EXTRAÇÃO DE ANTOCIANINAS E COMPOSTOS FENÓLICOS DO ARROZ PRETO (*ORYZA SATIVA L.*) POR METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA COM SOLVENTE ATÓXICO

Isabela Leite Neves (PIBIC/FA), Neiva Deliberali Rosso (Orientador), e-mail: ndrosso@uepg.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Química.

Ciências Exatas e da Terra e Química

Palavras-chave: Espectroscopia, Uv-Vis, Flavonóides, DPPH.

Resumo

O extrato do arroz preto (*Oryza sativa* L.) apresenta um conteúdo significativo de antocianinas, flavonoides e compostos fenólicos. Associado a estes compostos apresenta uma elevada atividade antioxidante. O objetivo do projeto foi extrair o maior conteúdo de antocianinas a partir de um planejamento experimental com as variáveis independentes. As antocianinas do arroz preto (*Oryza sativa* L.) foram extraídas com uma solução de água:acetona na proporção de 60:40, por metodologia de superfície de resposta. O efeito da combinação entre as temperaturas 10, 30 e 50 ºC e os tempos de 15, 30 e 45 min foram observados para as variáveis de resposta antocianinas, flavonoides, compostos fenólicos e atividade antioxidante por DPPH e FRAP. Observou-se que o arroz preto apresenta um alto teor de antocianinas, de 177,51 mg de antocianinas por 100 g de arroz preto, sendo este obtido no ponto central em uma temperatura de 30 ºC durante 30 min.

Introdução

O arroz (*Oryza sativa L.*) é um *commodity* agrícola, é um dos grãos mais produzidos e consumidos mundialmente (WALTER et., 2008; MIRA et al., 2008). O mais consumido é o arroz branco, no entanto existem algumas variedades de arroz pigmentadas, conhecidas como arroz preto e vermelho que são consumidas em diversos lugares do mundo como na China, Japão e Coreia. De acordo com Agosttineto et al. (2001) e Tananuwong, Tewaruth (2010) as variedades pigmentadas de arroz, como o arroz preto, apresentam em seu pericarpo uma grande quantidade de antocianinas. As antocianinas ocorrem em frutas, vegetais, legumes e cereais (BRIDLE, TIMBERLAKE, 1997). São pigmentos naturais, responsáveis pelas variadas cores, desde vermelha, roxa e azul. São utilizadas como corantes naturais, por conferir cores vibrantes aos alimentos, benefícios à saúde e elevada solubilidade em água, o que permite que sejam incorporados aos alimentos (LOYPIMAI et al., 2015; PEDRO et al., 2016).

As antocianinas apresentam um relevante potencial antioxidante, devido a sua estrutura. O grupo hidroxila presente na molécula apresenta elétrons livres, e está próximo ao anel benzênico, liberando assim mais facilmente o átomo de hidrogênio para inativar espécies reativas (PEDRO et al., 2016). O mecanismo de compostos bioativos primários promove a remoção ou inativação dos radicais livres, por meio da doação de átomos de hidrogênio, formando assim espécies inativas e um radical inerte, que é procedente do antioxidante, este é estabilizado por ressonância, assim

ISSN 1676-0093

não apresenta capacidade de iniciar ou propagar reações oxidativas (RAMALHO, JORGE, 2006).

Material e Métodos

Os grãos de Arroz Preto foram adquiridos no comércio de Santa Catarina (Florianópolis). Os grãos foram triturados em um moinho analítico (Quimis-628A21) e a farinha peneirada para padronização do tamanho das partículas a 60 mesh.

Extração e determinação das antocianinas e flavonoides

Um delineamento Composto Central Rotacional foi proposto para avaliar o efeito da combinação entre os fatores tempo e temperatura, variáveis independentes. As temperaturas foram 10, 30 e 50 ^{o}C, e os tempos de 15, 30 e 45 min. As variáveis de resposta foram conteúdo de antocianinas, flavonóides, compostos fenólicos totais, e a atividade antioxidante DPPH e FRAP. O planejamento foi composto por 11 combinações, com 3 pontos centrais. Estabeleceu-se que o solvente seria uma solução água:acetona, na proporção 60:40. Uma amostra de aproximadamente 0,5000 g foi pesada, e transferida em uma cela termostatizada, com a solução extratora e a solução foi filtrada em um balão volumétrico de 25 mL. As antocianinas e os flavonóides foram quantificados de acordo com Pedro et al. (2016), pelo método espectrofotométrico UV-Vis (Shimadzu UV-1800), no comprimento de onda de 535 nm para antocianinas e 374 nm para os flavonóides. Um volume de 1 mL do extrato foi adicionado em um balão de 5 mL e o volume completado com uma solução tampão KCl/HCl, pH=1.

