

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos



Dissertação

**Interação entre genótipos de arroz preto e locais de cultivo no perfil de
compostos fenólicos e sobre atributos físico-químicos**

Caroline Lambrecht Dittgen
Engenheira Agrônoma

Pelotas, 2019

Caroline Lambrecht Dittgen

Interação entre genótipos de arroz preto e locais de cultivo no perfil de compostos fenólicos e sobre atributos físico-químicos

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

Orientador: Prof. Dr. Nathan Levien Vanier

Coorientadora: Dr^a Jessica Fernanda Hoffmann

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

D617i Dittgen, Caroline Lambrecht

Interação entre genótipos de arroz preto e locais de cultivo no perfil de compostos fenólicos e sobre atributos físico-químicos / Caroline Lambrecht Dittgen ; Nathan Levien Vanier, orientador ; Jessica Fernanda Hoffmann, coorientadora. — Pelotas, 2019.

75 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Oryza sativa. 2. Autenticidade de arroz. 3. Arroz brasileiro. 4. Flavonoides. 5. Antocianinas. I. Vanier, Nathan Levien, orient. II. Hoffmann, Jessica Fernanda, coorient. III. Título.

CDD : 633.18

Caroline Lambrecht Dittgen

Interação entre genótipos de arroz preto e locais de cultivo no perfil de compostos fenólicos e sobre atributos físico-químicos

Dissertação aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel”, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 18 de fevereiro de 2019

Banca examinadora:

Prof. Dr. Nathan Levien Vanier (Orientador), Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas.

Dr^a Priscila Zaczuk Bassinello, Doutora em Ciências dos Alimentos pela Universidade de São Paulo.

Prof. Dr. Cesar Valmor Rombaldi, Doutor em Biologie Moléculaire Végétale pela Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Toulouse.

Dr. José Manoel Colombari Filho, Doutor em Agronomia (Genética e Melhoramento de Plantas) pela Universidade de São Paulo.

Agradecimentos

Agradeço ao meu namorado, Igor, por todo apoio, companheirismo e paciência de sempre.

À minha família, em especial minhas irmãs e meus avós, e à família Lindemann, pela compreensão e pelo incentivo.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Nathan Vanier, pela oportunidade, auxílio e ensinamentos.

À minha coorientadora, Dr^a Jessica Hoffmann, por todo o auxílio.

Aos amigos e colegas de pós-graduação que estiveram comigo durante o mestrado, Cristian, Cristiano, Dianini, Gustavo, Igor, Jaqueline, Jessica, Jorge e Miriã. Agradeço, também, aos demais colegas de pós-graduação, aos alunos de iniciação científica e pós-doutorandos do Labgrãos.

Ao Dr. Douglas Lindemann pelos dados climáticos cedidos.

Aos meus amigos, especialmente à Andressa, Daiane, Gabrielle, Leonardo e Pablo, por sempre estarem presentes.

À Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela oportunidade e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

À todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para minha formação.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Resumo

DITTTGEN, Caroline Lambrecht. **Interação entre genótipos de arroz preto e locais de cultivo no perfil de compostos fenólicos e sobre atributos físico-químicos.** 2019. 72f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

O arroz é um dos cereais mais produzidos no mundo e a demanda por cultivares especiais, que inclui arroz voltados à culinária japonesa e à italiana, arroz aromático e arroz pigmentado, vem aumentando. Os tipos que possuem pericarpo colorido possuem maiores quantidades de compostos fenólicos do que os demais tipos, sendo as antocianinas o principal grupo de fenólicos do arroz preto. Além de fatores genéticos, os fatores ambientais durante o desenvolvimento da cultura podem impactar na qualidade dos alimentos e essas diferenças podem ser utilizadas como características distintivas e de denominação de origem. Diferentes compostos, técnicas de separação e identificação e ferramentas estatísticas podem ser utilizadas para identificar compostos ou variáveis que possibilitem a discriminação de acordo com o local de cultivo de diversos alimentos. Objetivou-se com o estudo avaliar efeitos do local de cultivo sobre o perfil de compostos fenólicos (incluindo ácidos fenólicos, antocianinas e outros flavonoides), por LC-MS, e atributos físico-químicos dos grãos de arroz preto produzidos em três municípios de São Paulo (Guaratinguetá, Roseira e Taubaté) e em três municípios do Rio Grande do Sul (Alegrete, Capão do Leão e Santa Vitória do Palmar). As condições de Santa Vitória do Palmar, onde acredita-se que se deve principalmente à sua latitude e às condições dos ventos durante a fase de maturação do arroz, favoreceram a ocorrência de gessamento na linhagem AE 153045, mas não teve implicações no genótipo IAC 600. O acúmulo de compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos, flavonoides e antocianinas foi modificado pelo ambiente, onde a tendência observada foi de um acúmulo maior destes compostos quando os grãos foram produzidos em SVP. A análise estatística multivariada permitiu diferenciar os genótipos, sendo o ácido vanílico o principal composto responsável pela discriminação. Utilizando a composição fenólica da fração livre e avaliando cada genótipo separadamente, foi possível discriminar os locais de crescimento, onde os componentes principais explicaram 98% da variabilidade, em ambos genótipos. Os compostos que apresentaram pontuação VIP superior a 1,0, responsáveis pela discriminação do local de cultivo da linhagem AE 153045 foram a hesperetina, o ácido vanílico e a quercetina-3-O-glicosídeo e da cultivar IAC 600 foram a quercetina, o ácido vanílico, a quercetina-3-O-glicosídeo e o ácido *p*-cumárico.

Palavras-chave: *Oryza sativa*, autenticidade de arroz, arroz brasileiro, flavonoides, antocianinas

Abstract

DITTTGEN, Caroline Lambrecht. **Interaction between black rice genotypes and growing locations on phenolic compounds profile and physical-chemical attributes.** 2019. 72f. Dissertation (Master Degree in Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

Rice is one of the most produced cereals in the world and the demand for special cultivars, which includes rice for Japanese and Italian cuisine, aromatic rice and pigmented rice, is increasing. The varieties that possess pigmented pericarp have larger amounts of phenolic compounds than the other varieties, with anthocyanins being the main phenolic group of black rice. In addition to genetic factors, environmental factors during the crop development may impact on food quality, and these differences can be used as distinctive characteristics for geographical origin discrimination. Different compounds, separation techniques, and identification techniques as well as several statistical tools can be used to identify compounds or variables that allow discrimination according to the growing location of foods. The objective of this study was to evaluate effects of the growing location on the phenolics profile (including phenolic acids, anthocyanins and other flavonoids) by LC-MS, and the physicochemical attributes of black rice produced in three municipalities of São Paulo (Guaratinguetá, Roseira and Taubaté) and in three municipalities of Rio Grande do Sul (Alegrete, Capão do Leão and Santa Vitória do Palmar). The conditions of Santa Vitória do Palmar, where it is believed that it is mainly due to its latitude and the conditions of the winds during the maturation phase of the rice, favored the occurrence of chalkiness in line AE 153045, but did not have implications in genotype IAC 600. The phenolics accumulation, including phenolic acids, flavonoids, and anthocyanins, was modified by the environment, where the tendency was observed for a greater accumulation of these compounds when the grains were produced in SVP. The multivariate statistical analysis made it possible to differentiate the genotypes, with vanillic acid being the main compound responsible for the discrimination. Using the phenolics composition of the free fraction and evaluating each genotype separately, it was possible to discriminate the growing locations, where the principal components explained 98% of the variability in both genotypes. The compounds that had a VIP score higher than 1.0, responsible for the discrimination of the AE 153045 genotype at the different growing locations were hesperetin, vanillic acid, and quercetin-3-O-glucoside, while the compounds responsible for the discrimination of IAC 600 genotype at the different growing locations were quercetin, vanillic acid, quercetin-3-O-glucoside, and *p*-coumaric acid.

Keywords: *Oryza sativa*, rice authenticity, Brazilian rice, flavonoids, anthocyanins.

Lista de Figuras

Figura 1 - Grupos de tendência mundial para o consumo de alimentos (%).	17
Figura 2 - Estrutura química do composto 2-acetil-1-pirrolina, principal composto envolvido no aroma do arroz.	19
Figura 3 - Estrutura química básica de um composto fenólico, neste caso o mais simples, apresentando um anel aromático e um grupo hidroxila.	19
Figura 4 - Estrutura química dos ácidos fenólicos presentes em grãos de arroz.	21
Figura 5 - Estrutura química das classes de flavonoides.	22
Figura 6 - Estrutura química de flavan-3-ol, seus possíveis radicais e denominações.	23
Figura 7 - Estrutura química básica das antocianinas.	24
Figura 8 - Esquema representativo do impacto das altas temperaturas ambientais em estágios específicos de desenvolvimento do arroz. DAF = dias após a floração.	25
Figura 9 - Indicação dos seis locais de cultivo de arroz preto no mapa brasileiro.	28
Figura 10 - Condições climáticas durante o estágio de maturação nos diferentes locais: temperaturas mensais máxima (A), média (B) e mínima (C) e precipitação (D). ALG = Alegrete. CPL = Capão do Leão. SVP = Santa Vitória do Palmar. GUA = Guaratinguetá. ROS = Roseira. TBT = Taubaté.	29
Figura 11 - Fotografia das amostras obtidas nos diferentes locais de cultivo. ALG = Alegrete. CPL = Capão do Leão. SVP = Santa Vitória do Palmar. GUA = Guaratinguetá. ROS = Roseira. TBT = Taubaté.	30
Figura 12 - Gráfico e equação de calibração de amilose.	31
Figura 13 - Gráfico e equação de calibração obtida com ácido gálico para determinar o teor de compostos fenólicos.	34
Figura 14 - Gráficos e equações de calibração para atividade antioxidante frente ao radical ABTS (A) e DPPH (B).	35
Figura 15 - Espectros de massas dos ácidos fenólicos monitorados.	37
Figura 16 - Espectros de massas dos flavonoides monitorados.	38
Figura 17 - Espectro de massa (MS / MS) da fragmentação de cianidina-3-O-glicosídeo (A) e peonidina-3-O-glicosídeo (B).	39
Figura 18 - Teor de compostos fenólicos totais obtidos dos genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 produzidos em diferentes locais.	48

Figura 19 - Teor de compostos fenólicos livres obtidos dos genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 produzidos em diferentes locais.	48
Figura 20 - Teor de compostos fenólicos complexados obtidos dos genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 produzidos em diferentes locais.	49
Figura 21 - Teor de antocianinas dos genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 produzidos em diferentes locais.	50
Figura 22 - Atividade antioxidante de compostos fenólicos livres frente aos radicais ABTS (A) e DPPH (B).	51
Figura 23 - Atividade antioxidante de compostos fenólicos complexados frente ao radical ABTS (A) e DPPH (B).	52
Figura 24 - PCA (A), PLS-DA (B) e pontuação VIP (C) da análise de PLS-DA derivada da determinação de LC-MS de fenólicos livres em genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600.	61
Figura 25 - PCA (A), PLS-DA (B) e pontuação VIP (C) da análise de PLS-DA derivados da determinação por LC-MS de fenólicos livres no genótipo do arroz AE 153045 em função do local de cultivo.	62
Figura 26 - PCA (A), PLS-DA (B) e VIP (C) da análise de PLS-DA derivados da determinação por LC-MS de fenólicos livres no genótipo do arroz IAC 600 em função do local de cultivo.	63

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Íons monitorados em espectrometria de massas.....	36
Tabela 2 - Características físicas dos genótipos de arroz preto obtidos de diferentes locais de cultivo	41
Tabela 3 - Propriedades químicas dos genótipos utilizados no estudo.....	44
Tabela 4 - Tempo de cocção e dureza de grãos cozidos de arroz preto.....	46
Tabela 5 - Perfil colorimétrico dos grãos de arroz preto de diferentes origens geográficas.....	54
Tabela 6 - Teor de ácidos fenólicos livres ($\mu\text{g.g}^{-1}$) em genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 de diferentes locais de cultivo.....	56
Tabela 7 - Teor de flavonóides livres ($\mu\text{g.g}^{-1}$) nos genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 de diferentes locais de cultivo.....	57
Tabela 8 - Teor de antocianinas (mg.g^{-1}) nos genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 de diferentes locais de cultivo	58
Tabela 9 - Teor de ácidos fenólicos complexados ($\mu\text{g.g}^{-1}$) em genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 de diferentes locais de cultivo.....	59

Lista de Abreviaturas e Siglas

ABTS	2,2-azinobis,3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico
AE 153045	Linhagem-elite de arroz preto nº 153045, do Programa de Melhoramento de Arroz Especiais
ALG	Alegrete (município do Rio Grande do Sul)
CPL	Capão do Leão (município do Rio Grande do Sul)
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazila
GUA	Guaratinguetá (município de São Paulo)
IAC 600	Cultivar de arroz preto, lançada em 1994 pelo Instituto Agrônomo de Campinas
LC-ESI-QToF-MS	Cromatografia líquida com ionização por <i>electrospray</i> e tempo de voo quadrupolo, acoplada à espectrometria de massas (<i>Liquid chromatography accurate mass quadrupole time-of-flight mass spectrometry with electrospray ionization</i>)
LC-MS	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (<i>Liquid chromatography–mass spectrometry</i>)
PCA	Análise do componente principal (<i>Principal Component Analysis</i>)
PLS-DA	Análise de mínimos quadrados parciais discriminantes (<i>Partial least squares–discriminant analysis</i>)
PMG	Peso de mil grãos
ROS	Roseira (município de São Paulo)
RS	Rio Grande do Sul (estado do Brasil)
SP	São Paulo (estado do Brasil)
SVP	Santa Vitória do Palmar (município do Rio Grande do Sul)
TBT	Taubaté (município de São Paulo)
VIP score	Importância variável na pontuação de projeção (<i>Variable importance on projection score</i>)

Sumário

1	Introdução	14
2	Hipótese	16
3	Objetivos	16
3.1	Objetivo geral	16
3.2	Objetivos específicos	16
4	Revisão bibliográfica	17
4.1	Produção e consumo de arroz	17
4.2	Compostos fenólicos	20
4.3	Discriminação de origem	24
5	Materiais e métodos	28
5.1	Materiais	28
5.2	Peso de mil grãos, classe e grau de gessamento	30
5.3	Composição química	31
5.4	Perfil colorimétrico	32
5.5	Tempo de cocção e dureza do arroz cozido	32
5.6	Quantificação de compostos fenólicos totais	33
5.6.1	Extração de compostos fenólicos livres e complexados	33
5.6.2	Quantificação de compostos fenólicos totais em extratos de compostos fenólicos livres e complexados	33
5.7	Extração e quantificação de antocianinas totais	34
5.8	Atividade antioxidante	34
5.9	Identificação e quantificação de ácidos fenólicos, flavonoides e antocianinas individuais	35
5.10	Análise estatística	39
6	Resultados e discussão	40
6.1	Características físicas do arroz	40
6.2	Propriedades químicas do arroz e tempo de cozimento	43
6.3	Teor de compostos fenólicos	47
6.4	Teor de antocianinas	50
6.5	Atividade antioxidante aparente (ABTS e DPPH)	51
6.6	Perfil colorimétrico	53

6.7 Perfil de fenólicos em função do genótipo e do local de cultivo	55
6.8 Discriminação de origem utilizando a composição fenólica da fração livre	60
7 Considerações finais	64
Referências	65

1 Introdução

O arroz está entre os cereais mais produzidos do mundo e o Brasil está entre os 10 maiores produtores desse grão. A demanda por arroz, assim como por outros alimentos, é determinada por vários fatores e existem exigências e tendências de consumo por esse alimento.

Assim, com o surgimento de novas exigências e de nichos de mercado, novas cultivares especiais de arroz vêm sendo desenvolvidas, pois apresentam características sensoriais diferentes daquelas já bem difundidas para o arroz longo fino, beneficiado polido, que é o mais consumido no país. Este é o caso do arroz aromático, do arroz pigmentado e do arroz que atende requisitos das culinárias japonesa e italiana. Enquanto os aromáticos possuem teores de compostos voláteis aromáticos maiores do que os não-aromáticas, as que possuem o pericarpo colorido, por sua vez, possuem compostos fenólicos em maiores quantidades.

Os compostos fenólicos são oriundos do metabolismo especializado das plantas, atuando, por exemplo, na proteção das plantas contra predadores, no fortalecimento da estrutura das plantas e na atração de polinizadores. No corpo humano, quando ingeridos, esses compostos apresentam propriedades benéficas à saúde, por apresentarem propriedade antioxidante, auxiliando na prevenção de doenças como câncer, diabetes, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas. Este, além das propriedades sensoriais distintas, é outro fator que tem levado ao aumento no consumo de grãos de arroz integral, principalmente os que possuem pericarpo colorido.

Os compostos fenólicos podem ser classificados em flavonoides e não-flavonoides, sendo estes os principais compostos fenólicos presentes nos grãos de arroz, que são os compostos especializados mais comuns em cereais, considerados mais simples, enquanto os flavonoides, majoritários no arroz de pericarpo pigmentado, são considerados mais complexos.

Os ácidos fenólicos encontrados em maior quantidade nos grãos de arroz são os ácidos ferúlico, *p*-cumárico, sinápico, gálico, protocatecuico, *p*-hidroxibenzóico, vanílico, siríngico, cafeico, clorogênico, cinâmico e elágico. Já os flavonoides presentes no arroz preto são as antocianinas, enquanto no arroz vermelho são as proantocianidinas, que pertencem a classe das antocianidinas e flavanóis,

respectivamente. Ainda, as antocianinas encontradas em maior abundância são a cianidina-3-O-glicosídeo e a peonidina-3-O-glicosídeo. As principais proantocianidinas, por sua vez, são a catequina e a epicatequina.

Além de fatores genéticos, os fatores ambientais do local de cultivo e do manejo adotado na cultura durante o desenvolvimento da cultura podem impactar na qualidade dos alimentos. Essas diferenças em suas características podem ser utilizadas como características distintivas e de denominação de origem, que podem servir como estratégia econômica para agregação de valor e auxiliar consumidores na escolha por alimentos não adulterados, de alta qualidade e que atendam às suas exigências alimentares, sejam elas de sensorialidade e prazer, saudabilidade e bem-estar, confiabilidade e qualidade ou sustentabilidade e ética.

Vários compostos vêm sendo utilizados para discriminar os alimentos de acordo com sua origem geográfica, incluindo carboidratos, aminoácidos, açúcares, carotenoides, fosfolipídios e compostos fenólicos. Diferentes técnicas também são utilizadas para separar e identificar estes compostos, como eletroforese capilar (CE), cromatografia, seja ela gasosa (GC) ou líquida (LC), espectroscopia de massa (MS), de reflectância no infravermelho próximo (NIR) ou ressonância magnética nuclear (RMN).

Aliado as técnicas de separação e identificação de compostos, ferramentas estatísticas são utilizadas para enfatizar possíveis diferenças, sendo as mais comuns a análise de componentes principais (PCA) e de análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA).

Assim, essas ferramentas em conjunto têm sido utilizadas para identificar compostos ou variáveis que possibilitem a discriminação de acordo com o local de cultivo de diferentes alimentos, como o arroz, café, feijão, milho, trigo, uva, vinho e azeitona.

2 Hipótese

É possível discriminar grãos de arroz preto produzidos no Rio Grande do Sul e em São Paulo com base nas suas propriedades tecnológicas e no perfil de antocianinas.

3 Objetivos

3.1 Objetivo geral

Avaliar efeitos do local de cultivo do arroz preto sobre o perfil de antocianinas e atributos físico-químicos dos grãos.

3.2 Objetivos específicos

a) Avaliar propriedades físico-químicas e tecnológicas de grãos de arroz preto produzidos em três municípios de São Paulo e em três municípios do Rio Grande do Sul.

b) Avaliar o perfil de compostos fenólicos e especificamente de antocianinas dos grãos de arroz preto por análise de LC-MS.

c) Aplicar análise multivariada para verificar se é possível discriminar os genótipos IAC 600 e AE 153045.

d) Aplicar análise multivariada para verificar se é possível discriminar o arroz preto de acordo com o local de produção.

e) Identificar compostos marcadores para discriminação de origem e genótipos de arroz preto.

4 Revisão bibliográfica

4.1 Produção e consumo de arroz

A produção mundial de arroz (*Oryza sativa* L.) está estimada em aproximadamente 475 milhões de toneladas, estando, portanto, entre os cereais mais produzidos do mundo. O Brasil é o maior produtor de arroz no continente Americano e está entre os 10 maiores produtores mundiais do cereal, com uma produção média anual de 12 milhões de toneladas (CONAB, 2017).

