Dr. Ricardo A. E. Castro, pela coorientação e afabilidade durante o estágio de doutorado na Universidade de Coimbra, em Portugal.

A Professora Dra. Marta H. F. Spoto, pela parceria em mais um projeto envolvendo a radiação gama, bem como a disponibilidade em participar da banca de defesa.

Aos Professores Dr. Alessandro Nogueira, Dr. Egon Schnitzler e Dr. Ivo Mottin Demiate por contribuírem na elaboração deste trabalho, bem como participarem das bancas examinadoras de qualificação, com importantes considerações.

Ao Professor Dr. Ácacio A. F. Zielinski, pela amizade, por auxiliar na cinética de degradação térmica e análises laboratoriais dos compostos bioativos.

Ao Professor Dr. Marco Aurélio da Silva Carvalho Filho, pela disponibilidade em participar da banca de defesa.

A prestativa Me. Camila D. Bet, por auxiliar nas análises termogravimétricas do capítulo III.

Ao querido Me. José Pedro Wojeicchoski, por auxiliar na análise viscoamilográfica.

A amigável Me. Ana Paula Travalini, por realizar análise de distribuição do tamanho de partícula, na Iowa State University, EUA.

A Universidade Estadual de Ponta Grossa, ao Complexo de Laboratórios multiusuários (C-LABMU), Faculdade de Farmácia e Departamento de Química da Universidade de Coimbra pela infraestrutura disponibilizada para a realização deste trabalho.

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelas bolsas de estudos concedidas no Brasil e no exterior (PDSE 88881.134598/2016-01).

MUITO OBRIGADA!!!!

RESUMO

Arroz negro é uma variedade de arroz pigmentado, que apresenta uma diversidade de compostos nutricionais e bioativos, incluindo aminoácidos essenciais, lipídios funcionais, fibras alimentares, vitaminas, minerais, antocianinas, compostos fenólicos, γ -orizanóis, tocoferóis, tocotrienóis, fitoesteróis e ácido fítico. O capítulo I destaca a produção e consumo de arroz, bem como aspectos históricos, estratégias agronômicas alternativas, composição química, propriedades nutricionais e funcionais, aplicações e tecnologias de processamento do arroz negro. O objetivo do capítulo II foi avaliar as propriedades físico-químicas, térmicas, cristalográficas e morfológicas do amido de arroz negro biodinâmico, bem como as frações residuais oriundas da extração aquosa. Os resultados para os teores de proteínas, lipídios, cinzas e fibra alimentar foram menores para o amido quando comparado às frações residuais. Todas as amostras apresentaram padrões claros de difração do tipo A, com picos principais em 15°, 17°, 18° e 23°, o índice de cristalinidade para todas as amostras foram similares ($\cong 22\%$). As microimagens mostraram grânulos de amido poliédrico com formas irregulares, bordas agudas e sem poros na superfície. No capítulo III, os efeitos das diferentes doses de radiação gama de (0, 1, 2 e 3 kGy) nas propriedades termoanalíticas, estruturais e viscoamilográficas da farinha de arroz negro foram avaliados, utilizando termogravimetria e termogravimetria derivada (TG/DTG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), difração de raios X (DRX), análise por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG), distribuição do tamanho de partícula e propriedades de pasta (viscoamilográficas). As amostras irradiadas mostraram uma diminuição em todos os parâmetros térmicos, entalpia de gelatinização, grau de cristalinidade relativa e propriedades de pasta. Após a radiação gama ocorreram algumas alterações, como rachaduras, poros e uma diminuição do tamanho médio dos grânulos. O capítulo IV investigou os efeitos da radiação gama na cinética de degradação térmica do conteúdo total de antocianinas (CTA), estabilidade de compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante em diferentes temperaturas (4, 25, 35 e 45 °C), durante o armazenamento (120 dias) da farinha de arroz negro. No tempo 0, a dose de 3 kGy apresentou maior teor de compostos bioativos, exceto para CFT. Durante o armazenamento de 120 dias, em diferentes temperaturas, ocorreram perdas gradativas em todos os parâmetros analisados. Em relação ao CTA e CFT, a amostra de 1 kGy apresentou melhor estabilidade. Os dados cinéticos indicaram uma reação de primeira ordem para a degradação térmica das antocianinas. No capítulo V, avaliaram-se os efeitos da radiação gama nas frações fenólicas livres, ligadas e totais, atividade antioxidante, propriedades físico-químicas e microbiológicas durante o armazenamento de 120 dias. Uma abordagem quimiométrica permitiu observar os efeitos da irradiação e o tempo de armazenamento das amostras. Quanto aos compostos bioativos, com exceção das frações fenólicas ligadas, a dose de 3 kGy apresentou os maiores valores, no tempo 0. Durante os 120 dias, ocorreram perdas gradativas destes compostos para todas as amostras. Quanto ao atributo de cor, a irradiação modificou ligeiramente todos os parâmetros. Em termos de análise microbiológica, não houve crescimento de microrganismos durante o armazenamento. O valor nutricional do arroz negro apresenta potencial para ser usado na produção de alimentos e bebidas, como produtos funcionais, isentos de glúten. Assim sendo, a combinação da radiação gama com diferentes temperaturas pode aumentar a vida útil da farinha de arroz negro.

Palavras-chave: Amidos; Compostos bioativos; Estabilidade; Farinhas; Processos ambientalmente amigáveis.

ABSTRACT

Black rice is a variety of pigmented rice. It contains numerous nutritional and bioactive components, including essential amino acids, functional lipids, dietary fibre, vitamins, minerals, anthocyanins, phenolic compounds, γ -oryzanols, tocopherols, tocotrienols, phytosterols and phytic acid. Chapter I focus on the production and consumption of rice, as well as historical aspects, alternative agronomic strategies and chemical composition, nutritional and functional properties, applications and technologies/treatments of black rice. The aim of chapter II was performed to evaluate the physicochemical, thermal, crystallographic and morphological properties of biodynamic black rice starch, and of the residual fractions from aqueous extraction. The contents of ash, dietary fibre, proteins and lipids in the starch were lower than those from the residual fractions. All the samples had clear A-type diffraction patterns, with main reflections at $2\theta \approx 15^\circ$, 17° , 18° and 23° ; they also presented a similar crystallinity index ($\sim 22\%$). Micro-images showed polyhedral starch granules having irregular shapes, with sharp angles and edges, and without pores on the smooth surface. In chapter III, the effects of different doses of gamma radiation (0, 1, 2 e 3 kGy) on the thermoanalytical, structural and pasting properties of black rice flour were observed using thermogravimetry and derivative thermogravimetry (TG-DTG), differential scanning calorimetry (DSC), X-ray diffraction (XRD), field emission gun-scanning electron microscopy (FEG-SEM), particle size distribution and pasting properties (RVA) analysis. The irradiated samples showed a decrease in all the thermal parameters, gelatinisation enthalpy, degree of relative crystallinity and pasting properties. After gamma radiation some changes occurred, such as cracks, pores and a decrease of mean size of the granules. Chapter IV investigated the effects of gamma radiation to evaluate the stability and thermal degradation kinetics of total anthocyanins content (TAC), as well as the stability of total phenolic compounds (TPC) and antioxidant activity at different temperatures (4, 25, 35 and 45 °C) during the storage (120 days) of black rice flour. At time 0, the dose of 3 kGy provided all of the most available bioactive compounds, except for TPC. During the storage at different temperatures up to 120 days, gradual losses occurred in all the analysed parameters. Regarding the TAC and TPC, the sample irradiated with a 1 kGy dose remained most stable. The analysis of kinetic data indicated a first-order reaction for the degradation of anthocyanins. In chapter V, the effects of gamma radiation on the antioxidant activity of the free and bound total phenolics, physicochemical and microbiological properties of black rice flour samples during storage were evaluated. A chemometric approach made it possible to observe the effects of irradiation and storage time on the samples. Regarding bioactive compounds, with the exception of the bound phenolic fractions the 3 kGy dose showed the highest values at time 0. At 120 days there was a decrease in these levels for all the samples. Regarding the attribute of colour, the irradiation slightly modified all the parameters; in terms of microbiological analysis there was no growth of microorganisms at the end of storage. The nutritional value of black rice means that it has the potential to be used in the production of healthy foods and beverages, such as functional products and gluten-free cereals. Therefore, the combination of irradiation with different temperatures may improve the shelf-life of black rice flour.

Keywords: Bioactive compounds; Environmentally friendly processes; Flours; Stability; Starches.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - (A) representação do corte longitudinal e (B) partes estruturais do grão de arroz	23
Figura 2.1 - Curvas TG/DTG das frações residuais e amido de arroz negro.....	57
Figura 2.2 - Curvas DSC e microscopia térmica das frações residuais e amido de arroz negro.....	58
Figura 2.3 - Difratogramas e cristalinidade (%) das frações residuais e amido de arroz negro	60
Figura 2.4 - Espectros de infravermelho das frações residuais e amido de arroz negro.....	61
Figura 2.5 - Picos de deconvolução dos espectros de FTIR na região entre 1900-800 cm ⁻¹ das frações residuais e amido de arroz negro.....	62
Figura 2.6 - Microimagens obtidas para as frações residuais e amido de arroz negro.....	63
Figura 3.1 - Efeitos da radiação gama nas curvas TG/DTG da farinha de arroz negro.....	73
Figura 3.2 - Efeitos da radiação gama nas curvas DSC da farinha de arroz negro.....	75
Figura 3.3 - Efeitos da radiação gama nos padrões dos difratogramas de raios X da farinha de arroz negro.....	77
Figura 3.4 - Efeitos da radiação gama na morfologia da farinha de arroz negro.....	78
Figura 3.5 - Efeitos da radiação gama nas curvas de RVA da farinha de arroz negro.....	80
Figura 4.1 - Cromatograma do extrato de antocianina da farinha de arroz negro a 515 nm....	89
Figura 4.2 - Degradação térmica do conteúdo total de antocianinas (CTA) da farinha de arroz negro durante o armazenamento.....	94
Figura 5.1 - Efeitos da radiação gama nos atributos de cor (L^* , a^* , b^* , C^* e h°) da farinha de arroz negro no início (t_0) e final (t_f) do armazenamento.....	113
Figura 5.2 - Gráfico de dispersão (CP1 x CP2) das amostras de farinha de arroz negro irradiada durante o período de armazenamento em relação às análises de compostos fenólicos (livres, ligadas e totais), atividade antioxidante, conteúdo total de antocianinas (CTA), cianidina-3-glucosídeo (C3G), flavonoides totais (FT) e atributos de cor.....	114
Figura 5.3 - Análise Hierárquica de Agrupamentos aplicada às variáveis das amostras de farinha de arroz negro irradiada durante o período de armazenamento em relação às análises de compostos fenólicos (livres, ligadas e totais), atividade antioxidante, conteúdo total de antocianinas (CTA), cianidina-3-glucosídeo (C3G), flavonoides totais (FT) e atributos de cor.....	115
Figura 5.4 - Dendrograma obtido por análise hierárquica de agrupamentos das amostras de farinha de arroz negro irradiada durante o período de armazenamento em relação às análises de compostos fenólicos (livres, ligadas e totais), atividade antioxidante, conteúdo total de antocianinas (CTA), cianidina-3-glucosídeo (C3G), flavonoides totais (FT) e atributos de cor.....	116

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1 - Origem geográfica, parte do grão, composição química (fenólicos) e atividade antioxidante <i>in vitro</i> do arroz negro.....	27
Tabela 1.2 - Variedades de arroz negro, origem geográfica, qual a parte do grão estudada, os objetivos, métodos e aplicações em alimentos/bebidas.....	35
Tabela 1.3 - Variedades de arroz negro, origem geográfica, qual a parte do grão estudada, tecnologias de processamento.....	37
Tabela 2.1 - Composição proximal das frações residuais e amido de arroz negro.....	56
Tabela 2.2 - Resultados das curvas DSC das frações residuais e amido de arroz negro.....	59
Tabela 3.1 - Efeitos da radiação gama nas curvas TG/DTG da farinha de arroz negro.....	74
Tabela 3.2 - Efeitos da radiação gama nas curvas DSC e cristalinidade relativa da farinha de arroz negro.....	76
Tabela 3.3 - Efeitos da radiação gama no tamanho de partículas da farinha de arroz negro....	79
Tabela 3.4 - Efeitos da radiação gama nas propriedades viscoamilográficas da farinha de arroz negro.....	80
Tabela 4.1 - Efeitos da radiação gama no conteúdo total de antocianinas (CTA) e cianindina-3-glicosídeo (C3G), nas temperaturas de 4, 25, 35 e 45 °C, no início (t_0) e final do armazenamento (t_f) da farinha de arroz negro.....	93
Tabela 4.2 - Parâmetros da cinética de degradação e energia de ativação (E_a) do conteúdo total de antocianinas (CTA) da farinha de arroz negro, nas temperaturas de 4, 25, 35 e 45 °C, durante o armazenamento de 120 dias.....	95
Tabela 4.3 - Parâmetros termodinâmicos do conteúdo total de antocianinas (CTA) da farinha de arroz negro armazenada em temperaturas de 4, 25, 35 e 45 °C durante 120 dias.....	96
Tabela 4.4 - Efeitos da radiação gama no conteúdo de flavonóides totais (FT), compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante (AA), nas temperaturas de 4, 25, 35 e 45 °C, no início (t_0) e final do armazenamento (t_f) da farinha de arroz negro.....	97
Tabela 5.1 - Efeitos da radiação gama nos compostos fenólicos (CF) e atividade antioxidante das frações fenólicas livre, ligada e total da farinha de arroz negro no início (t_0 - 0 dia) e no final do armazenamento (t_f - 120 dias).....	111
Tabela 5.2 - Resultados (médias) das análises de compostos fenólicos (livres, ligadas e totais), atividade antioxidante, conteúdo total de antocianinas (CTA), cianidina-3-glucosídeo (C3G), flavonoides totais (FT) e atributos de cor, sugeridos na Análise Hierárquica de agrupamento (HCA).....	116

LISTA DE SIGLAS

ABTS	2,2' azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)
ANOVA	Análise de variância
CFT	Compostos fenólicos totais
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
C3G	Cianidina-3-O-glucosideo
CTA	Conteúdo total de antocianinas
DPPH	1,1- difenil-2-picrilhidrazil
DRX	Difratometria de raios X
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DTG	Termogravimetria derivada
FAN	Farinha de arroz negro
FRAP	Poder antioxidante redutor de ferro
FT	Flavonoides totais
FTIR	Espectroscopia na região de infravermelho com transformada de fourier
GA	Ácido gálico
GAE	Equivalentes de Ácido gálico
HCL	Ácido clorídrico
HCA	Análise Hierárquica de Agrupamentos
KCl	Cloreto de Potássio
kGy	QuiloGrays
LC-DAD	Detector líquido de matriz de cromatografia de diodo
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
MEV-FEG	Microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo
NaOH	Hidróxido de sódio
N ₂ O	Óxido nitroso
ORAC	Capacidade de absorção de radicais de oxigênio
PCA	Análise de Componentes Principais
PLTM	Microscopia térmica de luz polarizada
QE	Quercetina
TG	Termogravimetria

LISTA DE SÍMBOLOS

a^*	Intensidade de cor vermelha
A_w	Atividade de água
b^*	Intensidade de cor amarela
C^*	Croma
E_a -	Energia de ativação
ΔH_{gel}	Entalpia de gelatinização
$\Delta H^\#$	Entalpia de ativação
$\Delta G^\#$	Energia livre de Gibbs
Δm	Perda de massa
$\Delta S^\#$	Entropia de ativação
ΔT	Temperatura de variação
h°	Ângulo Hue
K	Constante da reação cinética
L^*	Luminosidade
mPa.s	Milli Pascal segundo
^{60}Co	Radioisótopo Cobalto 60
$t_{1/2}$	Tempo de meia-vida
T_0	Temperatura inicial
T_c	Temperatura de conclusão
T_p	Temperatura de pico

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	14
OBJETIVOS.....	15
 CAPÍTULO I - ARROZ NEGRO: UMA REVISÃO SOBRE ASPECTOS HISTÓRICOS, COMPOSIÇÃO QUÍMICA, PROPRIEDADES NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS, APLICAÇÕES E TECNOLOGIAS DE PROCESSAMENTO.....	 16
1.1 INTRODUÇÃO.....	18
1.2 ARROZ: PRODUÇÃO, CONSUMO, ESTRATÉGIAS AGRONÔMICAS ALTERNATIVAS E VARIEDADES.....	18
1.3 ARROZ NEGRO: ASPECTOS HISTÓRICOS, COMPOSIÇÃO QUÍMICA, PROPRIEDADES NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS, APLICAÇÕES E TECNOLOGIAS DE PROCESSAMENTO.....	21
1.3.1 Aspectos Históricos e Estratégias Agronômicas.....	21
1.3.2 Composição Química e Propriedades Nutricionais e Funcionais.....	23
1.3.2.1 Composição química e propriedades nutricionais (macronutrientes).....	24
1.3.2.2 Composição química e propriedades funcionais dos compostos bioativos.....	25
1.3.3 Aplicações e Tecnologias de Processamento.....	32
1.3.3.1 Arroz negro: aplicações em alimentos e bebidas.....	34
1.3.3.2 Arroz negro: tecnologias de processamento.....	36
1.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	41
REFERÊNCIAS.....	41
 CAPÍTULO II - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, TÉRMICAS, CRISTALOGRÁFICA MORFOLÓGICAS DO AMIDO E FRAÇÕES RESIDUAIS DA EXTRAÇÃO AQUOSA DO ARROZ NEGRO BIODINÂMICO.....	 50
2.1 INTRODUÇÃO.....	52
2.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	52
2.2.1 Matéria-Prima e Processo de Extração do Amido.....	52
2.2.2 Composição Proximal.....	53
2.2.3 Análise Térmica.....	53
2.2.4 Microscopia Térmica de Luz Polarizada (PLTM).....	54
2.2.5 Difratometria de Raios X (DRX) pelo Método de Pó.....	54
2.2.6 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR).....	55
2.2.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	55
2.2.8 Análise Estatística.....	55
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
2.3.1 Composição Proximal.....	56
2.3.2 Análise Térmica.....	56
2.3.2.1 Termogravimetria e termogravimetria derivada (TG/DTG).....	56
2.3.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC) e microscopia térmica de luz polarizada (PLTM).....	57
2.3.3 Difratometria de Raios X (DRX) pelo Método de Pó.....	59
2.3.4 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR).....	60
2.3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	62
2.4 CONCLUSÃO.....	63
REFERÊNCIAS.....	64

CAPÍTULO III - EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NAS PROPRIEDADES TERMOANALÍTICAS, ESTRUTURAIS E VISCOAMILOGRÁFICAS DA FARINHA DE ARROZ NEGRO.....	67
3.1 INTRODUÇÃO.....	69
3.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	69
3.2.1 Preparação da Matéria-Prima.....	69
3.2.2 Radiação da Amostra.....	70
3.2.3 Análise Térmica.....	70
3.2.4 Difractometria de Raios X (DRX) pelo Método de Pó.....	71
3.2.5 Análise Morfológica e Distribuição do Tamanho de Partícula.....	71
3.2.6 Propriedades Viscoamilográfica.....	71
3.2.7 Análise Estatística.....	72
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
3.3.1 Termogravimetria e Termogravimetria Derivada (TG/DTG).....	72
3.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	74
3.3.3 Difractometria de Raios X (DRX) pelo Método de Pó.....	76
3.3.4 Análise Morfológica e Distribuição do Tamanho de Partícula.....	77
3.3.5 Propriedades Viscoamilográficas.....	79
3.4 CONCLUSÃO.....	81
REFERÊNCIAS.....	81

CAPÍTULO IV - EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO E ESTABILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DURANTE O ARMAZENAMENTO DA FARINHA DE ARROZ NEGRO.....	84
4.1 INTRODUÇÃO.....	86
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	87
4.2.1 Reagentes.....	87
4.2.2 Preparação e Irradiação da Amostra.....	87
4.2.3 Estabilidade e Condições de Armazenamento.....	87
4.2.4 Extração das Antocianinas.....	88
4.2.5 Determinação do Conteúdo Total de Antocianinas (CTA).....	88
4.2.6 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) das Antocianinas.....	88
4.2.7 Análise Termodinâmica e Cinética de Degradação Térmica.....	89
4.2.8 Determinação de Flavonoides Totais (FT) e Compostos Fenólicos Totais (CFT).....	91
4.2.9 Atividade Antioxidante <i>in vitro</i>	91
4.2.10 Análise Estatística.....	91
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	92
4.3.1 Efeitos da Radiação Gama na Estabilidade das Antocianinas.....	92
4.3.2 Efeitos da Radiação Gama na Cinética de Degradação Térmica do Conteúdo Total de Antocianinas (CTA).....	94
4.3.3 Efeitos da Radiação Gama na Estabilidade dos Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante.....	97
4.4 CONCLUSÃO.....	99
REFERÊNCIAS.....	99

CAPÍTULO V - EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NO ARMAZENAMENTO DA FARINHA DE ARROZ NEGRO: FRAÇÕES FENÓLICAS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS....	103
5.1 INTRODUÇÃO.....	105
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	105
5.2.1 Reagentes.....	105
5.2.2 Preparação e Irradiação da Amostra.....	106

5.2.3	Extração dos Compostos Fenólicos Livres e Ligadas.....	106
5.2.4	Determinação dos Compostos Fenólicos.....	107
5.2.5	Atividade Antioxidante <i>in vitro</i>	107
5.2.6	Análises Físico-Químicas.....	108
5.2.7	Análises Microbiológicas.....	108
5.2.8	Análise Estatística.....	109
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	110
5.3.1	Efeitos da Radiação Gama nos Compostos Bioativos e Atividade Antioxidante.....	110
5.3.2	Efeitos da Radiação Gama nos Atributos de Cor	112
5.3.3	Análise Multivariada.....	113
5.3.4	Efeitos da Radiação Gama nas Propriedades Físico-Químicas e Microbiológicas.....	117
5.4	CONCLUSÃO.....	118
	REFERÊNCIAS.....	118
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	121
	ANEXO A - Licença e Artigo publicado na revista Starch – Stärke (Capítulo II).....	122
	ANEXO B - Artigo publicado na revista Journal of Thermal Analysis and Calorimetry (Capítulo III).....	125
	ANEXO C - Artigo publicado na revista Brazilian Archives of Biology and Technology (Capítulo IV).....	127

INTRODUÇÃO

O arroz apresenta uma ampla diversidade genética, com diversas variedades cultivadas. Todas essas variedades fazem parte da família das gramíneas conhecida como Gramineae ou Poaceae. Existem duas espécies comumente conhecidas: *Oryza sativa* L. e *Oryza glaberrima* Steud. A espécie *Oryza sativa* originou-se na Ásia e foi exportada para outros países, já a espécie *O. glaberrima* é nativa da África e cultivada apenas naquele continente. Das variedades pigmentadas, diversos estudos envolvem o arroz negro, devido as suas propriedades nutricionais, funcionais e sensoriais. Este cereal pode ser aplicado como ingrediente em produtos alimentícios. Fontes convencionais de farinhas e amidos, como trigo, milho e arroz são modificadas para atender às necessidades específicas das indústrias, adaptando suas propriedades físico-químicas e funcionais, que não estão disponíveis em sua forma nativa. A extração aquosa do amido, por exemplo, é um processo que não utiliza produtos químicos, mantendo a essência orgânica da matéria-prima sem gerar resíduos contaminantes.

Os alimentos irradiados têm sido utilizados como um método físico para modificar farinhas e amidos. A irradiação de alimentos utiliza uma tecnologia nuclear para conservação. O processo consiste em submeter o alimento a doses minuciosamente controladas de radiações ionizantes. Para o processamento de alimentos a fonte mais comum são os raios gama, provenientes do radioisótopo Cobalto 60, que apresenta alta penetrabilidade, fornecendo um tratamento uniforme.

Dessa forma, este trabalho apresenta cinco frentes de estudo, descritas em forma de capítulos. O capítulo I faz uma abordagem atualizada da produção e o consumo de arroz, assim como os aspectos históricos, estratégias agronômicas alternativas, composição química, propriedades nutricionais e funcionais, aplicações e tecnologias de processamento do arroz negro. O capítulo II avalia as propriedades físico-químicas, térmicas, cristalográficas e morfológicas do amido e das frações residuais provenientes da extração aquosa do arroz negro biodinâmico. Os capítulos III, IV e V avaliam os efeitos da radiação gama da farinha de arroz negro nas propriedades termoanalíticas, estruturais e viscoamilográficas (capítulo 3). Na cinética de degradação térmica de antocianinas e estabilidade de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, em diferentes temperaturas durante o armazenamento (capítulo 4) e nas frações fenólicas livres, ligadas e totais, atividade antioxidante, propriedades físico-químicas e microbiológicas durante o armazenamento, usando análise multivariada (capítulo 5).

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Caracterizar as frações de extração do amido e avaliar os efeitos da radiação ionizante nas propriedades físico-químicas, térmicas, estruturais e atividade antioxidante da farinha de arroz negro.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Revisar os aspectos históricos, composição química, propriedades nutricionais e funcionais, aplicações e tecnologias de processamento do arroz negro;
- Avaliar as propriedades físico-químicas, térmicas, cristalográficas e morfológicas do amido e das frações residuais provenientes da extração aquosa do arroz negro biodinâmico;
- Avaliar os efeitos da radiação gama com doses de 0, 1, 2 e 3 kGy na farinha de arroz negro:
 - a) Sobre as propriedades termoanalíticas, estruturais e viscoamilográficas;
 - b) Sobre a cinética de degradação térmica de antocianinas e estabilidade de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, em diferentes temperaturas durante o armazenamento;
 - c) Sobre as frações fenólicas livres, ligadas e totais, atividade antioxidante, propriedades físico-químicas e microbiológicas durante o armazenamento, usando análise multivariada.

CAPÍTULO I

ARROZ NEGRO: UMA REVISÃO SOBRE ASPECTOS HISTÓRICOS, COMPOSIÇÃO QUÍMICA, PROPRIEDADES NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS, APLICAÇÕES E TECNOLOGIAS DE PROCESSAMENTO

O conteúdo deste capítulo foi publicado na revista Food Chemistry
(10.1016/j.foodchem.2019.125304).

ARROZ NEGRO: UMA REVISÃO SOBRE ASPECTOS HISTÓRICOS, COMPOSIÇÃO QUÍMICA, PROPRIEDADES NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS, APLICAÇÕES E TECNOLOGIAS DE PROCESSAMENTO

RESUMO

Arroz negro é uma variedade de arroz pigmentado, apresenta uma diversidade de compostos nutricionais e bioativos, incluindo aminoácidos essenciais, lipídios funcionais, fibras alimentares, vitaminas, minerais, antocianinas, compostos fenólicos, γ -orizanóis, tocoferóis, tocotrienóis, fitoesteróis e ácido fítico. Muitos estudos sobre o arroz negro já foram publicados, com foco nos efeitos benéficos à saúde, quando consumidos regularmente. Esta revisão destaca a produção e consumo de arroz, bem como aspectos históricos, estratégias agronômicas alternativas, composição química, propriedades nutricionais e funcionais do arroz negro. Além disso, este trabalho discute sobre aplicações e desenvolvimento de novos produtos alimentícios e bebidas, tecnologias de processamento a fim de melhorar os atributos de qualidade. O valor nutricional do arroz negro apresenta potencial para ser usado na produção de alimentos e bebidas, como produtos funcionais, isentos de glúten, proporcionando assim benefícios adicionais aos consumidores.

Palavras-chave: Alimentos funcionais; Compostos bioativos; Cultivo; Tecnologias de processamento de alimentos.

ABSTRACT

Black rice is a variety of pigmented rice. It contains numerous nutritional and bioactive components, including essential amino acids, functional lipids, dietary fibre, vitamins, minerals, anthocyanins, phenolic compounds, γ -oryzanols, tocopherols, tocotrienols, phytosterols and phytic acid. There have been several studies of black rice due to its alleged beneficial health effects when consumed regularly. This review focuses on the production and consumption of rice, as well as historical aspects, alternative agronomic strategies and chemical composition, nutritional and functional properties of black rice. In addition, a discussion of the development of new foods and beverages with applications and technologies/treatments designed to improve their quality attributes. The nutritional value of black rice means that it has the potential to be used in the production of healthy foods and beverages, such as functional products and gluten-free cereals, thereby providing extra health benefits to consumers.

Keywords: Bioactive compounds; Cultivation; Food technologies and treatments; Functional food.

1.1 INTRODUÇÃO

O arroz é uma das principais culturas de cereais, sendo considerado um alimento básico para mais da metade da população mundial. Este cereal apresenta uma ampla diversidade genética, com milhares de variedades cultivadas em todo o mundo. Das variedades pigmentadas, muitas pesquisas envolvem o arroz negro, devido às suas características sensoriais, seu alto valor nutritivo e, principalmente, por suas propriedades benéficas à saúde. Muitos estudos têm sido conduzidos em diferentes variedades deste arroz, como à caracterização físico-química, extração, quantificação e identificação de fitoquímicos com potencial antioxidante (ZHANG; ZHANG; LIU, 2010; PANG *et al.*, 2018; SHAO *et al.*, 2018). Alguns trabalhos sobre tecnologias de processamento, também foram adotados para melhorar a qualidade deste cereal pigmentado (LAOKULDILOK; KANHA, 2015; LI *et al.*, 2017; MENG *et al.*, 2018), bem como, aplicação em alimentos funcionais (SUI; ZHANG; ZHOU, 2016; MAU *et al.*, 2017).

No entanto, são poucos os estudos que apresentam uma visão abrangente sobre sistemas de produção, composição química, propriedades nutricionais e funcionais do arroz negro. Sendo assim, esta revisão tem como objetivo realizar uma abordagem atualizada da produção e o consumo de arroz, além de fornecer informações sobre os aspectos históricos, estratégias agronômicas alternativas, composição química, propriedades nutricionais e funcionais do arroz negro. Este capítulo também discute o desenvolvimento de novos alimentos e bebidas que envolvem aplicações, tecnologias de processamento a fim de melhorar os atributos de qualidade do arroz negro.

1.2 ARROZ: PRODUÇÃO, CONSUMO, ESTRATÉGIAS AGRONÔMICAS ALTERNATIVAS E VARIEDADES

Dados fornecidos pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) demonstram que a produção global de arroz em 2018-2019 está maior quando comparada ao ano anterior. Estima-se uma produção em 489,50 milhões de t de arroz polido, com área total colhida cerca de 162 milhões de ha. Este cereal ocupa o terceiro lugar em termos de produção e extensão de área cultivada em comparação a outros cereais, superadas pelo milho e trigo, respectivamente (USDA, 2018).

O arroz é cultivado em regiões temperadas, tropicais e subtropicais, em mais de 100 países e em todos os continentes, exceto Antártida (AMAGLIANI *et al.*, 2016). A Ásia

representa 90% da produção global, tendo a China como principal produtor. O Brasil é o maior produtor e consumidor deste cereal fora da Ásia. Em termos globais, ocupa o nono lugar, com uma produção de 8,02 milhões de t de arroz polido, representando 1,65% da produção global (USDA, 2018). Desde a safra 2003-2004, o Brasil alcançou a autossuficiência em termos de produção e abastecimento de grãos e passou a atuar no mercado como importador e exportador de arroz (FAO, 2018).

Os sistemas de cultivo podem ser classificados de acordo com as características do solo e de irrigação, onde inclui sistema irrigado ou inundado, várzeas e de terras altas. Aproximadamente 75% da produção mundial de arroz são provenientes de sistema de cultivo irrigado. A forma mais difundida deste cultivo no Brasil é por sistema irrigado por inundação controlada, correspondendo a 69% da produção nacional (NUNES *et al.*, 2016; EMBRAPA, 2018).

O rendimento da produção deste cereal está associado a fatores como o uso de sementes melhoradas, irrigação, fertilidade do solo, mecanização agrícola, infestação de ervas daninhas e o controle de pragas de insetos, juntamente com a expansão de áreas cultivadas. Em práticas agrícolas modernas, fertilizantes químicos e herbicidas são usados no cultivo de arroz para melhorar o rendimento e aumentar a produtividade (WU *et al.*, 2018). A produção agrícola convencional, com aplicação excessiva de fertilizantes químicos e uso de herbicidas químicos em longo prazo, influencia negativamente o meio ambiente e a qualidade do ecossistema. Isso pode acarretar em problemas de segunda geração, como depleção de água subterrânea e perda de nutrientes por emissão e lixiviação (CHAUHAN *et al.*, 2012).

O ambiente úmido e inundado causa uma decomposição da matéria orgânica na presença de organismos biológicos, como microrganismos, diatomáceas, zooplânctons e invertebrados. Este último é responsável pelo bio-revolvimento de sedimentos, o qual libera nutriente e acelera os processos cíclicos que sustentam a fertilidade e a produtividade do solo (RIZO-PATRÓN *et al.*, 2013). O sistema de cultivo irrigado caracteriza-se por altos rendimentos de produção e, conseqüentemente, por níveis elevados de emissão de gases de efeito estufa, como o gás metano (CH₄) e óxido nitroso (N₂O), causados pelas condições anaeróbicas das áreas inundadas (NUNES *et al.*, 2016).

Devido aos impactos negativos desse importante sistema de produção, houve um aumento no desenvolvimento de estratégias agronômicas alternativas, como a agricultura orgânica e a biodinâmica, que começaram a ter destaque no início de 1990. Esses métodos de cultivo baseiam-se em protocolos que evitam ou excluem uso de insumos sintéticos, como fertilizantes químicos, pesticidas, aditivos alimentares, hormônios e outros produtos químicos,

além de proporcionar uma variedade de benefícios em termos de sustentabilidade e melhor qualidade do solo (PICONE *et al.*, 2016).

A agricultura biodinâmica é semelhante à agricultura orgânica em alguns aspectos, baseia-se em princípios filosóficos, antropológicos, holísticos e históricos entre os indivíduos, animais e métodos de produção de plantas. O sistema biodinâmico sustenta o uso de preparações que contêm ervas ou minerais específicos, que são tratados ou fermentados com chifres de animais, água e solo (HEIMLER *et al.*, 2009). Para obter a certificação de “biodinâmico”, as fazendas precisam ser previamente certificadas como orgânicas, além de passar por um período de conversão durante três anos (DEMETER INTERNATIONAL, 2017).

Um dos principais desafios para a agricultura é a capacidade de produzir alimentos suficientes para o crescimento das populações e, simultaneamente, minimizar os impactos negativos ao meio ambiente. Diversos estudos investigaram esse dilema em relação à produção de arroz (NUNES *et al.*, 2016; KRAITHONG; LEE; RAWDKUEN, 2018; NAYAK *et al.*, 2018; WU *et al.*, 2018; YANG *et al.*, 2018).

É amplamente reconhecido que o arroz é o principal alimento básico para mais da metade da população mundial, especialmente em países em desenvolvimento, como o Brasil. Este cereal desempenha um papel estratégico economicamente e socialmente, além de contribuir para a nutrição humana. No entanto, em países onde o consumo *per capita* é tradicionalmente alto, algumas pessoas estão consumindo menos arroz branco devido à diversificação das dietas (USDA, 2018). Isso se deve a mudanças nos hábitos alimentares e ao fato de que os consumidores estão experimentando alimentos diversificados. Esta tendência tem estimulado o desenvolvimento de genótipos diferenciados, por programas de melhoramento genético, destinados à produção e comercialização, utilizando diferentes métodos de processamento. Assim, o arroz pode ser caracterizado em diversas formas, como o polido, integral, parboilizado e enriquecido. Estas variedades baseiam-se em atributos de qualidade, morfologia e origem geográfica, podendo ser classificadas como pigmentadas, japonica, indica, aromáticas, cerosas (glutinosas), por exemplo.

Variedades de arroz pigmentado, como o arroz negro, roxo, vermelho, marrom (castanho) e castanho avermelhado estão cada vez mais populares, devido às propriedades benéficas à saúde e também pelas características sensoriais. Essas cultivares são encontradas em vários tipos de grãos, curtos e longos, cerosos e não-cerosos, descascados, de maturação tardia e precoce (JENG *et al.*, 2012; DUYI; BARAN; CHANDRA, 2017).

Segundo Jeng *et al.* (2012), a modificação de grão de arroz branco para pigmentado ocorre através de mutação espontânea e mutação induzida quimicamente. A pigmentação dos grãos é controlada por três diferentes tipos de genes (Ra, Rc e Rd). O gene Ra controla o pericarpo roxo, com a cor púrpura dominante sobre a cor branca. O gene Rc, juntamente com a ausência do gene Rd, produz o pericarpo marrom. O gene Rd não produz qualquer pigmento por si só, mas o pericarpo vermelho é produzido quando os genes Rc e Rd são cruzados.

Quanto à taxonomia deste cereal, teve início com o cruzamento de diferentes cultivares, com a seleção artificial das principais progênies de acordo com seus fenótipos. Com isso, as características agronômicas e econômicas (tolerância biótica e abiótica, adaptabilidade, qualidade alimentar, produtividade) das diversas variedades de arroz se tornaram mais resistentes (WEI; HUANG, 2019). Por exemplo, vários genes ou alelos envolvidos na tolerância ao estresse por frio, inundação, seca (MA *et al.*, 2016; NIROULA *et al.*, 2012), resistência à brusone, ferrugem bacteriana e fulgoromorpha marrom (DU *et al.*, 2009; GU *et al.*, 2005; QU *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2015) foram detectados e identificados nas variedades de arroz selvagem. Wei e Huang (2019) relataram que os reprodutores introduziram esses genes ou alelos superiores do arroz selvagem no arroz cultivado e melhoraram as características agronômicas e econômicas das diversas cultivares atuais. Das variedades de arroz pigmentadas, o arroz negro tem recebido crescente atenção dos pesquisadores devido ao seu alto valor nutritivo e propriedades antioxidantes.

1.3 ARROZ NEGRO: ASPECTOS HISTÓRICOS, COMPOSIÇÃO QUÍMICA, PROPRIEDADES NUTRICIONAIS E FUNCIONAIS, APLICAÇÕES E TECNOLOGIAS DE PROCESSAMENTO

1.3.1 Aspectos Históricos e Estratégias Agronômicas

Genótipos de arroz negro, vermelho, roxo e marrom, são cultivados durante muito tempo na Ásia. O arroz negro é originário da China cultivado há mais de 4.000 anos (KUSHWAHA, 2016). Este arroz tem uma história excepcionalmente única e uma de suas variedades mais conhecidas, denomina-se "arroz imperial", restrito apenas ao consumo do imperador. Outra variedade, conhecida como "arroz proibido", era reservado somente à realeza chinesa. As famílias reais, assim como o rei, costumavam consumir o arroz negro com a finalidade de obter saúde e enfatizar a riqueza. Essa variedade foi considerada um medicamento eficaz para “curar” várias doenças, além de ser um alimento saboroso e

aromático. Quando se tornou disponível para a população em geral, suas propriedades benéficas foram identificadas e então, o arroz negro adquiriu sua importância nutricional/funcional (KUSHWAHA, 2016).

Além das variedades históricas, como o “arroz imperial” e “arroz proibido”, inclui diversas cultivares, como o arroz negro chinês, tailandês, indonésio e japônica. A partir da década de 1980, a China intensificou os trabalhos para melhorá-lo e existem mais de 50 variedades geneticamente melhoradas, cultivadas naquele país (BASSINELLO *et al.*, 2008). Outras variedades de arroz negro estão na Tabela 1.1, Tabela 1.2 e Tabela 1.3, nas seções 1.3.2.2 e 1.3.3.

Devido à tendência mundial do consumo de alimentos saudáveis, tem aumentado a demanda por arroz negro. Assim, alguns agricultores estão utilizando estratégias agronômicas alternativas, como agricultura orgânica e biodinâmica. O sistema de cultivo deste cereal é semelhante às práticas utilizadas para o arroz não pigmentado, podendo ser cultivado em regiões tropicais a temperadas. A produção de arroz negro é inferior em comparação com o arroz branco e o seu preço de mercado é superior. O custo do produto final é de aproximadamente cinco a dez vezes mais caro do que o arroz branco (KUSHWAHA, 2016).

De acordo com Budiman e Arisoesilarningsih (2015), a produção de algumas variedades de arroz negro indonésio em sistemas de agricultura orgânica não atende às demandas dos clientes, devido a sua baixa produtividade, podendo ser influenciada por fatores como solo, quantidade de água, erva daninha e sistemas de cultivo. Em contraste, a China já desenvolveu muitas variedades de alto rendimento, com grãos finos, médios e longos, usando sistemas de agricultura orgânica (KUSHWAHA, 2016).

