

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia
Agroindustrial



Dissertação

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO ÓLEO DE ARROZ E DO
CONTEÚDO DE TOCOFERÓIS E ORIZANÓIS DURANTE O
PROCESSO DE REFINO**

Vanessa Ribeiro Pestana

Pelotas, 2007

Vanessa Ribeiro Pestana

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO ÓLEO DE ARROZ E DO CONTEÚDO DE
TOCOFERÓIS E ORIZANÓIS DURANTE O PROCESSO DE REFINO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia Agroindustrial.

Orientador: Prof. PhD Rui Carlos Zambiasi

Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a Carla Rosane Mendonça

Pelotas, 2007

Banca examinadora:

Prof. PhD. Rui Carlos Zambiasi

Prof^a. Dr^a Carla Rosane Mendonça

Prof. Dr. Manoel Artigas Schirmer

Prof. Dr. Ricardo Peraça Toralles

Á Jesus, dedico.

Por Ele e para Ele são todas as coisas.

Agradecimentos

Primeiramente a Deus, por ter sido minha força em momentos de fraqueza, e pela realização do milagre. Tudo o que sou, tudo o que tenho, tudo que faço provém de Ti.

Aos meus pais, Amilton e Mari, por sua simplicidade, mas ao mesmo tempo grandiosidade, pela estrutura familiar e incentivo. Sou eternamente grata, amo vocês.

Ao Prof. Rui Zambiasi, pela sua paciência, atenção, orientação e incentivo.

A Prof^a. Carla Mendonça, pelo esforço na aquisição de materiais e co-orientação.

A Ana Paula Wally, pela amizade, companheirismo e principalmente por ter me apresentado Jesus.

Aos meus pastores e amigos, Ana Paula e Sergio Guimarães, por suas orações, cobertura, apoio e cajado.

A Aline Conrad, Gabriela Krüger e Caroline Guimarães, por sua amizade nos momentos mais difíceis.

Aos meus avós, Vilma e Alvorino, e meu irmão Rodrigo, pelo amor sincero.

Ao Eduardo, pela espera em oração.

A Mariângela Bruscatto, Graziela de Azevedo e Renata Moura, pelos constantes auxílios.

Ao CNPq, pela bolsa concedida.

À IRGOVEL, pela doação do farelo e óleo de arroz, avaliados no trabalho.

Ao ministério Casa de Oração (MCO), pelo amor fraternal.

Todo avanço científico é exatamente a manifestação da imagem e semelhança de Deus no ser humano.

Dr. Neuza Itioka

Resumo

PESTANA, Vanessa Ribeiro. **Avaliação da qualidade do óleo de arroz e do conteúdo de tocoferóis e orizanóis durante o processo de refino.** 2007. 74f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Como subproduto resultante do beneficiamento do arroz tem-se o farelo, que representa 8 a 11% em peso do grão em casca. O farelo apresenta um alto conteúdo de gordura, em torno de 16 e 22%, e por isto tem sido utilizado para extração do óleo de arroz. O óleo que se origina apresenta alto conteúdo em antioxidantes naturais e matéria insaponificável, quando comparado a outros óleos vegetais, mostrando benefícios ímpares à saúde. Na matéria-insaponificável, os fitoquímicos mais importantes presentes são os tocoferóis, tocotrienóis e γ -orizanol. O óleo extraído do farelo de arroz passa por várias etapas de refino para tornar-se apto para o consumo humano. Porém, durante o refino do óleo de arroz podem estar ocorrendo perdas de tocoferóis e γ -orizanol. As alterações do conteúdo destes compostos nos óleos durante as etapas do processamento tecnológico despertam interesse sob o ponto de vista analítico e nutricional. O objetivo deste trabalho foi de avaliar parâmetros de qualidade e do conteúdo de ácidos graxos e de tocoferóis e γ -orizanol do óleo e farelo de arroz e avaliar a alteração do conteúdo de ácidos graxos e de tocoferóis e γ -orizanol durante o processo de refino do óleo de arroz. Os farelos e os óleos de arroz foram doados pela Irgovel, indústria processadora deste óleo na cidade de Pelotas/RS. Dentre os parâmetros de qualidade foi avaliado o extrato etéreo, umidade, índice de peróxidos e acidez para o farelo de arroz; para o óleo de arroz foi avaliada a umidade, acidez, índice de peróxido e matéria-insaponificável. Determinou-se a composição em ácidos graxos, o teor de tocoferóis e de γ -orizanol do farelo e do óleo de arroz, além de avaliar o conteúdo destes compostos durante o processo de refino do óleo, empregando-se um cromatógrafo gasoso e um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência-HPLC de fase reversa. Verificou-se que o refino é capaz de reduzir quase a totalidade dos ácidos graxos livres e dos peróxidos presentes no óleo. Os ácidos graxos oléico, linoléico e palmítico são os que se encontram em maior concentração nas amostras analisadas. Verificou-se que as etapas de refino não geram alterações na composição de ácidos graxos e de perdas expressivas de tocoferóis no óleo ($27,5\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$). Entretanto, o processo de refino foi responsável pela perda de 98% do conteúdo de γ -orizanol presente no óleo bruto ($1240,7 - 28,97\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$), sendo a etapa de neutralização a responsável pela maior perda (95,8%).

Palavras-chave: Óleo de arroz. Parâmetros de Qualidade. Tocoferóis. Orizanóis.

Abstract

PESTANA, Vanessa Ribeiro. **Avaliação da qualidade do óleo de arroz e do conteúdo dos tocoferóis e orizanolis durante o refino.** 2007. 74f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The rice bran is a by-product of rice grain processing and represents 8-11% in weight of the whole rice grain. The rice bran presents high fat content, about 16-22%, and for this reason it has been used for oil extraction. The rice bran oil presents high content of natural antioxidant and non-saponifiable matter, when compared with other vegetal oils, showing uneven benefits to the human health. The most important phytochemicals in the non-saponifiable matter are the tocopherols, tocotrienols and γ -oryzanol. The crude oil extracted from rice bran goes through several refining stages to become capable for human consumption. However, during the refining stages may occur losses of the tocopherols and γ -oryzanol presents in the oil. The content variation of these components during the stages of the technological processing of the oil has been evaluated by analytical and nutritional point of view. The objective of this work was to evaluate the quality parameters and the content of fatty acids, tocopherols and γ -oryzanol of the rice bran and rice bran oil, and evaluate the alteration of fatty acids, tocopherols and γ -oryzanol content during the rice bran oil refining. The rice bran and the rice bran oil were donated by the Irgovel processing industry, located in Pelotas city (RS). It was evaluated the extract ethereal, peroxide index, humidity and acidity content of the rice bran; and humidity, peroxide index, acidity and non-saponifiable matter content of the rice bran oils. It was determined the fatty acid composition, tocopherols and γ -oryzanol content of the rice bran and rice bran oil, besides the content of these components during the refining process of the rice bran oil, using a gas chromatography and a liquid chromatography of high efficiency reverse phase system. It was verified that the refining process removed almost all free fatty acids and peroxides from the crude oil. The oleic, linoleic and palmitic fatty acids were the major fatty acids presents in the samples. The refining stages did not change the fatty acid composition and tocopherol content of the oils ($27,5\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$). However, the refining process was responsible for 98% loss of the γ -oryzanol content in the crude oil ($1240,7 - 28,97\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$), being the neutralization stage the responsible for the highest loss (95,8%).

Keywords: Rice bran oil. Quality parameters, Tocopherols. Oryzanols.

Lista de Figuras

Figura 1	Estrutura do grão de arroz.....	15
Figura 2	Fluxograma do processo de refino químico de óleo de arroz.....	21
Figura 3	Estrutura dos tocoferóis e tocotrienóis.....	27
Figura 4	Mecanismo simplificado da ação antioxidante do α -tocoferol.....	28
Figura 5	Estrutura dos componentes do γ -orizanol.....	30
Figura 6	Cromatograma típico dos tocoferóis nas amostras de farelo e óleo de arroz.....	48
Figura 7	Distribuição relativa de tocoferóis, em percentual, nos óleos de arroz.....	52
Figura 8	Cromatograma típico do γ -orizanol nas amostras de farelo e óleo arroz.....	53
Figura 9	Conteúdo dos componentes do γ -orizanol nos óleos após a neutralização.....	60

Lista de Tabelas

Tabela 1	Limite de tolerância para o farelo de arroz estabilizado ou parboilizado.....	17
Tabela 2	Ácidos graxos constituintes do farelo e óleo de arroz.....	23
Tabela 3	Características físico-químicas dos farelos de arroz.....	40
Tabela 4	Características físico-químicas dos óleos de arroz.....	42
Tabela 5	Composição em ácidos graxos nos farelos de arroz.....	45
Tabela 6	Composição em ácidos graxos nos óleos de arroz.....	47
Tabela 7	Conteúdo de tocoferóis expressos em mg.100g^{-1} , nos farelos de arroz....	49
Tabela 8	Distribuição relativa de tocoferóis, em percentual, nos farelos de arroz.....	50
Tabela 9	Conteúdo de tocoferóis, expressos em mg.100g^{-1} , nos óleos de arroz.....	50
Tabela 10	Conteúdo de γ -orizanol nos farelos de arroz.....	54
Tabela 11	Conteúdo dos componentes do γ -orizanol nos farelos de arroz e sua distribuição relativa, em percentual.....	55
Tabela 12	Conteúdo dos componentes do γ -orizanol, expressos em mg.100g^{-1} , nos óleos de arroz.....	56
Tabela 13	Perdas de γ -orizanol, em porcentagem, nas etapas de refino do óleo de arroz.....	57
Tabela 14	Distribuição relativa, em porcentagem, dos componentes do γ -orizanol nos óleo de arroz.....	58
Tabela 15	Percentual de perda dos componentes do γ -orizanol na etapa de neutralização.....	59

Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 Arroz.....	14
2.2 Farelo de arroz.....	15
2.2.1 Estabilidade do farelo de arroz.....	16
2.2.2 Composição do farelo de arroz.....	17
2.3 Óleo de farelo de arroz.....	18
2.3.1 Extração e refino do óleo de arroz.....	19
2.3.2 Composição em ácidos graxos.....	22
2.3.3 Componentes não glicerídeos.....	24
2.3.3.1 Matéria-insaponificável.....	25
2.3.3.1.1 Tocoferóis.....	26
2.3.3.1.2 γ -Orizanol.....	29
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
3.1 Matéria-prima.....	34
3.2 Padrões para cromatografia.....	34
3.3 Sistema cromatográfico.....	35
3.4 Métodos.....	35
3.4.1 Caracterização do farelo de arroz.....	35
3.4.2 Caracterização do óleo de arroz.....	36
3.4.3 Composição em ácidos graxos por cromatografia gasosa.....	37
3.4.3.1 Preparo das amostras.....	37
3.4.3.2 Condições Cromatográficas.....	38
3.4.4 Identificação e quantificação de tocoferóis e γ -orizanol por cromatografia líquida de alta eficiência.....	38
3.4.4.1 Preparo das amostras.....	38
3.4.4.2 Condições Cromatográficas.....	39
3.4.5 Análise estatística.....	39
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1 Caracterização do farelo de arroz.....	40
4.2 Caracterização do óleo de arroz.....	42
4.3 Composição em ácidos graxos no farelo e no óleo de arroz.....	44

4.4 Identificação e quantificação de tocoferóis no farelo e óleo de arroz.....	47
4.5 Identificação e quantificação de γ -orizanol no farelo e óleo de arroz.....	52
5 CONCLUSÕES.....	61
6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
APÊNDICES.....	70

INTRODUÇÃO

O arroz ocupa uma posição de destaque no celeiro mundial, como o cereal mais consumido por todos os povos, sendo superado em produção apenas pelo trigo. O Brasil é um grande produtor de arroz e o município de Pelotas apresenta um papel de destaque por apresentar inúmeras indústrias arrozeiras, constituindo-se em um pólo arrozeiro da região Sul.

Como subproduto resultante do beneficiamento do arroz tem-se o farelo, que representa 8 a 11% em peso do grão em casca. O farelo caracteriza-se pelo alto conteúdo de gordura, em torno de 16 e 22%, e por isso tem sido utilizado para extração do óleo de arroz e para a elaboração de rações para animais.

O óleo do farelo de arroz apresenta baixo conteúdo em ácido linolênico e alto conteúdo em antioxidantes naturais (fitoquímicos), quando comparado a outros óleos de origem vegetal, fator importante do ponto de vista de estabilidade oxidativa. Devido a esta composição, a utilização do óleo de arroz tem aumentado nos países ocidentais devido ao seu potencial como alimento nutracêutico.

O óleo de arroz apresenta benefícios ímpares a saúde, que em grande parte são atribuídos ao alto nível de matéria insaponificável, cujos fitoquímicos mais importantes são os tocoferóis e tocotrienóis, conhecidos por tocóis, uma família de compostos que apresentam atividade vitamínica; e o γ -orizanol, que constitui-se em uma complexa mistura de éster ferulato com esteróis e álcoois triterpênicos.

A forma majoritária da família dos tocóis encontrada no óleo de arroz são os α -, γ - e δ -tocoferóis, os quais possuem atividade antioxidante e desempenham um papel de proteção de algumas formas de câncer. Estudos realizados atestam a alta atividade antioxidante dos γ -orizanolis como agente cardioprotetor, incluindo a habilidade de reduzir o colesterol plasmático, reduzir a absorção de colesterol hepático e prevenir a arteriosclerose.

O óleo extraído do farelo de arroz passa por várias etapas de refino para tornar-se apto para o consumo humano, onde são removidos os materiais

indesejáveis que interferem nas características físicas, químicas e sensoriais do óleo, objetivando o menor efeito possível sobre compostos desejáveis e o mínimo de perdas de óleo. No entanto, durante o processo de refino do óleo de arroz ocorrem perdas de fitoquímicos, incluindo a de tocoferóis e γ -orizanol. A alteração do conteúdo destes compostos nos óleos durante as etapas do processamento tecnológico despertam interesse sob o ponto de vista analítico e nutricional.

O objetivo deste trabalho foi de avaliar parâmetros de qualidade e o conteúdo de ácidos graxos, tocoferóis e γ -orizanol do óleo e do farelo de arroz, além de avaliar a alteração do conteúdo dos ácidos graxos, tocoferóis e γ -orizanol durante o processo de refino do óleo de arroz.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) surgiu no sudoeste asiático em 5.000 a.C., tendo posteriormente se expandido para a Índia e Europa. Em meados do século III, através dos espanhóis, essa cultura foi introduzida nos países da América do Sul e América Central. No Brasil, o arroz foi trazido pelos portugueses nos primeiros anos após o descobrimento (LEMOS; SOARES, 1999).

O arroz ocupa uma posição de destaque no celeiro mundial como o cereal mais consumido por todos os povos, sendo superado em produção apenas pelo trigo. Este cereal constitui-se no produto alimentar básico de cerca de 50% da população mundial e atende às necessidades de 20% das calorias e de 13% das proteínas do consumo humano (YOKOYAMA; RUCATTI; KLUTHCOUSKI, 1999).

No Brasil o arroz é uma cultura largamente difundida, ocupando posição de destaque na dieta alimentar do povo brasileiro. Segundo o levantamento da Conab (2006) o arroz atingiu na safra de 2005/2006 a produção de 11,5 milhões de toneladas, sendo o Rio Grande do Sul responsável por 58% dessa produção, seguido pelos estados de Santa Catarina (9,5%) e Mato Grosso (6,4%).

A estrutura anatômica do grão de arroz (Fig. 1) é constituída pela casca, que representa 18 a 20% do peso do grão, a qual é formada por duas folhas modificadas, a pálea e a lema. A casca é constituída de celulose (45%), lignina (35%) e cinzas (20%). O arroz descascado, ou esbramado, é formado pelo gérmen (embrião) e pela cariopse, que é constituída por um envoltório (pericarpo, tegumento e nucela) e o endosperma, sendo este último o maior constituinte, com cerca de 89 a 94% do peso total (HOSENEY, 1991).

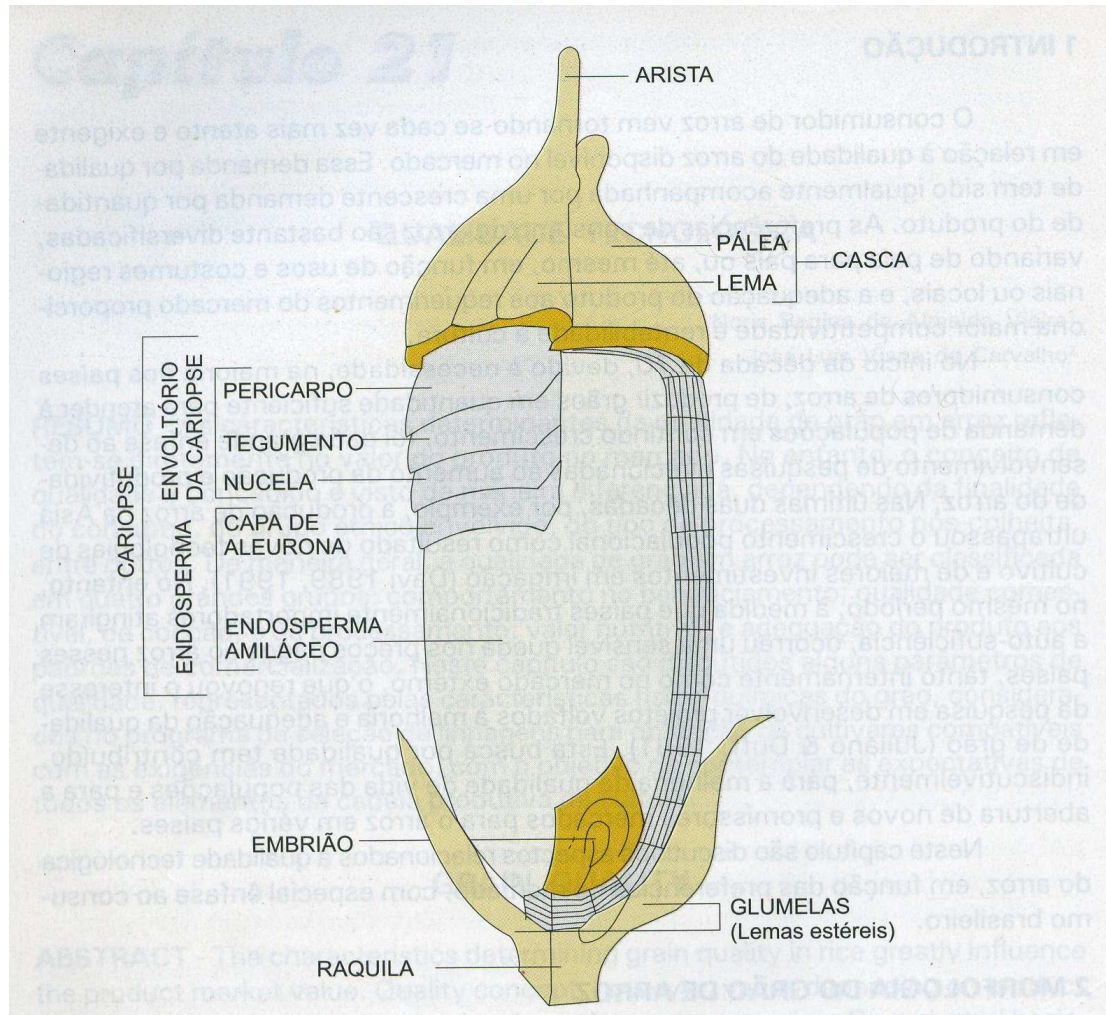


Figura 1 - Estrutura do grão de arroz.
Fonte: VIEIRA; CARVALHO (1999)

2.2 Farelo de arroz

Com a operação de polimento do grão de arroz, o envoltório da cariopse, capa de aleurona e o gérmen (embrião) são eliminados na forma de farelo, restando apenas o endosperma, que é a parte do grão utilizada na alimentação humana.

A composição e as propriedades do grão de arroz, assim como do farelo de arroz, dependem do genótipo, das condições ambientais e do tipo de processamento (HOSENEY, 1991; LAKKAKULA; LIMA; WALKER, 2004).

O farelo resultante da etapa de polimento do grão de arroz representa de 8% a 11% do peso total do grão, apresentando aspecto farináceo, fibroso e suave ao tato (PARRADO et al., 2006).