Assim como para a maioria dos alimentos, a demanda por arroz em uma determinada região depende do tamanho da população; dos níveis de urbanização, escolaridade e informação; e das faixas etária e de renda (BRASIL FOOD TRENDS, 2010). Segundo levantamento realizado pelo Brasil Food Trends (2010), foram criados cinco grupos de consumidores de alimentos (Figura 1), formados com base nas exigências e tendências dos consumidores mundiais de alimentos, os quais buscam por: 1) Sensorialidade e Prazer; 2) Saudabilidade e Bem-estar; 3) Conveniência e Praticidade; 4) Confiabilidade e Qualidade; e 5) Sustentabilidade e Ética.

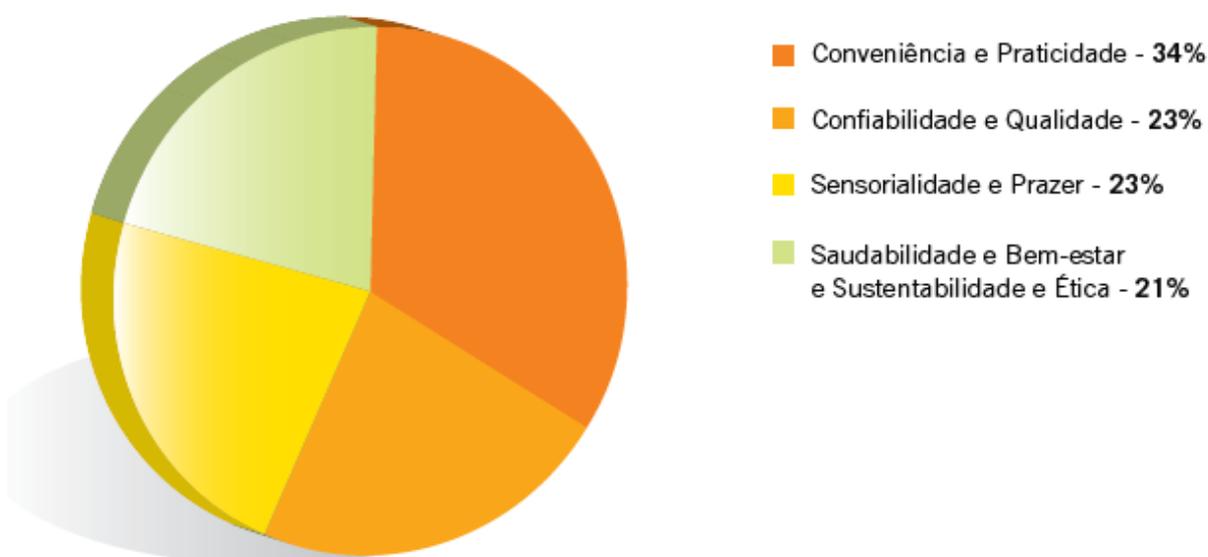


Figura 1 - Grupos de tendência mundial para o consumo de alimentos (%).

Fonte: Brasil Food Trends (2010).

No entanto, o consumo de arroz no mercado brasileiro ainda é pouco diversificado, pois cerca de 68% do consumo nacional do grão se dá na forma de arroz beneficiado polido, 25% de arroz parboilizado polido, 6% de arroz integral e o 1% restante responde as variedades especiais de arroz (PLANETA ARROZ, 2017), representando cerca de 120 mil toneladas anuais. Esses tipos especiais de arroz, que incluem tipos pigmentados e aromáticos, tiveram um crescimento de mercado de cinco vezes nos últimos anos, atingindo valor comercial dez vezes maior quando comparado ao arroz branco consumido pelos brasileiros (PLANETA ARROZ, 2017).

É devido ao crescente interesse por alimentos diferenciados, que atendam às exigências dos consumidores que buscam sensorialidade e prazer assim como saudabilidade e bem-estar, que mais variedades com diferentes cores, aromas, sabores e texturas estão sendo desenvolvidas.

As variedades especiais, incluem o arroz Carnaroli e o arroz Arbório, muito utilizados na culinária italiana para a produção de risotos e sopas; o arroz com baixo teor ou 0% de amilose, como é o caso do arroz Moti ou o arroz glutinoso, utilizado principalmente na culinária japonesa (MAGALHÃES JUNIOR et al., 2012); as variedades aromáticas, como o arroz Basmati e o arroz Jasmine, as quais são as mais consumidas em alguns países asiáticos (VANIER, 2017); e as variedades com pericarpo vermelho ou preto, que têm atraído cada vez mais os consumidores que buscam alto valor nutricional e funcionalidade nos alimentos, além da sua coloração diferenciada e atrativa (SUMCZYNSKI et al., 2016).

Em algumas variedades de arroz, a síntese de componentes químicos voláteis aromáticos se dá em concentrações maiores do que em outras variedades, que passam a ser perceptíveis tanto nos grãos, durante e após o preparo, quanto nos tecidos foliares, e são denominadas, por isso, variedades aromáticas (BRYANT; MCCLUNG, 2011; MARAVAL et al., 2008). O principal composto envolvido no aroma do arroz é o 2-acetil-1-pirrolina (2-AP) (Figura 2) (BUTTERY et al., 1983). No entanto, são mais de 200 compostos voláteis presentes no arroz que podem influenciar o aroma e o sabor do arroz cozido (CHAMPAGNE, 2008).

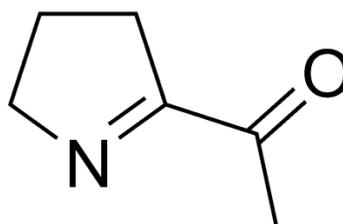


Figura 2 - Estrutura química do composto 2-acetil-1-pirrolina, principal composto envolvido no aroma do arroz.

Já as variedades de pericarpo pigmentado apresentam tal coloração pois possuem pigmentos em seu pericarpo, sendo no caso do arroz vermelho a predominância de proantocianinas e, no caso do arroz preto, as antocianinas, ambos compostos fenólicos (Figura 3) (FINOCCHIARO; FERRARI; GIANINETTI, 2010; MIN; MCCLUNG; CHEN, 2011). Esses compostos são reconhecidos por apresentar atividade antioxidante, anti-inflamatória, antimutagênica e anti-hipertensiva, desempenhando, assim, um papel importante na prevenção de doenças crônicas degenerativas cardiovasculares e na prevenção de câncer (PAIVA et al., 2014; SHAO; BAO, 2015).

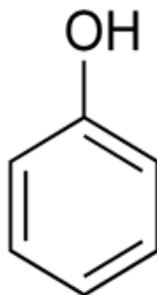


Figura 3 - Estrutura química básica de um composto fenólico, neste caso o mais simples, apresentando um anel aromático e um grupo hidroxila.

Devido a sua coloração escura, bem diferenciada e ao seu alto teor de compostos fenólicos, o arroz preto também é conhecido, principalmente nos países asiáticos, por arroz roxo, arroz proibido, arroz do céu, arroz imperial, arroz do rei, arroz premiado e ainda arroz da longevidade (KUSHWAHA, 2016).

O *International Rice Genebank*, do Instituto Internacional de Pesquisa do Arroz (IRRI), possui 127.916 acessos de arroz, incluindo variedades modernas, tradicionais e silvestres (IRRI, 2017). No Brasil, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, conhecida como EMBRAPA, contém 27.006 acessos de arroz. A China, principal produtora de arroz, já apresenta mais de 50 variedades comerciais de arroz preto (KUSHWAHA, 2016). O principal - e quase único - genótipo de arroz preto cultivado no Brasil é o IAC 600, no entanto, a EMBRAPA vem estudando novas linhagens-elite de arroz preto, dos quais a linhagem-elite AE 153045 foi apontada como a mais promissora para ser lançada como nova cultivar.

4.2 Compostos fenólicos

Além de carboidratos, proteínas, vitaminas e minerais que fazem do arroz integral uma boa fonte de nutrientes, o grão também possui quantidades valiosas de compostos fenólicos que fornecem propriedades funcionais e nutracêuticas (ZUBAIR et al., 2012; SHAO; BAO, 2015).

Os compostos fenólicos são compostos oriundos do metabolismo secundário, ou especializado, denominados assim por não desenvolverem um papel vital nas plantas, ou seja, no crescimento, desenvolvimento e reprodução, mas atuam na proteção contra raios UV, patógenos e predadores, no suporte mecânico e na atração de polinizadores (LYU et al., 1990). Estes compostos são caracterizados pela presença de no mínimo um anel aromático e no mínimo um grupo hidroxila (Figura 3) (GOUFO et al., 2014b).

Além disso, os compostos fenólicos vêm sendo estudados devido suas propriedades antioxidantes, a capacidade de sinalização celular e outros mecanismos que potencializam seu uso em benefício à saúde humana, pois auxiliam na prevenção de doenças como câncer, diabetes, doenças cardiovasculares e neurodegenerativas (MANACH et al., 2004; LIU, 2007).

Assim, além de suas características sensoriais diferenciadas, este é um dos motivos que o consumo de arroz integral vem aumentando, tanto de variedades pigmentadas quanto não-pigmentadas, já que estes grãos são ricos em compostos fenólicos, que são benéficos à saúde, atendendo às exigências de consumidores que buscam saudabilidade e bem-estar (Figura 1).

Os compostos fenólicos podem ser classificados em flavonoides (polifenóis) e não-flavonoides (fenóis simples ou ácidos fenólicos), sendo que os principais compostos fenólicos presentes nos grãos de arroz são os ácidos fenólicos, que são os compostos secundários mais comuns em cereais, e os flavonoides, que são encontrados no arroz pigmentado (ZHOU et al., 2014; AL-FARSI; LEE, 2008; FINOCCHIARO et al., 2010; KONG; LEE, 2010; QIU; LIU; BETA, 2010).

Segundo Lindemann (2016), os ácidos fenólicos são considerados como compostos simples, por estarem presentes no início de rota de síntese dos metabólitos especializados, enquanto que os flavonoides, localizados no final da rota metabólica, são considerados mais complexos.

Estes ácidos são caracterizados por conterem um anel fenólico e pelo menos uma função de ácido carboxílico orgânico, os quais diferem no número e na posição dos grupos hidroxila no anel aromático (Figura 4) (GOLENIOWSKI et al., 2013), e têm sido relatados em concentrações mais elevadas em genótipos de arroz de pericarpo pigmentado do que no arroz de pericarpo marrom (arroz branco integral) (GOUFO; TRINDADE, 2014).

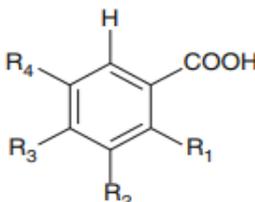
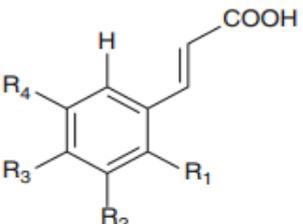
Ácidos hidroxibenzoicos					
	Nome	R1	R2	R3	R4
	Ácido gálico	H	OH	OH	H
	Ácido protocatecuico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	Ácido <i>p</i> -hidroxibenzoico	H	H	OH	H
	Ácido siríngico	OH	H	H	OH
	Ácido vanílico	H	OH	OH	OH
Ácidos hidroxicinâmicos					
	Ácido cafeico	H	OH	OH	H
	Ácido cinâmico	H	H	H	H
	Ácido ferúlico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃
	Ácido <i>p</i> -coumárico	H	H	OH	H
	Ácido sinápico	H	OCH ₃	OH	OCH ₃

Figura 4 - Estrutura química dos ácidos fenólicos presentes em grãos de arroz.

Fonte: Adaptado de Goleniowski et al. (2013).

Segundo Goufo e Trindade (2014a), os ácidos fenólicos encontrados nos grãos de arroz em maior quantidade são os ácidos ferúlico (56-77% do total de ácidos fenólicos), *p*-cumárico (8–24%), sinápico (2–12%), seguidos pelos ácidos gálico (1 a 6%), protocatecuico (1-4%), *p*-hidroxibenzóico (1-2%), vanílico (1%) e siríngico (1%), além dos ácidos cafeico, clorogênico, cinâmico e elágico, que representam menos de 1% do total de ácidos fenólicos (Figura 4).

Já os flavonoides possuem 15 carbonos em sua estrutura, organizados em dois anéis aromáticos interligados por três átomos de carbonos (estrutura C6 – C3 – C6), formando um heterociclo oxigenado. Em função do tipo de heterociclo, os flavonoides ainda podem ser divididos em flavonóis, flavonas, isoflavonas, flavanonas, antocianidinas e flavanóis (catequinas e proantocianidinas) (Figura 5), podendo estar associados a vários carboidratos e ácidos orgânicos e uns aos outros (RICE-EVANS; MILLER; PAGANGA, 1996; MANACH et al., 2004).

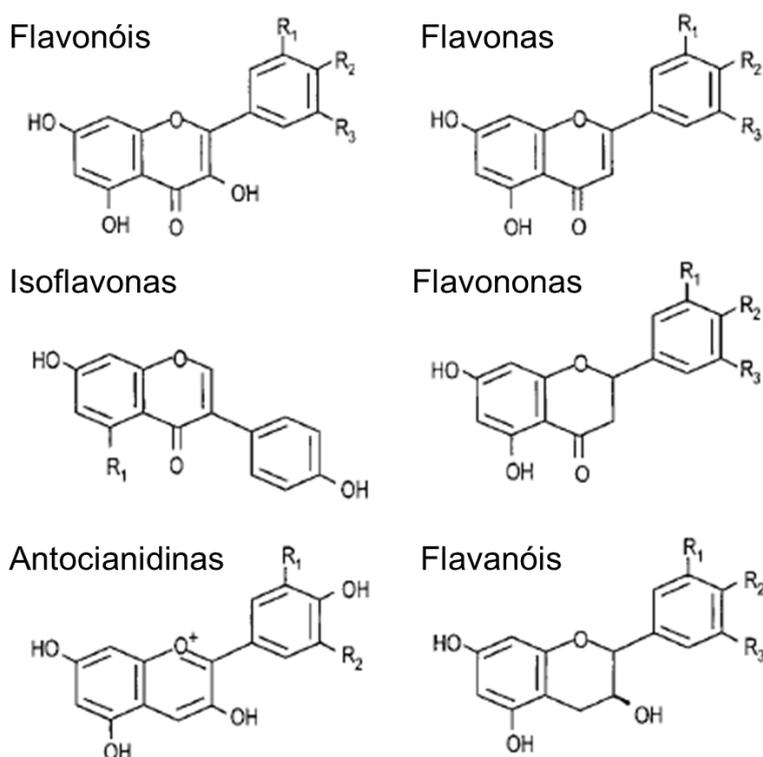


Figura 5 - Estrutura química das classes de flavonoides.

Fonte: Adaptado de Manach et al. (2004).

Nos arrozes de pericarpo pigmentado, os flavonoides presentes são as antocianinas e proantocianidinas, que pertencem a classe das antocianidinas e flavanóis, respectivamente, encontradas no pericarpo do arroz preto (antocianinas) e vermelho (proantocianidinas) (MIN; MCCLUNG; CHEN, 2011).

As proantocianidinas (Figura 6) são pertencentes ao grupo de flavanóis, também chamados de flavan-3-ol ou catequinas, pois são compostos que possuem polímeros de flavan-3-ol, constituído por dois anéis aromáticos e um grupo hidroxila na posição 3, sendo os dímeros os mais abundantes em arroz (GUNARATNE et al. 2013). No arroz vermelho, as proantocianidinas consistem em catequinas e epicatequinas (GUNARATNE et al., 2013; QIU; LIU; BETA, 2009), isômeros que se diferenciam apenas pela configuração *cis* (epicatequina) e *trans* (catequina).

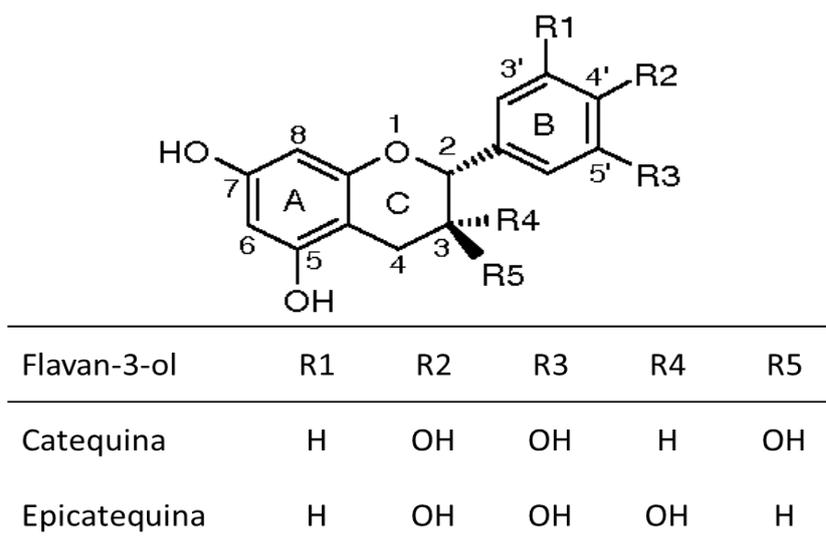


Figura 6 - Estrutura química de flavan-3-ol, seus possíveis radicais e denominações.

Fonte: Adaptado de Gu et al. (2003).

As antocianinas são glicosídeos das antocianidinas, onde uma ou mais hidroxilas das posições 3, 5 e 7 estão ligadas a glicosídeos, aos quais podem estar complexados com ácidos fenólicos, diferenciando as antocianinas entre si (Figura 7) (TERCI; ROSSI, 2002). Cianidina-3-O-glicosídeo, peonidina-3-O-glicosídeo, cianidina-3-rutinosídeo e cianidina-3-galactosídeo são antocianinas que já foram encontradas no arroz (MIN; MCCLUNG; CHEN, 2011).

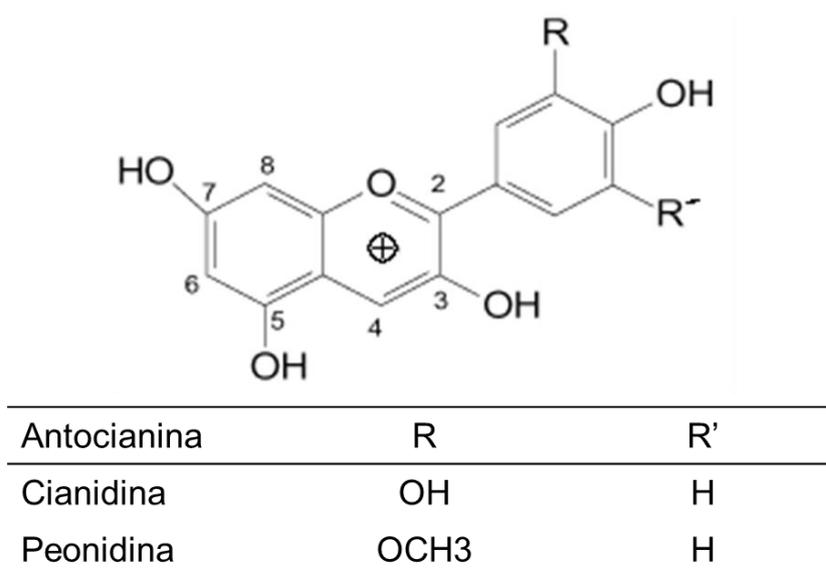


Figura 7 - Estrutura química básica das antocianinas.

4.3 Discriminação de origem

Além da contribuição dos fatores genotípicos, os fatores ambientais do local de cultivo e do manejo adotado na cultura durante a safra podem ter impacto na qualidade dos alimentos (BHATTACHARYA, 2011; LANNING et al., 2011; RASHMI et al., 2017; NAKATA et al., 2017; GRANATO et al., 2016). Sreenivasulu et al. (2015) demonstraram que a ocorrência de altas temperaturas em diferentes fases do desenvolvimento dos grãos de arroz resulta em diferentes alterações em sua composição, afetando a qualidade de cocção e sensorial do arroz (Figura 8).

Tais diferenças nas características de alimentos e bebidas em função do genótipo e do local de cultivo podem servir como características distintivas e de denominação de marca registrada.