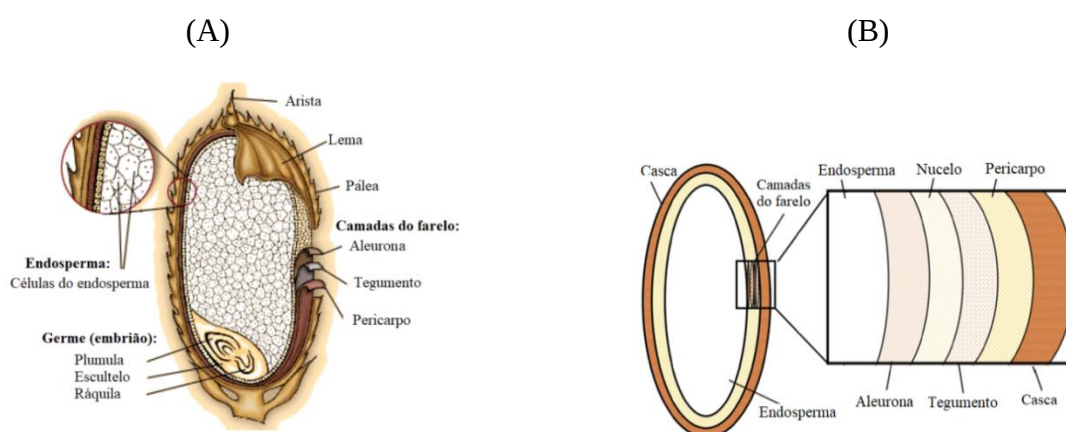
Tanto na Europa quanto nos Estados Unidos o arroz negro é considerado uma iguaria (BASSINELLO *et al.*, 2008). Essas variedades começaram a ser estudadas no Brasil em 1994. O Instituto Agrônomo de Campinas desenvolveu o IAC 600, resultando em aproximadamente 150 linhagens com diferentes tipos de grãos, panículas e tamanhos. No ano agrícola de 1996-1997 o IAC-1762 apresentou boa estabilidade agronômica, com potencial produtivo adequado ao padrão de tipos especiais, adaptando-se aos sistemas de plantio irrigado e terras altas com irrigação adicional. A partir de 2001, a purificação dessas sementes foi incentivada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), que também desenvolveu algumas linhagens de arroz negro para estimular a expansão de novos mercados direcionados a um público específico. Em 2013, após vários anos de desenvolvimento e melhoramento genético, a Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) desenvolveu uma nova variedade através do cultivo comercial,

denominado SCS 120 Onix. Vale destacar que em algumas regiões do Brasil, agricultores estão cultivando e comercializando arroz negro usando sistemas orgânicos e biodinâmicos, que podem ser encontrados em vários pontos de venda.

1.3.2 Composição Química e Propriedades Nutricionais e Funcionais

O grão de arroz é constituído de casca e cariopse. A camada externa corresponde a aproximadamente 20% do peso total do grão, contendo minerais (sílica) e celulose. A casca é separada do grão por meio do processo de descasque, dando origem ao arroz integral. Após a sua remoção, obtêm-se a cariopse, que consiste em farelo, endosperma e gérmen (JULIANO, 2003) (Figura 1.1A). O processo de moagem remove a camada do farelo e do germe, transformando o arroz integral em branco (BURLANDO; CORNARA, 2014). Com relação ao arroz negro, o processo de descasque remove a casca e apenas uma pequena quantidade da camada externa de farelo (KRAITHONG *et al.*, 2018). Este farelo tem diferentes camadas e representa 6 - 7% do peso total do grão (CALLCOTT *et al.*, 2018) (Figura 1.1B). O pericarpo protege o tegumento, sendo responsável pela coloração, resultando em grãos avermelhados, arroxeados, cantanhos e negros.

Figura 1.1 - (A) representação do corte longitudinal e (B) partes estruturais do grão de arroz



Fonte: (A) Adaptada da Enciclopedia Britanica, 2018; (B) Adaptada de Callcott *et al.*, 2018.

O endosperma do arroz negro consiste em aproximadamente 75% de carboidratos, predominantemente amido (SOMPONG *et al.*, 2011; ZIEGLER *et al.*, 2017; ITO *et al.*, 2018a) e de uma camada exterior (sub-aleurona), que contém proteínas. Além do amido, também contém outros polissacarídeos em pequenas quantidades, como fibras alimentares

(HIEMORI; KOH; MITCHELL, 2009; ZHANG *et al.*, 2010; MAU *et al.*, 2017) e açúcares simples (glicose, frutose e sacarose) (BURLANDO; CORNARA, 2014), que estão localizados principalmente nas camadas externas. Proteínas e lipídios são encontrados no gérmen, o que constitui cerca de 2 a 3% do peso total do grão (JULIANO, 2003).

O arroz negro apresenta atributos nutricionais e funcionais superiores quando comparado ao arroz branco. Isso se deve à presença de inúmeros nutrientes e compostos bioativos, incluindo aminoácidos essenciais, lipídios funcionais, fibras alimentares, vitaminas (complexo B e E), alguns minerais (K, Fe, Zn e Cu), antocianinas, compostos fenólicos, γ -orizanol, tocoferóis, tocotrienóis, fitoesteróis e ácido fítico, encontrados nas camadas do farelo e do embrião (SOMPONG *et al.*, 2011; TANG; CAI; XU, 2016; MAU *et al.*, 2017). Vale ressaltar que variações na composição química dos grãos ocorrem devido aos diferentes tipos de genótipos, fatores ambientais, manejo, processamento e armazenamento.

1.3.2.1 Composição química e propriedades nutricionais (macronutrientes)

O amido, principal carboidrato presente no arroz, consiste em dois tipos principais de α -glucanos em nível molecular: amilose linear (baixo peso molecular; 10^5 - 10^6) e amilopectina ramificada (alto peso molecular; 10^7 - 10^8). Em nível granular, as cadeias α -glucanas são naturalmente agregadas em forma de grânulos semicristalinos (contendo regiões cristalinas e amorfas) (ZHU, 2015). A semicristalinidade do amido é o resultado das ligações de hidrogênio entre as macromoléculas lineares e ramificadas, as quais ficam dispostas na orientação radial, associando-se em paralelo. A amilopectina tem maior influência sobre a cristalinidade, devido ao arranjo paralelo de suas cadeias formando uma dupla hélice, enquanto as cadeias de amilose se entrelaçam nesta estrutura e compõe a fase amorfa do amido (LIU *et al.*, 2011). Amilose e amilopectina são responsáveis por aproximadamente 98 - 99% do peso seco dos grânulos de amido (AMAGLIANI *et al.*, 2016).

O teor aparente de amilose no arroz ceroso é inferior a 2%, enquanto o arroz comum tem um teor aparente de amilose, que varia de muito baixo (5 - 12%), baixo (12 - 20%), intermediário (20 - 25%) e alto (25 - 33%) (JULIANO, 2003). O teor de amilose em arroz negro oscila entre as diversas variedades. Por exemplo, Ziegler *et al.* (2017) avaliaram o IAC-600 e encontraram 9,5% de amilose; Sompong *et al.* (2011) encontraram 8,9% (Niaw Dam Pleuak Khao), 9,6% (Represa Niaw Dam Pleuak) e 25,4% (arroz negro Chinês). Ressalta-se que o teor de amilose é um critério importante em relação à qualidade do arroz, mais informações estão na Seção 3.3.

Segundo Zhu *et al.* (2011), o amido pode ser classificado como amido rapidamente digerível, amido pouco digerível ou amido resistente. Os polissacarídeos que não são digeridos por enzimas do trato gastrointestinal, como o amido resistente, celulose, hemicelulose e pectinas, fazem parte da fração fibra alimentar. O arroz negro é considerado uma boa fonte de fibras, com variações de 3,4 a 4,3% (SOMPONG *et al.*, 2011; TI *et al.*, 2015; ITO *et al.*, 2018b). A fibra insolúvel é a predominante, representando aproximadamente 75% do total. Esse tipo de fibra confere volume e corpo às fezes, o que estimula o trânsito intestinal e previne a constipação (MARLETT; MCBURNEY; SLAVIN, 2002).

Embora o principal componente do arroz seja o amido, responsável pelo fornecimento de energia, este cereal também contém proteína, em quantidades que variam de 4,3 a 18,2 g.100 g⁻¹ (NUNES *et al.*, 2016). O teor de proteína das variedades de arroz negro é de 8,2 a 11,3 g.100 g⁻¹ (SOMPONG *et al.*, 2011; MELINI *et al.*, 2019).

As proteínas do arroz podem ser classificadas de acordo com a sua solubilidade, tendo as glutelinas como predominantes, são solúveis em soluções alcalinas e representam 70% das proteínas totais. A qualidade nutricional de uma proteína está relacionada ao conteúdo de aminoácidos essenciais, a capacidade de suprir as necessidades metabólicas dos seres humanos e a biodisponibilidade desses aminoácidos (NUNES *et al.*, 2016). De acordo com Carvalho *et al.* (2013) o valor biológico, a digestibilidade e o quociente de eficiência protéica do arroz, é superior aos demais cereais. Além de ser diferente do trigo, centeio e cevada, este cereal é o muito utilizado para desenvolvimento de produtos alimentícios destinados a pacientes com doença celíaca, pois é isento de glúten. Maiores informações sobre o desenvolvimento de novos produtos e aplicações do arroz negro estão na seção 3.3 (Tabela 2).

O grão de arroz tem um teor lipídico relativamente baixo. De acordo com Frank *et al.* (2012), o arroz negro contém maior conteúdo lipídico do que o não pigmentado, entre 3,2 a 3,7 g.100 g⁻¹ (MELINI *et al.*, 2019). Quimicamente são classificados em dois grupos: lipídios saponificáveis (triacilgliceróis, diacilgliceróis, monoacilgliceróis, ácidos graxos livres e ceras) e lipídios insaponificáveis (fitoesteróis, álcoois triterpênicos, γ -orizanol e homólogos de vitamina E; tocoferóis e tocotrienóis). Os principais são o palmítico, oléico e linoleico, que correspondem cerca de 90% do total de ácidos graxos (CHOI *et al.*, 2019).

1.3.2.2 Composição química e propriedades funcionais dos compostos bioativos

Em termos estruturais, os compostos fenólicos contêm um anel aromático com um ou mais grupos hidroxila. Na natureza, estes compostos encontram-se na forma livre ou

vinculados a açúcares e proteínas, formando dois grupos: o primeiro grupo é composto por flavonóides e ácidos fenólicos; o segundo grupo é formado por cumarinas (SOARES, 2002). Os flavonóides têm uma estrutura básica, formada por C6-C3-C6 e são os compostos mais diversos encontrados nas plantas. Este grupo inclui antocianinas, flavonas, flavonóis e isoflavonas (DUYI; BARAN; CHANDRA, 2017).

O arroz negro apresenta diversidade em termos de cor, principalmente devido ao alto teor de antocianina (pigmento natural solúvel em água). A principal antocianina é a cianidina-3-glucosídeo (C3G), representa 88% do total de antocianinas (HOU *et al.*, 2013). Outras antocianinas foram identificadas em menores níveis, como peonidina-3-glucosídeo, cianidina-3-rutinosídeo e malvidina-3-glucosídeo (CHEN *et al.*, 2012). Essas antocianinas são encontradas nas diferentes camadas do farelo (pericarpo, tegumento e aleurona) (CALLCOTT *et al.*, 2018). Durante o desenvolvimento da semente, pigmentos roxos de antocianina se acumulam no pericarpo, resultando em uma cor incomum com grãos roxos escuros característicos do arroz negro, quando cozidos a cor muda para um tom roxo régio (KUSHWAHA, 2016).

Além de conter antocianinas, este cereal pigmentado também é fonte de ácidos fenólicos, categorizados como ácidos fenólicos livres e ligados. Os ácidos fenólicos livres ou solúveis são extraídos usando uma solução solvolítica, a solução com 80% de metanol é o solvente mais utilizado para extrair estes fenólicos do arroz (ALVES *et al.*, 2016). Segundo Shao *et al.* (2018), os ácidos fenólicos livres (protocatecuico, cinâmico e gálico) são absorvidos no estômago e no intestino delgado para distribuição ao corpo, concomitantemente trazendo benefícios a saúde, como a inibição da oxidação de lipoproteínas de baixa densidade e lipossomas (MIN *et al.*, 2012).

Os ácidos fenólicos ligados (ferúlico, cumárico e cafeico) são insolúveis, ligadas covalentemente a componentes estruturais de células como celulose, hemicelulose, lignina, pectina e proteínas estruturais (DUYI; BARAN; CHANDRA, 2017). Como os ácidos fenólicos ligados estão presentes na forma insolúvel, um álcali forte é adicionado ao resíduo obtido após a extração dos compostos fenólicos livres. Esta hidrólise alcalina estimula o aumento da viscosidade do resíduo e a solubilização dos compostos associados às paredes celulares da cariopse do arroz (ALVES *et al.*, 2016). Os ácidos fenólicos ligados são acessíveis no intestino após a digestão através da ação de enzimas, sendo que algumas delas são liberadas no cólon pela microflora (SAURA-CALIXTO; SERRANO; GOÑI, 2007).

Ryu e Koh (2017) estudaram ácidos fenólicos no arroz negro coreano, descobriram que o ácido protocatecuico foi predominante (81 - 93% da quantidade total) na forma livre, e

o ácido ferúlico foi predominante (cerca de 60%) na forma ligada. A Tabela 1.1 apresenta algumas variedades de arroz negro, bem como a origem geográfica, qual a parte do grão foi avaliada, composição química (fenólicos) e atividade antioxidante *in vitro*.

Tabela 1.1 – Origem geográfica, parte do grão, composição química (fenólicos) e atividade antioxidante *in vitro* do arroz negro.

(continua)

Origem	Parte do grão	Composição química mg.g ⁻¹	Atividade antioxidante μM TE.g ⁻¹	Referência
China n=12	Farelo	C3G = (média 17,12) (mín. 7,37; máx. 24,40); C3R = (média 0,78) (mín. 0,23; máx. 0,96); P3G = (média 3,12) (mín. 1,01; máx. 5,34); CTA livre = (média 27,15) (mín. 12,27; máx. 50,96); CTA ligado = (média 0,07) (mín. 0,05; máx. 0,08); FT livre = (média 71,79) (mín. 34,62; máx. 120,61); FT ligado = (média 2,45) (mín. 1,27; máx. 3,87); CFT livre = (média 39,07) (mín. 20,86; máx. 70,43); CFT ligado = (média 2,75) (mín. 2,21; máx. 3,83)	ORAC livre = (média 990,93) (mín. 476,9; máx. 1801,3) ORAC ligado = (média 65,45) (mín. 47,91; máx. 79,48)	Zhang <i>et al.</i> , 2010
Italia n=2	Farinha	CTA = (média 1,00) (mín. 0,70; máx. 1,30) CFT = (média 7,25) (mín. 4,20; máx. 10,30) Proantocianidina = (média 0,08) (mín. 0,08; máx. 0,08)	ABTS = (média 30,91) (mín. 14,54; máx. 47,28)	Finocchiaro <i>et al.</i> , 2010
Coreia n=2	¹ Grão inteiro ² Endosperma ³ Farelo	¹ CTA = (média 1,45) (mín. 1,00; máx. 1,89) ² CTA = (média 0,11) (mín. 0,05; máx. 0,17) ³ CTA = (média 8,89) (mín. 7,07; máx. 10,7) ¹ γ-orizanol = (média 0,68) (mín. 0,60; máx. 0,75); ² γ-orizanol = (média 0,05) (mín. 0,03; máx. 0,07); ³ γ-orizanol = (média 3,70) (mín. 3,45; máx. 3,94) ¹ PYA = (média 40,45) (mín. 33,4; máx. 47,5); ² PYA = (média 5,67) (mín. 3,96; máx. 7,38); ³ PYA = (média 214,5) (mín. 202,0; máx. 227,0) ¹ FT livre = (média 14,1) (mín. 11,8; máx. 16,4); ² FT livre = (média 1,53) (mín. 1,12; máx. 1,94); ³ FT livre = (média 89,75) (mín. 81,0; máx. 98,5) ¹ FT ligado = (média 1,65) (mín. 1,53; máx. 1,76); ² FT ligado = (média 0,70) (mín. 0,61; máx. 0,79); ³ FT ligado = (média 8,63) (mín. 8,24; máx. 9,01) ¹ CFT livre = (média 2,57) (mín. 1,97; máx. 3,17); ² CFT livre = (média 0,19) (mín. 0,12; máx. 0,25); ³ CFT livre = (média 17,45) (mín. 15,1; máx. 19,8) ¹ CFT ligado = (média 0,19) (mín. 0,16; máx. 0,22); ² CFT ligado = (média 0,05) (mín. 0,03; máx. 0,06); ³ CFT ligado = (média 1,64) (mín. 1,25; máx. 2,02)	NA	Kong e Lee, 2010

Tabela 1.1 – Origem geográfica, parte do grão, composição química (fenólicos) e atividade antioxidante *in vitro* do arroz negro.

(continuação)

Origem	Parte do grão	Composição química mg.g ⁻¹	Atividade antioxidante μM TE.g ⁻¹	Referência
Coreia n=10	Farinha	C3G = (média 0,46) (mín. 0,05; máx. 1,60) P3G = (média 0,05) (mín. 0,04; máx. 0,08)	NA	Lee, 2010
Tailândia n=2	Farinha	C3G = (média 0,99) (mín. 0,19; máx. 1,41) P3G = (média 0,12) (mín. 0,11; máx. 0,13) CTA = (média 2,03) (mín. 1,09; máx. 2,44)	DPPH (%) = (média 20,91); (mín. 16,04; máx. 30,25)	Sompong <i>et al.</i> , 2011
China n=1		FT = (média 4,16) (mín. 2,45; máx. 6,65)	FRAP = (média 0,56); (mín. 0,37; máx. 0,76)	
Japão n=3	Grão	C3G = (média 1,10) (mín. 0,31; máx. 2,50) P3G = (média 0,84) (mín. 0,09; máx. 1,43) CTA = (média 2,98) (mín. 0,80; máx. 4,74) MA = (média 0,48) (mín. 0,22; máx. 0,81)	ORAC = (média 61,31) (mín. 55,49; máx. 64,49)	Chen <i>et al.</i> , 2012
Coreia n=1	Farelo	CTF = 2259,0; FT = 1718,0 Ácido fenólico (mg.100g ⁻¹): GA = 12,5; PA = 98,4; VA = 109,92; SYA = 7,5; <i>p</i> -CA = 204,3; FA = 438,4; SIA = 84,2	DPPH = EC ₅₀ , 195,1 μg.ml ⁻¹ ABTS = EC ₅₀ , 445,3 μg.ml ⁻¹	Jun <i>et al.</i> , 2012
França n=1	Grão	C3G = 2,90; P3G = 0,50; C3,5D = 0,02 CTA = 3,50; Total flavonas + flavonóis = 0,48; γ-orizanol = 0,06	NA	Pereira-Caro <i>et al.</i> , 2013
China n=1	¹ Grão inteiro ² Embrião ³ Endosperma ⁴ Farelo	C3G = 0,51 ¹ ; 0,11 ² ; nd ³ ; 3,57 ⁴ ; P3G = 0,14 ¹ ; 0,09 ² ; nd ³ ; 0,70 ⁴ ; C3R = 0,06 ¹ ; nd ² ; nd ³ ; 0,28 ⁴ ; CTA = 0,87 ¹ ; 0,34 ² ; nd ³ ; 6,28 ⁴ ; CFT livre = 0,25 ¹ ; 0,53 ² ; 0,06 ³ ; 1,53 ⁴ ; CFT livre-conjugado = 0,42 ¹ ; 1,80 ² ; 0,07 ³ ; 3,09 ⁴ CFT ligado = 0,63 ¹ ; 1,40 ² ; 0,05 ³ ; 3,78 ⁴ Ácido fenólico livre-conjugado (mg.100g ⁻¹): PA = 4,45 ¹ ; nd ² ; na ³ ; 34,21 ⁴ ; VA = 4,48 ¹ ; 6,60 ² ; na ³ ; 31,67 ⁴ ; SYA = nd ¹ ; 5,54 ² ; na ³ ; nd ⁴ ; <i>p</i> -CA = 0,63 ¹ ; 5,56 ² ; na ³ ; 4,01 ⁴ ; FA = 2,07 ¹ ; 53,24 ² ; na ³ ; 5,52 ⁴ ; <i>trans</i> -SIA = 0,58 ¹ ; nd ² ; na ³ ; 7,27 ⁴ ; IFA = 1,16 ¹ ; 12,92 ² ; na ³ ; 3,84 ⁴ Ácido fenólico ligado (mg.100g ⁻¹): PA = 0,76 ¹ ; nd ² ; na ³ ; 3,21 ⁴ ; VA = 4,87 ¹ ; 11,03 ² ; na ³ ; 34,98 ⁴ ; SYA = 0,67 ¹ ; 3,72 ² ; na ³ ; 3,12 ⁴ ; <i>p</i> -CA = 2,06 ¹ ; 17,14 ² ; na ³ ; 13,11 ⁴ ; FA = 18,57 ¹ ; 47,66 ² ; na ³ ; 106,07 ⁴ ; <i>trans</i> -SIA = 0,39 ¹ ; 0,81 ² ; na ³ ; 2,88 ⁴ ; IFA = 1,04 ¹ ; 3,63 ² ; na ³ ; 3,50 ⁴	DPPH livre = 1,27 ¹ ; 1,53 ² ; 0,02 ³ ; 8,24 ⁴ DPPH livre-conjugado = 1,74 ¹ ; 4,79 ² ; 0,05 ³ ; 11,96 ⁴ DPPH ligado = 2,48 ¹ ; 3,92 ² ; 0,07 ³ ; 11,87 ⁴ ORAC livre = 15,21 ¹ ; 20,27 ² ; 1,35 ³ ; 69,59 ⁴ ORAC livre-conjugado = 20,78 ¹ ; 67,96 ² ; 1,56 ³ ; 114,66 ⁴ ORAC ligado = 30,07 ¹ ; 71,84 ² ; 0,56 ³ ; 159,97 ⁴	Shao <i>et al.</i> , 2014

Tabela 1.1 – Origem geográfica, parte do grão, composição química (fenólicos) e atividade antioxidante *in vitro* do arroz negro.

(continuação)

Origem	Parte do grão	Composição química mg.g ⁻¹	Atividade antioxidante μM TE.g ⁻¹	Referência
China n=1	Farinha	CTA = 416,92; C3G = 268,29; C3,5D = 7,46; C3Ge = 7,55; C3S = 7,61; C3R = 7,91; P3G = 23,81; CY = 80,01; PE = 7,31;	DPPH = IC ₅₀ , 53,51 μg.ml ⁻¹ ABTS = IC ₅₀ , 13,09 μg.ml ⁻¹	Hao <i>et al.</i> , 2015
China n=6	Farinha	C3G = (média 0,63) (mín. 0,56; máx. 0,64) P3G = (média 0,14) (mín. 0,11; máx. 0,16) CY = (média 0,13) (mín. 0,09; máx. 0,18) CTA = (média 1,68) (mín. 1,47; máx. 2,07) CFT livre = (média 14,57) (mín. 11,19; máx. 16,74); CFT ligado = (média 2,54) (mín. 0,75; máx. 4,11) Ácido fenólico ligado (mg,100g ⁻¹): FA = (média 1,17) (mín. 0,26; máx. 2,15) p-CA = (média 0,18) (mín. 0,07; máx. 0,29) IFA = (média 0,24) (mín. 0,06; máx. 0,45) VA = (média 0,12) (mín. 0,05; máx. 0,16)	DPPH livre = (média 7,91) (mín. 6,73; máx. 9,11) DPPH ligado = (média 1,76) (mín. 1,25; máx. 2,25) ORAC livre = (média 49,73) (mín. 37,77; máx. 60,18) ORAC ligado = (média 16,08) (mín. 9,56; máx. 22,45)	Zhang <i>et al.</i> , 2015
China n=1	Farinha	FT livre = (média 1,92) (mín. 0,65; máx. 3,08); FT ligado = (média 0,25) (mín. 0,12; máx. 0,56); CFT livre = (média 3,17) (mín. 1,70; máx. 5,32); CFT ligado = (média 1,25) (mín. 0,67; máx. 1,78) Ácido fenólico livre (mg,100g ⁻¹): GA = (média 1,53) (mín. 0,75; máx. 2,00) PA = (média 3,37) (mín. 1,09; máx. 8,08) CE = (média 0,35) (mín. 0,09; máx. 0,48) VA = (média 0,92) (mín. 0,53; máx. 1,57) CF = (média 1,14) (mín. 1,04; máx. 1,30)	DPPH (mM TE,kg ⁻¹) Livre = (média 9,82) (mín. 7,20; máx. 12,50) Ligado = (média 5,98) (mín. 2,80; máx. 11,10)	Sumczynski <i>et al.</i> , 2016
Italia n=1		SYA = (média 0,05) (mín. 0,03; máx. 0,06) p-CA = (média 1,61) (mín. 0,38; máx. 4,00) m-CA = (média 0,05) (mín. 0,03; máx. 0,1)		
Japão n=1		FA = (média 4,67) (mín. 2,54; máx. 9,17) RU = (média 0,14) (mín. 0,10; máx. 0,17) CIA = (média 0,02) (mín. 0,02; máx. 0,02)	ABTS (mM TE,kg ⁻¹) Livre = (média 17,96) (mín. 10,70; máx. 22,50) Ligado = (média 7,60) (mín. 5,90; máx. 9,30)	
Laos n=1		QE = (média 0,37) (mín. 0,18; máx. 0,64) Ácido fenólico ligado (mg,100g ⁻¹): GA = (média 0,31) (mín. 0,13; máx. 0,54) PA = (média 0,46) (mín. 0,19; máx. 0,71) CE = (média 1,37) (mín. 0,76; máx. 3,09) VA = (média 2,83) (mín. 1,20; máx. 4,60) CF = (média 0,32) (mín. 0,13; máx. 0,64) SYA = (média 0,17) (mín. 0,12; máx. 0,32) p-CA = (média 0,02) (mín. 0,01; máx. 0,07) m-CA = (média 0,54) (mín. 0,23; máx. 0,83) FA = (média 15,09) (mín. 11,58; máx. 19,8) RU = (média 0,12) (mín. 0,09; máx. 0,14) CIA = (média 0,12) (mín. 0,08; máx. 0,17) QE = (média 2,75) (mín. 1,26; máx. 3,89)		
Tailândia n=1				

Tabela 1.1 – Origem geográfica, parte do grão, composição química (fenólicos) e atividade antioxidante *in vitro* do arroz negro.

(continuação)

Origem	Parte do grão	Composição química mg.g ⁻¹	Atividade antioxidante μM TE.g ⁻¹	Referência
China n=5	Farinha	C3G = (média 0,42) (mín. 0,01; máx. 1,11) P3G = (média 0,11) (mín. 0,01; máx. 0,31) FT = (média 3,37) (mín. 1,99; máx. 4,15) CFT livre = (média 0,21) (mín. 0,04; máx. 0,37); CFT livre-conjugado = (média 0,28) (mín. 0,06; máx. 0,41); CFT ligado = (média 0,50) (mín. 0,39; máx. 0,63) Ácido fenólico livre (mg,100g ⁻¹): PA = (média 4,60) (mín. 3,47; máx. 7,15) VA = (média 1,77) (mín. 1,53; máx. 2,45) p-CA = (média 0,21) (mín. 0,11; máx. 0,36) FA = (média 0,33) (mín. 0,21; máx. 0,44) SIA = (média 0,08) (mín. 0,02; máx. 0,18) IFA = (média 0,07) (mín. 0,05; máx. 0,10) Ácido fenólico livre-conjugado (mg,100g ⁻¹): PA = (média 6,74) (mín. 0,80; máx. 17,54) 2,5-DHA = (média 1,34) (mín. 0,49; máx. 2,26) p-HA = (média 1,73) (mín. 0,62; máx. 2,81) VA = (média 8,42) (mín. 2,05; máx. 13,84) SYA = (média 0,12) (mín. 0,09; máx. 0,13) p-CA = (média 0,62) (mín. 0,29; máx. 0,81) FA = (média 4,04) (mín. 2,18; máx. 6,13) SIA = (média 2,31) (mín. 0,36; máx. 3,88) IFA = (média 0,48) (mín. 0,27; máx. 0,66) Ácido fenólico ligado (mg,100g ⁻¹): PA = (média 7,19) (mín. 2,15; máx. 15,96) 2,5-DHA = (média 0,95) (mín. 0,41; máx. 1,30); p-HA = (média 0,30) (mín. 0,17; máx. 0,39); VA = (média 6,62) (mín. 3,69; máx. 9,83); SYA = (média 0,59) (mín. 0,30; máx. 1,29); p-CA = (média 2,10) (mín. 1,55; máx. 2,52); FA = (média 20,89) (mín. 16,59; máx. 25,47); SIA = (média 1,86) (mín. 0,77; máx. 5,22); IFA = (média 1,29) (mín. 0,72; máx. 2,17)	DPPH livre = (média 2,69) (mín. 1,05; máx. 3,42) DPPH livre-conjugado = (média 3,03) (mín. 1,04; máx. 4,64) DPPH ligado = (média 1,84) (mín. 1,27; máx. 2,69) ABTS livre = (média 6,55) (mín. 2,42; máx. 8,86) ABTS livre-conjugado = (média 7,02) (mín. 2,14; máx. 11,13) ABTS ligado = (média 4,16) (mín. 2,23; máx. 5,77)	Shao <i>et al.</i> , 2018
		CTA = (média 12,05) (mín. 5,65; máx. 35,31); CFT livre = (média 0,54) (mín. 0,32; máx. 1,01); CFT ligado = (média 0,71) (mín. 0,55; máx. 1,08) Ácido fenólico ligado (mg,100g ⁻¹): GA = (média 2,00) (mín. 1,34; máx. 3,43) PA = (média 2,56) (mín. 0,33; máx. 10,89) 2,5-DHA = (média 2,77) (mín. 1,40; máx. 6,36); p-HA = (média 0,26) (mín. 0,17; máx. 0,45); VA = (média 7,36) (mín. 4,43; máx. 10,53); SYA = (média 0,12) (mín. 0,08; máx. 0,17); p-CA = (média 3,84) (mín. 2,00; máx. 6,56); FA = (média 29,53) (mín. 22,99; máx. 43,87); SIA = (média 0,79) (mín. 0,55; máx. 1,37); IFA = (média 0,72) (mín. 0,53; máx. 0,99)	DPPH livre = (média 2,17) (mín. 1,04; máx. 3,72) DPPH ligado = (média 2,06) (mín. 1,60; máx. 3,40) ABTS livre = (média 3,43) (mín. 1,89; máx. 6,19) ABTS ligado = (média 4,38) (mín. 3,22; máx. 7,20)	
China n=5	Farinha			Pang <i>et al.</i> , 2018

Tabela 1.1 – Origem geográfica, parte do grão, composição química (fenólicos) e atividade antioxidante *in vitro* do arroz negro.

(conclusão)

Origem	Parte do grão	Composição química mg.g ⁻¹	Atividade antioxidante μM TE.g ⁻¹	Referência
China n=5	Farelo	CTA = (média 35,63) (mín. 28,04; máx. 142,62); CFT livre = (média 2,04) (mín. 1,16; máx. 3,32); CFT ligado = (média 2,87) (mín. 2,59; máx. 3,47) Ácido fenólico ligado (mg,100g ⁻¹): GA = (média 7,95) (mín. 6,36; máx. 10,58) PA = (média 4,60) (mín. 1,57; máx. 10,78) 2,5-DHA = (média 9,78) (mín. 5,54 máx. 13,60); <i>p</i> -HA = (média 1,08) (mín. 0,68; máx. 1,94); VA = (média 31,34) (mín. 17,58; máx. 45,37); SYA = (média 0,48) (mín. 0,32; máx. 0,67); <i>p</i> -CA = (média 16,83) (mín. 0,32; máx. 28,52); FA = (média 112,63) (mín. 98,03; máx. 146,34); SIA = (média 6,25) (mín. 3,43; máx. 9,50); IFA = (média 2,27) (mín. 1,37; máx. 3,33)	DPPH livre = (média 16,26) (mín. 7,28; máx. 26,72) DPPH ligado = (média 7,46) (mín. 5,83; máx. 10,03) ABTS livre = (média 15,37) (mín. 7,14; máx. 25,15) ABTS ligado = (média 18,29) (mín. 12,72; máx. 21,76)	Pang <i>et al.</i> , 2018

Nota: CTA, conteúdo total de antocianinas; C3G, cianidina-3-O-glucosídeo; C3,5D, cianidina-3,5-diglucosídeo; C3Ge, cianidina-3-gentiobiosídeo; C3S, cianidin-3-sambubiosídeo; C3R, cianidina-3-rutinosídeo; P3G, peonidina-3-O-glucosídeo; MA, malvidina; CY, cianidina; PE, peonidina; PYA, ácido fítico; FT, flavonoides totais; CFT, compostos fenólicos totais; GA, ácido gálico; PA, ácido protocatecuico; CE, catequina; CF, ácido cafeico; 2,5-DHA, ácido 2,5-di-hidroxibenzoico; *p*-HA, ácido *p*-hidroxibenzóico; VA, ácido vanílico; SYA, ácido sirínico; *p*-CA, ácido *p*-cumárico; *m*-CA, ácido *m*-cumárico; FA, ácido ferúlico; RU, rutina; CIA, ácido cinâmico; QE, quercetina; SIA, ácido sinápico; IFA, ácido isoferulico; FRAP, poder antioxidante redutor de ferro; DPPH, atividade antioxidante sequestradora do radical livre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil; ABTS, atividade de eliminação de radicais; ORAC, capacidade de absorção de radicais de oxigênio; NA, não analisado.

O arroz pigmentado integral é classificado como um alimento funcional, uma vez que contém quantidades relevantes de compostos bioativos (TANANUWONG; TEWARUTH, 2010). Estudos sugerem que a ingestão de arroz branco em grandes quantidades está associada ao aumento significativo do risco de diabetes tipo 2, bem como uma desordem da homeostase da glicose (SORIGUER *et al.*, 2013). Segundo Ti *et al.* (2015) e Meng *et al.* (2018), o arroz negro é um típico grão integral que apresenta baixa resposta glicêmica pós-prandial, resultando em um risco reduzido de diabetes tipo 2 e outras doenças metabólicas, incluindo obesidade, hipertensão, hiperglicemia e dislipidemia (REBELLO; GREENWAY; FINLEY, 2014). Por consequência das suas propriedades funcionais, como atividade antioxidante, proteção de células endoteliais, prevenção de doenças cardiovasculares e anticancerígeno (TANAKA *et al.*, 2012; SHAO *et al.*, 2014), o consumo deste arroz é recomendado pela *American Health Association* e pela *American Cancer Society* (USA Rice Federation, 2008).

O arroz negro também pode atuar como um antioxidante natural e eliminar os radicais livres que podem aumentar o estresse oxidativo e potencialmente danificar moléculas biológicas, como lipídios, proteínas e DNA (FINOCCHIARO; FERRARI; GIANINETTI, 2010). Estes compostos podem influenciar funções biológicas individualmente ou sinergicamente (SHAO *et al.*, 2018). Kim *et al.* (2019) avaliaram a toxicidade de extratos de arroz negro, no fígado e rins de ratos, sugerindo que estes extratos podem ser usados para controlar doenças gastroduodenais causadas pela infecção por *Helicobacter pylori*. Outros estudos, *in vivo* (HAO *et al.*, 2015) e com células semelhantes a neurônios humanos (VARGAS *et al.*, 2018) também foram pesquisados utilizando este cereal pigmentado.

1.3.3 Aplicações e Tecnologias de Processamento

Farinha, amido, proteína, xarope e dextrina são exemplos de ingredientes derivados do arroz, utilizados para o desenvolvimento de novos alimentos e bebidas, como pães (VELUPPILLAI *et al.*, 2010), bolos (JI *et al.*, 2007) e alimentos infantis (WANG *et al.*, 2012). Há também uma série de produtos tradicionais, arroz parboilizado, saquê (bebida alcoólica japonesa obtida do arroz fermentado), vinagre e óleo do farelo de arroz (BURLANDO; CORNARA, 2014; SULTAN; WANI; MASOODI, 2018), que já são amplamente utilizados, principalmente na Ásia.

O amido de arroz apresenta características como o sabor suave e inodoro, hipoalergênico, fácil digestão e com uma pequena forma granular. Os grânulos deste amido são menores entre os grãos de cereais, com um diâmetro médio de 3 - 8 μm , com características poliédricas, formato irregular, com ângulos e bordas agudas (ITO *et al.*, 2018a). O tamanho pequeno do grânulo é vantajoso ao usar o amido como melhorador de textura em alimentos, em molhos e pudins, ou como um substituto de gordura em recheios e cremes (ZIEGLER *et al.*, 2017).

Considera-se o amido é um dos mais importantes biopolímeros naturais e funcionais para fins industriais (KUMAR *et al.*, 2017). O uso de materiais comestíveis ou biodegradáveis está em expansão, devido às vantagens de sua biodegradabilidade e baixo custo (LIU *et al.*, 2016). Aproximadamente 52% do amido são utilizados pela indústria de alimentos (alimentos infantis, confeitarias, panificação, produtos cárneos, molhos, sopas, salgadinhos, refrigerantes e sorvetes), além de servir como substrato para a produção de produtos hidrolisados, como xaropes de glicose e maltodextrinas (COPELAND *et al.*, 2009). Aproximadamente 48% do

amido são utilizados em produtos farmacêuticos, cosméticos, agroquímicos, adesivos, detergentes, ração animal, biodiesel, papel, plásticos e têxteis) (WANI *et al.*, 2012).

Com as aplicações industriais difundidas, há um incentivo em pesquisas sobre propriedades físico-químicas e funcionais de farinhas e amidos de diferentes fontes botânicas. Tal significância ocorre devido aos fatores interferentes na qualidade de farinhas e amidos, tais como: tamanho e estrutura granulares, composição, gelatinização, tipo de cristal polimorfo, proporção de amilose/amilopectina, complexo amilose-lípido e a presença de outros componentes no amido (ZHU *et al.*, 2011). Por exemplo, as cadeias externas de amilopectina e amilose podem formar duplas hélices e associar-se para formar domínios cristalinos, embora na maioria dos amidos estejam limitadas ao componente amilopectina. Em amidos ricos em amilopectina, a origem da cristalinidade é devido à formação de duplas hélices entre as cadeias externas dessas moléculas. A amilose não afeta a cristalinidade em amidos normais e cerosos, embora contribua para a cristalinidade em amidos com alto teor de amilose (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

O teor de amilose é um dos critérios mais importantes em termos de qualidade do arroz em relação às propriedades de pasta (viscosidade) e cozimento. Arroz com baixo teor de amilose é úmido e pegajoso após o cozimento. Arroz com teor de amilose intermediário é seco e macio quando cozido e mantém sua textura macia após o resfriamento. Este cereal com alto teor de amilose também é seco e macio quando cozido, mas torna-se duro quando resfriado devido à retrogradação das moléculas de amilose (ADU-KWARTENG *et al.*, 2003). Amidos de arroz com maior teor de amilose geralmente apresentam maior temperatura de pasta, menor viscosidade de pico e maior tendência à retrogradação. Em contrapartida, amidos com menor teor de amilose apresentam menor tendência a retrogradação e maior poder de inchamento (SINGH SODHI; SINGH, 2003).

Embora o amido de arroz seja amplamente consumido em sua forma nativa, seu uso é limitado devido a fatores como baixa solubilidade, decomposição térmica e alta tendência à retrogradação (LIU *et al.*, 2012). Sendo assim, fontes convencionais são modificadas (enzimaticamente, quimicamente e fisicamente) para atender às necessidades específicas das indústrias, adaptando suas propriedades físico-químicas e funcionais. Os métodos de modificação enzimática são complexos e demorados. Consequentemente, as aplicações acabam sendo limitadas na indústria de alimentos. A modificação química é comumente usada, por ser mais rápida. No entanto, existem riscos associados aos resíduos químicos junto ao produto final (KUMAR *et al.*, 2017). Há uma tendência crescente para a modificação física, usando tecnologias ambientalmente corretas (ITO *et al.*, 2018b).

As principais técnicas utilizadas para estudar as propriedades de farinhas e amidos de arroz são: microscopia eletrônica de varredura - MEV (ITO *et al.*, 2018b), difratometria de raios X (ZIEGLER *et al.*, 2017), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier - FTIR (KUMAR *et al.*, 2017), espectroscopia de Raman (MIR; BOSCO, 2014), calorimetria exploratória diferencial - DSC (PARK; HAN, 2016), microscopia térmica de luz polarizada - PLTM (ITO *et al.*, 2018a), análise de viscosidade - RVA (PARK; HAN, 2016) e análise de perfil textural (MIR; BOSCO, 2014).

Segundo Zhu (2015), os compostos bioativos podem interagir com o amido durante a gelatinização, alterando suas propriedades de pasta (viscosidade), térmicas e de digestibilidade. O arroz negro tem sido objeto de pesquisas exploratórias sobre suas possíveis aplicações (principalmente alimentos e bebidas) e tecnologias a fim de melhorar os atributos de qualidade e fornecer propriedades benéficas à saúde.

1.3.3.1 Arroz negro: aplicações em alimentos e bebidas

Este cereal pigmentado é utilizado como ingrediente em *paellas*, bolos, salgados, panquecas, risoto e biscoitos (SURH; KOH, 2014). Devido a sua funcionalidade, tornou-se um constituinte importante de novos alimentos, como pudins, cereais infantis, mingaus, sobremesas, pães, massas, bolo de arroz negro chinês tradicional e bebidas. A Tabela 1.2 exemplifica alguns trabalhos com aplicações de arroz negro em alimentos.