Os grãos de arroz destinados ao consumo humano, podem ser submetidos a 2 tipos de processos, resultando em produtos distintos:

a) Arroz branco polido – constitui-se na forma predominantemente consumida na maioria das regiões brasileiras, sendo obtido a partir do polimento do grão integral, pela remoção da casca e de proporções variáveis das camadas externas do endosperma e do gérmen (JULIANO; PEREZ; MINGSARN, 1990).

b) Arroz parboilizado polido - o arroz em casca é submetido a um processo hidrotérmico, antes das etapas de descasque e polimento, proporcionando a gelatinização total ou parcial do amido. O produto resultante apresenta aspecto e odor característico, além de um valor nutricional mais elevado devido à restituição parcial de alguns componentes do grão durante o processo. No Brasil o arroz parboilizado atinge cerca de 20% do arroz consumido (JULIANO; PEREZ; MINGSARN, 1990).

2.2.1 Estabilidade do farelo de arroz

A preservação do farelo de arroz “in natura” é muito problemática, especialmente devido a ação enzimática que leva a decomposição dos triacilgliceróis, com conseqüente geração de ácidos graxos livres. Os ácidos graxos livres produzem um sabor ácido e desagradável, comprometendo a utilização do farelo para consumo e como matéria-prima para extração de óleos comestíveis. Em condições propícias (umidade e temperaturas elevadas) as enzimas hidrolizam rapidamente os lipídeos, produzindo um aumento rápido de acidez livre. Além disso, o óleo também pode ser oxidado, agregando odores e sabores rançosos, e perdas de constituintes importantes, como vitaminas e antioxidantes naturais (CARVALHO; VIEIRA, 1999; RODRIGUES; ONOYAMA; MEIRELLES, 2006).

A enzima responsável pela degradação dos lipídeos e conseqüente elevação da acidez do farelo de arroz é a lipase, a qual precisaria ser inativada rapidamente para tornar o farelo estável ao armazenamento e adequado para o emprego como matéria-prima alimentícia (LAKKAKULA; LIMA; WALKER, 2004).

Estudos demonstram que o farelo obtido de arroz parboilizado apresenta-se estável por um período superior a 4 meses, evidenciando não necessitar de processo complementar para garantir sua qualidade. No entanto o farelo obtido do polimento do arroz integral degrada rapidamente (SILVA; SANCHES; AMANTE, 2006).

2.2.2 Composição do farelo de arroz

No farelo de arroz encontram-se teores variáveis de amido proveniente do endosperma, como também de resíduos de cascas e de fragmentos dos grãos resultantes do processo de descasque e polimento (CARVALHO; VIEIRA, 1999). O percentual mais representativo de vitaminas, fibras, proteínas e minerais do grão de arroz encontra-se nas camadas que originam o farelo.

As características físicas e químicas do farelo de arroz dependem de vários fatores, como da cultivar, do tratamento do grão antes do beneficiamento, do sistema de beneficiamento empregado e do grau de polimento a que o grão foi submetido. No Brasil, a legislação não estabelece padrões de qualidade para farelo de arroz; entretanto, a indústria de processamento do arroz utiliza parâmetros pré-estipulados pela categoria (tab. 1).

Tabela 1 - Limites de tolerância para o farelo de arroz estabilizado ou parboilizado.

Componentes	Tolerância
Gordura	16% mínimo
Proteína	13% mínimo
Fibra da dieta total	20% mínimo
Fibra bruta	9% máximo
Cinzas	10% máximo
Cinzas (farelo parboilizado)	15% máximo
Umidade	12% máximo
Ácidos graxos livres (FFA)	4% máximo
Sílica (SiO ₂)	0,1% máximo
Carbonato de cálcio (CaCO ₃)	2% máximo
Carbonato de cálcio (farelo parboilizado)	6% máximo

Fonte: SAUNDERS (1990)

De acordo com a origem, variações expressivas podem ser encontradas para a composição química do farelo de arroz. Quando avaliados os farelos oriundos dos E.U.A., Espanha, Itália, Japão, México, Nepal e Sri Lanka, encontraram-se teores de proteínas que variavam de 11,5 a 17,2%; lipídeos de 12,8 a 22,6%; fibra

bruta entre 6,2 e 14,4%; extrato não nitrogenado entre 33,5 e 53,5%, e percentual de cinzas entre 8,0 e 15,4% (BERMUDES, 1994).

O farelo de arroz é uma excelente fonte de minerais, proteínas e óleo, além de conter expressivo teor de vitaminas (CARVALHO; VIEIRA, 1999; PARRADO et al., 2006). O elevado conteúdo de lipídeos, aliado ao seu baixo valor comercial, justificam o emprego do farelo de arroz como matéria-prima para indústria de extração e refino de óleo comestível (SILVA; SANCHES; AMANTE, 2001). Os principais ácidos graxos constituintes dos lipídeos do farelo de arroz são os ácidos palmítico (12,3 a 20,5%), linoléico (27,0 a 40,7%) e oléico (37,1 a 52,8%) (TORTOSA; BARBER, 1979).

O farelo de arroz desengordurado possui cerca de 15% de proteínas e fibras, e apresenta como principais minerais o cromo e o cobre, os quais têm importante papel na formação de insulina, além de zinco e magnésio, que são importantes para o desenvolvimento, e abundância em vitamina A₁₂. O farelo de arroz desengordurado pelletizado, por representar uma excelente fonte protéica, é amplamente utilizado como componente de formulação de rações para animais (MASSARO; PINTO, 2002; HAMADA, 2000; FARREL; HUTTON, 1990).

Tanto no farelo como no óleo estão presentes inúmeros componentes minoritários, enquadrados na categoria de biofenóis, que são relacionados a diversos benefícios à saúde humana, como por exemplo, na redução do nível de colesterol sangüíneo (RODRIGUES; PESSOA FILHO; MEIRELLES, 2004).

2.3 Óleo de farelo de arroz

Óleos e gorduras constituem-se em substâncias insolúveis em água (hidrofóbicas), podendo ser de origem animal, vegetal ou mesmo microbiana, sendo formadas predominantemente de produtos de condensação entre "glicerol" e "ácido graxos", denominados de triacilgliceróis (MORETTO; FETT, 1998).

O óleo do farelo de arroz é consumido especialmente no leste da Ásia, onde aproximadamente 80 mil toneladas são consumidas anualmente no Japão. Esse óleo recebeu atenção devido a seus benefícios únicos à saúde, por apresentar uma grande quantidade de fitoquímicos, incluindo o orizanol, tocoferóis e tocotrienóis (DANIELSKI et al., 2005).

O óleo do farelo de arroz é constituído por cerca de 68 a 71% de triacilgliceróis, 2 a 3% de diacilgliceróis, 5 a 6% de monoacilgliceróis e 2 a 3% de ácidos graxos livres. Os glicolipídios compreendem cerca de 5 a 7%, fosfolipídios de 3 a 4%, ceras de 2 a 3% e os lipídeos insaponificáveis aproximadamente 4% (MCCASKILL; ZHANG, 1999; AUSMAN; RONG; NICOLSI, 2005).

Quando comparado a outros óleos vegetais, o óleo oriundo do farelo de arroz evidencia algumas vantagens, como a de conter importantes micronutrientes; ser mais resistente à oxidação; e apresentar gosto mais neutro. Como desvantagem, menciona-se o maior custo de processo pela maior complexidade de seu refino (RODRIGUES; ONOYAMA; MEIRELLES, 2006).

2.3.1 Extração e refino do óleo de arroz

O processamento para a obtenção de óleos vegetais engloba de forma geral, a extração e o refino.

A extração do óleo do farelo de arroz é complexa, principalmente pela dificuldade do refino deste óleo, devido a elevada acidez, alto conteúdo de insaponificáveis e de ceras (3,0%) e pela sua forte coloração (ABOISSA, 2006).

O farelo de arroz obtido após a moagem do grão se deteriora rapidamente, devido a reações hidrolíticas e oxidativas. A moagem rompe a estrutura natural do grão, fornecendo o contato entre as enzimas e o óleo. A ação da lipase ocasiona a formação de ácidos graxos livres, formando gosto de sabão. Pela ação das lipoxigenases, os lipídeos são degradados em compostos químicos de cadeia curta, produzindo-se sabor similar ao de óleo rancificado (GODBER; MARTIN; SHIN, 1993). Assim, a deterioração do farelo de arroz, a qual está propenso logo após a sua obtenção, se constitui no principal problema, dificultando um aproveitamento mais rentável.

A extrusão termoplástica, através da ação do calor (125-135°C) durante 1 a 3 segundos, com o produto a uma umidade entre 11-15%, inativa as enzimas (SAUNDERS, 1990). Esse processo, também conhecido por condicionamento, promove o rompimento das paredes das células facilitando a saída do óleo, ou seja, promove a ruptura das películas protéicas dos esferozomas facilitando a etapa de

extração (RITTNER, 1999; MORETTO; FETT, 1998). Após o condicionamento, o farelo passa pela peleteira, com o objetivo de formar os pellets (farelo peletizado).

Segundo Rittner (1999) a extração por solvente é uma forma de obtenção de óleos vegetais, na qual a maior parte do óleo é extraída mediante dissolução em um solvente apropriado, de modo a permitir a obtenção de um resíduo protéico com baixo teor de óleo residual.

Muitos solventes orgânicos são adequados para a extração do óleo, porém o hexano é o mais utilizado devido a sua eficiência e disponibilidade. Todavia por este solvente ser inflamável, o isopropanol tem sido considerado uma opção promissora para sua substituição, embora apresente menor eficiência de extração, o óleo extraído possui maior teor de vitamina E (HU et al., 1996).

O processo de refino ao qual é submetido um óleo bruto, para que este atinja o grau comestível, é decisivo na qualidade (odor, sabor, cor), na funcionalidade (composição em ácidos graxos, vitaminas e antioxidantes) e no custo (perda de óleo neutro, equipamentos e custo energético) do produto final (RODRIGUES, PESSÔA FILHO; MEIRELLES, 2004).

Atualmente se aplicam duas formas de refino para o óleo de arroz, o refino físico (desacidificação por destilação) e o mais convencional, que é o refino químico (desadificação com álcali), onde as principais etapas são: degomagem, neutralização, branqueamento, deceramento e desodorização (Fig. 2).

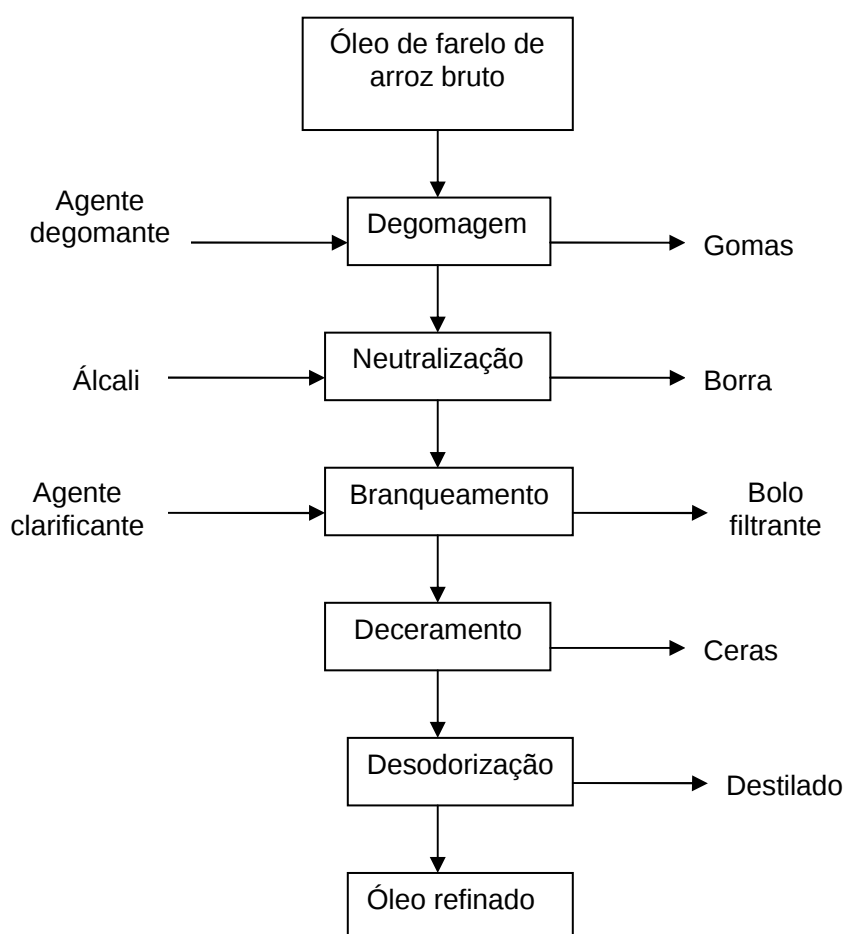


Figura 2 - Fluxograma do processo de refino químico de óleo de arroz.

A degomagem consiste na eliminação de compostos presentes no óleo bruto suscetíveis de se tornarem insolúveis em óleo por hidratação, como os fosfolipídios e as lipoproteínas, ou ainda, de serem eliminadas na fase aquosa, como os hidrocarbonetos (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998). Esse material (goma) é removido através de hidratação pela adição de pequena quantidade de água, ácido cítrico ou ácido fosfórico, que são removidos por centrifugação. Os fosfatídeos hidratáveis podem ser facilmente removidos pela adição de um volume de água equivalente ao seu volume, por terem baixa solubilidade em óleo. Os fosfatídeos não-hidratáveis são constituídos por sais de ferro, sódio e magnésio do ácido fosfatídico, e somente podem ser condicionados a uma fase hidratável através de um tratamento com ácidos concentrados (ZAMBLAZI, 1997). As gomas geralmente são removidas antes da neutralização para minimizar as perdas de óleo neutro, devido sua ação emulsificante.

Na neutralização o óleo bruto é misturado com uma solução álcali diluído em água, usualmente soda cáustica, a qual tem como principal objetivo a eliminação de

ácidos graxos livres (ARAÚJO, 1999). Nesta etapa os ácidos formam sais de sódio (sabões), os quais são separados por centrifugação. A retirada dos ácidos graxos livres do óleo diminui a suscetibilidade à rancificação e a alteração de cor (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998). Devido ao alto teor de ácidos graxos livres no óleo de farelo de arroz, a neutralização torna-se a etapa de maior dificuldade, ocasionando altas perdas do óleo neutro.

A remoção dos pigmentos naturalmente presentes no óleo bruto (clorofilas e carotenos) ocorre na etapa de branqueamento, onde são utilizadas terras adsorventes. A terra adsorvente é adicionada e após removida por filtração. As terras adsorventes mais utilizadas são as argilas clarificantes ou sílica (FERRARI, 1996), terra natural ativada, terra ácida e carvão vegetal (WEISS, 1983).

O óleo de arroz contém um teor de ceras (álcoois graxos de cadeia longa) superior ao encontrado em outros óleos vegetais, por isso, se faz necessário a etapa de deceramento. O método de remoção consiste no resfriamento do óleo no tanque, onde as ceras cristalizam, precipitam e são removidas por filtração ou centrifugação (KAO; LUH, 1991 apud SCAVARELLO, 1997). O óleo resultante apresenta um aspecto límpido e claro.

A última etapa do refino consiste na desodorização, que tem por objetivo de deixar o óleo isento de substâncias voláteis responsáveis por odores e sabores desagradáveis (BARUFFALDI; OLIVEIRA, 1998). A desodorização do óleo do farelo de arroz é efetuada através do aquecimento do óleo a temperaturas de 200-250°C sob alto vácuo (3-5mmHg absoluto). Os componentes voláteis que afetam o sabor e odor, como aldeídos, cetonas, peróxidos e ácidos graxos livres, são volatilizados e removidos durante o processo (KAO; LUH, 1991 apud SCAVARELLO, 1997).

2.3.2 Composição em ácidos graxos

Os ácidos graxos ocorrem na natureza como compostos livres e esterificados. A maior parte dos ácidos graxos naturais encontram-se esterificados com o glicerol, formando os triacilgliceróis, que são os principais componentes dos óleos e gorduras comestíveis. Os ácidos graxos livres, componentes naturais das gorduras, ocorrem em quantidades geralmente pequenas (MORETTO; FETT, 1998). Os lipídios neutros podem ser hidrolizados em digliceróis, monogliceróis e ácidos

graxos livres sob condições de calor e umidade (KAO; LUH, 1991 apud SCAVARELLO, 1997; SALUNKHE et al., 1991).

A caracterização dos ácidos graxos (AG) se faz importante para determinar a identidade e qualidade de óleos comestíveis. A cromatografia gasosa (CG) tem sido amplamente utilizada na análise dos AG em óleos e gorduras. A determinação analítica inclui uma etapa de preparação da amostra, onde os AG por apresentarem baixa volatilidade e estabilidade térmica, requerem uma etapa adicional de derivatização, onde os grupos carboxílicos são convertidos em grupos mais voláteis como trimetilsilil-ésteres ou metil-ésteres (HELDRICH, 1998 apud TAVARES et al., 2003; MARTIN-HERNANDEZ et al., 1988 apud TAVARES et al., 2003)

Na análise do perfil de ácidos graxos em óleos vegetais por cromatografia gasosa, tem sido realizado com coluna capilar de sílica fundida; com detector de ionização de chama, utilizando o gás hélio, nitrogênio ou hidrogênio como gás de arraste. Os AG também podem ser separados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa, mas sua detecção tem sido uma restrição (TAVARES et al., 2003).

A distribuição dos ácidos graxos no óleo de arroz corresponde a cerca de 18% de ácidos graxos saturados, 45% de ácidos graxos monoinsaturados e 37% de ácidos graxos poliinsaturados (tab. 2). Tanto para o farelo quanto para o óleo de arroz, os principais ácidos graxos saturados são os ácidos palmítico (14-17%) e esteárico (2,0-2,5%), e os principais ácidos graxos insaturados são os ácidos oléico (40-45%), linoléico (35-37%) e linolênico (1-2%) (ZAMBIASI, 1997). Segundo Kao e Luh (1991 apud SCAVARELLO, 1997) os ácidos graxos oléico, linoléico e palmítico constituem mais de 90% da porção dos glicerídios.

Tabela 2 - Ácidos graxos constituintes do farelo e óleo de arroz.

Ácidos Graxos (AG)		% dos AG totais
C14:0	Mirístico	0,1 a 2,4
C16:0	Palmítico	12,3 a 20,5
C16:1	Palmitoléico	0,1 a 0,2
C18:0	Esteárico	1,1 a 3,0
C18:1	Oléico	37,1 a 52,8
C18:2	Linoléico	27,0 a 40,7
C18:3	Linolênico	0,5 a 2,3

C20:0	Aráquico	0,3 a 0,7
C22:0	Behênico	0,5 a 1,0
C24:0	Lignocérico	0,4 a 0,9

Fonte: TORTOSA; BARBER (1979)

Do ponto de vista nutricional, os ácidos linoléico e linolênico são considerados "ácidos graxos essenciais", ou seja, não podem ser produzidos pelo organismo humano, portanto, devem ser ingeridos através da dieta (SILVA; SANCHES; AMANTE, 2001).

A capacidade hipolipidêmica do óleo do farelo de arroz não é inteiramente explicada por sua composição em ácidos graxos, pois o que o torna diferente dos outros óleos é o seu grande conteúdo de matéria-insaponificável, em particular, componentes do esteroide da planta, incluindo os tocotrienóis, tocoferóis, orizanol, ésteres do ácido ferúlico, fitosteróis e álcoois triterpênicos (WILSON et al., 2007; QURESHI et al., 1991). Estudos em animais e humanos utilizando diferentes frações de matéria-insaponificável, demonstraram que a capacidade do óleo de farelo de arroz de reduzir os níveis séricos de colesterol total e do LDL foi maior do que somente baseado na composição dos ácidos graxos (AUSMAN; RONG; NICOLISI, 2005).

2.3.3 Componentes não glicérides

Nos óleos e gorduras são encontradas pequenas quantidades de componentes não glicérides; os óleos vegetais brutos contêm menos de 5% e os óleos refinados menos de 2% destes componentes. No refino, alguns desses componentes são removidos completamente, outros parcialmente. Aqueles que persistem no óleo refinado, ainda que em traços, podem afetar as características das gorduras devido a alguma propriedade peculiar, como, por exemplo, apresentar ação pró ou antioxidante, ser fortemente odorífero, ter sabor acentuado ou ser altamente colorido (MORETTO; FETT, 1998).

Os compostos não glicérides de principal ocorrência nos óleos brutos são representados pelos fosfatídeos, que são definidos estruturalmente pela presença do glicerol esterificado com ácidos graxos e com ácido fosfórico (MORETTO; FETT, 1998).

Todos os óleos e gorduras brutos contêm uma variedade de fosfatídeos (ou fosfolípidos). Nas moléculas dos fosfatídeos há uma região de grande afinidade

pela água (sítio hidrofílico) e outra, representada pelas cadeias hidrocarbonadas dos ácidos graxos, hidrofóbica. Quando a região hidrofóbica é hidratada, os fosfatídeos se insolubilizam no óleo, e nessa condição, são facilmente removidos (MORETTO; FETT, 1998). Segundo Hemavathy e Prabhakar (1987) os compostos predominantes dos fosfolipídios são fosfatidil colina (35,0-38,0%), fosfatidil etanolamina (27,2-33,2%), fosfatidil inositol (10,9-23,3%) e ácido fosfatídico (3,6-9,2%).