A denominação de genótipo e origem geográfica, além de servir como uma poderosa estratégia econômica para a agregação de valor aos alimentos, ajuda os consumidores a selecionar alimentos não adulterados e de alta qualidade (GONZALVEZ et al., 2009; CUBERO-LEON; PEÑALVER; MAQUET, 2014), atendendo, desta forma, quase todos os grupos de consumidores (Figura 1), com exceção dos que buscam alimentos com conveniência e praticidade (Grupo 3), através da identificação de alimentos étnicos, exóticos, com variação de sabores e apelo sensorial (Grupo 1 - Sensorialidade e prazer); alimentos funcionais, benéficos à saúde, para dietas específicas (Grupo 2 - Saudabilidade e bem-estar); produtos com

rastreabilidade e garantia de origem, certificados e selos de qualidade, rótulo informativo (Grupo 4 - Confiabilidade e qualidade); e produtos de empresas sustentáveis, com baixo impacto ambiental, com certificados de responsabilidade socioambiental (Grupo 5 - Sustentabilidade e ética) (BRASIL FOOD TRENDS, 2010).

	0-8 DAF	12-28 DAF	29-32 DAF	
Controle	Determina o comprimento de grãos principalmente pelo crescimento do pericarpo	Determina a eficiência de armazenamento do endosperma (amido e proteínas de armazenamento)	Dessecação do embrião	
	4-8 DAF	Papel da aleurona no acúmulo de lipídios, antioxidantes e micronutrientes		
	Determina a força de dreno do endosperma			
	0-8 DAF	9-16 DAF	17-22 DAF	23-30 DAF
Sob estresse	Nenhuma evidência proeminente do impacto no comprimento do grão sob estresse	Formação de gesso é desencadeada	Alteração na estrutura do amido (relação amilose-amilopectina)	Precoce dessecação do embrião
	A celularização do endosperma é afetada, reduzindo assim a largura dos grãos	Prejuízo na acumulação de amido (amilose)	Proteínas de reserva são afetadas	Precoce morte celular programada no endosperma
	Força do dreno reduzida (células do endosperma reduzidas)	Duração reduzida do enchimento de grãos (composição de armazenamento alterada)	Impacto na dormência	

Figura 8 - Esquema representativo do impacto das altas temperaturas ambientais em estágios específicos de desenvolvimento do arroz. DAF = dias após a floração.

Fonte: Traduzido de Sreenivasulu et al. (2015).

Carboidratos, aminoácidos, açúcares, carotenoides, fosfolipídios e compostos fenólicos são exemplos de analitos que têm sido usados para discriminar a origem geográfica dos alimentos e, as técnicas mais comuns que permitem a identificação de moléculas incluem espectroscopia de massa (MS), espectroscopia de reflectância no infravermelho próximo (NIR), espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), junto aos métodos de separação, como eletroforese capilar (CE) e cromatografia, seja ela gasosa (GC), líquida (LC), líquida de ultra alta pressão (UPLC) e de alto desempenho (HPLC) (CUBERO-LEON; PEÑALVER; MAQUET, 2014; CAPOZZI; TRIMIGNO, 2015; HUO et al., 2017).

É provável que o método de separação mais versátil seja por cromatografia líquida (LC), pois permite a separação de compostos de uma ampla faixa de polaridade, podendo ser separados compostos polares, como açúcares, aminoácidos, vitaminas, ácidos carboxílicos e nucleotídeos, e compostos semipolares, como ácidos fenólicos, flavonoides, esteroides glicosilados e alcaloides (MOCO et al., 2007).

Já a espectrometria de massas (MS) tem como princípio gerar íons a partir de compostos para medir a razão massa-carga de moléculas carregadas (STACHNIUK; FORNAL, 2015), para que estas possam ser então identificadas e quantificadas.

Estas técnicas analíticas geram uma grande quantidade de dados, e dessa forma necessitam de ferramentas estatísticas, como análise de dados multivariados (PCA, PLS, análise de cluster) para enfatizar possíveis diferenças, classificando as amostras de acordo com suas características (CAPOZZI; TRIMIGNO, 2015). Estas técnicas de análise geralmente envolvem análise não supervisionada, como a análise de componentes principais (PCA - Principal Component Analysis) ou análise de discriminação supervisionada por quadrados mínimos parciais (PLS-DA - Partial Least Squares Discriminant Analysis) (WISHART, 2008).

Essas técnicas permitem identificar compostos marcadores discriminantes entre plantas geneticamente modificadas e convencionais (LEON et al., 2009, PICONE et al., 2011) e separar alimentos produzidos pelo sistema orgânico do convencional (CHEN et al., 2010). O PLS-DA também permitiu a discriminação de origem de vinho branco com base na acidez total, no teor de ácidos cítrico, málico, succínico e láctico, no índice total de polifenóis, no teor de glicose, e na relação de prolina/arginina (CARUSO et al., 2012).

Rashmi et al. (2017) discriminaram grãos de trigo geograficamente com base na composição de isótopos, identificando o $\delta^{13}\text{C}$ (isótopos estáveis de carbono) como principal discriminante. Chung et al. (2018) determinaram que, no arroz, o $\delta^{34}\text{S}$ (isótopos estáveis de enxofre) foi o marcador mais importante para discriminar a autenticação geográfica do arroz e elementos como K, Mg, Na, Ca, Mn, Fe e Zn também diferiram entre as amostras de arroz de diferentes origens geográficas na Ásia, além de observarem clara distinção das amostras cultivadas na Coreia usando modelos PLS-DA.

Grãos de café da Etiópia foram discriminados com base em seu perfil de ácidos clorogênicos, onde os ácidos 3-cafeoilquínico, 3,4-dicicolequínico, 3,5-dicicolequínico e 4,5-dicicafelequínico foram identificados como os compostos

discriminatórios para a autenticação entre as diversas regiões. As concentrações dos ácidos 3,5-dicicofeiquínico e 4,5-dicofiroíquinico e a proporção de concentração de ácido 4,5-dicofamoilquinico em ácido 3,4-dicico-quinílico foram apropriadas para diferenciar os grãos de distintas variedades (MEHARI et al., 2016).

Os compostos fenólicos têm sido utilizados com sucesso para determinar a origem de diferentes alimentos, como suco de uva (GRANATO et al., 2016), de vinhos tintos (Belmiro, Pereira & Paim, 2017), azeite de oliva extra virgem (BECERRA-HERRERA et al., 2018), e feijões comuns (FAN; BETA, 2017).

No caso do arroz, a denominação geográfica de origem é obrigatória no Japão, onde o rótulo deste alimento deve apresentar a cultivar, a região e o ano de cultivo (ARIYAMA; SHINOZAKI; KAWASAKI, 2012), e a análise de metabólitos pode ajudar a explorar a diversidade de arroz de diferentes genótipos e origens (KUSANO et al., 2015).

Bergman e Xu (2003) relataram que há efeitos tanto genotípicos quanto ambientais nos teores de tocoferol, tocotrienol e γ -orizanol do arroz. Park et al. (2014) indicaram ácido sinápico e ferúlico na forma livre e ligada como biomarcador para a discriminação de origem de oito cultivares de arroz cultivadas em dois locais na Coreia.

Além de compostos fenólicos, que demonstram grandes variações, outras características podem ser usadas como marcadores para discriminação de origem, como, por exemplo, um estudo conduzido por Concepcion et al. (2018), que demonstrou que o gessamento é altamente impactado pelo genótipo e local de cultivo, servindo como uma importante variável de denominação de origem.

5 Materiais e métodos

5.1 Materiais

Foram utilizados dois genótipos de arroz preto (*Oryza sativa* L.), sendo uma linhagem-elite (AE 153045) e uma cultivar (IAC 600), produzidos na safra 2016/2017 em seis locais do Brasil, sendo três municípios do estado do Rio Grande do Sul (RS) e três do estado de São Paulo (SP). No RS, os locais foram Alegrete (ALG), Capão do Leão (CPL) e Santa Vitória do Palmar (SVP), enquanto que em SP foram Guaratinguetá (GUA), Roseira (ROS) e Taubaté (TBT). As posições dos seis diferentes locais no mapa brasileiro estão apresentadas na figura 9.

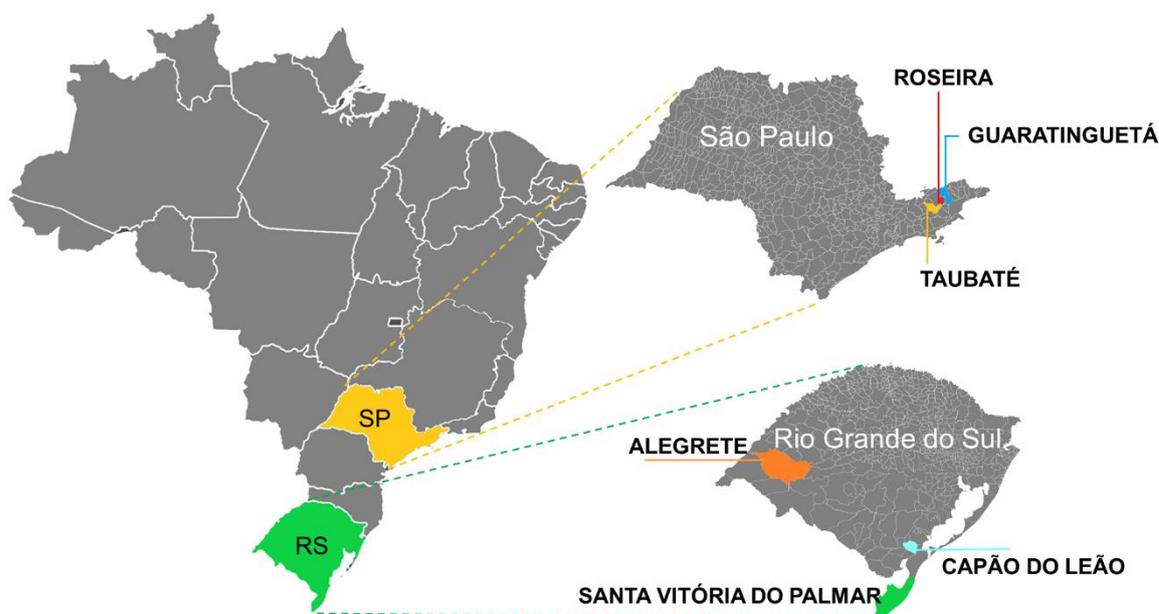


Figura 9 - Indicação dos seis locais de cultivo de arroz preto no mapa brasileiro.

A linhagem-elite AE 153045 foi desenvolvida a partir do cruzamento triplo [(IAC 600 x SBT 103) x BGA 11781], onde a matriz IAC 600 teve uma contribuição importante para as características de qualidade do grão preto e, os demais pais, SBT 103 e BGA 11781, contribuíram para as características agronômicas como a moderna arquitetura de plantas, o alto potencial de rendimento de grãos, a tolerância ao acamamento e a resistência a doenças.

As amostras de arroz preto foram obtidas em parcelas de ensaios de campo realizados pelo Programa de Melhoramento da Embrapa e parceiros em cada localidade, onde os grãos foram produzidos sob sistema de produção de várzea, em triplicata, seguindo as práticas de gestão de culturas adotados para o cultivo de arroz no Brasil (SOSBAI, 2014).

A temperatura máxima, mínima e média e a precipitação mensal, durante a fase de maturação dos grãos, nos seis diferentes locais, estão apresentadas na figura 10. A colheita foi realizada quando o teor de umidade era de aproximadamente 20,0% (em peso seco). O arroz em casca foi limpo e submetido à secagem em estufa com circulação forçada de ar (modelo 400-2ND, Nova Ética, Brasil), fixado em 38°C até que o teor de umidade de 13,0% fosse alcançado.

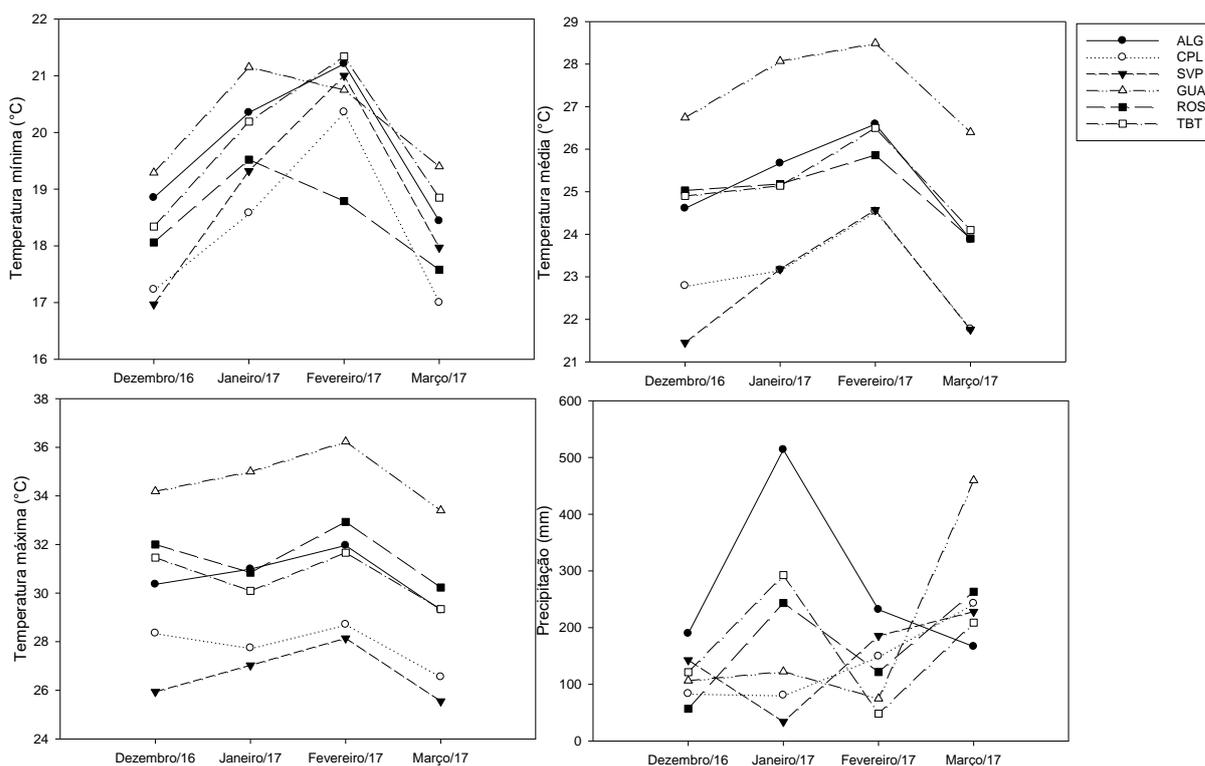


Figura 10 - Condições climáticas durante o estágio de maturação nos diferentes locais: temperaturas mensais máxima (A), média (B) e mínima (C) e precipitação (D). ALG = Alegrete. CPL = Capão do Leão. SVP = Santa Vitória do Palmar. GUA = Guaratinguetá. ROS = Roseira. TBT = Taubaté.

O arroz integral foi obtido pelo descascamento de 100g de cada tratamento utilizando uma máquina de arroz Zaccaria (Tipo 1-PAZ-DTA, Zaccaria, Brasil). O arroz integral foi moído usando um moinho de laboratório (Perten3100, Perten Instruments, Suécia) equipado com uma peneira 70-Mesh para obter farinha de arroz integral. Uma imagem das amostras obtidas é apresentada na figura 11.



Figura 11 - Fotografia das amostras obtidas nos diferentes locais de cultivo. ALG = Alegrete. CPL = Capão do Leão. SVP = Santa Vitória do Palmar. GUA = Guaratinguetá. ROS = Roseira. TBT = Taubaté.

5.2 Peso de mil grãos, classe e grau de gessamento

O peso de mil grãos (PMG) foi determinado de acordo com as Regras para Análise de Sementes (BRASIL, 2009a), mediante a média da massa de quatro repetições de 1000 grãos integrais determinada em uma balança analítica. Os resultados foram expressos em gramas.

A classe e o percentual de grãos gessados foram determinados em arroz polido, seguindo as normas oficiais brasileiras para classificação de arroz (BRASIL, 2009b). O arroz preto polido foi obtido pelo polimento, durante 2 minutos, de 80g de arroz integral numa máquina de arroz Zaccaria (Tipo 1-PAZ-DTA, Zaccaria, Brasil). Os grãos gessados foram visualmente classificados de acordo com o tamanho da área opaca (calcária) no endosperma, como segue: 0% de gessamento (ausência de área opaca); 1% a 89% de gessamento (endosperma parcialmente opaco); e 90% a 100% de gessamento (arroz quase completamente opaco).

5.3 Composição química

O teor de amilose aparente foi determinado de acordo com o ensaio colorimétrico de amilose-iodo descrito por Mcgrance, Cornell e Rix (1998), usando farinha de arroz polida e desengordurada (método soxhlet), conforme recomendações da AACC (2002). O arroz polido foi obtido conforme descrito na seção 2.2.

Em um tubo de falcon foram pesados 20mg de farinha e adicionados 8mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) 90%. O tubo foi agitado e condicionado em banho-maria a 85°C até completa gelatinização do amido. Após o arrefecimento, o volume foi completado para 25mL com água destilada. O conteúdo foi então homogeneizado e uma alíquota de 1mL da solução foi coletada e transferida para um tubo de falcon de 50mL, onde foram adicionados 44mL de água destilada e 5mL de solução de iodeto de potássio ($0,0025\text{mol.L}^{-1}$ de I_2 e $0,0065\text{mol.L}^{-1}$ de KI). A solução foi homogeneizada, mantida ao abrigo da luz e após 15 min foi realizada a leitura da absorbância em 600nm.

Os resultados do teor de amilose aparente foram quantificados usando uma curva de calibração (Figura 12) preparada com amilose extraída de batata (Sigma-Aldrich Co., EUA) e expressa como porcentagem (%) em uma base de peso seco.

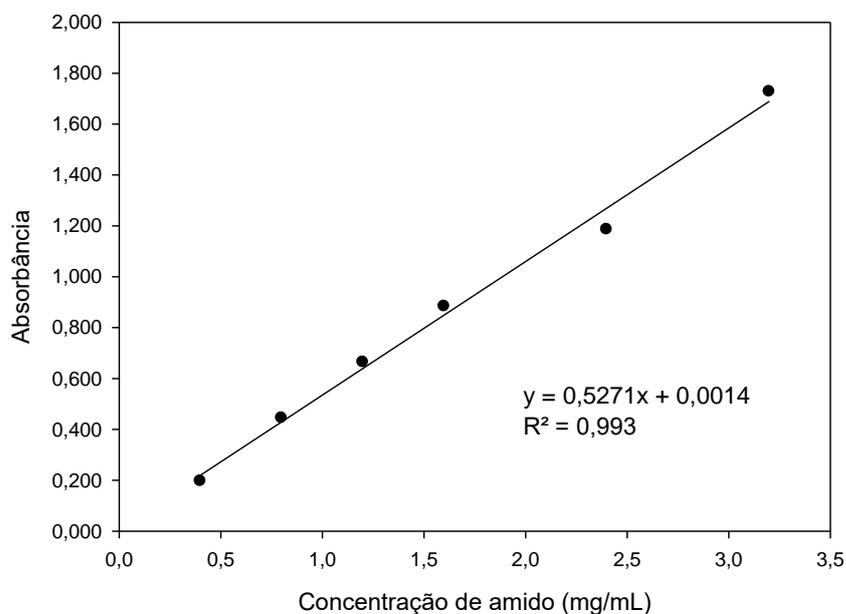


Figura 12 - Gráfico e equação de calibração de amilose.

O teor de proteínas, cinzas e lipídeos do arroz integral foi determinado de acordo com o método AOAC 992.23 (AOAC, 2005). Os resultados foram expressos em percentagem (%) em peso seco.

5.4 Perfil colorimétrico

O perfil colorimétrico foi determinado pela utilização de colorímetro Minolta (modelo CR-300), o qual indica as cores em um sistema tridimensional, onde o eixo L* indica coloração do preto ao branco, o eixo a* da coloração verde a vermelha e o eixo b* da coloração azul a amarela.

5.5 Tempo de cocção e dureza do arroz cozido

A avaliação do tempo de cocção foi realizada de acordo com o teste Ranghino (JULIANO; BECHTEL, 1985), onde 10g de arroz integral foram adicionadas em 250mL de água destilada em um béquer disposto sobre uma placa aquecedora ($98\pm 1^\circ\text{C}$), iniciando-se a contagem do tempo de cocção. Após 10 minutos de cocção, a cada minuto foram verificados 10 grãos amassando-os em placas de vidro. Quando 90% dos grãos não apresentaram o hilo branco no centro do grão a amostra foi considerada cozida e o tempo de cocção foi registrado em minutos.

Para a análise de dureza, os grãos foram cozidos em excesso de água (10g em 250mL de água), de acordo com o tempo previamente determinado. Ao final da cocção a água foi retirada e os grãos, ainda quentes, utilizados no teste.

