

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS**

**AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE
ESTABILIZAÇÃO OXIDATIVA DO FARELO DE
ARROZ INTEGRAL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Vicky Lilge Kawski

Santa Maria, 2015.

AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE ESTABILIZAÇÃO OXIDATIVA DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL

Vicky Lilge Kowski

Dissertação apresentada ao curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS) como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos**

Orientador: Prof. Juliano Smanioto Barin

**Santa Maria, RS, Brasil.
2015**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS**

**A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a dissertação
de Mestrado**

**AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE ESTABILIZAÇÃO OXIDATIVA
DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL**

elaborada por
Vicky Lilge Kawski

como requisito parcial para obtenção de grau de Mestre em Ciência e
Tecnologia dos Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA:

Juliano Smanioto Barin, Dr.
(Orientador, UFSM)

Alexandre José Cichoski, Dr.(UFSM)

Teresinha Marisa Bertol, PhD. (Embrapa)

Santa Maria, 28 de abril de 2015.

A minha família, por me ensinar a nunca desistir dos meus sonhos e jamais perder a minha essência. Vocês são parte de tudo que me faz forte!

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, minha força, meu escudo e meu conforto. Por guiar meus passos e me manter firme para seguir em frente.

A minha família, meus pais, amor maior e inspiração de bons valores e caráter. Obrigada por me incentivarem a continuar, vocês sabem o quanto esta jornada foi difícil.

Agradeço ao meu orientador, professor Juliano S. Barin, pela confiança, convívio e amizade. Agradeço, principalmente, por ter acreditado em mim!

Aos professores, colegas e amigos do NTA, pela convivência, pela amizade e ajuda concedida quando precisei.

Aos colegas da Embrapa, que direta ou indiretamente contribuíram para a execução e sucesso deste trabalho.

Ao pesquisador Everton Krabbe pelo fornecimento das amostras e por compartilhar o seu projeto, permitindo que este estudo se realizasse.

À pesquisadora Teresinha Marisa Bertol, por confiar em mim, pela amizade e exemplo de competência, profissionalismo e dedicação. Admiro demais sua força, sua ética e profissionalismo.

Agradeço aos queridos Wilson, Regina, Sara e Diego, vocês foram essenciais para essa conquista. Obrigada, de coração, pela companhia, ombros e ouvidos, pela parceria, risadas, pela ajuda em todas as horas. Vocês são demais!

Ao meu companheiro de todas as horas, Fernando, por suportar meu mau humor, cansaço e tantos finais de semana estudando. Esta conquista também é sua!

Especialmente àqueles que não acreditaram e tentaram me fazer fraquejar e desistir deste sonho. Quem conviveu de perto neste período sabe o quão difícil foi desde o começo, por muitos motivos que já não quero mais lembrar. Agradeço a todos que me disseram 'não', pois o desafio teve um sabor muito melhor, chamado vitória! Nas dificuldades e obstáculos, eu enxerguei oportunidades!

*“Se não puder voar, corra. Se não puder correr, ande. Se não puder andar, rasteje,
mas continue em frente de qualquer jeito.”
(Martin Luther King)*

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

AVALIAÇÃO DE ESTRATÉGIAS DE ESTABILIZAÇÃO OXIDATIVA DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL

AUTORA: VICKY LILGE KAWSKI

ORIENTADOR: JULIANO SMANIOTO BARIN

Data e local da defesa: Santa Maria, 28 de abril de 2015.

O farelo é proveniente do polimento do arroz descascado para produzir o arroz branco e, apesar do elevado conteúdo proteico e vitamínico, este subproduto ainda é quase totalmente utilizado em formulações para alimentação de animais, especialmente suínos e ruminantes, sendo pouco utilizado na indústria de alimentos. Devido à grande quantidade de farelo produzido, existe um grande esforço para aumentar a sua estabilidade oxidativa. Sendo assim, o objetivo deste estudo foi avaliar a estabilidade do farelo de arroz integral diante de condições conhecidas de umidade e temperatura e, então, propor um procedimento para a estabilização do farelo de arroz, acessível e facilmente aplicável. Para tanto, diferentes tratamentos foram empregados, utilizando processos físicos (irradiação e peletização) e antioxidantes sintéticos e de origem natural. Os farelos de arroz foram armazenados por 90 dias e analisados quanto à composição centesimal, acidez e índice de peróxidos. Os valores de acidez e peróxidos foram semelhantes aos encontrados na literatura para farelo de arroz. A acidez e o índice de peróxidos aumentaram durante o tempo de armazenamento em praticamente todas as combinações de tratamentos. Os valores inicial e final de acidez com antioxidantes naturais e químicos foram mais elevados do que com os processos físicos. O menor valor inicial de acidez para os tratamentos com antioxidantes naturais foi 7,10%, para os antioxidantes químicos foi 6,09% e para os processos físicos foi 4,36%. O maior valor final de acidez foi obtido para os tratamentos com antioxidantes naturais (17,58%), e o menor, para o tratamento com peletização associada a antioxidantes químicos (9,12%). Os resultados indicaram que a estabilização do FAI é afetada pelas condições ambientais na qual ele é beneficiado, principalmente pela temperatura, umidade relativa e tempo de armazenamento do FAI. A composição centesimal do FAI sofre interferência direta da origem do arroz, espécie, período da colheita, tipo de beneficiamento e tipo de solo no qual o arroz é produzido. A irradiação e a peletização atendem de forma satisfatória a indústria de alimentos para a estabilização oxidativa do FAI.

Palavras-chave: farelo de arroz integral, oxidação, estabilização, rancidez, antioxidantes.

ABSTRACT

EVALUATION OF STRATEGIES FOR OXIDATIVE STABILIZATION OF RICE BRAN

The rice bran is obtained from the polishing of husked rice to produce white rice and, despite its high content of protein and vitamin, this by product is still almost entirely used to animal nutrition and less used by the food industry. Due to the large amount of bran produced, there is a big effort to increase the oxidative stability of this material. The aim of this study was to evaluate the stability of rice bran on the known conditions of humidity and temperature and then, propose a procedure for its stabilization, affordable and easily applicable. Therefore, various treatments were employed, such as physical processes (pelleting and irradiation), synthetic antioxidants as well as natural antioxidants. The rice bran was stored for 90 days and analyzed for its chemical composition, acidity and peroxide value. The values of acidity and peroxide value were similar to those found in the literature. The acidity and peroxide value increased during the storage time for almost all treatment combinations. The start and final acidity values of rice bran treated with natural and chemical antioxidants were higher than those obtained from physical processes. The lowest initial acidity values were 7.10, 6.09, and 4.36% for natural antioxidants, chemical antioxidants and physical processes, respectively. The highest total acidity value was observed for natural antioxidants (17.58%) and the lowest, for the treatment with chemical antioxidants combined with pelleting (9.12%). The results indicated that the stabilization of rice bran is affected by environmental conditions such as temperature, relative humidity, and storage time. The chemical composition of rice bran is affected by rice origin, species, harvest period, processing and type of soil. Irradiation and pelleting processes proved to be satisfactory and efficient for the oxidative stabilization of the rice bran in the food industry.

Keywords: rice bran, oxidation, stabilization, rancidity, antioxidant.

Lista de figuras

<i>Figura 1- Composição de um grão de arroz.....</i>	<i>17</i>
<i>Figura 2- Etapas envolvidas no beneficiamento do arroz.....</i>	<i>19</i>
<i>Figura 3- Rendimento de cada fração obtida no beneficiamento do arroz.</i>	<i>20</i>
<i>Figura 4 – Fluxograma com as atividades desenvolvidas durante o estudo do FAI. .</i>	<i>27</i>
<i>Figura 5 – Acidez do FAI controle ao longo de 45 dias de armazenamento em temperatura de 20- 30 °C e umidade relativa média de 65%.</i>	<i>34</i>
<i>Figura 6 - Esquema comparativo entre método tradicional (A) e método otimizado (B) para determinação da acidez.</i>	<i>38</i>
<i>Figura 7 – Aplicação dos antioxidantes; 1) Demonstração da mistura do FAI e antioxidantes; 2) FAI tratado de acordo com cada tratamento e embalado em sacos de rafia; 3) Amostras para análise coletadas após aplicação dos antioxidantes.</i>	<i>57</i>
<i>Figura 8 – Determinação da temperatura após processo de irradiação do farelo de arroz integral (Fotos: do autor).....</i>	<i>59</i>
<i>Figura 9 – Acidez do FAI no dia 1 de armazenamento nos tratamentos dos experimentos natural, químico e físico.</i>	<i>74</i>
<i>Figura 10 - Acidez aos 90 dias de armazenamento nos tratamentos do experimento natural, químico e físico.</i>	<i>78</i>

Lista de Tabelas

<i>Tabela 1 - Composição do grão de arroz e seus derivados</i>	21
<i>Tabela 2 - Composição em ácidos graxos do óleo de farelo de arroz, conforme dados obtidos na literatura.</i>	24
<i>Tabela 3- Variação da acidez (%) do FAI durante 45 dias de armazenamento.</i>	33
<i>Tabela 4 – Estabilidade dos ácidos graxos durante 30 dias de armazenamento do farelo de arroz integral.</i>	35
<i>Tabela 5- Comparação dos valores médios de acidez do FAI nos métodos adaptado e tradicional em função do tempo de agitação, peso da amostra e número de extrações.</i>	37
<i>Tabela 6 – Condições analíticas para determinação do índice de acidez no método tradicional e no método adaptado em amostras de farelo de arroz integral.</i>	39
<i>Tabela 7 - Composição de amostras de farelo de arroz de diferentes procedências da região centro ocidental do estado do RS durante os anos de 2013 e 2014. Total de 12 amostras avaliadas em cada ano.</i>	43
<i>Tabela 8 - Análise microbiológica de amostras de FAI do RS de 2013 e 2014, em NMP/g, total de 12 amostras cada ano.</i>	44
<i>Tabela 9- Condições analíticas para determinação por Espectrometria de Absorção Atômica.</i>	48
<i>Tabela 10 - Composição centesimal das amostras de FAI (n=4).</i>	51
<i>Tabela 11 – Médias, desvios-padrão e coeficientes de variação para atividade de água (Aa) dos farelos de arroz integral do tempo inicial de armazenamento em cada tratamento dos experimentos natural e químico.</i>	52
<i>Tabela 12 – Descrição dos tratamentos utilizados no experimento químico (mg/kg).</i>	55

<i>Tabela 13- Tratamentos e antioxidantes utilizados no experimento natural (mg/kg).</i>	<i>56</i>
<i>Tabela 14- Tratamentos e antioxidantes utilizados no experimento físico.</i>	<i>58</i>
<i>Tabela 15 - Composição dos farelos de arroz integral no Tempo 1 (dia 1) e no Tempo 90 (90 dias) dos experimentos natural, químico e físico (n=2).</i>	<i>68</i>
<i>Tabela 16 – Contagem de bolores e leveduras em UFC/g (unidades formadoras de colônia/ grama) no FAI analisado no ‘Tempo 1’ (1 dia) e no ‘Tempo 90’ (90 dias) de armazenamento, de cada tratamento dos experimentos natural, químico e físico....</i>	<i>69</i>
<i>Tabela 17 – Médios erros-padrão e níveis descritivos de probabilidade do teste F da análise de medidas repetidas em função da interação dos níveis de ácido cítrico, do tocoferol e dos tempos de armazenamento na estabilidade do FAI.....</i>	<i>72</i>
<i>Tabela 18 - Médios erros-padrão e níveis descritivos de probabilidade do teste F da análise de medidas repetidas em função da interação dos níveis de TBHQ, do ácido cítrico e dos tempos de armazenamento na estabilidade do FAI.....</i>	<i>75</i>
<i>Tabela 19 - Médios erros-padrão e níveis descritivos de probabilidade do teste F da análise de medidas repetidas em função da interação dos níveis de TBHQ, do formol e dos tempos de armazenamento na estabilidade do FAI</i>	<i>76</i>
<i>Tabela 20 – Médias, erros-padrão e níveis descritivos de probabilidade do teste F da análise de medidas repetidas em função da interação dos processos físicos, antioxidantes e tempos de armazenamento na estabilidade do FAI</i>	<i>79</i>

Lista de abreviaturas

Aa – atividade de água

AC – ácido cítrico

AGL – ácidos graxos livres

AG – ácidos graxos

ANOVA – análise de variância, do inglês “analysis of variance”

EAA – espectrometria de absorção atômica

FAI – farelo de arroz integral

FAD – farelo de arroz desengordurado

IP – Índice de peróxidos

mEq/kg – miliequivalente por quilograma

MO – micro-ondas

pH – potencial hidrogeniônico

TBHQ – terc-butil-hidroquinona

UFC – unidade formadora de colônias

Sumário

1	INTRODUÇÃO	14
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	Arroz.....	16
2.2	Beneficiamento do arroz	177
2.3	Aplicações e potencialidades do farelo de arroz	20
3	ESCOPO DO TRABALHO: EXPERIMENTO COM ANTIOXIDANTES E PROCESSOS FÍSICOS	27
3.1	TESTE DE ESTABILIDADE DO FAI E OTIMIZAÇÃO DA METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ	28
3.2	CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE FAI COLETADAS NO RS.....	41
3.3	ESTABILIZAÇÃO DO FAI ATRAVÉS DE ANTIOXIDANTES E PROCESSOS FÍSICOS.....	46
3.3.1	CARACTERIZAÇÃO DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL	46
3.3.2	APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS NO FARELO DE ARROZ INTEGRAL.....	54
4	CONCLUSÃO.....	82
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

1 INTRODUÇÃO

A utilização de resíduos e subprodutos da agroindústria pela indústria de alimentos vem ganhando cada vez mais interesse, uma vez que permite a produção sustentável utilizando matéria-prima de fácil obtenção e com alto valor agregado (KARWOWSKA; DOLATOWSKI, 2007; VEDANA et al., 2008; MELO et al., 2011; SANTOS et al., 2012). Dentre os subprodutos da agroindústria com grande potencial de utilização, encontra-se o farelo de arroz integral (FAI), que apresenta alta concentração de lipídios e proteínas. Contudo, o FAI apresenta rápida degradação durante o período de armazenamento, devido, principalmente, ao processo de rancificação (MARSHALL; WADSWORTH, 1993; THANONKAEW et al., 2012). Por consequência, seu armazenamento por longos períodos sem o devido controle de temperatura e umidade leva à degradação dos triglicerídeos e à formação de substâncias de odor desagradável (LAKKAKULA, LIMA & WALKER, 2004; THANONKAEW, 2012). Dessa forma, a aplicação de antioxidantes tem sido utilizada para retardar a deterioração oxidativa do FAI.

A oxidação dos alimentos pode ser considerada um dos maiores desafios da indústria desse setor, pois promove a alteração do sabor e odor ocasionada pela deterioração dos óleos e gorduras, levando a perda da qualidade do produto (SOARES, 2002; BREWER, 2011). A oxidação da fração lipídica dos alimentos é responsável, também, por alterações da cor e propriedades funcionais dos mesmos além de promover a formação de compostos tóxicos que os tornam impróprios para o consumo (GAVA; SILVA; FRIAS, 2009; COTRIM, 2011). Dessa forma, pode-se dizer que o processo de oxidação apresenta relação direta com os prejuízos gerados em função do descarte, perdas e alterações sensoriais das matérias-primas ou produtos durante o período de armazenamento (SANTOS et al., 2012). Portanto, o controle do processo de oxidação pode aumentar a vida de prateleira dos alimentos, além de permitir o melhor aproveitamento de matérias-primas instáveis.

Apesar do potencial de utilização do FAI, a avaliação de diferentes tratamentos antioxidantes ainda é incipiente, assim, o desenvolvimento de processos para sua estabilização representa um importante avanço. O objetivo desse trabalho consistiu no estudo de processos de estabilização do FAI acessíveis à indústria, através de tratamentos com antioxidantes químicos, antioxidantes

naturais e processos físicos – tratamentos térmicos brandos combinados ou não com antioxidantes – diferentes do que tem sido proposto até então, buscando minimizar a degradação de nutrientes e a manutenção do seu valor nutricional.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Arroz

Atualmente, o arroz é o principal alimento de consumo diário em regiões da Ásia, América do Sul, algumas regiões da África e Europa e norte e nordeste da América (ANWAR; ANWER; MAHMOOD, 2005; THANONKAEW et al, 2012), sendo consumido por cerca de 2,4 bilhões de pessoas no mundo (EMBRAPA, 2006). O Brasil é o maior produtor fora do continente asiático, estando entre os dez principais produtores mundiais de arroz (1,8% da produção mundial) e na nona posição entre os maiores consumidores (EMBRAPA, 2011; MAPA, 2005, 2015). As projeções de produção e consumo de arroz do MAPA (2015) mostram que o Brasil vai colher aproximadamente 14 milhões de toneladas na safra 2019/2020.

O arroz é capaz de suprir 20% da energia e 15% das proteínas relativas à necessidade diária de um adulto, segundo a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, do inglês *Food and Agriculture Organization of the United Nations*) além de conter vitaminas, sais minerais, fósforo, cálcio e ferro, sendo, portanto, um dos grãos de maior importância nutricional e econômica globalmente, ocupando a posição de terceira maior cultura cerealífera do mundo (JÚNIOR et al, 2009). É uma planta da família das gramíneas do gênero *Oryza*, que possui vinte e cinco espécies entre perenes e anuais, tais como: *Oryza barthii*, *Oryza glaberrima*, *Oryza latifolia*, *Oryza longistaminata*, *Oryza punctata*, *Oryza rufipogon* e *Oryza sativa*.

O grão do arroz integral é composto pela casca, película, embrião ou gérmen e pelo endosperma (Figura 1). A casca, porção não comestível do grão, representa, aproximadamente, 20% do seu peso (LU; LUH, 1991). O endosperma é o componente principal do grão polido, representa a porção comestível do grão e contém elevado teor de amido (cerca de 60%). A película recobre o grão integral, engloba o pericarpo, a camada de aleurona e está aderida à casca. Essa camada de revestimento do grão rica em fibras comestíveis, vitaminas, minerais, proteínas corresponde a cerca de 5 a 8% da massa do arroz integral. O gérmen ou embrião do grão é a região de onde uma nova planta começa a brotar, apresentando elevada

quantidade de nutrientes, como vitaminas, minerais, além de ser rico em lipídios, perfazendo cerca de 2 - 3 % do peso do arroz integral. O restante é formado por fragmentos não aproveitáveis da polidura e descascamento do arroz.