As ceras são álcoois monohidroxilados de cadeias hidrocarbonadas longas, também denominados de álcoois graxos, ocorrendo nos óleos e gorduras esterificados com ácidos graxos. Alguns óleos vegetais, incluindo os óleos de milho, de arroz e de soja, com cerca de 0,005% de ceras, apresentam-se turvos em temperaturas mais baixas (MORETTO; FETT, 1998). O óleo de farelo de arroz contém elevado conteúdo de ceras (2-5%), que varia segundo o método de extração e da origem do farelo; as ceras têm a tendência de decantar no tanque de estocagem (KAO; LUH, 1991 apud SCAVARELLO, 1997).

Os hidrocarbonetos incolores também são encontrados em pequenas quantidades (0,1 – 1,0%) na maioria das gorduras, tendo o esqualeno como o composto de maior ocorrência (MORETTO; FETT, 1998).

Os compostos não glicerídeos que afetam a aparência de óleos e gorduras são as substâncias que imprimem coloração, destacando-se os carotenóides e a clorofila. Os carotenóides são os principais responsáveis pela coloração amarelo a vermelho na maioria dos óleos e gorduras, e a cor esverdeada é resultante devido a presença da clorofila (MORETTO; FETT, 1998).

Os compostos não glicerídeos naturais da planta que afetam o sabor e o odor dos óleos são mais agradáveis ou brandos do que os desenvolvidos por reações químicas, particularmente pela oxidação, cujos odores e sabores são indesejáveis no produto final (MORETTO; FETT, 1998).

2.3.3.1 Matéria-Insaponificável

O óleo de arroz apresenta benefícios à saúde, os quais são atribuídos principalmente ao alto nível de matéria insaponificável.

A fração insaponificável dos lipídeos compreende os constituintes que após saponificação apresentam-se solúveis em solventes orgânicos. A proporção de

matéria insaponificável depende dos tratamentos a que foi submetido, do tipo e da natureza de extração do óleo (FERRARI, 2001).

A matéria-insaponificável é constituída principalmente por esteróis (fitosteróis), hidrocarbonetos, compostos fenólicos, tocoferóis e pigmentos, que constituem cerca de 4,2% do óleo de arroz bruto (MORETTO; FETT, 1998).

O óleo de farelo de arroz bruto apresenta cerca de 4% de matéria insaponificável (AUSMAN; RONG; NICOLSI, 2005). Desse conteúdo, 43% são esteróis e correlatos (orizanóis, tocoferóis e tocotrienóis), 28% são ácidos triterpênicos, 10% de 4-metil esteróis e menos de 19% representam compostos apolares (esqualeno, outros hidrocarbonetos e álcoois alifáticos) (SAYER; SAUNDERS, 1990; KIM et al., 2001; SHIN et al., 1997; RODRIGUES; ONOYAMA; MEIRELLES, 2006).

O óleo oriundo do farelo de arroz apresenta expressivo conteúdo de tocoferóis e tocotrienóis, conhecidos por tocóis, os quais representam um fator importante na estabilidade oxidativa (RODRIGUES; ONOYAMA; MEIRELLES, 2006; KIM; GODBER, 2001). O alfa, gama e delta tocoferol são os principais representantes da família dos tocóis no óleo do farelo de arroz, que segundo Zambiasi (1997) representam cerca de 1000 mg.Kg⁻¹ de óleo.

O óleo do farelo de arroz também contém γ -orizanol, que está presente na concentração de aproximadamente 2,0% em óleos crus e 1,7% em óleos degomados (SHIN et al., 1997; XU; GODBER, 1999). O γ -orizanol tem sido preconizado como potente antioxidante natural, além de estar relacionado a vários benefícios à saúde humana, o que lhe confere alto valor comercial (GONG-YUANSSENG; YAO-HUIYUAN, 2001; XU; HUA; GODBER, 2001).

2.3.3.1.1 Tocoferóis

Os tocoferóis e os tocotrienóis fazem parte da mesma família de compostos, que constituem a vitamina E (SHIN; GODBER, 1994; RODRIGUES; ONOYAMA; MEIRELLES, 2006; KIM et al., 2001).

Estes compostos constituem-se em antioxidantes naturais mais abundante em vegetais, sendo reconhecidos como excelentes antioxidantes biológicos que protegem membranas celulares, além de aumentar a estabilidade oxidativa de óleos vegetais e gorduras animais (TAKUR; SRIVASTA, 1996; HAUMANN, 1990).

Na ausência de vitamina E os ácidos graxos insaturados dos fosfolipídios constituintes das membranas são facilmente oxidados, gerando hidroperóxidos que iniciam as reações de autooxidação (BURGEOIS, 1992). O papel primário da vitamina E consiste na interrupção da cadeia de propagação de radicais livres (HENNEKEKENS; GAZIANO, 1993). Block e Langseth (1994) relacionaram o efeito da oxidação sobre vários estágios de doenças, entre elas incluem-se: o câncer, através do início da carcinogênese, promoção de desenvolvimento de tumores, mutagênese e transformação da divisão celular; de doenças cardiovasculares, através da oxidação das lipoproteínas do sangue e o desenvolvimento de aterosclerose e efeitos danosos sobre tecidos ocasionando os ataques cardíacos; e de catarata, pelos danos oxidativos às membranas oculares.

Tanto os tocoferóis como os tocotrienóis são derivados de um anel 6-cromanol, sendo que os tocoferóis contêm uma cadeia lateral isoprenoide saturada de 16 carbonos, e os tocotrienóis contêm uma cadeia lateral com tripla insaturação (Fig. 3). Dentro de cada série, os compostos somente diferem no número e na posição de grupos metileno no anel aromático (MORAES, 2003). Tanto os tocoferóis como os tocotrienóis apresentam-se como alfa, beta, gama e delta (AZZI; STOCKER, 2000).

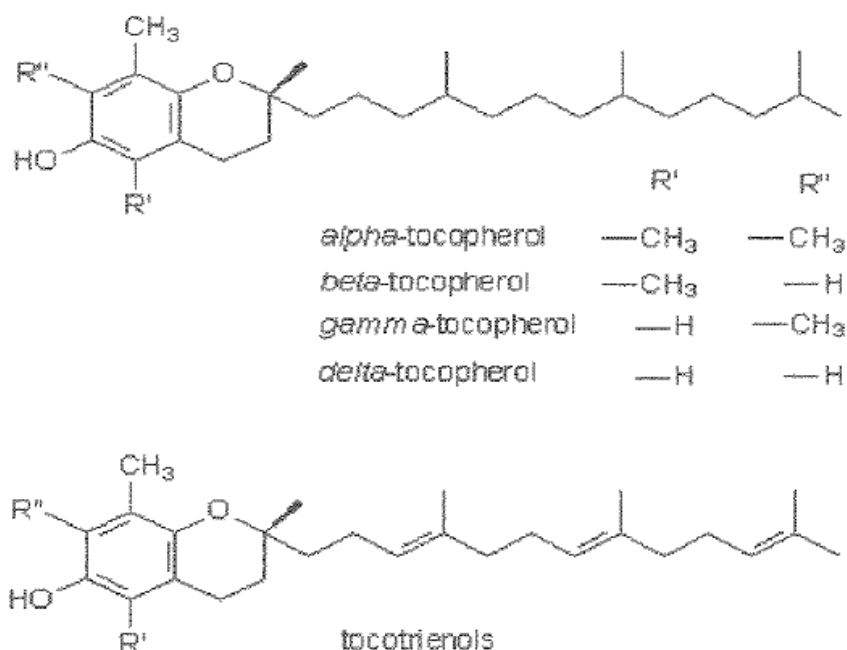


Figura 3 - Estrutura dos tocoferóis e tocotrienóis
Fonte: MORAES, 2003.

Dentre os tocoferóis, o α -tocoferol é o mais largamente distribuído na natureza e o que apresenta maior atividade biológica como vitamina E. O δ -tocoferol apresenta somente 50% da atividade do α -tocoferol, apesar de ser a principal forma existente na dieta humana. O β e o γ -tocoferol possuem respectivamente 40% e 10% de atividade do α -tocoferol (SGARBIERI, 1987 apud MORAES, 2003; TRABER; PACKER, 1995). A atividade biológica do α -, γ - e δ -tocoferol são respectivamente, 1.5, 0.15 e 0.05 IU.mg⁻¹ (KAMAL-ELDIN; APPELQVIST, 1996).

Os tocoferóis inibem a peroxidação lipídica por serem captadores de radicais lipídicos peroxila, evitando que os radicais peroxila possam reagir com as cadeias laterais de ácidos graxos adjacentes ou com proteínas de membranas. O grupo –OH do α -tocoferol doa seu átomo de hidrogênio ao radical peroxila (LOO●), formando um radical α -tocoferila (α -T●) e um hidroperóxido. Em uma reação subsequente, o radical α -tocoferila (α -T●) reage com um outro radical peroxil (LOO●) formando um produto estável (Fig. 4). Portanto, o α -tocoferol interrompe a reação de cadeia da peroxidação lipídica (PORTER et al., 1995).

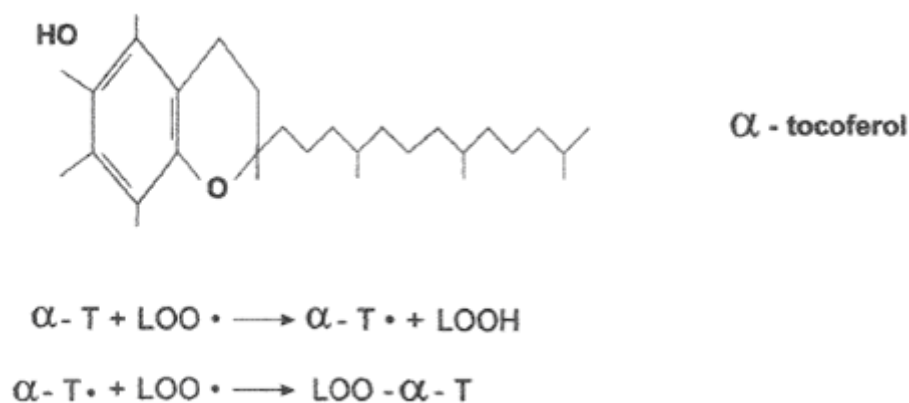


Figura 4 - Mecanismo simplificado da ação antioxidante do α -tocoferol.
Fonte: Porter et al., 1995.

Segundo Bramely et al. (2000) cerca de 60-70% dos tocoferóis são retidos durante o processo de extração e de refino de óleos vegetais. O conteúdo de tocoferóis no óleo de soja bruto e desodorizado, segundo Jung et al. (1989) é de 1670 e 1138ppm, respectivamente, sendo removido 31,8% dos tocoferóis durante o processo de refino, porém a proporção relativa do alfa, gama e delta tocoferol permanece constante.

A identificação dos tocoferóis tem sido realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC ou CLAE), em fase normal ou em fase reversa. No entanto, as melhores resoluções dos picos homólogos dos tocoferóis (alfa, beta, delta e gama) têm sido conseguidos pela utilização de colunas de fase normal (LI et al., 2007; PSOMIADOU et al., 2000; PANFILI et al., 1994). No entanto, Gliszczynska-Swigło e Sikorska (2004) afirmam que embora a coluna de fase normal separe individualmente todos os tocoferóis, separações em coluna de fase reversa possui vantagens como o atingir em curto tempo o equilíbrio e apresentar melhor reprodutibilidade do tempo de retenção.

No trabalho desenvolvido por Chen e Bergman (2005) para a identificação simultânea dos tocoferóis, tocotrienóis e orizanóis em farelo de arroz, foi utilizado cromatografia líquida de alta eficiência com coluna de fase reversa, tendo como fase móvel inicial acetonitrila:metanol:isopropanol:ácido acético (1%) (45:45:5:5, v/v/v/v) e fluxo de 0,8 ml.min⁻¹. O detector para tocoferóis e tocotrienóis foi de fluorescência, com comprimento de onda de excitação de 298nm e de emissão de 328nm, respectivamente. Para detectar os orizanóis utilizou-se o detector UV-vis a 325nm.

A preparação da amostra para a análise da vitamina E dos óleos usando cromatografia líquida de alta eficiência é realizada pela diluição direta do óleo em hexano ou em uma mistura de hexano contendo um solvente mais polar como propanol. Se a cromatografia for com coluna de fase reversa, a amostra de óleo é diluída em metanol, etanol ou propanol, ou ainda dissolvido na mistura de acetonitrila:metanol:propanol (ADACHI e ISOBE, 2003).

2.3.3.1.2 γ-Orizanol

O γ-orizanol foi inicialmente isolado do óleo obtido a partir do arroz (*Oryza sativa* L.) em 1954, e por conter um grupamento hidroxila, foi denominado de orizanol. Estudos subsequentes revelaram que o orizanol não é um componente simples, mas compreende um conjunto de esteril ferulatos, denominados de γ-orizanol (KANEKO; TSUCHICA, 1954 apud SCAVARIELLO, 1997; TSUCHICA et al., 1956 apud SCAVARIELLO, 1997).

O γ-orizanol consiste em uma complexa mistura de ésteres do ácido ferúlico com álcoois triterpenos e esteróis, onde mais de 23 ésteres dos ácidos ferúlico e caféico já foram identificados, incluindo o Δ⁷-estigmastenil ferulato, estigmasteril

ferulato, Δ^7 -campestenil ferulato, Δ^7 -sitostenil ferulato, sitosteril ferulato, campestanil ferulato, sitostanil ferulato, cicloartenil ferulato, 24-metileno cicloartanil ferulato e campesteril ferulato (Fig. 5), apresentando os três últimos compostos em maior quantidade (KIM et al., 2001; FANG; YU; BADGER, 2003; XU; GODBER, 1999).

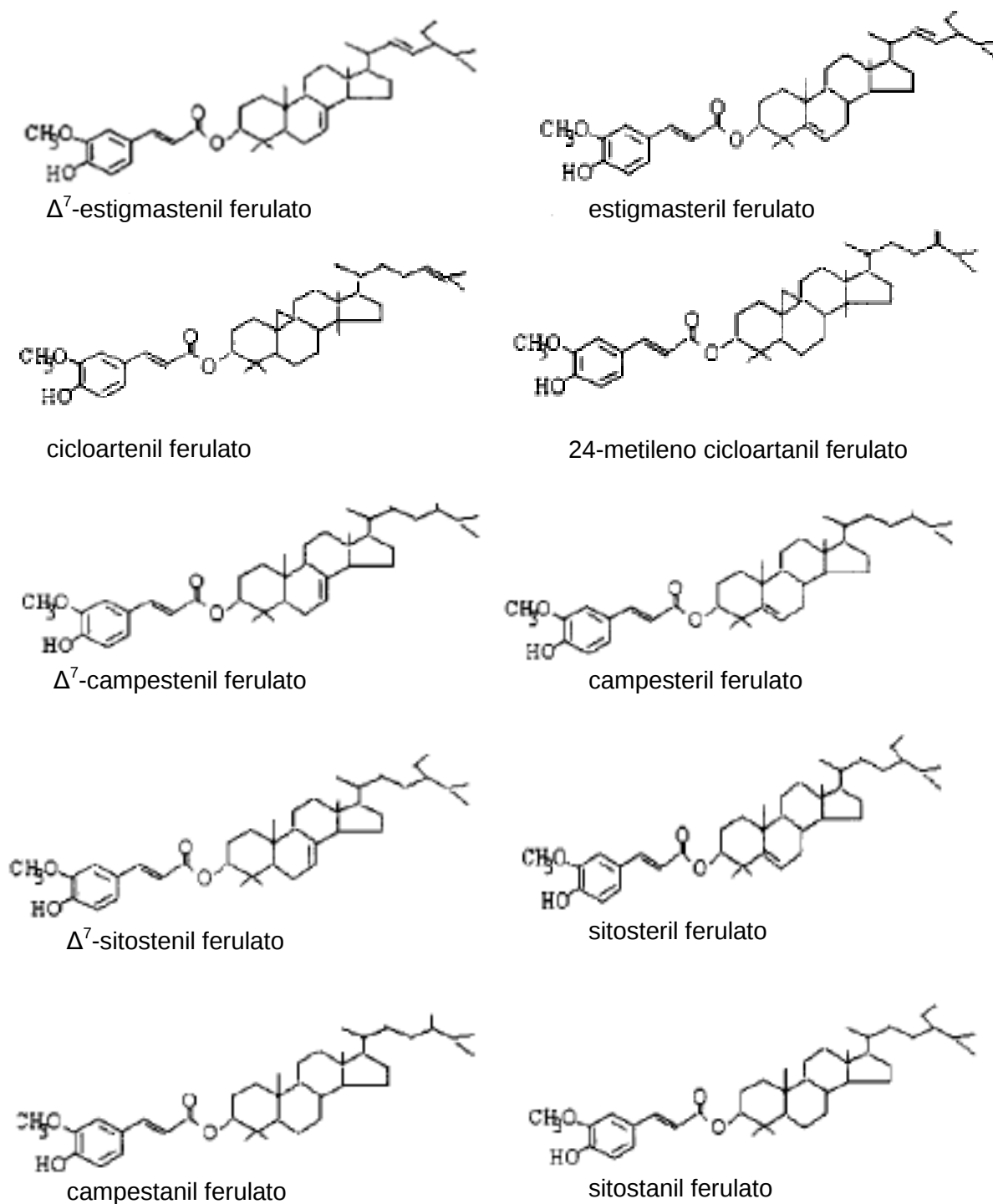


Figura 5 - Estrutura dos componentes do γ -orizanol.

Fonte: XU; GODBER, 1999.

O orizanol é considerado um antioxidante mais efetivo que os tocoferóis, por ser mais resistente ao calor. Entre as múltiplas ações deste composto mencionam-se os efeitos no crescimento, combate a doenças cefálicas e cervicais, minimização dos sintomas da menopausa, combate à anemia, no tratamento de úlceras do estresse e como coadjuvante no tratamento de doenças circulatórias. As propriedades do orizanol justificam seu amplo uso, seja como medicamento, em composição de cosméticos, como agente antienvhecimento da pele e até mesmo como filtro solar (XU; HUA; GODBER, 2001; AMATO, 2006; WILSON et al., 2007; SILVA; SANCHES; AMANTE, 2001; WILSON et al., 2000). Porém, sua utilização tem sido ainda bastante restrita, principalmente devido ao seu alto custo, atribuído em grande parte à dificuldade de purificação. Outro aspecto limitante é a carência de estudos sobre a atividade antioxidante deste componente quando associado a outros constituintes dos alimentos (GONG-YUANSSENG; YAO-HUIYUAN, 2001; XU; HUA; GODBER, 2001).

A capacidade do gama-orizanol de inibir a oxidação lipídica é dependente de sua concentração sendo que na dose de 10 mmol kg^{-1} apresenta atividade comparável a do antioxidante sintético BHT (GERTZ; KLOSTERMANN; KOCHHAR, 2000; HUANG et al., 2002; JULIANO et al., 2005; NYSTRÖM et al., 2005).

No estudo em relação ao efeito da atividade antioxidante dos ésteres do ácido ferúlico e tocoferóis realizado por Nyström et al. (2007), foi verificado que esses compostos reduziram a formação de polímeros a altas temperaturas, tanto isolados quanto juntos, sendo que nenhum efeito de sinergismo foi observado entre eles. Os ésteres do ácido ferúlico foram degradados em menor proporção que o alfa-tocoferol, o que segundo o autor, indica que o sitostanil ferulato é um antioxidante promissor para ser empregado sob altas temperaturas. A mistura de ésteres do ácido ferúlico, comumente conhecida como γ -orizanol, varia bastante de acordo com o cereal que a origina (arroz, milho, centeio ou trigo). Enquanto que no arroz predomina o dimetilesterol (cicloartenol e 24-metilenocicloartanol), nos demais cereais predominam os desmetiliterols (sitosterol, campesterol e suas formas saturadas- estanóis).

A atividade antioxidante dos ésteres do ácido ferúlico é baseada na doação de hidrogênio do grupo hidroxil do ácido ferúlico. Assim, estes compostos atuam como os demais antioxidantes comumente utilizados na indústria de alimentos (BHT, BHA e TBHQ). Estes ésteres são compostos polares e de baixo peso molecular, com solubilidade limitada em óleos. A solubilidade dos ésteres do ácido ferúlico no óleo pode ser aumentada quando ocorre sua esterificação com componentes não polares do óleo; este processo também promove o aumento de sua estabilidade térmica.