A dureza dos grãos cozidos foi determinada através de método instrumental, utilizando um analisador de textura (TA.XTplus, Stable Micro System Corp., UK), onde os grãos foram colocados no centro da base plana de alumínio limpa e utilizando-se uma célula de carga máxima de 5kg (PARK et al., 2001) e força compressão de dois ciclos de tempo para comprimir as amostras até 90% da espessura original de grão cozido, retornar à sua posição original e novamente comprimir (MEULLENET et al., 1997). Foram realizadas quinze determinações por tratamento e o resultado expresso pela média das determinações.

5.6 Quantificação de compostos fenólicos totais

5.6.1 Extração de compostos fenólicos livres e complexados

A extração de fenólicos livres e complexados foi realizada de acordo com o método descrito por Ziegler et al. (2017), com pequenas modificações. Para compostos fenólicos livres, 1g de farinha de arroz integral foi extraída três vezes (10mL de cada vez) com solução de acetona/água (70:30v/v), homogeneizada e mantida sob agitação mecânica em um agitador mecânico horizontal por 1h a 150rpm. Após cada extração, a mistura foi centrifugada a 1430xg (Eppendorf 5430-R, Eppendorf AG, Alemanha) durante 5min. Os sobrenadantes foram combinados e utilizados como extratos brutos para quantificação e identificação de compostos fenólicos livres.

O resíduo sólido obtido da extração fenólica livre foi lavado com água destilada, filtrado e deixado secar até completa evaporação do solvente, sendo utilizado para extração fenólica ligada. O resíduo seco foi sujeito a hidrólise enzimática e alcalina. Após hidrólise, o pH da solução foi ajustado para 1,5-2,0 com HCl 6M e depois extraído três vezes com 20mL de acetato de etila. As frações de acetato de etila foram combinadas e evaporadas até secar e ressuspensas em 25mL de solução de acetona/água (70:30v/v), constituindo o extrato de fenólicos complexados.

5.6.2 Quantificação de compostos fenólicos totais em extratos de compostos fenólicos livres e complexados

Os compostos fenólicos totais nos extratos fenólicos livres e complexados foram determinados pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965). Para determinar o conteúdo livre de fenólicos, foram utilizados 25µL de extrato e 475µL de água destilada. Para quantificação de fenólicos complexados, foram utilizados 100µL de extrato e 400µL de água destilada. Em seguida, foram adicionados 250µL de reagente de Folin-Ciocalteu 1N e 1250µL de carbonato de sódio a 7,5%. A mistura foi mantida na ausência de luz durante 120min e depois a absorbância foi medida a 725nm (UVmini-1240, Shimadzu, Japão). Uma curva de calibração foi preparada utilizando padrão puro de ácido gálico (Figura 13). Os resultados foram expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (GAE) por 1g de arroz preto com base no peso seco.

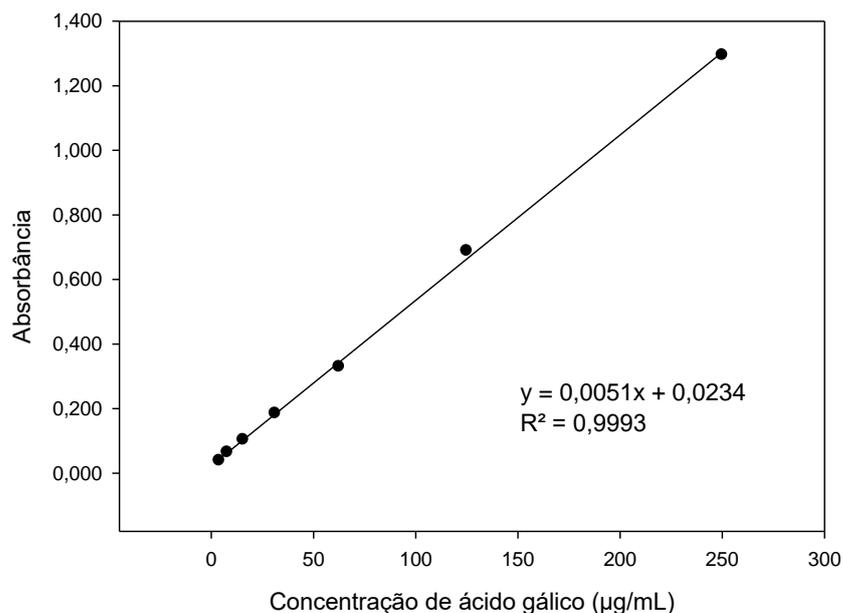


Figura 13 - Gráfico e equação de calibração obtida com ácido gálico para determinar o teor de compostos fenólicos.

5.7 Extração e quantificação de antocianinas totais

A extração das antocianinas foi realizada de acordo com o método descrito por Abdel-Aal e Hucl (2003), onde 500mg de arroz integral moído foram homogeneizados com 5mL de metanol acidificado (85% de metanol: 15% de HCl 1N) em um agitador orbital a 150rpm durante 30min. A mistura foi centrifugada (K14-0815B, Kasvi, Brasil) a 1880xg por 15min. O processo de extração foi repetido duas vezes e os sobrenadantes foram combinados.

Para quantificação de antocianinas, o sobrenadante foi filtrado e a leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 525nm.

5.8 Atividade antioxidante

A determinação da atividade antioxidante se deu por métodos colorimétricos, baseados na captura dos radicais ABTS – 2,2-azinobis,3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (Figura 14A) (RE et al., 1999) e DPPH – 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (Figura 14B) (BRAND-WILLIAMS et al., 1995), utilizando os extratos de compostos fenólicos livres e complexados extraídos conforme item 5.6.1.

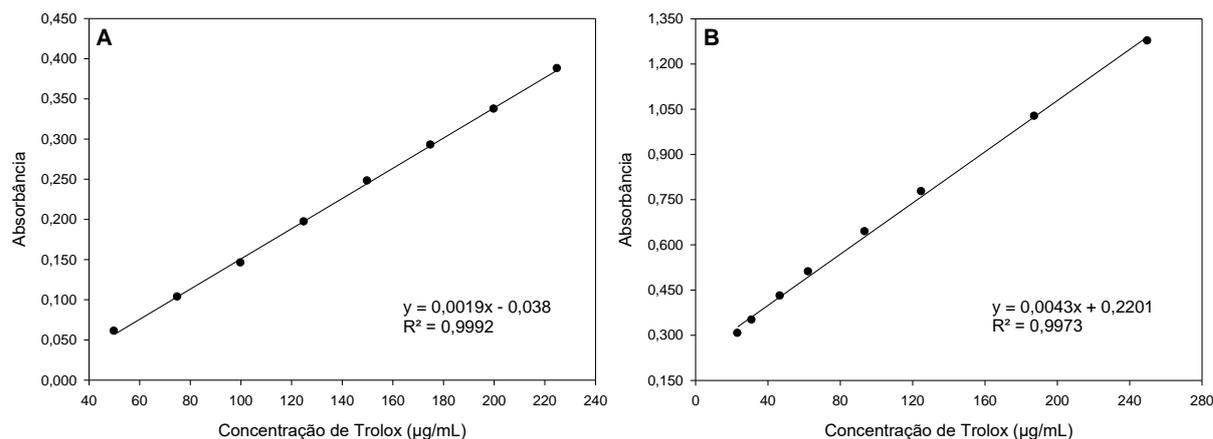


Figura 14 - Gráficos e equações de calibração para atividade antioxidante frente ao radical ABTS (A) e DPPH (B).

5.9 Identificação e quantificação de ácidos fenólicos, flavonoides e antocianinas individuais

Os mesmos extratos preparados para determinar o teor de compostos fenólicos livres e ligados e o teor de antocianinas (previamente diluído para a concentração de $200\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de acetonitrila) foram utilizados para a análise por LC-ESI-QToF-MS.

As amostras foram filtradas através de um filtro de membrana de nylon de $0,22\mu\text{m}$ (Merck Millipore Corporation, Darmstadt, Hesse, Alemanha). A análise LC-ESI-QToF-MS foi realizada num sistema Prominence UFLC (Shimadzu, Japão) acoplado a um espectrômetro de massa de tempo de voo quadrupolo (Impact HD, Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). Os compostos fenólicos e as antocianinas foram separados usando uma coluna Luna C18 ($2,0 \times 150 \text{ mm}$, 100\AA , tamanho de partícula $3\mu\text{m}$) (Phenomenex Inc., Torrance, CA, EUA).

As condições de cromatografia e espectrometria de massas foram utilizadas de acordo com Ziegler et al. (2017), utilizando ácido fórmico 0,01% como solvente A e acetonitrila como solvente B, nas fases móveis, o gradiente de eluição de: 0-2min, 10% de B; 2-10min, 10-75% de B; 10-15min, 75% de B; 15-18min, 75-90% de B; 18-21min, 90% de B; 21-23min, 90-10% de B; 23-30min, 10% de B; com um fluxo de $0,2\text{mL}/\text{min}$; e o volume de injeção de $10\mu\text{L}$.

Os parâmetros para a análise de MS foram criados usando o modo negativo (ácidos fenólicos e flavonoides) e positivo (antocianinas) com espectros na faixa de

massa (m/z) de 50 a 1200. Os parâmetros foram: tensão capilar, 4,0kV; temperatura do gás de secagem, 180°C; fluxo de gás de secagem, 8L.min⁻¹; pressão do gás de nebulização, 2bar; colisão, RF, 150vpp; tempo de transferência de 70µs, e armazenamento pré-pulso de 5µs. Além disso, os ensaios automáticos de MS/MS foram realizados ajustando os valores de energia de colisão da seguinte maneira: m/z 100, 15eV; m/z 500, 35eV; m/z 1000, 50eV, utilizando gás nitrogênio como gás de colisão (Ziegler et al., 2017). Os dados de MS foram processados através do software Data Analysis 4.0 (Bruker Daltonics, Bremen, Germany).

Para quantificação de ácidos fenólicos e flavonóides, foi elaborada uma curva de calibração para cada padrão disponível (39 - 5000ng/mL) e as equações utilizadas estão apresentadas na tabela 1. Os íons monitorados foram ácido hidroxibenzóico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico, ácido vanílico, hesperetina, kaempferol, quercetina e rutina (Figuras 15 e 16). A quantificação de quercetina-3-O-glicosídeo foi realizada através da curva de calibração da quercetina.

Tabela 1 - Íons monitorados em espectrometria de massas

Composto	Fórmula molecular	m/z	Tempo de retenção (min)	Equação	R ²
Ácido hidroxibenzóico	C ₇ H ₆ O ₃	137,0233	8,1	$y = 42,70x + 92,15$	0,9988
Ácido cafeico	C ₉ H ₈ O ₄	179,0338	8,5	$y = 211,10x - 4140,96$	1,0000
Ácido ferúlico	C ₁₀ H ₁₀ O ₄	193,0495	9,6	$y = 55,45x - 1971,50$	0,9999
Ácido <i>p</i> -cumárico	C ₉ H ₈ O ₃	163,0390	9,6	$y = 116,55x + 286,01$	0,9998
Ácido vanílico	C ₈ H ₈ O ₄	167,0339	8,6	$y = 16,89x + 80,88$	0,9999
Hesperetina	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	301,0707	11,5	$y = 441,26x + 13692,00$	0,9980
Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	285,0393	10,8	$y = 907,02x - 2899,60$	0,9992
Quercetina	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301,0343	10,7	$y = 248,75x - 1910,9$	0,9995
Rutina	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	609,145	8,8	$y = 177,40x + 731,41$	0,9998
Quercetina-3-O-glicosídeo	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463,0925	9,1	$y = 248,75x - 1910,9$	0,9995

O teor de antocianinas foi determinado de forma semi-quantitativa com base na reserpina (padrão interno) adicionada a cada amostra (concentração final 10µg.mL⁻¹). Os íons monitorados foram: cianidina-3-O-glicosídeo ([M+H]⁺ m/z 449,1112) (Figura 17A) e peonidina-3-O-glicosídeo ([M+H]⁺ m/z 463,1240) (Figura 17B).

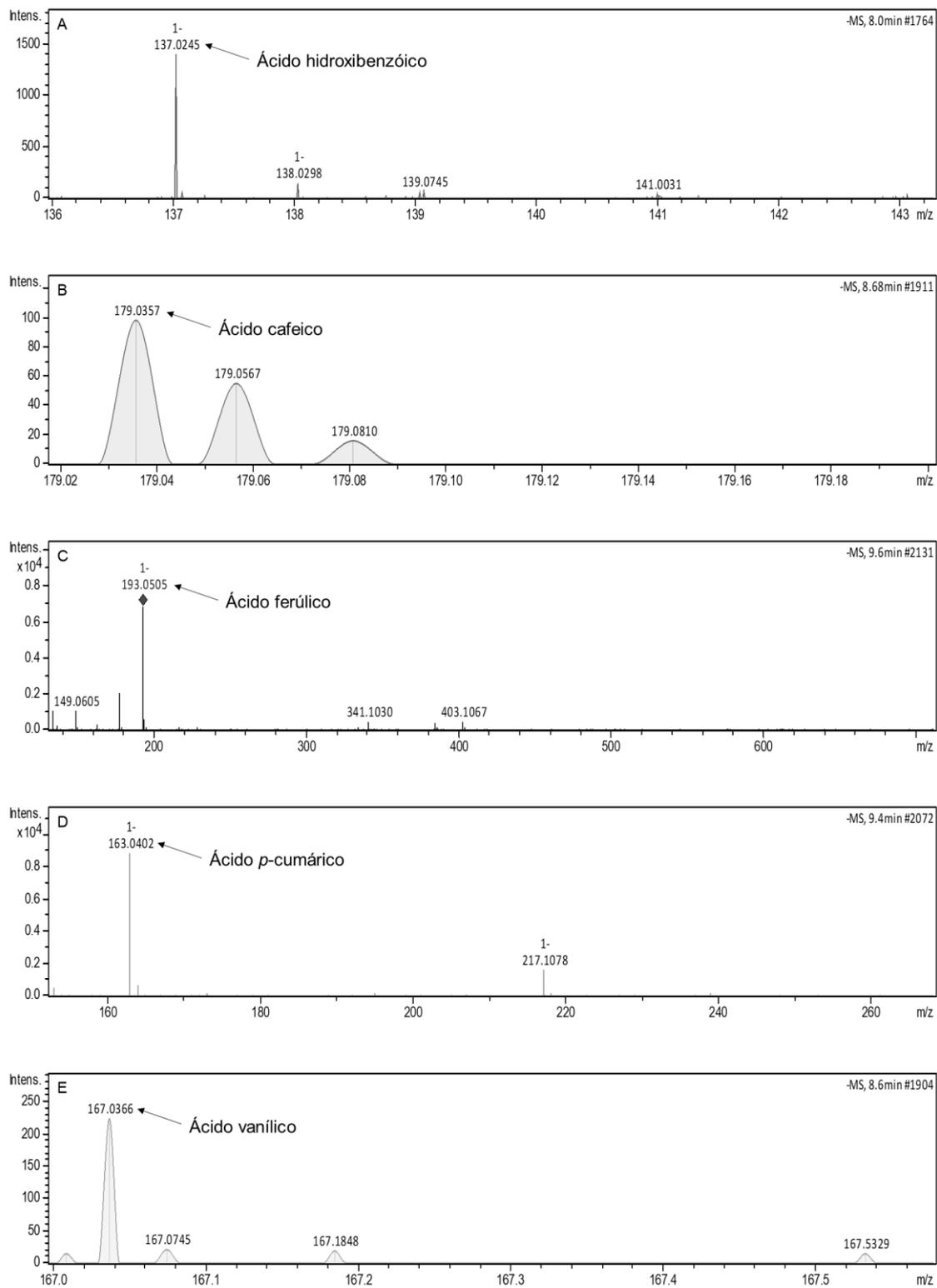


Figura 15 - Espectros de massas dos ácidos fenólicos monitorados.

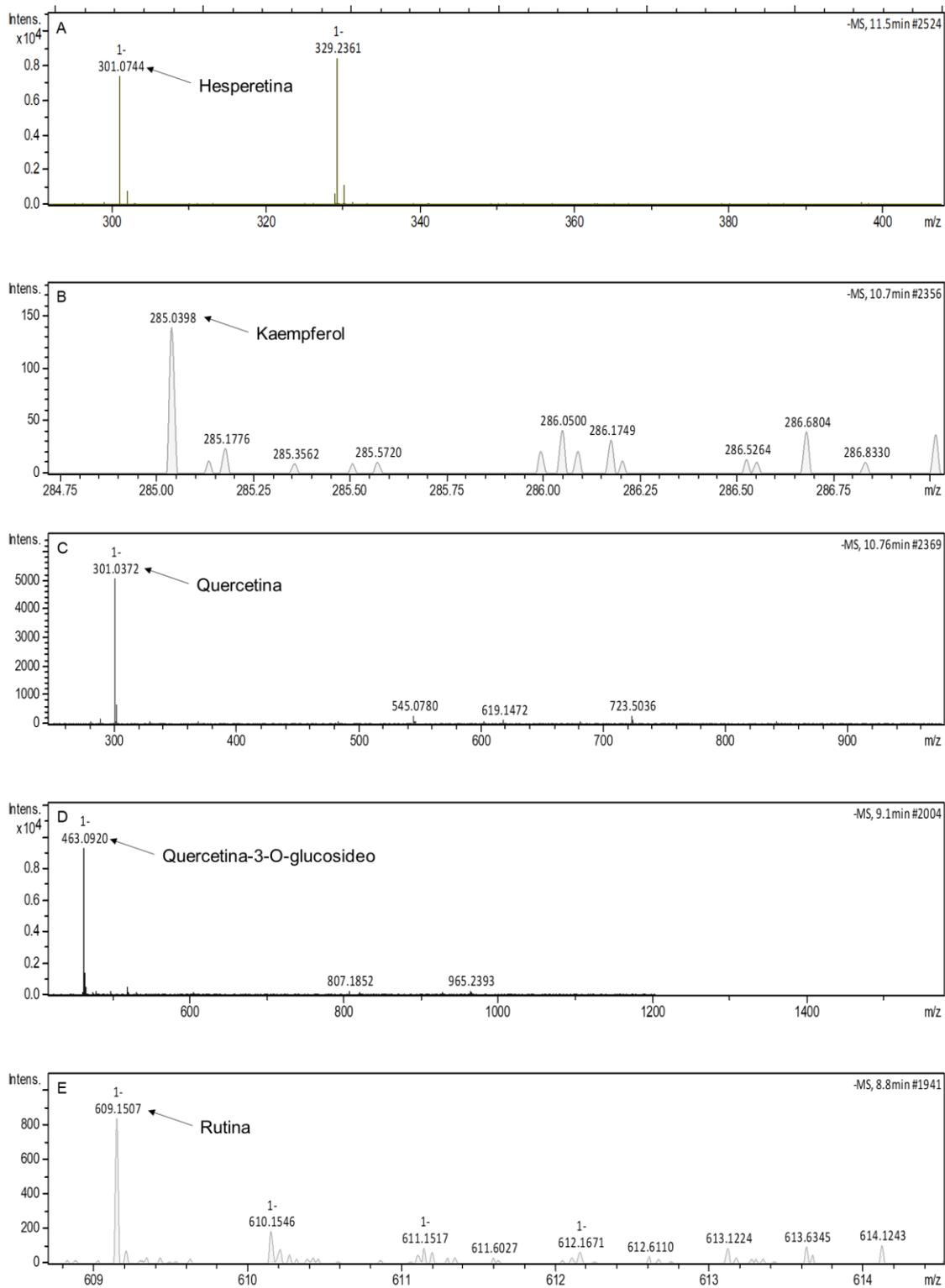


Figura 16 - Espectros de massas dos flavonoides monitorados.

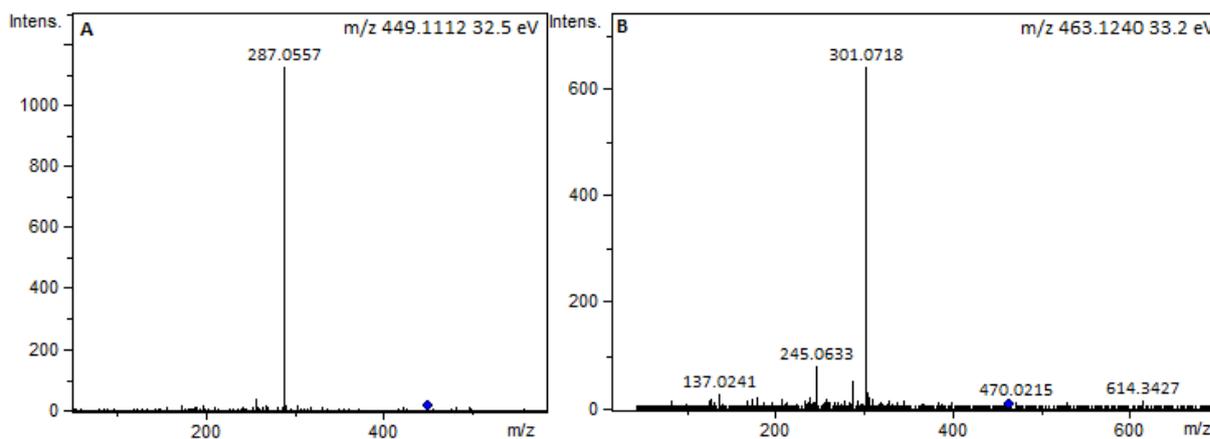


Figura 17 - Espectro de massa (MS / MS) da fragmentação de cianidina-3-O-glicosídeo (A) e peonidina-3-O-glicosídeo (B).