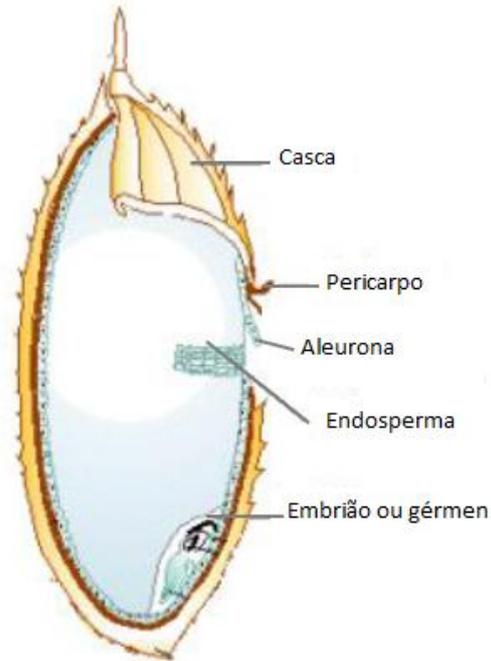


Figura 1- Composição de um grão de arroz (adaptado de MARSHALL e WADSWORTH, 1993).

2.2 Beneficiamento do arroz

O beneficiamento do arroz tradicional (Figura 2) se resume em um processo de retirada da casca, obtenção do farelo (retirada da película) e produção do arroz branco para o consumo (MORO et al., 2004). O farelo, um dos subprodutos do beneficiamento, pode conter concentração variável de amido proveniente do endosperma e de fragmentos de grão, resíduos de casca e proporções variáveis de nutrientes em função do sistema de beneficiamento do arroz, grau de polimento aplicado ao grão, tratamento do grão antes do beneficiamento e da cultivar (EMBRAPA, 1991; 2006; JÚNIOR et al., 2009). O FAI é constituído por diversas partes do grão, principalmente das camadas mais externas como gérmen, pericarpo e camada de aleurona, podendo conter pequenas porções do endosperma.

Mesmo sendo uma fração gerada em quantidade relativamente alta no beneficiamento, o FAI é subaproveitado pela indústria de alimentos. Um dos motivos é a presença de casca, sempre acompanhado, mesmo que em níveis baixos, de sílica e celulose, componentes altamente limitantes para o consumo. Outro fator limitante para o aproveitamento do farelo tem sido sua forma de conservação e susceptibilidade à oxidação por enzimas oxidativas livres, sendo necessária sua estabilização quase que imediata após produção (EMBRAPA, 2009).

Em geral, o beneficiamento do arroz não ocorre logo após a colheita e secagem. Após um período de armazenamento o arroz melhora suas características no cozimento, reduzindo a tendência à aglomeração. As etapas do beneficiamento até o brunimento do grão são complementadas pela homogeneização do arroz, que separa o restante da casca e da película que ainda permanecem aderidas ao grão, através da aplicação de spray de água e ar (EMBRAPA, 2011). O beneficiamento se completa com as etapas de embalagem e expedição, onde o arroz é embalado de acordo com a classificação quanto ao tipo e classe (Portaria do MAPA nº 269, de 17/11/1988) (EMBRAPA, 2011).

O processo de beneficiamento permite um rendimento na etapa de brunimento correspondente a cerca de 10% do peso total do grão em farelo, e o grão polido (endosperma que compõe o arroz branco) corresponde a aproximadamente 60% do peso total do arroz com casca (Figura 3) (EMBRAPA, 2009).

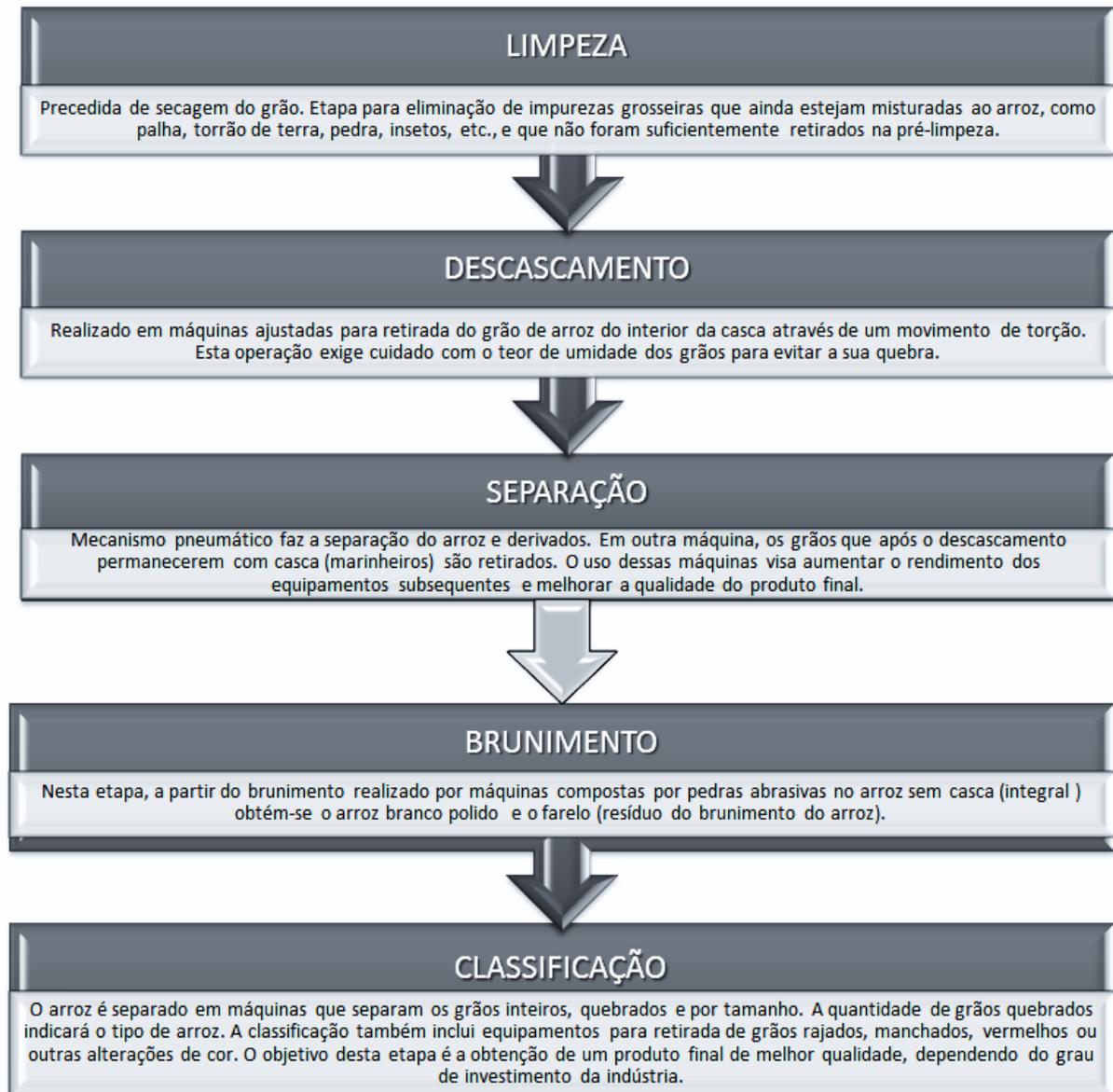


Figura 2- Etapas envolvidas no beneficiamento do arroz (baseado em EMBRAPA, 2011).

O impacto da geração de resíduos na produção do arroz é bastante significativo. Com uma estimativa de safra mundial 2014/2015 em cerca de 480,7 milhões de toneladas de arroz beneficiado, podemos inferir que serão produzidas cerca de 47,5 milhões de toneladas de FAI (CONAB; FAO, 2015).



Figura 3- Rendimento de cada fração obtida no beneficiamento do arroz (EMBRAPA, 2009).

2.3 Aplicações e potencialidades do farelo de arroz

O arroz se destaca dentre os demais cereais pelo seu alto peso em farelo, aproximadamente 10%. Assim como a concentração de lipídios, o teor de minerais também é afetado pelas características genóticas, condições de cultivo e do solo, além do processamento aplicado no arroz durante o beneficiamento (WALTER et al., 2008; EMBRAPA, 2011). A concentração de fibras no FAI é variável, e depende do conteúdo de casca do farelo, sendo considerado ideal um teor de 9% (PESTANA; MENDONÇA; ZAMBIAZI, 2008). As fibras apresentam potencial para uso na alimentação, especialmente em alimentos funcionais (ABDUL-HAMID e LUAN, 2000) (Tabela 1).

Além de boa fonte de vitaminas, que variam de acordo com fatores como o crescimento da planta, minerais como o potássio, magnésio, fósforo e silício também

são encontrados no farelo (PERRETI et al., 2002), mas a sua disponibilidade pode ser afetada pelo alto teor de fibras e pela presença de fitatos (SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). O teor de óleo do farelo também pode variar em função da variedade e fatores agroclimáticos (MALEKIAN et al., 2000; LILITCHAN et al., 2008).

Estudos demonstram que o farelo de arroz assim como seu óleo, possuem propriedades hipocolesterolêmicas, diminuindo o nível de colesterol em animais e humanos (JARIWALLA, 2001). É um produto com elevada concentração de aminoácidos quando comparado a outros farelos, principalmente pelo conteúdo de lisina (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008). A casca do arroz é bastante utilizada como combustível em fornalhas e proteção do solo; o grão é a parte consumida como alimento, enquanto que o farelo é utilizado principalmente para nutrição animal e parte para obtenção do óleo de arroz, além de sua aplicação em pães e biscoitos como farinha rica em fibra e concentrados proteicos (PERRETI et al., 2002; LANDAETA, 2009). Entre outras aplicações do FAI estão o uso em misturas de cereais, multimisturas e vitaminas concentradas, pelo alto valor em aminoácidos específicos (PERRETI et al., 2002). O FAI apresenta propriedades funcionais comparáveis com as da caseína, o que lhe confere elevado potencial de utilização na indústria alimentícia.

Tabela 1 - Composição do grão de arroz e seus derivados (adaptado de POMERANZ e ORY, 1982).

Composição (%)	Grão Polido	Casca	Embrião	Polidura	Farelo
Proteína	7,3 - 8,3	2,3 - 3,2	17,7 - 23,9	13,0 - 14,4	13,2 - 17,3
Gordura	0,4 - 0,6	0,4 - 0,7	19,3 - 23,8	11,7 - 14,4	17,0 - 22,9
Fibra bruta	0,3 - 0,6	40,1 - 53,4	2,8 - 4,1	2,7 - 3,7	9,5 - 13,2
Cinzas	0,4 - 0,9	15,3 - 24,4	6,8 - 10,1	6,1 - 8,5	9,2 - 11,5
Amido	90,2	1,8	2,4	48,3 - 55,4	16,1

Apesar da grande quantidade de farelo de arroz produzida, grande parte dele não vem sendo adequadamente explorada. Sales et al. (1988) citam que apenas cerca de 5% da produção de farelo de arroz potencialmente rica em nutrientes é utilizada para nutrição humana ou animal. De acordo com a CONAB (2015), esse

perfil vem se mantendo e a sobra do beneficiamento do arroz formada por cascas ou resíduo industrial vem sendo utilizada para obtenção do óleo (ORTHOEFER, 2004).

O grande potencial para exploração do FAI continua limitado em função de fatores como a oxidação, pois leva à formação de *off-flavors* que tornam o produto inadequado mesmo para a alimentação animal (KIM; CHUNG; LIM, 2014). A curta vida útil do FAI está relacionada com a atividade de lipases presentes no próprio grão ou da contaminação por microrganismos (TAKANO, 1993; PRANKL; SCHINDLBAUER, 1998; SILVA, BORGES, FERREIRA, 1999; ARAÚJO, 2008). Há indicativos de que essa presença de micro-organismos, principalmente bolores e leveduras contribua para a degradação do produto pela produção de toxinas e/ou fermentação de AG e carboidratos (KIM; CHUNG; LIM, 2014). A rápida deterioração lipídica restringe o aproveitamento do farelo de arroz, tornando-o ainda insipiente e pouco diversificado no Brasil (LIMA, 2005). Contudo, a completa inibição da oxidação de lipídios no farelo é difícil, sendo possível apenas retardar as transformações decorrentes do processo.

O óleo do arroz presente no grão não polido é relativamente estável em função das enzimas lipolíticas estarem localizadas no tegumento dos grãos não processados, estrutura de revestimento do grão, enquanto que a maioria do óleo é armazenada na aleurona e no gérmen (AIZONO et al., 1971; SAUNDERS, 1985). Durante o beneficiamento, essa separação física é destruída e as lipases, mais concentradas na face externa do grão, entram em contato com o óleo levando à hidrólise e liberação de ácidos graxos livres (AGL) e glicerol no farelo (AIZONO et al., 1971; ARAÚJO, 2008; THANONKAEW et al., 2012).

Para promover a estabilização do farelo, tratamentos térmicos podem ser aplicados, no entanto, estes tratamentos podem promover perda ou redução dos níveis de alguns nutrientes presentes, como algumas vitaminas e antioxidantes, como o tocoferol e o orizanol, que contém propriedades carcinoprotetoras e contribuem fortemente para redução dos níveis de colesterol sérico (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008; BORRESEN; RYAN, 2014). A rápida deterioração do FAI ocasiona problemas de armazenagem e tornam seu uso bastante restrito tanto pela indústria alimentícia quanto para a nutrição animal.

Dependendo da composição do farelo e das condições de armazenamento, modificações podem ocorrer devido a síntese ou degradação de substâncias através de amilases e outras enzimas (MARSHALL e WADSWORTH, 1993), além dos

efeitos não enzimáticos de mudança de cor, aumento dos AGL e de outros produtos da degradação dos lipídios durante o armazenamento prolongado (BRUNSCHWILER et al., 2013; PARK et al., 2013; PONTALTI et al., 2014), com a consequente perda do valor nutricional. A maioria das vitaminas é perdida durante o armazenamento e o grau de degradação depende das condições durante este período. Condições extremas de temperatura e umidade durante o armazenamento tendem a promover maiores perdas (MARSHALL e WADSWORTH, 1993; (THANONKAEW et al., 2012; PONTALTI et al., 2014).

A maioria dos métodos propostos para estabilização do FAI baseia-se no uso de calor e desnaturação química de enzimas, com consequente redução da umidade e inativação enzimática (MARSHALL e WADSWORTH, 1993). Alguns estudos compararam a aplicação de micro-ondas com tratamento térmico convencional como alternativa para estabilização do farelo (ROCHA; MARSALOLI JÚNIOR; CABRAL, 2004).

Segundo alguns autores, o óleo do farelo de arroz apresenta boa relação de ômega 3, com perfil de ácidos graxos que oferece benefícios a saúde, conforme recomendação da Organização Mundial da Saúde (WHO, do inglês *World Health Organization*), além de apresentar orizanol e outros compostos fenólicos com atividade antioxidante (CHOUDHARY, GROVER, KAUR, 2015; WANG et al., 2015) (Tabela 2).

Tabela 2 - Composição em ácidos graxos do óleo de farelo de arroz, conforme dados obtidos na literatura.

Ácido Graxo	Nome	%
C 14:0	Ácido mirístico	0,1-1,0
C 16:0	Ácido palmítico	12,0-18,0
C 16:1	Ácido palmitoléico	0,2-0,6
C 18:0	Ácido esteárico	1,0-3,0
C 18:1	Ácido oléico	38,0-50,0
C 18:2	Ácido linoléico	22,0-42,0
C 18:3	Ácido linolênico	0,0-1,0
C 20:0	Ácido araquídico	0,0-1,0

(Fonte: baseado em NICOLOSI et al. 1993; CHOPRA, RASTOGI & SAMBAIAH, 2011)

A estabilização ou inativação das enzimas lipolíticas do FAI através da alteração do pH e o tratamento com a combinação de calor e umidade são também opções para prolongar a vida útil do produto (SAUNDERS, 1985; PRABHAKAR; VENKATESH, 1986; CHAMPAGNE et al., 1992; TAKANO, 1993). Os antioxidantes são uma alternativa eficiente para retardar a rancidez hidrolítica, proteger o alimento contra a degradação de vitaminas, pigmentos e outros ingredientes (ARAÚJO, 2008), prolongar sua vida útil e limitar a oxidação durante o processamento e armazenamento (MCCASKILL e ORTHOEFER, 1994; SILVA; BORGES; FERREIRA, 1999). Nesta classe estão incluídas as vitaminas, minerais, enzimas e pigmentos naturais (MARIUTTI; BRAGAGNOLO, 2007), os quais podem ser obtidos de tecidos vegetais, micro-organismos e fungos, representados principalmente por compostos fenólicos, tocoferóis, flavonoides e ácidos fenólicos (ARAÚJO, 2008), e controlam as reações de oxidação através de um mecanismo que consiste, geralmente, na competição com o substrato (POKORNY, YANISHLIEVA e GORDON, 2008).

Os antioxidantes sintéticos preferencialmente utilizados pela indústria alimentícia são compostos fenólicos como o Terc-butil-hidroquinona (TBHQ) e

ésteres do ácido gálico, como o propilgalato (PG). Os compostos fenólicos sintéticos são bastante solúveis em óleos e gorduras. O TBHQ é reconhecido como antioxidante de grande eficiência na estabilização de gorduras de origem vegetal (GAVA; SILVA; FRIAS, 2009). O ácido cítrico (AC) pode ser utilizado em associação com alguns antioxidantes, atuando como um agente quelante, diminuindo assim a ação pró-oxidante de minerais presentes em alguns produtos e subprodutos, como o farelo de arroz, que possui grande quantidade de ferro e cobre (ARAÚJO, 2008).

O formol também pode ser utilizado para estabilização do farelo, pois interage na síntese proteica e inibe a produção de energia, dificultando tanto a sobrevivência de micro-organismos como a atividade enzimática. Mesmo quando utilizado em baixas concentrações, produz acúmulo de inibidores da formação da metionina e exerce ação tóxica direta sobre as células dos microrganismos, e quando em concentrações mais altas, o formaldeído precipita proteínas, sendo aplicado com o intuito de inibir a atividade enzimática (PAULINO, 2006).

Apesar da utilização de antioxidantes (naturais e sintéticos) em diversos produtos alimentícios, o seu emprego para a estabilização do FAI ainda é pouco estudada. As informações disponíveis na literatura tratam em sua maioria, sobre o uso de mecanismos físicos para a estabilização do farelo (THANONKAEW et al., 2012; PONTALTI et al., 2014). Além disso, a combinação de antioxidantes com processos físicos de estabilização do FAI ainda é pouco conhecida. Os principais relatos envolvendo farelo de arroz tratam da determinação da atividade antioxidante do orizanol presente no óleo do arroz, efeitos da irradiação na estabilidade oxidativa do farelo (PARK et al., 2013), predição da estabilidade por inativação cinética (BRUNSCHWILER et al., 2013), uso de aquecimento convencional (THANONKAEW et al., 2012), infravermelho (PONTALTI et al., 2014), ou o pré-tratamento do farelo com micro-ondas para extração de compostos fenólicos (WATANIKUL et al., 2012), mas em geral, estes estudos não tratam da aplicação de tratamentos combinados.

OBJETIVOS

Geral

Avaliar a estabilidade do farelo de arroz integral e propor um procedimento para sua estabilização, acessível e facilmente aplicável na indústria de alimentos e para nutrição animal.