Poucos são os estudos com aplicação de arroz em bebidas. Faccin *et al.*, (2009) elaboraram uma bebida usando farelo de arroz orgânico, com sabores de morango e cacau. Kamara *et al.*, 2009, produziram um saquê com altos níveis de globulina. Contudo, nosso grupo de pesquisa elaborou um processo de produção de cerveja com propriedades funcionais proporcionadas pela adição de arroz negro biodinâmico (patente requerida: BR 10 2016 023777 7). O objetivo do trabalho foi desenvolver uma bebida com características exclusivas em termos de sabor, cor, corpo, aroma, valor nutricional e com potencial antioxidante, mantendo ao mesmo tempo um padrão de alta qualidade. Embora o uso de arroz seja comum como adjunto, a adição de arroz negro, em diferentes estágios de produção é um diferencial tecnológico neste segmento sem necessariamente interferir diretamente no processo padrão. A adição deste cereal durante os estágios de fervura e maturação proporcionou um aumento no total de compostos fenólicos, antocianinas totais e atividade antioxidante, mantendo um alto padrão de qualidade. Contudo, estudos mais detalhados são necessários para enriquecer os resultados.

Tabela 1.2 – Variedades de arroz negro, origem geográfica, qual a parte do grão estudada, os objetivos, métodos e aplicações em alimentos/bebidas.

Variedades	País/ Parte do grão	Objetivos/ Métodos	Aplicação/ Resultados	Referência
(<i>Oryza sativa</i> var. <i>Indica</i> cv. <i>Shiun</i>) /	Japão/ Grão	Hidromel foi produzido a partir de vários tipos de mel e grãos de arroz negro, a fim de preparar uma bebida alcoólica avermelhada com atividade antioxidante.	As Bebidas alcoólicas a base de mel e arroz negro continham de 12 a 13% (v / v) de etanol e quantidades elevadas de compostos fenólicos. Com coloração semelhante a um vinho rose e aceitável de acordo com os testes organolépticos.	Katoh <i>et al.</i> , 2011
Arroz ceroso	Tailândia/ Farinha	A extração de compostos bioativos e antioxidantes (fenólicos e antocianinas) da farinha de arroz foi otimizada.	O extrato bruto liofilizado da condição otimizada, foi adicionada a uma maionese enriquecida com óleo de peixe. Uma adição de 500 mg/kg do extrato foi mais apropriado. No entanto, uma maior concentração do extrato poderia ser usada com menor extensão de mudança de cor se o extrato fosse fracionado, purificado ou quimicamente modificado.	Tananuwong e Tewaruth, 2010
<i>Oryza sativa</i> cv. <i>Heugjinjubyo</i>	Coreia/ Farelo	O farelo de arroz negro (FAN) foi usado como ingrediente (em diferentes níveis) para elaboração de macarrão. O efeito da incorporação de FAN no macarrão foi avaliado em termos de atributos químicos e funcionais.	O macarrão com adição de FAN proporcionou maior valor nutricional e potencial antioxidante.	Kong <i>et al.</i> , 2012
Arroz ceroso	Tailândia/ Farelo	O farelo de arroz negro foi extraído enzimaticamente (fenólicos e antocianinas) para obter um corante.	O corante foi adicionado ao um iogurte, que apresentou coloração rosa-púrpura, boa estabilidade de cor e aumento dos níveis de fitoquímicos.	Nontasan; Moongngarm; Deeseenthum, 2012
Arroz negro	China/ Farinha	Extrato de arroz negro em pó foi adicionado ao pão. A qualidade e digestibilidade do pão foram avaliadas.	A fortificação do pão com antocianinas resultou em um pão funcional com menor taxa de digestão e benefícios adicionais à saúde.	Sui <i>et al.</i> , 2016
<i>Oryza sativa</i> L.	Taiwan/ Farinha	Arroz negro em pó foi usado para substituir a farinha de trigo na fabricação de bolos. As características físico-químicas, antioxidantes e sensoriais foram avaliadas.	O bolo formulado usando a substituição parcial da farinha de trigo com até 60% de arroz negro em pó continha mais compostos bioativos e maior atividade antioxidante.	Mau <i>et al.</i> , 2017

1.3.3.2 Arroz negro: tecnologias de processamento

Aplicações para desenvolvimento de produtos geralmente são processados por fervura, vaporização, fritura ou torrefação. Esses tratamentos podem influenciar o conteúdo de compostos bioativos, como os ácidos fenólicos e antocianinas, resultando em uma alteração na atividade antioxidante (SURH; KOH, 2014).

Ryu e Koh (2017) avaliaram a estabilidade térmica dos ácidos fenólicos presentes em arroz negro, constataram que os métodos de cozimento causaram aumentos significativos na quantidade total de ácidos fenólicos livres. Porém, nenhuma mudança significativa foi encontrada no conteúdo de ácidos fenólicos ligados. O teor de ácido protocatecuico livre aumentou até onze vezes no arroz negro cozido quando comparado com o arroz cru. De acordo com os autores, este ácido é gerado a partir da decomposição térmica das antocianinas. Melini *et al.* (2019) estudaram diferentes variedades de arroz pigmentado antes de depois do cozimento, com a cocção ocorreu uma diminuição do teor total de luteína, composto fenólico livre e teor de antocianina e houve um aumento no nível de fenólicos ligados em algumas amostras.

As antocianinas possuem grande potencial como corantes naturais devido ao seu alto teor de pigmentação e baixa toxicidade, podendo ser utilizados na indústria alimentícia como substitutos de corantes sintéticos. Por exemplo, He *et al.* (2017) desenvolveram um método simples para a extração e purificação de antocianinas de arroz negro, usando água para extração, separação por membranas e adsorção de resina para purificação.

No entanto, a aplicação de antocianinas em formulações em alimentos, especialmente em sistemas aquosos, é desafiadora porque elas são facilmente reativas e podem ser degradadas a compostos incolores ou de cor marrom. Sabe-se que as antocianinas são influenciadas por vários fatores, incluindo tratamento térmico, temperatura de armazenamento, exposição à luz e UV, pH, estrutura química, oxigênio, solventes, proteínas e presença de enzimas, flavonóides e íons metálicos (LOYPIMAI; MOONGNGARM; CHOTTANOM, 2016). Pesquisadores estão constantemente buscando métodos práticos e econômicos de melhorar essa condição. Vários estudos têm sido conduzidos em relação à cinética de degradação térmica e do pH, em compostos bioativos, como as antocianinas presentes no arroz negro (HOU *et al.*, 2013; LOYPIMAI; MOONGNGARM; CHOTTANOM, 2016).

Segundo Norkaew *et al.* (2017), há evidências de que a estabilidade de compostos bioativos no arroz é influenciada por alguns tratamentos pós-colheita, como tempo e

temperatura de armazenamento, secagem e embalagem. Vários estudos visam a redução da perda de compostos bioativos, bem como melhorar os atributos de qualidade do arroz negro, incluindo a seleção e desenvolvimento de genótipos ricos em fitoquímicos (SOMPONG *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2010) e técnica de fluidização de alta temperatura (JAISUT *et al.*, 2009). A Tabela 1.3 apresenta estudos com diversas tecnologias, bem como os resultados obtidos.

Tabela 1.3 – Variedades de arroz negro, origem geográfica, qual a parte do grão estudada, tecnologias de processamento.

(continua)

Variedades	País/ Parte do grão	Tecnologia de processamento	Resultados	Referência
BP602	China/ Grão	Os efeitos da γ -irradiação (nas doses de 2, 4, 6, 8 e 10 kGy) sobre o conteúdo fenólico, atividade antioxidante e propriedades físico-químicas foram investigados.	A irradiação em altas doses aumentou o teor de fenólicos livres e ligadas, atividade antioxidante e diminuiu a viscosidade e a dureza do gel (textura mais macia).	Shao <i>et al.</i> , 2013
Arroz ceroso	Tailândia/ Farelo	O estudo investigou alguns aspectos de qualidade e compostos bioativos do corante em pó obtido a partir de farelo de arroz extraído por aquecimento ôhmico (OHM).	A extração por OHM resultou em um maior rendimento do corante do que o método de extração com solvente assistido por vapor. Os parâmetros de solubilidade, atividade de água, densidade e cor não foram alterados. A aplicação de OHM para auxiliar a extração de antocianinas para preparação de corante natural foi promissora.	Loypimai <i>et al.</i> , 2015
<i>Oryza sativa</i> var. Heiyounian	China/ Farelo	O perfil fitoquímico e a atividade antioxidante do farelo, arroz polido e arroz integral extrusados foram investigados.	Os fenólicos totais, antocianinas e atividade antioxidante do farelo aumentaram após a extrusão, enquanto que no arroz polido e integral foram significativamente reduzidos.	Ti <i>et al.</i> , 2015
Arroz ceroso e não ceroso	Tailândia/ Grão	Os efeitos de tratamentos pós-colheita (métodos de secagem, tempo e temperatura de armazenamento e métodos de embalagem) sobre os fitoquímicos bioativos foram investigados.	A secagem ao sol reduziu a perda de antocianinas e γ -orizanol, essa redução foi maior do que a secagem em ar quente. Bolsas de Nylon / LLDPE contendo N ₂ foram as embalagens mais adequadas para preservar o composto aromático 2-acetil-1-pirrolina (2AP), conteúdo fenólico total e antocianina.	Norkaew <i>et al.</i> , 2017

Tabela 1.3 – Variedades de arroz negro, origem geográfica, qual a parte do grão estudada, tecnologias de processamento.

(continuação)

Variedades	País/ Parte do grão	Tecnologia de processamento	Resultados	Referência
<i>Oryza sativa</i> L. japonica var. SBR	Estados Unidos/ Grão	A estabilidade térmica de seis pigmentos de antocianina foi avaliada em arroz cozido usando uma panela de arroz e panela de pressão.	Os níveis de cianidina-3-glucosido diminuíram com aumento concomitante dos níveis de ácido protocatecúico em todos os métodos de cozimento. Sugeriu-se que a cianidina-3-glicosídeo é degradada em ácido protocatecúico durante o cozimento.	Hiemori <i>et al.</i> , 2009
IAC-600	Brasil/ Grão	Determinou-se a concentração de compostos fenólicos solúveis totais (CFST) e a atividade antioxidante (AA) em diferentes processamentos (polido, integral, parboilizado polido e parboilizado integral). A concentração de CFST também foi determinada em grãos crus e cozidos.	Os processamentos de parboilização e cocção reduziram os CFST nos grãos, isso se deve a perda de parte deles na água de processamento, decomposição térmica e interação com outros componentes.	Walter <i>et al.</i> , 2013
Sintoheugmi e Sinnongheugchal	Coreia/ Grão	Duas cultivares foram investigadas quanto aos efeitos de diferentes métodos de cocção (fervura, cozimento a vapor, fritura e torrefação) sobre antocianinas (AT), compostos fenólicos totais (CFT) e atividades antioxidantes (AA).	O cozimento diminuiu o conteúdo de AT, CFT e AA, com a maior redução causada pela torrefação, seguida de fritura, vapor e fervura. As respostas ao processamento térmico foram diferentes entre as duas cultivares, o que foi atribuído a diferentes componentes da matriz alimentar, como a amilose, que interagiram com os fitoquímicos durante o cozimento.	Surh e Koh, 2014
Venere	Italia/ Grão	O perfil fenólico e a capacidade antioxidante foram analisados e monitorados antes e depois da cocção doméstica (métodos de cocção para risoto e ebulição).	Após o cozimento, o teor de compostos fenólicos diminuiu, com maiores perdas observadas por ebulição. O método de cozimento para risoto, que incorpora a absorção completa da água, foi melhor recomendado para reter compostos fenólicos e capacidade antioxidante.	Zaupa <i>et al.</i> , 2015

Tabela 1.3 – Variedades de arroz negro, origem geográfica, qual a parte do grão estudada, tecnologias de processamento.

(continuação)

<i>Variedades</i>	País/ Parte do grão	Tecnologia de processamento	Resultados	Referência
<i>Oryza sativa</i> L. indica – Arroz ceroso e não ceroso	China/ Grão	Compostos fenólicos totais (CFT), flavonoides totais (FT), teor de tanino condensado (TTC), conteúdo de antocianina monomérica (CTAM), cianidina-3-glucósido (C3G), peonidina-3-glucósido (P3G) e atividade antioxidante (AA) foram investigados, utilizando diferentes métodos de cozimento.	Níveis mais elevados de fenólicos e capacidade antioxidante foram observados no arroz não ceroso. Todos os métodos de cozimento (mingau e cozido) apresentaram menor CFT, FT, TTC, CTAM, C3G, P3G e AA em comparação com o arroz cru. Sob o mesmo tempo de cozimento, o mingau reteve mais substâncias ativas do que o arroz cozido.	Tang <i>et al.</i> , 2016
IAC-600	Brasil/ Grão	Mudanças no tempo de cozimento, dureza, fenólicos livres e ligados, antocianinas e capacidade antioxidante de grãos armazenados por 6 meses a diferentes temperaturas foram avaliados. O arroz foi armazenado a 13% de umidade nas temperaturas de 16, 24, 32 e 40°C.	O arroz armazenado a 16°C durante 6 meses exibiu alterações mínimas nas propriedades de cozimento e no conteúdo dos parâmetros avaliados. A 40°C houve aumento da dureza. As antocianinas não foram afetadas pela temperatura de armazenamento.	Ziegler <i>et al.</i> , 2018
Jiulihu	China/ Grão	As propriedades de cozimento e o processo de retrogradação foram avaliados com alta pressão hidrostática (APH) de imersão.	O APH melhorou a capacidade de absorção de água e propriedades texturais, diminuiu a amilose lixiviada. A retrogradação e a cristalinidade relativa com a APH foram reduzidas. Apresentando melhor palatabilidade.	Meng <i>et al.</i> , 2018
Arroz negro	China/ Grão	A fluidização de alta temperatura (FAT) foi utilizada para melhorar a qualidade alimentar do arroz. Mudanças na digestibilidade e atividade antioxidante foram investigadas.	O FAT melhorou a qualidade do cozimento e levou a um índice glicêmico mais baixo, com um efeito significativo sobre as propriedades de pasta e térmicas. O CTA não foi degradada e não houve diferença significativa entre o arroz tratado e não tratado com HTAF.	Li <i>et al.</i> , 2017

Tabela 1.3 – Variedades de arroz negro, origem geográfica, qual a parte do grão estudada, tecnologias de processamento.

(conclusão)

Variedades	País/ Parte do grão	Tecnologia de processamento	Resultados	Referência
Arroz ceroso	Tailândia/ Farelo	Farelo foi produzido enzimaticamente como maltodextrinas de arroz (MA). E foram utilizados como materiais para microencapsulação (spray-drying e liofilização).	O pó de antocianina em spray-drying mostrou maior eficiência e melhores propriedades de reconstituição. O pó de antocianina liofilizado apresentou boas propriedades em termos de densidade aparente, ângulo de repouso, rendimento do processo e retenção de antocianinas. A MA pode substituir a maltodextrina comercial pela microencapsulação de antocianinas.	Laokuldilok e Kanha, 2015
IAC-600	Brasil/ Grão	O estudo avaliou os efeitos do polimento e parboilização na composição, estrutura, compostos fenólicos, atividade antioxidante, tempo de cozimento e dureza.	Impacto positivo do processo de parboilização na retenção nutricional (proteína, cinzas e compostos fenólicos) e modificação do tempo de cozimento e dureza, um efeito deletério do polimento dos grãos em relação aos mesmos parâmetros de qualidade. O nível de fenólicos livres foi maior nos grãos polidos parboilizados.	Paiva et al., 2016

Papillo *et al.* (2018) obtiveram extratos polifenólicos ricos em antocianinas de arroz negro italiano (Artemide), que foi processado tanto por secagem por aspersão quanto por liofilização, a fim de obter ingredientes que seriam mais estáveis durante o armazenamento e cozimento. Os extratos em pó foram testados como ingredientes funcionais em biscoitos. Os biscoitos enriquecidos apresentaram maior teor de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante em relação ao biscoito controle. Os autores concluíram que os compostos bioativos podem ser obtidos usando *spray-dried*, tornando os ingredientes mais estáveis para aplicação em alimentos funcionais e nutracêuticos.

1.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após analisar a literatura e fornecer informações em relação aos aspectos históricos, estratégias agronômicas alternativas, composição química, propriedades nutricionais e funcionais do arroz negro, fica claro que este cereal tem uma tradição duradoura. Muitos estudos afirmam que as antocianinas e os demais compostos bioativos exibem alta atividade antioxidante e estão envolvidos como agentes preventivos em diversas doenças. No entanto, estudos mais detalhados sobre o isolamento destes compostos bioativos e seus efeitos sobre o poder antioxidante, bem como seus mecanismos de ação em relação aos efeitos biológicos em modelos animais e humanos, são necessários para estabelecer seus potenciais benefícios.

Esta revisão discutiu aplicações do arroz negro no desenvolvimento de alimentos e bebidas, bem como algumas tecnologias de processamento para melhorar seus atributos de qualidade, demonstrando que, este arroz pigmentado oferece uma ampla gama de opções para aplicação em alimentos funcionais, cereais isentos de glúten e produtos com maior valor nutricional, proporcionando benefícios extras à saúde dos consumidores. Deste modo, o desenvolvimento de novos produtos, bem como o uso de novas tecnologias pode atender a crescente demanda da indústria de alimentos.

REFERENCIAS

- ADU-KWARTENG, E.; ELLIS, W. O.; ODURO, I.; MANFUL, J. T. Rice grain quality: a comparison of local varieties with new varieties under study in Ghana. **Food Control**, v.14, n. 7, p. 507-514, 2003.
- ALVES, G. H.; FERREIRA, C. D.; VIVIAN, P. G.; MONKS, J. L. F.; ELIAS, M. C.; VANIER, N. L.; DE 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.
- AMAGLIANI, L.; O'REGAN, J.; KELLY, A. L.; O'MAHONY, J. A. Chemistry, structure, functionality and applications of rice starch. **Journal of Cereal Science**, v. 70, p. 291-300, 2016.
- BASSINELLO, P. Z.; GARCIA, J. S.; SOARES, L. A.; KOAKUZU, S. N.; NETO, F. P. M.; FERREIRA, R. A.; MENDONÇA, J. A.; SANTIAGO, C. M.; RANGEL, P. H. N. Arroz negro: nova opção culinária para o Brasil. **Comunicado técnico Embrapa**, 147, p. 1-5, 2008.
- BUDIMAN; ARISOESILANINGSIH, E. An interaction model between environmental factors and black rice growth in irrigated organic paddy field **AGRIVITA Journal of Agricultural Science**, v. 37, n. 1, p. 30-36, 2015.
- BURLANDO, B.; CORNARA, L. Therapeutic properties of rice constituents and derivatives (*Oryza sativa* L.): A review update. **Trends in Food Science & Technology**, v. 40, n. 1, p. 82-98, 2014.

CALLCOTT, T. E.; SANTHAKUMAR, B. A.; LUO, J.; BLANCHARD, L. C. Therapeutic potential of rice-derived polyphenols on obesity-related oxidative stress and inflammation. **Journal of Applied Biomedicine**, v. 16, n. 4, p. 255-262, 2018.

CARVALHO, V. A.; BASSINELLO, P. Z.; MATTIETTO, R. M.; RIOS, A. O.; LIMA, A. C. P.; KOAKUZU, S. N.; CARVALHO, R. N. Physicochemical, technological and sensory characteristics of a rice (*Oryza sativa* L.) and bean (*Phaseolus vulgaris* L.) soup prepared by extrusion. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, n. 10, p. 2057-2063, 2013.

CHAUHAN, B. S.; MAHAJAN, G.; SARDANA, V.; TIMSINA, J.; JAT, M. L. Productivity and sustainability of the rice–wheat cropping system in the indo-gangetic plains of the Indian subcontinent: Problems, Opportunities, and Strategies. In: SPARKS, D. L. (Ed.). **Advances in Agronomy**: Academic Press, v.117, p.315-369, 2012.

CHEN, X. Q.; NAGAO, N.; ITANI, T.; IRIFUNE, K. Anti-oxidative analysis, and identification and quantification of anthocyanin pigments in different coloured rice. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2783-2788, 2012.

CHOI, S.; SEO, H.-S.; LEE, K. R.; LEE, S.; LEE, J.; LEE, J. Effect of milling and long-term storage on volatiles of black rice (*Oryza sativa* L.) determined by headspace solid-phase microextraction with gas chromatography–mass spectrometry. **Food Chemistry**, v. 276, p. 572-582, 2019.

CHUNG, H.-J.; CHO, A.; LIM, S.-T. Effect of heat-moisture treatment for utilization of germinated brown rice in wheat noodle. **LWT - Food Science and Technology**, v. 47, n. 2, p. 342-347, 2012.

COPELAND, L.; BLAZEK, J.; SALMAN, H.; TANG, M. C. Form and functionality of starch. **Food Hydrocolloids**, v. 23, n. 6, p. 1527-1534, 2009.

DEMETER INTERNATIONAL. **For the use of demeter, biodynamic and related trademarks**. Disponível em: <http://www.demeter.net/certification/standards>. Acesso em: 7 nov, 2017.

DU, B.; ZHANG, W.; LIU, B.; HU, J.; WEI, Z.; SHI, Z.; HE, R.; ZHU, L.; CHEN, R.; HAN, B.; HE, G. Identification and characterization of Bph14, a gene conferring resistance to brown planthopper in rice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United State of America**, v. 106, p. 22163-22168, 2009.

DUYI, S.; BARAN, D. A.; CHANDRA, D. S. Pigmented rice a potential source of bioactive compounds: a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 52, n. 5, p. 1073-1081, 2017.

EMBRAPA. **Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br>. Acesso em: 6 jun, 2018.

ENCYCLOPEDIA BRITANNICA. **Rice cereal grain**. Disponível em: <https://www.britannica.com/plant/rice>. Acesso em: 2 dez, 2018.

FACCIN, G. L.; MIOTTO, L. A.; VIEIRA, L. D. N.; BARRETO, P. L. M.; AMANTE, E. R. Chemical, sensorial and rheological properties of a new organic rice bran beverage. **Rice Science**, v. 16, n. 3, p. 226-234, 2009.

FAO. Rice Market Monitor. **Food and Agricultural Organization of the United Nations**. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/013/am016e00.pdf>. Acesso em: 4 jan, 2018.

FINOCCHIARO, F.; FERRARI, B.; GIANINETTI, A. A study of biodiversity of flavonoid content in the rice caryopsis evidencing simultaneous accumulation of anthocyanins and proanthocyanidins in a black-grained genotype. **Journal of Cereal Science**, v. 51, n. 1, p. 28-34, 2010.

FRANK, T.; REICHARDT, B.; SHU, Q.; ENGEL, K.-H. Metabolite profiling of colored rice (*Oryza sativa* L.) grains. **Journal of Cereal Science**, v. 55, n. 2, p. 112-119, 2012.

GU, K.; YANG, B.; TIAN, D.; WU, L.; WANG, D.; SREEKALA, C.; YANG, F.; CHU, Z.; WANG, G.L.; WHITE, F.F.; YIN, Z. R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. **Nature**, v. 435, p. 1122-1125, 2005.

HAO, J.; ZHU, H.; ZHANG, Z.; YANG, S.; LI, H. Identification of anthocyanins in black rice (*Oryza sativa* L.) by UPLC/Q-TOF-MS and their *in vitro* and *in vivo* antioxidant activities. **Journal of Cereal Science**, 64, 92-99, 2015.

HARUTA, S.; UENO, S.; EGAWA, I.; HASHIGUCHI, K.; FUJII, A.; NAGANO, M.; ISHII, M.; IGARASHI, Y. Succession of bacterial and fungal communities during a traditional pot fermentation of rice vinegar assessed by PCR-mediated denaturing gradient gel electrophoresis. **International Journal of Food Microbiology**, v. 109, n. 1, p. 79-87, 2006.

HE, S.; LOU, Q.; SHI, J.; SUN, H.; ZHANG, M.; LI, Q. Water Extraction of Anthocyanins from Black Rice and Purification Using Membrane Separation and Resin Adsorption. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 4, p. e13091, 2017.

HEIMLER, D.; ISOLANI, L.; VIGNOLINI, P.; ROMANI, A. Polyphenol content and antiradical activity of *Cichorium intybus* L. from biodynamic and conventional farming. **Food Chemistry**, v. 114, n. 3, p. 765-770, 2009.

HIEMORI, M.; KOH, E.; MITCHELL, A. E. Influence of Cooking on Anthocyanins in Black Rice (*Oryza sativa* L. japonica var. SBR). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 5, p. 1908-1914, 2009.

HOU, Z.; QIN, P.; ZHANG, Y.; CUI, S.; REN, G. Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa* L.) and their degradation kinetics. **Food Research International**, v. 50, n. 2, p. 691-697, 2013.

ITO, V. C.; SCHNITZLER, E.; DEMIATE, I. M.; EUSÉBIO, M. E. S.; LACERDA, L. G.; CASTRO, R. A. E. Physicochemical, thermal, crystallographic, and morphological properties of biodynamic black rice starch, and of residual fractions from aqueous extraction. **Starch - Stärke**, v. 70, n. 11-12, p. 1700348, 2018a.

ITO, V. C.; BET, C. D.; WOJEICCHOWSKI, J. P.; DEMIATE, I. M.; SPOTO, M. H. F.; SCHNITZLER, E.; LACERDA, L. G. Effects of gamma radiation on the thermoanalytical, structural and pasting properties of black rice (*Oryza sativa* L.) flour. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 133, n. 1, p. 529-537, 2018b.

JAISUT, D.; PRACHAYAWARAKORN, S.; VARANYANOND, W.; TUNGTRAKUL, P.; SOPONRONNARIT, S. Accelerated aging of jasmine brown rice by high-temperature fluidization technique. **Food Research International**, v. 42, n. 5, 674-681, 2009.

JENG, T. L., LAI, C. C., HO, P. T., SHIH, Y. J., & SUNG, J. M. Agronomic, molecular and antioxidative characterization of red- and purple-pericarp rice (*Oryza sativa* L.) mutants in Taiwan. **Journal of Cereal Science**, v. 56, n. 2, 425-431, 2012.

JI, Y.; ZHU, K.; QIAN, H.; ZHOU, H. Microbiological characteristics of cake prepared from rice flour and sticky rice flour. **Food Control**, v. 18, n. 12, p. 1507-1511, 2007.

JULIANO, B. O. Rice chemistry and quality **Island Publishing House, Philippines**, Cap. 2, p. 25-50, 2003.

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. C759-C764, 2012.

KAMARA, J. S.; HOSHINO, M.; SATOH, Y.; NAYAR, N.; TAKAOKA, M.; SASANUMA, T.; ABE, T. Japanese sake-brewing rice cultivars show high levels of globulin-like protein and a chloroplast stromal HSP70. **Crop Science**, v. 49, n. 6, p. 2198-2206, 2009.

KATOH, T.; KOGUCHI, M.; SAIGUSA, N.; TERAMOTO, Y. Production and antioxidative activity of mead made from various types of honey and black rice (*Oryza sativa* var. Indica cv. Shiun). **Food Science and Technology Research**, v. 17, n. 2, p. 149-154, 2011.

KIM, S.-H.; WOO, H. J.; LEE, M. H.; PARK, M.; NAGENDRAN, T.; RHEE, K.-J.; LEE, D.; JIN, Y.-B.; CHOI, S.-W.; SEO, W. D.; KIM, J. B. Antimicrobial effects of black rice extract on *Helicobacter pylori* infection in Mongolian gerbil. **Journal of Cereal Science**, v. 85, p. 1-5, 2019.

KONG, S.; KIM, D.-J.; OH, S.-K.; CHOI, I.-S.; JEONG, H.-S.; LEE, J. Black rice bran as an ingredient in noodles: chemical and functional evaluation. **Journal of Food Science**, v. 77, n. 3, p. C303-C307, 2012.

KONG, S.; LEE, J. Antioxidants in milling fractions of black rice cultivars. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 278-281, 2010.

KRAITHONG, S.; LEE, S.; RAWDKUEN, S. Physicochemical and functional properties of Thai organic rice flour. **Journal of Cereal Science**, v. 79, p. 259-266, 2018.

KUMAR, P.; PRAKASH, K. S.; JAN, K.; SWER, T. L.; JAN, S.; VERMA, R.; DEEPIKA, K.; DAR, M. Z.; VERMA, K.; BASHIR, K. Effects of gamma irradiation on starch granule structure and physicochemical properties of brown rice starch. **Journal of Cereal Science**, v. 77, p. 194-200, 2017.

KUSHWAHA, U. K. S. Black rice: research, history and development. **Springer International Publishing**, Cap. 2, p. 21-31, 2016.

LACERDA, L.G.; NOGUEIRA, A.; ITO, V.C.; ZIELINSKI, A.A.; SCHNITZLER, E. Processo de produção de cerveja com propriedades funcionais, utilizando arroz pigmentado biodinâmico. **Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa – PR**. BR 10 2016 023777 7, 2016.

LAOKULDILOK, T.; KANHA, N. Effects of processing conditions on powder properties of black glutinous rice (*Oryza sativa* L.) bran anthocyanins produced by spray drying and freeze drying. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 1, p. 405-411, 2015.

LEE, J. H. Identification and quantification of anthocyanins from the grains of black rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **Food Science and Biotechnology**, v. 19, n. 2, p. 391-397, 2010.

LI, Y.; TENG, F.; SHI, F.; WANG, L.; CHEN, Z. Effects of high-temperature air fluidization (HTAF) on eating quality, digestibility, and antioxidant activity of black rice (*Oryza sativa* L.). **Starch - Stärke**, v. 69, n. 7-8, 2017.

LIU, T.Y.; MA, Y.; YU, S.F.; SHI, J.; XUE, S. The effect of ball milling treatment on structure and porosity of maize starch granule. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 12, p. 586-593, 2011.

LIU, T.; MA, Y.; XUE, S.; SHI, J. Modifications of structure and physicochemical properties of maize starch by γ -irradiation treatments. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 156-163, 2012.

LIU, X.-Q.; LIU, Y.-Q.; SHAO, X.-S.; XU, Z.-P.; XU, X.-Y.; LI, Z. Synthesis and insecticidal evaluation of tetrahydroimidazo[1,2-a]pyridin-5(1H)-one derivatives. **Chinese Chemical Letters**, v. 27, n. 1, p. 7-10, 2016.

LOYPIMAI, P.; MOONGNGARM, A.; CHOTTANOM, P. Thermal and pH degradation kinetics of anthocyanins in natural food colorant prepared from black rice bran. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 461-470, 2016.

LOYPIMAI, P.; MOONGNGARM, A.; CHOTTANOM, P.; MOONTREE, T. Ohmic heating-assisted extraction of anthocyanins from black rice bran to prepare a natural food colourant. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.27, p. 102-110, 2015.

MA, X.; FENG, F.; WEI, H.; MEI, H.; XU, K.; CHEN, S.; LI, T.; LIANG, X.; LIU, H.; LUO, L. Genome-wide association study for plant height and grain yield in rice under contrasting moisture regimes. **Frontiers in Plant Science**, v. 7, p. 1801, 2016.

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, n. 7, p. 993-1000, 2002.

MAU, J.-L.; LEE, C.-C.; CHEN, Y.-P.; LIN, S.-D. Physicochemical, antioxidant and sensory characteristics of chiffon cake prepared with black rice as replacement for wheat flour. **LWT - Food Science and Technology**, v. 75, p. 434-439, 2017.

MELINI, V.; PANFILI, G.; FRATIANNI, A.; ACQUISTUCCI, R. Bioactive compounds in rice on Italian market: pigmented varieties as a source of carotenoids, total phenolic compounds and anthocyanins, before and after cooking. **Food Chemistry**, v. 277, p. 119-127, 2019.

MENG, L.; ZHANG, W.; WU, Z.; HUI, A.; GAO, H.; CHEN, P.; HE, Y. Effect of pressure-soaking treatments on texture and retrogradation properties of black rice. **LWT- Food Science and Technology**, v. 93, p. 485-490, 2018.

MIN, B.; GU, L.; MCCLUNG, A. M.; BERGMAN, C. J.; CHEN, M.-H. Free and bound total phenolic concentrations, antioxidant capacities, and profiles of proanthocyanidins and anthocyanins in whole grain rice (*Oryza sativa* L.) of different bran colours. **Food Chemistry**, v. 133, n. 3, p. 715-722, 2012.

MIR, S. A.; BOSCO, S. J. D. Cultivar difference in physicochemical properties of starches and flours from temperate rice of Indian Himalayas. **Food Chemistry**, v. 157, p. 448-456, 2014.

NAYAK, P. K.; NAYAK, A. K.; PANDA, B. B.; LAL, B.; GAUTAM, P.; POONAM, A.; SHAHID, M.; TRIPATHI, R.; KUMAR, U.; MOHAPATRA, S. D.; JAMBHULKAR, N. N. Ecological mechanism and diversity in rice based integrated farming system. **Ecological Indicators**, v. 91, p. 359-375, 2018.

NIROULA, R.K.; PUCCIARIELLO, C.; HO, V.T.; NOVI, G.; FUKAO, T.; PERATA, P. SUB1A dependent and -independent mechanisms are involved in the flooding tolerance of wild rice species. **Plant Journal**, v. 72, p. 282-293, 2012.

NONTASAN, S.; MOONGNGARM, A.; DEESEENTHUM, S. Application of functional colorant prepared from black rice bran in yogurt. **APCBEE Procedia**, v. 2, p. 62-67, 2012.

NORKAEW, O.; BOONTAKHAM, P.; DUMRI, K.; NOENPLAB, A. N. L.; SOOKWONG, P.; MAHATHEERANONT, S. Effect of post-harvest treatment on bioactive phytochemicals of Thai black rice. **Food Chemistry**, v. 217, p. 98-105, 2017.

NUNES, F. A.; SEFERIN, M.; MACIEL, V. G.; FLÔRES, S. H.; AYUB, M. A. Z. Life cycle greenhouse gas emissions from rice production systems in Brazil: A comparison between minimal tillage and organic farming. **Journal of Cleaner Production**, v. 139, p. 799-809, 2016.

PAIVA, F. F.; VANIER, N. L.; BERRIOS, J. D. J.; PINTO, V. Z.; WOOD, D.; WILLIAMS, T.; PAN, J.; ELIAS, M. C. Polishing and parboiling effect on the nutritional and technological properties of pigmented rice. **Food Chemistry**, v. 191, p. 105-112, 2016.

PANG, Y.; AHMED, S.; XU, Y.; BETA, T.; ZHU, Z.; SHAO, Y.; BAO, J. Bound phenolic compounds and antioxidant properties of whole grain and bran of white, red and black rice. **Food Chemistry**, v. 240, p. 212-221, 2018.

PAPILLO, V. A.; LOCATELLI, M.; TRAVAGLIA, F.; BORDIGA, M.; GARINO, C.; ARLORIO, M.; COÏSSON, J. D. Spray-dried polyphenolic extract from Italian black rice (*Oryza sativa* L., var. Artemide) as new ingredient for bakery products. **Food Chemistry**, v. 269, p. 603-609, 2018.

PARK, D.-J.; HAN, J.-A. Quality controlling of brown rice by ultrasound treatment and its effect on isolated starch. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 30-38, 2016.

PEREIRA-CARO, G.; CROS, G.; YOKOTA, T.; CROZIER, A. Phytochemical profiles of black, red, brown, and white rice from the camargue region of france. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 61, n. 33, p. 7976-7986, 2013.

PICONE, G.; TRIMIGNO, A.; TESSARIN, P.; DONNINI, S.; ROMBOLÀ, A. D.; CAPOZZI, F. ¹H NMR foodomics reveals that the biodynamic and the organic cultivation managements produce different grape berries (*Vitis vinifera* L. cv. Sangiovese). **Food Chemistry**, v. 213, p. 187-195, 2016.

QU, S.; LIU, G.; ZHOU, B.; BELLIZZI, M.; ZENG, L.; DAI, L.; HAN, B.; WANG, G.L. The broadspectrum blast resistance gene Pi9 encodes a nucleotide-binding site-leucine-rich repeat protein and is a member of a multigene family in rice. **Genetics**, v. 172, p. 1901-1914, 2006.

REBELLO, C. J.; GREENWAY, F. L.; FINLEY, J. W. Whole Grains and Pulses: A Comparison of the Nutritional and Health Benefits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 29, p. 7029-7049, 2014.

RIZO-PATRÓN V, F.; KUMAR, A.; MCCOY COLTON, M. B.; SPRINGER, M.; TRAMA, F. A. Macroinvertebrate communities as bioindicators of water quality in conventional and organic irrigated rice fields in Guanacaste, Costa Rica. **Ecological Indicators**, v. 29, p. 68-78, 2013.

RYU, D.; KOH, E. Influence of cooking methods on free and bound phenolic acids in korean black rice. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 2, p. e12873, 2017.

SAURA-CALIXTO, F.; SERRANO, J.; GOÑI, I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 492-501, 2007.

SHAO, Y.; HU, Z.; YU, Y.; MOU, R.; ZHU, Z.; BETA, T. Phenolic acids, anthocyanins, proanthocyanidins, antioxidant activity, minerals and their correlations in non-pigmented, red, and black rice. **Food Chemistry**, v. 239, p. 733-741, 2018.

SHAO, Y.; TANG, F.; XU, F.; WANG, Y.; BAO, J. Effects of γ -irradiation on phenolics content, antioxidant activity and physicochemical properties of whole grainrice. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 85, p. 227-233, 2013.

SHAO, Y.; XU, F.; SUN, X.; BAO, J.; BETA, T. Identification and quantification of phenolic acids and anthocyanins as antioxidants in bran, embryo and endosperm of white, red and black rice kernels (*Oryza sativa* L.). **Journal of Cereal Science**, v. 59, n. 2, p. 211-218, 2014.

SINGH SODHI, N.; SINGH, N. Morphological, thermal and rheological properties of starches separated from rice cultivars grown in India. **Food Chemistry**, v. 80, n. 1, p. 99-108, 2003.

SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidante. **Revista de Nutrição**, v. 15, n. 1, p. 71 – 81, 2002.

SOMPONG, R.; SIEBENHANDL-EHN, S.; LINSBERGER-MARTIN, G.; BERGHOFER, E. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 132-140, 2011.

SORIGUER, F.; COLOMO, N.; OLVEIRA, G.; GARCÍA-FUENTES, E.; ESTEVA, I.; RUIZ DE ADANA, M. S.; MORCILLO, S.; PORRAS, N.; VALDÉS, S.; ROJO-MARTÍNEZ, G. White rice consumption and risk of type 2 diabetes. **Clinical Nutrition**, v. 32, n. 3, p. 481-484, 2013.

SOUZA D. D.; SBARDELOTTO A. F.; ZIEGLER D. R.; MARCZAK L. D. F.; TESSARO I. C. Characterization of rice starch and protein obtained by a fast alkaline extraction method. **Food chemistry**, v. 191, p. 36-44, 2016.

SUI, X.; ZHANG, Y.; ZHOU, W. Bread fortified with anthocyanin-rich extract from black rice as nutraceutical sources: Its quality attributes and *in vitro* digestibility. **Food Chemistry**, v. 196, p. 910-916, 2016.

SULTAN, N.; WANI, I. A.; MASOODI, F. A. Moisture mediated effects of γ -irradiation on physicochemical, functional, and antioxidant properties of pigmented brown rice (*Oryza sativa* L.) flour. **Journal of Cereal Science**, v. 79, p. 399-407, 2018.

SUMCZYNSKI, D.; KOTÁSKOVÁ, E.; DRUŽBÍKOVÁ, H.; MLČEK, J. Determination of contents and antioxidant activity of free and bound phenolics compounds and *in vitro* digestibility of commercial black and red rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **Food Chemistry**, v. 211, p. 339-346, 2016.

SURH, J.; KOH, E. Effects of four different cooking methods on anthocyanins, total phenolics and antioxidant activity of black rice. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 94, n. 15, p. 3296-3304, 2014.

TANAKA, J.; NAKAMURA, S.; TSURUMA, K.; SHIMAZAWA, M.; SHIMODA, H.; HARA, H. Purple rice (*Oryza sativa* L.) extract and its constituents inhibit vegf-induced angiogenesis. **Phytotherapy Research**, v. 26, n. 2, p. 214-222, 2012.

TANANUWONG, K.; TEWARUTH, W. Extraction and application of antioxidants from black glutinous rice. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, n. 3, p. 476-481, 2010.

TANG, Y.; CAI, W.; XU, B. From rice bag to table: Fate of phenolic chemical compositions and antioxidant activities in waxy and non-waxy black rice during home cooking. **Food Chemistry**, v. 191, p. 81-90, 2016.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch - composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, n. 2, p. 151-165, 2004.

TI, H.; ZHANG, R.; ZHANG, M.; WEI, Z.; CHI, J.; DENG, Y.; ZHANG, Y. Effect of extrusion on phytochemical profiles in milled fractions of black rice. **Food Chemistry**, v. 178, p. 186-194, 2015.

USA Rice Federation, **Disponível em:** <http://www.usarice.com>. Acesso em 14 nov, 2018.

USDA. Grain: World Markets and Trade. **United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service, Washington, DC, US**. Disponível em: <https://www.fas.usda.gov/data/grain-world-markets-and-trade>. Acesso em: 17 dez. 2018.

VARGAS, C. G.; DA SILVA JUNIOR, J. D.; RABELO, T. K.; MOREIRA, J. C. F.; GELAIN, D. P.; RODRIGUES, E.; AUGUSTI, P. R.; RIOS, A. D. O.; FLÔRES, S. H. Bioactive compounds and protective effect of red and black rice brans extracts in human neuron-like cells (SH-SY5Y). **Food Research International**, v. 113, p. 57-64, 2018.