5.10 Análise estatística

Todas as análises foram realizadas em triplicata e os desvios padrão foram apresentados. Os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA, $P < 0,05$) e no caso de efeitos de significância de origem geográfica (localização) foram comparados pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) e os efeitos de genótipo foram determinados pelo teste t ($P < 0,05$).

Para as análises multivariadas, foi utilizado uma matriz de dados com os 12 compostos fenólicos identificados e a concentração de cada composto ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$). Para explorar o conjunto de dados multidimensionais de metabólitos, tanto a análise não-supervisionada de componentes principais (PCA) como a análise discriminante por quadrados mínimos parciais (PLS-DA) foram utilizados após uma análise de variância (ANOVA, $P < 0,05$). Os compostos que apresentaram valor de importância da variável na projeção (VIP) superiores a 1,0 foram selecionados como os mais discriminantes. As análises multivariadas foram realizadas no software MetaboAnalyst versão 3.6 (XIA; WISHART, 2016).

6 Resultados e discussão

6.1 Características físicas do arroz

As características físicas dos genótipos AE 153045 e IAC 600 das diferentes origens geográficas estão apresentadas na tabela 2. Independentemente da origem geográfica, o maior peso de mil grãos (PMG) foi observado nos grãos do genótipo IAC 600, com exceção do local CPL. O genótipo AE 153045 cultivado no local GUA exibiu o menor ($P < 0,05$) PMG de 13,8g.

Estudos realizados por Thitisaksakul, Jiménez e Arias (2012), Kaneko et al. (2016) e Nakata et al. (2017), utilizando técnicas de transcriptômica, proteômica e glicômica, mostraram que altas temperaturas durante o amadurecimento do arroz afetam a síntese e o acúmulo de amido, interferindo nas dimensões do arroz. Essa condição também afeta a ocorrência de gessamento e impacta diretamente no PMG. A temperatura média no local GUA durante os meses de janeiro e fevereiro (Figura 10) foi a mais alta (em torno de 28°C), corroborando os estudos de Thitisaksakul et al. (2012), Kaneko et al. (2016) e Nakata et al. (2017), que afirmaram que temperaturas mais altas podem impactar negativamente no acúmulo de amido e, por conseguinte, no PMG. É importante notar que esse comportamento foi observado apenas para o genótipo AE 153045, indicando sua maior suscetibilidade à temperatura no local de cultivo durante o estágio de maturação.

O genótipo AE 153045 cultivado em SVP foi definido como classe longo fino, enquanto grãos de todos os outros locais foram enquadrados na classe de grãos médios. A causa exata dessa resposta não foi elucidada, mas acredita-se que mudança na classe do genótipo AE 153045 possa estar relacionada a maior porcentagem de grãos que apresentam de 1-89% de área gessada (Tabela 2).

O genótipo AE 153045 foi mais sensível à ocorrência de gessamento, uma vez que valores mais baixos ($P < 0,05$) de grãos com 0% de gessamento foram observados para este genótipo, comparados ao IAC 600, independentemente da origem geográfica. Além disso, a maior porcentagem de grãos exibindo 90-100% de área de gesso do genótipo AE 153045 cultivado em GUA (14,3g) está relacionada ao seu baixo PMG.

Tabela 2 - Características físicas dos genótipos de arroz preto obtidos de diferentes locais de cultivo

Amostras ¹	PMG (g) ²		Classe		Área gessada (%)					
					AE 153045			IAC 600		
	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600	0%	1 – 89%	90 – 100%	0%	1 – 89%	90 – 100%
<i>RS</i>										
ALG	15,7±0,3 a*	17,5±0,2 a	Médio	Médio	30,1±0,9 a*	58,8±1,1 c*	10,6±0,5 b*	86,0±1,2 a	12,1±1,2 c	1,8±0,4 a
CPL	16,2±0,3 a ^{ns}	16,4±0,2 c	Médio	Médio	31,2±1,4 a*	61,4±1,5 c*	6,1±0,3 c*	78,9±2,2 c	21,4±1,8 a	0,5±0,2 b
SVP	15,2±0,3 b*	17,1±0,3 ab	Longo fino	Médio	21,6±0,6 d*	70,6±1,1 a*	6,6±0,5 c*	81,1±2,6 bc	17,0±2,5 b	2,0±0,4 a
<i>SP</i>										
GUA	13,8±0,7 c*	17,1±0,4 ab	Médio	Médio	25,3±1,1 c*	60,0±0,8 c*	14,3±0,9 a*	85,0±1,1 ab	13,8±1,0 bc	1,4±0,2 ab
ROS	15,2±0,1 b*	16,9±0,2 bc	Médio	Médio	28,6±0,9 ab*	64,3±0,8 b*	6,5±1,1 c*	81,3±1,5 bc	17,1±0,8 b	2,3±0,6 a
TBT	15,2±0,1 b*	17,6±0,4 a	Médio	Médio	26,9±0,4 bc*	65,5±0,3 b*	7,5±0,5 c*	78,3±0,7 c	21,7±0,8 a	2,2±0,5 a

¹ RS = arroz cultivado no estado do Rio Grande do Sul. SP = arroz cultivado no estado de São Paulo. ALG = Alegrete. CPL = Capão do Leão. SVP = Santa Vitória do Palmar. GUA = Guaratinguetá. ROS = Roseira. TBT = Taubaté. ² PMG = Peso de mil grãos.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de *Tukey* ($P < 0,05$) entre os locais de cultivo. O símbolo * na mesma linha indica diferença estatística pelo teste-*t* ($P < 0,05$) entre os genótipos, enquanto a abreviatura “ns” significa não significativo.

Em estudo realizado com arroz em Camboja, Concepcion et al. (2018) indicaram que a área gessada é um dos parâmetros que podem ser utilizados para discriminar a origem geográfica do arroz. O gessamento é afetado por fatores genéticos e também ambientais. Fatores genéticos incluem mais de 84 locus de características quantitativas (QTLs) descritos para ocorrência de gessamento no arroz, assim como características da arquitetura da planta, principalmente a alta incidência de ramos de panículas secundárias que podem dificultar o acúmulo de amido em toda a panícula (NEVAME et al., 2018). Quanto aos fatores ambientais, altas temperaturas noturnas são prejudiciais ao acúmulo de amido (LANNING et al., 2011) e ventos quentes e secos são relatados como promotores da transpiração cuticular excessiva da panícula e do aumento do gessamento em forma de anel (MORITA; WADA; MATSUE, 2016). Lanning et al. (2011) relataram que os grãos de arroz longos são mais suscetíveis à opacidade causada por altas temperaturas noturnas do que os grãos de arroz médios.

Essas descobertas dão suporte para o comportamento de gessamento observado no presente estudo. Em primeiro lugar, o gessamento foi maior na linhagem AE 153045, independentemente da localização, sendo um fator genético. Em segundo lugar, o local de SVP resultou em maior teor de grãos com área de 1-89% de gessamento para o arroz AE 153045, que pode ser resultante dos valores de temperaturas máximas mais baixas (Figura 10), que proporcionaram menor taxa de fotossíntese do que os outros locais, bem como devido à alta incidência de vento durante a maturação do arroz em SVP. Para explicações mais aprofundadas, estudos complementares devem ser realizados.

A localização de SVP é bem conhecida no país por abrigar o maior complexo eólico de toda a América Latina (ENGM ENERGIA, 2014). Além disso, no local de SVP, a linhagem AE 153045 apresentou dimensões alteradas de grãos, uma vez que foi classificado como longo fino. A alteração nas dimensões da cariopse pode ter favorecido o gessamento, tomando por base os estudos de Lanning et al. (2011).

6.2 Propriedades químicas do arroz e tempo de cozimento

A determinação da qualidade do arroz envolve fatores como cultura e nichos de mercado (VANIÉR, 2017) e sua avaliação envolve a determinação de características físico-químicas, com base na composição química, na qualidade de cozimento, na temperatura de gelatinização ou nas propriedades físicas do arroz cozido. No entanto, a composição do grão e, conseqüentemente, seu comportamento de cocção, podem sofrer alterações devido a variações ambientais, do solo e do genótipo (ZHOU et al., 2002).

Seguindo a classificação de arroz pelo teor de amilose apresentada por Juliano (1971), que ainda é a classificação de amilose mais utilizada para arroz em todo o mundo, o arroz preto dos genótipos AE 153045 e IAC 600 apresentaram teor intermediário e teor baixo de amilose, respectivamente, independentemente do local de cultivo (Tabela 3).

O teor de amilose aparente, como descrito por Tong et al. (2014), é dependente da cultivar e do ambiente de cultivo. Segundo Thitisaksakul et al. (2012), o arroz de subespécies indica e japônica com baixo teor de amilose apresenta maiores reduções no teor de amilose do que o arroz com alto teor de amilose, quando submetido a altas temperaturas durante o amadurecimento.

No presente estudo, não foram observadas mudanças significativas para o arroz preto IAC 600 com baixo teor de amilose em função do local de cultivo. No entanto, diferenças significativas no teor de amilose foram observadas para o arroz preto da linhagem AE 153045 quando cultivadas em GUA (24,0%) e ROS (20,2%). Tais resultados podem ser devido à diferença entre o ciclo dos materiais, onde o genótipo IAC 600 apresenta cerca de 100 dias de ciclo enquanto o AE 153045 apresenta ciclo com cerca de 30 dias a mais.

Kaneko et al. (2016) estudaram as diferenças no proteoma e glicoma entre o arroz perfeito e o gessado obtido em condição de campo de temperaturas moderada e alta. Os autores relataram que a degradação incomum de amido por α -amilase, em vez de apenas reduzir a síntese de amido, está envolvida na ocorrência de gessamento.

Tabela 3 - Propriedades químicas dos genótipos utilizados no estudo

Amostras ¹	Teor de amilose (%)		Teor de proteína (%)		Teor de lipídeos (%)		Teor de cinzas (%)	
	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600
<i>RS</i>								
ALG	22,0±0,6 ab*	15,3±0,6 a	8,6±0,1 cd*	8,1±0,1 c	2,91±0,20 a ^{ns}	2,68±0,02 ab	1,56±0,03 ab ^{ns}	1,55±0,00 d
CPL	21,7±0,8 ab*	14,2±0,1 a	8,7±0,2 c ^{ns}	8,3±0,1 c	2,79±0,02 a ^{ns}	2,64±0,06 b	1,60±0,05 a*	1,82±0,02 a
SVP	21,0±1,0 ab*	12,8±0,2 a	10,9±0,2 a*	9,4±0,2 ab	2,91±0,11 a ^{ns}	2,89±0,01 ab	1,46±0,01 b ^{ns}	1,51±0,04 d
<i>SP</i>								
GUA	24,0±1,3 a*	14,5±1,6 a	9,1±0,1 b ^{ns}	8,7±0,2 bc	2,98±0,04 a ^{ns}	2,81±0,16 ab	1,54±0,02 ab ^{ns}	1,64±0,03 c
ROS	20,2±0,2 b*	12,8±0,3 a	8,2±0,0 d*	9,7±0,23 a	2,86±0,02 a ^{ns}	2,65±0,22 ab	1,57±0,04 ab*	1,75±0,01 ab
TBT	21,4±0,5 ab*	13,8±0,1 a	8,6±0,0 cd*	7,2±0,0 d	2,88±0,02 a*	3,09±0,00 a	1,56±0,04 ab*	1,73±0,01 b

¹ RS = arroz cultivado no estado do Rio Grande do Sul. SP = arroz cultivado no estado de São Paulo. ALG = Alegrete. CPL = Capão do Leão. SVP = Santa Vitória do Palmar. GUA = Guaratinguetá. ROS = Roseira. TBT = Taubaté.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de *Tukey* ($P < 0,05$) entre os locais de cultivo. O símbolo * na mesma linha indica diferença estatística pelo teste-*t* ($P < 0,05$) entre os genótipos, enquanto a abreviatura “ns” significa não significativo.

Como observado nos resultados de PMG e do teor de grãos com área gessada de 90-100% para o arroz preto AE 153045 cultivado em GUA (Tabela 2), o acúmulo de amido foi reduzido. O elevado teor de amilose aparente deste tratamento sugere alguma extensão da degradação do amido pela α -amilase, contribuindo para um aumento da quantificação da amilose no ensaio de complexação de amilose-iodo.

O teor de proteína é outra característica química afetada pelo genótipo (YU et al., 2010) e por fatores ambientais (WANG et al., 2004), radiação solar e temperatura durante o desenvolvimento do grão (JULIANO; BECHTEL, 1985).

As proteínas presentes no arroz são as glutelinas, em maior quantidade, e as globulinas, albuminas e prolaminas, em menor quantidade (ZHAO et al., 2012). Segundo Lin et al. (2010), altas temperaturas durante o estágio inicial de enchimento de grãos, eleva o acúmulo de glutelinas, prolaminas e globulinas, mas quando ocorrem durante a maturação, reduz o acúmulo de prolaminas. Os autores verificaram também que o acúmulo de prolaminas e globulinas é mais sensível a altas temperaturas do que outras proteínas.

Estas variações no acúmulo de proteínas em função da temperatura durante a maturação dos grãos podem explicar a variação nos teores proteicos encontrados. Para o genótipo AE 153045, o maior teor de proteína de 10,9% ($P < 0,05$) foi observado em SVP (Tabela 3). Resultados semelhantes foram observados para o genótipo IAC 600, onde o maior teor de proteínas foi observado para grãos cultivados em SVP e ROS.

Assim como as proteínas, estudos indicam que ocorrem variações, tanto no teor quanto na composição de ácidos graxos, que podem ser influenciados, principalmente, pela latitude e temperatura durante os estágios de maturação dos grãos (KITTA et al., 2005).

Enquanto alguns ácidos graxos, como ácido linoléico e linolênico, reduzem frente a temperaturas mais elevadas, outros, como os ácidos mirístico, palmítico e oleico, tem seus teores elevados (KITTA et al., 2005).

O teor de lipídeos (Tabela 3) apresentou poucas variações, tanto entre os genótipos quanto entre os locais de produção. Já o teor de cinzas (Tabela 3) foi mais elevado em ambos os genótipos quando cultivados em CPL. Para verificar a influência do ambiente sobre o acúmulo de proteína, lipídeos e cinzas, através da análise de perfil destes compostos, mais estudos são necessários.

O tempo de cocção e a dureza dos grãos cozidos estão apresentados na tabela 4.

O maior tempo de cocção observado para o genótipo AE 153045, variando de 35,8 a 40,8min, dependendo da localização geográfica, pode estar associado ao seu maior teor de amilose aparente (Tabela 3). No entanto, de acordo com o CIAT (1989), o tempo de cocção está mais relacionado a temperatura de gelatinização do que ao teor de amilose, sendo a temperatura de gelatinização reduzida por temperaturas baixas após a floração. Já o teor de amilose tem seu valor reduzido quando ocorrem altas temperaturas durante o amadurecimento dos grãos (CHEN, 2008; THITISAKSAKUL et al., 2012).

Tabela 4 - Tempo de cocção e dureza de grãos cozidos de arroz preto

Amostras ¹	Tempo de cocção (min)		Dureza (N)	
	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600
<i>RS</i>				
ALG	39,1±0,2 b*	29,8±0,7 ab	67,4±7,4 a ^{ns}	71,2±5,3 bc
CPL	40,8±0,4 a*	26,8±0,4 c	66,7±4,0 ab ^{ns}	67,6±5,4 c
SVP	35,8±0,4 c*	28,1±0,1 bc	70,7±6,5 a*	77,3±4,9 ab
<i>SP</i>				
GUA	39,4±0,1 b*	29,3±0,1 ab	60,1±4,4 b*	71,0±8,1 bc
ROS	38,5±0,1 b*	28,9±0,5 ab	69,0±3,7 a*	76,9±6,2 ab
TBT	40,4±0,1 a*	30,0pç±0,7 a	66,7±4,7 ab*	80,9±4,0 a

¹ RS = arroz cultivado no estado do Rio Grande do Sul. SP = arroz cultivado no estado de São Paulo. ALG = Alegrete. CPL = Capão do Leão. SVP = Santa Vitória do Palmar. GUA = Guaratinguetá. ROS = Roseira. TBT = Taubaté.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) entre os locais de cultivo. O símbolo * na mesma linha indica diferença estatística pelo teste- t ($P < 0,05$) entre os genótipos, enquanto a abreviatura "ns" significa não significativo.

Em contrapartida, um maior teor de proteínas reduz a energia necessária para a gelatinização do amido, uma vez que a proporção de amido será menor (HE et al. 2018). Isto pode explicar o menor tempo de cozimento de 35,8±0,4min, determinado para o arroz preto AE 153045 de SVP, em comparação com os outros, uma vez que o maior teor de proteínas de 10,9±0,2% foi determinado para este tratamento (Tabela 3).

Outro fator que influencia o baixo tempo de cocção do arroz preto AE 153045 cultivado em SVP é a elevada percentagem de grãos que apresentam gessamento em área de 1-89% da área do grão (Tabela 2). A área opaca pode favorecer a entrada

de água no endosperma, permitindo uma transferência de calor mais rápida e fácil para a ruptura de duplas hélices de amilopectina (LANG et al., 2012).

Já a textura dos grãos após a cocção é influenciada pelo teor de amilose, pela estrutura molecular da amilopectina (ONG; BLANSHARD, 1995), pela consistência de gel e pela temperatura de gelatinização, que, por sua vez, variam em função da estrutura de amilopectina (FITZGERALD et al., 2009). Li et al. (2016) demonstraram que a textura firme após a cocção está principalmente relacionada com a proporção de moléculas de amilose de cadeias longas, independente do teor de amilose.

O CIAT (1989) também demonstrou que o teor de lipídeos resulta em um gel com consistência mais dura, devido a formação de um complexo de ácidos graxos-amilose. Devido a estes fatores é possível que os grãos que apresentam um teor menor de lipídeos, com é o caso do genótipo AE 153045 produzidos em CPL, apresentem menor dureza.

6.3 Teor de compostos fenólicos

O teor de compostos fenólicos totais, bem como de fenólicos presentes nas formas livre e complexada estão apresentados nas Figuras 18, 19 e 20, respectivamente.

O conteúdo total de fenólicos (Figura 18) foi maior no genótipo IAC 600 do que no genótipo AE 153045, exceto pela localização de GUA. O teor de compostos fenólicos totais (de 6,18 a 12,85mg.g⁻¹, dependendo do genótipo e localização) é similar ao conteúdo fenólico relatado por Sumczynski et al. (2016).

Em geral, fenólicos livres e complexados representaram 74% e 26% da quantidade total de compostos fenólicos, respectivamente.

Zhou, Chen, Zhang e Blanchard (2014) relataram que 65% dos fenólicos encontrados em arroz marrom escuro da China estavam disponíveis como fenólicos livres, enquanto 35% estavam disponíveis na forma complexada.

Paiva et al. (2014), usando o genótipo de arroz preto IAC 600, relataram que 86% dos fenólicos quantificados estavam disponíveis como fenólicos livres, enquanto os 14% complementares estavam disponíveis como fenólicos complexados.