Quantificação dos compostos fenólicos

O conteúdo de compostos fenólicos foi determinado de acordo com Singleton et al. (1999), com algumas modificações. Em um balão de 5 mL, foram adicionados 3 mL de água ultrapura, 250 µL de reagente Folin-Ciocalteu 0,2 N e 100 µL do extrato. Agitou-se a solução e adicionou-se 750 µL de uma solução de Na_2CO_3 (0,9435 mol/L), e o volume foi completado com água ultrapura. Colocou-se os balões em um ambiente em ausência de luz, durante 60 min, a temperatura ambiente. A absorbância foi registada no comprimento de onda de 761 nm, em um espectrofotômetro (SHIMADZU 1800). O conteúdo de compostos fenólicos foi determinado com uma curva padrão de ácido gálico na faixa de concentração de 10 a 70 µmol L^{-1}.

Atividade Antioxidante por DPPH e FRAP

A atividade antioxidante por DPPH, dos extratos foi determinada de acordo com Brand-Williams et al. (1995) com ligeiras modificações. Alíquotas de 100 µL do extrato foram adicionadas em balões de 5 mL e o volume foi completado com uma solução etanólica de DPPH. Os balões foram armazenados em ausência de luz, durante 60 min, a temperatura ambiente, a absorbância foi registrada em λ = 517 nm. A atividade antioxidante foi expressa em mg de ácido ascórbico, AA, por 100 g de amostra, a partir de uma curva padrão de AA na faixa de concentração de 1,46 a 4,78 mg.mL^{-1}. A atividade antioxidante por FRAP, foi realizado de acordo com Benzie e Strain (1996). O reagente FRAP foi preparado a partir de 2 mL da solução TPZ 0,01 mol/L com 2 mL da solução cloreto de Fe(III) 0,2 mol/L, e o volume do balão de 25 mL foi completado com uma solução tampão acetato/ácido acético pH=3,6. Adicionou-se em balões de 5 mL, 1 mL do reagente FRAP (2,4,6-

ISSN 1676-0093

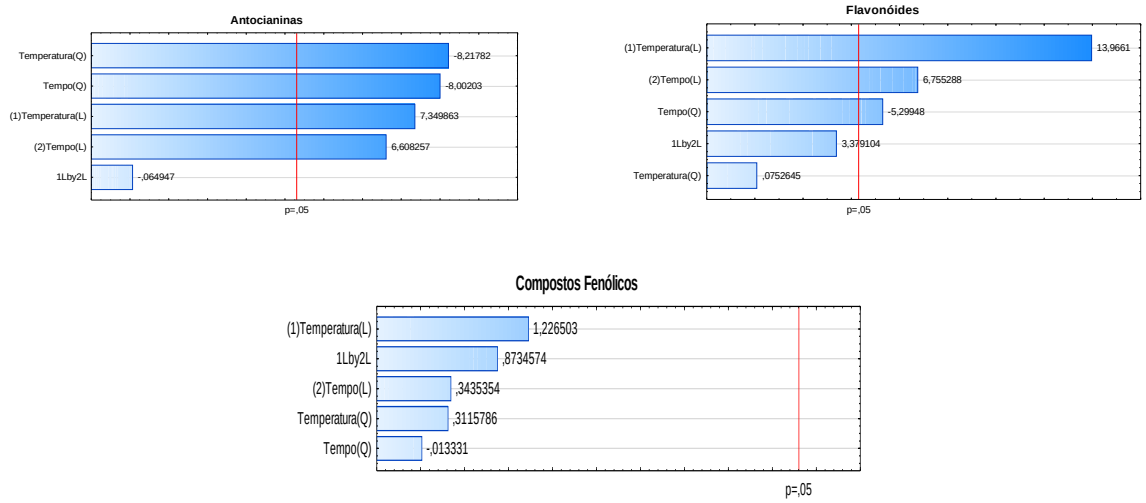
tripiridiltriazina-FeIII), 100 µL do extrato, e o volume completado com a solução tampão pH 3,6. A absorbância foi registrada em 596 nm. A atividade antioxidante foi determinada com a curva padrão de Fe(II) na faixa de concentração de 0,464 a 3,193 mg/mL.