VELUPPILLAI, S.; NITHYANANTHARAJAH, K.; VASANTHARUBA, S.; BALAKUMAR, S.; ARASARATNAM, V. Optimization of bread preparation from wheat flour and malted rice flour. **Rice Science**, v. 17, n. 1, p. 51-59, 2010.

WALTER, M.; MARCHESAN, E.; MASSONI, P. F. S.; DA SILVA, L. P.; SARTORI, G. M. S.; FERREIRA, R. B. Antioxidant properties of rice grains with light brown, red and black pericarp colors and the effect of processing. **Food Research International**, v. 50, n. 2, p. 698-703, 2013.

WANG, C.L.; ZHANG, X.P.; FAN, Y.L.; GAO, Y.; ZHU, Q.L.; ZHENG, C.K.; QIN, T.F.; LI, Y.Q.; CHE, J.Y.; ZHANG, M.W.; YANG, B.; LIU, Y.G.; ZHAO, K.J. XA23 is an Executor R protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. **Molecular Plant**, v. 8, p. 290-302. 2015.

WANG, X.; MENG, J.; ZHANG, J.; ZHOU, T.; ZHANG, Y.; YANG, B.; XI, M.; XIA, X. Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from powdered infant formula milk and infant rice cereal in China. **International Journal of Food Microbiology**, v. 153, n. 1, p. 142-147, 2012.

WANI, A. A.; SINGH, P.; SHAH, M. A.; SCHWEIGGERT-WEISZ, U.; GUL, K.; WANI, I. A. Rice Starch Diversity: Effects on Structural, Morphological, Thermal, and Physicochemical Properties - A Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 11, n. 5, p. 417-436, 2012.

WEI, X.; HUANG, X. 1 - Origin, taxonomy, and phylogenetics of rice. In J. Bao. **Rice AACC International Press**, v. 4, p. 1-29, 2019.

WU, Z.; WANG, Y.; ZHOU, X.; ZHOU, T. Analysis of the interaction among rice, weeds, inorganic fertilizer, and a herbivore in a composite farming paddy ecosystem. **Mathematical Biosciences**, v. 300, p. 145-156, 2018.

YANG, H.; YU, D.; ZHOU, J.; ZHAI, S.; BIAN, X.; WEIH, M. Rice-duck co-culture for reducing negative impacts of biogas slurry application in rice production systems. **Journal of Environmental Management**, v. 213, p. 142-150, 2018.

ZAUPA, M.; CALANI, L.; DEL RIO, D.; BRIGHENTI, F.; PELLEGRINI, N. Characterization of total antioxidant capacity and (poly)phenolic compounds of differently pigmented rice varieties and their changes during domestic cooking. **Food Chemistry**, v. 187, p. 338-347, 2015.

ZHANG, H.; SHAO, Y.; BAO, J.; BETA, T. Phenolic compounds and antioxidant properties of breeding lines between the white and black rice. **Food Chemistry**, v. 172, n. Supplement C, p. 630-639, 2015.

ZHANG, M. W.; ZHANG, R. F.; ZHANG, F. X.; LIU, R. H. Phenolic profiles and antioxidant activity of black rice bran of different commercially available varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 13, p. 7580-7587, 2010.

ZHU, F. Interactions between starch and phenolic compound. **Trends in Food Science and Technology**, v. 43, n. 2, p. 129-143, 2015.

ZHU, L.-J.; LIU, Q.-Q.; WILSON, J. D.; GU, M.-H.; SHI, Y.-C. Digestibility and physicochemical properties of rice (*Oryza sativa* L.) flours and starches differing in amylose content. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 4, p. 1751-1759, 2011.

ZIEGLER, V.; FERREIRA, C. D.; GOEBEL, J. T. S.; EL HALAL, S. L. M.; SANTETTI, G. S.; GUTKOSKI, L. C.; ZAVAREZE, E. D. R.; ELIAS, M. C. Changes in properties of starch isolated from whole rice grains with brown, black, and red pericarp after storage at different temperatures. **Food Chemistry**, v. 216, p. 194-200, 2017.

CAPÍTULO II

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, TÉRMICAS, CRISTALOGRÁFICAS E MORFOLÓGICAS DO AMIDO E FRAÇÕES RESIDUAIS DA EXTRAÇÃO AQUOSA DO ARROZ NEGRO BIODINÂMICO

O conteúdo deste capítulo foi publicado na revista Starch – Stärke (DOI: 10.1002/star.201700348), anexoA.

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, TÉRMICAS, CRISTALOGRÁFICAS E MORFOLÓGICAS DO AMIDO E FRAÇÕES RESIDUAIS DA EXTRAÇÃO AQUOSA DO ARROZ NEGRO BIODINÂMICO

RESUMO

Neste estudo avaliaram-se as propriedades físico-químicas, térmicas, cristalográficas e morfológicas do amido de arroz negro biodinâmico, bem como as frações residuais oriundas da extração aquosa. Os teores de proteínas, lipídios, cinzas e fibra alimentar do amido foram menores quando comparados às frações residuais. As temperaturas de gelatinização e ΔH_{gel} das frações residuais apresentaram diferença significativa quando comparadas ao amido ($p < 0,05$). Todas as amostras apresentaram padrões claros de difração do tipo A, com picos principais em 15° , 17° , 18° e 23° , o índice de cristalinidade para todas as amostras foram similares ($\approx 22\%$). As bandas dos espectros de infravermelho atribuídas às proteínas e aos carboidratos (amido) foram claramente identificadas e o indicador estrutural (I_{1046}/I_{1018}) do grau de ordem dupla helicoidal foi calculado. As microimagens mostraram grânulos de amido poliédrico com formas irregulares, bordas agudas e sem poros na superfície. A extração aquosa resultou em uma fração de amido com baixo teor de proteínas e lipídios, fornecendo um método eficaz para isolar este carboidrato, contribuindo para a preservação do caráter biodinâmico da matéria-prima sem gerar resíduos contaminantes.

Palavras-chave: Agricultura biodinâmica, arroz pigmentado, processos ambientalmente amigáveis.

ABSTRACT

This study was performed to evaluate the physicochemical, thermal, crystallographic and morphological properties of biodynamic black rice starch, and of the residual fractions from aqueous extraction. The contents of ash, dietary fibre, proteins and lipids in the starch were lower than those from the residual fractions. The gelatinisation temperatures and ΔH_{gel} of the residual fractions differed significantly ($p < 0.05$) from those of the starch. All the samples had clear A-type diffraction patterns, with main reflections at $2\theta \approx 15^\circ$, 17° , 18° and 23° ; they also presented a similar crystallinity index ($\sim 22\%$). Bands in the infrared spectra assigned to proteins and to carbohydrates (starch) were clearly identified, and the structural indicator (I_{1046}/I_{1018}) of the degree of double helical order was calculated. Micro-images showed polyhedral starch granules having irregular shapes, with sharp angles and edges, and without pores on the smooth surface. The aqueous extraction resulted in a starch fraction with low protein and lipid content. It provided an effective method to isolate this carbohydrate, contributing to the preservation of the biodynamic character of the raw material without generating contaminating residues.

Keywords: Biodynamic farming, pigmented rice, environmentally friendly processes.

2.1 INTRODUÇÃO

O arroz é um cereal, sendo o seu principal componente o amido, juntamente com pequenas quantidades de proteínas, lipídios, fibras, minerais, vitaminas e compostos fenólicos (SOUZA *et al.*, 2016). As variedades de arroz pigmentado, como o arroz negro, contêm aproximadamente 75% de carboidratos, os quais são predominantemente amidos, que consistem em unidades de glicose em macromoléculas lineares (amilose) e ramificadas (amilopectina), conectadas por ligações α -(1,4) e por ligações α -(1,6) nos pontos de ramificação (HORNUNG *et al.*, 2016).

O aumento da demanda por produtos saudáveis impulsionou o desenvolvimento de estratégias agronômicas alternativas, como a agricultura biodinâmica, que pode proporcionar uma variedade de benefícios em termos de sustentabilidade e melhor qualidade do solo. Essa agricultura é similar em muitos aspectos à orgânica, ambas usam compostagem e evitam a aplicação de pesticidas, herbicidas, hormônios e outros produtos químicos (PICONE *et al.*, 2016). No entanto, estudos com amido de fontes biodinâmicas são escassos, especialmente no caso do arroz negro. Há uma demanda crescente por esses produtos potencialmente saudáveis e valorizados, os quais são muito atraentes para os consumidores.

A extração aquosa de amido é um processo que não utiliza produtos químicos, isso mantém a essência orgânica da matéria-prima sem gerar resíduos contaminantes. Consequentemente, o amido obtido dessa forma pode ser aplicado em produtos alimentícios e farmacêuticos. Além de apresentar custo de extração relativamente baixo, essa técnica pode trazer vantagens econômicas, com valor agregado para diversas aplicações, bem como ajudar a reduzir parcialmente os impactos negativos ao meio ambiente. Portanto, este trabalho teve por objetivo avaliar as propriedades físico-químicas, térmicas, cristalográficas e morfológicas do amido de arroz negro biodinâmico, bem como as frações residuais provenientes da extração aquosa.

2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.2.1 Matéria-Prima e Processo de Extração do Amido

O arroz negro biodinâmico utilizado nos experimentos foi cultivado de acordo com os padrões biodinâmicos da Demeter internacional (2017) e adquirido no mercado municipal de Curitiba, Paraná, Brasil. Os grãos de arroz foram moídos em moinho de facas (Ika-Werke M-

20, Wilmington, Carolina do Norte, EUA) e peneirados em 60 mesh (tamanho de partícula até 250 μm) para obter a farinha de arroz negro. Uma suspensão aquosa de farinha (1:2, farinha:água) foi preparada para extrair o amido a temperatura ambiente 25 °C, conforme metodologia proposta por Ribeiro *et al.* (2014). Após agitação (Ika-RW20 digital) durante 10 minutos, a amostra foi peneirada (150 e 325 mesh - três vezes) e então a suspensão foi decantada por 30 min e centrifugada (Routine 420R, Hettich Zentrifugen, Alemanha) a 5.000 g em temperatura de 4 °C por 10 minutos.

A fração residual que foi removida da peneira de 150 mesh foi denominada como Resíduo 1 e a fração residual removida da peneira de 325 mesh foi designada como Resíduo 2. O amido obtido após a centrifugação e as frações residuais foi colocado em estufa de circulação de ar forçada a 40 °C por 24 horas. Por fim, o amido de arroz negro foi peneirado em 100 mesh. As amostras foram embaladas a vácuo, com 50 gramas em cada embalagem, em pequenos sacos de poliéster, não tóxicos, com vedação hermética e proteção contra a luz. O rendimento do amido de arroz negro proveniente da extração aquosa foi de 25%. As amostras foram armazenadas a 25° C até a realização das análises.

2.2.2 Composição Proximal

A umidade do amido e das frações residuais do arroz negro foi determinada gravimetricamente em estufa a 105 °C (AOAC 935.29), as cinzas foram determinadas por incineração a 550 °C (AOAC 923.03), a fibra alimentar foi quantificada pelo método AOAC 985.29, o teor de proteína ($\text{N} \times 5,95$) foi determinado pelo método de Kjeldahl (AOAC 920,87) e o teor de lipídeos foi determinado pelo método de extração de Soxhlet (AOAC 920,85). O teor de carboidratos foi calculado por diferença.

2.2.3 Análise Térmica

As curvas de termogravimetria e termogravimetria derivada (TG/DTG) foram obtidas em temperaturas entre 30 a 650 °C, utilizando sistema de análise térmica STA 6000 (Perkin Elmer, Hopkinton, MA, EUA), com fluxo de atmosfera em nitrogênio de 20 mL min⁻¹ com uma razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹. A massa inicial de cada amostra foi de aproximadamente 10 mg, pesada em cadinhos de alumina abertos. Todas as porcentagens de perda de massa foram determinadas usando o software Pyris Manager.

As curvas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram registradas utilizando equipamento DSC7 (Perkin-Elmer, Hopkinton, MA, EUA) previamente calibrado com índio de alto grau de pureza 99,99%, pf. = 156,6 °C e $\Delta H = 28,71 \text{ J g}^{-1}$ (SABBAH *et al.*, 1999). As condições utilizadas foram fluxo de atmosfera de nitrogênio de 20 mL min⁻¹ e a uma razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ seguindo procedimentos previamente descritos por Souza *et al.*, (2016), com algumas modificações. Uma massa de aproximadamente 2,5 mg de cada amostra foi pesada e homogeneizada em 10 µL de água deionizada (1:4) em cadinhos de alumínio posteriormente selados, os quais foram mantidos em repouso durante 60 min, a fim de equilibrar o teor de umidade e inchamento do grânulo. Um cadinho de alumínio vazio foi usado como referência. O software Pyris Manager foi utilizado para analisar a principal endotermia das curvas de DSC, a fim de obter as temperatura inicial (T_o), temperatura de pico (T_p) e temperatura de conclusão (T_c), bem como a mudança de entalpia (ΔH). As medições foram realizadas em triplicada.

2.2.4 Microscopia Térmica de Luz Polarizada (PLTM)

Os experimentos de microscopia térmica de luz polarizada foram realizados usando um sistema de estágio quente Linkam DSC600 (DSC 600), com um microscópio Leica DMRB e uma câmera de vídeo Sony CCD-IRIS/RGB. As imagens foram obtidas com ampliação de 200x, com uso combinado de luz polarizada e compensadores de onda. O software de sistema de medição de vídeo em tempo real da Linkam foi utilizado para a análise de imagens. As amostras foram preparadas em lâminas de vidro com 7 mm de diâmetro, com massa de 2,5 mg e 10 µL de água deionizada (1:4), após homogeneização foram protegidas com lamínulas.

2.2.5 Difractometria de Raios X (DRX) pelo Método de Pó

Os difratogramas foram obtidos utilizando um difratômetro de raios X (Bruker D8 Advance) em geometria Bragg-Brentano, com radiação CuK α ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$) e um detector Lynxeye. A análise foi realizada a 20 °C em uma faixa angular entre 5 – 80 ° (2 θ), velocidade de escaneamento de 0,5 segundos e um passo de 0,01 °. A cristalinidade relativa foi calculada usando a Equação (1):

$$X_c = \frac{A_p}{(A_p + A_b)} \times 100 \quad (1)$$

onde X_c refere-se à cristalinidade relativa, A_p a área de cristalinidade do difratograma de raios X e A_b a área amorfa do difratograma (NARA; KOMIYA, 1983).

2.2.6 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR)

Os espectros de FTIR das amostras foram registrados em temperatura ambiente usando um espectrômetro Nicolet 380 FT-IR (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA) acoplado a um acessório ATR, com um cristal de diamante. Os dados foram coletados usando o software Omnic™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA). Para realização da análise, as amostras foram fixadas diretamente no cristal, os espectros foram obtidos na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} , com 64 acumulações e uma resolução de 2 cm^{-1} .

2.2.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As microimagens foram obtidas usando um microscópio eletrônico de varredura modelo MIRA 3 (Tescan, República Checa). As amostras foram pulverizadas sobre uma fita de carbono. Como as amostras não são condutores de elétrons, foi necessária a metalização com ouro por 5 min em um evaporador a vácuo (ITO *et al.*, 2017), para promover a passagem de elétrons. As observações do MEV foram realizadas em feixes de elétrons de 5 e 15,0 kV.

2.2.8 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão, utilizando o software STATISTICA 10 (Stat-Soft Inc., Tulsa, OK, EUA). Os testes de Tukey foram conduzidos para determinar as diferenças entre as médias a um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$). A correlação de Pearson (r) foi utilizada para avaliar a força de correlação entre as variáveis de resposta (ITO *et al.*, 2016).

2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Composição Proximal

Os resultados referentes à umidade, carboidratos, proteínas, lipídios, cinzas e fibra alimentar estão na Tabela 2.1. Os parâmetros analisados mostraram diferença significativa ($p < 0,05$) entre todas as amostras, com exceção do teor de lipídios nas frações residuais.

Tabela 2.1 – Composição proximal ($\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$) das frações residuais e amido de arroz negro.

Amostras	Umidade	Carboidratos	Proteínas	Lipídios	Cinzas	Fibras
Resíduo 1	$9,55^a \pm 0,07$	$84,35^b \pm 0,64$	$1,38^b \pm 0,59$	$1,84^a \pm 0,18$	$0,22^{ab} \pm 0,05$	$2,65^a \pm 0,35$
Resíduo 2	$9,29^b \pm 0,02$	$81,22^c \pm 0,08$	$6,13^a \pm 0,25$	$1,83^a \pm 0,17$	$0,27^a \pm 0,02$	$1,25^b \pm 0,05$
Amido	$8,67^c \pm 0,07$	$89,8^a \pm 0,08$	$0,36^c \pm 0,09$	$0,84^b \pm 0,04$	$0,15^b \pm 0,02$	$0,16^c \pm 0,05$

Nota - Valores com a mesma letra na mesma coluna não apresentam diferença significativa pelo Teste de Tukey ($p < 0.05$).

Todas as amostras apresentaram baixa umidade (Tabela 2.1). Segundo Costa *et al.* (2013), o baixo teor de umidade pode prolongar a vida útil dos produtos, facilitando assim o armazenamento e transporte. Os teores de proteínas, lipídios, cinzas e fibra alimentar do amido de arroz negro oriundo da extração aquosa foram menores quando comparados as frações residuais 1 e 2. Tais resultados (amido) estão em consonância com estudos anteriores, realizados com extração alcalina, como o teor de proteínas em amido de arroz pigmentado (ZIEGLER *et al.*, 2017), teor de proteínas e cinzas (MIR; BOSCO, 2014) e lipídios (WATERSCHOOT *et al.*, 2015). Considerando estes resultados, pode-se dizer que a extração aquosa é um método eficaz para isolar o amido deste arroz, sem a utilização de quaisquer reagentes químicos.

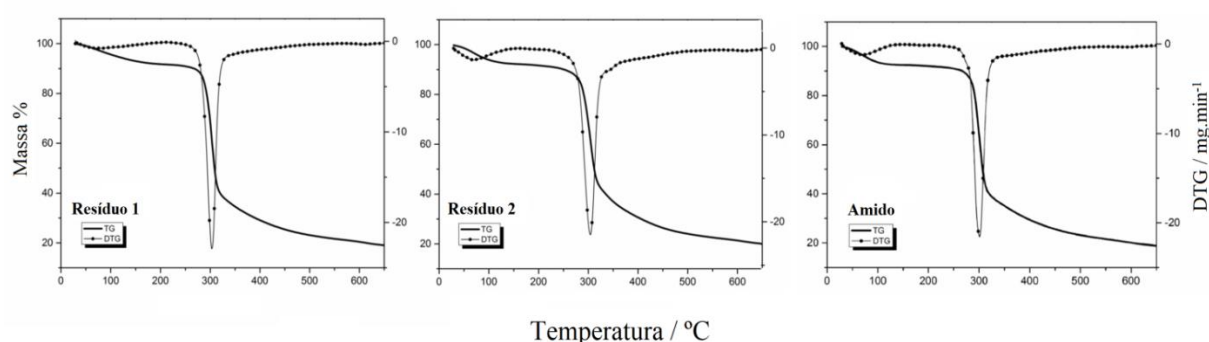
2.3.2 Análise Térmica

2.3.2.1 Termogravimetria e termogravimetria derivada (TG/DTG)

O perfil das curvas termogravimétricas das frações residuais e do amido, realizado em atmosfera de nitrogênio, está apresentado na Figura 2.1. As curvas DTG sobrepõem as curvas TG para facilitar a visualização do comportamento termogravimétrico das amostras.

As curvas TG para todas as amostras mostraram que a decomposição térmica ocorreu em duas etapas principais de perda de massa. A primeira perda iniciou-se em 30 °C e terminou entre 146 e 175 °C. Esta etapa foi atribuída à evaporação da água adsorvida fisicamente (ZHU; ZHANG, 2014), à desidratação e a perda de compostos voláteis, seguida por uma estabilidade térmica (HORNUNG *et al.*, 2017). Foram obtidos baixos teores de umidade, 8,3, 8,2 e 7,4% para o Resíduo 1, Resíduo 2 e amido, respectivamente.

Figura 2.1 - Curvas TG/DTG das frações residuais e amido de arroz negro.



A segunda (maior perda de massa, 63,3 - 65%) foi atribuída à degradação da matéria orgânica em reações consecutivas (LEONE *et al.*, 2014). Sin *et al.* (2011) relataram que a degradação das cadeias de amido ocorrem a uma temperatura próxima de 230 °C, principalmente devido à desidratação dos grupos hidroxila e à subsequente formação de carbono de baixo peso molecular, insaturados e alifáticos.

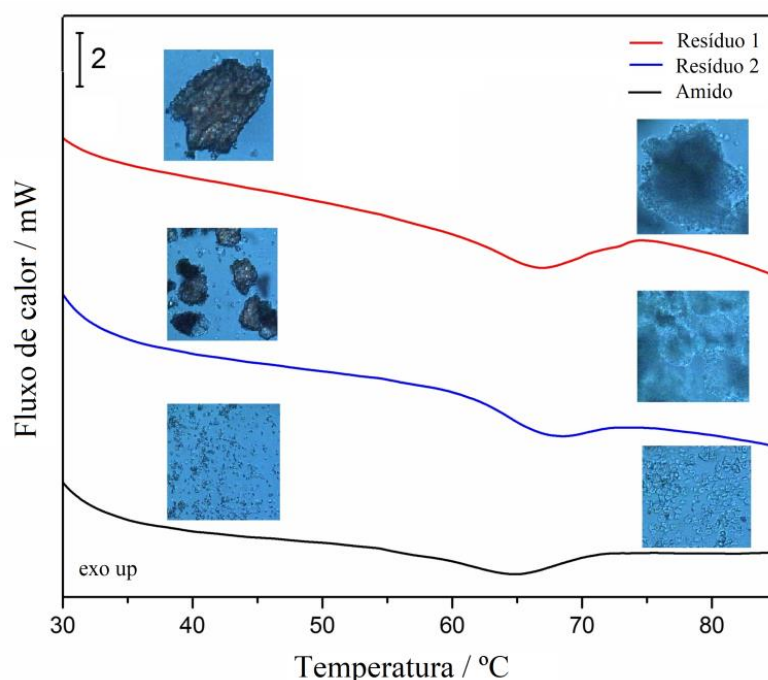
Segundo Slopicka *et al.* (2012), a desvolatilização em uma atmosfera inerte difere consideravelmente quando conduzida sob condições oxidantes. No presente estudo, durante o processo pirolítico até 650 °C, a perda de massa total média foi em torno de 71,9 - 72,7% e o resíduo sólido entre 25,8 - 28,1%.

2.3.2.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC) e microscopia térmica de luz polarizada (PLTM)

As curvas DSC e as imagens de PLTM das amostras estão na Figura 2. As temperaturas de transição (inicial T_0 , pico T_p e conclusão T_c) e entalpias de gelatinização (ΔH_{gel}) encontram-se na Tabela 2.2.

Segundo Hornung *et al.* (2017) a gelatinização é uma propriedade muito importante em relação à aplicação industrial do amido. É um processo endotérmico que corresponde à perda de cristalinidade dos grânulos de amido perante algumas condições de aquecimento e umidade. O qual depende de diversos fatores, como o teor de água, taxa de aquecimento, fonte botânica, variedade de arroz, os tratamentos aplicados ao amido antes da gelatinização e a relação amilose-amilopectina (BRIFFAZ *et al.*, 2012). É possível visualizar o processo de gelatinização (antes e depois do aquecimento) usando microscopia térmica de luz polarizada (Figura 2.2).

Figura 2.2 – curvas DSC e microscopia térmica das frações residuais e amido de arroz negro.



As temperaturas de gelatinização (T_0 , T_p e T_c) das frações residuais foram significativamente maiores quando comparadas ao amido ($p < 0,05$) (Tabela 2.2). Essas propriedades de gelatinização encontradas no amido de arroz negro estão de acordo com Arns *et al.* (2015), inferiores aos resultados de Pinkaew *et al.* (2017) e ligeiramente maior do que os resultados de Souza *et al.* (2016).

Segundo Tapia-Blácido *et al.* (2010), as diferenças nas temperaturas de gelatinização podem estar associadas ao conteúdo de amilose e amilopectina, assim como a presença de complexos de lipídios, os quais aumentam a temperatura de gelatinização. Os valores de T_0 , T_p e T_c e o conteúdo lipídico foram positivamente correlacionados ($r = 0,92$), sugerindo que a

menor temperatura de gelatinização do amido de arroz negro pode ter sido influenciada pelo seu baixo teor lipídico (0,84%).

Tabela 2.2 - Resultados das curvas DSC das frações residuais e amido de arroz negro.

Amostras	T_0 / °C	T_p / °C	T_c / °C	ΔH_{gel} / J g ⁻¹
Resíduo 1	59,9 ^b ± 0,15	66,9 ^b ± 0,15	73,8 ^b ± 0,15	5,65 ^c ± 0,01
Resíduo 2	60,9 ^a ± 0,21	68,0 ^a ± 0,10	75,1 ^a ± 0,15	11,88 ^a ± 0,01
Amido	58,0 ^c ± 0,06	64,9 ^c ± 0,08	71,8 ^c ± 0,06	9,25 ^b ± 0,01

Nota – T_0 – Temperatura inicial, T_p – temperatura de pico e T_c – temperatura de conclusão e ΔH_{gel} – entalpia de gelatinização. As médias seguidas pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey (p < 0,05).

A entalpia de gelatinização auxilia o entendimento da desestruturação molecular associada às quebras de ligações de hidrogênio internas no grânulo, indicando assim, uma transição de uma fase ordenada para uma fase desordenada do grânulo de amido (ZAVAREZE; DIAS, 2011). Houve uma grande variação deste parâmetro, 5,65 a 11,88 J g⁻¹. O aumento do ΔH_{gel} pode estar associado à complexação com lipídeos, proteínas, com formação de aglomerados, assim como uma pré-gelatinização dos amidos, onde uma camada ao redor da superfície do grânulo parcialmente gelatinizado serve de barreira para gelatinização, também exigindo maiores temperaturas (KLEIN *et al.*, 2013). Portanto, as diferenças de ΔH_{gel} entre as amostras podem ser devido à presença de proteínas e lipídios residuais. Os valores de ΔH_{gel} e proteína apresentaram uma correlação positiva (r = 0,71), sugerindo que o alto valor de ΔH_{gel} (11,88 J g⁻¹) do Resíduo 2 pode ser devido ao alto teor (6,13%) de proteína.

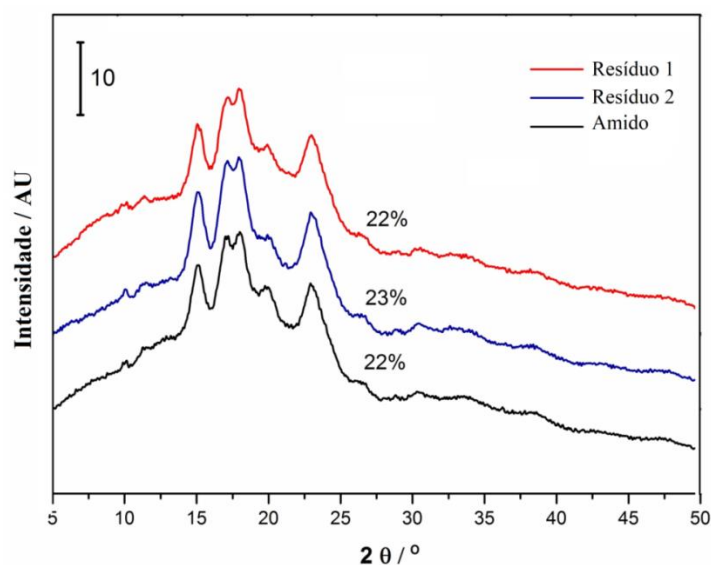
A formação de ligações cruzadas pode resultar em ΔH_{gel} maior e T_0 menor, pois necessitam de uma maior energia para serem rompidas, mas não necessariamente uma maior temperatura. Contudo, ΔH_{gel} menor pode estar associado à quebra das cadeias, exigindo um menor fluxo de energia para gelatinização em uma estrutura fracamente ordenada (KLEIN *et al.*, 2013). Os valores de ΔH_{gel} do amido de arroz negro (9,25 J g⁻¹) são similares aos encontrados por Arns *et al.* (2015) e Pinkaew *et al.* (2017).

2.3.3 Difractometria de Raios X (DRX) pelo Método de Pó

A difração de raios X detecta estruturas ordenadas de longo alcance, como as que envolvem o arranjo regular e repetido de duplas hélices, refletindo assim a ordem

tridimensional de porções cristalinas de amido (WANG *et al.*, 2015). A figura 2.3 apresenta os difratogramas utilizados para caracterizar os principais picos e calcular o grau de cristalinidade relativa (%) de cada amostra.

Figura 2.3 - Difratogramas e cristalinidade (%) das frações residuais e amido de arroz negro.



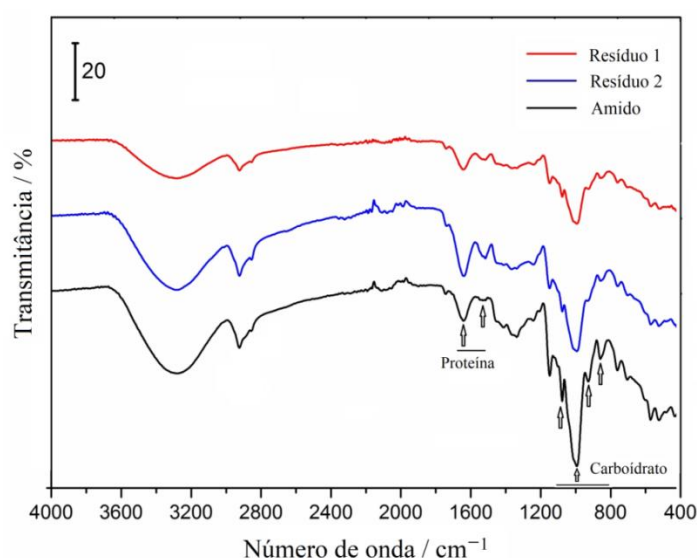
Todos os difratogramas apresentaram padrões claros de difração do tipo A, com picos mais intensos em 15°, 17°, 18° e 23°, os quais foram similares a Zhu *et al.* (2017). Picos menores também foram observados em 20° e 27°. Em algumas variedades de arroz, o pico observado em 20° indica a presença de alguns cristais de amido do tipo V (OCLOO *et al.*, 2017), indicando complexos de amido contendo lipídios e proteínas (KUMAR *et al.*, 2016). As frações residuais e o amido apresentaram cristalinidade relativa semelhantes, aproximadamente 22%, não havendo diferenças significativas entre as amostras ($p > 0,05$), resultados semelhantes no amido de arroz negro foram encontrados por Kong; Kasapis; Bao (2015) e Ziegler *et al.* (2017).

2.3.4 Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR-ATR)

A espectroscopia FTIR-ATR foi utilizada para explorar a composição das frações residuais e do amido. Bandas características de proteínas e carboidratos (amido) (ROA *et al.*, 2014) foram observadas e os espectros de infravermelho das amostras estão na Figura 2.4.

Todas as amostras apresentaram comportamento semelhante, com bandas na região de $3400 - 3200 \text{ cm}^{-1}$, que foram atribuídas à vibração de alongamento do grupo O-H. Bandas de proteínas foram observadas em 1643 e 1528 cm^{-1} , correspondendo às vibrações da amida I e II (ROA *et al.*, 2014). Na amostra de amido, apenas uma pequena banda de 1528 cm^{-1} foi observada, sugerindo uma extração eficiente. A banda de 1643 cm^{-1} , pode ter sido uma contribuição da água adsorvida na região amorfa dos grânulos de amido (KIZIL; IRUDAYARAJ; SEETHARAMAN, 2002).

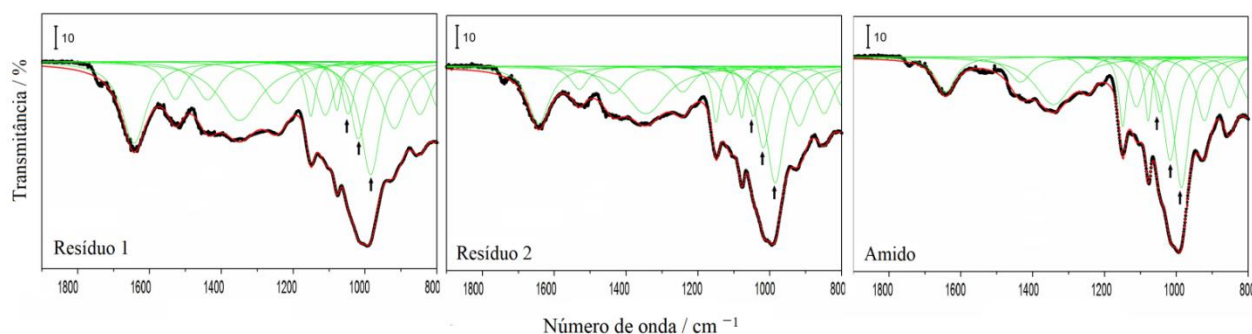
Figura 2.4 - Espectros de infravermelho das frações residuais e amido de arroz negro.



As bandas de $1413 - 1365 \text{ cm}^{-1}$ foram atribuídas aos alongamentos de C-H, enquanto a banda a 1242 cm^{-1} a deformação axial de O-H (GANI *et al.*, 2017). As bandas de 1020 , 1080 e 1151 cm^{-1} correspondem às vibrações de glicosídeos C-O-C e vibrações do anel justapostas com vibrações de estiramento dos grupos laterais (C-OH) (LIU *et al.*, 2012).

Segundo Zhu *et al.* (2017), o espectro FTIR-ATR do amido é sensível à estrutura de curto alcance. As bandas de 1046 e 1018 cm^{-1} estão associadas a regiões ordenadas/cristalinas e amorfas no amido, respectivamente. Uma relação das intensidades dessas bandas I_{1046}/I_{1018} com valores acima de $1,0$ indica uma proporção maior de material cristalino, enquanto valores menores sugerem uma proporção maior de material amorfo (PUMACAHUA-RAMOS *et al.*, 2015). Além disso, a relação das intensidades I_{1018}/I_{985} pode ser utilizada como uma medida de proporção de amidos amorfos a ordenados (SEVENOU *et al.*, 2002). Uma deconvolução das bandas entre $1900 - 800 \text{ cm}^{-1}$ nos espectros de infravermelho foi realizada (Figura 2.5) para obter essas relações.

Figura 2.5 - Picos de deconvolução dos espectros de FTIR na região entre 1900-800 cm^{-1} das frações residuais e amido de arroz negro.

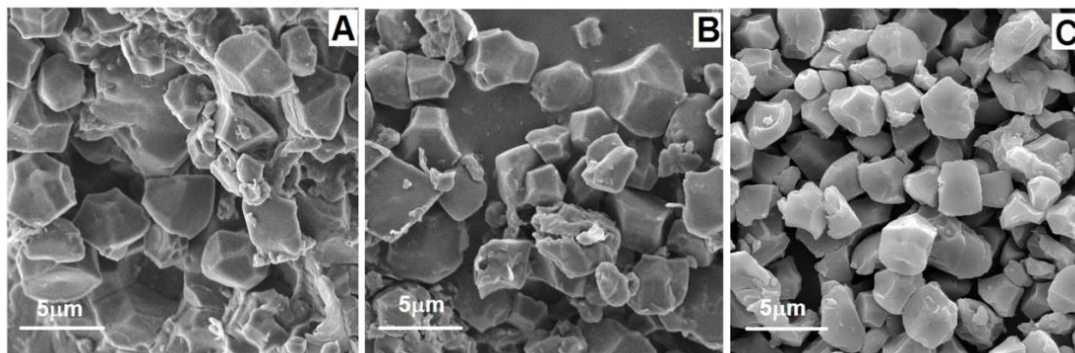


Os indicadores de curto alcance e estrutura ordenada foram calculados: $(I_{1046}/I_{1017}) = 0,61$ $(I_{1047}/I_{1019}) = 0,68$ e $(I_{1046}/I_{1018}) = 0,53$ para o Resíduo 1, Resíduo 2 e o amido, respectivamente. As relações das proporções da estrutura de amidos amorfos a ordenados foram $(I_{1017} / I_{985}) = 0,70$, $(I_{1019} / I_{984}) = 0,68$ e $(I_{1018} / I_{986}) = 0,79$ para o Resíduo 1, Resíduo 2 e o amido, respectivamente. Os dados mostraram que o amido de arroz negro apresentou o menor grau de ordem de curto alcance. Sevenou *et al.* (2002) relataram que as estruturas ordenadas de curto alcance são afetadas principalmente pelo tipo de cristal e tamanho dos grânulos do amido, e que o nível de curto alcance é um pré-requisito para a presença de ordem de longo alcance. No entanto, a ordem de longo alcance pode não estar necessariamente presente quando a ordem de curto alcance existir.

2.3.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A morfologia dos grânulos de amido e das frações residuais está na Figura 2.6. As micrografias do Resíduo 1 (Figura 2.6A) e do Resíduo 2 (Figura 2.6B) indicam grânulos de amido aglomerados que não foram totalmente extraídos. Este amido remanescente pode ter sido devido ao método de extração usado neste estudo. O processo aquoso produziu uma fração de amido com uma pequena proporção de proteínas e lipídios, podendo ser utilizado como método eficaz para o isolamento desse carboidrato, preservando seu caráter orgânico.

Figura 2.6 - Microimagens com aumento de 5.000 X obtidas para as frações residuais e amido de arroz negro.



Os grânulos de amido (figura 2.6C) apresentam estruturas poliédricas, formas irregulares, bordas agudas, sem poros na superfície, em conformidade com estudos anteriores (MIR; BOSCO, 2014; CAI *et al.*, 2015; ZHU *et al.*, 2017). Ziegler *et al.* (2017) também observaram essa forma poliédrica no amido de arroz negro. O amido dessa variedade pigmentada apresentou o comportamento típico dos amidos, com diâmetro médio de 3 a 8 µm (SOUZA *et al.*, 2016).

2.4 CONCLUSÃO

Neste estudo, o amido de arroz negro biodinâmico e as frações residuais obtidas da extração aquosa apresentaram diferenças quanto às propriedades físico-químicas, térmicas e morfológicas. Os teores de proteína, lipídios, cinzas e fibra alimentar no amido foram menores. A maior entalpia de gelatinização foi observada no Resíduo 2. Todas as amostras apresentaram padrões de difração de raios X do tipo A e com cristalinidades similares. Nos espectros de infravermelho, as bandas atribuídas às proteínas e aos carboidratos (amido) foram claramente identificadas. As micrografias dos grânulos de amido mostraram estruturas poliédricas com formas irregulares e bordas agudas. Nas frações residuais, observou-se a presença de grânulos de amido aglomerados, podendo ser devido ao método de extração usado neste estudo. A extração aquosa resultou em uma fração de amido com baixo teor de proteínas e lipídios, fornecendo um método eficaz para isolar este carboidrato, contribuindo para a preservação do caráter biodinâmico da matéria-prima sem gerar resíduos contaminantes. Este amido pode ser aplicado em produtos alimentícios e farmacêuticos, além de ajudar a reduzir parcialmente os impactos negativos ao meio ambiente.

REFERÊNCIAS

- AOAC - Official methods of analysis. **Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC, USA**, v. 18th ed., 2005.
- ARNS, B.; BARTZ, J.; RADUNZ, M.; EVANGELHO, J. A.; PINTO, V. Z.; ZAVAREZE, E. R. Impact of heat-moisture treatment on rice starch, applied directly in grain paddy rice or in isolated starch. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, p. 708-713, 2015.
- BRIFFAZ, A.; MESTRES, C.; ESCOUTE, J.; LARTAUD, M.; DORNIER, M. Starch gelatinization distribution and peripheral cell disruption in cooking rice grains monitored by microscopy. **Journal of Cereal Science**, v. 56, n. 3, p. 699-705, 2012.
- CAI, J.; MAN, J.; HUANG, J.; LIU, Q.; WEI, W.; WEI, C. Relationship between structure and functional properties of normal rice starches with different amylose contents. **Carbohydrate Polymers**, v. 125, p. 35-44, 2015.
- COSTA, F. J. O. G.; LEIVAS, C. L.; WASZCZYNSKYJ, N.; BUENO, G. R. C.; HELM, C. V.; COLMAN, T. A. D.; SCHNITZLER E. Characterisation of native starches of seeds of *Araucaria angustifolia* from four germplasm collections. **Thermochimica Acta**, v. 565, p. 172-177, 2013.
- DEMETER INTERNATIONAL. **For the use of demeter, biodynamic and related trademarks**. Disponível em: <http://www.demeter.net/certification/standards>. Acesso em: 7 nov, 2017.
- GANI, A.; ASHWAR, B. A.; AKHTER, G.; SHAH, A.; WANI, I. A.; MASOODI, F. A. Physico-chemical, structural, pasting and thermal properties of starches of fourteen Himalayan rice cultivars. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 1101-1107, 2017.
- HORNUNG, P. S.; ÁVILA, S.; LAZZAROTTO, M.; SILVEIRA, L. S. R.; ANDRADE, S. G. L.; SCHNITZLER E. Enhancement of the functional properties of Dioscoreaceas native starches: Mixture as a green modification process. **Thermochimica Acta**, v. 649, p. 31-40, 2017.
- HORNUNG, P. S.; OLIVEIRA, C. S.; LAZZAROTTO, M.; SILVEIRA, L. S. R.; SCHNITZLER E. Investigation of the photo-oxidation of cassava starch granules. **Journal Thermal Analysis Calorimetry**, v. 123, n. 3, p. 2129-2137, 2016.
- ITO, V. C.; ALBERTI, A.; AVILA, S.; SPOTO, M.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Effects of gamma radiation on the phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of apple pomace flour during storage using multivariate statistical techniques. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 33, p. 251-259, 2016.
- ITO, V. C.; FERREIRA ZIELINSKI, A. A.; AVILA, S.; SPOTO, M.; NOGUEIRA, A.; SCHNITZLER, E.; LACERDA, L. G. Effects of gamma radiation on physicochemical, thermogravimetric, microstructural and microbiological properties during storage of apple pomace flour. **LWT - Food Science and Technology**, v. 78, p. 105-113, 2017.
- KIZIL, R.; IRUDAYARAJ, J.; SEETHARAMAN, K. Characterization of irradiated starches by using ft-raman and ftir spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, n. 14, p. 3912-3918, 2002.
- KLEIN, B.; PINTO, V.Z.; VANIER, N.L., et al. Effect of single and dual heat-moisture treatments on properties of rice, cassava and pinhão starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p. 1578-1584, 2013.
- KONG, X.; KASAPIS, S.; BAO, J. Viscoelastic properties of starches and flours from two novel rice mutants induced by gamma irradiation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 60, n. 1, p. 578-582, 2015.