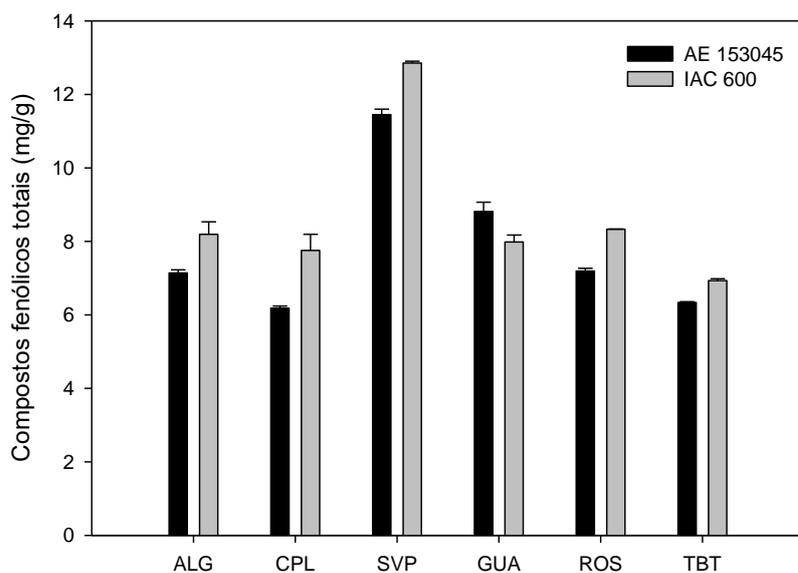


Figura 18 - Teor de compostos fenólicos totais obtidos dos genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 produzidos em diferentes locais.

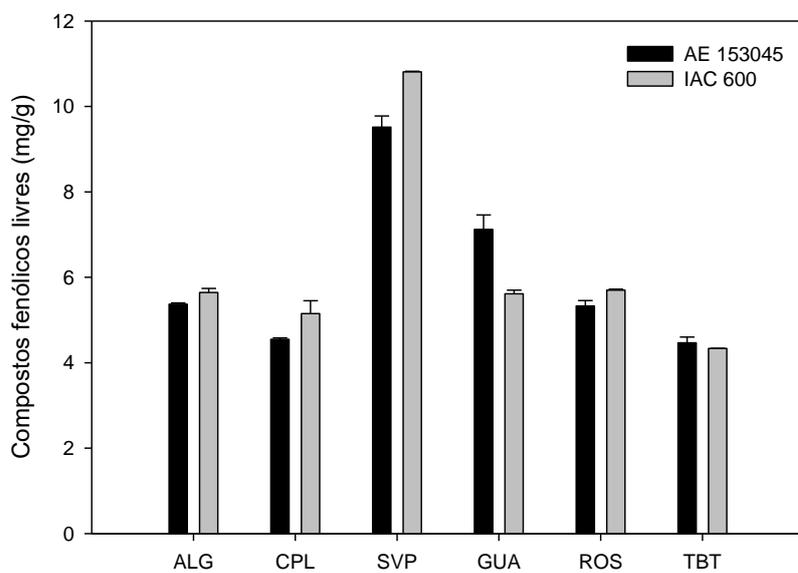


Figura 19 - Teor de compostos fenólicos livres obtidos dos genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 produzidos em diferentes locais.

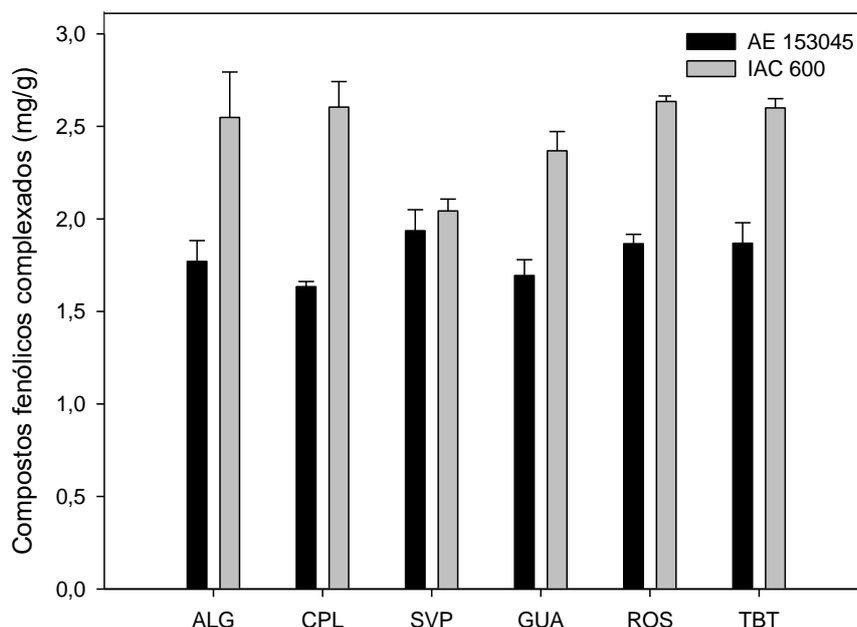


Figura 20 - Teor de compostos fenólicos complexados obtidos dos genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 produzidos em diferentes locais.

Em relação aos locais, o extrato de fenólicos livres dos genótipos de arroz preto cultivados em SVP apresentou quase o dobro do valor fenólico do que os outros locais (Figura 19). Não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) entre os locais e genótipos para fenólicos complexados (Figura 20).

A qualidade da luz e a duração da radiação foram detalhadas por Jaakola e Hohtola (2010) como fatores de grande influência na biossíntese de fenólicos. Os autores afirmaram que as condições de crescimento em diferentes latitudes variam acentuadamente com a duração do dia, a qualidade da luz e a temperatura.

Nesse sentido, o maior teor de compostos fenólicos do arroz cultivado em SVP é provavelmente resultado da maior latitude deste local em comparação com os outros. As latitudes dos locais estudados são: 22° 02'05"S para TBT; 22° 48'59"S para GUA; 22° 30'11"S para ROS; 29° 79'06"S para ALG; 31° 76'75"S para CPL; e 33° 52'16"S para SVP.

6.4 Teor de antocianinas

As antocianinas são compostos fenólicos pertencentes à classe dos flavonoides, presentes em maior abundância em grãos de pericarpo preto (MIN; MCCLUNG; CHEN, 2011; PITIJA et al., 2012).

Os teores de antocianinas encontrados (Figura 21), são semelhantes aos verificados na literatura (GOUFO; TRINDADE, 2014a).

As antocianinas apresentaram o mesmo comportamento relatado anteriormente para os compostos fenólicos totais (Figura 18), onde os grãos de ambos os genótipos (AE 153045 e IAC 600) cultivados em SVP apresentaram quantidades muito mais elevadas ($519,20$ e $569,67\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) do que as produzidas nos demais locais. Já as amostras cultivadas em TBT apresentaram os menores valores ($186,38$ e $189,13\text{mg}\cdot 100\text{g}^{-1}$) entre os locais. De acordo com Jaakola et al. (2010), especialmente o acúmulo de antocianinas é favorecido por maiores períodos de dias e períodos de radiação.

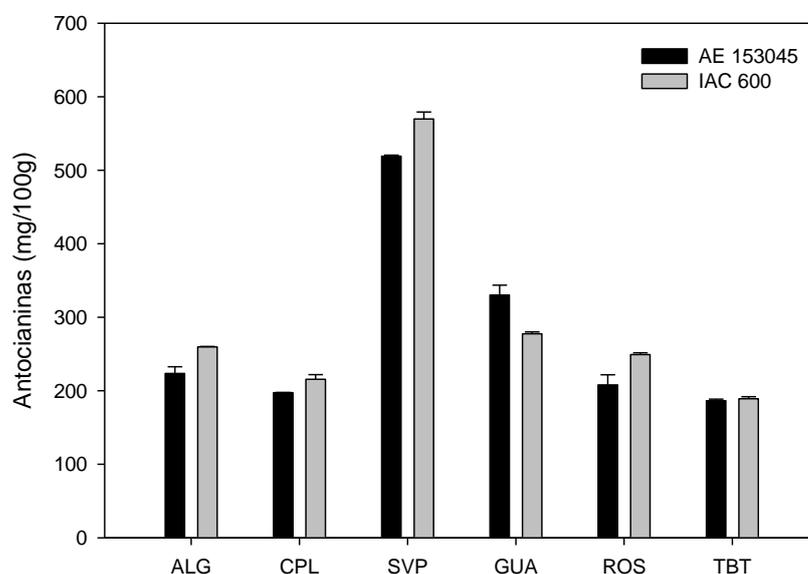


Figura 21 - Teor de antocianinas dos genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 produzidos em diferentes locais.

6.5 Atividade antioxidante aparente (ABTS e DPPH)

Os compostos fenólicos apresentam alta capacidade antioxidante (HU et al., 2003; GOFFMAN; BERGMAN; 2004; SHEN et al, 2009; ZHOU et al, 2014; SHAO et al, 2018). Os métodos de captura dos radicais 2,2-azinobis,3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico (ABTS) e 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) são amplamente utilizados para se determinar o potencial antioxidante aparente de alimentos (CRIZEL, 2017).

Nas figuras 22 e 23 estão apresentados os resultados de capacidade antioxidante aparente frente aos radicais ABTS e DPPH, dos compostos fenólicos livres (Figura 22) e complexados (Figura 23).

A capacidade antioxidante aparente por ABTS (Figura 22A) apresentou tendência similar aos compostos fenólicos, apresentando, na fração livre, maior capacidade antioxidante em amostras cultivadas em SVP, de 123,1 e 169,9 mg/100g trolox g (AE 153045 e IAC 600, respectivamente), que contém maiores teores de fenólicos livres (Figura 19).

Quanto ao radical DPPH (Figura 22B), esta tendência foi observada apenas para o genótipo AE 153045, e os valores encontrados foram menores do que pela avaliação por ABTS, corroborando com resultados encontrados por Choi et al. (2007).

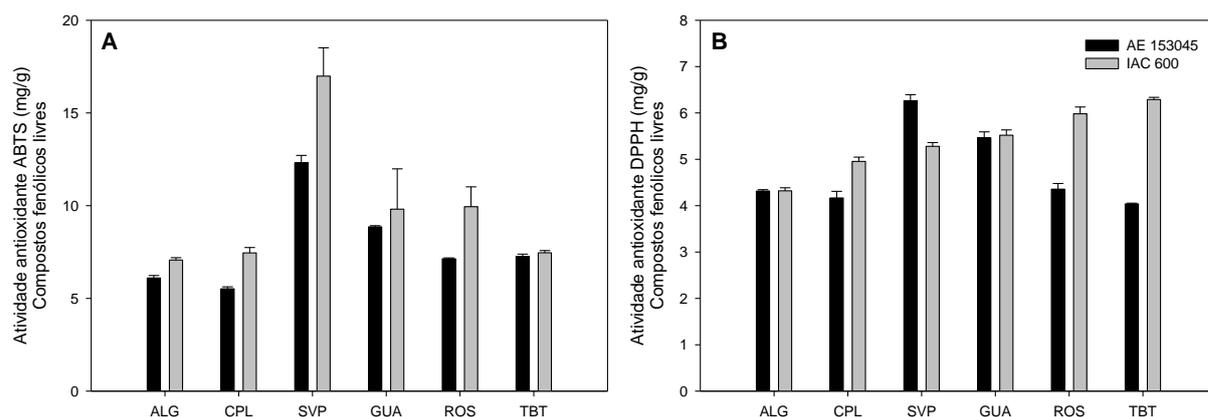


Figura 22 - Atividade antioxidante de compostos fenólicos livres frente aos radicais ABTS (A) e DPPH (B).

A capacidade antioxidante aparente dos compostos fenólicos complexados (Figura 23), apresentou tendência semelhante frente aos dois radicais e menor quando comparada ao fenólicos livres (Figura 22), por apresentarem um menor teor de compostos fenólicos nesta fração (Figura 20). Resultados semelhantes foram encontrados por Huang e Lai (2016) e Shao et al. (2018).

Huang e Lai (2016) também descreveram que a atividade antioxidante aparente da fração livre do farelo de arroz preto foi atribuída às antocianinas e no farelo de arroz vermelho às proantocianidinas, enquanto que a da fração complexada foi principalmente devida aos ácidos fenólicos. Este resultado dá suporte a argumentação de que a maior atividade antioxidante ocorre no genótipo IAC 600 cultivado em SVP porquê este apresenta maior teor de antocianinas do que os demais (Figura 21).

Além disso, comportamentos distintos entre as amostras podem se dar devido ao perfil de compostos fenólicos e de antocianinas (Tabelas 6, 7, 8 e 9), já que estes compostos apresentam diferenças na capacidade antioxidante. Ainda, determinados compostos influenciam esta capacidade antioxidante nas diferentes frações de fenólicos. Segundo Shao et al. (2018), os ácidos protocatecuico, vanílico, síringico e ferúlico foram associados com atividade antioxidante na fração solúvel, enquanto o ácido protocatecuico e ferúlico foram correlacionados com a da fração complexada.

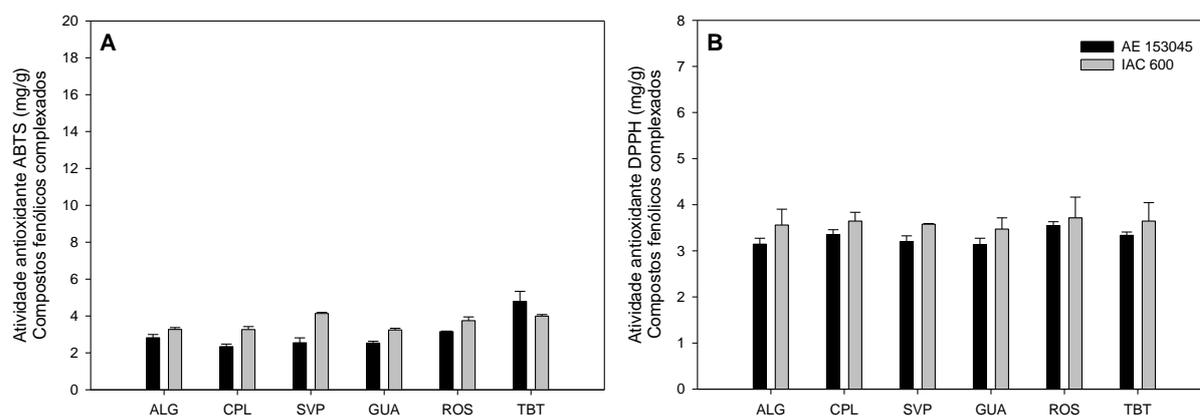


Figura 23 - Atividade antioxidante de compostos fenólicos complexados frente ao radical ABTS (A) e DPPH (B).

6.6 Perfil colorimétrico

Os resultados obtidos através da utilização do colorímetro estão apresentados na Tabela 5, onde o valor L^* expressa a luminosidade da amostra, variando de 0 (preto) a 100 (branco), o valor a^* expressa a variação de cor do verde (-) ao vermelho (+) e o valor b^* a variação de cor do azul (-) ao amarelo (+).

Além da variação genotípica, os valores de L^* , a^* e b^* são correlacionados com os teores de fenólicos, antocianinas e capacidade antioxidante (SHEN, 2009; ZHANG et al, 2015; SHAO et al., 2018), o que explica os menores valores de L^* , do genótipo IAC 600, e os valores a^* e b^* , de ambos os genótipos, cultivados em SVP, já que estes possuem teores mais elevados de fenólicos (Figura 18), antocianinas (Figura 21) e capacidade antioxidante (Figuras 22 e 23).

Tabela 5 - Perfil colorimétrico dos grãos de arroz preto de diferentes origens geográficas

Amostra ¹	L		a*		b*	
	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600
<i>RS</i>						
ALG	23,50±1,15 a ^{ns}	22,94±1,71 bc	2,77±0,96 a*	1,03±0,38 cd	5,01±0,91 a*	3,98±1,1 bc
CPL	23,63±2,22 a ^{ns}	22,92±2,69 bc	2,67±1,11 a*	1,74±0,94 bc	4,81±1,01 a ^{ns}	4,28±1,06 b
SVP	22,32±0,97 a*	21,06±1,17 c	-0,04±0,40 b ^{ns}	0,25±0,51 d	2,75±0,30 c*	3,00±0,21 c
<i>SP</i>						
GUA	22,07±2,01 a ^{ns}	22,81±1,04 bc	2,08±1,09 a ^{ns}	1,64±0,65 bc	3,73±0,67 b ^{ns}	3,78±0,44 bc
ROS	22,80±2,13 a ^{ns}	23,96±2,02 b	2,9±1,00 a ^{ns}	2,24±0,97 b	4,61±0,97 a ^{ns}	4,76±1,26 b
TBT	23,82±1,56 a*	26,04±2,18 a	2,59±0,80 a*	3,97±0,99 a	4,63±0,69 a*	6,14±1,80 a

¹ RS = arroz cultivado no estado do Rio Grande do Sul. SP = arroz cultivado no estado de São Paulo. ALG = Alegrete. CPL = Capão do Leão. SVP = Santa Vitória do Palmar. GUA = Guaratinguetá. ROS = Roseira. TBT = Taubaté.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) entre os locais de cultivo. O símbolo * na mesma linha indica diferença estatística pelo teste- t ($P < 0,05$) entre os genótipos, enquanto a abreviatura “ns” significa não significativo.

6.7 Perfil de fenólicos em função do genótipo e do local de cultivo

A composição fenólica foi afetada tanto pelo genótipo quanto pelo local de cultivo (Tabelas 6, 7, 8 e 9).

Nos extratos da fração livre e de antocianinas, os seguintes compostos fenólicos foram identificados e quantificados a partir de amostras para ambos os genótipos: ácido hidroxibenzóico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico, ácido vanílico, kaempferol, quercetina, quercetin-3-O-glicosídeo, cianidina-3-O-glicosídeo, e peonidin-3-O-glicosídeo (Tabelas 6, 7 e 8).

Além dos compostos citados, a rutina também foi identificada para o arroz preto AE 153045, independentemente do local de cultivo, enquanto a hesperetina foi observada em amostras de arroz preto AE 153045 cultivadas em ALG, CPL e SVP (Tabela 7), mostrando-se como importantes compostos diferenciadores.

Na fração complexada, um número menor de compostos foi identificado e quantificado, mas diferentemente da fração livre, todos os compostos estavam presentes em ambos os genótipos e em todos os locais de cultivo. Foram eles: ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido vanílico, ácido hidroxibenzóico e ácido *p*-cumárico (Tabela 9).

Tabela 6 - Teor de ácidos fenólicos livres ($\mu\text{g.g}^{-1}$) em genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 de diferentes locais de cultivo

Amostra ¹	Ácido hidroxibenzóico		Ácido cafeico		Ácido ferúlico		Ácido <i>p</i> -cumárico		Ácido vanílico	
	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600
<i>RS</i>										
ALG	1,4±0,1 b*	1,8±0,2 b	3,6±0,1 b ^{ns}	3,3±0,3 ab	10,4±1,0 a*	8,1±0,2 abc	0,7±0,2 ab*	6,1±1,2 a	21,7±1,6 b*	10,0±0,6 ab
CPL	1,1±0,3 b ^{ns}	1,1±0,2 bc	4,3±0,2 a*	3,5±0,0 ab	9,2±0,6 a*	7,9±0,2 abc	0,5±0,1 ab*	2,8±0,1 b	17,4±1,1 c*	8,2±0,6 abc
SVP	2,0±0,2 a*	3,0±0,4 a	2,7±0,1 c*	3,8±0,2 a	10,1±1,8 a ^{ns}	9,2±0,1 a	0,8±0,2 a*	6,2±0,5 a	22,2±1,1 b*	13,4±1,2 a
<i>SP</i>										
GUA	1,4±0,2 b ^{ns}	1,4±1,0 bc	3,0±0,1 c ^{ns}	3,2±0,6 ab	9,3±0,3 a ^{ns}	8,8±2,5 ab	0,7±0,2 ab*	2,4±1,2 b	25,8±1,1 a*	8,5±5,1 abc
ROS	1,4±0,4 b*	0,7±0,2 c	3,8±0,1 b*	3,1±0,2 b	9,0±0,9 a*	6,0±0,7 b	0,6±0,1 ab ^{ns}	1,1±0,6 b	19,3±1,4 bc*	5,0±2,0 bc
TBT	1,4±0,3 b*	0,5±0,3 c	3,9±0,2 b*	2,9±0,2 b	9,3±0,7 a*	6,6±0,5 bc	0,4±0,1 b*	1,3±0,4 b	18,2±1,6 c*	3,4±1,1 c

¹ RS = arroz cultivado no estado do Rio Grande do Sul. SP = arroz cultivado no estado de São Paulo. ALG = Alegrete. CPL = Capão do Leão. SVP = Santa Vitória do Palmar. GUA = Guaratinguetá. ROS = Roseira. TBT = Taubaté.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) entre os locais de cultivo. O símbolo * na mesma linha indica diferença estatística pelo teste-*t* ($P < 0,05$) entre os genótipos, enquanto a abreviatura "ns" significa não significativo.