Específicos

- Caracterizar a composição físico-química e contaminação microbiológica do farelo de arroz integral coletado na região centro ocidental do Rio Grande do Sul;
- Caracterizar o FAI antes e após a aplicação dos tratamentos quanto à composição físico-química e microbiológica;
- Avaliar o efeito de tratamentos utilizando antioxidantes químicos (TBHQ, ácido cítrico e formol), naturais (tocoferol, óleo de Neem) e processos físicos (irradiação e peletização) para a estabilização oxidativa do FAI e aumento da sua vida-de-prateleira;
- Realizar estudos para definição do grau de oxidação do farelo de arroz integral (FAI) para sua posterior utilização na indústria de alimentos;
- Otimizar a metodologia analítica para determinação da acidez no FAI visando a redução no consumo de reagentes e menor geração de resíduos.

3 ESCOPO DO TRABALHO: EXPERIMENTO COM ANTIOXIDANTES E PROCESSOS FÍSICOS

Para melhor entendimento, este estudo foi dividido em tópicos de acordo com as atividades desenvolvidas (Figura 4). Primeiramente foram apresentados o teste de estabilidade e a otimização da metodologia analítica para determinação do índice de acidez. Posteriormente foi feita a caracterização das amostras de farelo de arroz obtidas no RS e a caracterização do farelo de arroz coletado especificamente para a aplicação dos tratamentos referentes aos três experimentos para estabilização e aumento da vida-de-prateleira do FAI – natural, químico e físico. Cada tópico é seguido de reagentes, materiais e métodos, resultados e discussão obtidos.

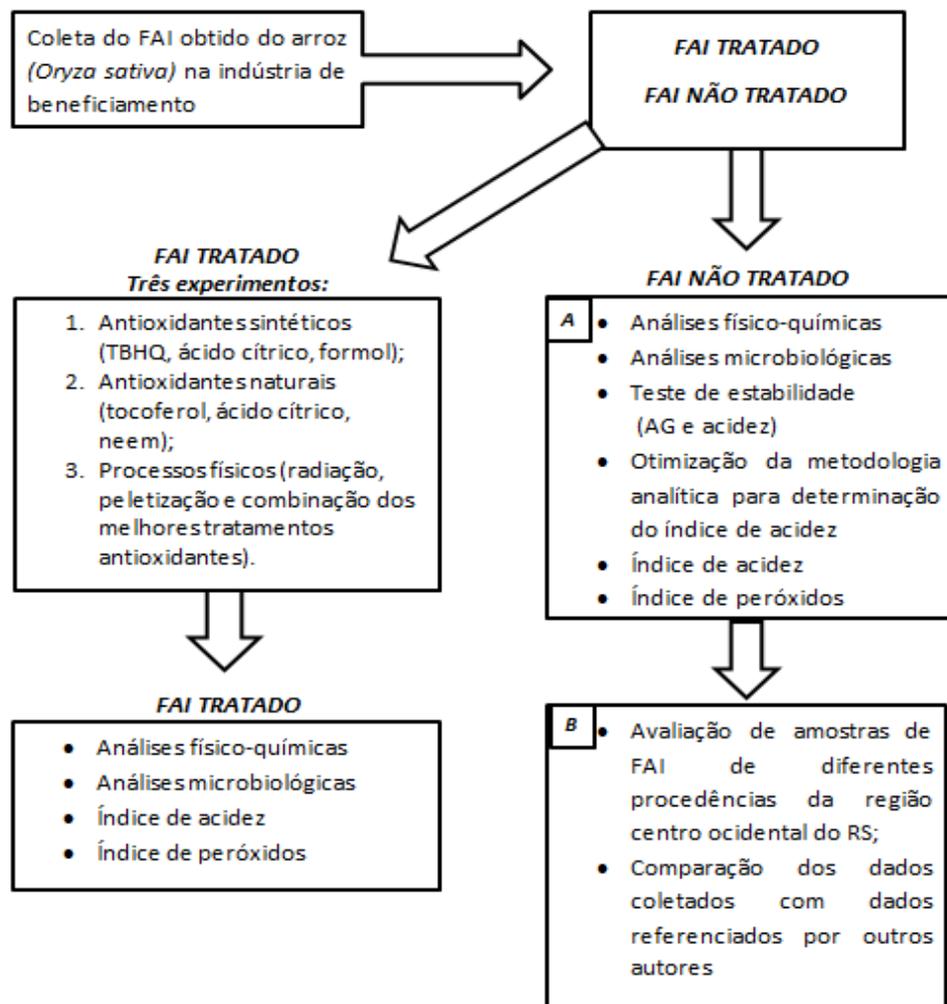


Figura 4 – Fluxograma com as atividades desenvolvidas durante o estudo do FAI.

3.1 TESTE DE ESTABILIDADE DO FAI E OTIMIZAÇÃO DA METODOLOGIA PARA DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ

O teste de estabilidade teve como objetivo verificar o comportamento oxidativo do FAI diante de condições de temperatura e luminosidade semelhantes às utilizadas na indústria durante o armazenamento. Para isso foram realizadas análises de acidez e determinação do perfil de ácidos graxos durante o período de armazenamento. A otimização da metodologia para a determinação da acidez teve como objetivo reduzir o volume de reagentes utilizados e a menor geração de resíduos durante as análises.

3.1.1. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.1.1 Reagentes

Para os procedimentos analíticos realizados durante os testes de estabilidade foi utilizada água destilada e deionizada em coluna de troca iônica, posteriormente purificada em sistema Mili-Q[®] (Milipore, Darmstadt, Alemanha; resistividade de 13,2 MΩ cm). Hexano grau cromatográfico (Carlo Erba, Cornaredo, MI, Itália), cloreto de metileno grau cromatográfico (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA), metanol grau cromatográfico (Merck, Darmstadt, Alemanha), cloreto de sódio, hidróxido de potássio, sulfato de sódio anidro, ácido sulfúrico e cloreto de amônio PA (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) foram utilizados para preparo e determinação dos AG presentes. Para a determinação do índice de acidez empregou-se álcool etílico absoluto PA (Alphatec, Rio de Janeiro, Brasil; Synth, São Paulo, Brasil; Merck, Darmstadt, Alemanha).

3.1.1.2 Coleta das amostras

Para o estudo de estabilidade foi utilizada uma amostra de farelo de arroz integral originado da espécie *Oryza sativa*, não submetido a nenhum tipo de tratamento (térmico ou com antioxidante). A amostra foi obtida de uma indústria de

beneficiamento de arroz localizada na região centro ocidental do Rio Grande do Sul (Faxinal do Soturno), ligada a Cooplantio (Cooperativa dos Agricultores de Plantio Direto do Rio Grande do Sul). O farelo foi coletado em outubro de 2013, período com grande amplitude térmica (variando de 9 a 35 °C), com temperatura média no período da tarde no dia da coleta atingindo 35 °C.

A coleta foi realizada durante o processamento do FAI diretamente na indústria de beneficiamento após a etapa de brunimento do arroz, em uma das saídas das máquinas de beneficiamento e seleção dos grãos. Foi coletada uma porção de 50 kg de FAI, distribuída em porções menores de, aproximadamente, 1,0 kg, as quais foram utilizadas no teste de estabilidade e na otimização da metodologia para determinação da acidez. As amostras foram congeladas (27 ± 5 °C negativos) em sacos plásticos de polietileno/poliestireno (12 µm de espessura) sob vácuo até o momento das análises. O período entre a coleta e a realização das análises foi de aproximadamente três meses, período necessário para aquisição de reagentes e viabilização das análises.

3.1.1.3 Testes de estabilidade

Para avaliação da estabilidade do farelo de arroz foram considerados os diversos fatores interferentes no tempo de vida útil do produto em questão, como a temperatura e o tempo de armazenamento, umidade relativa, contaminação prévia da amostra por fungos (bolores e leveduras), bactérias e insetos.

O farelo de arroz coletado na indústria de beneficiamento logo após a sua obtenção foi avaliado a fim de que fosse determinada a sua estabilidade ao longo de 45 dias. A porção de aproximadamente 1,0 kg de FAI controle foi acondicionada em uma caixa de isopor mantida em temperatura ambiente (25-30 °C) em local ventilado e sem incidência direta de luz solar para avaliação da estabilidade oxidativa ao longo do tempo de armazenamento, medida através da determinação da acidez e ácidos graxos. A determinação da acidez foi realizada nos dias 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 e 45, e ácidos graxos nos dias 0, 15 e 30 de armazenamento.

3.1.1.3.1. Determinação da acidez

A análise da acidez foi realizada conforme metodologia IAL (2008) e AOCS (1997). Os resultados foram expressos em % de acidez em NaOH.

3.1.1.3.2. Determinação de ácidos graxos

A determinação dos ácidos graxos seguiu metodologia proposta por Bligh & Dyer (1959) para extração da fração lipídica, seguida de metilação dos triacilgliceróis, saponificação e esterificação da amostra conforme Hartman & Lago (1986). A partir da mesma porção do farelo utilizado na determinação da acidez foram coletadas porções de 1,33 g (em triplicata) nos dias 0, 15 e 30 de armazenamento para análise do perfil de ácidos graxos. Após extração do óleo do FAI, foram pesados de 20 – 30 mg do óleo seco em nitrogênio 99,998% de pureza (em triplicata) e feita a metilação dos triacilgliceróis, saponificação e esterificação da amostra. As determinações foram feitas através da injeção da amostra em coluna Supelco SP-2560, 120 °C/1 min, 3 °C/min até 240 °C/15 minutos, split 1:50, 25 psi e padrão FAME Mix-37 (P/N 47885-U, Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), utilizando nitrogênio como gás de arraste em Cromatógrafo a gás Agilent 6890N (Santa Clara, CA, EUA) com detector de ionização em chama. Os resultados foram expressos como a média dos valores obtidos após normalização da área, em % de ácidos graxos totais.

3.1.1.4 Otimização da metodologia para determinação da acidez

A determinação do índice de acidez em produtos e subprodutos de origem animal e vegetal é feita através da adição de 150 mL de álcool etílico absoluto neutralizado a 5 gramas de amostra, com agitação ocasional durante 30 min, filtração e titulação com hidróxido de sódio 0,1 M adicionado de solução indicadora de fenolftaleína, até coloração rósea persistente (BACCAN et al, 2001; IAL, 2005).

Considerando o número de análises necessárias neste estudo, além da quantidade de farelo a ser utilizado, haveria um expressivo gasto de reagente e geração de resíduos. Além disso, a amostra em questão possui alta susceptibilidade à oxidação, portanto a coleta de grande quantidade de farelo de arroz para a realização de todas as análises necessárias em tempo hábil, sem causar alterações ao produto, seria inviável. Para evitar o comprometimento dos ensaios analíticos, optou-se pela otimização da metodologia, fazendo-se a redução da escala analítica e visando o menor consumo de reagentes e de amostra.

A otimização do método foi realizada através da comparação dos valores médios de acidez obtidos no procedimento tradicional (IAL, 2005) e na metodologia adaptada. Foram considerados os principais parâmetros analíticos da análise, tais como tamanho da amostra, volume de reagente adicionado e o tempo de agitação da amostra.

Para avaliação da robustez do procedimento otimizado proposto, uma amostra de FAI foi submetida a análise de acidez após variações na massa de amostra, no número de extrações com etanol e no tempo de agitação.

Primeiramente, a amostra de FAI foi analisada em condições de tempo de agitação e volume de etanol utilizado no procedimento tradicional, mas utilizando diferentes quantidades do farelo (0,67 g, 1,0 g, 1,33 g, 1,67g e 2,0 g). Posteriormente, a acidez foi novamente determinada no mesmo farelo, mas utilizando 5,0 g de FAI, conforme método tradicional, modificando-se o número de alíquotas de etanol adicionado para 1, 2 e 3 alíquotas (40 ml cada), mantendo-se a agitação por 30 min. Por último, avaliou-se o tempo de agitação por 1, 5 e 10 min no mesmo FAI, mantendo-se os demais aspectos conforme procedimento tradicional (5,0 g de amostra e agitação por 30 min). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.1.1.5 Análise estatística

A análise dos valores de acidez obtidos no teste de estabilidade foi realizada através de estatística descritiva e cálculo das médias e desvios-padrão a partir das triplicatas da amostra de FAI analisado durante os 45 dias de armazenamento. Os resultados obtidos na otimização da metodologia para determinação da acidez foram avaliados através da comparação de médias e análise de variância de simples

entrada (*One-way*) (ANOVA, do inglês *Analysis of Variance*) do SAS (2008) pelo teste de Tukey.

3.1.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1.2.1. Teste de estabilidade

A amostra utilizada para este teste não apresentou contaminação prévia por insetos que fosse perceptível na análise macroscópica. Mesmo após o período prolongado de exposição a condições ambientais variáveis, não houve desenvolvimento de insetos.

Os valores médios de acidez encontrados variaram de 0,32% a 1,46% (Tabela 3), valores baixos quando considerado o tempo de armazenamento e a alta susceptibilidade do FAI. Em termos de qualidade, indicam pouca alteração em virtude da acidificação decorrente de processos oxidativos. Houve um aumento gradativo da acidez durante o período de armazenamento do FAI (Figura 5).

O curto intervalo de tempo decorrido entre a coleta e análise do FAI, a temperatura entre 20 °C a 30 °C e a pouca luminosidade no local onde a amostra foi mantida durante o período de 45 dias de armazenamento podem justificar os baixos valores de acidez encontrados no período.

Os valores médios de acidez encontrados neste estudo foram semelhantes aos reportados por Park et al.(2013). Os autores avaliaram a acidez em óleo do farelo de arroz tratado com luz visível e armazenado ao abrigo da luz, em temperatura mais elevada (40 °C) e por período mais curto (dez dias).

Tabela 3- Variação da acidez (%) do FAI durante 45 dias de armazenamento.

Tempo de coleta (dias)	Acidez média (%)	Desvio Padrão	CV
1	0,32	0,017	5,24
5	0,67	0,029	4,34
10	0,85	0,029	3,45
15	0,93	0,018	1,90
20	1,03	0,029	2,85
25	1,11	0,017	1,54
30	1,21	0,003	0,22
35	1,26	0,017	1,36
40	1,38	0,030	2,13
45	1,46	0,018	1,24

Apesar de mais susceptível que o FAI em função da sua composição lipídica e da exposição às condições ambientais um pouco mais extremas quando em comparação às aplicadas neste estudo, os valores de acidez encontrados por Park et al. (2013) no óleo do farelo de arroz foram 0,26% no dia 0 e 1,22% no dia 10, semelhantes aos obtidos ao longo de 45 dias (Tabela 3).

O aumento da acidez é consequência da lipólise causada por fungos e bactérias presentes no farelo e da exposição da amostra à presença de luz e oxigênio, à variação de temperatura e umidade do ambiente. A influência destes fatores gera ácidos orgânicos e ácidos graxos livres durante o armazenamento, com a consequente acidificação da amostra. Simultaneamente, a intensa atividade enzimática de lipases associada ao alto teor lipídico também acelera o aumento da acidez (PASHA et al., 2008; PARK et al., 2013).

Os processos oxidativos no FAI se iniciam imediatamente após a sua obtenção no processo de beneficiamento do arroz. Etapas como o descascamento, brunimento e a exposição do gérmen rico em lipídios às enzimas presentes no revestimento do grão desencadeiam os processos de autoxidação e rancidez

enzimática do farelo. Paralelamente, a incidência de microrganismos e a fotoxidação também atua no FAI. Todas essas reações se processam de forma cadenciada até que não haja mais nutrientes disponíveis e substrato para as reações bioquímicas.

Pinheiro et al.(2000) apontaram que o aumento da acidez em função da geração de ácidos orgânicos ocorre principalmente, quando a concentração de microrganismos contaminantes é elevada ou quando processos paralelos de oxidação decorrentes da incidência de luz ou compostos pró-oxidantes estão presentes. Lopes et al. (2009) também justificaram o aumento da acidez ao longo do tempo de armazenamento como uma consequência da lipólise produzida pelo ataque de fungos e bactérias, que resulta em aumento da concentração de AGL. A exposição da fração lipídica no momento do processamento associado à presença de lipases também desencadeia o processo oxidativo (MARSHALL e WADSWORTH, 1993; LERMA-GARCIA et al., 2009; JAYARAMANET e KALYANASUNDARAM,1994 apud KIM et al., 2014).

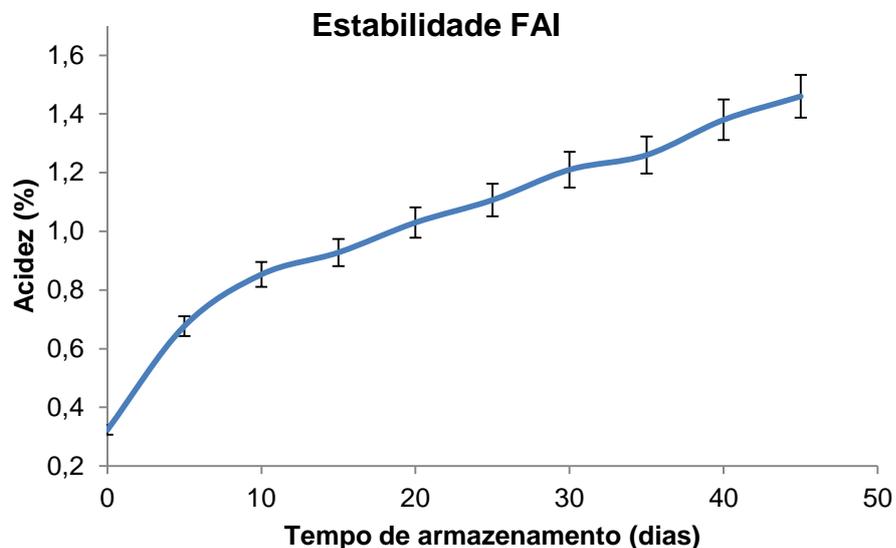


Figura 5 – Acidez do FAI controle ao longo de 45 dias de armazenamento em temperatura de 20- 30 °C e umidade relativa média de 65%.

Com relação aos ácidos graxos, não houve diferença significativa ao longo dos 30 dias de armazenamento para a concentração da maioria dos ácidos graxos

encontrados ($p>0,05$), exceto para C18:3 e C20:1. O perfil dos ácidos graxos analisados pouco se modificou ao longo do tempo. Não é possível concluir se a diferença significativa ($p<0,05$) na concentração de C20:1 é decorrente de processos oxidativos e se estas diferenças são responsáveis por mudanças na acidez. O teor de C18:3 aumentou ao longo do tempo de 0,56 a 0,95%, e C20:1 diminuiu de 1,9% para 0,55%, depois aumentando para 1,0%. Entretanto, esse aparente aumento no teor dos ácidos graxos não ocorre de fato. No decorrer do tempo, há maior oxidação que liberação de AG, e essas diferenças ocorrem em função da normalização das áreas após a análise cromatográfica. Em virtude da baixa concentração de alguns ácidos graxos, como C14:0, C18:3 e C22:0, e C21:0, presente apenas no décimo quinto dia de armazenamento do farelo, durante a normalização das áreas os teores podem ser subestimados, gerando pequenas diferenças no percentual final de compostos presentes (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**).