KUMAR, R.; KUMAR, A.; SHARMA, N. K.; KAUR, N.; CHUNDURI, V.; CHAWLA, M.; SHARMA, S.; SINGH, K.; GARG, M. Soft and hard textured wheat differ in starch properties as indicated by trimodal distribution, morphology, thermal and crystalline properties. **PLoS ONE**, v. 11, n. 1, p. e0147622, 2016.

LEONE, R. D. S.; COLMAN, T. A. D.; SCHNITZLER, E.; ELLENDERSEN, L. N.; MASSON, M. L. Evolved gas analysis (coupled TG–DSC–FTIR) applied to the thermal behaviour of inulin. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v. 108, n. 0, p. 323-326, 2014.

LIU, T.; MA, Y.; XUE, S.; SHI, J. Modifications of structure and physicochemical properties of maize starch by γ -irradiation treatments. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 156-163, 2012.

MIR, S. A.; BOSCO, S. J. D. Cultivar difference in physicochemical properties of starches and flours from temperate rice of Indian Himalayas. **Food Chemistry**, v. 157, p. 448-456, 2014.

NARA, S.; KOMIYA, T. Studies on the relationship between water-saturated state and crystallinity by the diffraction method for moistened potato starch. **Starch/Starke**, v. 35 n. 12, p. 407-410, 1983.

OCLOO, F. C. K.; OWUREKU-ASARE, M.; AGYEI-AMPONSAH, J.; AGBEMAVOR, W. S. K.; EGBLEWOGBE, M. N. Y. H.; APEA-BAH, F. B.; SARFO, A.; APATEY, J.; DOKU, H.; OFORI-APPIAH, D.; AYEYEH, E. Effect of gamma irradiation on physicochemical, functional and pasting properties of some locally-produced rice (*Oryza* spp) cultivars in Ghana. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 130, p. 196-201, 2017.

PICONE, G.; TRIMIGNO, A.; TESSARIN, P.; DONNINI, S.; ROMBOLÀ, A. D.; CAPOZZI, F. ¹H NMR foodomics reveals that the biodynamic and the organic cultivation managements produce different grape berries (*Vitis vinifera* L. cv. Sangiovese). **Food Chemistry**, v. 213, p. 187-195, 2016.

PINKAEW, H.; WANG, Y.-J.; NAIVIKUL, O. Impact of pre-germination on amylopectin molecular structures, crystallinity, and thermal properties of pre-germinated brown rice starches. **Journal of Cereal Science**, v. 73, p. 151-157, 2017.

PUMACAHUA-RAMOS, A.; DEMIATE, I. M.; SCHNITZLER, E.; BEDIN, A. C.; TELIS-ROMERO, J.; LOPES-FILHO, J. F. Morphological, thermal and physicochemical characteristics of small granules starch from *Mirabilis jalapa* L. **Thermochimica Acta**, v. 602, p. 1-7, 2015.

RIBEIRO, L. S.; PRADO, C. L.; COLMAN, T. A. D.; OLIVEIRA, C. S.; ANDRADE, M. M. P.; SCHNITZLER, E. Influence of some sugars on the thermal, rheological and morphological properties of “pinhão” starch. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 117, n. 2, p. 935-942, 2014.

ROA, D. F.; SANTAGAPITA, P. R.; BUERA, M. P.; TOLABA, M. P. Amaranth milling strategies and fraction characterization by FT-IR. **Food and Bioprocess Technology**, v. 7, n. 3, p. 711-718, 2014.

SABBAH, R.; XU-WU, A.; CHICKOS, J. S.; LEITÃO, M. L. P.; ROUX, M. V.; TORRES, L. A. Reference materials for calorimetry and differential thermal analysis. **Thermochimica Acta**, v. 331, n. 2, p. 93-204, 1999.

SEVENOU, O.; HILL, S. E.; FARHAT, I. A.; MITCHELL, J. R. Organisation of the external region of the starch granule as determined by infrared spectroscopy. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 31, n. 1–3, p. 79-85, 2002.

SIN, L. T.; RAHMAN, W. A. W. A.; RAHMAT, A. R.; MOKHTAR, M. Determination of thermal stability and activation energy of polyvinyl alcohol–cassava starch blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 1, p. 303-305, 2011.

SLOPIECKA, K.; BARTOCCI, P.; FANTOZZI, F. Thermogravimetric analysis and kinetic study of poplar wood pyrolysis. **Applied Energy**, v. 97, p. 491-497, 2012.

SOUZA, D. D.; SBARDELOTTO, A. F.; ZIEGLER, D. R.; MARCZAK, L. D. F.; TESSARO, I. C. Characterization of rice starch and protein obtained by a fast alkaline extraction method. **Food Chemistry**, v. 191, p. 36-44, 2016.

TAPIA-BLACIDO, D. R.; SOBRAL, P. J.; MENEGALLI, F. C. Potential of *Amaranthus cruentus* BRS Alegria in the production of flour, starch and protein concentrate: chemical, thermal and rheological characterization. **Journal of Science and Food Agriculture**, v. 90, n. 7, p. 1185-93, 2010.

WANG, S.; LI, C.; COPELAND, L.; NIU, Q.; WANG, S. Starch Retrogradation: A Comprehensive Review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 5, p. 568-585, 2015.

WATERSCHOOT, J.; GOMAND, S. V.; FIERENS, E.; DELCOUR J. A. Production, structure, physicochemical and functional properties of maize, cassava, wheat, potato and rice starches. **Starch – Stärke**, v. 67, p. 14-29, 2015.

ZAVAREZE, E.R.; DIAS, A.R.G. Impact of heat-moisture treatment and annealing in starches: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 317-328, 2011.

ZHU, D.; ZHANG, H.; GUO, B.; XU, K.; DAI, Q.; WEI, C. Physicochemical properties of indica-japonica hybrid rice starch from Chinese varieties. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 356-363, 2017.

ZHU, W.; ZHANG, Z. Preparation and characterization of catechin-grafted chitosan with antioxidant and antidiabetic potential. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 70, p. 150-155, 2014.

ZIEGLER, V.; FERREIRA, C. D.; GOEBEL, J. T. S.; EL HALAL, S. L. M.; SANTETTI, G. S.; GUTKOSKI, L. C.; ZAVAREZE, E. D. R.; ELIAS, M. C. Changes in properties of starch isolated from whole rice grains with brown, black, and red pericarp after storage at different temperatures. **Food Chemistry**, v. 216, p. 194-200, 2017.

CAPÍTULO III

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NAS PROPRIEDADES TERMOANALÍTICAS, ESTRUTURAIS E VISCOAMILOGRÁFICAS DA FARINHA DE ARROZ NEGRO

O conteúdo deste capítulo foi publicado na revista Journal of Thermal Analysis and Calorimetry (DOI 10.1007/s10973-017-6766-6), anexo B.

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NAS PROPRIEDADES TERMOANALÍTICAS, ESTRUTURAIS E VISCOAMILOGRÁFICAS DA FARINHA DE ARROZ NEGRO

RESUMO

Os efeitos das diferentes doses de radiação gama nas propriedades termoanalíticas, estruturais e viscoamilográficas da farinha de arroz negro (*Oryza sativa* L.) foram avaliados, utilizando termogravimetria e termogravimetria derivada (TG/DTG), calorimetria exploratória diferencial (DSC), difração de raios X (XRD), análise por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (FEG-SEM), distribuição do tamanho de partícula e propriedades de pasta (viscoamilográficas). As curvas termogravimétricas mostraram quatro perdas de massa em reações consecutivas. As amostras irradiadas mostraram uma ligeira diminuição em todos os parâmetros térmicos e entalpia de gelatinização. Todas as amostras exibiram padrões claros de difração do tipo A e a radiação gama diminuiu o grau de cristalinidade relativa. As microimagens mostraram um material orgânico e heterogêneo. Após a radiação gama ocorreram algumas alterações, como rachaduras, poros e uma diminuição do tamanho médio dos grânulos. As propriedades de pasta diminuíram significativamente com a irradiação. A diminuição a tendência a retrogradação e queda de viscosidade após a irradiação sugeriram uma possível aplicação da farinha de arroz negro a fim de melhorar a qualidade dos alimentos.

Palavras-chave: Arroz negro, radiação ionizante, análise térmica, gelatinização, morfologia, cristalinidade.

ABSTRACT

The effects of different doses of gamma radiation on the thermoanalytical, structural and pasting properties of black rice flour were observed using thermogravimetry and derivative thermogravimetry (TG-DTG), differential scanning calorimetry (DSC), X-ray diffraction (XRD), field emission gun-scanning electron microscopy (FEG-SEM), particle size distribution and pasting properties (RVA) analysis. The thermogravimetric curves showed four mass losses in consecutive reactions. A small displacement was observed for the second loss, which occurred for the irradiated flours. The irradiated samples showed a slight decrease in all the thermal parameters and gelatinisation enthalpy change. All the black rice flours exhibited clear A-type diffraction pattern and the gamma radiation decreases the degree of crystallinity. The micro-images showed a composite of organic and heterogeneous material; after gamma radiation some changes occurred, such as cracks, pores and a decrease of mean size of the granules. The pasting properties decreased significantly with irradiation. The decrease in setback and breakdown viscosity after irradiation suggested an indication that it may be possible to improve the quality of food based on black rice flours.

Keywords: Black rice, ionizing radiation, thermal analysis, gelatinization, morphology, crystallinity.

3.1 INTRODUÇÃO

O arroz negro pode ser aplicado como ingrediente para produtos isentos de glúten, com maior valor nutricional, proporcionando benefícios à saúde dos consumidores. As fontes convencionais de farinhas e amidos, como trigo, milho e arroz são modificadas para atender às necessidades específicas das indústrias, adaptando suas propriedades físico-químicas e funcionais, que não estão disponíveis em sua forma nativa (POLESI *et al.*, 2016).

A irradiação de alimentos vem sendo utilizada como um método físico para modificar farinhas e amidos, a fim de substituir as modificações químicas e enzimáticas. A radiação gama representa uma tecnologia eficaz e ambientalmente amigável (PEREIRA *et al.*, 2014), que visa melhorar a segurança dos alimentos. Seus efeitos são conhecidos por reduzir ou esterilizar a carga microbiana, aumentando assim a vida útil dos produtos e, acima de tudo, preservar a qualidade dos alimentos. Sua eficácia e segurança são comprovadas por agências oficiais, incluindo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO), a Agência Internacional de Energia Atômica (AIEA) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) (ITO *et al.*, 2016).

Segundo Bhat e Karim (2009), a radiação gama pode alterar as estruturas moleculares, principalmente do amido, causando fragmentação pela penetração de energia ionizante nos grânulos (BAO; AO; JANE, 2005). Como o amido desempenha um papel importante nas propriedades do arroz, a sua exposição à irradiação pode apresentar diferentes características para a farinha, sendo assim, precisam ser estudadas para entender essas alterações.

Até o presente momento, existem poucos estudos na literatura sobre o efeito deste tratamento físico nas propriedades térmicas, no grau de cristalinidade, na morfologia e propriedades de pasta nas variedades de arroz pigmentado. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da radiação gama sobre as propriedades termoanalíticas, estruturais e viscoamilográficas da farinha de arroz negro.

3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

3.2.1 Preparação da Matéria-Prima

O arroz negro biodinâmico utilizado nos experimentos foi adquirido no mercado municipal de Curitiba, Paraná, Brasil. Os grãos de arroz foram moídos em moinho de facas (Ika-Werke M-20, Wilmington, Carolina do Norte, EUA) e peneirados em 60 mesh (tamanho

de partícula até 250 μm) para obter a farinha de arroz negro (FAN). Esta farinha foi separada e embalada a vácuo, com 200 gramas em cada embalagem, em pequenos sacos de poliéster, não tóxicos, com vedação hermética e proteção contra a luz. A composição proximal da amostra controle (0 kGy) apresentou 10,64% de umidade, 76,20% de carboidratos, 9,61% de proteína, 2,15% de gordura, 4,32% de fibra alimentar e 1,41% de cinzas, em base seca. Todas as amostras foram armazenadas a 25 °C para posterior análise.

3.2.2 Radiação das Amostras

As amostras da FAN foram submetidas à radiação gama nas doses de 0, 1, 2 e 3 kGy a uma taxa de 0,221 kGy/h. A fonte de irradiação foi o Cobalto 60 (Gammacell Excell 220 - MDS Nordion), localizado no Centro de Energia Nuclear de Agricultura da Universidade de São Paulo (CENA / USP). Os dosímetros Harwell Amber 3042 foram utilizados para medir a radiação e a dose de incerteza foi inferior a 1% (ITO *et al.*, 2017).

3.2.3 Análise Térmica

As curvas de termogravimetria e termogravimetria derivada (TG/DTG) foram obtidas usando um sistema de análise térmica TGA-50 (Shimadzu, Japão) em fluxo de atmosfera oxidativa (ar) de 150 mL min^{-1} com razão de aquecimento de 10 °C min^{-1} nas temperaturas entre 30 a 600 °C. A massa inicial de cada amostra foi aproximadamente 6 mg, pesada em cadinhos de alumina abertos. Todas as porcentagens de perda de massa foram calculadas usando o software de análise de dados TA-60WS.

As curvas de DSC foram registradas usando um sistema de análise térmica modelo DSC-Q200 (TA-Instruments) em fluxo de ar de 50 mL min^{-1} e uma razão de aquecimento de 10 °C min^{-1} . Uma massa de aproximadamente 2,5 mg de cada amostra foi pesada e homogeneizada em 10 μL de água deionizada (1:4) em cadinhos de alumínio posteriormente selados, os quais foram mantidos em repouso durante 60 min, antes do teste. Para obter as curvas de DSC, o instrumento foi calibrado com índio padrão de 99,99% de pureza, $p. = 156,6$ °C, $\Delta H = 28,71$ J g^{-1} (SABBAH *et al.*, 1999). Um cadinho de alumínio vazio foi usado como referência. O software de análise de dados TA-60WS foi utilizado para analisar a principal endotermia das curvas de DSC, a fim de obter as temperatura inicial (T_o), temperatura de pico (T_p) e temperatura de conclusão (T_c), bem como a mudança de entalpia (ΔH). As medições foram realizadas em triplicada.

3.2.4 Difractometria de Raios X (DRX) pelo Método de Pó

Os difratogramas foram obtidos utilizando um difratômetro de raios X (Ultima IV, Rigaku, Japan), com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$), uma tensão de 40 kV e corrente elétrica de 30 mA. A análise foi realizada a 20 °C em uma faixa angular entre 5 – 40 ° (2θ), velocidade de escaneamento de 2 min^{-1} e um passo de 0,02 °. A equação (1) foi usada para calcular a cristalinidade relativa:

$$X_c = \frac{A_p}{(A_p + A_b)} \times 100 \quad (1)$$

onde X_c refere-se à cristalinidade relativa, A_p a área de cristalinidade do difratograma de raios X e A_b a área amorfa do difratograma (NARA; KOMIYA, 1983).

3.2.5 Análise Morfológica e Distribuição do Tamanho de Partícula

As microimagens foram obtidas utilizando um microscópio eletrônico de varredura com emissão de campo (FEG-SEM) (modelo MIRA 3, Tescan, Rep. Tcheca). Os parâmetros foram os seguintes: escala de leitura de 5 e 50 μm com uma tensão de 15 kV no canhão de emissão de campo, o qual foi gerado por uma lâmpada com um filamento de tungstênio. As amostras de FAN foram pulverizadas sobre uma fita de carbono. Como a farinha não é condutora de elétrons foi necessário metalizar as amostras com ouro e paládio para promover a passagem de elétrons e obter as imagens usando o software Image J (Image J 1.47 para WindowsTM).

A análise de distribuição do tamanho de partícula foi realizada utilizando um analisador de tamanho de partículas por difração a laser (Mastersizer 2000; Malvern Instruments Ltd., Inglaterra). O maior (10%) tamanho de partícula (D_{90} , μm), menor (10%) tamanho de partícula (D_{10} , μm) e o diâmetro mediano (D_{50} , μm) foram determinados de acordo com Demiate *et al.*, 2016.

3.2.6 Propriedades Viscoamilográficas

As propriedades de pasta das amostras de FAN foram determinadas usando um equipamento RVA-4 (Newport Scientific Pvt. Ltd., Austrália). Uma dispersão em água a 8%

(m/m) de farinha em base seca em 28 g de massa total foi preparada e submetida a um ciclo controlado de aquecimento e resfriamento em agitação constante. Os parâmetros utilizados foram: temperatura mantida a 50 °C por 2 min, seguido de aquecimento até 95 °C a uma razão de aquecimento de 6 °C min⁻¹, temperatura mantida a 95 °C durante 5 min, seguido de arrefecimento a 50 °C a 6 °C min⁻¹. Ao fim do ciclo a temperatura foi mantida por 2 min a 50 °C (LACERDA *et al.*, 2014).

3.2.7 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média $\pm$ desvio padrão, utilizando o software STATISTICA 10 (Stat-Soft Inc., Tulsa, OK, EUA). Análise de variância *one-way* ANOVA foi utilizada para avaliar o efeito da radiação gama nos parâmetros de DSC, difração de raios X e viscoamilográficas. Os testes de Duncan foram conduzidos para determinar as diferenças entre as médias a um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$). A correlação de Pearson (r) foi utilizada para avaliar a força de correlação entre as variáveis de resposta (ITO *et al.*, 2016).

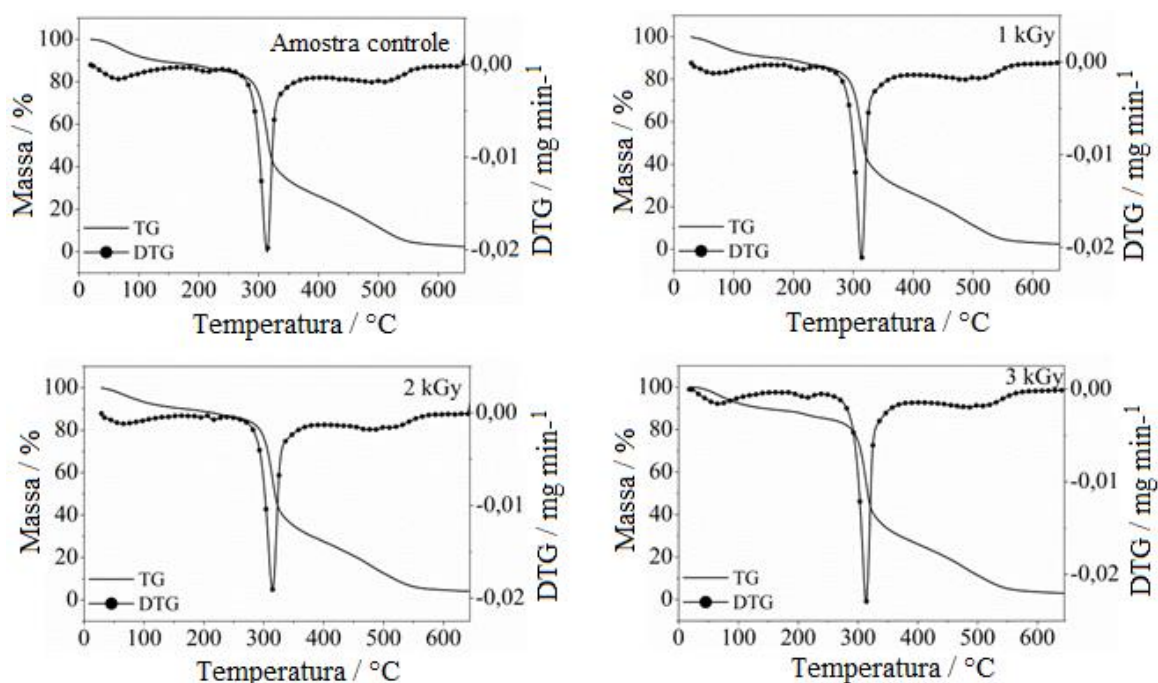
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Termogravimetria e Termogravimetria Derivada (TG/DTG)

Termogravimetria é uma técnica termoanalítica que avalia a variação de massa de uma substância submetida a uma variação de temperatura controlada. Os dados obtidos permitem estudar a decomposição da matéria e os períodos de estabilidade térmica (LIU *et al.*, 2013). As curvas TG / DTG são mostrados na Figura 3.1.

A farinha é uma mistura complexa de diferentes componentes, como amido, polissacarídeos não-amiláceos, proteínas, lipídios, vitaminas e minerais (PUNCHA-ARNON; UTTAPAP, 2013). Além disso, a farinha de arroz negro contém um alto teor de fibras, minerais e fitoquímicos, principalmente flavonóides e antocianinas (HAO *et al.*, 2015). Estes componentes apresentam variações específicas nas temperaturas de decomposição térmica, sendo possível a degradação em diferentes etapas de perda de massa.

Figura 3.1 - Efeitos da radiação gama nas curvas TG/DTG da farinha de arroz negro.



Quatro etapas com perdas de massa foram observadas para todas as amostras, que diferiram do comportamento característico da decomposição térmica do amido, que geralmente ocorrem em três etapas (BET *et al.*, 2016). Um pequeno deslocamento foi observado para a segunda perda nas farinhas irradiadas. Os valores obtidos nas curvas TG/DTG são mostrados na Tabela 3.1.

A primeira perda ocorreu em temperaturas similares para todas as amostras e correspondeu à perda de água e compostos voláteis, como discutido por Bet *et al.*, (2016).

Um pequeno aumento na faixa de estabilidade térmica foi observado para a amostra irradiada na dose de 2 kGy (até 189 °C). A segunda etapa, com perda de massa entre 4,01 e 4,56%, iniciou logo após a estabilidade e está relacionada à decomposição termo-oxidativa, principalmente de lipídios (LOPES *et al.*, 2016). As temperaturas calculadas pela DTG ficaram entre 213-216 °C, correspondendo à taxa máxima de perda. Darfour *et al.* (2012) relataram que após a irradiação da farinha de feijão em doses entre 0,25 e 1,5 kGy, as amostras apresentavam maior capacidade de absorção de óleo. No presente estudo, isso pode ter sido associado à segunda perda, onde houve um aumento na faixa de temperatura nas farinhas irradiadas.

Tabela 3.1 - Efeitos da radiação gama nas curvas TG/DTG da farinha de arroz negro.

Amostras	Resultados TG		Resultados DTG	
	Etapa	$\Delta m/\%$	$\Delta T/^{\circ}\text{C}$	$T_p/^{\circ}\text{C}$
Amostra controle	1 ^a	10,64	30-148	67,13
	Estabilidade	-	148-186	-
	2 ^a	4,01	186-238	214,06
	3 ^a	61,79	238-406	313,93
	4 ^a	22,15	406-593	488,06
1 kGy	1 ^a	9,08	30-144	71,00
	Estabilidade	-	144-183	-
	2 ^a	4,56	183-244	213,56
	3 ^a	62,64	244-404	313,51
	4 ^a	22,24	404-592	487,64
2 kGy	1 ^a	9,14	30-146	67,35
	Estabilidade	-	146-189	-
	2 ^a	4,32	189-247	216,21
	3 ^a	61,75	247-394	314,60
	4 ^a	23,39	394-593	472,41
3 kGy	1 ^a	10,07	30-145	69,03
	Estabilidade	-	145-184	-
	2 ^a	4,41	184-240	215,38
	3 ^a	61,35	240-400	313,54
	4 ^a	22,49	400-597	472,29

Nota: Δm - perda de massa (%); ΔT - temperatura de variação ($^{\circ}\text{C}$); T_p - temperatura de pico ($^{\circ}\text{C}$).

A terceira e quarta etapa, as perdas referem-se à decomposição e oxidação da matéria orgânica (LOPES *et al.*, 2016), ocorrendo em temperaturas semelhantes para todas as amostras. Corradini *et al.* (2009) sugerem que a degradação de compostos como fibras, proteínas, celulose (310-360 $^{\circ}\text{C}$) e hemicelulose (240-310 $^{\circ}\text{C}$) ocorrem durante a terceira etapa. Além disso, Beninca *et al.* (2013) relatam ocorrer uma despolimerização das cadeias de amido que compõem as farinhas. Os teores finais de resíduos após a decomposição térmica (cinzas) da FAN foram de 1,41% para a amostra controle (0 kGy) e 1,48%, 1,40% e 1,68% para as amostras submetidas à radiação gama nas doses de 1, 2 e 3 kGy, respectivamente.

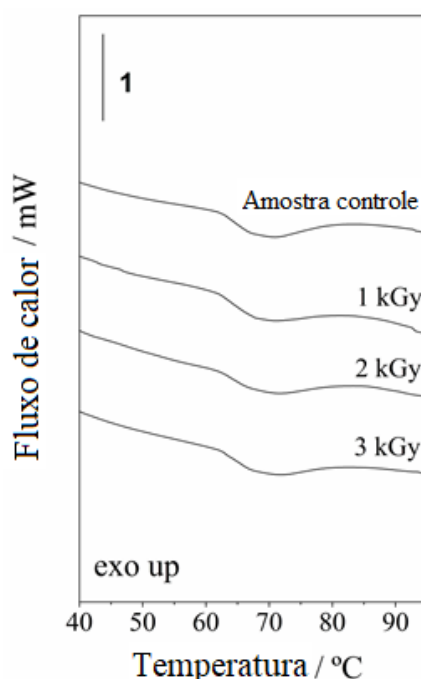
3.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

O amido é um ingrediente amplamente utilizado em alimentos para proporcionar melhor textura, consistência e viscosidade, conferir características importantes ao arroz, assim como promover o processo de gelatinização (BAO; AO; JANE, 2005). Este fenômeno pode

ser avaliado pelo DSC para estudar as temperaturas e a entalpia envolvida neste evento endotérmico.

As curvas DSC da farinha de arroz negro estão apresentadas na Figura 3.2. Para todos os parâmetros térmicos (inicial T_0 , pico T_p e conclusão T_c) e entalpias de gelatinização (ΔH_{gel}), as amostras irradiadas (1, 2 e 3 kGy), apresentaram uma pequena diminuição significativa ($p < 0,05$), quando comparadas a amostra controle (0 kGy) (Tabela 3.2).

Figure 3.2 - Efeitos da radiação gama nas curvas DSC da farinha de arroz negro.



A dose de 1 kGy apresentou os menores valores para T_0 (62,1 °C) e T_p (68,4), enquanto a amostra controle os maiores valores, T_0 (62,5 °C) e T_p (69,7 °C). Em relação ao comportamento do ΔH_{gel} , houve uma diminuição com o aumento da irradiação ($p < 0,05$). Bao; Ao; Jane (2005) também verificaram que o ΔH_{gel} diminuiu em farinha de arroz branco após a radiação gama. O valor de ΔH_{gel} menor foi relatado para amidos de trigo (CIEŚLA; ELIASSON, 2002). Rombo; Taylor; Minnaar (2004) estudaram diferentes farinhas e concluíram que uma diminuição na entalpia de gelatinização ocorre devido à diferença nos tamanhos dos grânulos de amido ou uma diferença nos comprimentos das cadeias poliméricas do amido.

Os efeitos da radiação gama nas amostras de farinha de arroz negro causaram uma ruptura em seus componentes, promovendo uma pequena variação na temperatura de gelatinização da fração do amido. As amostras submetidas às doses de 1 e 2 kGy

apresentaram uma diminuição na T_0 . Essa redução pode ser devido à clivagem da amilopectina, que resulta em cadeias curtas e uma redução da fase cristalina (KONG *et al.*, 2016).

Tabela 3.2 - Efeitos da radiação gama nas curvas DSC e cristalinidade relativa da farinha de arroz negro.

Amostras	DSC gelatinização				DRX
	$T_0/^{\circ}\text{C}$	$T_p/^{\circ}\text{C}$	$T_c/^{\circ}\text{C}$	$\Delta H_{\text{gel}}/\text{J g}^{-1}$	Cristalinidade relativa (%)
0 kGy	$62,5^a \pm 0,04$	$69,7^a \pm 0,23$	$77,8^a \pm 0,30$	$4,4^a \pm 0,12$	$23,1^a \pm 0,05$
1 kGy	$62,1^c \pm 0,03$	$68,4^c \pm 0,47$	$77,3^{ab} \pm 0,82$	$3,7^b \pm 0,37$	$22,5^a \pm 3,41$
2 kGy	$62,2^b \pm 0,05$	$69,7^a \pm 0,09$	$77,6^{ab} \pm 0,15$	$3,3^c \pm 0,07$	$21,2^{ab} \pm 0,60$
3 kGy	$62,5^a \pm 0,06$	$68,6^b \pm 0,17$	$77,1^b \pm 0,10$	$3,3^c \pm 0,05$	$17,9^b \pm 1,13$

Nota – T_0 – Temperatura inicial, T_p – temperatura de pico e T_c – temperatura de conclusão e ΔH_{gel} – entalpia de gelatinização, grau de cristalinidade foi calculado em porcentagem. As médias seguidas pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

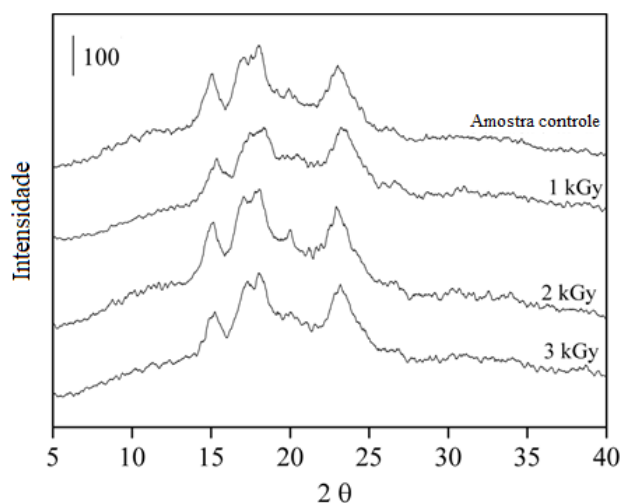
A diminuição da cristalinidade relativa ($p < 0,05$) das amostras irradiadas, também pode ter influenciado a diminuição da entalpia de gelatinização, por causa da perda do domínio cristalino e duplas hélices (POLESI *et al.*, 2016). Além disso, os parâmetros ΔH_{gel} e cristalinidade apresentaram uma correlação positiva ($r = 0,84$), sugerindo que ΔH_{gel} foi influenciado pela cristalinidade do amido (SINGH *et al.*, 2006).

3.3.3 Difratometria de Raios X (DRX) pelo Método de Pó

Os difratogramas de raios X (Figura 3.3) foram utilizados para verificar os principais picos, assim como calcular o grau de cristalinidade relativa (%) de cada amostra (Tabela 3.2). Todas as amostras apresentaram padrões claros de difração tipo A, com picos principais em 15° , 17° , 18° e 23° . Intensidades menores de pico também foram observadas em 20° e 27° . Segundo Ocloo *et al.* (2017) este pico observado em 20° indica a presença de alguns cristais de amido do tipo V em variedades de arroz.

A radiação gama não alterou os padrões de DRX das farinhas de arroz negro, resultados similares foram encontrados em farinha de arroz branco (BAO; AO; JANE, 2005) com cultivares de arroz de Gana (OCLOO *et al.*, 2017), com amido de arroz (POLESI *et al.*, 2016) e com amido de milho (CHUNG; LIU, 2009; LIU *et al.*, 2012).

Figura 3.3 - Efeitos da radiação gama nos padrões dos difratogramas de raios X da farinha de arroz negro.



A amostra controle (0 kGy) apresentou uma cristalinidade relativa superior aos valores relatados para farinha de arroz Yu *et al.* (2012), os quais relataram que as diferenças encontradas no grau de cristalinidade podem estar associadas à presença de outros componentes na farinha, como proteínas e lipídios.

Os valores de cristalinidade relativa para as amostras analisadas variaram de 17,9% a 23,1% (Tabela 2). As amostras da farinha irradiada (1 kGy, 2 kGy e 3 kGy) apresentaram menor cristalinidade ($p < 0,05$) em comparação com a amostra controle (0 kGy). Chung e Liu (2009) encontraram valores mais baixos de cristalinidade com o aumento das doses de radiação gama e atribuíram esse fato a rupturas nas regiões cristalinas no interior dos grânulos de amido.

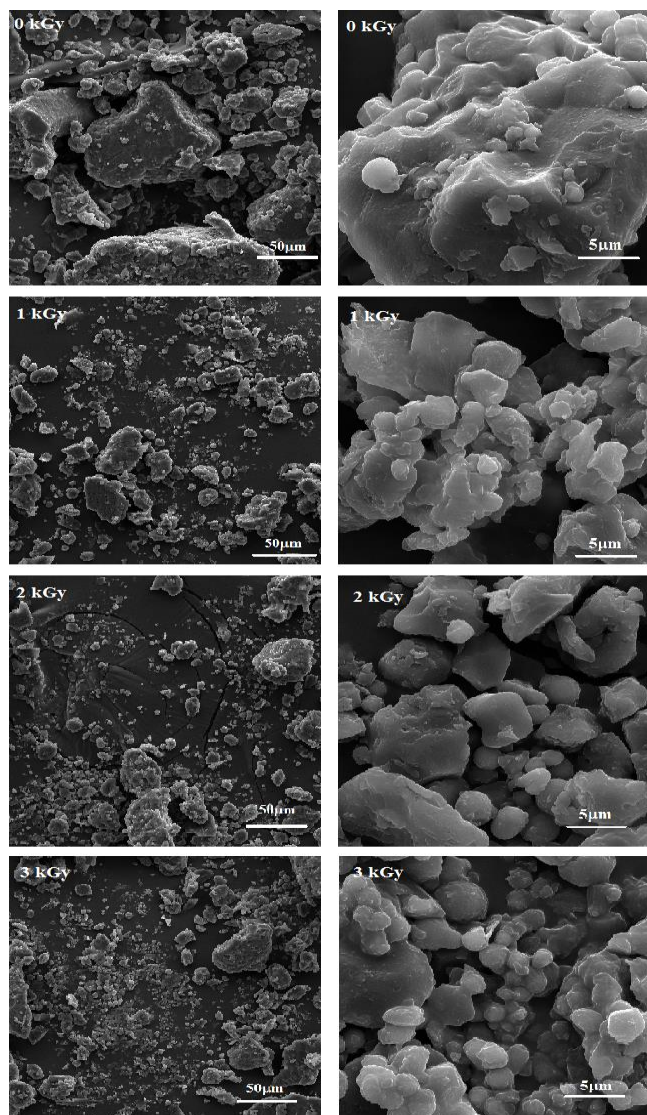
Vários estudos apresentam distintos resultados para a cristalinidade. A irradiação degrada a estrutura cristalina e a região amorfa dos grânulos de amido, o que leva a um aumento ou diminuição da cristalinidade, dependendo da região alcançada. Além da fonte botânica, a taxa de dose desempenha um papel importante na cristalinidade, pois ocorre maior recombinação entre as moléculas de amido em baixas dosagens (CHUNG; LIU, 2009).

3.3.4 Análise Morfológica e Distribuição do Tamanho de Partícula

As microimagens (FEG-SEM) da Figura 3.4 mostram uma composição orgânica e heterogênea, com aglomerados de partículas que possuem formas e tamanhos irregulares, característicos das amostras de farinha de arroz negro. A amostra controle (0 kGy), apresentou uma estrutura contínua com os grânulos de amido circundados por proteínas (WU *et al.*,

2013). Algumas mudanças ocorreram após a radiação gama, como rachaduras, poros e fragmentos menores.

Figura 3.4 – Efeitos da radiação gama na morfologia da farinha de arroz negro.



Na amostra de controle, as partículas apresentaram-se maiores, contudo, com o aumento das doses, houve maiores fissuras superficiais. Nas doses de 1kGy, 2kGy e 3 kGy ocorreu acúmulo de fragmentos menores, que resultaram em rachaduras, poros e irregularidades na superfície.

Estes dados estão de acordo com os resultados obtidos pelo analisador de tamanho de partícula (Tabela 3.3). Em relação aos tamanhos médios dos grânulos, houve uma redução significativa com o aumento das doses de radiação ($p < 0,05$).

Tabela 3.3 – Efeitos da radiação gama no tamanho de partículas da farinha de arroz negro

Amostras	Distribuição do tamanho de partículas ($\mu\text{m} \pm \text{DP}$)		
	D10	D50	D90
0 kGy	$5,07^a \pm 0,29$	$19,96^a \pm 2,77$	$70,32^a \pm 3,55$
1 kGy	$457^{ab} \pm 0,36$	$19,67^a \pm 0,47$	$67,06^b \pm 3,41$
2 kGy	$4,41^b \pm 5,04$	$17,85^b \pm 0,02$	$40,46^c \pm 0,10$
3 kGy	$4,53^b \pm 0,25$	$7,45^c \pm 3,41$	$10,48^d \pm 3,98$

Nota: D10 - menor tamanho de partícula; D50 - diâmetro mediano; D90 - maior tamanho de partícula. DP - desvio padrão; As médias seguidas pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

Ashwar *et al.* (2014) relataram que as rachaduras na superfície podem ser proveniente do efeito da radiação gama altamente energética e penetrante. Essas alterações foram associadas a radicais livres gerados pela irradiação, clivando as ligações glicosídicas das grandes moléculas de amido. Alguns grânulos apresentaram fissuras ao longo das moléculas clivadas, o que pode contribuir para a formação da dextrina (KIM *et al.*, 2015). Esse tipo de quebra resultou em um aumento no número de partículas pequenas nas amostras da farinha de arroz negro.

3.3.5 Propriedades Viscoamilográficas

As propriedades de pasta da FAN estão apresentadas na Figura 3.5 e Tabela 3.4. Foram encontradas diferenças significativas ($p < 0,05$) em todos os parâmetros avaliados (temperatura de pasta, viscosidade de pico, retrogradação, quebra e viscosidade final). Estes resultados estão de acordo com estudos anteriores, sobre os efeitos da irradiação nas propriedades viscoamilográficas em farinhas de arroz (BAO; AO; JANE, 2005; OCLOO *et al.*, 2017).

Em todos os parâmetros avaliados ocorreu uma diminuição continua com o aumento das doses, com exceção da temperatura de pasta, que aumentou com a radiação gama (Tabela 3.4). A temperatura de pasta foi negativamente correlacionada com a viscosidade de pico, retrogradação, quebra e viscosidade final, estando de acordo com resultados encontrados por Singh *et al.* (2006). Os radicais livres gerados durante a modificação pela irradiação da farinha podem promover a clivagem das ligações glicosídicas de amilose e amilopectina, que são os principais componentes do amido, reduzindo a massa molecular e consequentemente diminuindo a viscosidade da pasta, exigindo temperaturas mais elevadas para a formação de gel (POLESI *et al.*, 2016). As temperaturas de pasta foram maiores do que a T_0 obtidas por DSC, o mesmo ocorreu com o estudo de Singh *et al.* (2006).

Figura 3.5 - Efeitos da radiação gama nas curvas de RVA da farinha de arroz negro.

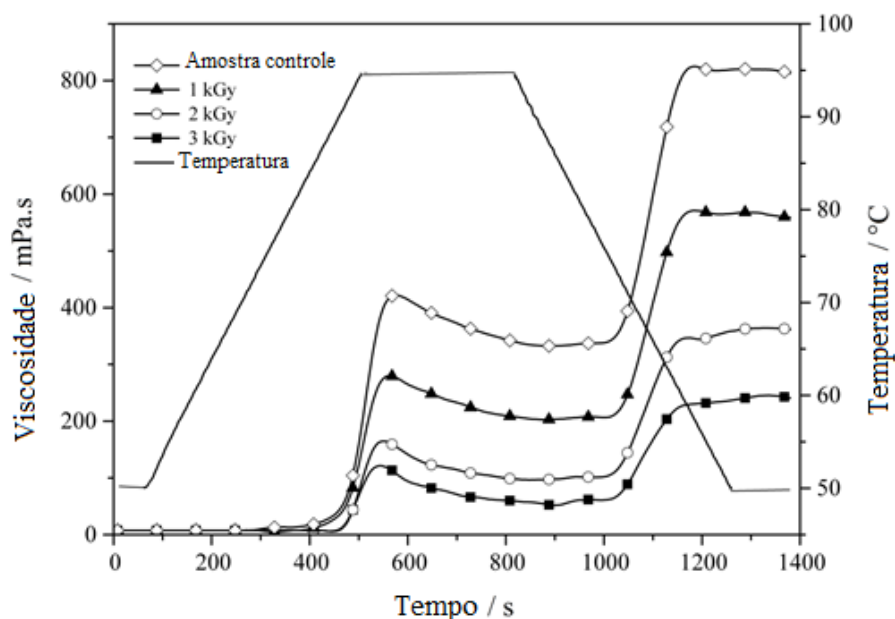


Tabela 3.4 - Efeitos da radiação gama nas propriedades viscoamilográficas da farinha de arroz negro.