Alguns trabalhos relatam o conteúdo de γ -orizanol no óleo de farelo de arroz bruto e refinado. Seetharamaiah e Prabakar (1986) encontraram um conteúdo de γ -orizanol no óleo de farelo de arroz bruto comercial na faixa de 1,3 a 1,9%. Outros trabalhos relatam teores de γ -orizanol de 1,0 a 2,0% no óleo de farelo de arroz bruto (NORTON, 1995).

Yoon e Kim (1994) determinaram o conteúdo de antioxidantes naturais e a estabilidade oxidativa do óleo de farelo de arroz em diferentes etapas de refino e concluíram que o teor de γ -orizanol mantinha-se constante no óleo bruto e degomado, mas decrescia após o óleo ser neutralizado, ocorrendo perdas de até 51% do conteúdo original de γ -orizanol.

Orthofer (1996) verificou que o refino químico reduziu o conteúdo de γ -orizanol de 2,0% para 0,1%, e o refino físico para 1,0-1,5%. A adição de álcali ao óleo para formação da borra resulta na remoção de γ -orizanol com a borra; portanto, o conteúdo de γ -orizanol no óleo de arroz depende do método de refino utilizado.

Segundo Seetharamaiah e Prabakar (1986) durante o refino químico, a etapa de neutralização é a que acarreta maior perda de γ -orizanol no óleo, ocorrendo uma redução de 3,1 a 1,3%.

A cromatografia líquida de alta eficiência tem se destacado entre os métodos cromatográficos utilizados para a identificação do γ -orizanol. O método de cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa desenvolvido por Rogers et al. (1993) consiste na separação simultânea e quantificação de tocoferol, tocotrienol e γ -orizanol presentes no óleo de farelo de arroz. Tocoferol e tocotrienol foram identificados por detector fluorescente e os componentes do γ -orizanol por detector de UV-visível a 325nm. A separação dos componentes do γ -orizanol foi efetuada utilizando uma coluna de sílica (5 μ m, ODS C18). A composição da fase móvel de

melhor resolução para estes componentes, consistiu de uma mistura de acetonitrila: metanol: isopropanol na relação 50:45:5 (v/v/v) respectivamente, e fluxo $1\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Norton (1995 apud GODBER; XU, 1999) também utilizou coluna de fase reversa, com fase móvel constituída de acetonitrila: n-butanol: ácido acético: água (94:3:2:1, v/v/v/v) identificando cinco componentes individuais do γ -orizanol, tendo encontrado em maiores quantidades o cicloartenil ferulato, 24-metileno cicloartenil ferulato e o campesteril ferulato.

A técnica cromatográfica desenvolvida por Xu e Godber (1999) consiste em uma purificação prévia dos componentes do γ -orizanol presentes no óleo de arroz, com o uso de uma coluna de vidro empacotada com sílica, e como fase móvel hexano:etil acetato (7:3), para a remoção dos triacilgliceróis, e após hexano:etil acetato (1:1) para remover o γ -orizanol. A etapa de identificação e quantificação foi realizada cromatografia líquida de alta performance de fase reversa, com fase móvel composta por metanol:acetonitrila:diclorometano:ácido acético na proporção de 50:44:3:3 (v/v/v/v) respectivamente, com fluxo de $1,4\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, detector de arranjo de diodo UV-vis no comprimento de onda 330-450nm.

Os métodos cromatográficos descritos apresentaram similaridade nos principais componentes identificados, todos encontraram os componentes cicloartenil ferulato, 24-metileno cicloartenil ferulato e campesteril ferulato como os três componentes presentes em maiores proporções na fração do gama-oryzanol. Xu e Godber (1999) mencionaram que os demais componentes desta fração apresentaram picos com áreas muito pequenas quando comparado com os três maiores constituintes, e que esta situação seria o maior impedimento para separação e identificação individual dos componentes.

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Matéria-prima

O farelo e o óleo de arroz foram doados por uma indústria processadora de óleo vegetal da cidade de Pelotas/RS (Indústria Rio-Grandense de Óleos Vegetais – Irgovel). Após o recebimento, as amostras foram congeladas a -18°C até o momento das análises. O farelo foi embalado em sacos plásticos e o óleo de arroz foi armazenado em frascos plásticos translúcidos.

As amostras de farelo e óleo de arroz foram retiradas da linha de processamento da indústria Irgovel, por um técnico responsável. As amostras do farelo de arroz branco e parboilizado foram coletadas após o recebimento na indústria, e as amostras do farelo peletizado e desengordurado foram obtidas logo após o processamento na indústria. As amostras de óleo de arroz foram coletadas após a etapas de extração (óleo bruto), de degomagem, de neutralização, de branqueamento, de deceramento e de desodorização. As coletas dos farelos e óleos foram feitas de três lotes do processamento, e para cada lote foram realizadas análises em duplicata.

3.2 Padrões para cromatografia

Os padrões utilizados foram δ -Tocoferol e γ -Tocoferol (Sigma, na pureza de 90% e maior ou igual a 96%, respectivamente); α -Tocoferol (Merck de pureza 99%); e γ -orizanol (grau analítico, TCI - Tokyo, Japão).

Para os ácidos graxos utilizou-se uma mistura contendo os ácidos capríco, caprílico, cáprico, caproléico, láurico, dodecenóico, mirístico, miristoléico, palmítico, palmitoléico, margárico, heptadecenóico, esteárico, oléico, linoléico, linolênico, araquídico, gadoléico, eicosadienóico, eicosatrienóico, eicosatetraenóico, behênico,

erúxico, docosadienóico, docosatrienóico, tetraenóico, lignocérico e nervônico (Sigma).

3.3 Sistema cromatográfico

Para a determinação dos tocoferóis e dos orizanóis foi utilizando um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência-HPLC (SHIMADZU) constituído por módulo de mistura dos solventes LC-10AT_{VP}, desgaseificador FCV-10AL_{VP}, bomba reodine DGU-14_A, sistema de controle SCL-10A_{VP}, forno da coluna CTO-10AS_{VP}, e amostrador automático SIL-10AF. Utilizou-se uma coluna de separação analítica de fase reversa, Shim-Pak CLC-ODS (3,9cm x 150mm x 4µm), tendo como fase estacionária grupamentos octadesil. Utilizou-se o detector espectrofotométrico UV/V SPD-10AV_{VP}, para a identificação dos orizanóis; e o detector de fluorescência RF-10A_{XL}, para a identificação dos tocoferóis. Os dados foram adquiridos e processados com o uso do software Class-VP.

Os ácidos graxos foram analisados em cromatógrafo gasoso-CG (Shimadzu GC-14B), provido com detector FID, com coluna capilar (J & W Scientific) de dimensão 30m x 0,252mm, revestida por filme 0,25 µm, com fase líquida DB-225. Os dados adquiridos e processados com auxílio do software Glass-GC10. As amostras foram injetadas manualmente com seringa (PerkinElmer) de capacidade de 10µL.

3.4 Métodos

3.4.1 Caracterização do farelo de arroz

a) Extrato etéreo

As amostras foram pesadas em papel filtro e submetidas a extração no Extrator de Soxhlet com éter de petróleo, segundo a técnica descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (1985); sendo os resultados expressos em %.

b) Umidade

O farelo de arroz foi pesado em cápsulas previamente taradas e colocado em estufa a 105°C até atingir peso constante, segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (1985); os resultados foram expressos em %.

c) Teor de acidez

O farelo foi pesado, colocado em contato com solução de éter etílico:álcool etílico (2:1, v/v) na proporção de farelo:solvente de 2:10 (p/v), por aproximadamente 15h, após filtrado e completado o volume de 25mL com a mistura de solventes, após adicionou-se fenolftaleína e titulou-se com solução alcalina, segundo metodologia da AOCS (1992); sendo os resultados expressos em % de ácido oléico.

d) Índice de peróxido

O farelo foi pesado, colocado em contato com solução ácido acético:clorofórmio (3:2), na proporção de farelo:solvente de 1:6 (p/v) por aproximadamente 15h, após filtrado e completado o volume de 30mL com a mistura de solvente. Após seguiu-se os passos descritos pela AOCS (1992); os resultados foram expressos $\text{meq-gO}_2 \cdot \text{Kg}^{-1}$ amostra.

3.4.2 Caracterização do óleo de arroz**a) Umidade**

O óleo de arroz foi pesado em cápsulas previamente taradas e colocado em estufa a 105°C até atingir peso constante, segundo metodologia do Instituto Adolfo Lutz (1985); os resultados foram expressos em %.

b) pH

Realizado diretamente no óleo a temperatura ambiente com auxílio do potenciômetro.

c) Teor de acidez

O óleo foi pesado e solubilizado com 25mL de solução de éter etílico:álcool etílico (2:1, v/v), adicionou-se fenolftaleína e titulou-se com solução alcalina, segundo metodologia da AOCS (1992); sendo os resultados expressos em % de ácido oléico.

d) Índice de peróxido

O óleo de arroz foi dissolvido com 30mL de solução ácido acético:clorofórmio (3:2). Após seguiu-se os passos descritos pela AOCS (1992); os resultados foram expressos $\text{meq-gO}_2 \cdot \text{Kg}^{-1}$ amostra.

e) Matéria-insaponificável

Realizado segundo metodologia descrita por Zambiasi (1997) com pequenas modificações. Pesou-se entre 2,0 a 2,5g de óleo, adicionou-se 25 mL de KOH alcoólico 1,5N, misturou-se periodicamente 15 em 15min durante 1h, e após deixou-se em repouso por 18h na ausência de luz. Após este período transferiu-se para funil de decantação, adicionou-se 40mL de água e 40mL de éter de petróleo, agitou-se por 1 min. e deixou-se em repouso até separação das fases. Transferiu-se a fase inferior (fase aquosa) para outro funil de decantação e adicionou-se 20mL de éter de petróleo. Na fase etérea adicionou-se 20mL de água. A fase inferior de ambos os funis foram descartadas e as fases etéreas foram coletadas em erlenmeyer previamente tarado, seguindo-se a evaporação do solvente em banho-maria a 60°C, pesando-se o resíduo final.

3.4.3 Composição em ácidos graxos por cromatografia gasosa**3.4.3.1 Preparo das amostras**

Para análise do farelo de arroz, primeiramente, realizou-se a extração do óleo. Pesou-se cerca de 10g de amostra e extraiu-se a fração etérea por 4h em extrator de Soxhlet utilizando éter de petróleo. Após as amostras foram centrifugadas por 10 min a 3.000rpm. O solvente foi totalmente evaporado em sistema de vácuo, a temperatura de 50°C.

A preparação das amostras de óleo extraído do farelo de arroz e dos óleos de arroz, para determinação do perfil de ácidos graxos foi realizada segundo técnica descrita por Zambiasi (1997).

Pesou-se aproximadamente 45 mg de óleo em tubos de ensaio com tampa, dissolveu-se o óleo em 1 mL de éter de petróleo, adicionou-se 12 mL de 0,5N HCl em metanol, misturou-se no vortex e colocou-se em aquecimento em estufa a 65°C por uma hora (até que a solução ficasse transparente). Após a amostra foi resfriada a temperatura ambiente e adicionada de 5 mL de isooctano e 6 mL de água

destilada, seguida por mistura vigorosa. Esperou-se até que a parte da fase superior estivesse clara. A camada superior foi parcialmente transferida para dentro de um vial de CG de 1,5mL. Cerca de 1,5 μ L de amostra foi injetado no CG utilizando split de 1:50.

3.4.3.2 Condições cromatográficas

Seguiu-se o método descrito por Zambiasi (1997), com pequenas modificações.

Utilizou-se um gradiente de temperatura, com a temperatura inicial da coluna de 100°C, mantida por 0,5min; após passou para 150°C com incremento linear de 8°C min⁻¹, mantida por 0,5min; seguindo a 180°C com incremento linear de 1,5°C min⁻¹, mantida por 5min; e finalmente a 220°C com incremento linear de 2°C min⁻¹, mantida por 6min; totalizando 58,25min. O injetor e o detector foram mantidos na temperatura de 250°C. Utilizou-se o nitrogênio como gás de arraste a 1.0mL.m⁻¹.

3.4.4 Identificação e quantificação de tocoferóis e γ -orizanol por cromatografia líquida de alta eficiência

3.4.4.1 Preparo das amostras

Para o farelo de arroz, pesou-se cerca de 10g de amostra e extraiu-se a fração etérea em extrator de Soxhlet por 4h, empregando éter de petróleo. Após as amostras foram centrifugadas por 10 min a 3.000rpm. O solvente foi totalmente evaporado em sistema de vácuo, a temperatura de 50°C. O resíduo foi pesado e dissolvido com isopropanol:acetonitrila (7:3, v/v) em volume conhecido (5mL). Centrifugou-se por 6min a 9.000rpm, em microcentrífuga NT800 Nova Técnica, transferindo-se a amostra para o vial do HPLC de 1,5mL, para posterior determinação dos tocoferóis e γ -orizanol.

Para a análise dos tocoferóis, as amostras do óleo de arroz foram diluídas com isopropanol:acetonitrila (7:3, v/v), até completar o volume de 5mL. Para a análise de γ -orizanol dos óleos, diluiu-se cerca de 0,25g de óleo na mesma proporção e volume de solventes.

Para ambas análises procedeu-se a centrifugação por 6min a 9.000rpm em microcentrífuga NT800 Nova Técnica e na sequência transferiu-se a amostra para o vial do HPLC de 1,5mL.

3.4.4.2 Condições cromatográficas

A análise dos tocoferóis e orizanóis foi baseada na metodologia descrita por Chen e Berman (2005), com pequenas modificações. Para ambas determinações utilizou-se fluxo constante de 1 mL min^{-1} . Para análise de tocoferóis a fase móvel inicial foi acetonitrila:metanol:isopropanol (50:40:10, v/v/v) por 10min, alterando-se linearmente para acetonitrila:metanol:isopropanol (30:65:5, v/v/v) mantendo-se até 12 min; e retornando linearmente para a fase móvel inicial, totalizando 15min de análise. Para análise de γ -orizanol a fase móvel inicial foi acetonitrila:metanol:isopropanol (50:40:10, v/v/v) por 10min, alterando-se linearmente para acetonitrila:metanol:isopropanol (30:65:5, v/v/v), mantendo-se por 5min e aos 20min retornando linearmente para a fase móvel inicial, totalizando 30 min de análise.

Para a análise do γ -orizanol injetou-se de 10-20 μL de amostra, usando o detector UV/VIS a 325nm. Para análise dos tocoferóis injetou-se de 20-40 μL , utilizou-se o detector de fluorescência com excitação de 290nm e emissão a 330nm.

3.4.5 Análise Estatística

Foi realizada a análise de variância (ANOVA), e comparação de médias pelo teste de Tukey, ambos ao nível de 5% de probabilidade, através do programa Statistica 6.0 (STATSOFT, 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Caracterização do farelo de arroz

Os resultados das análises do farelo de arroz branco, parboilizado, peletizado e desengordurado (tab. 3), mostram as características iniciais da matéria-prima utilizada para o processo de extração do óleo de arroz, e da massa obtida após o processo de extração.

Tabela 3 - Características físico-químicas dos farelos de arroz.

Farelo de arroz	Umidade (%)	Extrato etéreo (%)	Acidez (% ác. oléico)	Índice de peróxido (meq.g.kg ⁻¹)
Branco	10,62 a	19,53 a	1,40 a	0,00 a
Parboilizado	8,86 b	23,43 b	0,64 b	1,22 a
Peletizado	9,60 c	19,21 a	1,52 a	1,11 a
Desengordurado	12,84 d	0,13 c	0,40 b	0,00 a

Valores seguidos por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O farelo de arroz branco caracteriza-se como sendo o produto oriundo do polimento do grão de arroz após ter passado pelas etapas de secagem e descasque do grão integral. O farelo de arroz parboilizado é obtido após as etapas de encharcamento, autoclavagem, secagem, descasque e polimento do arroz integral. O farelo de arroz peletizado consiste em uma mistura de 70% de farelo polido e 30% de farelo parboilizado, a qual passa por um cozimento, peletização e secagem. E o farelo desengordurado consiste no farelo de arroz peletizado, que passou pela etapa de extração do óleo via solvente, seguido de dessolventização; este é normalmente aproveitado para a elaboração de rações.

Verificou-se que o teor de umidade das amostras de farelo de arroz diferiu significativamente (Apêndices), possivelmente devido às etapas diferenciadas de obtenção de cada farelo. O conteúdo de umidade do farelo de arroz encontrado por Hwang et al. (2005) variou de 9,61 a 14,74%. Estudos de Silva, Sanches e Amante

(2006), relatam teores de umidade de 9,96% e 7,96%, respectivamente para o farelo de arroz parboilizado e farelo de arroz branco.

O farelo de arroz parboilizado apresentou um valor de extrato etéreo significativamente superior aos demais farelos. Os valores encontrados por Denardin et al. (2003), foram de 27,83% para farelo de arroz parboilizado e 18,54% para o farelo de arroz branco. Segundo estes autores, estes teores podem ser explicados, tendo em vista que os grãos resultantes do processo de parboilização apresentam consistência física mais dura do que aqueles não processados antes do descasque. Desta forma, os grãos tornam-se mais resistente a abrasão dos brunidores no processo de descasque e polimento, resultando em um farelo com maior proporção de camadas externas e menor contribuição de endosperma. A maior presença de endosperma nos farelos brancos causa um efeito “diluidor” no extrato etéreo.

Os conteúdos dos extratos etéreos dos farelos de arroz branco e peletizado não demonstraram diferenças significativas, o que pode ser atribuído à constituição do farelo peletizado, onde predomina o farelo branco (70%). O menor conteúdo de extrato etéreo no farelo desengordurado está, obviamente, relacionado à extração do óleo (cerca de 99%) via solvente. Segundo Rittner (1999), a massa residual de farelo desengordurado deve conter abaixo de 1% de extrato etéreo quando o processo de extração for eficiente.

O farelo de arroz branco apresentou maior acidez que o farelo de arroz parboilizado. Segundo Denardin et al. (2003) a atividade da enzima lipase presente no farelo do grão branco ocasiona a desesterificação dos triacilgliceróis, liberando ácidos graxos e conseqüentemente aumentando acidez. Segundo Silva, Sanches e Amante (2006), o processo de parboilização é uma das formas de estabilizar o farelo de arroz, por induzir a inativação das enzimas. Estes autores descrevem valores de acidez solúvel em álcool de 1,14% para o farelo parboilizado e de 15,43% para o farelo polido.

Os valores de acidez do farelo de arroz branco e do farelo peletizado não diferiram significativamente, porém, diferiram dos valores encontrados para os farelos parboilizado e desengordurado. O farelo de arroz peletizado apresentou maior acidez que o farelo branco, provavelmente devido ao intervalo de tempo transcorrido entre o preparo da mistura do farelo branco e parboilizado e a etapa de estabilização e peletização: maior tempo entre estas etapas pode contribuir para

aumentar a acidez do farelo, devido a ação da enzima lipase. O farelo desengordurado apresentou baixo conteúdo em acidez, devido a grande parte de ácidos graxos livres (aproximadamente 74%) serem removidos durante o processo de extração por solventes.

O índice de peróxido dos farelos apresentou-se em níveis muito baixos. Tanto no processo de parboilização quanto no processo de condicionamento do farelo para a obtenção do farelo peletizado ocorre a utilização de altas temperaturas, o que poderia gerar formação de pequenas quantidades de peróxidos nestes farelos. Observa-se que o farelo desengordurado não apresentou índice de peróxido, o que pode provavelmente estar relacionado a extração total via solvente.

4.2. Caracterização do óleo de arroz

Os dados da caracterização físico-química dos óleos de arroz bruto, degomado, neutralizado, clarificado, decerado e desodorizado estão apresentados na tab. 4.

Tabela 4 - Características físico-químicas dos óleos de arroz.

Óleo de arroz	Umidade (%)	pH	Acidez (% ácido oléico)	Índice de peróxido (meq.g.kg ⁻¹)	Matéria-Insaponificável (%)
Bruto	1,01 a	5,79 a	8,14 a	8,54 a	2,28 a
Degomado	0,64 ab	5,56 a	6,55 b	5,71 b	1,88 a
Neutralizado	0,34 b	8,12 b	0,08 c	5,79 b	1,92 a
Clarificado	0,04 c	6,38 a	0,17 c	3,80 b	2,04 a
Decerado	0,04 c	6,29 a	0,21 c	5,91 b	1,98 a
Desodorizado	0,08 c	6,09 a	0,11 c	0,28 c	2,01 a

Valores seguidos por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Durante o processo de refino observa-se uma redução significativa no teor de umidade do óleo, que se mantém praticamente constante após o processo de clarificação. Scavariello (1997) relata um teor de umidade de 0,74% no óleo de arroz bruto e de 0,97% no óleo degomado. Yokochi (1974) apud Scavariello (1997), relata valores de 1,5% de umidade no óleo de arroz bruto.