Tabela 7 - Teor de flavonóides livres ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) nos genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 de diferentes locais de cultivo

Amostra ¹	Hesperetina		Kaempferol		Quercetina		Quercetina-3-O-glicosideo		Rutina	
	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600
<i>RS</i>										
ALG	0,7±0,2 b*	ND	0,5±0,0 bc ^{ns}	0,5±0,0 ab	9,1±0,4 d*	7,2±0,1 b	31,1±1,5 b*	2,9±0,1 b	1,0±0,2 c*	ND
CPL	0,4±0,1 b*	ND	0,5±0,0 ab ^{ns}	0,5±0,0 a	9,8±0,3 c*	4,7±0,1 bcd	18,4±0,2 d*	2,2±0,1 bc	0,7±0,1 d*	ND
SVP	8,1±0,2 a*	ND	0,6±0,0 a*	0,5±0,0 a	12,0±0,4 b*	21,3±0,4 a	41,6±0,5 a*	10,8±0,4 a	2,8±0,2 a*	ND
<i>SP</i>										
GUA	ND	ND	0,5±0,0 c*	0,4±0,0 b	13,0±0,3 a*	5,6±2,9 bc	42,0±0,8 a*	2,5±0,7 b	1,8±0,1 b*	ND
ROS	ND	ND	0,6±0,0 a*	0,5±0,0 b	10,5±0,1 c*	3,0±0,8 cd	21,2±0,5 c*	1,5±0,1 c	0,8±0,0 cd*	ND
TBT	ND	ND	0,5±0,0 ab*	0,4±0,0 b	9,9±0,3 c*	2,4±0,5 d	19,4±0,3 d*	1,5±0,1 c	0,7±0,1 d*	ND

¹ RS = arroz cultivado no estado do Rio Grande do Sul. SP = arroz cultivado no estado de São Paulo. ALG = Alegrete. CPL = Capão do Leão. SVP = Santa Vitória do Palmar. GUA = Guaratinguetá. ROS = Roseira. TBT = Taubaté.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) entre os locais de cultivo. O símbolo * na mesma linha indica diferença estatística pelo teste- t ($P < 0,05$) entre os genótipos, enquanto a abreviatura "ns" significa não significativo. ND = não detectado.

Tabela 8 - Teor de antocianinas (mg.g⁻¹) nos genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 de diferentes locais de cultivo

Amostra ¹	Cianidina-3-O-glicosídeo		Peonidina-3-O-glicosídeo	
	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600
<i>RS</i>				
ALG	0,2±0,0 c ^{ns}	0,2±0,0 b	0,10±0,0 c*	0,02±0,0 b
CPL	0,1±0,0 cd*	0,2±0,0 b	0,04±0,0 d*	0,02±0,0 b
SVP	0,6±0,0 a*	1,3±0,1 a	0,30±0,0 a*	0,10±0,0 a
<i>SP</i>				
GUA	0,3±0,0 b ^{ns}	0,2±0,0 b	0,10±0,0 b*	0,02±0,0 b
ROS	0,1±0,0 d*	0,2±0,0 b	0,03±0,0 d*	0,02±0,0 b
TBT	0,1±0,0 d ^{ns}	0,1±0,0 b	0,03±0,0 d*	0,02±0,0 b

¹ RS = arroz cultivado no estado do Rio Grande do Sul. SP = arroz cultivado no estado de São Paulo. ALG = Alegrete. CPL = Capão do Leão. SVP = Santa Vitória do Palmar. GUA = Guaratinguetá. ROS = Roseira. TBT = Taubaté.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) entre os locais de cultivo. O símbolo * na mesma linha indica diferença estatística pelo teste- t ($P < 0,05$) entre os genótipos, enquanto a abreviatura "ns" significa não significativo.

Tabela 9 - Teor de ácidos fenólicos complexados ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) em genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 de diferentes locais de cultivo

Amostra ¹	Ácido hidroxibenzóico		Ácido ferúlico		Ácido <i>p</i> -cumárico		Ácido vanílico	
	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600	AE 153045	IAC 600
<i>RS</i>								
ALG	15,54±1,11 a ^{ns}	16,43±2,32 a	1,53±0,17 a ^{ns}	110,18±4,58 c	10,58±1,47 a*	16,90±2,52 b	15,06±1,76 a*	7,60±4,39 a
CPL	14,12±0,90 abc*	19,10±2,42 a	1,51±0,16 a ^{ns}	106,06±16,75 c	12,53±2,01 a*	28,62±7,57 a	14,15±1,31 a*	6,06±0,88 a
SVP	12,38±1,76 bc ^{ns}	16,28±3,54 a	1,14±0,36 a ^{ns}	152,31±19,13 b	11,53±2,78 a*	25,16±7,74 ab	14,40±1,88 a*	5,04±1,19 a
<i>SP</i>								
GUA	11,70±0,65 c*	17,04±1,23 a	1,13±0,04 a*	154,24±3,35 b	10,28±0,66 a*	21,75±0,76 ab	12,16±1,27 a*	5,66±1,02 a
ROS	15,29±2,30 ab*	18,81±0,56 a	1,41±0,15 a*	152,86±4,56 b	11,66±1,54 a*	24,01±1,88 ab	13,59±1,74 a*	6,55±0,24 a
TBT	15,57±0,60 a*	20,80±1,33 a	1,47±0,05 a*	192,02±6,13 a	11,28±1,22 a*	22,05±0,74 ab	12,30±1,03 a*	6,65±0,41 a

¹ RS = arroz cultivado no estado do Rio Grande do Sul. SP = arroz cultivado no estado de São Paulo. ALG = Alegrete. CPL = Capão do Leão. SVP = Santa Vitória do Palmar. GUA = Guaratinguetá. ROS = Roseira. TBT = Taubaté.

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey ($P < 0,05$) entre os locais de cultivo. O símbolo * na mesma linha indica diferença estatística pelo teste-*t* ($P < 0,05$) entre os genótipos, enquanto a abreviatura “ns” significa não significativo.

6.8 Discriminação de origem utilizando a composição fenólica da fração livre

A análise estatística multivariada permitiu diferenciar os genótipos (Figura 24) e os locais de crescimento apenas quando cada genótipo foi avaliado separadamente (Figura 25 e 26), utilizando a composição fenólica da fração livre. Através do perfil da fração dos fenólicos complexados não foi possível fazer a discriminação.

O PCA, o PLS-DA e as pontuações VIP de PLS-DA derivada dos resultados de LC-MS para genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600 (Figura 25 e 26) demonstraram que: a) o PCA explicou 98,6% e 98,3% de variabilidade na discriminação da localização de crescimento dos genótipos AE 153045 e IAC 600, respectivamente (Figura 25 e 26); b) a separação dos locais também ficou clara pelo PLS-DA, que apresentou um Q^2 max de 0,35 e 0,90 e um R^2 de 0,52 e 0,94 para os genótipos AE 153045 e IAC 600, respectivamente; c) a hesperetina, o ácido vanílico e a quercetina-3-O-glicosídeo foram responsáveis pela discriminação do local de cultivo do arroz preto AE 153045 (as pontuações VIP foram maiores do que 1,0) e para o genótipo IAC 600, a quercetina, o ácido vanílico, a quercetina-3-O-glicosídeo e o ácido *p*-cumárico exibiram pontuação VIP superior a 1,0.

A hesperetina foi detectada apenas em amostras de AE 153045 coletadas nos três locais do Rio Grande do Sul (RS), sendo a maior quantidade observada em SVP ($8,1\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) (Tabela 7).

A principal molécula responsável pela discriminação do arroz preto IAC 600 de SVP, em comparação com os outros cinco locais, foi a quercetina, com uma pontuação VIP de 2,0 (Figura 26C). Enquanto o IAC 600 da SVP exibiu um conteúdo médio de quercetina de $21,3\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, as amostras IAC 600 de outros locais exibiram um teor de quercetina muito menor, variando de 2,4 a $7,2\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ (Tabela 7).

O ácido vanílico, que foi mostrado como um importante ácido fenólico para discriminar os genótipos AE 153045 e IAC 600 (Figura 24), também foi relevante para discriminar locais de cultivo para ambos os genótipos AE 153045 e IAC 600 (Figura 25 e 26), porém, para AE 153045 positivamente e IAC 600 negativamente.

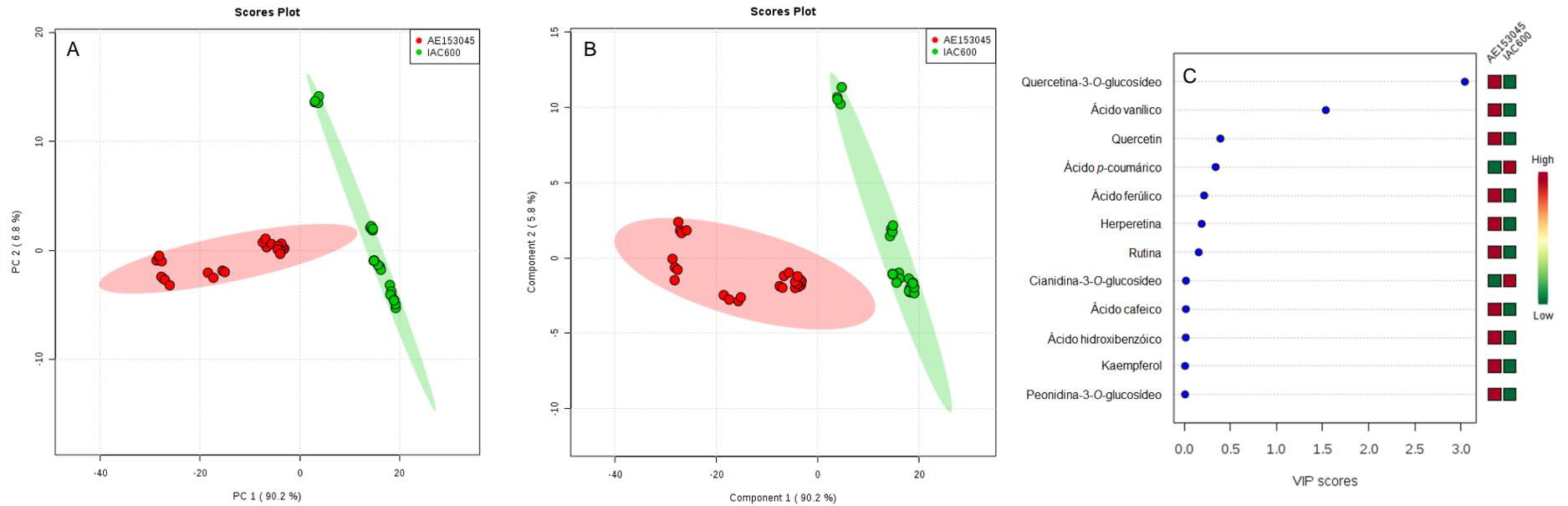


Figura 24 - PCA (A), PLS-DA (B) e pontuação VIP (C) da análise de PLS-DA derivada da determinação de LC-MS de fenólicos livres em genótipos de arroz preto AE 153045 e IAC 600.

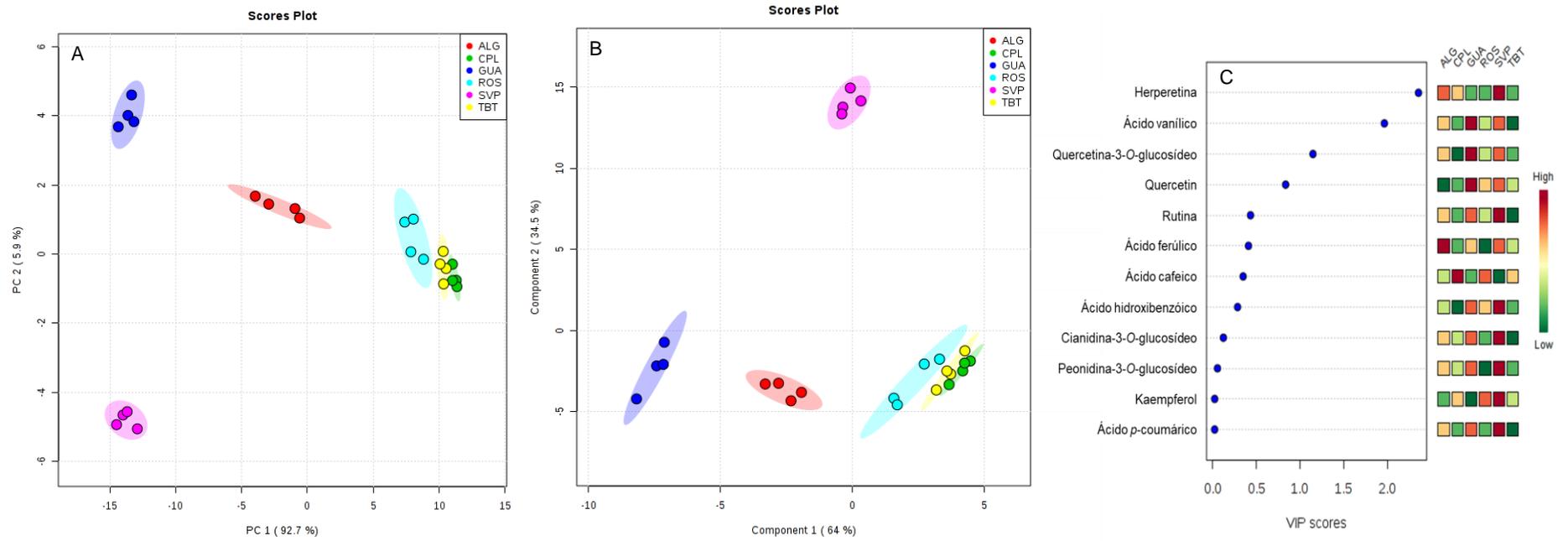


Figura 25 - PCA (A), PLS-DA (B) e pontuação VIP (C) da análise de PLS-DA derivados da determinação por LC-MS de fenólicos livres no genótipo do arroz AE 153045 em função do local de cultivo.

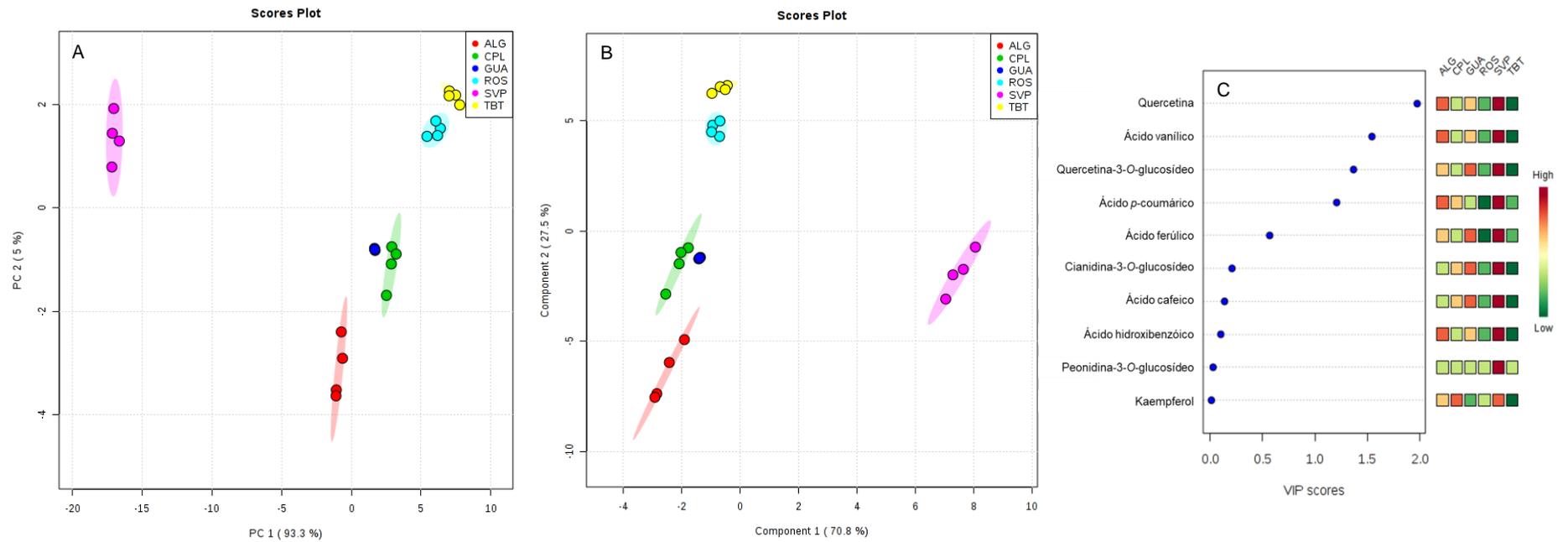


Figura 26 - PCA (A), PLS-DA (B) e VIP (C) da análise de PLS-DA derivados da determinação por LC-MS de fenólicos livres no genótipo do arroz IAC 600 em função do local de cultivo.

7 Considerações finais

O estresse promovido no arroz preto cultivado em SVP, que se acredita ser devido à latitude e às condições únicas de frequência e velocidade dos ventos naquele local durante a fase de maturação do arroz, favoreceu a ocorrência de gessamento na linhagem AE 153045, mas não teve implicações no genótipo IAC 600.

O acúmulo de compostos fenólicos, incluindo ácidos fenólicos, flavonoides e antocianinas foi modificado pelo ambiente, onde a tendência observada foi de um acúmulo maior desses compostos nos genótipos quando produzidos em SVP. Assim, entre os locais de cultivo estudados, Santa Vitória do Palmar (SVP) forneceu o arroz preto mais característico, com maior teor de compostos fenólicos livres e de antocianinas.

O genótipo AE 153045 cultivado em SVP apresentou melhor equilíbrio das antocianinas cianidina-3-O-glicosídeo e peonidina-3-O-glicosídeo, enquanto o genótipo IAC 600 apresentou teor de cianidina-3-O-glicosídeo mais elevado neste local, o que pode ser relevante para agricultores, indústrias e consumidores que procuram arroz preto com propriedades nutricionais peculiares.

O PCA e o PLS-DA, baseados no perfil de compostos fenólicos, permitiram a discriminação da nova linhagem de arroz preto AE 153045 da IAC 600, assim como de acordo com o local de cultivo.

A quercetina-3-O-glicosídeo e o ácido vanílico foram responsáveis pela discriminação de genótipos. Já para a discriminação entre os locais de cultivo, além da quercetina-3-O-glicosídeo e do ácido vanílico, foram a hesperetina, no genótipo AE 153045, e a quercetina e o ácido *p*-cumárico, no genótipo IAC 600, sendo esses os principais compostos a serem determinados em estudos futuros para a discriminação de genótipos de arroz preto.

Referências

AACC. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. St. Paul, MN, US: AACC International, 2002.

ABDEL-AAL, E. S. M.; HUCL, P. Composition and stability of anthocyanins in blue-grained wheat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 2174-2180, 2003.

AL-FARSI, M.A.; LEE, C.Y. Optimization of phenolic and dietary fibre extraction from date seeds. **Food Chemistry**, v. 3, n. 108, p. 977-85, 2008.

AOAC. **Official methods of analysis**. Arlington VA: AOAC International, 2005.

ARIYAMA, K.; SHINOZAKI, M.; KAWASAKI, A. Determination of the geographic origin of rice by chemometrics with strontium and lead isotope ratios and multielement concentrations. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 1628-1634, 2012.

BECERRA-HERRERA, M.; VÉLEZ-MARTÍN, A.; RAMOS-MERCHANTE, A.; RICHTER, P.; BELTRÁN, R.; SAYAGO, A. Characterization and evaluation of phenolic profiles and color as potential discriminating features among Spanish extra virgin olive oils with protected designation of origin. **Food Chemistry**, v. 241, p. 328–337, 2018.

BELMIRO, T. M. C.; PEREIRA, C. F.; PAIM, A. P. S. Red wines from South America: Content of phenolic compounds and chemometric distinction by origin. **Microchemical Journal**, v. 133, p. 114-120, 2017.

BERGMAN, C. J.; XU, Z. Genotype and environment effects on tocopherol, tocotrienol, and g-oryzanol contents of Southern U.S. rice. **Cereal Chemistry**, v. 80, p. 446–449, 2003.

BHATTACHARYA, K. R. An introduction to rice: its qualities and mysteries. In: **Rice Quality: A Guide to Rice Properties and Analysis**. (1st ed.). Sawston: Woodhead Publishing Limited, 2011.

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

Brasil Food Trends 2020. São Paulo, 2010. Disponível em: <
<http://www.brasilfoodtrends.com.br/publicacao.html>>. Acesso em: 26 nov 2018.

BRASIL. Instrução Normativa nº 6, de 16 de fevereiro de 2009. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. 2009b.

BRASIL. Regras para Análise de Sementes. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Brasília, p.346, 2009a.