Tabela 4 – Estabilidade dos ácidos graxos durante 30 dias de armazenamento do farelo de arroz integral.

Ácidos Graxos (%)	Tempo de coleta			Pr>F
	0 dia	15 dias	30 dias	
C 14:0	0,40 ^a ($\pm 0,11$)	0,28 ($\pm 0,08$)	0,30 ($\pm 0,02$)	0,33
C 16:0	20,37 ^a ($\pm 0,54$)	20,27 ($\pm 0,15$)	19,96 ($\pm 0,62$)	0,61
C 18:0	2,04 ($\pm 0,28$)	2,19 ^a ($\pm 0,09$)	2,16 ($\pm 0,08$)	0,59
C 18:1	39,69 ($\pm 0,86$)	40,75 ^a ($\pm 1,22$)	40,60 ($\pm 0,45$)	0,46
C 18:2	33,25 ^a ($\pm 0,93$)	33,13 ($\pm 0,64$)	32,99 ($\pm 0,33$)	0,92
C 18:3	0,56 ^b ($\pm 0,0$)	0,98 ^a ($\pm 0,06$)	0,95 ^a ($\pm 0,09$)	0,003
C 20:1	1,90 ^a ($\pm 0,21$)	0,55 ^c ($\pm 0,03$)	1,00 ^b ($\pm 0,65$)	0,004
C 22:0	0,35 ($\pm 0,07$)	0,39 ($\pm 0,01$)	0,43 ^a ($\pm 0,15$)	0,48

Médias seguidas por letras distintas nas linhas diferem significativamente pelo teste t ($P\leq 0,05$). Foi usada a comparação de médias de variâncias no tempo de armazenamento para todas as análises.

Amarasinghe, Kumarasiri e Gangodavilage (2009) também analisaram óleo de farelo de arroz e encontraram em média, 0,3% de C14:0, valor bastante próximo ao encontrado neste estudo; valores um pouco mais baixos para C16:0 (15,3%) e C18:0 (1,2%) e maiores concentrações de C18:1 (41,6%), C18:2 (38,5%) e C18:3 (1,6%). Lakkakula et al. (2004) também analisaram amostras de farelo, e reportaram concentração um pouco mais elevada para C18:0 ($3,96 \pm 0,13\%$), e um pouco menor para farelos tratados por irradiação ($2,8\% \pm 0,03$). Amarasinghe & Gangodavilage (2004) não encontraram variação significativa entre os valores de AGL obtidos de diferentes extratos (aquoso e em hexano) de óleo de farelo de arroz. Diferenças nos teores de AG podem ter ocorrido em função da oxidação desses compostos durante o armazenamento. Diferenças reportadas para os ácidos graxos saturados presentes no farelo, como no caso do C16:0 podem ocorrer em função de diferenças na composição do farelo utilizado na pesquisa.

A concentração e os AG encontrados dependem do método de extração utilizado e da origem do arroz. Segundo Nicolosi et al. (1993), até 50% dos componentes, entre eles, tocotrienóis e orizanol, podem ser perdidos no processo de extração ou refino do óleo. No caso específico do ácido gadoléico (C 20:1) e do ácido behênico (C 22:0), trata-se de AG não característicos do óleo do farelo de arroz. Esses ácidos graxos podem ter se originado no óleo do FAI a partir da oxidação dos AG presentes, ou como já tratado anteriormente, em decorrência da origem das amostras, teor residual de gérmen no farelo, local de origem, espécie do arroz, solo e tipo de cultivar.

A presença de AGL pode indicar a perda da integridade da molécula de gordura e está relacionada ao estado de conservação dos grãos e da deterioração de óleos e gorduras da amostra, ocasionada pela umidade relativa elevada e propícia ao desenvolvimento dos microrganismos, além da atividade enzimática intensa em função da Aa da amostra no período. Todos esses efeitos podem ter relação com o tempo de armazenamento prolongado e formação de produtos indesejáveis decorrentes da degradação dos compostos presentes no farelo, como carboidratos, proteínas e fibras (PASHA et al., 2008; YOSHIDA et al., 2011; PARK et al., 2013; BORRESEN e RYAN, 2014).

3.1.2.2. Otimização da metodologia para determinação da acidez

Quando comparados os valores de acidez obtidos após a extração com uma, duas e três alíquotas de etanol (40 ml cada), os valores foram 0,90%, 0,80% e 0,85%, respectivamente, não havendo diferença significativa entre eles ($p < 0,05$). Comparando-se as médias de acidez obtidas para as condições testadas (número de extrações, tempo de agitação e peso da amostra) com a acidez obtida no método tradicional (0,88%), não houve diferença significativa entre as médias ($p < 0,05$) (Tabela 5). Para as diferentes quantidades de farelo testadas, os valores foram 0,82%, 0,83%, 0,88%, 0,79% e 0,74% para 0,67g, 1,0 g, 1,33 g, 1,67 g e 2,0 g de FAI, respectivamente.

Tabela 5- Comparação dos valores médios de acidez do FAI nos métodos adaptado e tradicional em função do tempo de agitação, peso da amostra e número de extrações.

Acidez (% NaOH)						
Nº de extrações (40 ml)	1	2	3	Pr>F		
Método adaptado ¹	0,90 ^a	0,80	0,85	0,64		
Método tradicional ²	0,88	0,88	0,88			
Pr>F ²	0,6478	0,5528	0,6028			
Tempo de agitação (min)	1	5	10	Pr>F		
Método adaptado	0,93 ^a	0,81	0,82	0,47		
Método tradicional	0,88	0,88	0,88			
Peso da amostra (g)	0,67	1,0	1,33	1,67	2,0	Pr>F
Método adaptado	0,82	0,83	0,88 ^a	0,79	0,74	0,28
Método tradicional	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	

Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

¹ Comparação entre as médias ao nível de 5% de significância.

² Método tradicional: 5,0 g de amostra, 150 ml de etanol e 30 min de agitação.

A adaptação da metodologia reduziu o tempo total dispensado na análise de cerca de 1 hora para aproximadamente 15 min para cada amostra, redução esta decorrente principalmente, da substituição da etapa de filtração pela centrifugação. Quando comparados ao método tradicional, os resultados obtidos demonstraram que mesmo com a modificação do tamanho da amostra, volume de reagente e tempo de agitação, o valor de acidez obtido não é afetado para a amostra em questão e garante confiabilidade analítica, além de permitir maior agilidade nas análises. A redução no consumo de reagente representou cerca de 50% do volume utilizado no método tradicional.



Figura 6 - Esquema comparativo entre método tradicional (A) e método otimizado (B) para determinação da acidez.

O resíduo gerado na metodologia otimizada representou pouco mais de 26% do volume total gerado na metodologia tradicional, com redução de 5,0 g para 1,33 g

de farelo. A adição de álcool etílico em duas etapas intercaladas com a agitação e centrifugação da amostra permitiu melhor extração dos compostos tituláveis.

Quando comparadas as metodologias, é possível verificar uma importante redução no tamanho da amostra e no consumo de reagente, com a consequente redução no resíduo analítico. A redução do tempo de agitação da amostra de 30 min para 5 min não afetou negativamente os resultados obtidos (Tabela 6).

Após avaliação dos aspectos citados, o procedimento adotado para as análises de acidez neste estudo foi a adição de duas alíquotas de 40 ml de etanol (80 ml) a 1,33 g de FAI com agitação por 5 min em mesa agitadora e centrifugação (5 min, 3000 rpm), seguindo-se com a titulação com NaOH 0,1 M e 3-4 gotas de fenolftaleína 1% (Figura 6), mantendo-se portanto, a proporção massa: volume da metodologia tradicional.

Tabela 6 – Condições analíticas para determinação do índice de acidez no método tradicional e no método adaptado em amostras de farelo de arroz integral.

Etapas analíticas	Método tradicional	Método otimizado
Volume total de álcool etílico absoluto (ml)	150	80
Número de alíquotas de álcool adicionadas	1	2
Quantidade de amostra (g)	5,00	1,33
Tempo de agitação/amostra (min)	30	5
Tempo de filtração (min)	20-30	NA
Tempo de centrifugação (min)/repetição	NA	5
Tempo total para análise (min)/repetição	65	15

NA: não se aplica.

3.1.3 CONCLUSÃO

O teste de estabilidade demonstrou que os processos oxidativos no FAI se iniciam imediatamente após a sua obtenção no processo de beneficiamento do arroz, em função da ação enzimática associada a fatores ambientais.

Em função da alta susceptibilidade do farelo aos processos oxidativos, a agilidade analítica, redução do tempo de preparo e de análise da amostra em cerca de 80% garantiu confiabilidade nos resultados obtidos.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS DE FAI COLETADAS NO RS

Foram obtidos os resultados para caracterização de amostras de farelo de arroz integral analisadas no Laboratório de Análise de Alimentos, Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos (LAA-DTCA), da Universidade Federal de Santa Maria-RS. O objetivo foi estabelecer um breve levantamento sobre os dados disponíveis acerca da composição centesimal, análises microbiológicas e índice de acidez em amostras de FAI de diferentes regiões do RS e, posteriormente, utilizar esses dados como referencial e para comparação com os resultados de literatura.

3.2.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta das amostras

Foram obtidos os dados de 24 amostras de farelo de arroz analisadas no LAA-DTCA, obtidas de diferentes localidades do Rio Grande do Sul durante os anos de 2013 e 2014, sendo 12 amostras de cada ano, cuja procedência incluiu agroindústrias, produtores, cooperativas, indústrias de alimentos e de beneficiamento de arroz.

Análises realizadas

Foram realizadas análises de composição quanto aos teores de proteína bruta (PB), lipídios totais (LP), umidade (UM), cinzas (CZ), fibra bruta (FB), carboidratos (CH), elementos minerais – P, K, Mg, Ca, Cu, Zn e Fe (dados expressos na base natural) e análises microbiológicas, seguidos da respectiva média e desvio-padrão para cada variável analisada (Tabela 7).

As análises foram realizadas conforme metodologia oficial (AOAC, 2005) utilizada no LAA-DTCA. Os resultados foram apresentados como um intervalo de valores mínimo e máximo das variáveis analisadas e comparados com os dados da literatura, segundo Marshall e Wadsworth (1993) e Embrapa (2009; 2011).

3.2.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A amplitude dos resultados obtidos para as variáveis da composição dos farelos é bastante representativa. Para fatores que mais impactam na questão nutricional, como proteína, fibra bruta e lipídios, a variação foi maior, chegando a quase 12% para LP em 2013 e cerca de 10% em 2014. Para PB, a variação foi cerca de 6% em 2013 e 3,5% em 2014. A amplitude no valor de FB foi cerca de 10% para o período de 2013-2014. O valor médio de FB foi ligeiramente maior no ano de 2013 (9,96%) quando comparado com o valor médio encontrado em 2014. No entanto, o teor de FB chega a atingir 15,96% no ano de 2014 (Tabela 7).

A umidade das amostras analisadas variou de cerca de 9% a quase 12% durante o período considerado. Essa variação pode implicar em maior ou menor vida útil do produto, pois a umidade é um dos principais fatores responsáveis por garantir viabilidade de microrganismos, desencadear processos deteriorativos que contribuem para os principais processos oxidativos.

O intervalo entre os valores máximo e mínimo nas variáveis analisadas é bastante relevante e pode impactar diretamente nas características nutricionais e de qualidade do farelo. Da mesma forma, o teor médio de carboidrato foi um pouco maior em 2014 (42,56%). No entanto, a variação no mesmo ano é bem maior, chegando a 18,42% (Tabela 7). A maior disponibilidade de carboidratos pode significar mais energia disponível para o desenvolvimento de microrganismos presentes na amostra. Os valores médios obtidos na análise da composição dos farelos dos anos de 2013 e 2014 são semelhantes aos encontrados na literatura (MARSHALL; WADSWORTH, 1993; MCCASKILL; ORTHOEFER, 1994; EMBRAPA, 2011).

A análise apenas do valor médio das variáveis analisadas não indica a real composição nutricional da amostra. A variação na composição do farelo é decorrente principalmente, do cultivar a partir do qual o farelo foi obtido, o beneficiamento aplicado ao arroz, tipo de processamento aplicado ao farelo, variações nos fatores ambientais - como temperatura, estação climática e volume de chuvas no período, tipo de solo, condição de armazenamento, tipo de cultivo, grau de moagem, entre outros fatores (ABDUL-HAMID et al., 2007), por isso a grande variação nos valores encontrados.

Tabela 7 - Composição de amostras de farelo de arroz de diferentes procedências da região centro ocidental do estado do RS durante os anos de 2013 e 2014. Total de 12 amostras avaliadas em cada ano.

Variáveis	Resultados 2013		Resultados 2014		Literatura ¹
	Média e desvio padrão	Amplitude	Média e desvio padrão	Amplitude	Amplitude
UM, %	10,62 ± 0,85	9,29 – 11,80	10,18 ± 0,65	8,62 – 10,92	5 - 12
CZ, %	10,10 ± 0,90	8,42 – 11,35	10,67 ± 1,84	8,88 – 15,36	7 - 12
PB, %	11,92 ± 2,05	7,75 – 14,14	12,32 ± 0,89	9,84 – 13,22	10 – 17,8
FB, %	9,96 ± 3,88	5,25 – 15,51	8,55 ± 2,74	6,57 – 15,96	13 – 26,5
LP, %	16,49 ± 3,71	8,79 – 20,35	15,96 ± 2,61	9,73 – 19,36	5,7 – 25
CH, %	41,29 ± 2,85	38,08 – 46,93	42,56 ± 4,51	30,8 – 49,22	40 – 49,5
Acidez (% NaOH)	18,0 ± 8,80	2,0 – 30,6	24,39 ± 15,98	14 – 42,8	

¹ Segundo Marshall; Wadsworth (1993), Embrapa (2011), Park et al. (2013).

Os valores de acidez obtidos para o período de 2013 e 2014 são bastante elevados e apresentam grande amplitude. O valor médio de acidez encontrado em 2014 é maior que em 2013 (18,0% e 24,39%, respectivamente), e mais elevados que os valores observados no teste de estabilidade realizado no FAI. A amplitude nos valores máximo e mínimo para acidez nos dois períodos chega a quase 30% (Tabela 7). Os altos valores de acidez e a grande variação encontrada podem estar relacionados ao tempo decorrido entre a coleta da amostra e a realização da análise, bem como a condição da amostra no momento da análise. No entanto, não é possível apontar a verdadeira causa da acidez elevada, pois as amostras não foram acompanhadas de informações adicionais no momento da entrega para análise.

Fatores como ação enzimática, oxidativa ou microbiana, hidrólise dos triglicerídeos, alta atividade de água e umidade excessiva, além do contato com o oxigênio e presença de luz podem contribuir para valores elevados de acidez (NDE et al., 2015). No entanto, não é possível afirmar qual o principal fator responsável pelos valores de acidez observados nas amostras utilizadas neste estudo.

A flora bacteriana naturalmente presente no farelo de arroz é composta principalmente, por fungos (bolores e leveduras) – a maioria do gênero *Aspergillus sp*, *Fusarium sp* e *Penicillium sp*, e bactérias mesofílicas, entre elas, coliformes e Salmonela. Os resultados da análise microbiológica indicaram a presença de coliformes a 35 °C e bolores e leveduras nos farelos analisados, mas não foi encontrada a presença de Salmonella. A contaminação por bolores e leveduras foi semelhante de um ano para outro, e a presença de coliformes a 35 °C foi mais elevada em 2014, com variação de duas unidades logarítmicas, o que pode ter sido a causa dos valores máximos de acidez observados no período. Essa variação não foi observada em 2013 (Tabela 8).

O desenvolvimento de coliformes pode ter contribuído para a degradação do farelo e favorecido a oxidação dos seus componentes, principalmente dos lipídios e proteínas. A presença desses microrganismos também pode ter contribuído para a geração de ácidos graxos livres e ácidos orgânicos, responsáveis por modificações do pH e conseqüente, acidificação do meio.

Tabela 8 - Análise microbiológica de amostras de FAI do RS de 2013 e 2014, em NMP/g, total de 12 amostras cada ano.

Análises	Resultados 2013	Resultados 2014
	Amplitude	Amplitude
Bolores e leveduras	$3,6 \times 10^3 - 3,2 \times 10^4$	$2,3 \times 10^3 - 2,7 \times 10^4$
Coliformes 35 °C	$1,5 \times 10^2 - 2,4 \times 10^2$	$2,4 \times 10^2 - 9,3 \times 10^4$
Salmonela	Ausente	Ausente

Os bolores e leveduras possuem grande capacidade de desenvolvimento em ambientes com baixa disponibilidade de água e são menos exigentes que as bactérias, além de possuírem grande capacidade adaptativa em meios ácidos (ORDOÑEZ et al., 2005). O desenvolvimento de leveduras costuma ser favorecido em ambientes ácidos e temperaturas médias de 30 °C (GAVA, SILVA, FRIAS, 2008). A elevação da acidez no decorrer do armazenamento é um indicativo da presença

de fatores responsáveis por catalisar os processos oxidativos e gerar o aumento da acidez na amostra. Alimentos com atividade de água igual ou menor que 0,60 são considerados microbiologicamente estáveis, no entanto, a umidade associada à presença de oxigênio e luminosidade pode alterar a condição inicial da amostra logo após o beneficiamento do arroz, tornando o produto propício para o seu desenvolvimento e, conseqüente, produção de ácidos orgânicos, atividade enzimática e oxidação.

4.2.2 CONCLUSÃO

A grande amplitude dos valores da composição centesimal do FAI para o período avaliado pode implicar em maior ou menor vida útil do produto, principalmente quando considerados os valores de umidade e acidez.

A variação no teor dos nutrientes presentes interfere diretamente na qualidade e valor nutricional do FAI, sendo necessária análise preliminar antes da sua utilização como fonte de nutrientes.

3.3 ESTABILIZAÇÃO DO FAI ATRAVÉS DE ANTIOXIDANTES E PROCESSOS FÍSICOS

3.3.1 CARACTERIZAÇÃO DO FARELO DE ARROZ INTEGRAL (FAI)

Previamente à aplicação dos tratamentos no FAI, foi realizada sua caracterização com o objetivo de definir as características de composição centesimal, físico-químicas e microbiológicas, acidez, pH, Aa e ácidos graxos. Após a aplicação dos tratamentos, a composição dos farelos foi novamente analisada. A definição destas características teve o objetivo de avaliar o comportamento oxidativo do FAI diante das condições de armazenamento e demais fatores interferentes avaliados neste estudo.

3.3.1.1. MATERIAIS E MÉTODOS

Reagentes

Nas análises de minerais foram utilizados os ácidos nítrico PA (65%) Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) e perclórico ACS (69-72%) (Sigma-Aldrich). Éter de petróleo PA (30-70) e acetona PA (Synth, São Paulo, Brasil) foram usados para determinação da gordura. Para a determinação do índice de acidez empregou-se álcool etílico absoluto PA (Alphatec, Rio de Janeiro, Brasil; Synth; Merck).