O valor do pH no óleo neutro foi o mais elevado, e o único que diferiu significativamente dos demais; devido a adição de álcali nesta etapa do refino químico, o pH tende a tornar-se mais básico. Salienta-se que a coleta desta amostra ocorre após a retirada da borra por centrifugação, porém, antes da etapa de

lavagem com água, a qual tem por objetivo eliminar completamente os resíduos da soda cáustica.

Observa-se que o teor de acidez em ácido oléico foi maior no óleo de arroz bruto (8,14% em ácido oléico) e no degomado (6,55% em ácido oléico), diferindo significativamente dos demais. Scavariello (1997) relata 17,7% de acidez para o óleo bruto (o que equivale a 8,9% de acidez em ácido oléico); 18,06% para óleo degomado (o que equivale a 9,1% de acidez em ácido oléico), e 0,3% para o óleo neutralizado (o que equivale a aproximadamente 0,01% de acidez em ácido oléico). O alto valor de acidez para o óleo bruto é atribuído à condição inicial da matéria-prima, salientando-se que na etapa de extração do óleo, os ácidos graxos livres são solubilizados pelo solvente, e ficam em maior proporção no óleo. O processo de neutralização promove a remoção dos ácidos graxos livres pela adição de álcali (solução de hidróxido de sódio), que pelo contato com os ácidos graxos livres forma uma pasta (borra) contendo o sabão (sais oriundos do processo de neutralização), que é removida por centrifugação. Um pequeno aumento na acidez foi observado no óleo clarificado, o que pode ser atribuído a etapa de lavagem (após a centrifugação), considerando que o emprego de água para retirada completa dos resíduos de soda, pode contribuir para formação de ácidos graxos livres. Durante o deceramento ocorreu um pequeno aumento no teor de acidez, possivelmente associado ao aumento proporcional da acidez no total da massa de óleo, devido a retirada da cera. Na etapa de desodorização, a acidez apresentou um decréscimo, o que está relacionado com a volatilização dos ácidos graxos livres, um dos objetivos desta etapa.

Ao final da etapa de refino observou-se uma redução de aproximadamente 98,7% dos ácidos graxos livres presentes inicialmente no óleo bruto. Rodrigues, Pêsoa Filho e Meirelles (2004), também citam que o processo de refino reduziu em 99,2% os ácidos graxos livres no óleo, passando de 9,34 % de acidez (em ácido oléico) no óleo de arroz bruto, para 0,07% no óleo de arroz refinado.

A acidez máxima (em ácido oléico) permitida pela ANVISA (1999), para o óleo de arroz bruto, semi-refinado (extraído, degomado e neutralizado) e refinado é, respectivamente, 15%, 0,8% e 0,3%; portanto, todos os óleos analisados neste estudo enquadram-se nos padrões estabelecidos pela legislação brasileira.

O óleo bruto apresentou um valor do índice de peróxido significativamente superior aos demais, resultado da condição inicial da matéria-prima (farelo de arroz);

o que pode estar associado a atuação das enzimas lipoxigenases. Pupa (2004) descreve que na forma intacta do grão, os lipídios ficam separados na estrutura celular; porém, com a etapa de descasque e polimento, as enzimas e o oxigênio atmosférico entram em contato com os lipídeos, induzindo a oxidação e originando peróxidos, produtos iniciais do processo oxidativo.

Os óleos de arroz degomado, neutralizado, clarificado e decerado não apresentaram diferença significativa em relação ao índice de peróxido, o que provavelmente está relacionado a ineficiência destas etapas na remoção dos peróxidos, visto não ser o objetivo das mesmas. O óleo desodorizado apresentou o menor índice de peróxidos, ou seja, a etapa de desodorização através da utilização de alta temperatura e baixa pressão sob vácuo, volatiliza os resíduos oriundos da oxidação, dentre estes os peróxidos, satisfazendo o objetivo desta etapa. Os óleos analisados apresentaram índices de peróxidos dentro do estipulado pela legislação brasileira (ANVISA, 1999), onde o máximo permitido é de 10 meq-g kg⁻¹.

Os óleos das diferentes etapas de refino não apresentaram diferença significativa no conteúdo de matéria-insaponificável. Observou-se que durante o processo de refino do óleo de arroz o conteúdo de matéria-insaponificável reduziu-se em aproximadamente 11,8%, passando de 2,28% no óleo bruto para 2,01% no óleo refinado. Os resultados encontrados estão dentro do estabelecido pela legislação brasileira, de no máximo 5% (ANVISA, 1999). Scavariello (1997) encontrou para óleo de arroz bruto 5,2% de matéria insaponificável e 4,3% para o óleo neutralizado.

4.3 Composição em ácidos graxos no farelo e óleo de arroz

A composição em ácidos graxos dos farelos de arroz branco, parboilizado, peletizado e desengordurado é apresentada na tab. 5.

Os ácidos graxos em maior proporção no farelo de arroz são o oléico (32,81-35,61%), linoléico (30,77-33,47%) e palmítico (19,52-21,13%). O total de ácidos graxos saturados nas amostras encontrou-se entre 26,63 e 28,13%. Maiores proporções de ácidos graxos insaturados são característicos em óleos de origem vegetal; o percentual no farelo de arroz variou de 71,87 a 73,37%.

As etapas de processamento a que estes farelos foram submetidos não foram prejudiciais aos lipídeos presentes, porque a composição em ácidos graxos

não apresentou expressivas diferenças. O que se espera nos processos oxidativos, é que ocorra a redução do percentual de ácidos graxos insaturados inferindo num acréscimo de ácidos graxos saturados.

Tabela 5 - Composição em ácidos graxos nos farelos de arroz

		Farelo de arroz			
		Branco	Parboilizado	Peletizado	Desengordurado
AG**		%	%	%	%
Cáprico	C10:0	tr*	tr	0,04	tr
Láurico	C12:0	tr	tr	0,07	0,09
Mirístico	C14:0	tr	0,29	0,29	0,41
Miristoléico	C14:1	0,24	tr	0,05	0,59
Palmítico	C16:0	19,52	20,36	20,37	21,13
Palmitoléico	C16:1	0,15	0,15	0,14	0,15
Margárico	C17:0	1,35	0,92	0,55	1,19
Heptadecenóico	C17:1	tr	tr	tr	tr
Esteárico	C18:0	1,53	1,74	1,49	1,61
Oléico	C18:1	36,32	36,27	37,72	32,81
Linoléico	C18:2	30,77	32,89	33,30	33,47
Linolênico	C18:3	3,72	3,01	2,49	4,05
Araquídico	C20:0	0,46	0,47	0,54	0,42
Gadoléico	C20:1	0,72	0,58	0,50	0,66
Eicosadienóico	C20:2	2,08	1,30	0,81	1,09
Behênico	C22:0	1,59	0,99	0,83	0,81
Docosadienóico	C22:2	tr	tr	tr	tr
Docosatrienóico	C22:3	tr	tr	tr	tr
Tetraenóico	C22:4	tr	tr	tr	0,50
Lignocérico	C24:0	1,19	0,74	0,44	0,66
Nervônico	C24:1	0,35	0,30	0,35	0,37
% AG saturados		28,13	27,70	26,67	26,63
%AG insaturados		71,87	72,29	73,33	73,37

*tr – significa que somente foi detectado traços deste ácido graxo.

**AG – na forma de ésteres metílicos.

Os ácidos graxos constituintes dos óleos de arroz apresentaram proporções semelhantes as encontradas nos farelos (tab. 6). Os ácidos oléico, linoléico e palmítico, apresentaram as maiores proporções, variando respectivamente de 33,25 a 37,43%, 30,19 a 33,16% e 17,55 a 19,97%. Segundo o regulamento de identidade e qualidade de óleos vegetais (ANVISA, 1999), o óleo de arroz deve apresentar esses três ácidos graxos como os principais, na proporção de 40-50%, 29-42% e 12-18%, respectivamente.

O total de ácidos graxos insaturados no óleo de arroz, nas diferentes etapas do processo apresentou apenas uma pequena variação, encontrando-se valores entre 71,04 e 74,45%. Os ácidos graxos saturados apresentaram-se na concentração de 25,55 a 28,96%. Observa-se que o óleo decerado apresentou

menor percentagem de ácidos graxos saturados, o que pode estar associado ao maior ponto de fusão dos ácidos graxos saturados, que provavelmente, possibilitou durante o resfriamento do óleo (etapa do deceramento), a sua remoção parcial juntamente com as ceras, aumentando assim a percentagem dos ácidos graxos insaturados.

A proporção relativa dos ácidos linolênico, gadoléico, docosadienóico, docosatrienóico, tetraenóico e nervônico reduziu durante o processamento do óleo de arroz, e como estes são ácidos graxos insaturados, esse decréscimo pode ser atribuído a ocorrência de reações oxidativas.

As quantidades relativas dos ácidos graxos dos óleos de arroz degomado e desodorizado foram semelhantes aos encontrados por Rodrigues, Onoyama e Meirelles (2006). A composição em ácidos graxos do óleo de arroz degomado, determinada por estes autores foi: 0-0,30% de mirístico, 18,18-19,91% de palmítico, 1,94-1,84% de esteárico, 40,90-40,01% de oléico, 35,70-36,34% de linoléico, 1,73-1,90% de linolênico, 0-0,73% de araquídico e 0-0,47% de gadoléico. Para o óleo de arroz desodorizado foi: de 0,96% de mirístico, 18,17% de palmítico, 0,61% de palmitoleico, 1,54% de esteárico, 38,50% de oléico, 35,61% de linoléico, 2,67% de linolênico, 0,78% de araquídico e 0,16% de gadoléico.

Tabela 6 - Composição de ácidos graxos nos óleos de arroz.

		Óleo de Arroz					
		Bruto	Degomado	Neutro	Clarificado	Decerado	Desodorizado
AG**		%	%	%	%	%	%
Cáprico	C10:0	tr*	0,09	0,12	tr	tr	tr
Láurico	C12:0	tr	0,13	0,13	tr	tr	tr
Mirístico	C14:0	0,25	0,33	0,11	tr	0,07	0,24
Miristoléico	C14:1	0,04	0,20	0,34	0,23	0,02	0,01
Palmítico	C16:0	17,55	19,97	18,48	18,26	18,73	19,20
Palmitoléico	C16:1	0,15	0,15	0,14	0,13	0,13	0,14
Margárico	C17:0	2,07	1,12	4,30	1,43	0,89	0,86
Heptadecenóico	C17:1	tr	Tr	tr	0,33	tr	tr
Estearico	C18:0	1,47	1,52	1,45	1,53	1,66	1,60
Oléico	C18:1	33,25	34,37	36,07	35,99	38,19	37,95
Linoléico	C18:2	30,19	31,93	31,40	30,90	33,16	33,07
Linolênico	C18:3	4,26	3,11	3,20	4,47	2,91	2,66
Araquídico	C20:0	0,73	0,48	0,53	0,52	0,64	0,59
Gadoléico	C20:1	1,21	0,77	0,75	0,47	0,65	0,61
Eicosadienóico	C20:2	2,02	1,32	1,26	2,52	1,16	1,19
Eicosapentanóico	C20:5	tr	0,32	tr	tr	tr	Tr
Behênico	C22:0	3,17	1,17	0,86	1,82	0,88	0,97
Docosadienóico	C22:2	0,23	Tr	tr	tr	tr	tr
Docosatrienóico	C22:3	0,50	0,12	tr	tr	tr	tr
Tetraenóico	C22:4	0,75	0,70	tr	tr	tr	tr
Lignocérico	C24:0	1,23	1,40	0,52	1,11	0,60	0,66
Nervônico	C24:1	0,95	0,81	0,32	0,30	0,32	0,25
% AG saturados		26,46	28,56	28,96	26,73	25,55	25,96
%AG insaturados		73,54	71,44	71,04	73,27	74,45	74,04

*tr – significa que somente foi detectado traços deste ácido graxo.

**AG – na forma de ésteres metílicos.

4.4 Identificação e quantificação de tocoferóis no farelo e óleo de arroz

Para realizar a quantificação dos tocoferóis, inicialmente foi preparada uma solução para o α -, γ - e δ -tocoferol (solução mãe), o β -tocoferol não foi avaliado por falta de padrão. A partir desta solução retirou-se várias alíquotas e completou-se volumes definidos para preparar as soluções nas concentrações desejadas (Apêndices).

De cada uma destas soluções, injetou-se no cromatógrafo líquido de alta eficiência 20 μ L, desenvolvendo a análise nas mesmas condições que posteriormente foi analisada as amostras. Com isso, obteve-se a equação de regressão correspondente a cada um dos tocoferóis (Apêndices).

A resposta em relação a concentração dos diferentes tocoferóis no detector de fluorescência com excitação em 290nm e emissão em 330nm, foi distinta, o que pode ser observado pelas inclinações de cada curva.

O cromatograma típico da separação de α -, γ - e δ -tocoferóis presentes nas amostras de farelo e do óleo de arroz, determinados através de HPLC pode ser visto na Fig. 6.

Os primeiros picos (picos 1) são resultantes de impurezas presentes na amostra, não resolvidas no processo de separação, e que também absorvem na região de absorção dos tocoferóis. Os picos no tempo de retenção médio de 4,0 a 5,5 min (picos 2), baseado em dados da literatura provavelmente sejam de tocotrienóis. Segundo Abidi (2000) a ordem de saída dos tocotrienóis e tocoferóis, em condições cromatográficas semelhantes, seriam: δ -tocotrienol, γ -tocotrienol, α -tocotrienol, δ -tocopherol, β -tocopherol, γ -tocopherol e α -tocopherol.

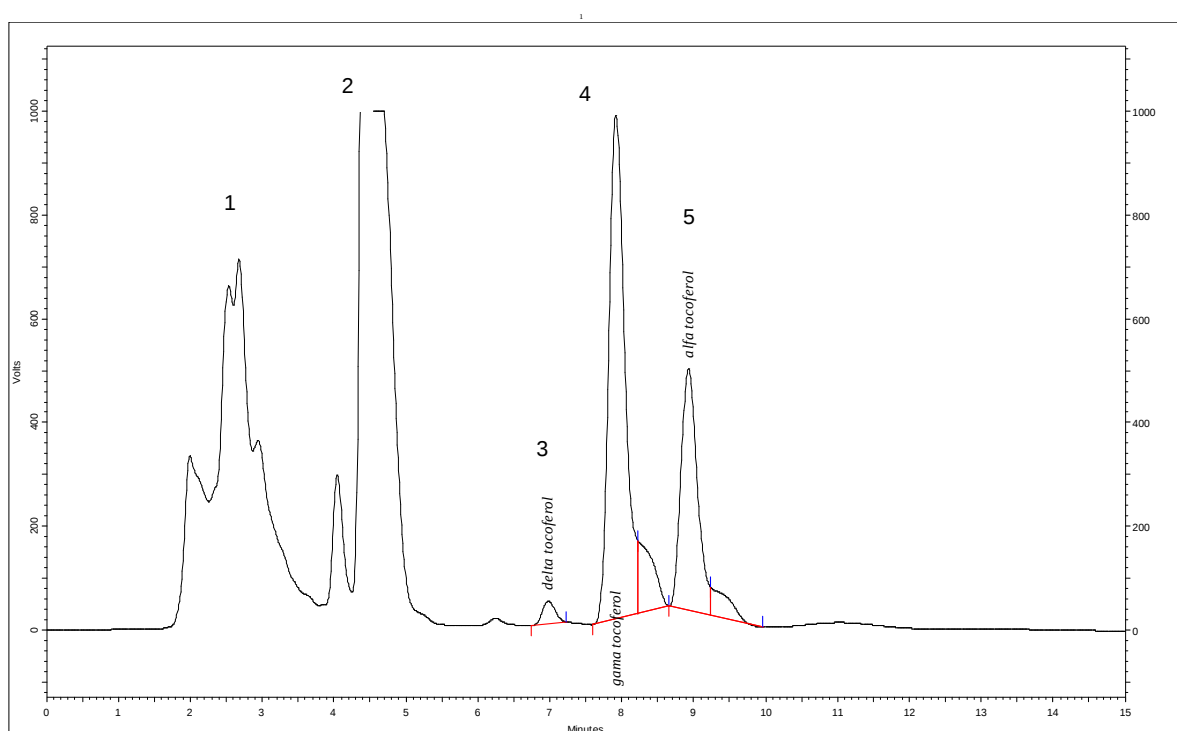


Figura 6 - Cromatograma típico dos tocoferóis nas amostras de farelo e do óleo de arroz.

Os tocoferóis foram detectados em um intervalo de 7 a 9 min, no tempo total de análise de 15 min.

O δ -tocopherol (pico 3) apresentou a melhor resolução quando comparado aos demais tocoferóis, com um tempo de retenção médio de 7min. O tempo de retenção

médio do γ -tocoferol (pico 4) foi de 8min e do α -tocoferol (pico 5) de 9min. Os picos do γ - e do α -tocoferol apresentaram um “tailing”, ou seja, uma deformação caudal ao final do pico, possivelmente devido a presença de interferentes, pois os picos que representaram os padrões não continham as caudas. No entanto, a presença de interferentes não prejudicou a quantificação destes tocoferóis. Segundo Abidi (2000) o β -tocoferol é o pico após o δ -tocoferol, através do qual pode-se sugerir que o β -tocoferol no óleo e farelo de arroz, está presente em quantidades muito pequenas, não se alcançando resolução deste no cromatograma. Outra possibilidade é que o β -tocoferol não tenha se separado de seu isômero, o γ -tocoferol, e tenham saído no mesmo pico.

O conteúdo de tocoferóis, expressos em mg.100g^{-1} de farelo de arroz, estão apresentados na tab. 7.

Tabela 7 - Conteúdo de tocoferóis expressos em mg.100g^{-1} , nos farelos de arroz.

Farelo de arroz	α -tocoferol	γ -tocoferol	δ -tocoferol	* $\Sigma(\alpha,\gamma,\delta)$ tocoferóis
Branco	6,21 a	1,50 a	0,08 a	7,82
Parboilizado	1,84 b	0,53 b	0,11 b	2,48
Peletizado	5,79 a	1,45 a	0,11 b	7,35
Desengordurado	0,52 b	0,12 b	0,01 c	0,66

Valores seguidos por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

*significa somatório de α -, γ - e δ -tocoferol.

Os farelos de arroz branco e peletizado apresentaram os maiores conteúdos de α -tocoferol e γ -tocoferol. Os farelos de arroz parboilizado e desengordurado apresentaram maiores conteúdos em δ -tocoferol, embora em quantidades muito pequenas.

Pela comparação do conteúdo total de tocoferóis no farelo peletizado (destinado a extração do óleo) e no farelo desengordurado (farelo obtido após o processo de extração do óleo), observa-se que a etapa de extração reduziu o conteúdo do total de tocoferóis de 7,35 para 0,66 mg.100g^{-1} , ou seja, 91,06% dos tocoferóis presentes no farelo peletizado foram retirados pelo aquecimento e solubilização no solvente de extração.

O total de tocoferóis foi 68,22% inferior no farelo parboilizado quando comparado ao farelo branco. Essa diferença pode estar relacionada a perda de tocoferóis pela lixiviação e pela utilização de altas temperaturas durante as etapas de encharcamento e autoclavagem no processo de parboilização do arroz. Porém, deve-se levar em consideração que esses farelos não foram obtidos do mesmo grão

de arroz; portanto, a cultivar, sistema de cultivo e clima, podem ter parcialmente influenciado nestas diferenças.

Dentre os tocoferóis individuais, o α -tocoferol foi o componente que apresentou a maior concentração nos diferentes farelos de arroz, contribuindo com cerca de 74 a 79%, seguido pelo γ -tocoferol (19-21%) e pelo δ -tocoferol (1-4%). De todos os farelos, o farelo de arroz parboilizado foi o que apresentou a menor distribuição relativa α -tocoferol, por outro lado, este foi o que mostrou os maiores valores para γ - e δ -tocoferol (tab. 8).

Tabela 8 - Distribuição relativa de tocoferóis, em percentual, nos farelos de arroz.

Farelo de arroz	α -tocoferol	γ -tocoferol	δ -tocoferol
Polido	79,49	19,52	0,98
Parboilizado	74,23	21,46	4,31
Peletizado	78,75	19,79	1,46
Desengordurado	79,30	18,60	2,13

A concentração de α -tocoferol em farelos de arroz branco, encontrado por Chen e Bergman (2005), variou de 2,94 a 8,09 mg.100g⁻¹, em função das diferentes variedades e diferentes solventes empregados no processo de extração do óleo. Esses autores relatam conteúdos de β - e γ -tocoferóis entre 0,98 e 2,96mg.100g⁻¹ no farelo branco.