Amostras	Temperatura de pasta/°C	Viscosidade de pico/mPa.s	Retrogradação/mPa.s	Quebra/mPa.s	Viscosidade final/ mPa.s
0 kGy	92,9 ^c ± 0,21	422 ^a ± 2,82	481 ^a ± 0,41	90 ^a ± 1,20	813 ^a ± 0,21
1 kGy	93,7 ^b ± 0,28	281 ^b ± 1,41	358 ^b ± 0,40	80 ^b ± 1,40	559 ^b ± 0,25
2 kGy	94,8 ^a ± 0,27	166 ^c ± 2,83	267 ^c ± 0,28	71 ^c ± 1,21	362 ^c ± 0,28
3 kGy	95,0 ^a ± 0,28	124 ^d ± 1,21	191 ^d ± 0,08	74 ^c ± 2,12	241 ^d ± 0,58

Nota: mPa.s - millipascal segundo; s – segundos; As médias seguidas pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan ($p < 0,05$).

A diminuição da viscosidade de pico, retrogradação, quebra e viscosidade final nas amostras irradiadas pode estar associada à despolimerização parcial das moléculas de amido de arroz devido as rupturas das cadeias (OCLOO *et al.*, 2017). Segundo Chung e Liu (2009), a redução na viscosidade de pico após a irradiação pode ser por consequência de uma degradação do amido, bem como a redução do poder de inchamento.

Liu *et al.* (2012) relatam que a tendência a retrogradação e a viscosidade final fornece uma indicação sobre a estabilidade viscoamilográfica do amido e a tendência dos grânulos resistirem à força de cisalhamento durante o processo de aquecimento. No entanto, a maior quebra da viscosidade (*breakdown*) das amostras irradiadas pode indicar um rompimento ou enfraquecimento das forças de ligação (ligações de hidrogênio) nos grânulos de amido (BHAT *et al.*, 2016).

Segundo Bhat *et al.* (2016) a diminuição na tendência a retrogradação e viscosidade final ocorrem principalmente devido à reordenação ou polimerização de amilose e amilopectina lixiviadas. Isso pode diminuir devido à degradação, bem como ao encurtamento das cadeias ramificadas da amilopectina.

3.4 CONCLUSÃO

Os efeitos do radioisótopo ^{60}Co na farinha de arroz negro foram investigados considerando-se as propriedades termoanalíticas, estruturais e viscoamilográficas. As curvas termogravimétricas mostraram quatro perdas de massa em reações consecutivas. Um pequeno deslocamento foi observado para a segunda perda, que ocorreu nas farinhas irradiadas. As amostras mostraram pequenas mudanças em todos os parâmetros térmicos (T_o , T_c , T_p , e ΔH_{gel}).

As farinhas de arroz negro exibiram padrões claros de difração tipo A e a radiação gama diminuiu o grau de cristalinidade relativa. As microimagens mostraram um composto de material orgânico e heterogêneo, que após a radiação gama ocorreram rachaduras, poros e diminuição do tamanho médio dos grânulos. As propriedades de pasta diminuíram significativamente com a irradiação. A diminuição na tendência à retrogradação e quebra da viscosidade após a irradiação sugerirem melhorar a qualidade dos alimentos.

A radiação gama pode ser uma ferramenta útil para modificar as farinhas de arroz para atender às crescentes demandas da indústria de alimentos. Este estudo mostrou que a farinha de arroz negro irradiada pode ser utilizada em formulações de alimentos isentos de glúten, que requerem baixa viscosidade, como mingaus e alimentos infantis, proporcionando benefícios adicionais à saúde dos consumidores.

REFERÊNCIAS

- ASHWAR, B. A.; SHAH, A.; GANI, A.; RATHER, S. A.; WANI, S. M.; WANI, I. A. Effect of gamma irradiation on the physicochemical properties of alkali-extracted rice starch. **Radiation Physics and Chemical**, v. 99, p. 37-44, 2014.
- BAO, J.; AO, Z.; JANE, J.-L. Characterization of physical properties of flour and starch obtained from gamma-irradiated white rice. **Starch - Stärke**, v. 57, n. 10, p. 480-487, 2005.
- BENINCA, C.; COLMAN, T. A. D.; LACERDA, L. G.; FILHO, M. A. S. C.; BANNACH, G.; SCHNITZLER, E. The thermal, rheological and structural properties of cassava starch granules modified with hydrochloric acid at different temperatures. **Thermochimica Acta**, v. 552, p. 65-69, 2013.

BET, C. D.; PRADO, C. L.; RIBEIRO, L. S.; SCHNITZLER, E. Common Vetch (*Vicia sativa*) as a new starch source: its thermal, rheological and structural properties after acid hydrolysis. **Food Biophysics**, v. 11, n.3, p. 275-82, 2016.

BHAT, R.; KARIM, A. A. Impact of Radiation Processing on Starch. **Comprehensive Review in Food Science and Food Safety**, v. 8, n. 2, p. 44-58, 2009.

BHAT, N. A.; WANI, I. A.; HAMDANI, A. M.; GANI, A.; MASOODI, F. A. Physicochemical properties of whole wheat flour as affected by gamma irradiation. **LWT - Food Science and Technology**, v. 71, p. 175-183, 2016.

CHUNG, H.-J.; LIU, Q. Effect of gamma irradiation on molecular structure and physicochemical properties of corn starch. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 5, p. 353-361, 2009.

CIEŚLA, K.; ELIASSEN, A-C. Influence of gamma radiation on potato starch gelatinization studied by differential scanning calorimetry. **Radiation Physics and Chemical**, v. 64, n. 2, p. 137-148, 2002.

CORRADINI, E.; IMAM, S. H.; AGNELLI, J. A. M.; MATTOSO, L. H. C. Effect of coconut, sisal and jute fibers on the properties of starch/gluten/glycerol matrix. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 17, n. 1, p. 1-9, 2009.

DARFOUR, B.; WILSON, D. D.; OFOSU, D. O.; OCLOO, F. C. K. Physical, proximate, functional and pasting properties of flour produced from gamma irradiated cowpea (*Vigna unguiculata*, L. Walp). **Radiation Physics and Chemistry**, v. 81, n. 4, p. 450-457, 2012.

DEMIATE, I. M.; FIGUEROA, A. M.; ZORTÉA GUIDOLIN, M. E. B.; RODRIGUES DOS SANTOS, T. P.; YANGCHENG, H.; CHANG, F.; JANE, J.-L. Physicochemical characterization of starches from dry beans cultivated in Brazil. **Food Hydrocolloids**, v. 61, n. Supplement C, p. 812-820, 2016.

HAO, J.; ZHU, H.; ZHANG, Z.; YANG, S.; LI, H. Identification of anthocyanins in black rice (*Oryza sativa* L.) by UPLC/Q-TOF-MS and their in vitro and in vivo antioxidant activities. **Journal of Cereal Science**, v. 64, p. 92-99, 2015.

ITO, V. C.; FERREIRA ZIELINSKI, A. A.; AVILA, S.; SPOTO, M.; NOGUEIRA, A.; SCHNITZLER, E.; LACERDA, L. G. Effects of gamma radiation on physicochemical, thermogravimetric, microstructural and microbiological properties during storage of apple pomace flour. **LWT - Food Science and Technology**, v. 78, p. 105-113, 2017.

ITO, V. C.; ALBERTI, A.; AVILA, S.; SPOTO, M.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Effects of gamma radiation on the phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of apple pomace flour during storage using multivariate statistical techniques. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 33, p. 251-259, 2016.

KIM, H.-Y.; PARK, S. S.; LIM, S.-T. Preparation, characterization and utilization of starch nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 126, p. 607-620, 2015.

KONG, X.; ZHOU, X.; SUI, Z.; BAO, J. Effects of gamma irradiation on physicochemical properties of native and acetylated wheat starches. **International Journal of Biology and Macromolecules**, v. 91, p. 1141-1150, 2016.

LACERDA, L.G.; COLMAN, T.A.D.; BAUAB, T.; FILHO, M.A.S.C.; DEMIATE, I.M.; VASCONCELOS, E.C.; SCHNITZLER, E. Thermal, structural and rheological properties of starch from avocado seeds (*Persea americana*, Miller) modified with standard sodium hypochlorite solutions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 1893-1899, 2014.

LIU, X.; WANG, Y.; YU, L.; TONG, Z.; CHEN, L.; LIU, H.; LI, X. Thermal degradation and stability of starch under different processing conditions. **Starch - Stärke**, v. 65, p. 48-60, 2013.

LIU, T.; MA, Y.; XUE, S.; SHI, J. Modifications of structure and physicochemical properties of maize starch by γ -irradiation treatments. **LWT - Food Science and Technology**, v. 46, n. 1, p. 156-163, 2012.

LOPES, B. D. M.; DEMIATE, I. M.; ITO, V. C.; OLIVEIRA, C. S.; SILVA, C. F. M. A.; SCHNITZLER, E.; LACERDA, L. G. Effects of partial in vitro digestion on properties of European chestnut (*Castanea sativa* Mill) flour. **Thermochimica Acta**, v. 640, p. 36-41, 2016.

NARA, S.; KOMIYA, T. Studies on the relationship between water-saturated state and crystallinity by the diffraction method for moistened potato starch. **Starch/Starke**, v. 35 n. 12, p. 407-410, 1983.

OCLOO, F. C. K.; OWUREKU-ASARE, M.; AGYEI-AMPONSAH, J.; AGBEMAVOR, W. S. K.; EGBLEWOGBE, M. N. Y. H.; APEA-BAH, F. B.; SARFO, A.; APATEY, J.; DOKU, H.; OFORI-APPIAH, D.; AYEYEH, E. Effect of gamma irradiation on physicochemical, functional and pasting properties of some locally-produced rice (*Oryza* spp) cultivars in Ghana. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 130, p. 196-201, 2017.

PEREIRA, C.; CALHELHA, R. C.; ANTONIO, A. L.; QUEIROZ, M. J. R. P.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. Effects of gamma radiation on chemical and antioxidant properties, anti-hepatocellular carcinoma activity and hepatotoxicity of borututu. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 26, p. 271-277, 2014.

POLESI, L. F.; SARMENTO, S. B. S.; MORAES, J. D.; FRANCO, C. M. L.; CANNIATTI-BRAZACA, S. G. Physicochemical and structural characteristics of rice starch modified by irradiation. **Food Chemistry**, v. 191, p. 59-66, 2016.

PUNCHA-ARNON, S.; UTTAPAP, D. Rice starch vs. rice flour: Differences in their properties when modified by heat-moisture treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 91, n. 1, p. 85-91, 2013.

ROMBO, G. O.; TAYLOR, J. R. N.; MINNAAR, A. Irradiation of maize and bean flours: effects on starch physicochemical properties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 4, p. 350-356, 2004.

SABBAH, R.; XU-WU, A.; CHICKOS, J. S.; LEITÃO, M. L. P.; ROUX, M. V.; TORRES, L. A. Reference materials for calorimetry and differential thermal analysis. **Thermochimica Acta**, v. 331, n. 2, p. 93-204, 1999.

SINGH, N.; KAUR, L.; SANDHU, K. S.; KAUR, J.; NISHINARI, K. Relationships between physicochemical, morphological, thermal, rheological properties of rice starches. **Food Hydrocolloids**, v. 20, n. 4, p. 532-542, 2006.

WU, F.; CHEN, H.; YANG, N.; WANG, J.; DUAN, X.; JIN, Z.; XU, X. Effect of germination time on physicochemical properties of brown rice flour and starch from different rice cultivars. **Journal of Cereal Science**, v. 58, n. 2, p. 263-271, 2013.

YU, S.; MA, Y.; MENAGER, L.; SUN, D-W. Physicochemical properties of starch and flour from different rice cultivars. **Food Biology and Technology**, v. 5, n. 2, p. 626-37, 2012.

CAPÍTULO IV

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO E ESTABILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DURANTE O ARMAZENAMENTO DA FARINHA DE ARROZ NEGRO

O conteúdo deste capítulo foi publicado na revista Brazilian Archives of Biology and Technology (doi: 10.1590/1678-4324-2019180470), anexo C.

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO E ESTABILIDADE DE COMPOSTOS FENÓLICOS E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE DURANTE O ARMAZENAMENTO DA FARINHA DE ARROZ NEGRO

RESUMO

Os efeitos da radiação gama nas doses de 0, 1, 2 e 3 kGy na cinética de degradação térmica e estabilidade das antocianinas, a estabilidade de compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante em diferentes temperaturas (4, 25, 35 e 45 °C), durante o armazenamento (120 dias) da farinha de arroz negro, foram avaliados. Esta farinha pode ser utilizada como ingrediente em produto funcional e isento de glúten, com maior valor nutricional. Para isso, é necessário preservar o conteúdo total de antocianinas (CTA) durante o processamento térmico e tempo de prateleira. No tempo 0, a dose de 3 kGy apresentou maior teor de compostos bioativos, exceto para CFT. Durante o armazenamento de 120 dias, em diferentes temperaturas, ocorreram perdas gradativas em todos os parâmetros analisados. Em relação ao CTA e CFT, a amostra de 1 kGy apresentou melhor estabilidade. Os dados cinéticos indicaram uma reação de primeira ordem para a degradação térmica das antocianinas. A combinação da radiação gama com diferentes temperaturas pode melhorar o prazo de validade da farinha de arroz negro.

Palavras-chave: Antocianinas; Compostos bioativos; Estabilidade; Irradiação; Parâmetros termodinâmicos.

ABSTRACT

The effects of gamma radiation at doses 0, 1, 2 and 3 kGy were used to evaluate the stability and thermal degradation kinetics of anthocyanins, as well as the stability of total phenolic compounds (TPC) and antioxidant activity at different temperatures (4, 25, 35 and 45 °C) during the storage (120 days) of black rice flour. This flour can be used as ingredient for gluten-free cereal products with higher nutritional value. For this it is necessary to preserve the total anthocyanin content (TAC) during thermal processing and shelf-life periods. At time 0, the dose of 3 kGy provided all of the most available bioactive compounds, raising their antioxidant potential, except for TPC. During the storage at different temperatures up to 120 days, gradual losses occurred in all the analysed parameters. Regarding the TAC and TPC, the sample irradiated with a 1 kGy dose remained most stable. The analysis of kinetic data indicated a first-order reaction for the degradation of anthocyanins. The combination of irradiation with different temperatures may improve the shelf-life of black rice flour.

Keywords: Anthocyanins; Bioactive compounds; Irradiation; Stability; Thermodynamic parameters.

4.1 INTRODUÇÃO

Variedades de arroz pigmentado, como o arroz negro, são fontes de antocianinas, flavonóides, tocoferóis e vitaminas (B e E) (HAO *et al.*, 2015; BOLEA *et al.*, 2016). Tais antioxidantes agem contra possíveis efeitos nocivos causados pelos radicais livres e estão diretamente relacionados na prevenção de diversas doenças, como o diabetes tipo II, obesidade, doença cardiovascular, câncer, entre outros (ZHANG *et al.*, 2010; WALTER e MARCHESAN, 2011; HAO *et al.*, 2015).

As antocianinas são pigmentos vermelhos e roxos escuros, as quais são utilizadas pela indústria de alimentos como substitutos naturais dos corantes sintéticos (ITO *et al.*, 2018). Dentro deste contexto, existe uma necessidade de preservar o teor de antocianinas durante o processamento térmico, assim como, em períodos prolongados de armazenamento. Pois, este pigmento é reativo e pode ser degradado em compostos incolores ou de cor marrom. A estabilidade dos compostos bioativos em alimentos é influenciada por diversos fatores, incluindo condições de processamento e armazenamento, propriedades físico-químicas, presença de copigmentos e íons metálicos (KIRCA; ÖZKAN; CEMEROĞLU, 2007; MARTYNENKO; CHEN, 2016).

O estudo da cinética de degradação (constante de reação (k) em função das temperaturas de armazenamento, energia de ativação (E_a) e meia vida ($t_{1/2}$), bem como os parâmetros termodinâmicos (energia livre (ΔG), entalpia (ΔH) e entropia (ΔS)), fornecem informações significativas sobre a estabilidade térmica das antocianinas (MARTYNENKO; CHEN, 2016). Para aumentar a vida útil dos alimentos, a radiação gama (tratamento físico e não térmico), é bem estabelecida para conservação de alimentos, reduzindo ou esterilizando o alimento e, principalmente, mantendo a qualidade dos alimentos (ITO *et al.*, 2017).

Na literatura há diversos trabalhos que abordam o efeito positivo da radiação gama, nos compostos bioativos com potencial antioxidante, em diferentes matérias-primas, como a soja (DIXIT *et al.*, 2010), o arroz integral (SHAO *et al.*, 2013) e cogumelo (KHAN *et al.*, 2015). Até o presente momento, poucas são as informações sobre o efeito da irradiação na cinética de degradação dos compostos bioativos durante o armazenamento de variedades pigmentadas de arroz. Assim, o objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos da radiação gama na cinética de degradação térmica e estabilidade de antocianinas, bem como a estabilidade de compostos fenólicos totais e atividade antioxidante, em diferentes temperaturas durante o armazenamento da farinha de arroz negro.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Reagentes

Reagente de Folin-Ciocalteu, DPPH (2,2- difenil-2-picrilhidrazil), Trolox (6 -hidroxi - 2,5,7,8 -tetrametilcromano - 2-carboxílico), TPTZ (2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina), cianidina-3-glucosídeo, ácido gálico, quercetina, foram adquiridos da Sigma-Aldrich (EUA). Metanol, acetonitrila e ácido acético foram de grau CLAE, enquanto que os outros reagentes utilizados no experimento foram de grau analítico. As soluções aquosas foram preparadas com água ultra pura (Milli-Q).

4.2.2 Preparação e Irradiação da Amostra

O arroz negro biodinâmico utilizado nos experimentos foi adquirido no mercado municipal de Curitiba, Paraná, Brasil. A metodologia para a preparação da farinha de arroz negro (FAN) e o processo de irradiação foi conforme Ito *et al.* (2018). A farinha foi separada e embalada a vácuo, com 200 gramas em cada embalagem, em pequenos sacos de poliéster laminados, com vedação hermética e proteção contra a luz. As farinhas foram então irradiadas com doses de 0, 1, 2 e 3 kGy.

4.2.3 Estabilidade e Condições de Armazenamento

Para compreender o efeito da radiação gama na estabilidade da FAN, foram avaliadas quatro doses (0, 1, 2 e 3 kGy), quatro temperaturas (4, 25, 35 e 45 °C) e dois períodos de armazenamento (0 e 120 dias). Após a irradiação, todas as amostras foram mantidas a 25 ± 2 °C e analisadas (primeiro período). Então, as amostras foram submetidas a diferentes temperaturas de armazenamento, em incubadora BOD (SP-500 SP Labor, Brasil) e estufas de circulação de ar:

- 4 ± 2 °C: temperatura de refrigeração (simular o uso da farinha como um ingrediente em produtos armazenados em baixa temperatura);
- 25 ± 2 °C: temperatura ambiente;
- 35 ± 2 °C: é uma das temperaturas para prazo de validade acelerada (TONON; BRABET; HUBINGER, 2010);

- 45 ± 2 °C: temperatura inicial para degradação das antocianinas.

4.2.4 Extração das Antocianinas

As antocianinas foram extraídas de acordo com Shao *et al.* (2014), com pequenas alterações. Resumidamente, 0,5 g de FAN foram extraídas duas vezes com 15 mL de solução de metanol e HCl (1 mol L^{-1}) (85:15, v v⁻¹), em agitação durante 45 min, com proteção contra a luz. As amostras foram então centrifugadas a $5000 \times g$ (HIMAC CR-GII, Hitachi, Ibaraki, Japão) durante 20 min a 20 °C. A mistura foi filtrada em vácuo com auxílio de um filtro com seringa de nylon de 0,22 μm (Waters, Milford, MA, EUA). O extrato foi corrigido para um volume final de 50 mL com o solvente de extração.

Os extratos das amostras (em seus respectivos tratamentos) foram analisados quanto ao conteúdo total de antocianinas (CTA), cianidina-3-glicosídeo (C3G), flavonoides totais (FT), compostos fenólicos totais (CFT), atividade antioxidante pelos ensaios ABTS e FRAP. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

4.2.5 Determinação do Conteúdo Total de Antocianinas (CTA)

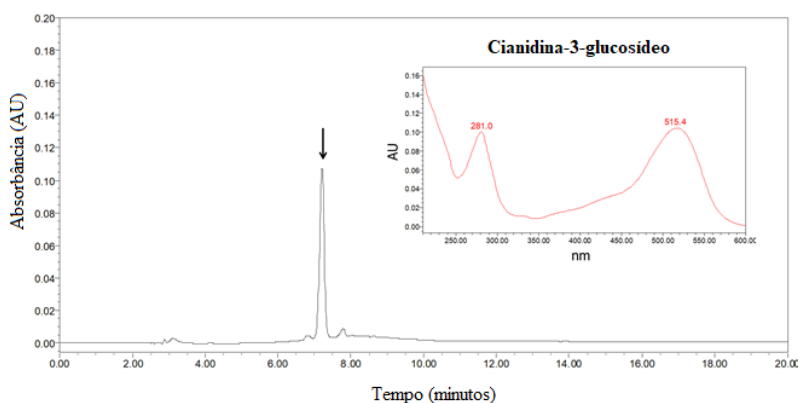
O CTA foi determinado de acordo com o método espectrofotométrico de pH diferencial, (GIUSTI; WROLSTAD, 2001), adaptado para microplacas. Primeiramente, duas soluções foram preparadas: tampão com pH 1,0 ($0,025 \text{ mol L}^{-1}$ de KCl, acidificado com HCl) e outro tampão com pH 4,5 ($0,4 \text{ mol L}^{-1}$ de acetato de sódio, acidificado com HCl). Em seguida, alíquotas do extrato (descrito na seção 2.3) foram transferidos para uma microplaca de 96 poços com 290 μL das soluções tampões (pH 1,0 e 4,5) e deixadas em repouso durante 30 min. A absorbância foi medida a 520 e 700 nm utilizando um leitor de microplacas (Epoch, Synergy-BioTek, Winooski, VT, USA). O CTA foi determinado conforme Shao *et al.* (2014) e expresso como equivalente a cianidina-3-glicosídeo.

4.2.6 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) das Antocianinas

Os extratos das antocianinas também foram submetidos à análise por CLAE, de acordo com o método descrito por Pedro; Granato; Rosso (2016), com pequenas alterações. A análise foi realizada em um módulo de separação da Alliance 2695 (Waters, Milford, MA,

EUA) acoplado a um detector de fotiododo (modelo PDA 2998, Waters, Milford, MA, EUA), uma bomba quaternária e um auto injetor foi utilizado. Primeiramente, os extratos foram filtrados usando uma membrana de nylon 0,22 μm e, em seguida, 10 μL de amostra foram injetados no sistema de CLAE. A separação foi então realizada usando uma coluna XTerra® MS C18 com dimensões de 4,6 $\times$ 250 mm, 5 μm (Waters, Milford, MA, EUA) mantida a 20 °C com fluxo de 1,0 mL min⁻¹. A fase móvel consistiu em A (0,1% de ácido fórmico) e B (acetonitrilo). O seguinte gradiente foi aplicado: 3-22% de B (0-5 min), 22-35% de B (5-15 min), seguido de lavagem e recondicionamento da coluna. As antocianinas foram identificadas e quantificadas em 515 nm com um detector DAD comparando o tempo de retenção com o padrão de cianidina-3-glicosídeo na faixa de concentração de 0,01 a 0,25 mg L⁻¹ ($y = 25482x - 20152$; $R^2 = 0.999$). Um exemplo do cromatograma está representado na Figura 4.1.

Figura 4.1 - Cromatograma do extrato de antocianina da farinha de arroz negro a 515 nm.



4.2.7 Análise Termodinâmica e Cinética de Degradação Térmica

A degradação térmica das antocianinas da farinha de arroz negro foi avaliada pela seguinte equação de primeira ordem, segundo Patras *et al.* (2010).

$$C_t = C_0 \exp (-kt) \quad (1)$$

onde C_t é o conteúdo de antocianina no tempo de reação (t) (mgC3G.g⁻¹) e C_0 é o conteúdo inicial de antocianina (mgC3G.g⁻¹). A variação de k é a constante de taxa dependente da

temperatura (dia^{-1}), e t é o tempo de aquecimento (dia). A meia-vida ($t_{1/2}$) das antocianinas durante o aquecimento foi expressa de acordo com a Equação 2:

$$t_{1/2} = - \frac{\ln(0.5)}{k} \quad (2)$$

O efeito da temperatura na cinética da degradação de antocianinas foi calculado seguindo as constantes obtidas da Equação (1), e foram ajustados a uma Equação de Arrhenius (3):

$$\ln k = \ln k_0 - \frac{E_a}{R \cdot T} \quad (3)$$

onde, E_a é a energia de ativação de Arrhenius (kJ mol^{-1}); R é a constante universal de gás ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}$); T é a temperatura absoluta (K). A energia de ativação foi determinada plotando $\ln(k)$ contra $1/T$ conforme a Equação (3).

Os parâmetros termodinâmicos como entalpia de ativação ($\Delta H^\#$), energia livre de inativação ($\Delta G^\#$) e entropia de ativação ($\Delta S^\#$), foram determinados de acordo com as Equações 4 - 6, conforme descrito por Labuza (1980):

$$\Delta H^\# = E_a - RT \quad (4)$$

$$\Delta G^\# = -R \cdot T \cdot \ln \left(\frac{k \cdot h}{k_B \cdot T} \right) \quad (5)$$

$$\Delta S^\# = \frac{(\Delta H^\# - \Delta G^\#)}{T} \quad (6)$$

onde h é constante de Planck ($6,62 \times 10^{-34} \text{ J s}$) e k_B é a constante de Boltzmann ($1,38 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$).

4.2.8 Determinação de Flavonoides Totais (FT) e Compostos Fenólicos Totais (CFT)

O conteúdo de FT da farinha de arroz negro foi quantificado por espectrofotometria UV-Vis (Shimadzu UV-1800) a 374 nm e determinados conforme Lees e Francis (1972). Foram expressos em mg de equivalentes de quercetina (QE) por g de farinha de arroz negro.

O conteúdo de CFT foi determinado utilizando Folin-Ciocalteu descrito por Singleton & Rossi (1965), com algumas modificações. As medições foram realizadas utilizando um leitor de microplacas, após 1 hora de reação a absorbância foi registrada a um comprimento de onda de 720 nm. Os valores de absorbância da amostra foram comparados com uma curva de calibração do ácido gálico (GA) e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por grama de farinha de arroz negro (mg GAE g⁻¹).

4.2.9 Atividade Antioxidante *in vitro*

A atividade antioxidante foi determinada pelo método de potencial antioxidante de redução do ferro (FRAP), conforme descrito por Benzie e Strain (1996), com algumas modificações. A absorbância foi registrada a um comprimento de onda de 593 nm após a solução ficar em repouso no escuro durante 2 horas. Uma curva padrão (FRAP = 0,001 × absorbância; $R^2 = 0,991$; $p < 0,001$) foi plotada usando diferentes concentrações de Trolox (0,1-1,0 mmol L⁻¹). Os resultados foram expressos em equivalentes de μmol Trolox por grama de amostra (μmolTE g⁻¹).

A habilidade na eliminação dos radicais livres pelo método de descoloração do radical cátion ABTS ((2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)), foi determinada pelo método descrito por Re *et al.* (1999), com modificações. A absorbância foi registrada a um comprimento de onda de 734 nm após a solução ficar em repouso no escuro durante 30 min. Os resultados foram comparados com uma curva padrão (Trolox 100-1000 μmol L⁻¹) e expressos em μmol Trolox equivalente por g de farinha de arroz negro (μmol TE g⁻¹).

4.2.10 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média ± desvio padrão. *One-way* ANOVA foi realizada para avaliar o efeito da radiação gama em todos os parâmetros. Os testes de Duncan foram conduzidos para determinar as diferenças entre as médias a um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$). A correlação de Pearson (r) foi utilizada para avaliar o grau de associação

entre as variáveis de resposta (ITO *et al.*, 2016). O modelo dos parâmetros ajustados nas equações foi determinado por regressão de quadrados não lineares usando o algoritmo de Gauss-Newton ou por regressões de quadrados lineares. A significância estatística das equações foi examinada por ANOVA, o ajuste foi baseado no coeficiente de regressão (R^2). Todas as análises foram realizadas utilizando o software STATISTICA v.13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, EUA).

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Efeitos da Radiação Gama na Estabilidade das Antocianinas

Os efeitos da radiação gama foram avaliados na estabilidade das antocianinas em diferentes temperaturas durante o armazenamento da farinha de arroz negro. Para o conteúdo total de antocianinas (CTA) observou-se que as amostras com a dose de 3 kGy apresentaram maiores valores em comparação com as amostras tratadas com doses de 0, 1 e 2 kGy, conforme apresentado na Tabela 4.1. Houve uma redução significativa no CTA para todas as amostras ($p < 0,05$) conforme o aumento da temperatura e do armazenamento.

Para as temperaturas de 4 e 25 °C no tempo final (120 dias), todas as amostras apresentaram maiores valores quando comparadas com as demais temperaturas (35 e 45 °C). A amostra controle (0 kGy) apresentou a maior redução do conteúdo total de antocianinas (13,08 - 20,91%) para todas as temperaturas. A amostra irradiada com 1 kGy permaneceu mais estável em relação às temperaturas de armazenamento (4, 25 e 35 °C), especialmente a 4 °C, com uma perda de apenas 9,33%. Esta diminuição do CTA pode ter sido devido à estrutura polifenólica, as quais são vulneráveis à degradação oxidativa durante o armazenamento. Além disso, temperaturas elevadas podem desestabilizar as estruturas das antocianinas, contribuindo para a sua degradação (PEDRO; GRANATO; ROSSO, 2016). Resultados semelhantes foram observados por Norkaew *et al.* (2017), que relataram que o armazenamento a 30 °C reduziu 18% do teor de antocianinas no arroz negro.

Ao avaliar arroz negro, Zhang *et al.* (2010) constataram que 99,5 - 99,9% do total de antocianinas estavam na forma livre. A principal antocianina desta variedade de arroz pigmentado é a cianidina-3-glicosídeo (C3G), representando 88% do conteúdo total de antocianinas (ABDEL-AAL; YOUNG; RABALSKI, 2006). Outras antocianinas também foram identificadas em quantidades menores, como a peonidina-3-glicosídeo, cianidina-3-

rutinosídeo, cianidina-3,5-diglucosídeo (HOU *et al.*, 2013), malvidina-3-glicosídeo e petunidina-3-glicosídeo (CHEN *et al.*, 2012). Os resultados obtidos por CLAE para cianidina-3-glicosídeo (C3G) estão na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 - Efeitos da radiação gama no conteúdo total de antocianinas (CTA) e cianindina-3-glicosídeo (C3G), nas temperaturas de 4, 25, 35 e 45 °C, no início (t_0) e final do armazenamento (t_f) da farinha de arroz negro.

Parâmetros	Doses (kGy)	t_0 (0 dia)		t_f (120 dias)			
		-	4(°C)	25(°C)	35(°C)	45(°C)	
CTA (mgC3G.g ⁻¹)	0	1,81 ^{Ba} ± 0,01	1,57 ^{Cb} ± 0,02	1,52 ^{Cc} ± 0,01	1,43 ^{Bd} ± 0,01	1,43 ^{Cd} ± 0,02	
	1	1,76 ^{Ca} ± 0,01	1,60 ^{ABb} ± 0,01	1,58 ^{Bc} ± 0,01	1,55 ^{Ad} ± 0,01	1,42 ^{Ce} ± 0,02	
	2	1,81 ^{Ba} ± 0,01	1,58 ^{BCb} ± 0,01	1,58 ^{Bb} ± 0,02	1,54 ^{Ac} ± 0,02	1,46 ^{Bd} ± 0,02	
	3	1,84 ^{Aa} ± 0,01	1,62 ^{Ab} ± 0,01	1,63 ^{Ab} ± 0,01	1,56 ^{Ac} ± 0,01	1,55 ^{Ac} ± 0,01	
C3G (mg.g ⁻¹)	0	1,30 ^{Ca} ± 0,02	1,24 ^{Bb} ± 0,02	1,26 ^{Bb} ± 0,01	1,17 ^{Bc} ± 0,02	1,15 ^{Bc} ± 0,01	
	1	1,37 ^{Ba} ± 0,01	1,29 ^{Ac} ± 0,01	1,32 ^{Ab} ± 0,01	1,30 ^{Abc} ± 0,02	1,30 ^{Abc} ± 0,02	
	2	1,42 ^{Aa} ± 0,02	1,28 ^{Ab} ± 0,02	1,31 ^{Ab} ± 0,03	1,31 ^{Ab} ± 0,01	1,31 ^{Ab} ± 0,02	
	3	1,43 ^{Aa} ± 0,01	1,29 ^{Ab} ± 0,01	1,33 ^{Ab} ± 0,02	1,31 ^{Ab} ± 0,03	1,31 ^{Ab} ± 0,01	

Nota - Os resultados são expressos como média ± desvio padrão; Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as doses; Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas e o tempo. As diferenças significativas a um nível de 5% foram realizadas pelo teste de Duncan.

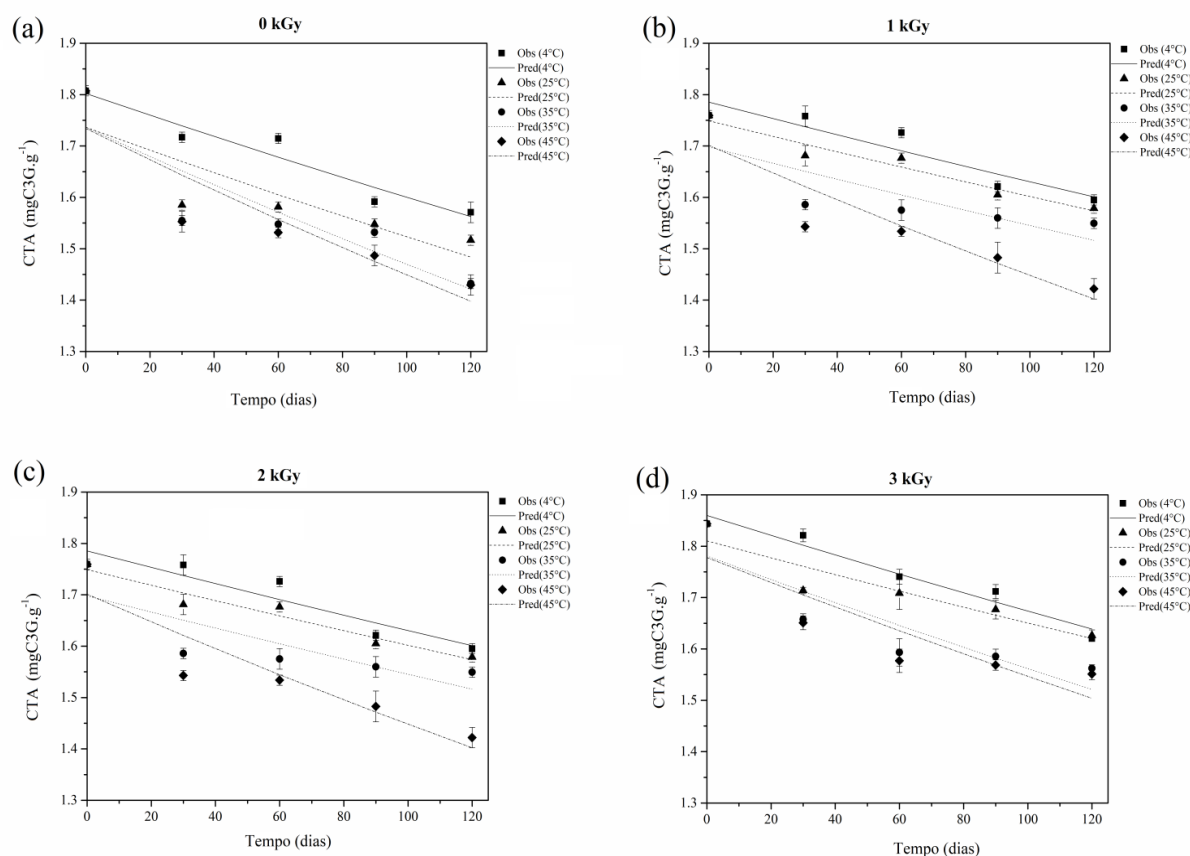
O efeito da irradiação e das temperaturas de armazenamento para a C3G foi semelhante ao comportamento do CTA. Ou seja, as amostras irradiadas com 3 kGy (tempo 0) apresentaram os maiores valores, ocorrendo uma redução significativa no conteúdo de C3G para todas as amostras ($p < 0,05$) conforme o aumento da temperatura e do armazenamento. A amostra controle (0 kGy) apresentou a maior redução de C3G (10% e 11,54% para as temperaturas de 35 e 45 °C, respectivamente).

Rodríguez-Pérez *et al.* (2015) avaliaram o tempo de prateleira de xarope de cereja irradiado (5 kGy) e armazenado (6 meses, 25 °C), houve um aumento significativo no conteúdo de proantocianidinas após a irradiação. Os autores concluíram que os compostos eram altamente resistentes à irradiação gama após um mês de armazenamento à temperatura ambiente. Tiwari *et al.* (2009) relataram que os efeitos da irradiação nas antocianinas podem ser diferentes para cada fonte botânica, e que os diglicosídeos são estáveis em relação às doses de irradiação quando comparados aos monoglicosídeos.

4.3.2 Efeitos da Radiação Gama na Cinética de Degradação Térmica do Conteúdo Total de Antocianinas (CTA)

Conforme Bolea *et al.* (2016) os modelos cinéticos são frequentemente utilizados para uma avaliação rápida e econômica para segurança de alimentos. No presente estudo, a degradação do CTA (Figura 4.2) foi ajustada de acordo com o modelo cinético de primeira ordem, mostrando uma degradação linear em relação ao tempo. Estes resultados estão de acordo com trabalhos que fizeram uso do modelo cinético de primeira ordem para ajustar a degradação térmica de fitoquímicos em arroz negro (HOU *et al.*, 2013; BOLEA *et al.* 2016; LOYPIMAI; MOONGNGARM; CHOTTANOM, 2016). As constantes de velocidade da reação de primeira ordem (k) da farinha de arroz negro estão na Tabela 4.2.

Figura 4.2 – Degradação térmica do conteúdo total de antocianinas (CTA) da farinha de arroz negro durante o armazenamento.



Nota: Temperaturas: ■4, ▲25, ●35 e ◆45 °C; As linhas tracejadas representam o comportamento previsto pelo modelo cinético da pseudo-primeira ordem.

A constante da reação cinética (k) é um indicador que prediz a degradação térmica das antocianinas em produtos alimentícios, um valor baixo significa ser melhor para a estabilidade das antocianinas (LOYPIMAI; MOONGNGARM; CHOTTANOM, 2016). Os valores de k mostraram que a estabilidade térmica do CTA diminuíram com o aumento das temperaturas (especialmente a 35 e 45 °C) e que o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) para as amostras irradiadas foram maiores, indicando que a degradação ocorre em maiores temperaturas de armazenamento. No entanto, o uso de irradiação gama no arroz negro ajudou a preservar as antocianinas.

A influência da temperatura na energia de ativação (E_a), ajustada pela equação de Arrhenius, é comumente usada para energia necessária a fim de atingir o estado de transição de uma reação (KIRCA; ÖZKAN; CEMEROĞLU, 2007). Assim como foi observado para os valores de k e o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$), o maior valor para E_a também foi encontrado na dose de 1 kGy (7,9725 kJ mol⁻¹). Segundo Zhou *et al.* (2017) um maior valor de E_a indica que a reação de degradação das antocianinas está mais suscetível para o aumento de temperatura.

Tabela 4.2 – Parâmetros da cinética de degradação e energia de ativação (E_a) do conteúdo total de antocianinas (CTA) da farinha de arroz negro, nas temperaturas de 4, 25, 35 e 45 °C, durante o armazenamento de 120 dias.