Local de coleta das amostras

Para este estudo foi utilizado farelo de arroz da espécie *Oryza sativa* coletado em duas indústrias de beneficiamento de arroz da região centro ocidental do Rio Grande do Sul (Faxinal do Soturno), ligadas a Cooplantio (Cooperativa dos Agricultores de Plantio Direto do Rio Grande do Sul), responsável pelo

beneficiamento do arroz dessa região. Foram realizadas quatro coletas durante os meses de junho, setembro e outubro de 2013, e maio de 2014, sendo que as amostras de 2013 foram coletadas na mesma indústria e o FAI coletado em 2014, em uma segunda indústria. O FAI foi coletado durante o processamento do arroz diretamente na indústria de beneficiamento após a etapa de brunimento, em uma das saídas das máquinas de beneficiamento e seleção dos grãos.

O farelo foi armazenado em sacos de ráfia amarrados manualmente e armazenados sobre pallets de madeira em local coberto, seco e ventilado, ao abrigo da luz direta. Esse farelo denominado 'controle', foi armazenado em ambiente com temperatura e umidade relativa sujeitas a variações da estação no período de coleta, mantendo-se a temperatura média de 27 °C e maior amplitude térmica no mês de outubro (9 ° a 35 °C).

Análise da composição centesimal e mineral

A composição centesimal do FAI foi analisada nas amostras "controle" quanto aos teores de PB, LP, UM, CZ, FB, elementos minerais – Ca, P, Cu, Mg, Zn e Fe, pH, atividade de água (Aa) e acidez. As análises seguiram as recomendações oficiais da *Association of Official Analytical Chemists* – AOAC para determinação de cinzas (CZ) – AOAC 900.02 (1995), fibra bruta (FB) – AOAC Bc 6-49 (1997), matéria seca (MS) 934.01 (2005) e minerais AOAC 975.03 (1995).

O extrato etéreo foi determinado conforme recomendado pela *American Oil Chemists' Society* (AOCS), procedimento Am 5-04 (2004). A concentração de N foi determinada em analisador Leco FP-528 (St. Joseph, Michigan, USA) seguindo as recomendações do fabricante. O gerenciamento do instrumento é realizado com o software Leco FP-528 (St. Joseph, Michigan, USA). O equipamento opera com tempo aproximado de análise de 3 min. A amostra é pesada em cadinho de folha de estanho e introduzida automaticamente em um forno de decomposição a 850 °C com atmosfera rica em O₂ para rápida combustão. O conteúdo de N, expresso em mg.Kg⁻¹, é determinado por calibração externa usando uma curva analítica preparada com EDTA (Leco *calibration sample* P/N 502-092). A faixa de trabalho do equipamento é de 0,016 a 100%, equivalente a 0,04 - 300 mg em massa absoluta de

N. O teor de proteína é obtido a partir da multiplicação dos valores de nitrogênio encontrados pelo fator de conversão de 6,25.

Os elementos minerais foram avaliados nos digeridos empregando espectrômetro de absorção atômica com chama (Varian SpectrAA 220, Melbourne, Australia) seguindo as recomendações do fabricante do equipamento e condições específicas para cada elemento (Tabela 9).

Os elementos Ca e Mg foram analisados na solução da amostra utilizando-se lantânio (La^{3+}) a 1% (m/v) na solução da amostra. Para as determinações de Ca, Cu, Zn, Fe, Mg foram utilizadas lâmpadas de cátodo oco monoelementares. A quantificação dos elementos foi realizada por calibração externa, usando-se soluções de referência preparadas em HCl 0,6 mol/L.

Tabela 9- Condições analíticas para determinação por Espectrometria de Absorção Atômica.

Condição	Ca	Mg	Cu	Zn	Fe
Agente de liberação	La 1%	La 1%	-	-	-
Corrente da lâmpada (mA)	10	4	4	5	5
Comprimento de onda (nm)	422,7	285,2	324,8	213,9	248,3
Fenda (nm)	0,5	0,1	0,5	0,1	0,2
Chama	Ar-Ac.	Ar-Ac.	Ar-Ac.	Ar-Ac.	Ar-Ac.
Faixa de trabalho (mg.L^{-1})	0,5-4,0	0,125-1	2-10	0,4-2,0	3-9
R²	0,999	0,990	0,995	0,991	0,981
LD (mg.L^{-1})	0,06	0,003	0,011	0,008	0,014
LQ (mg.L^{-1})	0,20	0,010	0,040	0,030	0,05

Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada logo após a coleta do FAI na indústria e no 'Tempo 1' de armazenamento nos experimentos 1, 2 e 3. Foram homogeneizadas 10 g de farelo com 100 ml de água ultra pura (1:10), com agitações esporádicas a cada 5 min e leitura após 30 min, em triplicata, com eletrodo de vidro combinado (potenciômetro Digital Hanna modelo HI 223, Hanna Instruments, Rhode Island, EUA), segundo IAL (1998).

Atividade de água

A atividade de água (Aa) foi realizada nas amostras de FAI do "Tempo 1" de armazenamento dos experimentos químico e natural. Após a calibração do analisador de atividade água (modelo LabSwift-Aw, marca Novasina, Lachen, Suíça,), o farelo foi colocado na cápsula analítica de plástico inerte previamente identificada, em quantidade equivalente a 80% da sua capacidade. A cápsula foi então, inserida no equipamento e após aproximadamente 11 min foi anotada a leitura da amostra. O procedimento foi realizado conforme instruções do manual do equipamento.

Análise Estatística

A composição centesimal dos farelos foi analisada através da estatística descritiva para demonstração das médias e desvios-padrão obtidos a partir das duas repetições de cada amostra. Os resultados foram então, analisados comparando-se os tratamentos dentro do tempo 1 e dentro do tempo 90, com base nas médias obtidas.

3.3.1.2. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A alta variabilidade na composição do FAI foi observada nas diferentes coletas, através dos resultados obtidos para as variáveis avaliadas, com exceção do teor de proteína que apresentou pouca variação (11,58% a 12,55%). O teor de cinzas variou em cerca de 3,0%, e impactou diretamente no teor de minerais. A concentração de ferro foi a que apresentou a maior variação, sendo o valor mínimo encontrado igual a 81,63 mg/kg e o máximo, 191,07 mg/kg (Tabela 10). O teor de umidade variou de cerca de 9,0% a 10,23%, e mesmo sendo uma baixa variação, pode implicar em maior ou menor vida útil do produto.

Tabela 10 - Composição centesimal das amostras de FAI (n=4).

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	VALOR
Umidade (%)	8,99 - 10,23
Proteína (%)	11,58 – 12,55
Lipídios totais (%)	14,7 – 18,2
Cinzas (%)	8,51–10,17
Fibra bruta (%)	6,03 – 7,66
Ferro (mg/kg)	81,63 – 191,07
Magnésio (g/kg)	12,16 – 15,12
Cobre (mg/kg)	6,46 – 10,63
Zinco (mg/kg)	54,07 – 62,4
Cálcio (mg/kg)	429 – 609
Fósforo (g/kg)	17,43 – 19,35
pH	6,58 - 7,1

O tipo de processamento aplicado ao FAI pode afetar a sua composição nutricional e interferir na concentração de alguns componentes como minerais, fibra bruta e lipídios. Essas variações são ocasionadas também por outros fatores como a cultivar do arroz a partir do qual o farelo foi obtido, região produtora, tipo de solo, clima e sazonalidade (ABDUL-HAMID et al., 2007; LERMA-GARCIA et al., 2009). Portanto, farelos obtidos na mesma época do ano em regiões diferentes podem apresentar composição centesimal bastante variável. Quando comparados os valores encontrados neste estudo com os existentes na literatura (MARSHALL e WADSWORTH, 1993; EMBRAPA, 1991; 2006; JÚNIOR et al., 2009), essas variações foram bastante evidentes.

Tabela 11 – Médias, desvios-padrão e coeficientes de variação para atividade de água (Aa) dos farelos de arroz integral do tempo inicial de armazenamento em cada tratamento dos experimentos natural e químico.

Experimento	Tratamento	Aa	Desvio-padrão	CV (%)
Natural	1	0,56	0,008	0,014
	2	0,56	0,002	0,004
	3	0,53	0,003	0,005
	4	0,56	0,003	0,006
	5	0,57	0,001	0,002
	6	0,57	0,002	0,004
	7	0,59	0,001	0,002
	8	0,55	0,003	0,005
Química	1	0,56	0,011	0,019
	2	0,59	0,004	0,007
	3	0,57	0,006	0,010
	4	0,61	0,005	0,008
	5	0,56	0,007	0,012
	6	0,61	0,001	0,001
	7	0,56	0,001	0,001
	8	0,61	0,002	0,003

Os valores Aa obtidos não deixam claro se o aumento da acidez (Figura 5) é decorrente da degradação dos lipídios e geração de ácidos livres, pois praticamente não houve variação dos valores entre os farelos analisados (Tabela 11). O tratamento térmico aplicado ao FAI atua no controle do índice de acidez à medida que reduz a Aa e retira umidade da amostra. O menor conteúdo de água retarda as reações químicas oxidativas em óleos, gorduras e proteínas e, conseqüentemente, controla a degradação do produto. A Aa do farelo antes e após a aplicação dos tratamentos químicos e naturais foi próxima a 0,60 (Tabela 12), valor considerado

limitante para o desenvolvimento de micro-organismos, o que torna o alimento microbiologicamente estável. Entretanto, alguns bolores conseguem se desenvolver em alimentos com Aa próxima a 0,60 (GAVA, SILVA, FRIAS, 2008). Valores extremos de Aa podem acarretar oxidação lipídica em produtos acabados. De acordo com Roos (2001), alimentos com atividade de água na faixa de 0,60 (como é o caso do farelo de arroz) são bastante susceptíveis a reações químicas e mudanças enzimáticas, tais como catalise de enzimas, escurecimento não enzimático e oxidação lipídica.

Não foi feita a contagem ou indicação macroscópica dos insetos presentes no farelo, mas ao longo do período de armazenamento na fábrica de ração, desenvolveram-se carunchos ao final dos 90 dias de armazenamento, principalmente nos farelos em que não houve aplicação de tratamento (T1). Nos tratamentos contendo antioxidantes e processos de peletização e irradiação os insetos se desenvolveram apenas tardiamente (após 90 dias), sugerindo que de certa forma, houve efeito dos tratamentos inibindo ou retardando o seu aparecimento.

3.3.1.3. CONCLUSÃO

O alto teor de cinzas pode indicar concentração elevada de casca adicionada ao farelo, o que é indesejável do ponto de vista nutricional. Teores elevados de cinzas podem acarretar maior presença de metais indutores da oxidação no FAI.

3.3.2 APLICAÇÃO DOS TRATAMENTOS NO FARELO DE ARROZ INTEGRAL

Os tratamentos para estabilização do farelo de arroz foram definidos com base em publicações e referências até o momento, considerando as características deste subproduto e os processos mais utilizados. Para isso, eles foram divididos em três grupos: aditivos (ou antioxidantes) sintéticos, aditivos naturais e processos físicos. Esta divisão também seguiu tendências e tecnologias mais utilizadas pela indústria, considerando o fácil acesso e custo para sua aplicação.

Foram avaliadas diferentes combinações de antioxidantes e processos físicos, visando à estabilização oxidativa do FAI, divididos em três experimentos: Experimento 1 - Químico (combinação de antioxidantes químicos), Experimento 2 - Natural (combinação de antioxidantes naturais) e Experimento 3 - Físico (combinação de tratamento térmico, irradiação e uso de antioxidantes).

3.3.2.1. OBJETIVOS E TRATAMENTOS APLICADOS EM CADA EXPERIMENTO

A. Experimento 1 (Químico) – Aditivos sintéticos antioxidantes, quelantes e inibidores de enzimas

O objetivo deste experimento foi avaliar o uso de substâncias químicas com potencial antioxidante, como o TBHQ (terc-butil-hidroquinona) associado ao ácido cítrico (AC) como agente quelante e ao formol, um inibidor da enzima lipase em farelo de arroz (EMBRAPA, 2006b).

Os antioxidantes foram pesados individualmente e aplicados às porções de 50 kg de FAI no dia da coleta ainda nas dependências da indústria de beneficiamento.

Foram utilizadas diferentes combinações dos antioxidantes através de um delineamento fatorial com dois níveis e três fatores: 2 x 2 x 2 (Tabela 12).

Tabela 12 – Descrição dos tratamentos utilizados no experimento químico (mg/kg).

Tratamento	TBHQ	Acido Cítrico	Formol
T1	0	0	0
T2	0	0	1000
T3	0	250	0
T4	0	250	1000
T5	1000	0	0
T6	1000	0	1000
T7	1000	250	0
T8	1000	250	1000

B. Experimento 2 (Natural) – Aditivos antioxidantes naturais

O objetivo deste experimento foi avaliar o uso de substâncias naturais com potencial antioxidante, como delta e gama-tocoferóis obtidos a partir do beneficiamento de grãos de soja, associados ao ácido cítrico (AC) como agente quelante e ao óleo de Neem, conhecida fonte de azadiractina, indicado como um inibidor da enzima lipase em farelo de arroz (EMBRAPA, 2006b).

Os antioxidantes foram pesados individualmente e aplicados às porções de 50 kg de FAI no dia da coleta ainda nas dependências da indústria de beneficiamento.

Os antioxidantes naturais foram aplicados no farelo conforme Tabela 13. Foi utilizado delineamento fatorial com dois níveis e três fatores: 2 x 2 x 2.

Tabela 13- Tratamentos e antioxidantes utilizados no experimento natural (mg/kg).

Tratamento	Tocoferol	Ácido Cítrico	Óleo de Neem
T1	0	0	0
T2	0	0	1000
T3	0	250	0
T4	0	250	1000
T5	1000	0	0
T6	1000	0	1000
T7	1000	250	0
T8	1000	250	1000

C. Experimento 3 (Físico) – Processos físicos associados a antioxidantes

O objetivo desta etapa foi avaliar a associação dos tratamentos mais completos com antioxidantes (T8) dos experimentos 1 e 2 e sua associação com processos físicos de irradiação e peletização. Assim como nas demais etapas, o objetivo final foi a inibição das enzimas lipases e lipoxigenases e redução dos processos oxidativos. Será utilizado um delineamento fatorial com três níveis e três fatores: 3 x 3 x 3. A aplicação dos tratamentos está esquematizada na Tabela 14.



Figura 7 – Aplicação dos antioxidantes; 1) Demonstração da mistura do FAI e antioxidantes; 2) FAI tratado de acordo com cada tratamento e embalado em sacos de rafia; 3) Amostras para análise coletadas após aplicação dos antioxidantes. (Fotos: do autor)

A aplicação da irradiação micro-ondas foi realizada através do aquecimento sucessivo em forno micro-ondas caseiro (30 litros, 2450 mHz, marca Midea) em potência máxima (1050 W) de porções de 1,5 kg de FAI durante 4 min até temperatura média final de 85 ± 3 °C ao final do processo. A determinação da temperatura média foi realizada através da leitura em três pontos diferentes do farelo. Este processo foi combinado com os tratamentos 'T8' do experimento 1 (1000 mg/kg de TBHQ, 250 mg/kg de ácido cítrico e 1000 mg/kg de formol) e 'T8' do experimento 2 (1000 mg/kg de tocoferol, 250 mg/kg de ácido cítrico e 1000 mg/kg de Neem).

Tabela 14- Tratamentos e antioxidantes utilizados no experimento físico.

Tratamento	Processo Físico	Antioxidante
T1	-	-
T2	-	Natural ¹
T3	-	Químico ²
T4	Irradiação	-
T5	Irradiação	Natural ¹
T6	Irradiação	Químico ²
T7	Peletização	-
T8	Peletização	Natural ¹
T9	Peletização	Químico ²

¹ 1000 mg/kg de tocoferol, 250 mg/kg de ácido cítrico e 1000 mg/kg de Neem.

² 1000 mg/kg de TBHQ, 250 mg/kg de ácido cítrico e 1000 mg/kg de formol.

A aplicação de calor úmido no farelo de arroz consistiu em um processo de condicionamento a 90 °C por aproximadamente 10 s para peletização com matriz de 4,75 mm, em peletizadora a vapor (marca Koppers Júnior, modelo C40), com motor de 50 CV (marca Siemens) e anel com furos de diâmetro de 3/16 polegadas com controle de temperatura para que a temperatura do pellet não ultrapassasse 12 °C acima da temperatura ambiente (EMBRAPA, 2000).

Os tratamentos envolvendo peletização e irradiação com micro-ondas foram realizados conforme procedimentos estabelecidos na fábrica de ração na Embrapa Suínos e Aves em Concórdia, SC (Embrapa, 2005).



Figura 8 – Determinação da temperatura após processo de irradiação do farelo de arroz integral (Fotos: do autor)

3.3.2.1.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Reagentes

Para a determinação do índice de acidez empregou-se álcool etílico absoluto PA (Alphatec, Rio de Janeiro, Brasil; Synth; Merck). Sulfato de ferro (II) heptahidratado PA (Vetec), cloreto de bário dihidratado PA (Vetec), sulfato de ferro heptahidratado PA (Sigma-Aldrich), ácido clorídrico PA (Vetec), peróxido de hidrogênio PA (Synth), tiocianato de amônio PA (Sigma-Aldrich) e cloreto de ferro(III) hexahidratado A.C.S. (Sigma-Aldrich) foram empregados na análise do IP. Os reagentes utilizados nas demais análises já foram citados anteriormente.

Coleta das amostras do 'Tempo 1'

A origem e condições de armazenamento dos farelos utilizados para aplicação dos tratamentos nos respectivos experimentos é a mesma mencionada em "Caracterização do farelo de arroz integral, Local de coleta das amostras" (pág. 42).

O FAI obtido foi separado em porções de 50 kg, as quais foram tratadas de acordo com os tratamentos dos três experimentos, totalizando 400 kg de FAI para o experimento químico, 400 kg para o experimento natural e 450 kg para o experimento físico, para cada repetição, em cada repetição. O farelo obtido logo após a aplicação dos tratamentos foi denominado 'Tempo 1' (1 dia) de armazenamento.

Do saco de 50 kg de FAI 'Tempo 1' foram coletadas porções de 500 g (FAI 'Tempo 1'), sendo uma para realização das análises microbiológicas e três porções de 1,0 kg para análise da composição centesimal, acidez e índice de peróxidos. As amostras destinadas a análise microbiológica foram encaminhadas em isopor com gelo para o local da análise. As demais porções foram embaladas a vácuo e congeladas (27 ± 5 °C negativos) em sacos plásticos de polietileno/poliestireno (12 µm de espessura) para realização das análises, finalizadas ao longo de três meses

após a coleta. Cada amostra de FAI foi analisada com duas repetições e em triplicata.

As análises realizadas no FAI 'Tempo 1' foram composição centesimal e mineral, análise de acidez, índice de peróxidos e análises microbiológicas.