Gavino et al. (2007) analisaram diferentes variedades de farelo de arroz e encontraram conteúdos totais de tocoferóis entre 4,1 a 6,1mg.100g⁻¹, resultados próximos aos encontrado neste estudo (7,81mg.100g⁻¹).

O conteúdo do α -, γ - e δ -tocoferol e o conteúdo total dos tocoferóis, expressos em mg.100g⁻¹ de óleo de arroz, estão apresentados na tab. 9.

Tabela 9 - Conteúdo de tocoferóis, expressos em mg.100g⁻¹, nos óleos de arroz.

Óleo de arroz	α -tocoferol	γ -tocoferol	δ - tocoferol	* $\Sigma(\alpha, \gamma, \delta)$ tocoferóis
Bruto	16,11 a	9,73 a	0,49 a	26,33
Degomado	16,91 a	9,63 a	0,48 a	27,03
Neutralizado	18,35 ab	8,43 a	0,34 b	27,12
Clarificado	20,04 c	8,62 a	0,38 ab	29,04
Decerado	19,58 bc	8,65 a	0,38 ab	28,61
Desodorizado	21,54 c	7,74 a	0,38 ab	29,66

Valores seguidos por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey (p<0,05).

*significa somatório de α -, γ - e δ -tocoferol.

O conteúdo de α -tocoferol apresentou um pequeno aumento significativo (Apêndices) durante o processamento do óleo, o que poderia ser atribuído ao aumento proporcional da quantidade deste tocoferol na massa do óleo, devido à retirada da goma, da borra e da cera nos respectivos processos, degomagem, neutralização e deceramento. Portanto, observa-se que o α -tocoferol apresentou-se estável nas temperaturas das etapas de refino, principalmente durante a desodorização, e não solubilizou-se na água de lavagem utilizada na degomagem e neutralização.

O γ - e δ -tocoferol apresentaram um pequeno decréscimo durante o processamento. Embora não sendo significativo, o conteúdo de γ -tocoferol apresentou uma tendência de redução na etapa de neutralização e desodorização.

O conteúdo de δ -tocoferol apresentou uma pequena variação na etapa de neutralização e não foi alterado durante a etapa de desodorização, o que indica sua maior estabilidade a altas temperatura quando comparado aos demais tocoferóis.

O total de tocoferóis apresentou-se 12,65% superior no óleo desodorizado ao do óleo bruto, o que está relacionado ao aumento de 33,71% do conteúdo de α -tocoferol durante o processamento do óleo de arroz.

Krishna et al. (2006) relatam no óleo de arroz bruto 49 mg de tocoferóis por 100g de óleo, distribuídos entre 12,6mg.100g⁻¹ de α -tocoferol, 26,9mg.100g⁻¹ de β -tocoferol, e 9,5mg.100g⁻¹ de γ -tocoferol. Portanto, esses autores encontraram o β -tocoferol como o tocoferol majoritário no óleo, o que não coincide com os valores encontrados neste estudo. Desai et al (1988) relatam conteúdo de α -tocoferol entre 17 e 33mg.100g⁻¹ de óleo refinado de arroz, valores mais próximos ao encontrados neste estudo.

Ferrari (1996) relatou as alterações no conteúdo dos tocoferóis nos óleo de milho, soja e canola durante o processo de refino. Este autor relata que ocorreu perdas dos tocoferóis no processo de refino, principalmente na etapa de desodorização, onde o conteúdo no óleo de milho reduziu em 53,14% do α -tocoferol, 61,42% do γ -tocoferol e 63,52% do δ -tocoferol; para o óleo de soja reduziu 29,71% do α -tocoferol, 31,58% do γ -tocoferol e 31,7% do δ -tocoferol; para o óleo de canola reduziu 19,61% do α -tocoferol, 28,26% do γ -tocoferol e 28,05% do δ -tocoferol.

Ferrari (1996) encontrou para o óleo de milho refinado em laboratório um aumento de 7,05% no conteúdo α -tocoferol (de 18,87mg 100g⁻¹ passou para

20,20mg 100g⁻¹), enquanto que o γ - e δ -tocoferol diminuíram, respectivamente, 13,49% (de 137,25 para 118,74mg 100g⁻¹) e 7,76% (de 7,99 para 7,37mg 100g⁻¹).

As distribuições relativas dos tocoferóis, em percentual, nas etapas do refino do óleo de arroz, estão apresentadas na Fig. 7.

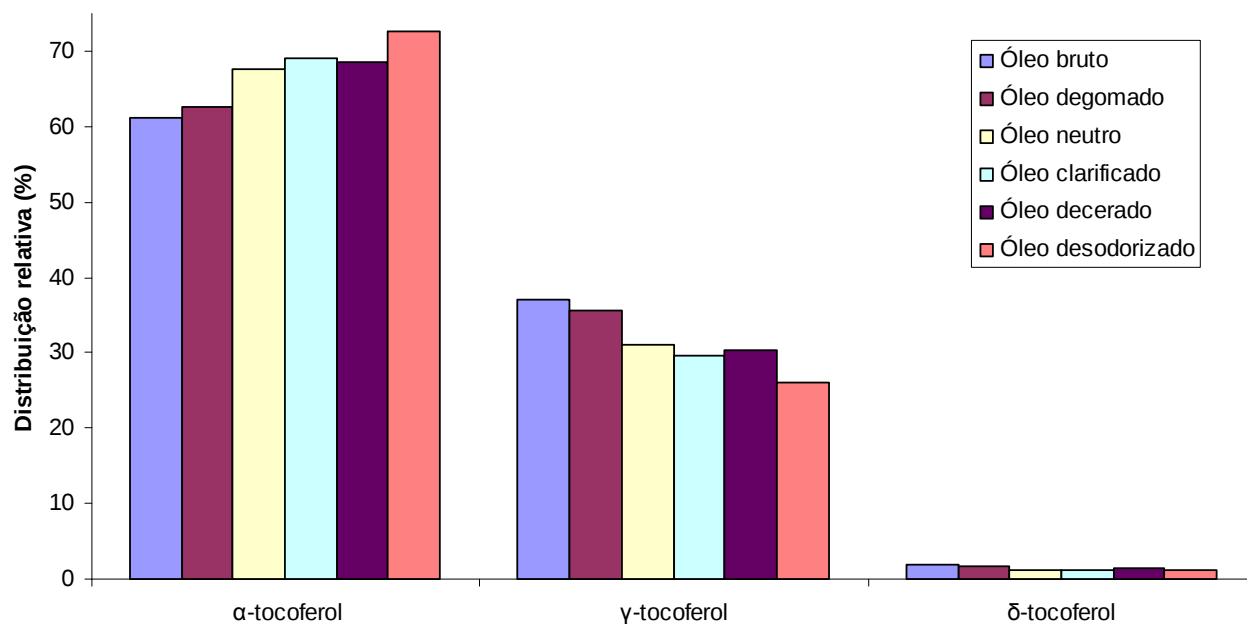


Figura 7 - Distribuição relativa de tocoferóis, em percentual, nos óleos de arroz.

O α -tocoferol foi o componente que apresentou maior conteúdo nos óleos de arroz de todas as etapas do processo de refino, contribuindo com cerca de 61-73% do total de tocoferóis, seguido pelo γ -tocoferol (26-40%) e pelo δ -tocoferol (1-2%).

4.5 Identificação e quantificação de γ -orizanol no farelo e óleo de arroz

Preparou-se duas soluções iniciais de γ -orizanol, com concentrações de 0,0625g.100mL⁻¹ e de 0,25g.50mL⁻¹, respectivamente. A solução de menor concentração foi utilizada para fazer as diluições das soluções de menores concentrações: 15 μ g.mL⁻¹, 30 μ g.mL⁻¹, 50 μ g.mL⁻¹ e 75 μ g.mL⁻¹. A solução de maior concentração foi utilizada para fazer as diluições das soluções de maiores concentrações: 250 μ g.mL⁻¹, 750 μ g.mL⁻¹, 1500 μ g.mL⁻¹, 2250 μ g.mL⁻¹, 3000 μ g.mL⁻¹ e 3750 μ g.mL⁻¹. O volume de cada solução injetado no cromatógrafo de líquidos de alta eficiência foi de 20 μ L (Apêndices).

O gráfico representando a curva padrão do γ -orizanol (Apêndices) foi construído utilizando a soma total da área dos picos correspondentes aos compostos individuais presentes no padrão de γ -orizanol. Optou-se pela soma total dos picos pela falta de padrões individuais correspondentes a cada componente presente no γ -orizanol.

O cromatograma típico do γ -orizanol das amostras de farelo e do óleo de arroz, obtido por cromatografia líquida de alta eficiência apresenta-se na Fig. 8.

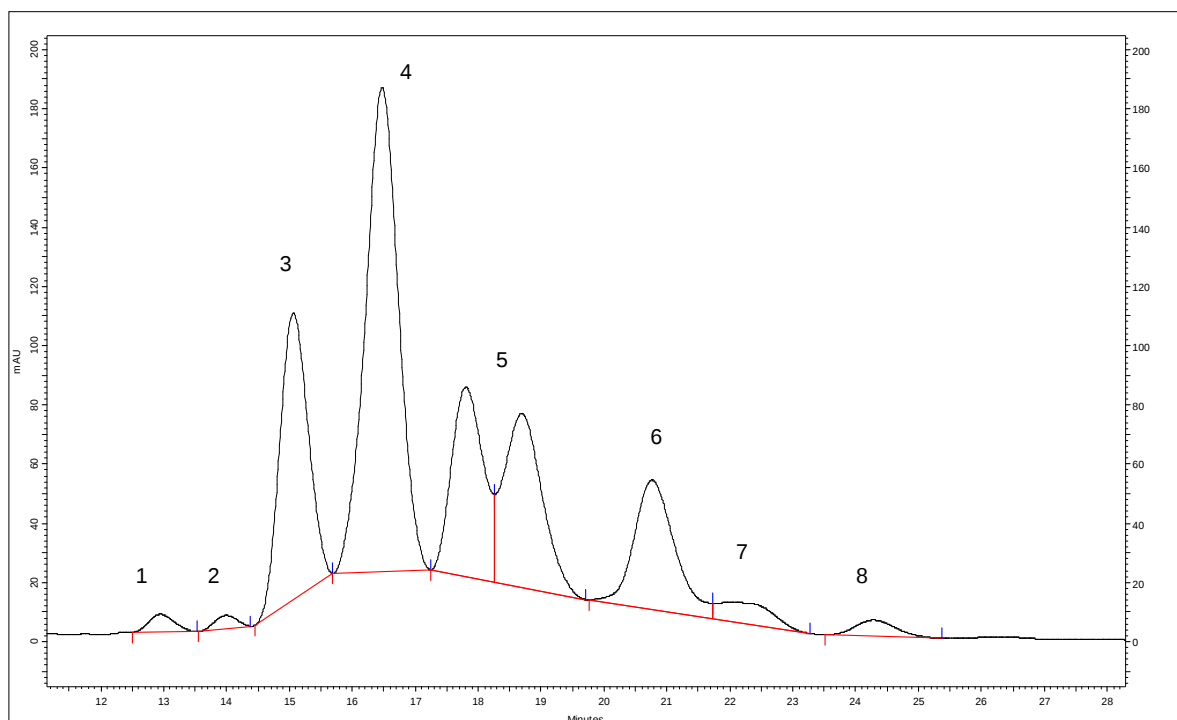


Figura 8 - Cromatograma típico do γ -orizanol nas amostras de farelo e óleo de arroz. Picos de 1 a 8: componentes não identificados neste estudo.

A resolução dos picos que fazem parte da fração do γ -orizanol foi considerada adequada, conseguindo-se a separação de oito picos individuais. Pela dificuldade de separação do pico 5 nas diferentes amostras de farelo e óleo, considerou-se a soma das áreas dos dois picos para a sua quantificação.

A identificação dos componentes individuais não foi realizada neste estudo, pela inexistência de padrões destes compostos no mercado. No entanto, comparando o cromatograma com estudos realizados por Xu e Godber (1999), o qual desenvolveu o processo cromatográfico nas mesmas condições deste estudo, e identificou os picos através do espectro de massa, pode-se inferir que os picos sejam:

- 1- Δ^7 -estigmastenil ferulato, com tempo de retenção (TR) médio de 12,9min;
- 2- estigmasteril ferulato, com TR médio de 13,9min;
- 3- cicoartenil ferulato, com TR médio de 15,0min;
- 4- 24-metileno cicloartenil ferulato, com TR médio de 16,5min;
- 5- mistura de Δ^7 -campestenil ferulato, campesteril ferulato e Δ^7 -sitostenil ferulato com TR médio de 18,25min;
- 6- sitosteril ferulato, com TR médio de 20,7min;
- 7- campestanil ferulato, com TR médio de 22,0min;
- 8- sitostanil ferulato, com TR médio de 24,3min.

O conteúdo de γ -orizanol, expresso em mg.100g^{-1} , no farelo de arroz, está apresentado na tab. 10.

Tabela 10 - Conteúdo de γ -orizanol nos farelo de arroz.

Farelo de arroz	γ -orizanol (mg.100g^{-1})
Polido	168,30 b
Parboilizado	267,52 c
Peletizado	191,77 b
Desengordurado	12,70 a

Valores seguidos por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Observa-se que, diferentemente dos tocoferóis, o conteúdo de γ -orizanol apresentou-se em níveis mais elevados no farelo de arroz parboilizado, o que pode ser explicado por uma maior estabilidade do γ -orizanol em temperaturas elevadas (etapas de encharcamento e autoclavagem na parboilização). Porém, como colocado anteriormente, esses farelos não foram obtidos do mesmo grão de arroz; portanto, a cultivar, o sistema de cultivo e o clima, podem ter parcialmente influenciado nos resultados de γ -orizanol.

Embora não significativo, o farelo de arroz peletizado apresentou maior conteúdo de γ -orizanol do que o farelo de arroz polido, o que pode ser atribuído ao percentual de farelo parboilizado (30%) no farelo peletizado, o qual apresenta maior conteúdo de γ -orizanol.

Comparando os resultados do γ -orizanol com o total dos tocoferóis (tab. 10), observa-se que o conteúdo de γ -orizanol é consideravelmente superior em todos os farelos; cerca de 20 vezes acima no farelo polido, peletizado e desengordurado e cerca de 100 vezes no farelo parboilizado.

O conteúdo de γ -orizanol no farelo de arroz branco, segundo Gavino et al. (2007), varia de 155 a 272 mg.100g⁻¹, resultados próximos aos encontrados neste estudo (tab. 11).

Observa-se que a etapa de extração reduziu o conteúdo de γ -orizanol de 191,77 para 12,70 mg.100g⁻¹, ou seja, 93,38% do γ -orizanol presentes no farelo peletizado foram retirados pelo aquecimento e solubilização no solvente de extração.

A presença de γ -orizanol já foi mencionada em grãos como milho, trigo e cevada, porém como destacado por DAS et al. (1998), o farelo de arroz é a fonte natural mais abundante e acessível para a obtenção deste composto.

Como mostrado pelo cromatograma típico da composição de γ -orizanol (Figura 8), esta fração se caracteriza por um conjunto de compostos. O conteúdo individual de cada composto do γ -orizanol presente no farelo de arroz (mg.100g⁻¹ de farelo) e a distribuição relativa de cada componente do γ -orizanol (%), estão apresentados na tab. 11.

Tabela 11 - Conteúdo dos componentes do γ -orizanol no farelo de arroz e sua distribuição relativa, em percentual.

Componentes*	Farelo de arroz							
	Polido		Parboilizado		Peletizado		Desengordurado	
	mg.100g ⁻¹	%	mg.100g ⁻¹	%	mg.100g ⁻¹	%	mg.100g ⁻¹	%
1	1,70	1,0	1,89	0,7	1,76	0,9	0,25	2,0
2	1,46	0,9	1,28	0,5	1,17	0,6	0,17	1,3
3	29,41	17,5	44,99	16,8	25,43	13,3	2,19	17,2
4	59,15	35,1	96,02	35,9	66,50	34,7	4,31	33,9
5	49,40	29,3	77,54	29,0	62,46	32,6	3,71	29,2
6	20,35	12,1	31,86	11,9	22,81	11,9	1,48	11,6
7	4,36	2,6	8,61	3,2	7,34	3,8	0,36	2,8
8	2,47	1,4	5,34	2,0	4,30	2,2	0,23	1,8
Total	168,30	100	267,52	100	191,77	100	12,70	100

*Componentes correspondentes aos picos da Fig. 8.

Observa-se que o farelo de arroz parboilizado, em função de seu maior conteúdo em orizanol, apresentou o maior conteúdo de cada um de seus componentes, comparando com demais farelos, com exceção do composto 2. Por outro lado, o mesmo se observou com os menores conteúdos dos componentes individuais no farelo de arroz desengordurado.

O componente 4 foi o que se apresentou em maior proporção (33,9-35,9%) nos farelos analisados, seguido pelo componente 5 (29,0-32,6%), pelo componente 3 (13,3-17,5%) e pelo componente 6 (11,6-12,1%). Segundo Xu e Godber, (1999), estes componentes possivelmente sejam, respectivamente, o 24-metileno

cicloartenil ferulato, campesteril ferulato (juntamente com Δ^7 -campestenil ferulato e Δ^7 -sitostenil), cicloartenil ferulato e o sitosteril ferulato, Os componentes relativos aos picos 1, 2, 7 e 8, apresentaram apenas quantidades muito pequenas nos farelos analisados.

Engel (2003) relata a presença, no grão de arroz integral moído, do cicloartenil ferulato (36,6%) (componente 3), 24-metileno cicloartenil ferulato (33,5%) (componente 4), campesteril ferulato (16,9%) (componente 5), β -sitosteril (8,3%) (componente 6) e do campestanil (4,6%) (componente 7). Comparando-se com os resultados de distribuição relativa na tab. 11, observa-se que os componentes 4, 6 e 7 apresentaram valores muito próximos ao descrito no estudo deste autor.

O conteúdo de γ -orizanol nos óleos de arroz oriundos das diferentes etapas de refino, está apresentado na tab. 12.

Tabela 12 - Conteúdo dos componentes do γ -orizanol, expressos em mg.100g^{-1} , nos óleos de arroz.

Componentes*	Óleo de arroz					
	Bruto	Degomado	Neutro	Clarificado	Decerado	Desodorizado
1	11,13	12,30	0,81	0,48	0,72	0,57
2	14,71	14,48	0,32	0,16	0,30	0,20
3	291,17	267,38	9,67	6,18	7,19	5,77
4	493,01	485,87	20,45	4,72	8,39	7,44
5	219,78	214,78	8,63	17,94	12,59	9,63
6	158,59	156,52	6,57	5,03	4,80	3,59
7	30,97	38,43	1,81	1,10	0,96	0,79
8	21,36	22,60	1,07	0,96	0,85	0,99
Total	1240,72a	1212,37a	49,32b	36,56b	35,81b	28,97b

*Componentes correspondentes aos picos da Fig. 8.

Valores do total seguidos por letras iguais na mesma coluna não diferem entre si a 5% de significância pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

O conteúdo de γ -orizanol no óleo de arroz bruto analisado neste estudo, apresenta-se dentro de valores descritos na literatura, 980mg.100g^{-1} (XU; GODBER, 1999), 1.220mg.100g^{-1} (SCAVARIELLO, 1997), 1.720mg.100g^{-1} (RODRIGUES; PESSOA FILHO; MEIRELLES, 2004) e de $1.630\text{-}2.720\text{mg.100g}^{-1}$ (KRISHNA et al., 2001).

O óleo degomado apresenta um conteúdo de γ -orizanol muito próximo ao óleo de arroz bruto, que mesmo não sendo significativo, apresentou uma tendência de perda (2,28%) durante o processo de degomagem (tab. 13), o que pode estar relacionado ao arraste de parte γ -orizanol juntamente com a goma, que age como um emulsificante.

Tabela 13 - Perdas de γ -orizanol, em porcentagem, nas etapas de refino do óleo de arroz.

Etapas do refino	% de perdas
Degomagem	2,3%
Neutralização	95,9%
Clarificação	25,9%
Deceramento	2,0%
Desodorização	19,1%

Scavariello (1997) encontrou no óleo degomado $1.250\text{mg } 100\text{g}^{-1}$ de γ -orizanol, resultado muito próximo ao encontrado neste estudo ($1.212,4\text{mg } 100\text{mg}^{-1}$); no entanto, diferentemente do encontrado neste trabalho, este autor relata um aumento de 2,45% de γ -orizanol no óleo degomado.