Doses	Temperatura (°C)	k (dias ⁻¹)	$t_{1/2}$ (dias)	R^2	E_a (kJ mol ⁻¹)
0 kGy	4	0,0012	582,97	0,9299	7,6330
	25	0,0013	528,31	0,7391	
	35	0,0017	415,56	0,7870	
	45	0,0018	385,72	0,8186	
1 kGy	4	0,0009	761,70	0,8788	7,9725
	25	0,0009	787,67	0,9483	
	35	0,0009	734,27	0,6711	
	45	0,0016	430,53	0,8449	
2 kGy	4	0,0011	616,68	0,9157	6,2285
	25	0,0010	703,70	0,8474	
	35	0,0012	579,55	0,6785	
	45	0,0017	405,11	0,8224	
3 kGy	4	0,0011	656,39	0,9164	5,305
	25	0,0009	749,35	0,8649	
	35	0,0013	527,11	0,7839	
	45	0,0014	497,24	0,7805	

Para verificar se os modelos cinéticos desenvolvidos foram termodinamicamente possíveis, realizou-se a estimativa da entalpia de ativação ($\Delta H^\#$), da energia livre de Gibbs

($\Delta G^\#$) e da entropia de ativação ($\Delta S^\#$) (Tabela 3). $\Delta H^\#$ representa a diferença de energia entre o reagente e o complexo ativado (ZHOU *et al.*, 2017). No presente estudo, os valores de $\Delta H^\#$ foram positivos e variaram de 2,66 a 5,67 kJ mol⁻¹, o que revelou que a degradação da antocianina mostrou reação endotérmica (QIU *et al.*, 2018). A energia livre de Gibbs ($\Delta G^\#$) é o parâmetro importante para medir a espontaneidade da reação química (KIRCA; ÖZKAN; CEMEROĞLU, 2007), valores positivos de $\Delta G^\#$ (de 83,23 a 95,48 kJ mol⁻¹) significam que a degradação da antocianina é uma reação não espontânea. A entropia de ativação ($\Delta S^\#$) mensura a variação de desordem das moléculas no sistema (KIRCA; ÖZKAN; CEMEROĞLU, 2007). Todos os valores negativos de $\Delta S^\#$ (de -281,91 a -293,51 J mol⁻¹ K⁻¹) encontrados mostraram uma menor liberdade estrutural do que os reagentes, o que confirma que este é um processo irreversível. O mesmo comportamento foi relatado por Turturică *et al.*, (2016).

Tabela 4.3 - Parâmetros termodinâmicos do conteúdo total de antocianinas (CTA) da farinha de arroz negro armazenada em temperaturas de 4, 25, 35 e 45 °C durante 120 dias.

Parâmetros	Doses (kGy)	Temperaturas			
		4(°C)	25(°C)	35(°C)	45(°C)
$\Delta H^\#$ (kJ mol ⁻¹)	0	5,33	5,15	5,07	4,99
	1	5,67	5,49	5,41	5,33
	2	3,91	3,74	3,66	3,57
	3	3,00	2,83	2,74	2,66
$\Delta G^\#$ (kJ mol ⁻¹)	0	83,23	89,47	91,94	94,81
	1	83,84	90,46	93,40	95,10
	2	83,36	90,18	92,79	94,94
	3	83,50	90,34	92,55	95,48
$\Delta S^\#$ (J mol ⁻¹ K ⁻¹)	0	-281,07	-282,80	-281,91	-282,33
	1	-282,07	-284,98	-285,54	-282,18
	2	-286,64	-289,92	-289,26	-287,18
	3	-290,45	-293,51	-291,44	-291,76

Nota: entalpia de ativação - $\Delta H^\#$; energia livre de Gibbs - $\Delta G^\#$; entropia de ativação - $\Delta S^\#$.

A estabilidade dos pigmentos de antocianina é influenciada por vários fatores, como tratamento térmico, temperatura de armazenamento, luz, pH, estrutura química, oxigênio, solventes, presença de enzimas, proteínas, flavonóides e íons metálicos (LOYPIMAI; MOONGNGARM; CHOTTANOM, 2016), também está relacionada à sua estrutura e capacidade de copigmentação. Fontes alimentares com alto teor de antocianinas contêm diferentes compostos que atuam como copolímeros para a associação intermolecular com as antocianinas (HOU *et al.*, 2013). Hiemori; Koh; Mitchell (2009) sugerem que a estabilidade

das antocianinas aumenta com um maior número de grupo metoxil no anel B, e diminui com um maior número de grupos hidroxila livres no anel B.

4.3.3 Efeitos da Radiação Gama na Estabilidade dos Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante

A Tabela 4.4 apresenta o total de flavonóides (TF), compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante *in vitro*, pelos métodos de ABTS e FRAP, os quais apresentaram diferentes comportamentos em relação à irradiação e as temperaturas de armazenamento.

Tabela 4.4 - Efeitos da radiação gama no conteúdo de flavonóides totais (FT), compostos fenólicos totais (CFT) e atividade antioxidante, nas temperaturas de 4, 25, 35 e 45 °C, no início (t_0) e final do armazenamento (t_f) da farinha de arroz negro.

Parâmetros	Doses (kGy)	t_0 (0 dias)		t_f (120 dias)		
		-	4(°C)	25(°C)	35(°C)	45(°C)
FT (mgQE.g ⁻¹)	0	0,60 ^{Ba} ±0,03	0,44 ^{Bb} ±0,01	0,49 ^{Bb} ±0,02	0,62 ^{Aa} ±0,04	0,57 ^{Ca} ±0,03
	1	0,62 ^{Ba} ±0,02	0,48 ^{ABc} ±0,02	0,52 ^{ABb} ±0,03	0,62 ^{Aa} ±0,01	0,61 ^{Ba} ±0,01
	2	0,65 ^{Aa} ±0,01	0,48 ^{ABc} ±0,04	0,53 ^{ABb} ±0,03	0,63 ^{Aa} ±0,03	0,62 ^{ABa} ±0,03
	3	0,65 ^{Aa} ±0,02	0,49 ^{Ac} ±0,02	0,56 ^{Ab} ±0,03	0,65 ^{Aa} ±0,02	0,63 ^{Aa} ±0,02
CFT (mgGAE.g ⁻¹)	0	4,24 ^{Aa} ±0,01	2,14 ^{Dc} ±0,02	2,27 ^{Cb} ±0,03	2,10 ^{Dc} ±0,03	1,84 ^{Dd} ±0,03
	1	4,24 ^{Aa} ±0,02	2,89 ^{Ab} ±0,02	2,80 ^{Ac} ±0,02	2,41 ^{Bd} ±0,02	2,09 ^{Ce} ±0,02
	2	4,16 ^{Ba} ±0,04	2,39 ^{Cc} ±0,03	2,77 ^{Bb} ±0,02	2,18 ^{Cd} ±0,03	2,18 ^{Bd} ±0,04
	3	4,24 ^{Aa} ±0,02	2,75 ^{Bbc} ±0,02	2,77 ^{Bb} ±0,01	2,72 ^{Ac} ±0,02	2,58 ^{Ad} ±0,03
ABTS (µmolTE.g ⁻¹)	0	96,61 ^{Da} ±0,06	73,03 ^{De} ±0,02	74,58 ^{Dc} ±0,03	75,39 ^{Cb} ±0,03	73,59 ^{Cd} ±0,02
	1	92,65 ^{Ca} ±0,03	74,31 ^{Bc} ±0,01	75,49 ^{Cb} ±0,04	70,32 ^{De} ±0,03	73,47 ^{Dd} ±0,03
	2	95,38 ^{Ba} ±0,03	78,82 ^{Ad} ±0,02	81,55 ^{Ac} ±0,01	84,32 ^{Ab} ±0,02	76,95 ^{Be} ±0,03
	3	99,59 ^{Aa} ±0,04	74,21 ^{Ce} ±0,03	77,33 ^{Bd} ±0,03	79,68 ^{Bc} ±0,03	85,06 ^{Ab} ±0,02
FRAP (µmolTE.g ⁻¹)	0	89,68 ^{Da} ±0,02	51,03 ^{Dc} ±0,02	56,30 ^{Db} ±0,03	49,18 ^{Dd} ±0,01	48,78 ^{De} ±0,02
	1	90,50 ^{Ca} ±0,04	56,10 ^{Cc} ±0,02	56,88 ^{Cb} ±0,03	53,68 ^{Cd} ±0,03	51,99 ^{Ce} ±0,01
	2	98,91 ^{Ba} ±0,02	63,17 ^{Bb} ±0,03	63,13 ^{Bc} ±0,03	59,30 ^{Bd} ±0,03	56,18 ^{Be} ±0,03
	3	110,32 ^{Aa} ±0,03	71,92 ^{Ab} ±0,03	71,93 ^{Ab} ±0,01	67,89 ^{Ac} ±0,02	66,62 ^{Ad} ±0,03

Nota - Os resultados são expressos como média ± desvio padrão; Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as doses; Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre as temperaturas e o tempo. As diferenças significativas a um nível de 5% foram realizadas pelo teste de Duncan.

Em relação ao conteúdo de FT, observou-se que as amostras irradiadas apresentaram valores maiores ($p < 0,05$) quando comparados à amostra controle (0 kGy). Houve uma diminuição dos valores para todas as amostras, nas temperaturas de 4 e 25 °C, ao final do armazenamento (120 dias). Nas temperaturas de 35 e 45 °C, o conteúdo de FT apresentou comportamento distinto dos demais compostos, pois não houve diferença significativa de perda durante o armazenamento.

No caso dos CFT, os resultados para a amostra controle (0 kGy - 0 dia) foram semelhantes aos encontrados por Chen *et al.* (2012). A radiação gama não influenciou os CFT. Porém, durante o período de armazenamento houve uma redução significativa ($p < 0,05$) para todas as amostras. A amostra controle (0 kGy) apresentou a maior redução (56,7%) na temperatura de 45 °C. A amostra irradiada com 1 kGy permaneceu mais estável durante o período de armazenamento a 4 °C, com uma redução de 31,8%.

Behgar *et al.* (2011) sugerem que as alterações dos efeitos da radiação gama nos CFT podem ser devido a uma maior capacidade de extração desses compostos em produtos irradiados. A irradiação é capaz de romper as ligações químicas dos compostos bioativos, liberando compostos fenólicos solúveis de baixo peso molecular e aumentando esses compostos com potencial antioxidante (ADAMO *et al.*, 2004).

O efeito da irradiação e da temperatura de armazenamento também foi observado em relação à atividade antioxidante *in vitro* (ABTS e FRAP), com perdas graduais durante o armazenamento ($p < 0,05$) em todas as amostras. Para o método de ABTS, a dose de 1 kGy apresentou o nível mais baixo no tempo 0, bem como a maior degradação a 35 °C, cerca de 24,11%. Para o método de FRAP, a amostra de controle (0 kGy) apresentou a maior redução, 45,6% na temperatura de 45 °C.

Variedades de arroz negro contêm diferentes quantidades de antocianinas, assim como diferentes proporções e tipos de polifenóis (CHEN *et al.*, 2012), sendo assim, exibem diferentes atividades antioxidantes (HAO *et al.*, 2015). Zhang *et al.* (2010) relataram que a atividade antioxidante total do farelo de arroz negro foi significativamente correlacionada ao conteúdo de compostos fenólicos totais ($r = 0,9810$, $p < 0,05$), flavonoides totais ($r = 0,8281$, $p < 0,05$) e antocianinas ($r = 0,5763$, $p < 0,05$). O coeficiente de correlação de Pearson é usado para expressar a força entre duas variáveis contínuas que são relacionadas umas com as outras. Além de ser estatisticamente significativo, o coeficiente de correlação apenas mostra uma tendência de como as variáveis de respostas estão associadas.

No presente estudo, a atividade antioxidante medida pelo método de ABTS foi positivamente correlacionada ($p < 0,05$) com o CTA ($r = 0,99$). Yao *et al.* (2010) também encontraram uma correlação positiva entre a atividade antioxidante e o teor total de antocianinas. A atividade antioxidante medida pelo método de FRAP foi positivamente correlacionada ($p < 0,05$) com o CTA ($r = 0,97$) e CFT ($r = 0,98$). Segundo Shao *et al.* (2013), a atividade antioxidante tende a mostrar uma correlação altamente positiva com compostos fenólicos. Houve correlações significativas ($p < 0,05$) entre o conteúdo de cianidina-3-glicosídeo (C3G) e CTA ($r = 0,99$), CFT ($r = 0,97$) e FT ($r = 0,98$).

Tendo em vista aos resultados apresentados, pode-se dizer que a irradiação é influenciada por diversos aspectos, como a escolha de solventes na extração, dose de radiação, processos tecnológicos, bem como a natureza específica de cada produto (ITO *et al.*, 2016).

4.4 CONCLUSÃO

No tempo 0, a dose de 3 kGy apresentou maior teor de compostos bioativos, exceto para os compostos fenólicos totais. Em relação às temperaturas de armazenamento durante 120 dias, ocorreram perdas gradativas em todos os parâmetros analisados. Para o conteúdo total de antocianinas e compostos fenólicos totais, a amostra irradiada com 1 kGy permaneceu mais estável durante as temperaturas de armazenamento; especialmente a 4 °C.

A cinética de degradação indicou uma reação de primeira ordem para o conteúdo total de antocianinas. Os valores de *k* mostraram que a estabilidade térmica das antocianinas diminuiu com o aumento da temperatura, especialmente de 35 para 45 °C. Em todas as temperaturas, o tempo de meia vida foi maior para as amostras irradiadas. Os resultados mostraram que a combinação de irradiação com diferentes temperaturas pode aumentar o prazo de validade da farinha de arroz negro.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-AAL, E.-S. M.; YOUNG, J. C.; RABALSKI, I. Anthocyanin Composition in Black, Blue, Pink, Purple, and Red Cereal Grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 13, p. 4696-4704, 2006.
- ADAMO, M.; CAPITANI, D.; MANNINA, L.; CRISTINZIO, M.; RAGNI, P.; TATA, A.; COPPOLA, R. Truffles decontamination treatment by ionizing radiation. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 71, p. 167-170, 2004.
- BEHGAR, M.; GHASEMI, S.; NASERIAN, A.; BORZOIE, A.; FATOLLAHI, H. Gamma radiation effects on phenolics, antioxidants activity and in vitro digestion of pistachio (*Pistachia vera*) hull. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 80, n. 9, p. 963-967, 2011.
- BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70 - 76, 1996.
- BOLEA, C.; TURTURICĂ, M.; STĂNCIUC, N.; VIZIREANU, C. Thermal degradation kinetics of bioactive compounds from black rice flour (*Oryza sativa* L.) extracts. **Journal of Cereal Science**, v. 71, p. 160-166, 2016.

CHEN, X. Q.; NAGAO, N.; ITANI, T.; IRIFUNE, K. Anti-oxidative analysis, and identification and quantification of anthocyanin pigments in different coloured rice. **Food Chemistry**, v. 135, n. 4, p. 2783-2788, 2012.

DIXIT, A. K.; BHATNAGAR, D.; KUMAR, V.; RANI, A.; MANJAYA, J. G.; BHATNAGAR, D. Gamma irradiation induced enhancement in isoflavones, total phenol, anthocyanin and antioxidant properties of varying seed coat colored soybean. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 7, p. 4298-4302, 2010.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In: (Ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**: John Wiley & Sons, Inc., 2001. ISBN 9780471142911.

HAO, J.; ZHU, H.; ZHANG, Z.; YANG, S.; LI, H. Identification of anthocyanins in black rice (*Oryza sativa* L.) by UPLC/Q-TOF-MS and their in vitro and in vivo antioxidant activities. **Journal of Cereal Science**, v. 64, p. 92-99, 2015.

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

HOU, Z.; QIN, P.; ZHANG, Y.; CUI, S.; REN, G. Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa* L.) and their degradation kinetics. **Food Research International**, v. 50, n. 2, p. 691-697, 2013.

ITO, V. C.; BET, C. D.; WOJEICCHOWSKI, J. P.; DEMIATE, I. M.; SPOTO, M. H. F.; SCHNITZLER, E.; LACERDA, L. G. Effects of gamma radiation on the thermoanalytical, structural and pasting properties of black rice (*Oryza sativa* L.) flour. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 133, p. 529-537, 2018.

ITO, V. C.; FERREIRA ZIELINSKI, A. A.; AVILA, S.; SPOTO, M.; NOGUEIRA, A.; SCHNITZLER, E.; LACERDA, L. G. Effects of gamma radiation on physicochemical, thermogravimetric, microstructural and microbiological properties during storage of apple pomace flour. **LWT - Food Science and Technology**, v. 78, p. 105-113, 2017.

ITO, V. C.; ALBERTI, A.; AVILA, S.; SPOTO, M.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Effects of gamma radiation on the phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of apple pomace flour during storage using multivariate statistical techniques. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 33, p. 251-259, 2016.

KHAN, A. A.; GANI, A.; SHAH, A.; MASOODI, F. A.; HUSSAIN, P. R.; WANI, I. A.; KHANDAY, F. A. Effect of γ -irradiation on structural, functional and antioxidant properties of β -glucan extracted from button mushroom (*Agaricus bisporus*). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 31, n. Supplement C, p. 123-130, 2015.

KIRCA, A.; ÖZKAN, M.; CEMEROĞLU, B. Effects of temperature, solid content and pH on the stability of black carrot anthocyanins. **Food Chemistry**, v. 101, n. 1, p. 212-218, 2007.

LABUZA, T. P. Enthalpy/entropy compensation in food reactions. **Food Technology**, v. 34, n. 2, p. 67 - 77, 1980.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **hortScience**, v. 7, p. 83-84, 1972.

LOYPIMAI, P.; MOONGNGARM, A.; CHOTTANOM, P. Thermal and pH degradation kinetics of anthocyanins in natural food colorant prepared from black rice bran. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 461-470, 2016.

MARTYNENKO, A.; CHEN, Y. Degradation kinetics of total anthocyanins and formation of polymeric color in blueberry hydrothermodynamic (HTD) processing. **Journal of Food Engineering**, v. 171, p. 44-51, 2016.

NORKAEW, O.; BOONTAKHAM, P.; DUMRI, K.; NOENPLAB, A. N. L.; SOOKWONG, P.; MAHATHEERANONT, S. Effect of post-harvest treatment on bioactive phytochemicals of Thai black rice. **Food Chemistry**, v. 217, p. 98-105, 2017.

PATRAS, A.; BRUNTON, N. P.; O'DONNELL, C.; TIWARI, B. K. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends in Food Science & Technology**, v. 21, n. 1, p. 3-11, 2010.

PEDRO, A. C.; GRANATO, D.; ROSSO, N. D. Extraction of anthocyanins and polyphenols from black rice (*Oryza sativa* L.) by modeling and assessing their reversibility and stability. **Food Chemistry**, v. 191, p. 12-20, 2016.

QIU, G.; WANG, D.; SONG, X.; DENG, Y.; ZHAO, Y. Degradation kinetics and antioxidant capacity of anthocyanins in air-impingement jet dried purple potato slices. **Food Research International**, v. 105, p. 125-128, 2018.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9, p. 1231-1237, 1999.

RODRÍGUEZ-PÉREZ, C.; QUIRANTES-PINÉ, R.; CONTRERAS, M. D. M.; UBEROS, J.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. Assessment of the stability of proanthocyanidins and other phenolic compounds in cranberry syrup after gamma-irradiation treatment and during storage. **Food Chemistry**, v. 174, n. 0, p. 392-399, 2015.

SHAO, Y.; TANG, F.; XU, F.; WANG, Y.; BAO, J. Effects of γ -irradiation on phenolics content, antioxidant activity and physicochemical properties of whole grainrice. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 85, p. 227-233, 2013.

SHAO, Y.; XU, F.; SUN, X.; BAO, J.; BETA, T. Phenolic acids, anthocyanins, and antioxidant capacity in rice (*Oryza sativa* L.) grains at four stages of development after flowering. **Food Chemistry**, v. 143, p. 90-96, 2014.

SINGLETON, V.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144 - 158, 1965.

TIWARI, B. K.; O'DONNELL, C. P.; CULLEN, P. J. Effect of non thermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 3-4, p. 137-145, 2009.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Anthocyanin stability and antioxidant activity of spray-dried açai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice produced with different carrier agents. **Food Research International**, v. 43, n. 3, p. 907-914, 2010.

TURTURICĂ, M.; STĂNCIUC, N.; BAHRIM, G.; RÂPEANU, G. Investigations on sweet cherry phenolic degradation during thermal treatment based on fluorescence spectroscopy and inactivation kinetics. **Food and Bioprocess Technology**, v. 9, n. 10, p. 1706-1715, 2016.

WALTER, M.; MARCHESAN, E. Phenolic compounds and antioxidant activity of rice. **Brazilian Archives Biology Technology**, v. 54, p. 371-377, 2011.

YAO, Y.; SANG, W.; ZHOU, M.; REN, G. Antioxidant and α -glucosidase inhibitory activity of colored grains in China. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 2, p. 770-774, 2010.

ZHANG, M. W.; ZHANG, R. F.; ZHANG, F. X.; LIU, R. H. Phenolic profiles and antioxidant activity of black rice bran of different commercially available varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 13, p. 7580-7587, 2010.

ZHOU, M.; CHEN, Q.; BI, J.; WANG, Y.; WU, X. Degradation kinetics of cyanidin 3-O-glucoside and cyanidin 3-O-rutinoside during hot air and vacuum drying in mulberry (*Morus alba* L.) fruit: A comparative study based on solid food system. **Food Chemistry**, v. 229, n. Supplement C, p. 574-579, 2017.

CAPÍTULO V

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NO ARMAZENAMENTO DA FARINHA DE ARROZ NEGRO: FRAÇÕES FENÓLICAS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS

O conteúdo deste capítulo foi aceito para publicação na revista Carpathian Journal of Science and Technology

EFEITOS DA RADIAÇÃO GAMA NO ARMAZENAMENTO DA FARINHA DE ARROZ NEGRO: FRAÇÕES FENÓLICAS, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE, PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E MICROBIOLÓGICAS

RESUMO

O arroz negro classifica-se como um alimento funcional, pois apresenta quantidades significativas de compostos bioativos. Neste trabalho, avaliaram-se os efeitos da radiação gama (doses de 0, 1, 2 e 3 kGy) sobre a atividade antioxidante dos compostos fenólicos livres, ligadas e totais, propriedades físico-químicas e microbiológicas da farinha de arroz negro durante o armazenamento de 120 dias. Uma abordagem quimiométrica permitiu observar os efeitos da irradiação e o tempo de armazenamento das amostras. Quanto aos compostos bioativos, com exceção das frações fenólicas ligadas, a dose de 3 kGy apresentou os maiores valores, no tempo 0. Durante o armazenamento de 120 dias, ocorreram perdas gradativas em todos os parâmetros analisados. Quanto ao atributo de cor, a irradiação modificou ligeiramente todos os parâmetros. Para análise microbiológica, não houve crescimento de microrganismos durante o armazenamento.

Palavras-chaves: Arroz pigmentado; Compostos bioativos; Irradiação; Quimiometria.

ABSTRACT

Black rice has been categorised as a functional food because it contains significant amounts of bioactive compounds. The effects of gamma radiation (at 0, 1, 2 and 3 kGy doses) on the antioxidant activity of free and bound total phenolics, physicochemical and microbiological properties of black rice flour samples during storage were evaluated. A chemometric approach made it possible to observe the effects of irradiation and storage time on the samples. Regarding bioactive compounds, with the exception of the bound phenolic fractions the 3 kGy dose showed the highest values at time 0. At 120 days there was a decrease in these levels for all the samples. Regarding the attribute of colour, the irradiation slightly modified all the parameters; in terms of microbiological analysis there was no growth of microorganisms at the end of storage.

Keywords: Bioactive compounds; Irradiation; Chemometric; Pigmented rice.

5.1 INTRODUÇÃO

As variedades de arroz pigmentado são fontes de proantocianidinas, antocianinas e flavonóides, além de tocoferóis e vitaminas (HAO *et al.*, 2015; RODRÍGUEZ-PÉREZ *et al.*, 2015). O arroz apresenta quantidades superiores de ácidos fenólicos, quando comparados aos demais cereais (TI *et al.*, 2014). Em particular, o arroz negro contém antocianinas e ácidos fenólicos, que são categorizados como ácidos fenólicos livres e ligados.

Segundo Shao *et al.* (2018), os ácidos fenólicos livres, como o protocatecuico, cinâmico e gálico, são absorvidos no estômago e no intestino delgado para distribuição ao corpo, concomitantemente trazendo benefícios a saúde, como a inibição da oxidação de lipoproteínas de baixa densidade e lipossomas (MIN *et al.*, 2012). Os ácidos fenólicos ligados ou insolúveis, como o ferúlico, cumárico e cafeico, são ligados covalentemente a componentes estruturais de células como celulose, hemicelulose, lignina, pectina e proteínas estruturais (DUYI; BARAN; CHANDRA, 2017), que estão acessíveis no intestino após a digestão através da ação de enzimas (SAURA-CALIXTO; SERRANO; GOÑI, 2007). Estes compostos bioativos, presentes em diferentes quantidades nas variedades de arroz, estão associados à redução dos riscos de desenvolvimento de diversas doenças crônicas, como diabetes, doenças cardiovasculares e câncer (HAO *et al.*, 2015).

Além de prolongar a vida útil dos alimentos, a radiação gama é amplamente reconhecida por suas diversas aplicações na indústria alimentícia (KUMAR *et al.*, 2017). Entender os efeitos da irradiação, usando a quimiometria, pode fornecer importantes informações sobre os compostos bioativos presentes nas diversas variedades de arroz. Portanto, o objetivo desta pesquisa foi investigar os efeitos da radiação gama durante o armazenamento da farinha de arroz negro, nas frações fenólicas livres, ligadas e totais, atividade antioxidante, propriedades físico-químicas e microbiológicas, usando análise multivariada.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Reagentes

DPPH (2,2- difenil-2-picrilhidrazil), Trolox (6 -hidroxi - 2,5,7,8 -tetrametilcromano - 2-carboxílico), reagente de Folin-Ciocalteu, cianidina-3-glucosídeo, ácido gálico, quercetina, foram

adquiridos da Sigma-Aldrich (EUA). Metanol, acetonitrila e ácido acético foram de grau CLAE, enquanto que os outros reagentes utilizados no experimento foram de grau analítico. As soluções aquosas foram preparadas com água ultra pura (Milli-Q).

5.2.2 Preparação e Irradiação da Amostra

O arroz negro biodinâmico utilizado nos experimentos foi adquirido no mercado municipal de Curitiba, Paraná, Brasil. A metodologia para a preparação da farinha de arroz negro e o processo de irradiação foi conforme Ito *et al.* (2018). A farinha foi separada e embalada a vácuo, com 200 gramas em cada embalagem, em pequenos sacos de poliéster, não tóxicos, com vedação hermética e proteção contra a luz. As farinhas foram então irradiadas com doses de 0, 1, 2 e 3 kGy.

Para compreender o efeito da radiação gama durante o armazenamento da farinha de arroz negro, foram avaliadas quatro doses (0, 1, 2 e 3 kGy) em dois períodos de armazenamento (0 e 120 dias). Após a irradiação, todas as amostras foram mantidas a 25 ± 2 °C e analisadas (primeiro período). As análises foram realizadas em triplicata no início e final da pesquisa.

5.2.3 Extração dos Compostos Fenólicos Livres e Ligadas

Os compostos fenólicos livres foram extraídos de acordo com o método proposto por Sumczynski *et al.* (2016), com pequenas modificações. Resumidamente, 0,5 g de farinha de arroz negro foram extraídas duas vezes com 8 mL de solução de metanol e HCl (1 mol L^{-1}) (80:20, v v⁻¹), em equipamento de ultrassom (47 kHz, 130 W, Ultrasonic Cleaners, Vernon Hills, EUA) equipado com um controlador de tempo digital a 35 °C por 1 h. Os sobrenadantes foram combinados após centrifugação a 5000 *g* (HIMAC CR-GII, Hitachi, Ibaraki, Japão) durante 30 min, em 25 ± 2 °C, o pH foi ajustado para 4,5–5,5 com uma solução de HCl 6 mol L^{-1} .

Para extração dos compostos fenólicos ligadas, os resíduos obtidos acima foram novamente lavados com 20 mL de água destilada. Depois de remover a água, com auxílio de um papel filtro, as amostras foram misturadas, duas vezes, com 20 mL de NaOH 4 M, durante 2 h, em equipamento de ultrassom. A mistura foi então ajustada para pH entre 4,5-5,5. Após centrifugação a 5000 *g* durante 30 min, o sobrenadante foi utilizado como extrato fenólico ligado (SUMCZYNSKI *et al.*, 2016).

5.2.4 Determinação dos Compostos Fenólicos

As frações fenólicas livres e ligadas foram determinadas por análise colorimétrica utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, conforme descrito por Singleton e Rossi (1965), com modificações. A absorbância foi registrada a um comprimento de onda de 720 nm, após uma hora de reação e as medições foram realizadas utilizando um leitor de microplacas (Epoch, Synergy-BioTek, Winooski, VT, EUA). O conteúdo fenólico total (CFT) foi calculado como a soma dos fenóis livres e ligadas. Os valores de absorbância da amostra foram comparados com uma curva de calibração do ácido gálico (GA) e os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por grama de farinha de arroz negro (mg GAE g^{-1}).

O conteúdo total de antocianinas (CTA) foi determinado de acordo com o método espectrofotométrico de pH diferencial (GIUSTI e WROLSTAD, 2001), conforme descrito nas seções 2.4 e 2.5 do capítulo IV. O CTA foi expresso em mg de equivalente de cianidina-3-glucosídeo (C3G) por g de farinha de arroz negro. Os extratos também foram submetidos à análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), conforme descrito na seção 2.6 do capítulo IV. Os flavonóides totais (FT) foram quantificados por espectrofotometria UV-Vis (Shimadzu UV-1800) a 374 nm, conforme descrito na seção 2.8 do capítulo IV. O conteúdo total de flavonóides foi expresso em mg de equivalentes de quercetina (QE) por g de farinha de arroz negro.

5.2.5 Atividade Antioxidante *in vitro*

A habilidade na eliminação dos radicais livres pelo método de descoloração do radical cátion ABTS, foi determinada pelo método descrito por Re *et al.* (1999), com modificações. A absorbância foi registrada a um comprimento de onda de 734 nm após a solução ficar em repouso no escuro durante 30 min. Os resultados foram comparados com uma curva padrão (Trolox 100-1000 $\mu\text{mol L}^{-1}$) e expressos em μmol Trolox equivalente por g de farinha de arroz negro ($\mu\text{mol TE g}^{-1}$).

A atividade antioxidante por DPPH (1,1- difenil-2-picrilhidrazil) consiste em determinar a capacidade de doar hidrogênio das moléculas e não produzir reações de oxidação em cadeia ou reagir com radicais livres intermediários. Foi determinado de acordo com o método de Brand Williams *et al.* (1995), com pequenas modificações. A absorbância foi registrada a um

comprimento de onda de 517 nm após a solução ter sido deixada em repouso no escuro durante 30 min. Uma curva padrão (DPPH = 0,001 × absorbância; $R^2 = 0,995$; $p < 0,001$) foi plotada usando diferentes concentrações de trolox (0,1 - 300 $\mu\text{mol L}^{-1}$). Os resultados foram expressos em equivalentes de $\mu\text{mol trolox por grama de amostra}$ ($\mu\text{mol TE g}^{-1}$).

5.2.6 Análises Físico-Químicas

Os parâmetros de cor da farinha de arroz negro foram determinados em colorímetro HunterLab MiniScan EZ (Reston, VA, EUA), com iluminante D65 e ângulo de observação de 10°. O equipamento foi calibrado utilizando placas padrão nas cores preto e branco (X: 82,30; Y: 87,38; Z: 93,37). Os parâmetros de cor foram avaliados de acordo com o sistema CIE $L^*a^*b^*$: L^* (luminosidade), a^* (intensidade de cor vermelha – índice de verde a vermelho) e b^* (intensidade de cor amarela – índice de azul a amarelo). A partir dos resultados de L^* , a^* e b^* , foram cálculos os índices de saturação - Croma (C^*) $C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$, tonalidade – ângulo Hue (h°) $h^\circ = \tan^{-1}(b^*/a^*)$, conforme descrito por Ito *et al.* (2016).

A umidade foi determinada gravimetricamente em estufa de ar a 105 °C (AOAC 935.29). A atividade de água (A_w) foi medida com um medidor digital A_w (Decagon/Aqualab®, EUA).

5.2.7 Análises Microbiológicas

A fim de avaliar a qualidade microbiológica da farinha de arroz negro, foram realizadas as seguintes análises: *Bacillus cereus*, coliformes termotolerantes e *Salmonella* sp, as quais estão previstas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, da Resolução da Diretoria Colegiada nº 12 – RDC 12 (BRASIL, 2001). Neste estudo, as amostras foram inseridas no grupo de alimentos "Farinha, massas e produtos de padaria (industrializados e embalados) e similares", com tolerância máxima para uma amostra indicativa de 3×10^3 NMP g^{-1} ou CFU g^{-1} de *Bacillus cereus*, 10^2 NMP g^{-1} ou CFU g^{-1} de coliformes termotolerantes e ausência de *Salmonella* sp em 25 gramas.

5.2.8 Análise Estatística

Os dados experimentais foram apresentados como a média $\pm$ desvio padrão. As análises foram realizadas utilizando o software STATISTICA v.13.3 (TIBCO Software Inc., Palo Alto, CA, EUA). Análise de variância *one-way* ANOVA foi utilizada para estudar os efeitos da radiação gama nos compostos bioativos, atividade antioxidante e parâmetros de cor. Os testes de Duncan foram conduzidos para determinar as diferenças entre as médias a um nível de confiança de 95% ($p < 0,05$). A análise de correlação de Pearson (r) foi aplicada entre as diferentes variáveis de resposta para avaliar a força da correlação entre as respostas.

Uma abordagem quimiométrica composta por análise de componentes principais (PCA) e análise de agrupamento hierárquico (HCA), foi utilizada para as análises. Todos os resultados foram previamente autoescalados para padronizar a importância estatística de todas as variáveis. Em seguida, uma matriz de amostras ($n = 24$) e variáveis de resposta ($n = 17$) foi construída, as amostras como linhas e variáveis como colunas, totalizando 408 pontos de dados.

A análise de componentes principais (PCA) foi utilizada para analisar as inter-relações entre os parâmetros. Os resultados obtidos foram adaptados como colunas e as amostras como linha. Foram adotados valores próprios superiores a 1,0 para explicar a projeção das amostras no gráfico e análise bidimensional foi baseada em correlações lineares. Para a HCA, as similaridades das amostras e das variáveis foram calculadas com base na distância euclidiana e o método hierárquico aglomerativo Ward foi usado para agrupar as amostras (ITO *et al.*, 2016). A fim de comparar os resultados entre os grupos formados, o teste de Levene foi realizado para verificar a homogeneidade das variâncias, enquanto a *one-way* ANOVA e o teste de médias de Fisher foram então aplicados para identificar diferenças entre os grupos. Para as variáveis que apresentaram dados não paramétricos ($p < 0,05$), foi utilizada a comparação múltipla de Kruskal-Wallis (ZIELINSKI *et al.*, 2014).

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Efeitos da Radiação Gama nas Frações Fenólicas e Atividade Antioxidante

Os resultados obtidos para compostos fenólicos (CF) e atividade antioxidante referente às frações fenólicas livres, ligadas e totais da farinha de arroz negro estão na Tabela 5.1. Analisando os valores dos compostos fenólicos e atividade antioxidante (ABTS e DPPH) da fração fenólica livre, observou-se que a amostra com dose de 3 kGy apresentou os maiores valores, porém, durante o armazenamento de 120 dias ocorreu uma diminuição para todas as amostras ($p < 0,05$).

Este aumento dos CF e atividade antioxidante da fração fenólica livre das amostras irradiadas podem ser atribuídos ao desenvolvimento de novas duplas ligações devido à degradação da radiação, o que reduziu a reatividade dos radicais livres (KUMAR *et al.*, 2017). Outra explicação é que a irradiação gama pode modificar, bem como, ativar algumas enzimas do arroz, alterando a fisiologia pós-colheita durante o armazenamento (à temperatura ambiente), resultando em uma melhor síntese de ácidos fenólicos (ZHU *et al.*, 2010).

O conteúdo fenólico total apresentou comportamento semelhante às frações livres (Tabela 5.1), ou seja, as amostras irradiadas apresentaram maiores valores em comparação com a amostra controle ($p < 0,05$), tanto no começo (t_0) quanto no final (t_f). As frações fenólicas livres representaram aproximadamente 78% de compostos fenólicos totais e 77% da atividade antioxidante total (ABTS e DPPH), nas amostras irradiadas. Os principais ácidos fenólicos encontrados no arroz pigmentado são o ácido protocatecuico, sináptico, vanílico, p-cumárico e ferúlico (ZHANG *et al.*, 2015).

Os valores para a fração fenólica ligada e atividade antioxidante apresentaram comportamento distinto das frações fenólicas livres e totais (Tabela 5.1). Os teores da amostra controle foram maiores no início da pesquisa (0 dias). No entanto, as amostras irradiadas foram mais estáveis ao final do armazenamento ($p < 0,05$). Ito *et al.* (2016) relataram que os efeitos da irradiação sobre essas frações fenólicas, irá depender da dose aplicada, podendo aumentar, diminuir ou apresentar efeitos insignificantes, é preciso levar em consideração o tempo de armazenamento, os processos tecnológicos, bem como a especificidade do produto e a sensibilidade de cada fotoquímico (ALOTHMAN; BHAT; KARIM, 2009).

Tabela 5.1 - Efeitos da radiação gama nos compostos fenólicos (CF) e atividade antioxidante das frações fenólicas livre, ligada e total da farinha de arroz negro no início (t_0 - 0 dia) e no final do armazenamento (t_f - 120 dias).

Análises	Doses (kGy)	t_0 (0 dias)	t_f (120 dias)
CF Livres (mg GAE g ⁻¹)	0	5,28 ^{Da} ± 0,03	3,25 ^{Cb} ± 0,04
	1	5,79 ^{Ba} ± 0,03	3,58 ^{ABb} ± 0,03
	2	5,67 ^{Ca} ± 0,01	3,54 ^{Bb} ± 0,03
	3	5,89 ^{Aa} ± 0,03	3,64 ^{Ab} ± 0,03
CF Ligadas (mg GAE g ⁻¹)	0	1,84 ^{Aa} ± 0,02	0,95 ^{Db} ± 0,03
	1	1,67 ^{Ba} ± 0,02	0,99 ^{BCb} ± 0,04
	2	1,61 ^{Ca} ± 0,02	1,09 ^{Ab} ± 0,02
	3	1,59 ^{Ca} ± 0,01	1,01 ^{Bb} ± 0,02
CFT (mg GAE g ⁻¹)	0	7,12 ^{Ca} ± 0,02	4,19 ^{Bb} ± 0,06
	1	7,46 ^{Aa} ± 0,01	4,57 ^{Ab} ± 0,06
	2	7,28 ^{Ba} ± 0,03	4,63 ^{Ab} ± 0,01
	3	7,47 ^{Aa} ± 0,03	4,65 ^{Ab} ± 0,05
ABTS Livres (μmol TE g ⁻¹)	0	6,37 ^{Da} ± 0,03	5,19 ^{Db} ± 0,03
	1	7,35 ^{Ca} ± 0,03	6,05 ^{Bb} ± 0,02
	2	7,59 ^{Ba} ± 0,01	6,16 ^{Cb} ± 0,02
	3	8,13 ^{Aa} ± 0,02	6,77 ^{Ab} ± 0,03
ABTS Ligadas (μmol TE g ⁻¹)	0	2,52 ^{Aa} ± 0,03	1,60 ^{Cb} ± 0,03
	1	2,48 ^{Ba} ± 0,03	1,61 ^{Bb} ± 0,03
	2	2,36 ^{Ca} ± 0,01	1,63 ^{Ab} ± 0,02
	3	2,35 ^{Da} ± 0,03	1,63 ^{Ab} ± 0,02
ABTS Totais (μmol TE g ⁻¹)	0	8,89 ^{Da} ± 0,01	6,80 ^{Db} ± 0,01
	1	9,83 ^{Ca} ± 0,06	7,66 ^{Cb} ± 0,04
	2	9,96 ^{Ba} ± 0,02	7,79 ^{Bb} ± 0,01
	3	10,48 ^{Aa} ± 0,01	8,40 ^{Ab} ± 0,05
DPPH Livres (μmol TE g ⁻¹)	0	6,19 ^{Da} ± 0,03	4,95 ^{Db} ± 0,03
	1	6,37 ^{Ca} ± 0,03	5,01 ^{Bb} ± 0,03
	2	6,60 ^{Ba} ± 0,02	5,13 ^{Bb} ± 0,02
	3	6,68 ^{Aa} ± 0,02	5,14 ^{Ab} ± 0,03
DPPH Ligadas (μmol TE g ⁻¹)	0	2,14 ^{Aa} ± 0,03	1,31 ^{Cb} ± 0,02
	1	2,09 ^{Ba} ± 0,03	1,31 ^{Cb} ± 0,01
	2	2,05 ^{Ca} ± 0,01	1,33 ^{Bb} ± 0,03
	3	2,03 ^{Da} ± 0,02	1,34 ^{Ab} ± 0,02
DPPH Totais (μmol TE g ⁻¹)	0	8,33 ^{Da} ± 0,06	6,26 ^{Db} ± 0,01
	1	8,47 ^{Ca} ± 0,01	6,32 ^{Cb} ± 0,03
	2	8,65 ^{Ba} ± 0,03	6,46 ^{Bb} ± 0,05
	3	8,72 ^{Aa} ± 0,04	6,48 ^{Ab} ± 0,01

Nota - Os resultados são expressos como média ± desvio padrão; Letras maiúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre as doses; Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças significativas durante o tempo de armazenamento. As diferenças significativas a um nível de 5% foram realizadas pelo teste de Duncan.