Análise da composição centesimal e mineral

No FAI denominado 'Tempo 1' de cada tratamento dos três experimentos foram avaliados os teores de PB, LP, UM, CZ, FB, elementos minerais – Ca, P, Cu, Mg, Zn e Fe, acidez e índice de peróxidos (IP). A análise microbiológica foi realizada apenas no FAI 'Tempo 1' do tratamento 1 de cada experimento. As análises de composição, elementos minerais, pH e IP foram realizadas na Embrapa Suínos e Aves, em Concórdia, SC. As análises de acidez foram realizadas no NTA - UFSM, em Santa Maria, RS. As metodologias referentes à análise da composição já foram descritas anteriormente em "Estabilização do FAI através de antioxidantes e processos físicos - Análise da composição centesimal" (página 47) deste estudo.

Índice de peróxidos

Foi utilizada metodologia baseada em Shantha & Decker (1994) e metodologia oficial IDF (74 A: 1991). O óleo do farelo foi extraído com solvente orgânico e adicionado de solução de tiocianato de amônio sob agitação, seguida da adição de solução de Fe(II) sob agitação, incubação por 5 min e leitura em espectrofotômetro UV-VIS (Varian Cary 50 Probe, Melbourne, Austrália) em 500 nm.

Análise de acidez

Para análise do FAI foi aplicado o método otimizado para determinação da acidez, conforme avaliado neste estudo e descrito na página 37. O resultado do valor de acidez foi expresso em % NaOH. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

Análises microbiológicas

As análises foram efetuadas de acordo com MAPA (2001), no entanto, a obtenção dos farelos de arroz utilizados neste trabalho não seguiram as especificações de higiene específicas para consumo humano, pois o destino dos mesmos foi o beneficiamento e posterior estudo e aplicação na nutrição animal. Por este motivo, foram determinados bolores e leveduras (contagem total de fungos), coliformes a 35 °C e Salmonella, microrganismos responsáveis pela geração de AGL e ácidos orgânicos nos alimentos. A contagem total de bolores e leveduras foi utilizada como indicativo de microrganismos deteriorantes e responsáveis por processos oxidativos, assim como a contaminação por coliformes a 35 °C. Em caso positivo, a determinação de Salmonella poderia servir como indicativo da eficiência dos tratamentos aplicados ao farelo. As análises microbiológicas foram realizadas nas duas repetições dos farelos e em triplicata, sendo que a primeira repetição foi denominada 'Lote A' e a segunda repetição, 'Lote B'. As análises microbiológicas foram realizadas pelo Centro de Diagnóstico de Sanidade Animal – Cedisa, Concórdia, SC, conforme metodologia do “*Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*” e AOAC (2000).

Armazenamento do FAI por 90 dias

Após a aplicação dos tratamentos o farelo foi embalado em sacos de rafia de 50 kg amarrados manualmente e armazenado sobre pallets de madeira em local coberto, seco, ventilado e fora do alcance da luz direta, durante 90 dias, na fábrica de ração da Embrapa Concórdia, SC. Durante o período de armazenamento a temperatura média foi de 28 ± 5 °C. Esse farelo foi denominado 'Tempo 90'.

As análises realizadas no FAI 'Tempo 90' foram composição centesimal e mineral, análise de acidez, índice de peróxidos e análises microbiológicas.

Coleta das amostras 'Tempo 90'

Dos sacos de 50 kg de FAI de cada tratamento dos três experimentos armazenado por 90 dias na fábrica de ração da Embrapa Suínos e Aves, foi coletada uma porção de 500 g para realização das análises microbiológicas e três porções de 1,0 kg para análise da composição centesimal, acidez e índice de peróxidos. As amostras destinadas a análise microbiológica foram encaminhadas em isopor com gelo para o local da análise. As demais porções foram embaladas e congeladas conforme as condições já descritas no 'Tempo 1' (página 60). Os ensaios tiveram duração de dois meses após a coleta. Cada amostra de FAI foi analisada com duas repetições e em triplicata. Foram realizadas as mesmas análises já relacionadas para o FAI 'Tempo 1'.

Análise da composição centesimal e mineral

Foram avaliados os teores de PB, LP, UM, CZ, FB, elementos minerais – Ca, P, Cu, Mg, Zn e Fe, pH, acidez e IP do FAI de cada tratamento dos três experimentos. A análise microbiológica foi realizada apenas no tratamento 1 de cada experimento. Os métodos utilizados para análise da composição centesimal e mineral já foram descritas anteriormente em “Estabilização do FAI através de antioxidantes e processos físicos - Análise da composição centesimal” (página 47).

Índice de peróxidos

A análise foi realizada conforme metodologia descrita na página 61.

Análise de acidez

A análise foi realizada conforme metodologia descrita na página 37.

Análises microbiológicas

As análises foram efetuadas no FAI de todos os tratamentos dos três experimentos, conforme descrito na página 62.

Análise estatística

A composição centesimal dos farelos foi analisada através da estatística descritiva e comparação das médias dos tratamentos pelo teste de Tukey (SAS, 2008). Os resultados foram analisados comparando-se os tratamentos no 'Tempo 1' e no 'Tempo 90', com base nas médias obtidas.

Para as variáveis acidez e peróxidos a análise estatística foi realizada por meio da análise de medidas repetidas, considerando os efeitos de bloco, antioxidante, processamento, tempo de armazenamento, interações entre os três últimos fatores e 4 tipos de estruturas de matriz de variâncias e covariâncias, usando o PROC MIXED do Statistical Analysis System (SAS, 2012), conforme descrito por XAVIER (2000). A estrutura usada na análise foi escolhida com base no menor valor do Critério de Informação de Akaike (AIC). O método de estimação usado foi o de máxima verossimilhança restrita. O desdobramento da análise para o efeito das interações foi realizado através do teste F para comparar o efeito de um fator dentro do outro ou teste t protegido para comparar o efeito de dois fatores dentro de outro.

3.3.2.2.1 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para todos os tratamentos, os farelos analisados apresentaram teores de FB maiores que 3% em sua composição, e com exceção do farelo do processo físico no 'Tempo 90', todos os farelos foram considerados com alto teor de fibras (mais que 6%), dados que permitem caracterizar o farelo como produto de alto teor de fibra e alto valor nutricional, segundo ANVISA (1998).

Os maiores valores de umidade (UM) foram encontrados no experimento com antioxidantes naturais no 'Tempo 1' e 'Tempo 90' (Tabela 15). O maior valor de UM encontrado foi 10,43%, no experimento natural. O conteúdo de UM relatado por Abdul-Hamid & Luan (2000) foi em média, de 11,9% para amostras de farelo de arroz. No experimento químico, a UM média foi 11,74% mais baixa do que no desse autor. Quando considerado o efeito da umidade no desenvolvimento dos processos oxidativos, mesmo sendo pequena, essa diferença é importante do ponto de vista da qualidade, pois pode acelerar e facilitar os processos de rancidez hidrolítica na amostra. Houve diminuição do pH do farelo T1 após 90 dias de armazenamento em todos os experimentos considerados, consequência dos processos oxidativos e acidificação.

Os tratamentos aplicados não interferiram nos valores de MS, LP e FB dos farelos. Thanonkaew et al. (2012) avaliaram diferentes tratamentos utilizando peletização, irradiação e antioxidantes, e também verificaram que eles não afetam a composição do farelo. Estudos revelaram que o uso de micro-ondas no farelo não altera ou provoca a degradação da maioria dos nutrientes presentes, mas micronutrientes podem ser afetados em algumas frações dependendo do seu grau de moagem (RAMEZANZADEH et al., 2000).

Abdul-Hamid et al. (2007) avaliaram diferentes frações de farelo de arroz e encontraram conteúdo de UM menor que 10%, resultados semelhantes aos obtidos por Pasha et al. (2008), que encontraram conteúdo de umidade reduzido nas amostras analisadas, sendo os valores entre 5,28% e 6,62% em farelos armazenados por 16 semanas. Thanonkaew et al. (2012) avaliaram o efeito do tratamento térmico no farelo de arroz e sua relação com o conteúdo de umidade, e encontraram 14,56% de umidade no farelo não estabilizado, 4,58% no farelo tratado com ar quente e 4,05% no farelo tratado por micro-ondas. Esses autores também não encontraram diferenças significativas entre a composição dos farelos tratados com ar quente e com micro-ondas.

Fatores externos como mudanças na condição temperatura de armazenamento podem justificar algumas variações encontradas após o processamento e até o momento da análise do farelo, como número de colônias de micro-organismos e acidez inicial entre farelos do mesmo lote, fatores também apontados nos estudos realizados por Marshall e Wadsworth, (1993); Thanonkaew et al., (2012); Brunschwiler et al. (2013); Park et al., (2013); e Pontalti et al., (2014).

O número inicial de colônias de bolores e leveduras no FAI do tratamento 1 (T1) dos experimentos natural, químico e físico variou de 10^3 a 10^4 no lote A (repetição 1) e 10^3 a 10^5 no lote B (repetição 2) no 'Tempo 1' (Tabela 16). Os tratamentos T4 e T6 do experimento químico tiveram redução do número de colônias de bolores e leveduras (<100 UFC/g) nos lotes A e B no 'Tempo 90' (Tabela 16). No experimento natural, o número de colônias de bolores e leveduras foi <100 UFC/g em T2, T3, T5 e T7 aos 90 dias de armazenamento apenas no lote B. Esse mesmo comportamento não foi observado no lote A no mesmo experimento. No experimento físico, a análise microbiológica foi realizada somente no primeiro lote de FAI coletado (Lote A), e houve redução do número de colônias de bolores e leveduras (<100 UFC/g) nos tratamentos T2, T3, T5, T8 e T9 aos 90 dias de armazenamento.

No experimento químico, a presença do formol coincide com a redução na contagem de bolores e leveduras aos 90 dias. No entanto, não é possível estabelecer uma relação com o tratamento aplicado nos demais experimentos. A redução do número de colônias de bolores e leveduras pode estar relacionada à escassez de substrato e nutrientes para o crescimento dos microrganismos ou com a acidificação do FAI ao longo do tempo em função dos processos oxidativos, que parecem ter inibido o desenvolvimento dos microrganismos. No experimento natural, a umidade mais elevada após 90 dias (10,91%) pode ter favorecido a manutenção de contagens mais elevadas de microrganismos durante este período. Nos experimentos químico e físico, valores mais baixos de umidade, 10,16% e 10,27%, respectivamente, coincidem com a redução dos microrganismos ao longo do tempo de armazenamento nos tratamentos analisados.

A contagem inicial de colônias de bolores e leveduras entre os lotes A e B dos experimentos químico, natural e físico no 'Tempo 1' foi diferente para os farelos analisados. Quando foi feita a coleta e aplicação dos tratamentos nos farelos dos experimentos químico e natural (outubro/2013), houve um intervalo de tempo entre a aplicação dos respectivos tratamentos no decorrer do dia. A temperatura média na data em questão (35 °C) associada à umidade pode ter influenciado a condição inicial do FAI. Os farelos tratados ainda pela manhã (experimento químico) tiveram contagem de bolores e leveduras menor do que os farelos do experimento natural. Essa diferença é facilmente percebida entre os tratamentos controle (T1) do lote A no 'Tempo 90' dos experimentos químico e natural, respectivamente $9,2 \times 10^3$ e $3,0$

$\times 10^4$ UFC/g. O mesmo aconteceu entre os farelos T1 do lote B dos mesmos experimentos ($1,0 \times 10^4$ e $4,0 \times 10^5$ UFC/g, respectivamente) (Tabela 16).

Tabela 15 - Composição dos farelos de arroz integral no Tempo 1 (dia 1) e no Tempo 90 (90 dias) dos experimentos natural, químico e físico (n=2).

Experimento	UM (%)	Ca (mg/kg)	Mg (g/kg)	P (g/kg)	Cu (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Fe (mg/kg)	CZ (%)	pH	FB (%)	EE (%)	PB (%)
Tempo 1												
Natural	10,43 ^a	419,5	10,44 ^a	23,06 ^a	7,39 ^a	55,69	151,62 ^a	9,59 ^a	6,72	6,84	17,24 ^a	12,79 ^a
Químico	10,15	414,5	10,13	22,39	7,04	52,01	89,34	9,22	6,76 ^a	7,11 ^a	16,52	12,57
Físico	10,05	431,5 ^a	10,10	22,03	7,02	58,29 ^a	78,63	8,83	6,73	5,78	16,06	12,69
Pr>F	0,6326	0,6861	0,9717	0,9365	0,7427	0,1493	0,5201	0,6305	0,9133	0,1739	0,6784	0,6244
Tempo 90												
Natural	10,91	409,5	10,16 ^a	22,30 ^a	7,19 ^a	56,90	86,02 ^a	8,92	6,40	6,67	16,47 ^a	12,86 ^a
Químico	11,74 ^a	416,5	10,10	22,06	7,04	54,06	76,88	9,09 ^a	6,37	7,19 ^a	15,71	12,35
Físico	10,05	431,5 ^a	9,97	22,03	7,02	58,29 ^a	78,62	8,82	6,73 ^a	5,78	16,05	12,69
Pr>F	0,2489	0,4747	0,9852	0,9917	0,8922	0,5475	0,6293	0,8694	0,0973	0,2382	0,7797	0,3074

Médias seguidas por letras iguais não diferem significativamente entre si ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

Tabela 16 – Contagem de bolores e leveduras em UFC/g (unidades formadoras de colônia/ grama) no FAI analisado no ‘Tempo 1’ (1 dia) e no ‘Tempo 90’ (90 dias) de armazenamento, de cada tratamento dos experimentos natural, químico e físico.

EXPERIMENTO												
Tratamento	Químico				Natural				Físico			
	Tempo 1		Tempo 90		Tempo 1		Tempo 90		Tempo 1		Tempo 90	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1	$9,2 \times 10^3^*$	$1,0 \times 10^{4**}$	$1,6 \times 10^4$	$5,6 \times 10^3$	$3,0 \times 10^{4*}$	$4,0 \times 10^{5**}$	$5,6 \times 10^3$	<100	$7,0 \times 10^3$	NA	$5,9 \times 10^3$	NA
2	-	-	$6,1 \times 10^3$	<100	-	-	$2,3 \times 10^4$	<100	-	-	<100	NA
3	-	-	$4,5 \times 10^4$	$1,8 \times 10^3$	-	-	$4,8 \times 10^3$	<100	-	-	<100	NA
4	-	-	<100	<100	-	-	$1,1 \times 10^4$	$4,6 \times 10^3$	-	-	$2,5 \times 10^3$	NA
5	-	-	$8,3 \times 10^4$	$2,3 \times 10^3$	-	-	$7,6 \times 10^3$	<100	-	-	<100	NA
6	-	-	<100	<100	-	-	<100	$1,3 \times 10^4$	-	-	$2,1 \times 10^3$	NA
7	-	-	$7,2 \times 10^3$	<100	-	-	$3,8 \times 10^5$	<100	-	-	$1,7 \times 10^3$	NA
8	-	-	$3,1 \times 10^3$	<100	-	-	$3,0 \times 10^3$	$1,4 \times 10^4$	-	-	<100	NA
9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<100	-

NA = amostras não avaliadas. 'A' e 'B' indicam respectivamente, o primeiro e segundo lotes de FAI coletados. (*): amostras de FAI obtidas em datas e locais diferentes; (**): amostras de FAI obtidas na mesma data e local.

No experimento com antioxidantes naturais, o teste F da análise de medidas repetidas apenas acusou efeito significativo ($p < 0,05$) de tempo de armazenamento (TA) para a acidez, enquanto para os peróxidos houve efeito significativo para a interação tocoferolxácido cítrico (TCFxAC) e TCFxTA, além do efeito de TA. Desta forma, optou-se por apresentar os dados de forma a visualizar o efeito principal de tempo de armazenamento, a interação TCFxTA e a interação tripla TCFxACxTA.

Observa-se que a acidez aumentou em função do tempo de armazenamento, o que também ocorreu no caso dos peróxidos em praticamente todas as combinações apresentadas, exceto para o uso de ácido cítrico sem tocoferol, onde não houve efeito significativo do TA ($p = 0,1432$) (Tabela 17). No caso da interação TCFxTA, nota-se que houve inversão dos valores médios de peróxidos quando se compara os tratamentos com e sem tocoferol (TCF) dentro do TA, o que pode ser justificado em função das espécies geradas e quantificadas no teste não ser estáveis por longos períodos de tempo, oxidando-se a álcoois e ácidos, assim como em outros testes semelhantes, como o TBA (OSAWA et al., 2005). A diferença entre os valores de índice de peróxido (IP) sugere que o efeito antioxidante do tocoferol preserva/estabiliza as espécies reativas presentes na amostra por um tempo mais prolongado que o ácido cítrico quando aplicado ao produto sem a associação ao tocoferol, o que faz com que os peróxidos se degradem mais rapidamente durante um mesmo TA.

As diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tempos inicial e final de armazenamento ocorrem em função da tendência na acidificação do meio em função da oxidação dos lipídios presentes no farelo e liberação de ácidos graxos livres ao longo do tempo, promovida pela umidade, atividade enzimática e/ou de microrganismos contaminantes presentes, além da geração de ácidos orgânicos e consumo dos antioxidantes aplicados ao farelo.

Quando o ácido cítrico não foi associado ao tocoferol, os IP foram menores no tempo inicial. Os resultados sugerem um efeito negativo quando o ácido cítrico é associado ao TCF. Os valores médios de IP com e sem ácido cítrico diferiram entre si. Eram esperados valores maiores quando na associação com ácido cítrico, no entanto, o valor menor (0,40) sugere que o peróxido gerado pode ter se degradado rapidamente durante a análise. Houve efeito da interação TCFxAC no tempo de armazenamento para peróxido, mas não houve efeito para a acidez. O valor médio de acidez para os tratamentos sem tocoferol foi de 9,70%, portanto, maior que o

valor médio de acidez para os tratamentos com tocoferol (8,59%). No entanto, estas médias não diferiram significativamente entre si ($p=0,5704$) (Tabela 17).

Perdana et al. (2012) avaliaram a interação temperatura-umidade na inativação enzimática e obtiveram resultados de umidade semelhantes aos encontrados neste estudo. Estes autores relataram a importante interferência da umidade na condição da amostra quando associada à temperatura na inativação enzimática aplicada ao farelo. Brunswiler et al. (2013) consideraram a umidade como interferente no comportamento da atividade enzimática, conferindo maior ou menor estabilidade ao FAI em função do tempo de armazenamento. Em seus estudos, quando a umidade inicial passou de 20% para 10% o tempo de aquecimento precisou ser ajustado de 5 min (110 °C) para 40 min ($T>120$ °C), sendo que valores próximos a 10% são considerados críticos para a estabilização do farelo.

Tabela 17 – Médios erros-padrão e níveis descritivos de probabilidade do teste F da análise de medidas repetidas em função da interação dos níveis de ácido cítrico, do tocoferol e dos tempos de armazenamento na estabilidade do farelo de arroz integral.