Observa-se uma redução significativa no conteúdo de γ -orizanol no óleo de arroz neutro, ou seja, na etapa de neutralização ocasionou uma redução de 95,9% no conteúdo de orizanois. Krishna et al. (2001) também relatam perdas de 93,0 a 94,6% no conteúdo de γ -orizanol nesta etapa. Na neutralização ocorre a adição álcali que reage com os ácidos graxos livres, promovendo a formação de uma borra (constituída por alto percentual de sabão). Grande quantidade do γ -orizanol é arrastada com a borra, possivelmente em função da polaridade das moléculas que fazem parte dos compostos presentes na fração do γ -orizanol, as quais apresentam em sua estrutura o ácido ferúlico.

Nas etapas de clarificação, deceramento e desodorização, Krishna et al. (2001) relatam perdas de γ -orizanol de 0,0%, 5,9% e 0,0%, respectivamente. Neste estudo, as perdas nestas etapas foram respectivamente, de 25,9%, 2,0% e 19,1%. Essas diferenças podem ser atribuídas a diferentes parâmetros empregados pela indústria nestas etapas, como por exemplo, na etapa de clarificação, onde pode-se variar o meio filtrante (terra adsorvente), que pode ser constituído por argila clarificante, sílica, terra natural ativada, terra ácida e carvão vegetal (WEISS, 1983). No processo de deceramento pode variar a temperatura de resfriamento do óleo, e na etapa de desodorização pode variar a temperatura, pressão e tempo em que o óleo fica submetido ao processo.

O conteúdo de γ -orizanol no óleo de arroz bruto foi de $1240,72\text{mg.}100\text{g}^{-1}$, durante o processamento ocorreu uma redução de cerca de 98% de γ -orizanol, restando apenas $28,97\text{mg.}100\text{g}^{-1}$ no óleo de arroz refinado, resultado este que está de acordo com o encontrado por Rogers et al. (1993) que descreve um conteúdo de γ -orizanol no óleo de arroz refinado quimicamente de 10 a $80\text{mg.}100\text{g}^{-1}$.

Segundo Krishna et al. (2001), o óleo de arroz após o refino químico apresentou de 190 a 200mg.100g⁻¹ de γ -orizanol, evidenciando perda entre 88 e 93%. Rodrigues, Onoyana e Meirelles (2006) detectaram um conteúdo de γ -orizanol no óleo de arroz refinado de 120mg.100g⁻¹.

A distribuição relativa dos componentes do γ -orizanol no óleo arroz, está apresentada na tab. 14.

As maiores proporções relativas dos componentes que compõem o γ -orizanol no óleo de arroz bruto foram os componentes 4 (39,74%), 3 (23,47%), 5 (17,71%) e 6 (12,78%). Segundo Xu e Godber (1999) os componentes presentes em maior proporção na fração do γ -orizanol encontrados no óleo bruto de arroz foram o cicloartenil ferulato, 24-metileno cicloartenil ferulato e campesteril ferulato, que possivelmente sejam, respectivamente, os componentes 3, 4 e 5 deste estudo. Por comparações com dados da literatura, o pico 5 (Fig. 8) não é um único composto mas possivelmente seja a mistura de Δ^7 -campestenil ferulato, campesteril ferulato e Δ^7 -sitostenil.

Tabela 14 - Distribuição relativa, em percentagem, dos componentes do γ -orizanol nos óleo de arroz.

Componentes*	Óleo de arroz					
	Bruto	Degomado	Neutro	Clarificado	Decerado	Desodorizado
1	0,9	1,0	1,6	1,3	2,0	2,0
2	1,2	1,2	0,6	0,4	0,8	0,7
3	23,5	22,0	19,6	16,9	20,1	19,9
4	39,7	40,1	41,5	12,9	23,4	25,7
5	17,7	17,7	17,5	49,1	35,2	33,2
6	12,8	12,9	13,3	13,7	13,4	12,4
7	2,5	3,2	3,7	3,0	2,7	2,7
8	1,7	1,9	2,2	2,6	2,4	3,4

*Componentes correspondentes aos picos da Fig. 8.

Comparando-se os resultados de distribuição relativa dos componentes do γ -orizanol no óleo de arroz bruto com o farelo do qual esse óleo foi extraído (farelo peletizado), observa-se que os componentes se apresentaram proporcionalmente, exceto o componente 3 o qual apresentou um aumento no óleo bruto e o componente 5 que apresentou um decréscimo no óleo bruto, o que pode estar indicando que estes componentes não apresentam a mesma solubilidade frente ao solvente hexano, ou ainda, que a estabilidade frente ao aumento de temperatura durante a extração seja menor para o componente 5.

Durante o processo de refino do óleo observou-se uma tendência de aumento na distribuição relativa dos componentes 1, 5 e 8, supostamente o Δ^7 -estigmastenil ferulato, a mistura de 3 compostos (Δ^7 -campestenil ferulato, campesteril ferulato e Δ^7 -sitostenil ferulato) e o sitostanil ferulato, respectivamente; e uma tendência de redução relativa dos picos 2, 3 e 4, supostamente o estigmasteril ferulato, o cicoartenil ferulato e o 24-metileno cicloartenil ferulato, respectivamente.

O componente 4 foi o que apresentou maior distribuição relativa nos óleos bruto, degomado e neutro (39,74-41,46%). Após a etapa de clarificação o componente 5 passou a ter maior composição relativa no óleo de arroz (49,07 e 33,23%). A etapa de clarificação ocasionou uma redução na composição relativa do componente 4 (de 41,46% para 12,91%) e um acréscimo na distribuição relativa do componente 5 (de 17,72% para 49,07%), enquanto que a proporção dos demais componentes se manteve praticamente a mesma.

A etapa de degomagem, como comentado anteriormente, proporcionou uma redução no conteúdo de γ -orizanol, sendo responsável por esta queda, principalmente, o componente 3, que apresentou redução de 8,17%, seguido pelo componente 5, que reduziu-se em 2,27% durante esta etapa.

Na etapa de neutralização ocorreu uma maior redução no conteúdo dos componentes presentes no γ -orizanol (Tabela 16). Porém, a redução nesta etapa foi praticamente na mesma proporção de todos os componentes da fração do γ -orizanol (tab. 15). Isto indica a similaridade de polaridade e solubilidade destes compostos, os quais foram afetados de maneira muito similar nesta etapa de refino.

Tabela 15 - Percentual de perda dos componentes do γ -orizanol na etapa de neutralização.

Componentes*	Perda (%)
1	93,4
2	97,8
3	96,4
4	95,8
5	96,0
6	95,8
7	95,3
8	95,3
Total	95,9

*componentes correspondentes aos picos da Fig. 8.

O gráfico na Fig. 9 demonstra o comportamento de cada componente individual do γ -orizanol após a etapa de neutralização.

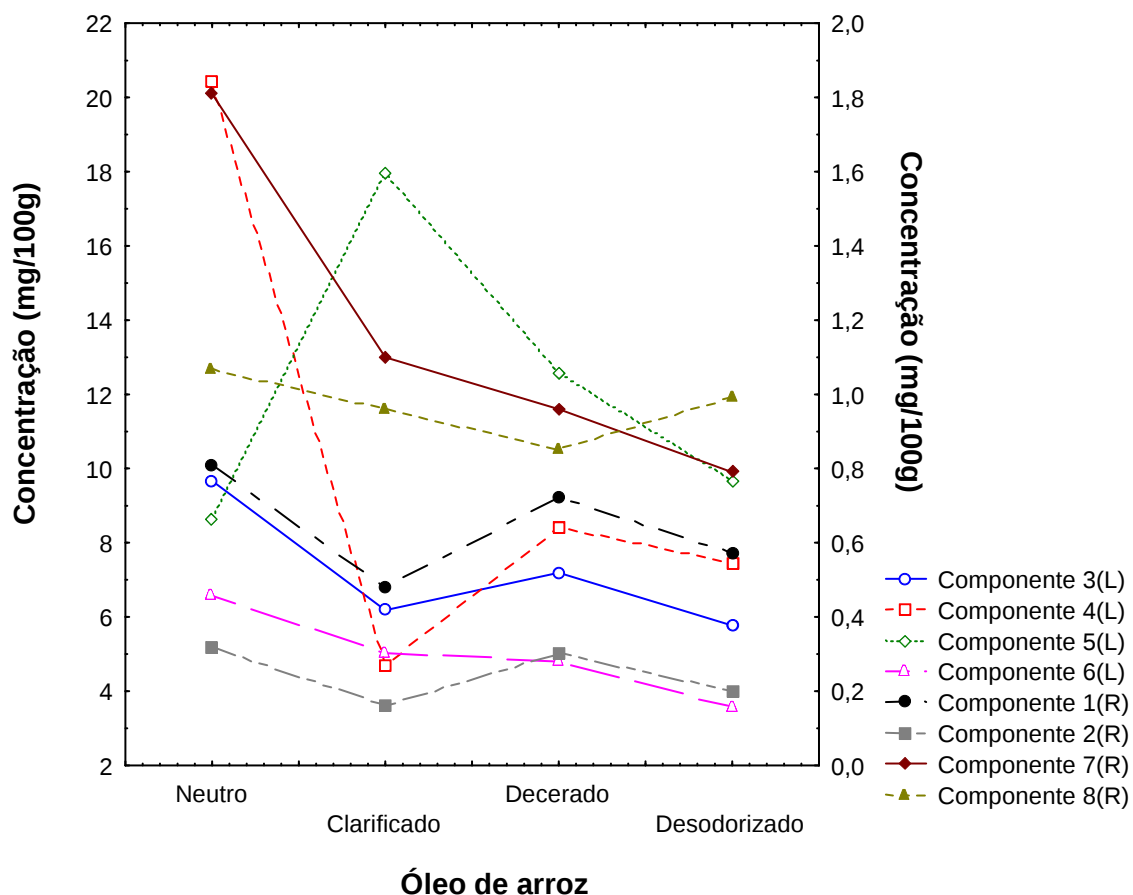


Figura 9 - Conteúdo dos componentes* do γ -orizanol nos óleos de arroz após a neutralização. (L representa a escala da esquerda e R escala da direita)

*componentes correspondentes aos picos da Fig. 8.

O conteúdo dos componentes 1, 2, e 8 praticamente não se altera após a neutralização. Os componentes 3, 4, 6 e 7 apresentaram perdas nas etapas de clarificação, deceramento e desodorização de, respectivamente, 40,4%, 63,7%, 45,4% e 56,4%, o que indica que estes componentes foram mais vulneráveis a estas etapas que os demais. Essas perdas podem ser atribuídas ao meio filtrante, na etapa de clarificação; a afinidade aos ácidos graxos de alto peso molecular, na etapa de deceramento; ou ainda pelo uso de altas temperaturas, na etapa de desodorização. O componente 5 apresentou comportamento diferenciado dos demais, aumentando em 11,6% no óleo desodorizado.

CONCLUSÕES

O óleo durante o refino apresentou-se dentro dos parâmetros de qualidade (acidez, índice de peróxido e matéria-insaponificável) estabelecido pela legislação vigente para óleo comestível. O refino reduziu em 99% a acidez e em 97% de peróxidos presentes inicialmente no óleo bruto.

Os ácidos graxos oléico, linoléico e palmítico são os ácidos graxos majoritários identificados em todas as amostras de farelo e óleo de arroz.

Identificou-se as formas α -, γ - e δ -tocoferol no farelo e óleo de arroz, sendo encontrado o α -tocoferol em maior concentração, seguido pelo γ -tocoferol.

Durante o processo de refino do óleo de arroz, os ácidos graxos e os tocoferóis não apresentaram perdas significativas.

Identificaram-se oito componentes diferentes que fazem parte do γ -orizanol, sendo apenas constatado durante o refino um aumento na distribuição relativa dos componentes 1, 5 e 8. Os componentes 3, 4 e 5 encontraram-se em maior concentração tanto no farelo quanto no óleo de arroz.

O processo de refino do óleo de arroz é responsável pela perda de 98% do conteúdo de γ -orizanol presente no óleo bruto. A etapa de degomagem gera perdas de 2,28% do γ -orizanol, enquanto que a neutralização reduz em 95,8%, a clarificação em 25,9%, o deceramente em 2% e a desodorização em 19,1%.

REFERÊNCIAS

- ABIDI, S.L. Chromatographic analysis of tocol-derived lipid antioxidants. **Journal of Chromatography A**, v. 881, p.197–216, 2000.
- ABOISSA – **Empresa Aboissa de Óleos vegetais**. Disponível em: <<http://www.aboissa.com.br/arroz/index.htm>>. Acesso em: 04 de novembro de 2006.
- ADACHI, Tadashi; ISOBE, Eiji. Use of synthetic adsorbents in preparative normal-phase liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.989, p.19–29, 2003.
- AMATO, G.W. **Farelo do Arroz: uma nova visão**. Porto Alegre: Centro de Excelência do arroz - IRGA, 2006. Disponível em: <<http://www.irga.rs.gov.br>>. Acesso em setembro de 2006.
- ANVISA. **Regulamento técnico para fixação de identidade e qualidade de óleos e gorduras vegetais**. Anexo 3. Resolução nº482, de 23 de setembro de 1999. Capturado em 23 de abril de 2007. On line. Disponível na internet: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/482_99.htm>.
- AOCS. American Oil Chemists' Society. **Official and tentative methods of the American Oils Chemists' Society**, Champaign, IL., 1992.
- ARAÚJO, J.M.A. **Química de Alimentos: teoria e prática**. 2ed. Viçosa: UFV. 1999. 416p.
- AUSMAN, Lynne M.; RONG, Ni; NICOLosi, Robert J. Hypocholesterolemic effect of physically refined rice bran oil: Studies of cholesterol metabolism and early atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.16, p.521–529, 2005.
- AZZI, A.; STOCKER, S. Vitamin E: non-antioxidant roles. **Progress in Lipid Research**, v.39, p.231-255, 2000.
- BARUFFALDI, R.; OLIVEIRA, M.N. de. **Fundamentos de Tecnologia de Alimentos**, v.3. São Paulo: Atheneu Editora, 1998. 317p.
- BERMUDES, R. F. **Avaliação do farelo de arroz integral em rações para terneiros holandes e jersey desaleitados precocemente**. Pelotas, 1994. 242p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

BLOCK, G; LANGSETH, L. Antioxidant vitamins and disease prevention. **Food Technology**, v.48, p.80-84, 1994.

BORTOLIJAHN, Gabriela. **Extração supercrítica do óleo do farelo de arroz e obtenção de frações enriquecidas em γ -orizanol**. 2004. 120f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos)-Departamento de Engenharia Química de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

BOURGEOIS, C. Determination of vitamin E: tocopherols and tocotrienols. **Elsevier Applied Science**. p.1-7, 1992.

BRAMELEY, P.M.; ELMADFA, I.; KAFATOS, A.; KELLY, F.G.; MANJOS, Y.; ROXBOROUGH, H.E.; SCHUCH, W.; SHEEHY, P.J.A.; WAGNER, K-H. Review: vitamin E. **Journal Science Food Agriculture**, v.80, p.913–938, 2000.

CARVALHO, J.L.V.de; VIEIRA, N.R. de A. **A cultura do arroz no Brasil: Usos alternativos**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, p.605-621. 1999.

CHEN, M.-H; BERGMAN, C.J. A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and γ -orizanol contents. **Journal of Food and Analysis**, n.18, p. 139-151, 2005.

CONAB. Segundo levantamento de grãos 2006/2007. Novembro, 2006. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/2levsaf.pdf>>. Acesso em 26 de novembro de 2006.

DANIELSKI, L.; ZETZL, C.; HENSE, H.; BRUNNER, G. A process line for the production of raffinated rice oil from rice bran. **Journal of Supercritical Fluids**. v.34, p. 133–141, 2005.

DAS, P.K.; CHAUDHURI, A.; KAIMAL, T.N.B.; BHALERAO, U. T. Isolation of γ -oryzanol through calcium ion induced precipitation of anionic micellar aggregates. **Journal Agriculture Food Chemistry**, v. 46, n. 8, p. 3073-3080, 1998.

DENARDIN, Cristiane Casagrande; SILVA, L. P.; SILVA, L.P. da; PICOLLI, L.; BEVILAQUA, Patrícia Roberta; ALVES, L.L.; FAGUNDES, Carlos Alberto Alves. Composição nutricional do farelo de arroz polido e parboilizado. In: III Congresso brasileiro de arroz irrigado e XXV Reunião da Cultura do Arroz Irrigado, 2003, Balneário Camboriú. Anais do III Congresso brasileiro de arroz irrigado e XXV Reunião da Cultura do Arroz Irrigado, 2003. p. 614-616. Disponível em: <<http://www.sosbai.com.br/sementes.pdf>>

DESAI, Indrajit D.; BHAGAVAN, Hemmige; SALKELD, Richard; OLIVEIRA, Jose E. Dutra de. Vitamin E content of crude and refined vegetable oils in Southern Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.1, n.3, p.231-238, 1988.

DIACK, M.; SASKA, M. Separation of vitamin E and γ -oryzanol from rice bran oil by normal-phase chromatography. **Journal American Oil Chemists` Society**. v.71, p.1211-1217, 1994.

ENGEL, K-H.; MILLER, A.; FRENZEL, T.; SCHMARR. Coupled liquid chromatography-gas chromatography for the rapid analysis of γ -oryzanol in rice lipids. **Journal of chromatography A**, v.985, 403-410. 2003.

FANG, N.; YU, S.; BADGER, T.M. Characterization of triterpene alcohol and sterol ferulates in rice bran using LC-MS/MS. **Journal Agriculture Food Chemistry**. v.51, p. 3260-3267, 2003.

FARREL, D.J.; HUTTON. K. **Rice and rice milling by-products. Nontraditional feed sources for use in swine production**. Ed. Thacker, P.A. & Kirkwood, R.N., Boston, Butterworths. 1990. 512p.

FERRARI, Roseli Aparecida. **Avaliação dos componentes minoritários de óleos vegetais nos processos tecnológicos**. Campinas, 1996. 162f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

FERRARI, Roseli Aparecida. Componentes minoritários de óleos vegetais. **Óleos & Grãos**. pg.20-28, jan./fev. 2001.

GAVINO, Victor C.; AGUILAR-GARCIA, Carlos; GAVINO, Grace; BARAGAÑO-MOSQUEDA, Mercedes; HEVIA, Patricio. Correlation of tocopherol, tocotrienol, γ -oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. **Food Chemistry**, v.102, p.1228–1232, 2007.

GERTZ, C.; KLOSTERMANN, S.; KOCHHAR, S. P. Testing and comparing oxidative stability of vegetable oils and fats at frying temperature. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.102, n.8-9, p.543–551, 2000.

GLISZCZYNSKA-SWIGLO, Anna; SIKORSKA, Ewa. Simple reversed-phase liquid chromatography method for determination of tocopherols in edible plant oils. **Journal of Chromatography A**, v.1048, p.195–198, 2004.

GODBER, J.S.; MARTIN, D.; SHIN, T.S. Quality parameters important in rice bran for human consumption. **Louisiana Agricultura**, Baton Rouge, v.36, n.3, p.9-12, 1993.

GONG-YUANSSENG; YAO-HUIYUAN. Purification e identification of gamma-oryzanol from rice bran. **Journal of the Chinese Cereals and Oils Association**, v.16, p.30-34, 2001.

HAMADA J. S. Characterization and functional properties of rice bran proteins modified by commercial exoproteases and endoproteases. **Journal of Food Science**, v.65, n.2, p.305–310, 2000.

HAUMANN, B.F. Antioxidants: firme seeking products they can label as natural. **Inform**, Champaign, v.1, n.12, p.1002-1013, 1990.

HEMAVATHY, J.; PRABHAKAR, J.V. Lipid composition of rice (*Oryza Sativa* L.) bran. **Journal of the American Oil Chemists` Society**, Champaign, v.64, n.7, p.1016-1019, 1987.

HENNEKENS, C.; GAZIANO, J.M. Antioxidants and heart diseases epidemiology and clinical evidence. **Clinical Cardiology**, Easton, v.16, n.4, p.10-15, 1993.

HOSENEY, R. C. **Principios de ciencia y tecnología de los cereales**. Editora: Acribia, S.A. Zaragoza (Espanha), 1991. 321p.

HU, W.; WELLS, J.H.; SHIN, T.S.; GODBER, J.S. Comparison of isopropanol and hexane for extraction of vitamin E and oryzanols from stabilized rice bran. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Champaign, v.73, n.12, p.1653-1656, 1996.

HUANG, D. J.; OU, B. X.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J. A.; DEEMER, E. K. Development and validation of oxygen radical absorbance capacity assay for lipophilic antioxidants using randomly methylated beta-cyclodextrin as the solubility enhancer. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n.7, p.1815–1821, 2002.

HWANG, D.F.; HUANG, S.C.; SHIAU, C.Y.; LIU, T.E.; CHU, C.L.; Effects of rice bran on sensory and physico-chemical properties of emulsified pork meatballs. **Meat Science**, v.70, p.613–619, 2005.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: **Método químico e físicos para análise de alimentos**. v.1. São Paulo: O Instituto, p. 245-263, 1985.