CAPOZZI, F.; TRIMIGNO, A. 11 - Using metabolomics to describe food in detail. In L. BRENNAN, & J. L. SEBADIO (Eds.). **Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, Metabolomics as a Tool in Nutrition Research.**: Woodhead Publishing, 2015. p. 203–229.

CARUSO, M.; GALGANO, F.; MORELLI, M. A. C.; VIGGIANI, L.; LENCIONI, L.; GIUSSANI, B.; FAVATI, F. Chemical Profile of White Wines Produced from 'Greco bianco' Grape Variety in Different Italian Areas by Nuclear Magnetic Resonance (NMR) and Conventional Physicochemical Analyses. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 7-15, 2012.

CHAMPAGNE, E. T. Rice Aroma and Flavor: A Literature Review. **Cereal Chemistry Journal**, v. 85, n. 4, p. 445–454, 2008.

CHEN, M. H.; BERGMAN, C.; PINSONA, S.; FJELLSTROM, R. Waxy gene haplotypes: Associations with apparent amylose content and the effect by the environment in an international rice germplasm collection. **Journal of Cereal Science**, v. 47, p. 536– 545, 2008.

CHEN, P.; HARNLY, J. M.; LESTER, G. E. Flow Injection Mass Spectral Fingerprints Demonstrate Chemical Differences in Rio Red Grapefruit with Respect to Year, Harvest Time, and Conventional versus Organic Farming. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 8, p. 4545–4553, 2010.

CHOI, Y.; JEONG, H.-S.; LEE, J. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. **Food Chemistry**, v. 103, n. 1, p. 130–138, 2007.

CHUNG, I.-M.; KIM, J.-K.; LEE, K.-J.; PARK, S.-K.; LEE, J.-H.; SON, N.-Y.; JIM, Y.-I.; KIM, S.-H. Geographic authentication of Asian rice (*Oryza sativa* L.) using multi-elemental and stable isotopic data combined with multivariate analysis. **Food Chemistry**, v. 240, p. 840–849, 2018.

CIAT - CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. **Evaluación de la calidad culinaria y molinera del arroz; guía de estudio para ser usada como complemento de la unidad audiotutorial sobre el mismo tema.** Cali: CIAT, 1989.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da Safra Brasileira de Grãos: Oitavo levantamento - Safra 2016/17.** Brasília, v.4, n.8, p. 1-144, 2017.

CONCEPCION, J. C. T.; OUK, S.; RIEDEL, A.; CALINGACION, M.; ZHAO, D.; OUK, M.; GARSON, M. J.; FITZGERALD, M. A. Quality evaluation, fatty acid analysis and untargeted profiling of volatiles in Cambodian rice. **Food Chemistry**, v. 240, p. 1014–1021, 2018.

CRIZEL, Rosane Lopes. **Prospecção de pigmentos produzidos por cochonilhas *Ceroplastes spp.* para aplicação em alimentos.** 2017. 64 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017. Disponível em: <http://dctaufpel.com.br/ppgcta/manager/uploads/documentos/dissertacoes/dissertacao_crizel,_rosane_lopes-ilovepdf-compressed.pdf>. Acesso em: 17 dez 2018.

CUBERO-LEON, E.; PEÑALVER, R.; MAQUET, A. Review on metabolomics for food authentication. **Food Research International**, v. 60, p. 95–107, 2014.

ENGM Energia. **Santa Vitória do Palmar's Substation 525 kV - Extension "B".** 2014. Disponível em: <<http://engm.com.br/work/santa-vitoria-do-palmars-substation-525-kv-extension-b>>. Acesso em: 18 jun. 2018.

FAN, G.; BETA, T. Discrimination of geographical origin of Napirira bean (*Phaseolus vulgaris* L.) based on phenolic profiles and antioxidant activity. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 62, p. 217-222, 2017.

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

FITZGERALD, M. A.; MCCOUCH, S. R.; HALL, R. D. Not just a grain of rice: the quest for quality. **Trends in Plant Science**, v. 14, n. 3, p. 133–139, 2009.

GOFFMAN, F.; BERGMAN, C. Rice kernel phenolic content and its relationship with antiradical efficiency. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84, n. 10, p. 1235–1240, 2004.

GOLENIOWSKI, M.; BONFILL, M.; CUSIDO, R. M.; PALAZÓN, J. Phenolic acids. In K.G. Ramawat, J.M. Mérillon (eds.), **Natural Products**, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013.

GONZALVEZ, A.; ARMENTA, S.; DE LA GUARDIA, M. Trace-element composition and stable-isotope ratio for discrimination of foods with Protected Designation of Origin. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 28, n. 11, p. 1295-1311, 2009.

GOUFO, P., J.; PEREIRA, J.; MOUTINHO-PEREIRA, J.; CORREIA, C. M.; FIGUEIREDO, N.; CARRANCA, C.; ROSA., E. A. S.; TRINDADE, H. Rice (*Oryza sativa* L.) phenolic compounds under elevated carbon dioxide (CO₂) concentration. **Environmental and Experimental Botany**, v. 99, p. 28–37, 2014b.

GOUFO, P.; TRINDADE, H. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. **Food Science & Nutrition**, v. 2, p. 75-104, 2014a.

GRANATO, D.; CARRAPEIRO, M. M; FOGLIANO, V.; VAN RUTH, S. M. Effects of geographical origin, varietal and farming system on the chemical composition and functional properties of purple grape juices: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 52, p. 31–48, 2016.

GU, L.; KELM, M. A.; HAMMERSTONE, J. F.; ZHANG, Z.; BEECHER, G.; HOLDEN, J.; HAYTOWITZ, D.; PRIOR, R. L. Liquid chromatographic/electrospray ionization mass spectrometric studies of proanthocyanidins in foods. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 38, n. 12, p. 1272–1280, 2003.

GUNARATNE, A.; WU, K.; LI, D. K.; BENTOTA, A.; CORKE, H.; AND H. Z. CAI, Y.-Z. Antioxidant activity and nutritional quality of traditional red-grained rice varieties containing proanthocyanidins. **Food Chemistry**, v. 138, n. 2-3, p. 1153-1161, 2013.

HE, M.; QIU, C.; LIAO, Z.; SUI, Z.; CORKE, H. Impact of cooking conditions on the properties of rice: Combined temperature and cooking time. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 117, p. 87–94, 2018.

HU, C.; ZAWISTOWSKI, J.; LING, W.; KITTS, D. D. Black Rice (*Oryza sativa* L. indica) Pigmented Fraction Suppresses both Reactive Oxygen Species and Nitric

Oxide in Chemical and Biological Model Systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 18, p. 5271–5277, 2003.

HUANG, Y.-P.; LAI, H.-M. Bioactive compounds and antioxidative activity of colored rice bran. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 24, n. 3, p. 564–574, 2016.

HUO, Y.; KAMAL, G. M.; WANG, J.; LIU, H.; ZHANG, G.; HU, Z.; ANWAR, F.; DU, H. ¹H NMR-based metabolomics for discrimination of rice from different geographical origins of China. **Journal of Cereal Science**, v. 76, p. 243–252, 2017.

IRRI, International Rice Research Institute. **The International Rice Genebank**, 2017. Disponível em: <<http://irri.org/our-work/research/genetic-diversity/international-rice-genebank>>. Acesso em: 18 abril 2018.

JAAKOLA, L.; HOHTOLA, A. Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. **Plant, Cell & Environment**, v. 33, p. 1239–1247, 2010.

JULIANO, B. O. A Simplified Assay for Milled-Rice Amylose. **Cereal Science Today**, v. 16, n. 11, p. 334-340, 1971.

JULIANO, B. O.; PEREZ, C. M.; BLAKENEY, A. B.; CASTILLO, T.; KONGSEREE, N.; LAIGNELET, B.; LAPIS, E. T.; MURTY, V. V. S.; PAULE, C. M.; WEBB, B. D. International Cooperative Testing on the Amylose Content of Milled Rice. **Starch/Stärke**, v. 33, p. 157–162, 1981.

JULIANO, B.O. & BECHTEL, D.B. The rice grain and its gross composition. In Champagne, E. T.: **Rice: Chemistry and Technology**. New Orleans, MN, USA: **American Association of Cereal Chemists**. Chapter 2, 1985. p. 17–57

KANEKO, K.; SASAKI, M.; KURIBAYASHI, N.; SUZUKI, H.; SASUGA, Y.; SHIRAYA, T.; INOMATA, T.; ITOH, K.; BASLAM, M.; MITSUI, T. Proteomic and Glycomic Characterization of Rice Chalky Grains Produced Under Moderate and High-temperature Conditions in Field System. **Rice**, v. 9, p. 1-16, 2016.

KITTA, K.; EBIHARA, M.; IIZUKA, T.; YOSHIKAWA, R.; ISSHIKI, K.; KAWAMOTO, S. Variations in lipid content and fatty acid composition of major non-glutinous rice cultivars in Japan. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, n. 4, p. 269–278, 2005.

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

KUSANO, M.; YANG, Z.; OKAZAKI, Y.; NAKABAYASHI, R.; FUKUSHIMA, A.; SAITO, K. Using metabolomic approaches to explore chemical diversity in rice. **Molecular Plant**, v. 8, p. 58–67, 2015.

KUSHWAHA U. K. S. **Black Rice: Research, History and Development**. Springer International Publishing, 2016.

LANG, Y.; YANG, X.; WANG, M.; ZHU, Q. Effects of Lodging at Different Filling Stages on Rice Yield and Grain Quality. **Rice Science**, v. 19, n. 4, 315–319, 2012.

LANNING, S. B.; SIEBENMORGEN, T. J.; COUNCE, P. A.; AMBARDEKAR, A. A.; MAUROMOUSTAKOS, A. Extreme nighttime air temperatures in 2010 impact rice chalkiness and milling quality. **Field Crops Research**, v. 124, p. 132–136, 2011.

LEON, C.; RODRIGUEZ-MEIZOSO, I.; LUCIO, M.; GARCIA-CAÑAS, V.; IBAÑEZ, E.; SCHMITT-KOPPLIN, P.; CIFUENTES, A. Metabolomics of transgenic maize combining Fourier transform-ion cyclotron resonance-mass spectrometry, capillary electrophoresis-mass spectrometry and pressurized liquid extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 43, p. 7314–7323, 2009.

LI, H.; PRAKASH, S.; NICHOLSON, T. M.; FITZGERALD, M. A.; GILBERT, R. G. The importance of amylose and amylopectin fine structure for textural properties of cooked rice grains. **Food Chemistry**, v. 196, p. 702–711, 2016.

LIN, C-J.; LI, C-Y.; LIN, S-K.; YANG, F-H.; HUANG, J-J.; LIU, Y-H.; LUR, H-S. Influence of high temperature during grain filling on the accumulation of storage proteins and grain quality in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 10545–10552, 2010.

LINDEMANN, Igor da Silva. **Qualidade de feijão caupi em função de herbicidas dessecantes utilizados na pré-colheita e das condições de armazenamento**. 2017. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Disponível em: <

<<http://guaiaca.ufpel.edu.br/bitstream/prefix/4132/1/Disserta%C3%A7%C3%A3o%20-%20Catalogada%20Igor.pdf>>. Acesso em: 7 jan 2019.

LIU, R. H. Whole grain phytochemicals and health. **Journal of Cereal Science**, v. 46, n. 3, p. 207–219, 2007.

LYU, S.-W.; BLUM, U.; GERIG, T. M.; O'BRIEN, T. E. Effects of mixtures of phenolic acids on phosphorus uptake by cucumber seedlings. **Journal of Chemical Ecology**, v. 16, n. 8, p. 2559–2567, 1990.

MAGALHÃES JUNIOR, A. M., et al. Indicação de Tipos Especiais de Arroz para Diversificação de Cultivo. **Embrapa Clima Temperado: Documentos**, 133. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2012. p.1-8.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; REMESY, C.; JIMENEZ L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-747, 2004.

MARAVAL, I.; MESTRES, C.; PERNIN, K.; RIBEYRE, F.; BOULANGER, R.; GUICHARD, E.; GUNATA, Z. Odor-active compounds in cooked rice cultivars from Camargue (France) analyzed by GC-O and GC-MS. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 13, p. 5291–5298, 2008.

MCGRANCE, S. J.; CORNELL, H. J.; RIX, C. J. A Simple and Rapid Colorimetric Method for the Determination of Amylose in Starch Products. **Starch/Stärke**, 50, 158–163, 1998.

MEHARI, B.; REDI-ABSHIRO, M.; CHANDRAVANSI, B. S.; COMBRINCK, S.; ATLABACHEW, M.; MCCRINDLE, R. Profiling of phenolic compounds using UPLC – MS for determining the geographical origin of green coffee beans from Ethiopia. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 45, p. 16–25, 2016.

MEULLENET, J. F. C.; CARPENTER, J. A.; LYON, B. G.; LYON, C. E. Bi-cyclical instrument for assessing texture profile parameters and its relationship to sensory evaluation of texture. **Journal of Texture Studies**, v. 28, n. 1, p. 101-118, 1997.

MIN, B.; MCCLUNG, A. M.; CHEN, M. H. Phytochemicals and antioxidant capacities in rice brans of different color. **Journal of Food Science**, v. 76, p. C117–C126, 2011.

MOCO, S.; BINO, R. J.; DE VOS, R. C. H.; VERVOORT, J. Metabolomics technologies and metabolite identification. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 9, p. 855–866, 2007.

MORITA, S.; WADA, H.; MATSUE, Y. Countermeasures for heat damage in rice grain quality under climate change. **Plant Production Science**, v. 19, p. 1–11, 2016.

NAKATA, M.; FUKAMATSU, Y.; MIYASHITA, T.; HAKATA, M.; KIMURA, R.; NAKATA, Y.; KURODA, M.; YAMAGUCHI, T.; YAMAKAWA, H. High Temperature-Induced Expression of Rice α -Amylases in Developing Endosperm Produces Chalky Grains. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, p. 1-13, 2017.

NEVAME, A. Y. M.; EMON, R. M.; MALEK, M. A.; HASAN, M. M.; ALAM, M. A.; MUHARAM, F. M.; ASLANI, F.; RAFII, M. Y.; ISMAIL, M. R. Relationship between High Temperature and Formation of Chalkiness and Their Effects on Quality of Rice. **BioMed Research International**, v. 2018, 1-18, 2018.

ONG, M. H.; BLANSHARD, J. M. V. Texture determinants in cooked, parboiled rice I: rice starch amylose and the fine structure of amylopectin. **Journal of Cereal Science**, v. 21, p. 251-260, 1995.

PAIVA, F. F.; VANIER, N. L.; BERRIOS, J. D. J.; PINTO, V. Z.; WOOD, D.; WILLIAMS, T.; PAN, J.; ELIAS, M. C. Polishing and parboiling effect on the nutritional and technological properties of pigmented rice. **Food Chemistry**, v. 191, p. 105–112, 2014.

PARK, J. K.; KIM, S.S.; KIM, K.O. Effects of milling ratio on sensory properties of cooked rice and on physicochemical properties of milled and cooked rice. **Cereal Chemistry**, v. 78, n. 2, p. 151-156, 2001.

PARK, S.; KIM, J. K.; LEE, S. Y.; OH, S.; LEE, S. M.; JANG, J.; YANG, C.; WON, Y.; YEO, Y. Comparative analysis of phenolic acid profiles of rice grown under different regions using multivariate analysis. **Plant Omics**, v. 7, p. 430–437, 2014.

PICONE, G.; ENGELSEN, S. B.; SAVORANI, F.; TESTI, S.; BADIANI, A.; CAPOZZI, F. Metabolomics as a Powerful Tool for Molecular Quality Assessment of the Fish *Sparus aurata*. **Nutrients**, v. 3, p. 212–227, 2011.

PITIJA, K.; NAKORNRIAB, M.; SRISEADKA, T.; VANAVICHIT, A.; WONGPORNCHAI, S. Anthocyanin content and antioxidant capacity in bran extracts of some Thai black rice varieties. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, n. 2, p. 300–308, 2012.

PLANETA ARROZ. Aquele 1 por cento – O Brasil descobre as cores e sabores dos arrozes especiais, **Planeta Arroz**, edição 63, 2017.

QIU, Y.; LIU, Q.; BETA, T. Antioxidant properties of commercial wild rice and analysis of soluble and insoluble phenolic acids. **Food Chemistry**, v. 121, n. 1, p. 140-147, 2010.

RASHMI, D.; SHREE, P.; SINGH, D. K. Stable isotope ratio analysis in determining the geographical traceability of Indian wheat. **Food Control**, v. 79, p. 169–176, 2017.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICEEVANS, C.; Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, p. 1231-1237, 1999.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 20, n. 7, p. 933–956, 1996.

SHAO, Y.; BAO, J. Polyphenols in whole rice grain: Genetic diversity and health benefits. **Food chemistry**, v. 180, p. 86–97, 2015.

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

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

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

SOSBAI, Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. (1st ed.). Brazil: Santa Maria, 2014.

SREENIVASULU, N.; BUTARDO, V. M. MISRA, G.; CUEVAS, R. P.; ANACLETO, R.; KISHOR, P. B. K. Designing climate-resilient rice with ideal grain quality suited for high-temperature stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 66, n. 7, p. 1737–1748, 2015.

STACHNIUK, A.; FORNAL, E. Liquid Chromatography-Mass Spectrometry in the Analysis of Pesticide Residues in Food. **Food Analytical Methods**, v. 9 n. 6, p. 1654–1665, 2015.

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

TERCI, D. B. L.; ROSSI, A. V. Indicadores naturais de pH: usar papel ou solução? **Química Nova**, v. 25, n. 4, p. 684-688, 2002.

THITISAKSAKUL, M.; JIMÉNEZ, R. C.; ARIAS, M. C.; BECKLES, D. M. Effects of environmental factors on cereal starch biosynthesis and composition. **Journal of Cereal Science**, v. 56, p. 67–80, 2012.

TONG, C.; CHEN, Y.; TANG, F.; XU, F.; HUANG, Y.; CHEN, H.; BAO, J. Genetic diversity of amylose content and RVA pasting parameters in 20 rice accessions grown in Hainan, China. **Food Chemistry**, v. 161, p. 239–245, 2014.

VANIER, N. L. Qualidade de arroz e mercados emergentes. **LabGrãos Magazine**: v.1, n.1, 2017. Disponível em: <<http://www.labgraos.com.br/magazine>>. Acesso em: 20 jul 2018.

WANG, W.; VINOCUR, B.; SHOSEYOV, O.; ALTMAN, A. Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. **Trends in Plant Sciences**, v. 9, p. 244–252, 004.

WISHART, D. S. Metabolomics: applications to food science and nutrition research. **Trends in Food Science & Technology**, v. 19, n. 9, p. 482–493, 2008.

XIA, J.; WISHART, D. S. Using MetaboAnalyst 3.0 for Comprehensive Metabolomics Data Analysis. **Current Protocols in Bioinformatics**, v. 55, p. 14.10.1-14.10.91, 2016.

YU, S.; MA, Y.; MENAGER, L.; SUN, D. Physicochemical Properties of Starch and Flour from Different Rice Cultivars. **Food and Bioprocess Technology**, v. 5, p. 626–637, 2010.

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

ZHAO, Q.; SELOMULYA, C.; XIONG, H.; CHEN, X. D.; RUAN, X.; WANG, S.; XIE, J.; PERG, H.; SUN, W.; ZHOU, Q. Comparison of functional and structural properties of native and industrial process-modified proteins from long-grain indica rice. **Journal of Cereal Science**, v. 56, n. 3, 568–575, 2012.

ZHOU, Z.; CHEN, X.; ZHANG, M.; BLANCHARD, C. Phenolics, flavonoids, proanthocyanidin and antioxidant activity of brown rice with different pericarp colors following storage. **Journal of Stored Products Research**, v. 59, p. 120–125, 2014.

ZHOU, Z.; ROBARDS, K.; HELLIWELL, S.; BLANCHERD, C. Review: Composition and functional properties of rice. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 37, n. 8, p. 849-868, 2002.

ZIEGLER, V.; FERREIRA, C. D.; HOFFMANN, J. F.; CHAVES, F. C.; VANIER, N. L.; DE OLIVEIRA, M.; ELIAS, M. C. Cooking quality properties and free and bound phenolics content of brown, black, and red rice grains stored at different temperatures for six months. **Food Chemistry**, v. 242, p. 427–434, 2017.

ZUBAIR, M.; ANWAR, F.; ASHRAF, M.; UDDIN, M. K. Characterization of high-value bioactives in some selected varieties of Pakistani rice (*Oryza sativa* L.). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 13, p. 4608–4622, 2012.