Antioxidantes		Tempo de armazenagem			Tempo de armazenagem		
AC	Tocoferol	0	90	Pr>F	0	90	Pr>F
		Acidez (% NaOH)			Peróxidos (mEq/Kg óleo)		
Sem	Sem	11,29±1,44	16,81±0,54	0,0025	0,37±0,01 ^a	0,41±0,01 ^a	0,0369
Sem	Com	8,57±1,59	15,38±0,40	0,0007	0,31±0,01 ^b	0,42±0,01 ^a	0,0004
Com	Sem	8,11±1,35	16,07±0,44	0,0003	0,36±0,02 ^a	0,39±0,01 ^b	0,1432
Com	Com	8,62±1,65	16,90±0,71	0,0002	0,35±0,01 ^{ab}	0,42±0,01 ^a	0,0040
Efeito TCF×AC no TA (Pr>F)		0,6332	0,5203		0,0531	0,0139	
Médias							
	Sem TCF	9,70±1,09	16,44±0,35	<,0001	0,36±0,01	0,40±0,01	0,0204
	Com TCF	8,59±1,06	16,14±0,47	<,0001	0,33±0,01	0,42±0,01	0,0001
Efeito TCF no TA (Pr>F)		0,5704	0,7107		0,0268	0,0099	
Médias por TA		9,14±0,75	16,29±0,29	<,0001	0,35±0,01	0,41±0,00	0,0002

Médias de acidez: % de NaOH; médias de peróxido: mEq peróxido/Kg de óleo de farelo extraído.

Para a interação TCF×AC×TA, médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste t (P≤0,05). Foi usada a matriz de variâncias de covariâncias do tipo sem estrutura para todas as análises.

A associação do ácido cítrico ao tocoferol favoreceu o aumento da acidez final em relação às demais associações de antioxidantes (16,90%), e quando não houve associação de AC ao TCF, o valor de acidez após 90 dias de armazenamento foi de 15,38% contra 16,81% do FAI sem antioxidantes.

Além do tempo prolongado de armazenamento, contaminação inicial elevada e consumo do antioxidante ao longo do tempo, a acidez elevada também pode refletir um efeito menos pronunciado da combinação de antioxidantes sobre o farelo (MCCASKILL, ORTHOEFER, 1994). Segundo Perez-Ramírez et al. (2015), quando presentes outros compostos de potencial antioxidante, como as antocianinas, o ácido cítrico pode induzir a degradação desses compostos pela acidificação do meio. A própria redução do pH pelo ácido cítrico pode em parte, justificar a acidez mais elevada para este tratamento. No estudo citado os autores relacionam a provável capacidade do ácido cítrico em reduzir a estabilidade dos compostos antociânicos através da redução da sua hidratação devido a baixa constante de dissociação do ácido. No entanto, através dos resultados obtidos não é possível demonstrar efeito do ácido cítrico para a degradação do tocoferol.

A acidez aumentou em função do tempo de armazenagem principalmente nos tratamentos dos experimentos natural e químico (Figura 9). Diferenças entre os valores iniciais de acidez nos três experimentos são decorrentes das diferentes origens e lotes a partir dos quais foram realizados os experimentos.

No experimento químico, o teste F da análise de medidas repetidas apenas acusou efeito significativo ($p < 0,05$) de tempo de armazenagem para a acidez, enquanto para o IP houve efeito significativo para as interações TBHQ×TA, TBHQ×Formol, TBHQ×Formol×TA e TBHQ×AC×TA. Desta forma, optou-se por apresentar os dados de forma a visualizar o efeito principal de tempo de armazenagem e das interações TBHQ×Formol×TA e TBHQ×AC×TA.

O efeito do tempo de armazenamento não foi consistente para os valores de IP, havendo efeito significativo apenas para algumas combinações. Não houve efeito nos tratamentos em que o TBHQ foi aplicado (experimento químico). Houve diferença significativa entre o valor inicial e final de peróxido quando aplicado somente o AC ($p = 0,0112$) (Tabela 18).

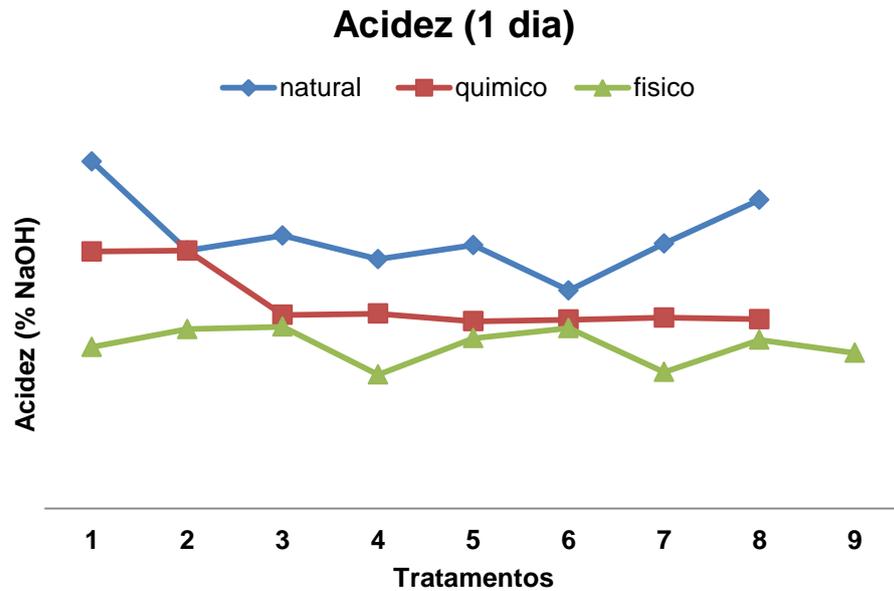


Figura 9 – Acidez do FAI no dia 1 de armazenamento nos tratamentos dos experimentos natural, químico e físico.

Os resultados obtidos para acidez e peróxidos nas etapas e tratamentos que utilizaram ácido cítrico sugerem que em vez de proteger o FAI da oxidação, o ácido cítrico atuou como pró-oxidante e favoreceu o processo de rancificação do farelo.

Neste mesmo experimento, houve interação TBHQ×AC e TBHQ×AC×TA, com diferença significativa ($p= 0,0439$) para a média da acidez após 90 dias de armazenamento. Os resultados sugerem que o AC interferiu nos valores de acidez e IP de forma negativa quando associado aos outros antioxidantes, com acidez final de 16,17% (Tabela 19). Com relação à interação do TBHQ×Formol, o efeito antioxidante foi mais pronunciado quando houve associação destes dois produtos, com valor de acidez igual a 15,89% após 90 dias de armazenamento. Os valores inicial e final de acidez foram maiores quando apenas o formol foi adicionado ao FAI (6,34 e 16,31%, respectivamente) (Tabela 19).

Tabela 18 - Médios erros-padrão e níveis descritivos de probabilidade do teste F da análise de medidas repetidas em função da interação dos níveis de TBHQ, do ácido cítrico e dos tempos de armazenamento na estabilidade do farelo de arroz integral.

Antioxidantes		Tempo de armazenagem			Tempo de armazenagem		
TBHQ	AC	0	90	Pr>F	0	90	Pr>F
		Acidez (% NaOH)			Peróxidos (mEq /kg óleo)		
Sem	Sem	8.39±1.52	17.08±0.87 ^a	<.0001	0.38±0.03	0.37±0.01	0.6137
Sem	Com	6.30±1.06	15.98±1.12 ^b	<.0001	0.40±0.02	0.30±0.05	0.0112
Com	Sem	6.09±1.05	16.00±0.76 ^b	<.0001	0.37±0.02	0.36±0.03	0.8690
Com	Com	6.21±1.13	16.17±0.85 ^b	<.0001	0.37±0.02	0.42±0.02	0.1076
Média por TA		6.75±0.59	16.31±0.42	<.0001	0.38±0.01	0.36±0.02	0.3110
Efeito TBHQ×AC no TA (Pr>F)		0.4170	0.0439		0.3605	0.0688	

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste t ($P \leq 0,05$). Foi usada a matriz de variâncias de covariâncias do tipo diagonal principal para todas as análises.

Tabela 19 - Médios erros-padrão e níveis descritivos de probabilidade do teste F da análise de medidas repetidas em função da interação dos níveis de TBHQ, do formol e dos tempos de armazenamento na estabilidade do farelo de arroz integral.

Antioxidantes		Tempo de armazenagem			Tempo de armazenagem		
TBHQ	Formol	0	90	Pr>F	0	90	Pr>F
		Acidez			Peróxidos		
Sem	Sem	8.36±1.62	16.75±1.15	<.0001	0.42±0.01	0.37±0.01 ^{ab}	0.1692
Sem	Com	6.34±0.92	16.31±0.92	<.0001	0.37±0.02	0.30±0.05 ^b	0.0510
Com	Sem	6.14±1.09	16.28±0.68	<.0001	0.39±0.01	0.35±0.02 ^b	0.1833
Com	Com	6.16±1.10	15.89±0.90	<.0001	0.34±0.01	0.44±0.02 ^a	0.0147
Média por TA		6.75±0.59	16.31±0.42	<.0001	0.38±0.01	0.36±0.02	0.3110
Efeito TBHQ× AC no TA (Pr>F)		0.4348	0.1981		0.0574	0.0313	

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste t ($P \leq 0,05$). Foi usada a matriz de variâncias de covariâncias do tipo diagonal principal para todas as análises.

O teste F da análise de medidas repetidas realizado nos resultados do experimento físico apenas acusou efeito significativo ($p < 0,05$) de tempo de armazenagem para a acidez, enquanto para os peróxidos somente não foi detectada diferenças significativas para o efeito principal de antioxidante. Desta forma, optou-se por apresentar os dados de forma a visualizar o efeito da interação tripla (processos físicos, antioxidantes e tempos de armazenamento).

Houve aumento da acidez em função do tempo de armazenagem principalmente nos tratamentos em que não há associação de processo físico aos antioxidantes. No caso dos peróxidos o efeito do tempo de armazenagem não foi consistente, havendo efeito significativo em algumas combinações e não em outras, e com variações de redução ou aumento em função do tempo, dependendo da combinação de antioxidante e processamento utilizado (Tabela 20).

Houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os valores de acidez no 'Tempo 1' e aos 90 dias nos tratamentos em que foi aplicado apenas antioxidantes (T2 e T3), sendo estes valores mais elevados que nos demais tratamentos. Quando aplicada a peletização houve diferença significativa entre acidez inicial e aos 90 dias em T7 ($p < 0,05$) (Tabela 20). Nos tratamentos em que foram aplicados processos físicos (peletização ou irradiação) o aumento da acidez no tempo de armazenamento foi menor, no entanto, os valores de acidez não diferiram entre si, indicando que estes tratamentos foram mais eficientes no controle da oxidação.

A irradiação aplicada ao farelo demonstrou efeito positivo no controle da acidez ao longo do período de armazenamento (Figura 10). Os tratamentos do experimento físico apresentaram os menores valores de acidez após 90 dias de armazenamento.

O TBHQ mantém o valor de acidez mais baixo que nos demais tratamentos do experimento químico após 90 dias. O valor de peróxidos se mantém mais elevado após o mesmo período, sendo significativa a diferença entre os valores ($p < 0,05$) (Tabela 19). O efeito protetivo da peletização no farelo verificado através dos menores valores de acidez e preservação do composto reacional na determinação do IP por um tempo mais prolongado deve-se provavelmente, à gelatinização parcial do amido. O amido remanescente no farelo, aproximadamente 16%, sofre uma espécie de plastificação das suas partículas após a vaporização da amostra, especialmente as porções sólidas (KENNY e ROLLINS, 2008). A peletização também promove uma melhor homogeneização do farelo e evita a

separação dos componentes com densidades diferentes. A maior exposição de porções de menor granulometria favorece a oxidação desses nutrientes e a peletização torna o farelo mais homogêneo (EMBRAPA, 2000; KENNY e ROLLINS, 2008). A combinação tempo-temperatura, principalmente quando na utilização de calor úmido, como no caso da peletização, potencializa o efeito bactericida (GAVA, SILVA e FRIAS, 2008).

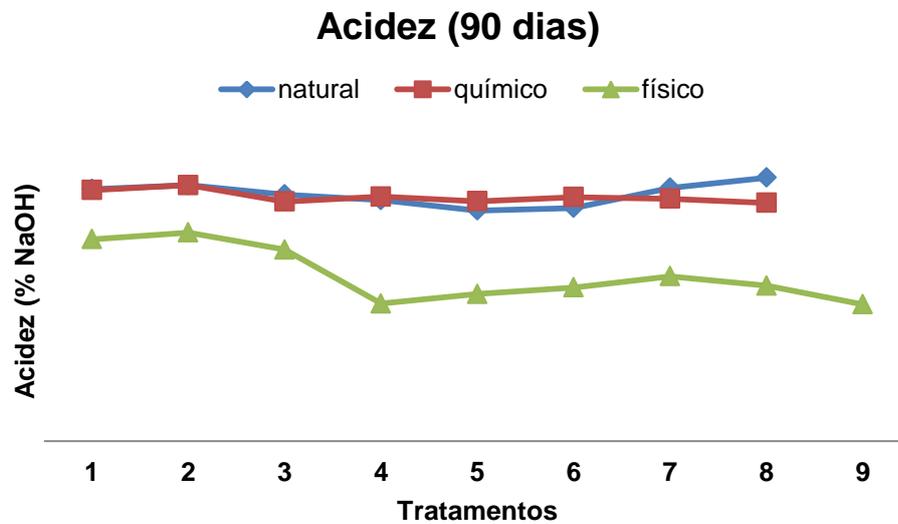


Figura 10 - Acidez aos 90 dias de armazenamento nos tratamentos do experimento natural, químico e físico.

O uso de micro-ondas é citado no estudo realizado por Lakkakula et al. (2004) como alternativa importante para o pré-tratamento do farelo de arroz para minimizar efeitos decorrentes da umidade.

Wataniyakul et al (2012) também avaliaram o efeito da aplicação de MO como pré-tratamento para extração de compostos fenólicos e identificaram que o seu uso potencializou a extração de compostos fenólicos, com consequente melhora da atividade antioxidante dos extratos avaliados. Os autores não avaliaram o efeito do MO na composição do FAI.

Tabela 20 – Médias, erros-padrão e níveis descritivos de probabilidade do teste F da análise de medidas repetidas em função da interação dos processos físicos, antioxidantes e tempos de armazenamento na estabilidade do farelo de arroz integral.

Processo Físico	Antioxidante	Tratamento	Tempo de armazenagem		Pr>F	Tempo de armazenagem		Pr>F
			0	90		0	90	
			Acidez (% NaOH)			Peróxidos (mEq /kg óleo)		
—	—	T1	5.26±0.06 ^a	13.47±3.48	0.0062	1.61±0.03 ^a	0.41±0.01 ^c	<.0001
—	Natural	T2	5.84±0.05 ^a	13.91±3.01	0.0068	1.58±0.18 ^a	0.37±0.00 ^c	<.0001
—	Químico	T3	5.92±0.17 ^a	12.78±2.53	0.0157	0.84±0.05 ^b	0.50±0.03 ^{bc}	0.0322
Irradiação	—	T4	4.36±0.35 ^b	9.17±2.18	0.0669	1.09±0.03 ^b	0.53±0.13 ^{bc}	0.0026
Irradiação	Natural	T5	5.54±0.30 ^a	9.81±1.59	0.0978	0.77±0.07 ^b	0.39±0.04 ^c	0.0184
Irradiação	Químico	T6	5.87±0.38 ^a	10.25±2.39	0.0900	0.88±0.02 ^b	0.65±0.01 ^b	0.1274
Peletização	—	T7	4.44±0.35 ^b	10.99±2.73	0.0195	0.91±0.13 ^b	0.36±0.08 ^c	0.0030
Peletização	Natural	T8	5.49±0.58 ^a	10.36±2.72	0.0642	1.49±0.23 ^a	0.46±0.04 ^c	<.0001
Peletização	Químico	T9	5.06±0.40 ^{ab}	9.12±1.88	0.1125	0.80±0.19 ^b	1.69±0.04 ^a	<.0001
Interação* (Pr>F)			0.0086	0.7308		0.0020	<.0001	

Interação*: Efeito da interação antioxidante x processamento.

Médias seguidas por letras distintas nas colunas diferem significativamente pelo teste t ($P \leq 0,05$). Foi usada a matriz de variâncias de covariâncias do tipo diagonal principal para todas as análises

A aplicação de calor no farelo favorece a perda de umidade, dificultando o desenvolvimento de microrganismos e retardando reações bioquímicas responsáveis por alterações dos nutrientes presentes, como lipídios. Por esse motivo, os tratamentos em que ocorre aplicação de irradiação e peletização demonstraram maior eficiência na redução da acidez e no controle dos processos oxidativos ao longo do armazenamento.

Além da destruição térmica, os processos de peletização e irradiação inibiram a ação enzimática pela redução da água disponível para as reações químicas. A redução da acidez também está associada ao controle da umidade promovido pelos respectivos processos térmicos aplicados e consequente redução da atividade de água no farelo. A peletização é um processo pouco definido quanto às variáveis utilizadas e fatores envolvidos na sua aplicação (Embrapa, 2000), e na contramão da maioria dos tratamentos térmicos utilizados em que há redução da umidade do alimento, na peletização há aplicação de vapor no produto, por isso é importante avaliar além dos fatores de temperatura, umidade e pressão em um tempo definido, o produto ao qual se pretende aplicar o processo.

Borresen & Ryan (2014) relacionaram aspectos específicos do farelo de arroz e afirmaram que o processo de aquecimento do farelo é o mais recomendado, pois resulta na redução da umidade do produto, aumentando a sua vida útil. A aplicação da peletização pode também, ter tornado o meio desfavorável ao desenvolvimento de carunchos no farelo. A análise macroscópica dos farelos tratados por peletização e irradiação não indicou a presença de insetos após 90 dias. A observação feita apenas visualmente sem o objetivo de identificação e caracterização dos insetos.

Nos tratamentos do experimento físico em que foi aplicada a peletização, principalmente T8 e T9, as contagens de bolores e leveduras foram menores que nos demais tratamentos aos 90 dias. O próprio aumento da acidez ao longo do tempo já se torna um fator limitante para o desenvolvimento de bolores e leveduras. Associado a este fator, a baixa Aa encontrada nos farelos limitou o desenvolvimento tanto de bolores e leveduras quanto de outros micro-organismos deteriorantes (GAVA, SILVA E FRIAS, 2008).

Segundo Kim et al. (2014), a estabilização do FAI com MO além de promover a inativação de enzimas residuais que afetam negativamente o farelo de arroz, tornando-o crítico para consumo humano, e que nenhuma mudança significativa

ocorre após o tratamento seguido de armazenamento sob refrigeração, mas que tratamentos adicionais podem ser necessários para completa inativação de enzimas e eliminação de microrganismos contaminantes, caso o farelo seja mantido em temperatura ambiente. Pasha et al. (2008) recomenda ainda, a aplicação de antioxidantes para garantir uma maior vida útil e melhor conservação do farelo.

4 CONCLUSÃO

A adaptação do método para determinação da acidez permitiu a redução do tempo de análise, menor gasto de reagente e menor geração de resíduos.