JULIANO, B.O.; PEREZ, C.M.; MINGSARN, KAOSA-ARD. Grain quality characteristics of export rices in selected Markets. **Cereal Chemistry**, vol. 67, n.2, p.192-197, 1990.

JULIANO, C.; COSSU, M.; ALAMANNI, M. C.; PIU, L. Antioxidant activity of gamma-oryzanol: mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils. **International Journal of Pharmaceutics**, v.299, n.1–2, p.146–154, 2005.

JUNG, M.Y.; YOON, S.H.; MIN, D.B. Effects of processing steps on the contents of minor compounds and oxidation of soybean oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v.66, n.1, p. 118-120, 1989.

KAMAL-ELDIN, A.; APPELQVIST, L.A. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. **Lipids**, v.31, p.671–701, 1996.

KIM, J.S.; GODBER, J.S. Oxidative stability and vitamin E levels increased in restructured beef roast with added rice bran oil. **Journal Food Qual**, n. 24, p.17-26, 2001.

KIM, J.S.; GODBER, J.S.; KING, J.; PRIYAWIWATKUL, W. Inhibition of cholesterol autoxidation by the nonsaponifiable fraction in rice bran in an aqueous model system. **Journal of American Oil Chemists' Society**, n.78, p. 685-689, 2001.

KRISHNA, A.G. Gopala; KUMAR, H.G. Anil; KHATOON, S.; PRABHAKAR, D.S. Effect of cooking of rice bran on the quality of extracted oil. **Journal of Food Lipids**, v.13, p.341–353, 2006.

KRISHNA, A. G. Gopala; KHATOON, Sakina; SHIELA, P. M. Effect of refining of crude rice bran oil on the retention of oryzanol in the refined oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 78, n.2, p. 127-131, 2001.

LAGO, Regina Celi Araújo; ANTONIASSI, Rosemar. Composição em ácidos graxos do óleo de cobertura de sardinhas em conserva armazenadas em temperatura ambiente. **Boletim CEPPA**, Curitiba, v. 18, n. 2, p. 177-192, jul./dez. 2000.

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

LE MOS, M.R.B.; SOARES, L.A.de S. Farelo de arroz: um subproduto em estudo. **Óleos & Grãos**. p.40-48, Nov/Dez 1999.

LI, QING X.; CHO, Il Kyu; RIMA, Jamil ; CHANG, Chiou Ling. Spectrofluorometric and high-performance liquid chromatographic determination of all-rac- α -tocopheryl acetate in virgin olive oil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.20, p.57–62, 2007.

MASSARO, A. F.; PINTO, L. A. de A. Enriquecimento protéico de farelo de arroz desengordurado, com sangue bovino, utilizando a técnica de leite de jorro. **Revista Instituto Adolfo Lutz** . v.67, n.2, p.77-84, 2002.

MCCASKILL, D.R.; ZHANG.F. Use of rice bran oil in foods. **Food Technology**. v. 53, n.2, p. 50-53, 1999.

MORAES, Cristina Machado Bragança de. **Vitamina E do destilado da desodorização do óleo de soja e sob forma de fármaco na prevenção à oxidação dos lípidos e da necrose hepática decorrente de dieta deficiente em cistina para ratos**, Campinas – SP. 70f. 2003. Dissertação (Mestrado em Ciência da Nutrição), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Departamento de Planejamento Experimental e Nutrição.

MORETTO, E.; FETT, R. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos**. São Paulo: Livraria Varela, 1998. 150p.

NORTON, R. A. Quantitation of steryl ferulate and p-coumarate esters from corn and rice. **Lipids**, v.30, n.3, p.269–274, 1995.

NYSTRÖM, L.; ACHRENIUS, T.; LAMPI, A-M.; MOREAU, R. A.; PIIRONEN, V. A comparison of the antioxidant properties of steryl ferulates with tocopherol at high temperatures. **Food Chemistry**, v.101, p.947-954, 2007.

NYSTRÖM, L.; MÄKINEN, M.; LAMPI, A.; PIIRONEN, V. Antioxidant activity of steryl ferulate extracts from rye and wheat bran. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v..53, n.7, p.2503–2510, 2005.

ORTHOEFER, F.T. Rice bran oil: healthy lipid source. **Food Technology**, n.50, p. 62-64. 1996.

- PANFILI, G.; MANZI, P.; PIZZOFERRATO, L. High performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of tocopherols, carotenes, and retinol and its geometric isomers in Italian cheeses. **Analyst**, v.119, p.1161–1165, 1994.
- PARRADO, J.; MIRAMONTES, E.; JOVER, M.; GUTIERREZ, J. F.; TERÁN, L. C. DE; BAUTISTA, J. Preparation of a rice bran enzymatic extract with potential use as functional food. **Food Chemistry**, v.98, p.742–748, 2006.
- PORTER, N.A.; CALDWELL, S.E.; MILLS, K.A. Mechanisms of free radical oxidation of insaturated lipids. **Lipids**, v.30, n.4, 1995.
- PSOMIADOU, E.; TSIMIDOU, M.; BOSKOU, D. α -tocopherol content of Greek virgin olive oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.48, p.1770–1775, 2000.
- PUPA, J. M. R. Óleos e gorduras na alimentação de aves e suínos. Revista Eletrônica Nutritime, v.1, n.1, p.69-73, julho/agosto de 2004. Disponível em: <www.nutritime.com.br>. Acesso em 10 de fevereiro de 2007.
- QURESHI, A.A.; QURESHI, N; WRIGHT, J.J.K.; SHEN, Z.; KRAMER, A.; GAPOR, A. Lowering of serum cholesterol in hypercholesterolemic humans by tocotrienols (palmvitee). **Am J Clin Nutr**, v.53, p.1021, 1991.
- RITTNER, H. **Aspectos críticos da extração de óleos vegetais**. Simpósio de óleos e gorduras/ Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande: Furg, 1999. 100 p.
- RODRIGUES, C. E. C.; ONOYAMA M. M.; MEIRELLES, A.J.A. Optimization of the rice bran oil deacidification process by liquid-liquid extraction. **Journal of Food Engineering**. v.73, n. 4, p. 370-378, 2006.
- RODRIGUES, C.E.C.; PESSÔA FILHO P. A.; MEIRELLES, A. J.A. Phase equilibrium for the system rice bran oil + fatty acids + ethanol + water + γ -oryzanol + tocols. **Fluid Phase Equilibria**, v.216, p.271–283, 2004.
- ROGERS, E.J.; RICE, S.M.; NICOLOSI, R.J.; CARPENTER, D.R.; Mc CLELLAND, C.A.; ROMANCZYK, L.J. Identification and quantitation of γ -oryzanol components and simultaneous assessment of tocols in rice bran oil. **Journal of the American Oil Chemists`Society**, Champaign, v.70, n.3, p.301-307, 1993.
- SALUNKHE, D.K.; CHAVAN, J.K.; ADSULE, R.N.; KADAM, S.S. Rice. In: **World oilseeds. Chemistry, technology, and utilization**. 1ed. New York: Van Nostrand Reinhold, 1991. cap.12, p.424-448.
- SANIBAL, Elaine Abrão Assef; MANCINI FILHO, Jorge. Perfil de ácidos graxos trans de óleo e gordura hidrogenada de soja no processo de fritura. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 24, n.1, p. 27-31, 2004.
- SAUNDERS, R.M. The properties of rice bran as a foodstuff. **Cereal Foods World**, St. Paul, v.35, n.7, p.632-636, 1990.
- SAYRE, B.; SAUNDERS, R. Rice bran and rice bran oil. **Lipid Technol**, v. 2, p.72–76, 1990.

SCAVARIELLO, Eiete Malfatti Serra. **Recuperação de γ -orizanol da borra de neutralização de óleo de farelo de arroz**. Campinas, 73f. 1997. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Departamento de Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

SEETHARAMAIAH, G. S.; PRABHAKAR, J. V. γ -Orizanol content of Indian rice bran oil and its extraction from soap stock. **Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v.23, n.5, p. 270-273, 1986.

SHIN, T.-S.; GODBER, J.S. Isolation of four tocopherols and four tocotrienols from a variety of natural sources by semi-preparative high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v.678, p.49–58, 1994.

SHIN, T. S.; GODBER, J.S.; MARTIN, D. E.; WELLS, J. H. Hydrolytic stability and changes in E vitamers and oryzanol of extruded rice bran during storage. **Journal of Food Science**, n.62, p. 704-708. 1997.

SILVA, M.A.da; SANCHES, C.; AMANTE, E.R. Farelo de arroz composição e propriedades. **Óleos & Grãos**. p. 34-42, Julho/Agosto 2001.

SILVA, M.A.da; SANCHES, C.; AMANTE, E.R. Prevention of Hydrolytic rancidity in rice bran. **Journal of food engineering**. v.75, n.4, p.487-491, 2006.

STATSOFT Inc. Statistica for windows. Versão 6.0. Tulsa, OK, 2004.

TAKUR, M.L.; SRIVASTA, V.S. Vitamin E metabolism and its application. **Nutrition Research**, Montreal, v.16, n.10, p.1767-1809, 1996.

TAVARES, Marina F. M.; OLIVEIRA, Marcone A. L.; LAGO, Claudimir L. do; SILVA, José Alberto Fracassi da. Analysis of fatty acids by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. **Química Nova**, v.26, n.6, p.821-824, 2003.

TORTOSA, E.; BARBER, C.B. El salvado de arroz y su potencial en alimentación animal. **Avances en alimentación e mejora animal**. Valencia, v.20, n.5, p.13-21, 1979.

TRABER, M.G.; PACKER, L. Vitamin E: beyond antioxidant function. **Am J Clin Nutr**, v.62, p.1501–1510, 1995.

VIEIRA, N. R. de A.; CARVALHO, J. L. V. de. Qualidade Tecnológica. In: **A cultura do arroz no Brasil**. Goiás: Embrapa Arroz e Feijão Santo Antônio de Goiás, 1999. p.582-599.

WEISS, T.J. **Food oil and their uses**. 2ed. Westport: The Avi Publishing Company. Inc. 1983. 310p.

WILSON, T.A.; AUSMAN, L.M.; LAWTON, C.W., HEGSTED, D.M.; NICOLOSI, R.J. Comparative cholesterol lowering properties of vegetable oils: beyond fatty acid. **Journal American Coll Nutr**, n.19, p. 601-607, 2000.

WILSON, T.A.; NICOLOSIA, R.J.; WOOLFREYA, B.; KRITCHEVSKYB, D. Rice bran oil and oryzanol reduce plasma lipid and lipoprotein cholesterol concentrations and aortic cholesterol ester accumulation to a greater extent than ferulic acid in hypercholesterolemic hamsters. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.18, p.105-112, 2007.

XU, Z.; GODBER, J.S. Purification and identification of components of γ -oryzanol in rice bran oil. **Journal Agriculture Food Chem.**, v.47, 2724-2728. 1999.

XU, Z.; HUA, N.; GODBER, J. S. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride. **Journal Agric. Food Chem.**, v.49, p.2077-2081, 2001.

YOON, S.H.; KIM, S.K. Oxidative stability of high-fatty acid rice bran oil at different stages of refining. **Journal of the American Oil Chemists`Society**, Champaign, v.71, n.2, p.227-229, 1994.

YOKOYAMA, L. P.; RUCATTI, E. G.; KLUTHCOUSKI, J. Economia da produção: conjuntura, mercados e custos. In: **A cultura do arroz no Brasil**. Goiás: Embrapa Arroz e Feijão Santo Antônio de Goiás, 1999. p.36-57.

ZAMBLIAZI, R. **The role of endogenous lipid components on vegetable oil stability**. Manitoba/canadá, 1997. 304f. Tese (Doutorado em Fisiologia), Food and Nutritional Sciences Interdepartmental Program, University of Manitoba.

APÊNDICE A – Análise de variância ANOVA

TABELA 1 - Análise de variância ao nível de 5% de probabilidade, para caracterização físico-química dos farelos de arroz.

Variável	SQ*	GL*	QM*	SQ**	GL**	QM**	F	p
Umidade	36,03	3	12,01	0,92	12	0,08	156,85	6,86E-10
Acidez	3,63	3	1,21	0,51	12	0,04	28,77	9,18E-06
Índice peróxido	5,43	3	1,81	11,43	12	0,95	1,90	0,18
Extrato étereo	1316,02	3	438,67	2,53	12	0,21	2083,16	1,45E-16

*SQ= soma dos quadrados totais do efeito.

*GL= graus de liberdade do efeito.

*QM= quadrado médio do efeito.

**SQ= soma dos quadrados totais do erro.

**GL= graus de liberdade do erro.

**QM= quadrado médio do erro.

F= valor de F

p= probabilidade (<0,05)

TABELA 2 - Análise de variância ao nível de 5% de probabilidade, para caracterização físico-química dos óleos de arroz.

Variável	SQ*	GL*	QM*	SQ**	GL**	QM**	F	p
Umidade	4,70	5	0,94	1,70	30	0,06	16,54	7,63E-08
Matéria-Insaponificável	0,58	5	0,12	7,35	30	0,24	0,48	0,79
Acidez	422,69	5	84,54	9,51	30	0,32	266,75	6,53E-24
pH	24,79	5	4,96	14,74	30	0,49	10,09	9,68E-06
Índice de peróxido	229,08	5	45,82	56,71	30	1,89	24,24	1,05E-09

*SQ= soma dos quadrados totais do efeito.

*GL= graus de liberdade do efeito.

*QM= quadrado médio do efeito.

**SQ= soma dos quadrados totais do erro.

**GL= graus de liberdade do erro.

**QM= quadrado médio do erro.

F= valor de F

p= probabilidade (<0,05)

TABELA 3 - Análise de variância ao nível de 5% de probabilidade, para tocoferóis e γ -orizanol nos farelos de arroz.

Variável	SQ*	GL*	QM*	SQ**	GL**	QM**	F	p
δ -tocoferol	0,01	3	3,86E-3	9,75E-05	4	2,44E-05	158,50	0,13E-03
γ -tocoferol	2,86	3	0,95	0,13	4	0,03	30,16	3,31E-03
α -tocoferol	48,38	3	16,13	2,60	4	0,65	24,82	4,79E-03
γ -orizanol	6,87E+04	3	2,29E+04	274,34	4	68,58	333,75	2,96E-05

*SQ= soma dos quadrados totais do efeito.

*GL= graus de liberdade do efeito.

*QM= quadrado médio do efeito.

**SQ= soma dos quadrados totais do erro.

**GL= graus de liberdade do erro.

**QM= quadrado médio do erro.

F= valor de F

p= probabilidade (<0,05)

TABELA 4 - Análise de variância ao nível de 5% de probabilidade, para tocoferóis e γ -orizanol nos óleos de arroz.

Variável	SQ*	GL*	QM*	SQ**	GL**	QM**	F	p
δ -tocoferol	0,04	5	0,78E-02	0,55E-02	6	0,91E+03	8,56	0,01
γ -tocoferol	5,72	5	1,14	4,59	6	0,76	1,50	0,32
α -tocoferol	41,29	5	8,26	26,10	6	4,35	1,90	0,23
γ -orizanol	3,77E+06	5	754074,7	5720,88	6	953,48	790,87	0,23E-07

*SQ= soma dos quadrados totais do efeito.

*GL= graus de liberdade do efeito.

*QM= quadrado médio do efeito.

**SQ= soma dos quadrados totais do erro.

**GL= graus de liberdade do erro.

**QM= quadrado médio do erro.

F= valor de F

p= probabilidade (<0,05)

APÊNDICE B - Preparo das diluições para construção das curvas padrões

Tabela 5 - Preparo das diluições para a construção da curva padrão para os tocoferóis.

		α -tocoferol	γ -tocoferol	δ -tocoferol
Concentração inicial da solução		0,125g/200mL	0,0125g/20mL	0,125g/200mL
Alíquotas removidas/volume dissolvido		25 μ L/100mL	12,5 μ L/100mL	25 μ L/200mL
		10 μ L/20mL	12,5 μ L/50mL	25 μ L/100mL
		10 μ L/10mL	10 μ L/20mL	10 μ L/20mL
		10 μ L/5mL	10 μ L/10mL	10 μ L/10mL
		20 μ L/5mL	20 μ L/10mL	10 μ L/5mL
		40 μ L/5mL	20 μ L/5mL	20 μ L/5mL
			40 μ L/5mL	40 μ L/5mL
Concentração das diluições (μ g/mL)		0,156	0,078	0,078
		0,312	0,156	0,156
		0,625	0,312	0,312
		1,250	0,625	0,625
		2,500	1,250	1,250
		5,000	2,500	2,500
		7,000	5,000	5,000
Volume injetado no HPLC		20 μ L	20 μ L	20 μ L
Concentração correspondente ao volume injetado (μ g)		0,003	0,002	0,002
		0,006	0,003	0,003
		0,012	0,006	0,006
		0,025	0,012	0,012
		0,050	0,025	0,025
		0,100	0,050	0,050
		0,150	0,100	0,100
Equação de regressão da curva		$y=375755+76067628x$	$y=553002+348445746x$	$y=-77585+267516328x$
R^{2*}		0,9979	0,9932	0,9956

*significa o coeficiente de correlação linear.

Tabela 6 - Preparo das diluições para a construção da curva padrão do γ -orizanol.

	1	2
Concentração inicial da solução	0,0625g/100mL	0,25g/50mL
Alíquotas removidas/volume dissolvido	120 μ L/5mL 240 μ L/5mL 400 μ L/5mL 600 μ L/5mL	250 μ L/5mL 750 μ L/5mL 1500 μ L/5mL 2250 μ L/5mL 3000 μ L/5mL 3750 μ L/5mL
Concentração das diluições (μ g/mL)	15 30 50 75	250 750 1500 2250 3000 3750
Volume injetado (μ L) no HPLC	20	20
Concentração correspondente ao volume injetado (μ g)	0,3 0,6 1,0 1,5	5 15 30 45 60 75
Equação de regressão da curva	$y = -52078 + 1659970x$	
R^{2*}	0,9997	

*significa o coeficiente de correlação linear.

APÊNDICE C - Curvas padrões de tocoferóis e γ -orizanol

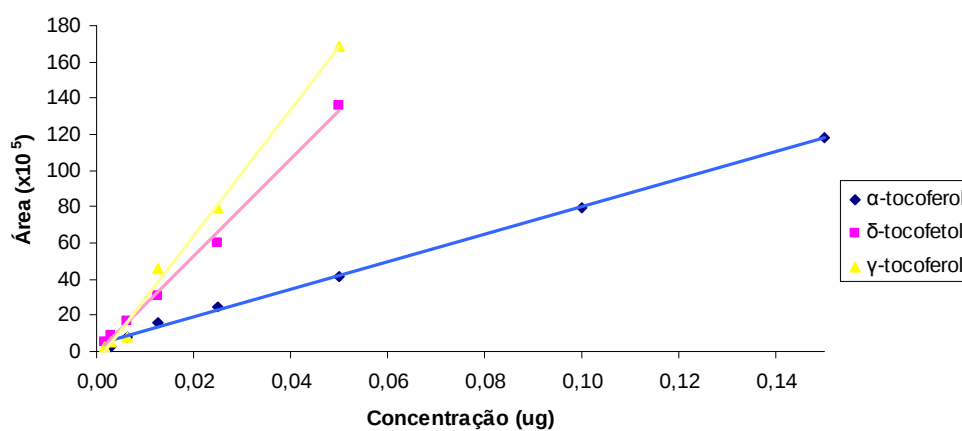


Figura 1- Curva padrão externa dos tocoferóis

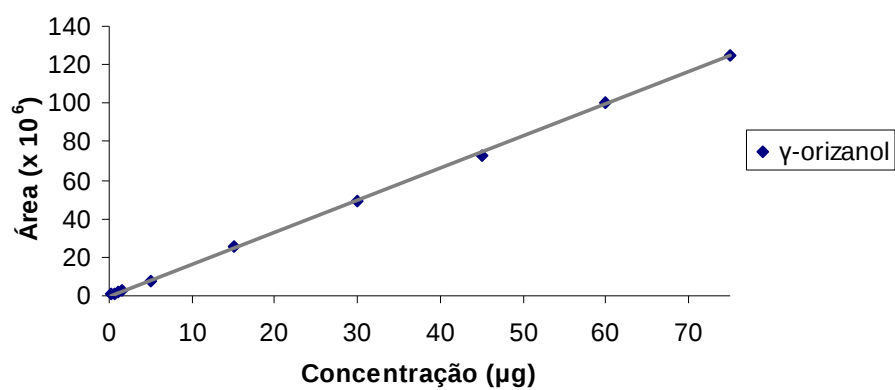


Figura 2- Curva padrão externa do γ -orizanol.