Zhang *et al.* (2015) também encontraram frações livres em quantidades maiores do que as frações ligadas no arroz negro, tal fato pode ser devido a alguns genes que controlam a ligação entre fenólicos e ligninas, que resultam em diferentes composições ao arroz.

Os flavonóides totais compreendem um grupo hidrofílico de compostos fenólicos, ao qual pertencem as antocianinas. A cianidina-3-glicosídeo (88% do total de antocianinas) é uma das principais antocianinas no arroz negro (ABDEL-AAL *et al.*, 2006). Avaliando o conteúdo total de antocianinas (CTA), cianidina-3-glicosídeo (C3G) e flavonoides totais (FT) durante os 120 dias, os resultados foram significativamente diferentes ($p < 0,05$) para todas as amostras.

O CTA variou de 1,84 a 1,52 mgC3G.g⁻¹, cianidina-3-glicosídeo de 1,43 a 1,26 mg.g⁻¹ e FT de 0,65 a 0,49 mgCE.g⁻¹. Destaca-se que a amostra com dose de 3 kGy no tempo 0 apresentou os maiores valores e a amostra controle (0 kGy) durante os 120 dias apresentou os menores. Sultan *et al.* (2018) encontraram um aumento significativo no CTA na farinha de arroz integral pigmentada, usando uma dose de irradiação de 2,5 e 5,0 kGy e Zhu *et al.* (2010), também encontram aumento no CTA, no arroz integral, na dose de 6,0 kGy.

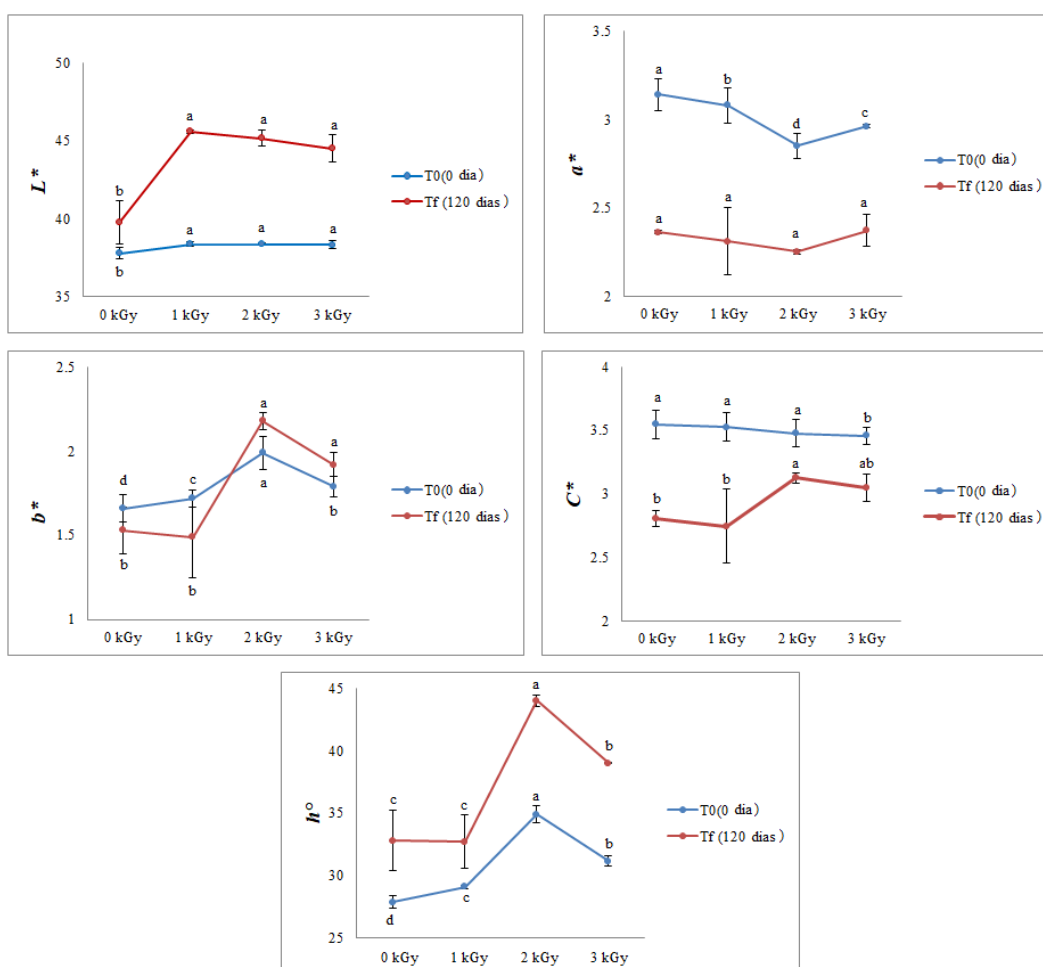
5.3.2 Efeitos da Radiação Gama no Atributo de Cor

Com relação aos efeitos da radiação gama nos atributos de cor da farinha de arroz negro durante o armazenamento, a irradiação modificou ligeiramente todos os parâmetros ($p < 0,05$), como mostra a Figura 5.1.

Nas amostras irradiadas, os valores de L^* e h° foram maiores do que na amostra controle. Esses parâmetros aumentaram para todas as amostras durante o armazenamento, indicando uma perda de intensidade de cor. O parâmetro L^* está negativamente correlacionado com a intensidade da cor (LAGO-VANZELA *et al.*, 2014), esse comportamento pode estar associado à diminuição do conteúdo fenólico (FIGUEIREDO-GONZÁLEZ *et al.*, 2013). Os valores de a^* (vermelho-verde) foram menores nas amostras irradiadas e durante o armazenamento este parâmetro diminuiu para todas as amostras.

A amostra irradiada com dose de 2 kGy apresentou maiores valores para o parâmetro b^* (amarelo-azul) e durante o armazenamento a melhor estabilidade para o parâmetro C^* . Os efeitos da radiação gama nos parâmetros de cor foram relatados por outros autores. Pequenas alterações foram encontradas em avelãs e amêndoas tratadas com baixas doses (MEXIS; KONTOMINAS, 2009; MEXIS *et al.*, 2009).

Figura 5.1 - Efeitos da radiação gama nos atributos de cor (L^* , a^* , b^* , C^* e h°) da farinha de arroz negro no início (t_0) e final (t_f) do armazenamento.



5.3.3 Análise Multivariada

A fim de compreender o conjunto de dados, as inter-relações e diferenças entre as amostras da farinha de arroz negro irradiada durante o período de armazenamento, a análise de componentes principais (PCA) e a análise hierárquica de agrupamentos (HCA) foram aplicadas para variáveis: compostos fenólicos livres, ligadas e totais, atividade antioxidante (ABTS e DPPH) das frações livres, ligadas e totais, conteúdo total de antocianinas, cianidina-3-glucosídeo, flavonóides totais e parâmetros de cor.

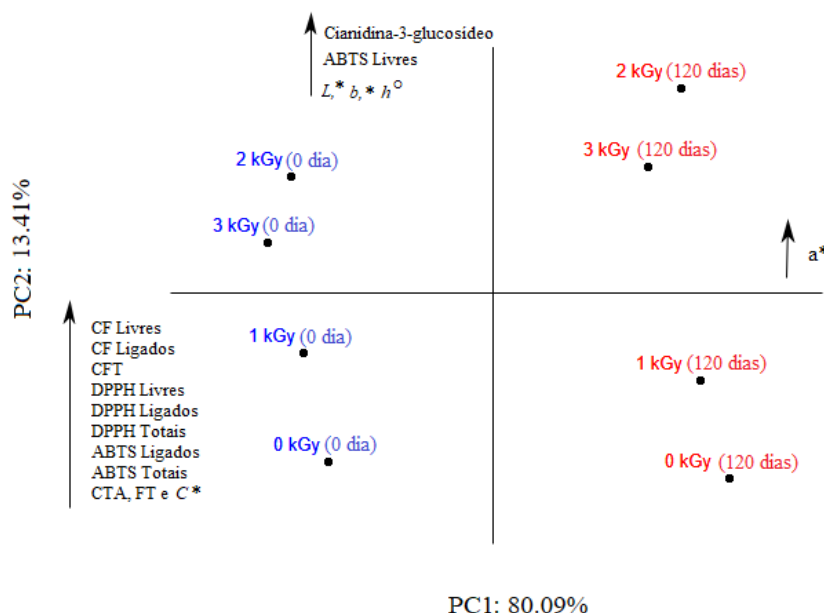
A PCA demonstrada na Figura 5.2 refere-se a uma representação gráfica bidimensional das amostras de farinha de arroz negro. A componente principal 1 (PC1), explicou 80,09% da variância total dos dados e a componente principal 2 (PC2) explicou

13,41%. Assim, o gráfico apresentado foi capaz de explicar 93,50% da variabilidade dos dados experimentais.

Na área a esquerda da PC1 encontram-se amostras com maiores teores de compostos fenólicos (livres, ligadas e totais), DPPH (livres, ligadas e totais), ABTS (ligadas e totais), CTA, FT e C^* . Na área a direita da PC1 encontram-se amostras com maiores valores para o parâmetro a^* . Em relação a PC2, a área superior concentra-se as amostras com maiores teores de cianidina-3-glucósido, ABTS (livres), L^* , b^* e h^o .

As farinhas de arroz negro analisadas no início da pesquisa (0 dia) encontram-se localizadas no segundo e terceiro quadrantes (lado esquerdo) e as farinhas analisadas ao final (120 dias) estão localizadas no primeiro e no quarto quadrantes (lado direito). Nesse sentido, é possível assumir que a PCA foi uma abordagem adequada para verificar as diferenças entre as doses de radiação gama e o tempo de armazenamento da farinha de arroz negro.

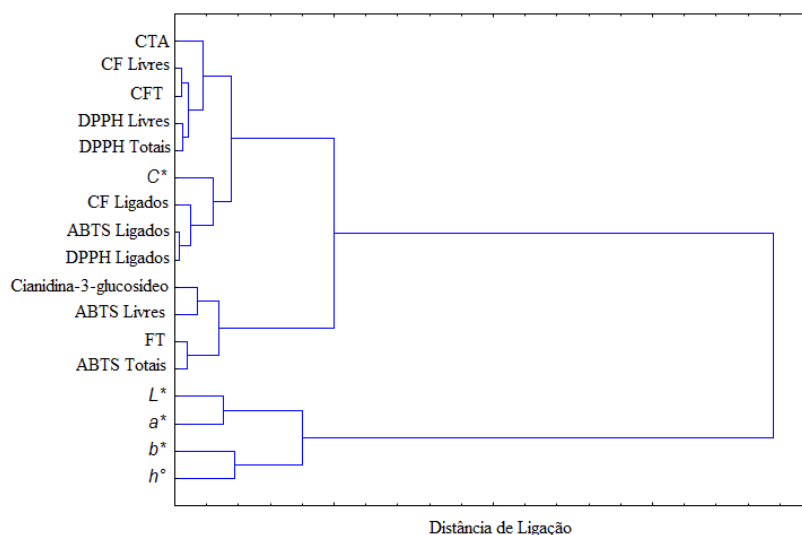
Figura 5.2 - Gráfico de dispersão (CP1 x CP2) das amostras de farinha de arroz negro irradiada durante o período de armazenamento em relação às análises de compostos fenólicos (livres, ligadas e totais), atividade antioxidante, conteúdo total de antocianinas (CTA), cianidina-3-glucosídeo (C3G), flavonoides totais (FT) e atributos de cor.



O dendograma da Figura 3 apresenta a associação entre as variáveis estudadas. Neste contexto, o coeficiente de correlação de Pearson é usado para expressar a força entre duas variáveis contínuas que são relacionadas umas com as outras. Vale ressaltar que além de ser estatisticamente significativo, o coeficiente de correlação apenas mostra uma tendência de como as variáveis de respostas estão associadas.

Usando uma correlação bivariada entre o conteúdo total de antocianinas (CTA) as outras variáveis de resposta, foi possível observar uma correlação positiva e significativa ($p < 0,001$), bem como uma forte associação entre o CTA e CF (livres e totais) ($r = 0,96$) e DPPH (livres e totais) ($r = 0,97$). O CTA também foi correlacionado positivamente com a cianidina-3-glicosídeo ($r = 0,76$; $p < 0,05$), FT ($r = 0,96$; $p < 0,001$), ABTS (livres e totais) ($r = 0,94$; $p < 0,05$) e com o parâmetro de cor C^* ($r = 0,93$; $p < 0,05$). O CF (ligadas), ABTS (ligadas) e DPPH (ligadas) também apresentaram forte associação e correlação positiva ($r = 0,99$; $p < 0,001$), assim como a cianidina-3-glicosídeo e o ABTS (livres) ($r = 0,96$; $p < 0,05$). Vários estudos também demonstraram que o conteúdo fenólico tem uma correlação altamente positiva com a atividade antioxidante (SHEN *et al.*, 2009; SHAO *et al.*, 2013; ITO *et al.*, 2016). Os parâmetros de cor L^* e a^* apresentaram forte associação e correlação positiva ($r = 0,83$; $p < 0,05$), assim com os parâmetros h° e b^* ($r = 0,74$; $p < 0,05$).

Figura 5.3 - Análise Hierárquica de Agrupamentos aplicada às variáveis das amostras de farinha de arroz negro irradiada durante o período de armazenamento em relação às análises de compostos fenólicos (livres, ligadas e totais), atividade antioxidante, conteúdo total de antocianinas (CTA), cianidina-3-glucosídeo (C3G), flavonoides totais (FT) e atributos de cor.



A similaridade das amostras foi avaliada por meio da análise hierárquica de agrupamentos (HCA), dois grupos foram sugeridos (Figura 5.4). O grupo 1 foi caracterizado por amostras analisadas no início da pesquisa (0 dias) e o grupo 2 por amostras analisadas ao final (120 dias).

Figura 5.4 - Dendrograma obtido por análise hierárquica de agrupamentos das amostras de farinha de arroz negro irradiada durante o período de armazenamento em relação às análises de compostos fenólicos (livres, ligadas e totais), atividade antioxidante, conteúdo total de antocianinas (CTA), cianidina-3-glucosídeo (C3G), flavonoides totais (FT) e atributos de cor.

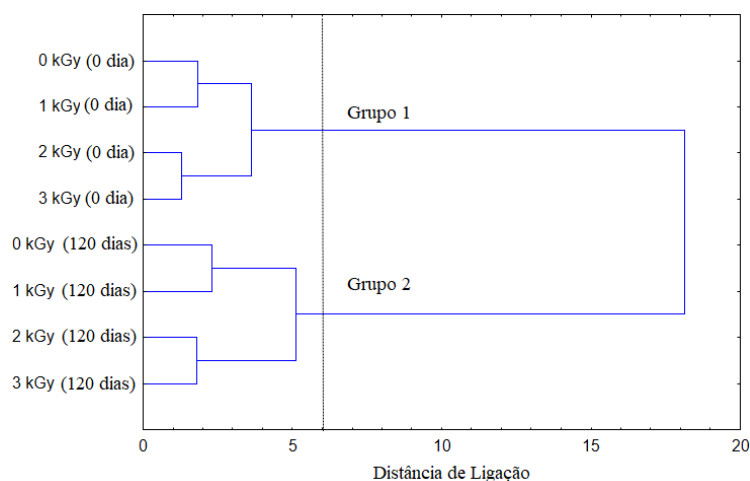


Tabela 5.2 - Resultados (médias) das análises de compostos fenólicos (livres, ligadas e totais), atividade antioxidante, conteúdo total de antocianinas (CTA), cianidina-3-glucosídeo (C3G), flavonoides totais (FT) e atributos de cor, sugeridos na Análise Hierárquica de agrupamento (HCA).

Variáveis	Grupo 1 n= 4	Grupo 2 n=4	DPA	p-valor*	p-valor**
CF Livres	5,66 ^a	3,50 ^b	1,53	0,52	<0,05*
ABTS Livres	7,36 ^a	6,04 ^b	0,93	0,81	<0,05*
DPPH Livres	6,46 ^a	5,06 ^b	0,99	0,05	<0,05*
CF Ligadas	1,68 ^a	1,01 ^b	0,47	0,30	<0,05*
ABTS Ligadas	2,43 ^a	1,61 ^b	0,58	<0,001	<0,05*
DPPH Ligadas	2,08 ^a	1,32 ^b	0,54	<0,05	<0,05*
CFT	1,81 ^a	1,58 ^b	0,16	0,67	<0,05*
Cianidina-3-glucosídeo	1,38	1,31	0,05	0,25	0,14
FT	0,63 ^a	0,53 ^b	0,07	0,93	<0,05*
<i>L</i> *	43,7 ^a	38,17 ^b	3,91	<0,05	<0,05*
<i>a</i> *	2,32 ^a	1,38 ^b	0,66	0,98	<0,05*
<i>b</i> *	1,79	1,78	0,01	<0,05	0,77
<i>C</i> *	3,5 ^a	2,93 ^b	0,40	<0,05	<0,05*
<i>h</i> ^o	37,15	30,77	4,51	0,16	0,08

Nota: Resultados expressos como média $\pm$ desvio padrão agrupado. DPA: desvio padrão agrupado; * Valores de probabilidade obtidos pelo teste de Levene para homogeneidade de variâncias; ** Valores de probabilidade obtidos por *one-way* ANOVA ou teste de Kruskal-Wallis. Letras diferentes na mesma linha representam resultados estatisticamente diferentes ($p < 0,05$).

Na Tabela 5.2, as médias de cada variável de resposta foram comparadas e os resultados da ANOVA para os grupos obtidos na HCA foram calculados. O grupo 1 (0 dias) apresentou valores maiores para todos os parâmetros, exceto ($p > 0,05$) para cianidina-3-glicosídeo e os parâmetros de cor b^* e h° . O grupo 2 (120 dias) foi caracterizado por apresentar menores teores, que pode ser devido ao período de armazenamento.

5.3.4 Efeitos da Radiação Gama nas Propriedades Físico-Químicas e Microbiológicas

Quanto à umidade e atividade de água (A_w) houve um aumento destes parâmetros em todas as amostras durante os 120 dias de armazenamento. O teor de umidade variou de 10,54 (3 kGy - 0 dia) a 11,60 g.100g⁻¹ (0 kGy - 120 dias) e os valores de A_w variaram de 0,41 (2 e 3 kGy - 0 dia) a 0,48 (0 kGy - 120 dias). A amostra controle (0 kGy) apresentou o maior aumento, 9,02% para umidade e 14,94% para A_w . Ito *et al.* (2017) relataram que esse aumento pode estar associado à higroscópica das farinhas e à sua tendência em responder a mudanças na umidade relativa do ar, bem como as propriedades de transferência do vapor d'água da embalagem.

Resultados semelhantes foram encontrados por Silva *et al.* (2010), ao avaliarem a estabilidade oxidativa em farinha de trigo e fubá irradiados, houve um aumento significativo da umidade nas amostras a partir dos primeiros trinta dias. Marathe *et al.* (2002) verificaram que a umidade na farinha de trigo irradiada e não irradiada aumentaram após 120 dias de armazenamento.

Em relação às análises microbiológicas, os resultados foram inferiores aos exigidos pela legislação (BRASIL, 2001). Na amostra controle (0 kGy), as unidades formadoras de colônias por grama UFC g⁻¹ foram <3,0 para *Bacillus cereus*, o número mais provável por grama NMP g⁻¹ foi <10² para coliformes termotolerantes e ausência de *Salmonella* sp em 25 gramas. Não houve crescimento de microrganismos durante o período de armazenamento de 120 dias. Nas amostras irradiadas (1, 2 e 3 kGy) não houve valores detectáveis para estas bactérias. Feliciano *et al.* (2017) demonstraram a eficácia da irradiação gama de baixa dose para a descontaminação microbiana em arroz integral, durante um período prolongado de armazenamento, em temperatura ambiente.

5.4 CONCLUSÃO

O estudo concluiu que os efeitos do radioisótopo ^{60}Co na farinha de arroz negro resultaram em aumento da atividade antioxidante nas frações fenólicas livres e totais, bem como no conteúdo de antocianinas totais, cianidina-3-glicosídeo e flavonóides totais. A dose de 3 kGy apresentou os maiores valores. Durante os 120 dias ocorreram perdas gradativas em todos os parâmetros analisados. No entanto, as amostras irradiadas foram mais estáveis ao final do armazenamento. No que diz respeito aos atributos de cor, a irradiação modificou ligeiramente todos os parâmetros. Para a análise microbiológica, não houve crescimento de microrganismos nas amostras analisadas durante o período de armazenamento.

A abordagem quimiométrica permitiu observar a influência da irradiação e do tempo de armazenamento nas amostras da farinha de arroz negro. Este arroz pigmentado pode ser um ingrediente valioso em produtos de cereais sem glúten e com maior valor nutricional.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-AAL, E.-S. M.; YOUNG, J. C.; RABALSKI, I. Anthocyanin Composition in Black, Blue, Pink, Purple, and Red Cereal Grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 13, p. 4696-4704, 2006.
- AOAC - Official methods of analysis. **Association of Official Analytical Chemist, Washington, DC, USA**, v. 18th ed., 2005.
- ALOTHMAN, M.; BHAT, R.; KARIM, A. A. Effects of radiation processing on phytochemicals and antioxidants in plant produce. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 5, p. 201-212, 2009.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, p. 25 - 30, 1995.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos em alimentos**, 2001.
- DUYI, S.; BARAN, D. A.; CHANDRA, D. S. Pigmented rice a potential source of bioactive compounds: a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 52, n. 5, p. 1073-1081, 2017.
- FELICIANO, C. P.; DE GUZMAN, Z. M.; TOLENTINO, L. M. M.; ASAAD, C. O.; COBAR, M. L. C.; ABRERA, G. B.; BALDOS, D. T.; DIANO, G. T. Microbiological quality of brown rice, ready-to-eat pre-cut fresh fruits, and mixed vegetables irradiated for immuno-compromised patients. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 130, p. 397-399, 2017.
- FIGUEIREDO-GONZÁLEZ, M.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Garnacha Tintorera-based sweet wines: Chromatic properties and global phenolic composition by means of UV-Vis spectrophotometry. **Food Chemistry**, v. 140, n. 1, p. 217-224, 2013.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. In: (Ed.). **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**: John Wiley & Sons, Inc., 2001. ISBN 9780471142911.

HAO, J.; ZHU, H.; ZHANG, Z.; YANG, S.; LI, H. Identification of anthocyanins in black rice (*Oryza sativa* L.) by UPLC/Q-TOF-MS and their in vitro and in vivo antioxidant activities. **Journal of Cereal Science**, v. 64, p. 92-99, 2015.

ITO, V. C.; BET, C. D.; WOJEICCHOWSKI, J. P.; DEMIATE, I. M.; SPOTO, M. H. F.; SCHNITZLER, E.; LACERDA, L. G. Effects of gamma radiation on the thermoanalytical, structural and pasting properties of black rice (*Oryza sativa* L.) flour. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 133, p. 529-537, 2018.

ITO, V. C.; FERREIRA ZIELINSKI, A. A.; AVILA, S.; SPOTO, M.; NOGUEIRA, A.; SCHNITZLER, E.; LACERDA, L. G. Effects of gamma radiation on physicochemical, thermogravimetric, microstructural and microbiological properties during storage of apple pomace flour. **LWT - Food Science and Technology**, v. 78, p. 105-113, 2017.

ITO, V. C.; ALBERTI, A.; AVILA, S.; SPOTO, M.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Effects of gamma radiation on the phenolic compounds and in vitro antioxidant activity of apple pomace flour during storage using multivariate statistical techniques. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 33, p. 251-259, 2016.

KUMAR, P.; PRAKASH, K. S.; JAN, K.; SWER, T. L.; JAN, S.; VERMA, R.; DEEPIKA, K.; DAR, M. Z.; VERMA, K.; BASHIR, K. Effects of gamma irradiation on starch granule structure and physicochemical properties of brown rice starch. **Journal of Cereal Science**, v. 77, p. 194-200, 2017.

LAGO-VANZELA, E. S.; PROCÓPIO, D. P.; FONTES, E. A. F.; RAMOS, A. M.; STRINGHETA, P. C.; DA-SILVA, R.; CASTILLO-MUÑOZ, N.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Aging of red wines made from hybrid grape cv. BRS Violeta: Effects of accelerated aging conditions on phenolic composition, color and antioxidant activity. **Food Research International**, v. 56, n. Supplement C, p. 182-189, 2014.

MARATHE, S. A.; MACHAIAH, J. P.; RAO, B. Y. K.; PEDNEKAR, M. D.; RAO, V. A. Extension of shelf-life of whole-wheat flour by gamma radiation **International Journal of Food Science & Technology**, v. 37, n. 2, p. 163-168, 2002.

MEXIS, S. F.; BADEKA, A. V.; CHOULIARA, E.; RIGANAKOS, K. A.; KONTOMINAS, M. G. Effect of γ -irradiation on the physicochemical and sensory properties of raw unpeeled almond kernels (*Prunus dulcis*). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 10, n. 1, p. 87-92, 2009.

MEXIS, S. F.; KONTOMINAS, M. G. Effect of γ -irradiation on the physicochemical and sensory properties of hazelnuts (*Corylus avellana* L.). **Radiation Physics and Chemistry**, v. 78, n. 6, p. 407-413, 2009.

MIN, B.; GU, L.; MCCLUNG, A. M.; BERGMAN, C. J.; CHEN, M.-H. Free and bound total phenolic concentrations, antioxidant capacities, and profiles of proanthocyanidins and anthocyanins in whole grain rice (*Oryza sativa* L.) of different bran colours. **Food Chemistry**, v. 133, n. 3, p. 715-722, 2012.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 9, p. 1231-1237, 1999.

RODRÍGUEZ-PÉREZ, C.; QUIRANTES-PINÉ, R.; CONTRERAS, M. D. M.; UBEROS, J.; FERNÁNDEZ-GUTIÉRREZ, A.; SEGURA-CARRETERO, A. Assessment of the stability of proanthocyanidins and other phenolic compounds in cranberry syrup after gamma-irradiation treatment and during storage. **Food Chemistry**, v. 174, p. 392-399, 2015.

SAURA-CALIXTO, F.; SERRANO, J.; GOÑI, I. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. **Food Chemistry**, v. 101, n. 2, p. 492-501, 2007.

SHAO, Y.; HU, Z.; YU, Y.; MOU, R.; ZHU, Z.; BETA, T. Phenolic acids, anthocyanins, proanthocyanidins, antioxidant activity, minerals and their correlations in non-pigmented, red, and black rice. **Food Chemistry**, v. 239, p. 733-741, 2018.

SHAO, Y.; TANG, F.; XU, F.; WANG, Y.; BAO, J. Effects of γ -irradiation on phenolics content, antioxidant activity and physicochemical properties of whole grain rice. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 85, p. 227-233, 2013.

SHEN, Y.; JIN, L.; XIAO, P.; LU, Y.; BAO, J. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. **Journal of Cereal Science**, v. 49, n. 1, p. 106-111, 2009.

SILVA, R. C.; PINO, L. M.; SPOTO, M. H. F.; D'ARCE, M. A. B. R. Estabilidade oxidativa e sensorial de farinhas de trigo e fubá irradiados. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 30, n. 2, p. 406-413, 2010.

SINGLETON, V.; ROSSI, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, p. 144 - 158, 1965.

SULTAN, N.; WANI, I. A.; MASOODI, F. A. Moisture mediated effects of γ -irradiation on physicochemical, functional, and antioxidant properties of pigmented brown rice (*Oryza sativa* L.) flour. **Journal of Cereal Science**, v. 79, p. 399-407, 2018.

SUMCZYNSKI, D.; KOTÁSKOVÁ, E.; DRUŽBÍKOVÁ, H.; MLČEK, J. Determination of contents and antioxidant activity of free and bound phenolics compounds and in vitro digestibility of commercial black and red rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **Food Chemistry**, v. 211, p. 339-346, 2016.

TI, H.; LI, Q.; ZHANG, R.; ZHANG, M.; DENG, Y.; WEI, Z.; CHI, J.; ZHANG, Y. Free and bound phenolic profiles and antioxidant activity of milled fractions of different indica rice varieties cultivated in southern China. **Food Chemistry**, v. 159, p. 166-174, 2014.

ZHANG, H.; SHAO, Y.; BAO, J.; BETA, T. Phenolic compounds and antioxidant properties of breeding lines between the white and black rice. **Food Chemistry**, v. 172, n. Supplement C, p. 630-639, 2015.

ZHU, F.; CAI, Y.-Z.; BAO, J.; CORKE, H. Effect of γ -irradiation on phenolic compounds in rice grain. **Food Chemistry**, v. 120, n. 1, p. 74-77, 2010.

ZIELINSKI, A. A. F.; HAMINIUK, C. W. I.; NUNES, C. A.; SCHNITZLER, E.; VAN RUTH, S. M.; GRANATO, D. Chemical composition, sensory properties, provenance, and bioactivity of fruit juices as assessed by chemometrics: a critical review and guideline. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 13, n. 3, p. 300-316, 2014.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nesta pesquisa foi realizada uma abordagem sobre aplicações para o desenvolvimento de alimentos e bebidas, assim como tecnologias de processamento para melhorar os atributos de qualidade do arroz negro. A extração aquosa deste cereal resultou em uma fração de amido com baixo teor de proteínas e lipídios, fornecendo um método eficaz para isolar este carboidrato, sem gerar resíduos contaminantes, podendo ser aplicado em produtos alimentícios e farmacêuticos.

A radiação gama mostrou-se um tratamento útil para modificar a farinha de arroz negro, apresentando rupturas estruturais, diminuindo o tamanho médio dos grânulos. Também houve uma diminuição do grau de cristalinidade relativa e propriedades de pasta, podendo ser utilizada em formulações de alimentos que requerem baixa viscosidade.

Com relação aos compostos bioativos, após a irradiação houve um aumento da atividade antioxidante nas frações fenólicas livres e totais, bem como no conteúdo de antocianinas totais, cianidina-3-glicosídeo e flavonóides totais. Durante os 120 dias ocorreram perdas gradativas em todos os parâmetros analisados, porém, as amostras irradiadas foram mais estáveis ao final do armazenamento. Sendo assim, a combinação desta tecnologia com diferentes temperaturas aumenta o prazo de validade da farinha de arroz negro.

Por fim, este cereal pigmentado oferece uma ampla gama de opções para aplicação, como alimentos funcionais, isentos de glúten e produtos com maior valor nutricional. Deste modo, o desenvolvimento de novos produtos, bem como o uso de novas tecnologias a fim de atender a crescente demanda da indústria de alimentos.

**ANEXO A - Licença e Artigo publicado na revista Starch – Stärke
(Capítulo II)**

JOHN WILEY AND SONS LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Feb 23, 2019

This Agreement between Ms. Vivian Ito ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

License Number	4534801379780
License date	Feb 23, 2019
Licensed Content Publisher	John Wiley and Sons
Licensed Content Publication	Starch
Licensed Content Title	Physicochemical, Thermal, Crystallographic, and Morphological Properties of Biodynamic Black Rice Starch, and of Residual Fractions From Aqueous Extraction
Licensed Content Author	Vivian C. Ito, Egon Schnitzler, Ivo Mottin Demiate, et al
Licensed Content Date	Mar 25, 2018
Licensed Content Volume	70
Licensed Content Issue	11-12
Licensed Content Pages	7
Type of use	Dissertation/Thesis
Requestor type	Author of this Wiley article
Format	Print and electronic
Portion	Full article
Will you be translating?	No
Title of your thesis / dissertation	Arroz negro (<i>oryza sativa</i> L.): caracterização das frações de extração e avaliação dos efeitos da radiação ionizante na composição, propriedades físico-químicas, térmicas, estruturais e atividade antioxidante
Expected completion date	Jul 2019
Expected size (number of pages)	150
Requestor Location	Ms. Vivian Ito avenida carlos cavalcanti ponta grossa, paraná 84030-900 Brazil Attn: Ms. Vivian Ito
Publisher Tax ID	EU826007151
Total	0.00 USD

RESEARCH ARTICLE

Black Rice Starch

Starch

www.starch-journal.com

Physicochemical, Thermal, Crystallographic, and Morphological Properties of Biodynamic Black Rice Starch, and of Residual Fractions From Aqueous Extraction

Vivian C. Ito,* Egon Schnitzler, Ivo Mottin Demiate, Maria Ermelinda S. Eusébio, Luiz Gustavo Lacerda, and Ricardo A. E. Castro

The physicochemical, thermal, crystallographic, and morphological properties of biodynamic black rice starch, and of the residual fractions from aqueous extraction, are evaluated. The contents of ash, dietary fibre, proteins, and lipids in the starch are lower than those from the residual fractions. The gelatinization temperatures and ΔH_{gel} of the residual fractions differs significantly ($p < 0.05$) from those of the starch. All the samples had clear A-type diffraction patterns, with main reflections at $2\theta \approx 15^\circ$, 17° , 18° , and 23° ; they also presented a similar crystallinity index ($\approx 22\%$). Bands in the infrared spectra assigned to proteins and to carbohydrates (starch) are clearly identified, and the structural indicator (I_{1046}/I_{1013}) of the degree of double helical order is calculated. Micro-images shows polyhedral starch granules having irregular shapes, with sharp angles and edges, and without pores on the smooth surface.

phenolic compounds.^[2] According to Li et al.,^[3] pigmented rice varieties, such as black rice, have received increased attention from researchers in recent years due to their beneficial health properties, which help to reduce the risk of developing chronic ailments such as cardiovascular disease, type II diabetes, obesity, and cancer. Due to these factors they have also become popular with consumers.^[4,5]

These varieties of rice contain approximately 75% of carbohydrates, which are predominantly starch.^[6] Starch consists of glucose units in linear (amylose) and branched (amylopectin) macromolecules, which are connected by α -1-4 linkages, and by α -1-6 linkages at the branching points.^[7]

The following factors can all affect the quality of rice products: composition; the size and structure of starch granules; the amylose/amylopectin ratio; the polymorphic structure; lipid-complexed amylose; the presence of non-carbohydrate content; and the gelatinisation of starch.^[8] Small granule size is advantageous when using starch as a texture improver in various foods, such as sauces and puddings, or as a fat substitute in dressings and creams.^[9] In addition to its use in food products, starch can also be used in many industrial fields such as pharmaceuticals, paper, chemicals and textiles.^[9] In recent times, starch has attracted considerable attention regarding its use in edible or biodegradable materials due to the advantages of its biodegradability and low cost.^[10]

Increasing demand for natural food products has boosted the development of alternative agronomical strategies, such as biodynamic farming, which can provide a variety of benefits in terms of sustainability and improved soil quality.^[11] Biodynamic farming is similar in many ways to the better-known organic agriculture; both use composting and cover cropping instead of mineral fertilizers, while avoiding the application of pesticides, herbicides, hormones, and other chemicals. In addition, philosophical and historical principles underpin the use of biodynamic preparations that contain specific herbs or minerals, and which are treated or fermented with animal organs, water and soil.^[12]

1. Introduction

Rice is one of the most widely consumed foods worldwide. With a global annual production estimated at about 483 million metric tons (milled rice basis), an average yield of 4.5 metric tons per hectare, and a total harvested area of about 160 million hectares, rice is one of the world's leading food crops.^[1] This cereal is mainly composed of starch, together with small amounts of proteins, lipids, fibre, minerals, vitamins and

V. C. Ito, Dr. E. Schnitzler, Dr. I. M. Demiate, Dr. L. G. Lacerda
Food Science and Technology Graduate Program
State University of Ponta Grossa (UEPG)
Av. Carlos Cavalcanti 4748 Uvaranas Campus, CEP 84.030-900 Ponta
Grossa, PR, Brazil
E-mail: vivianito@gmail.com

Dr. M. E. S. Eusébio
CQC, Chemistry Department
University of Coimbra
R. Laiga, CEP 3004-535, Coimbra, Portugal

Dr. R. A. E. Castro
Faculty of Pharmacy
University of Coimbra
R. Azinhaga de Santa Comba, CEP 3000-548, Coimbra, Portugal

DOI: 10.1002/star.201700348

**ANEXO B - Artigo publicado na revista Journal of Thermal Analysis and Calorimetry
(Capítulo III)**



Effects of gamma radiation on the thermoanalytical, structural and pasting properties of black rice (*Oryza sativa* L.) flour

Vivian Cristina Ito¹ · Camila Delinski Bet¹ · José Pedro Wojciechowski¹ · Ivo Mottin Demiate¹ · Marta Helena Fillet Spoto² · Egon Schnitzler¹ · Luiz Gustavo Lacerda¹

Received: 7 July 2017 / Accepted: 12 October 2017
© Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary 2017

Abstract The effects of different doses of gamma radiation on the thermoanalytical, structural and pasting properties of black rice (*Oryza sativa* L.) flour were studied using thermogravimetry and derivative thermogravimetry (TG-DTG), differential scanning calorimetry, X-ray diffraction (XRD), field emission gun-scanning electron microscopy (FEG-SEM) and pasting properties (RVA) analysis. The thermogravimetric curves showed four mass losses. A small displacement was observed for the second loss, which occurred for the irradiated flours, compared to the control sample. The irradiated samples showed a slight decrease in the thermal parameters: initial temperature (T_{on}), peak temperature (T_{p}) and gelatinisation enthalpy (ΔH). All the black rice flours exhibited A-type crystallinity pattern, and the gamma radiation did not change the XRD patterns or the degree of crystallinity. The micro-images obtained using FEG-SEM showed a composite of organic and heterogeneous material; after gamma radiation, some changes occurred, such as cracks, pores and smaller fragments. The pasting properties decreased significantly with irradiation. The decrease in setback and breakdown viscosity after irradiation suggested an indication that it may be possible to improve the quality of food

based on black rice flours. Gamma radiation can be a useful tool to modify rice flours in order to suit various functionalities and to help meet the growing demands of the food industry.

Keywords Black rice · Irradiation · Thermal analysis · Gelatinisation · Morphology · Crystallinity

Introduction

Rice is one of the most widely consumed foods in the world, feeding almost one-third of the world's population [1]; it represents a major source of energy owing to its high concentration of starch and proteins, as well as containing minerals and B vitamins [2]. In recent years, pigmented rice varieties, such as black rice, have received increased attention from researchers and have become popular with consumers, due to their health-promoting properties [3].

Black rice contains high amounts of phenolic compounds, such as anthocyanins, which are associated with numerous health benefits due to their antioxidant activity; they also help to reduce the risk of developing chronic diseases such as cardiovascular disease, type II diabetes, obesity and cancer [4]. The natural colourants found in black rice, which can be used in the food industry as synthetic dye replacements, are dark purple anthocyanin pigments. Consequently, this pigmented rice can be used as a valuable ingredient for gluten-free cereal products with higher nutritional value, thereby providing extra health benefits to consumers.

Starch, which is the main carbohydrate present in rice, can be used to confer texture, structure and consistency to many food products. However, the uses of native starches are limited by their low solubility, high viscosity, thermal

✉ Luiz Gustavo Lacerda
lglacerda@uepg.br

¹ Food Science and Technology Graduate Program, State University of Ponta Grossa (UEPG), Av. Carlos Cavalcanti 4748 Uvaranas Campus, Ponta Grossa, PR CEP 84030-900, Brazil

² Centre for Nuclear Energy in Agriculture, State University of São Paulo (USP), Av. Centenário, Luiz de Queiroz Campus, 303, Piracicaba 13900-470, Brazil

**ANEXO C - Artigo publicado na revista Brazilian Archives of Biology and
Technology (Capítulo IV)**

Vol.62: e19180470, 2019
<http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2019180470>
 ISSN 1678-4324 Online Edition



Article - Food/Feed Science and Technology

Effects of gamma radiation on the stability and degradation kinetics of phenolic compounds and antioxidant activity during storage of (*Oryza sativa* L.) black rice flour

Vivian Cristina Ito^{1*}

<https://orcid.org/0000-0001-5143-590X>

Acácio Antônio Ferreira Zielinski²

<https://orcid.org/0000-0002-6184-9628>

Ivo Mottin Demiate¹

<https://orcid.org/0000-0002-5609-0186>

Marta Spoto³

<https://orcid.org/0000-0001-9219-6343>

Alessandro Nogueira¹

<https://orcid.org/0000-0001-7671-3056>

Luiz Gustavo Lacerda¹

<https://orcid.org/0000-0002-4689-5431>

¹ Graduate Program in Food Science and Technology – State University of Ponta Grossa (UEPG), Av. Carlos Cavalcanti 4748 Uvaranas Campus, CEP 84.030-900 – Ponta Grossa – PR – Brazil.

² Department of Chemical Engineering and Food Engineering - Federal University of Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, 88010-970, Brazil

³ Centre for Nuclear Energy in Agriculture, University of São Paulo (USP). Av. Centenário, 303, Luiz de Queiroz Campus, 13900-470, Piracicaba, Brazil.

Received: 2018.08.30; Accepted: 2019.02.20.

HIGHLIGHTS

- Cyanidin-3-glucoside in black rice was effectively identified by HPLC-PDA.
- 1 kGy dose remained most stable for TAC and TPC.
- Kinetic data indicated a first-order reaction for the degradation of anthocyanins.