A estabilidade do FAI diminuiu com o tempo prolongado de armazenamento e sofreu a influência da qualidade da matéria-prima, condições de obtenção, produção, processamento e condições ambientais e tempo de armazenamento.

Os tratamentos do experimento físico apresentaram melhor eficiência para o controle da acidez ao longo do tempo de armazenamento.

Os menores valores de acidez inicial e final foram obtidos no tratamento em que houve a irradiação do farelo sem a associação de antioxidantes e no tratamento em que a peletização foi associada a antioxidantes químicos.

O uso de antioxidantes sem aplicação de tratamento térmico não foi suficiente para promover a estabilização oxidativa do FAI. A estabilização do FAI foi afetada pelas condições ambientais na qual ele foi beneficiado e posteriormente, tratado, principalmente pela temperatura, umidade relativa e tempo de exposição.

A composição centesimal do FAI sofreu interferência direta da origem do arroz, espécie, período da colheita, tipo de beneficiamento, processamento e tipo de solo no qual o arroz foi produzido.

A irradiação e a peletização atenderam satisfatoriamente a indústria de alimentos com relação a estabilização oxidativa do FAI.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL-HAMID, A.; LUAN, Y.S. . Functional properties of dietary fibre prepared from deffated rice bran. **Food Chemistry**, v. 68, p. 15-19, 2000.

ABDUL-HAMID, A.; SULAIMAN, R.R.R.; OSMAN, A.; SAARI, N. . Preliminary study of the chemical composition of rice milling fractions stabilized by microwave heating. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p.627-637, 2007.

AIZONO, Y. et al. Biochemical studies of Rice bran lípase. Part II. Chemical properties. **Agricultural Biological Chemistry**,v.35, n.12, p.1973-1979, 1971.

AMARASINGHE, B.M.W.P.K.; KUMARASIRI, M.P.M.; GANGODAVILAGE, N.C. . Effect of method of stabilization on aqueous extraction of rice bran oil. **Food and Bioproducts Processing**, v.87, p.108-114, 2009.

Analytical Methods - Flame Atomic Absorption Spectrometry (Varian). Revised March 1989.

ANKOM Technology Method. AOCS Official Procedure Am 5-04, 2004. Rapid Determination of Oil/Fat Utilizing High Temperature Solvent Extraction. http://www.ankom.com/media/documents/XT15_XT10_Analytical_Procedure_032014.pdf.

ANKOM TECHNOLOGY. Ankom XT15 extractor. Operator´s manual (Rev E 4/1/10). <http://www.ankom.com>.

ANKOM Technology Method. AOAC Approved Official Procedure Ba 6a-05. Crude Fiber Analysis in Feeds - Filter Bag Technique (for A2000 and A2000I). http://www.ankom.com/media/documents/Method_1_Crude_Fiber_Method_A2000_RevE_11_22_13.pdf.

ANWAR, F.; ANWER, T.; MAHMOOD, Z. Methodical characterization of rice (*Oryza sativa*) bran oil from Pakistan. **Grasas y aceites**, v. 56, n. 2, p. 125-134, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16th ed. 1995. Protein (crude) in animal feed (AOAC 990.03).

----- **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16th ed. 1995. Crude protein in cereals grains and oilseeds - combustion method (AOAC 992.23).

----- **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16th ed. 1995. Metals in plants. Atomic absorption spectrophotometric method. (b) wet ashing (AOAC 975.03).

----- **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 16th ed. 1995. Potassium and/or sodium in plants. Flame photometric method (AOAC 956.01).

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. 4th ed. Champaign, USA, AOCS, 1990 [AOCS Official method Cd 8-53].

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. Viçosa, MG. Ed. 4 Ed. UFV: 2008.

BORRESEN, E.C. ; RYAN, E. P. . Rice bran: A food ingredient with global public health opportunities. Chapter 22. **Wheat and Rice in Disease Prevention and Health**, p.301-310, 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. Resolução RDC nº 53 de 15 de julho de 2000. “Regulamento Técnico para Fixação de Identidade e Qualidade de Mistura a Base de Farelo de Cereais”. Brasília: ANVISA, 2000. **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 19 de junho de 2000, Brasília, 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC nº 263, de 22 de setembro de 2005. "Regulamento Técnico Para Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos". **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 23 de setembro de 2005. Brasília, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998. **Regulamento técnico referente à informação nutricional complementar**. Brasília: ANVISA, 1998. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis/>>. Acesso em: novembro de 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. Vegetal, Culturas - Arroz. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/culturas/arroz>. Acesso em jan/2015.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA. RDC nº 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre padrões microbiológicos para alimentos. **Diário Oficial da União**, Poder executivo, de 10 de janeiro de 2001. Brasília, 2001.

BREWER, M.S. Natural Antioxidants: Sources, compounds, mechanisms of action, and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, vol. 10, p. 221-247, 2011.

BRUNSCHWILER, C.; HEINE, D.; KAPPELER, S.; CONDE-PETIT, B.; NYSTRÖM, L.. Direct measurement of rice bran lipase activity for inactivation kinetics and storage stability prediction. **Journal of Cereal Science**, v. 58, p. 272-277, 2013.

CHIATTONE, P. V. **Ácido ascórbico, eritorbato e mistura comercial na redução da oxidação de hambúrguer bovino processado com água ozonizada**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Pelotas.

CHOPRA, R.; RASTOGI, N.K.; SAMBAIAH, K. . Enrichment of rice bran oil with α -linolenic acid by enzymatic acidolysis: optimization of parameters by response surfasse methodology. **Food Bioprocess Technology**, v.4, p.1153-1163, 2011.

CHOUDHARY, M.; GROVER, K.; KAUR, G. Development of rice bran oil blends for quality improvement. **Food Chemistry**, v. 173, p. 770-777, 2015.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. Método nº 36. Cinzas ou Matéria mineral, p. 137, 2009.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL – Guia de Métodos Analíticos, Métodos Físico-químicos. Método nº 1: Índice de acidez I – Acidez alcóolica, p.17, 2009.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO – CONAB. Disponível em <<http://www.conab.gov.br/>>. Acesso em jan/2015.

COTRIM, W.S. Antioxidantes naturais e seus efeitos sobre a cor e nível oxidativo da carne bovina. **Revista da ABCZ**. V.60, p.52-55, 2011. Disponível em <<http://comidatecnologica.wordpress.com/2001/02/17/antioxidantes-naturais-e-seus-efeitos...>>. Acesso em: 10/04/2013.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves. Documentos, n.19. **Tabela de Composição Química e Valores Energéticos de Alimentos para Suínos e Aves**. 3 ed. Concórdia, SC, 1991, 97 p.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Suínos e Aves. BELLAVER, C.; NONES, K.. A importância da Granulometria, da Mistura e da Peletização da ração avícola. **IV Simpósio Goiano de Avicultura**. Concórdia, SC. Abril 2000.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa Pecuária Sudeste. Nogueira, A. R. de A. **Manual de Laboratórios: Solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste. 334 p., p. 79, 2005.

EMBRAPA. MAGALHÃES JUNIOR, A. M. de; GOMES, A. da S.; SANTOS, A. B. dos. **Sistemas de Produção - Sistema de Cultivo de Arroz Irrigado no Brasil**, Pelotas, RS, 270p., 2006.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical. **Uso e aplicações do NIM (*Azadirachta indica*)**. 2006b. Disponível em: <http://www.cnpmf.embrapa.br/publicacoes/cartilha/cartilha_nim_2006.pdf>. Acesso em: nov. 2013.

EMBRAPA. Embrapa Arroz e Feijão. **A Embrapa, o arroz e você, juntos, por um Brasil melhor: utilização do farelo de arroz**. Folhetos. Santo Antonio de Goiás, GO, 2009.

EMBRAPA. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. **Arvore do Conhecimento: Arroz - Beneficiamento**. 2011. Disponível em <<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/arroz/arvore/CONT000fok5vmke02wyiv80bhgp5pu0flzl6.html>>. Acesso em fev/2015.

FOLCH, J., LEES, M., SLOANE-STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. **J. Biol. Chem.**, v. 226, p.497–509, 1956.

GAVA, A. J.; SILVA, C. A. B. da; FRIAS, J. R. G. **Tecnologia de Alimentos: Princípios e Aplicações**. 9 ed., São Paulo: Nobel, 2008.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Prac.**, v. 22, p. 475-476, 1973.

HEISLER, G. E. R. et al. Viability of substitution of wheat flour for rice flour in school meals. **Alimentos e Nutrição**, v. 19, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. v. 1: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, 1998. p. 25-26 (a).

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. Coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Método IAL 012/IV, p. 98. <http://www.ial.sp.gov.br/>.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (IAL). **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v.1.:** Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos, 3. ed. São Paulo: IMESP, 2005. p. 245-246.

International IDF Standards, International Dairy Federation, IDF – Brussels, Belgium, sec 74A:1991.

JÚNIOR, M. S. S. et al. Qualidade de pães com farelo de arroz torrado. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 29, n. 3, p. 636-641, Campinas, 2009.

KARWOWSKA, M.; DOLATOWSKI, Z.J. The effect of natural antioxidants on the oxidative processes in beef. **Scientiarum Polonorum – ACTA, Technologia Alimentaria**. V. 6, n.1, p.17-25, 2007.

KENNY, M., ROLLINS, D. **A Qualidade Física da Ração**. Aviagen Brasil Tecnologia. Fevereiro 2008.

KIM, S.; CHUNG, H.; LIM, S. Effect of various heat treatments on rancidity and some bioactive compounds of rice bran. **Journal of Cereal Science**, v.60, p.243-248, 2014

LAKKAKULA, N. R.; LIMA, M.; WALKER, T. Rice bran stabilization and rice bran oil extraction using ohmic heating. **Bioresource Technology**, v. 92, n. 2, p. 157-161, 2004.

LANDAETA, F.A.C. **Proteção da gordura do farelo de arroz e seu uso na alimentação de ruminantes**. 2009. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia, Programa de Pós-graduação em Zootecnia. Porto Alegre, RS, janeiro de 2009.

Leco Corporation. FP-528 Protein/Nitrogen Determinator. FP-528 DSP/Windows. Instruction Manual. Version 1.2. Disponível em: <<http://www.leco.com/products/analytical-sciences/nitrogen-protein-analyzer/fp528>>

LERMA-GARCÍA, M.J. et al. Composition, industrial processing and applications of rice bran γ -oryzanol, **Food Chemistry**, V. 115, n. 2, 15 July, 2009.

LILITCHAN, S. et al. Partial extraction method for the rapid analysis of total lipids and γ -oryzanol contents in rice bran. **Food Chemistry**, v. 106, n. 2, p. 752-759, 2008.

LIMA, M. L. M. Uso de subprodutos da agroindústria na alimentação de bovinos. **Reunião anual da Sociedade Brasileira de zootecnia**, v. 42, p. 322-329, 2005.

LU, S; LUH, B.S. **Properties of the rice caryopsis**. In Rice Production. 2nd ed, vol.1. AVI Publishing Co ed., Westport, CT. p. 389-419, 1991.

MCCASKILL, D.R.; ORTHOEFER, F.T. **Part I: Storage, 3.Storage Stability of Extrusion Stabilized and Parboiled Rice Bran**, p. 37-48 in Rice Science and Technology. Edited by Wayne E. Marshal, James I. Wadsworth, 1994.

MALEKIAN, F. et al. Lipase and Lipoxygenase Activity, Functionality and nutrient losses in rice bran during storage, **LSU Ag Center Research and Extension**, Bul. n. 870, Jan., 68 p, 2000.

MARIUTTI, Lilian R. B.; BRAGAGNOLO, Neura. Revisão: Antioxidantes Naturais da Família Lamiaceae. Aplicação em Produtos alimentícios. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.10, n.2, p.96-103, 2007.

MARSHALL, W.E.; WADSWORTH, J.I. **Rice Science and Technology**. Parte 1, Cap. 4 – Effect of Storage on the Physicochemical Properties and Quality Factors of Rice, CHRASTIL, J. Marcel Dekker, Inc., p. 49-82, New York, 1993.

MARTINEZ, S. S. **O Nim - *Azadirachta indica* - um Inseticida Natural**. Instituto Agrônômico do Paraná (IAPAR), Paraná, 2002. Disponível em <<http://www.iapar.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=410>>. Acesso em: 11 nov.2013.

MELO, P.S. et al. Phenolic composition and antioxidante activity of agroindustrial residues. **Ciência Rural**. Santa Maria, vol. 41 (6), p.1088-1093, jun, 2011.

MORO, J.D.; ROSA, C. S. da; HOELZEL, S. C. Composição centesimal e ação antioxidante do farelo de arroz e seus benefícios a saúde. **Disciplinarum Scientia**, Série: Ciências da Saúde, v. 4, n. 1, p. 33-44, Santa Maria, 2004.

NDE, D.B.; BOLDOR, D.; ASTETE, C.. Optimization of microwave assisted extraction parameters of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) oil using the Doehlert's experimental design. **Industrial Crops and Products**, v.65, p.233-240, 2015.

NICOLOSI et al. **Rice Bran and Technology**. Rice bran oil and its health benefits. Cap. 18. Marcel Dekker, Inc., p. 421-437, New York, 1993.

NWOSU, C. V.; BOYD, L. C.; SHELDON, B. Effect of fatty acid composition of phospholipids on their antioxidant properties and activity index. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 74, n. 3, p. 293-297, 1997.

OLIVEIRA, A. C. de, et al. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. **Química Nova**, Vol. 32 (3), p. 689-702, 2009.

ORDOÑEZ, J.A. et al. . **Tecnologia de Alimentos**, Cap. 11. v.1, 294 p., Porto Alegre, RS, Ed. Artmed. 2005.

OSAWA, C. et al. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**, v.8, p.655-663, 2005.

PARK, J.; JANG, E.Y.; KIM, J.Y.; YI, B.; KIM, M.; PARK, K.W.; LEE, J. Effects of visible light irradiation on the oxidative stability in rice bran. **Journal of Cereal Science**, v. 58, p. 178-181, 2013.

PASHA, T.N.; KHATTAK, F.M.; KHAN, D.R.; JABBAR, M.A. . Effect of storage time on the rancidity and metabolizable energy of rice polishing in poultry. **Asian-Australasian Journal Animal Science**, v.21, n.3, p. 420-425, março, 2008.

PAULINO, C. A. **Antissépticos e desinfetantes**. In: SPINOSA, H.; GORNIK, S.; BERNARDI, M. Farmacologia aplicada a medicina veterinária. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. Cap.35. p. 441-447.

PÉREZ-RAMÍREZ, I.; CASTAÑO-TOSTADO, E.; RAMÍREZ-DE LEÓN, J.A.; ROCHA-GUZMÁN, N.E.; REYNOSO-CAMACHO, R. . Effect of stevia and citric acid on the stability of phenolic compounds and *in vitro* antioxidant and antidiabetic capacity of a roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) beverage. **Food Chemistry**, v.172, p.885-892.

PESTANA, V.R.; MENDONÇA, C.R.B.; ZAMBIAZI, R.C. **Farelo de arroz: características, benefícios à saúde e aplicações**. Boletim Ceppa, Curitiba, v.26, n.1, p.29-40, jan/jun – 2008.

POMERANZ, Y.; ORY, R.L. Rice processing and utilization, **CRC Handbook of Processing and Utilization in Agriculture**, Vol. II (I.A.Wolff, ed.), CRC Press, West Palm Beach, FL, 1982.

PONTALTI, G.C.; EBLING, P.D.; VILLANUEVA, A.P.; TEIXEIRA, L.G.; RIBEIRO, A.M.L. Farelo de arroz integral processado por infravermelho em diferentes períodos de tempo na dieta de frangos de corte. **Ciência Rural**, v.44, n.3, p.561-566, Santa Maria, mar. 2014.

POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M.; **Antioxidantes de los Alimentos, Aplicaciones prácticas**, Editorial Acribia, S.A., 2005.

PRANKL, H.; SCHINDLBAUER, H. Oxidation stability of fatty acid methyl esters. In: **10th European Conference on Biomass for Energy and Industry**, p. 8-11, 1998.

SANTOS, M.O. et al. Avaliação da extração de compostos fenólicos do bagaço de vinho tinto por meio de planejamento experimental. **XIX Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, Buzios - RJ, 2012.

SAS INSTITUTE INC. System for Microsoft Windows, Release 9.4, Cary, NC, USA, 2002-2012. (cd-rom).

SAUNDERS, R.M. Rice bran: composition and potential food source. **Food Review International**, v.1, n.3, p. 465-495, 1985.

SHANTHA, N.C., DECKER, E.A. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values for food lipids. **Journal of AOAC International**, v.77, n.2, 1994.

SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F. M.; FERREIRA, M. A. Método de avaliação do grau de oxidação lipídica e da capacidade antioxidante. **Química Nova**, v.22, n.1, p.94-103, 1999.

SILVA, M.A.; SANCHES, C.; AMANTE, E.R.. Prevention of hydrolytic rancidity in rice bran. **Journal of Food Engineering**, v. 75, p. 487-491, 2006.

SOARES, S.E. Phenolic acids as antioxidants. **Revista Nutrição**. Campinas, v. 15, n.1, pag.71-81, jan/abr., 2002.

TAKANO, K.. Mechanism of lipid hydrolysis in rice bran. **Cereal Foods**, 1993.

THANONKAEW, A. et al. Effect of stabilization of rice bran by domestic heating on mechanical extraction yield, quality, and antioxidant properties of cold-pressed rice bran oil (*Oryza sativa L.*). **LWT- Food Science and Technology**, v. 48, n. 2, p. 231-236, 2012.

VEDANA, M.I.S. et al. Efeito do processamento na atividade antioxidante de uva. **Alimentos e Nutrição**. Araraquara, vol. 19 (2), p.159-165, abr/jun., 2008.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L.A. **Arroz: composição e características nutricionais**. Ciência Rural. Santa Maria, v.3, n.4, p.1184-1192, 2008.

WANG, W.; GUO, J.; ZHANG, J.; PENG, J.; LIU, T.; XIN, Z. . Isolation, identification and antioxidante activity of bound phenolic compunds presente in rice bran. **Food Chemistry**, v.171, p.40-49, 2015.

WATANIYAKUL, P.; PAVASANT, P.; GOTO, M.; SHOTIPRUK, A.. Microwave pretreatment of defatted rice bran for enhanced recovery of total phenolic compounds extracted by subcritical water. **Bioresource Technology**, v. 124, p. 18-22, 2012.

XAVIER, L.H. **Modelos univariado e multivariado para análise de medidas repetidas e verificação da acurácia do modelo univariado por meio de simulação**. Piracicaba, 2000. 91 p. Dissertação (mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, 2000.

YOSHIDA, H.; TANIGAWA, T.; YOSHIDA, N.; KURIYAMA, I.; TOMIYAMA, Y.; MIZUSHINA, Y.. Lipid components, fatty acids distributions of triacylglycerols and phospholipids in rice brans. **Food Chemistry**, v.129, p. 479- 484, 2011.