Resultados e Discussão

O conteúdo de antocianinas variou estatisticamente ($p < 0,0001$) de 135,78 – 177,51 mg de antocianinas por 100 g de amostra. O maior teor ocorreu na temperatura de 30 ºC durante 30 minutos. Os teores de flavonóides variaram estatisticamente de 93,45 – 185,37 mg de flavonoides por 100 g de arroz preto. O menor teor ocorreu na temperatura de 10 ºC durante 15 minutos e o maior conteúdo na a 58,28 ºC por 30 minutos. O conteúdo de compostos fenólicos totais variou de 689,84 – 987,57 mg de ácido gálico por 100 g de amosra. O maior teor ocorreu na temperatura de 50 ºC e 45 min e o menor conteúdo a 1,70 ºC durante 30 min.

Para a extração de antocianinas, os fatores temperatura linear e quadrática e o tempo linear e quadrático foram significativos. Para os flavonoides observou-se que a temperatura linear, tempo linear e quadrático foram significativos. Para a extração dos compostos fenólicos, verificou-se que nenhuma das variáveis independentes, tempo e temperatura, foram significativos. A Figura 1 mostra os gráficos de Pareto para as variáveis de respostas antocianinas, flavonoides e compostos fenólicos totais.

Figura 1 – Gráficos de Pareto para as variáveis de resposta antocianinas, flavonoides e compostos fenólicos totais.



Os valores da atividade antioxidante pelo método de DPPH variaram estatisticamente ($p < 0,0001$) de 626,31 – 847,99 mg de AA por 100 g de arroz preto. As análises da atividade antioxidante por DPPH mostraram que a maior porcentagem de inibição foi de 46%, para o extrato obtido a 50 ºC por 15 min. A atividade antioxidante por FRAP variou estatisticamente de 376,35 – 569,47 mg equivalente de Fe(II) por 100 g de arroz preto. O maior teor ocorreu na temperatura de 30 ºC e 30 min e a menor atividade antioxidante na temperatura de 10 ºC durante 45 min. Para a atividade antioxidante por DPPH, somente a temperatura linear foi significativa, enquanto por FRAP nenhum dos fatores analisados foram significativos. A diferença observada para os dados da atividade antioxidante entre DPPH e FRAP para as mesmas amostras, pode ser atribuído ao diferente mecanismo envolvido nos dois processos.

Conclusões

A partir dos resultados conclui-se que os grãos de Arroz Preto *(Oryza sativa L.)* apresentam um elevado conteúdo de antocianinas e associado a uma elevada atividade antioxidante. A metodologia de superfície de resposta permitiu avaliar o efeito do tempo com a temperatura para a extração de antocianinas, flavonoides, compostos fenólicos e atividade antioxidante do arroz preto. O melhor conteúdo de antocianinas foi obtido no ponto central, com uma temperatura de 30 ºC durante 30 min, sendo este de 177,51 mg de antocianinas por 100 g de arroz preto. Temperaturas mais elevadas podem degradar as antocianinas e associado uma menor atividade antioxidante. Conclui-se assim que o arroz preto é uma fonte rica de antocianinas, considerado um alimento rico em compostos bioativos, com elevada atividade antioxidante.

Agradecimentos

Agradecimento a UEPG, Fundação Araucária, a Profª Orientadora Neiva Deliberali Rosso e a colega Taynee Moyse Semkiw.

Referências

AGOSTINETTO, D.; FLECK, N. G.; RIZZARDI, M. A.; JUNIOR, A. M.; VIDAL, R. A. ARROZ VERMELHO: ECOFISIOLOGIA E ESTRATÉGIAS DE CONTROLE. **Ciência Rural,** Santa Maria, v. 31, n. 2, p. 341-349, 2001.

BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry,** v.239, p.70-76, 1996.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of free-radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, v. 28, p. 25-30, 1995.

BRIDLE, P.; TIMBERLAKE, C. F. Anthocyanins as natural food colours—selected aspects. **Food Chemistry**, v. 58, n. 2, p. 103-109, 1997.

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 and Emerging Technologies**, v.27, p. 102-110, 2015.

MIRA, N. V. M. de; BARROS, R. M. C.; SCHIOCCHET, M. A.; NOLDIN, J. A.; LANFER-MARQUEZ, U. M. Extração, análise e distribuição dos ácidos fenólicos em genótipos pigmentados e não pigmentados de arroz (Oryza sativaL.). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 4, p. 994-1002, 2008.

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.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 755-760, 2006.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagente. **Methods in Enzymology**, v. 299, p. 152-178, 1999.

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

WALTER, M.; MARCHEZAN E.; AVILA, L. A. de. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 38, n. 4, p.1184-1192, 2008.