



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E SUA RELAÇÃO COM TRICOTECENOS
DO GRUPO B EM ARROZ IRRIGADO E ARROZ DE SEQUEIRO**

VERÔNICA SIMÕES DE BORBA

PROF^a DR^a ELIANA BADIALE FURLONG

Orientadora

DR^a MARISTELA BARNES RODRIGUES CERQUEIRA

Co-orientadora

RIO GRANDE, RS

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS E SUA RELAÇÃO COM TRICOTECENOS DO
GRUPO B EM ARROZ IRRIGADO E ARROZ DE SEQUEIRO

VERÔNICA SIMÕES DE BORBA

Dissertação apresentada como parte
dos requisitos para obtenção do
título de mestre em Engenharia e
Ciência de Alimentos

PROF^a DR^a ELIANA BADIALE FURLONG
Orientadora

DR^a MARISTELA BARNES RODRIGUES CERQUEIRA
Co-orientadora

RIO GRANDE, RS

2019

Ficha catalográfica

B726p Borba, Verônica Simões de.
 Propriedades físico-químicas e sua relação com tricotecenos do grupo B em arroz irrigado e arroz de sequeiro / Verônica Simões de Borba. – 2019.
 110 f.

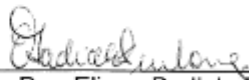
 Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Rio Grande/RS, 2019.
 Orientadora: Dra. Eliana Badiale Furlong.
 Coorientadora: Dra. Maristela Barnes Rodrigues Cerqueira.

 1. Arroz Irrigado 2. Arroz de Sequeiro 3. Amido Resistente
 4. Tricotecenos 5. Parboilização 6. Migração de Micotoxinas
 I. Furlong, Eliana Badiale II. Cerqueira, Maristela Barnes Rodrigues
 III. Título.

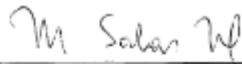
CDU 633.18

APROVAÇÃO

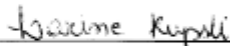
Dissertação defendida por Verônica Simões Borba e aprovada em 28 de fevereiro de 2019, pela Comissão Examinadora constituída pelos professores:



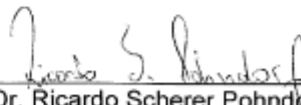
Profa. Dra. Eliana Badiale Furlong – FURG



Profa. Dra. Myriam de las Mercedes Salas-Mellado - FURG



Dra. Larine Kupski - FURG



Prof. Dr. Ricardo Scherer Pohndorf - UFPEL

Dedico aos meus pais, Selma e Jesus, e ao meu companheiro Guilherme
por todo incentivo, carinho e paciência.

AGRADECIMENTOS

À **Deus**, por me conceder saúde, força e perseverança para enfrentar os obstáculos que a vida proporciona.

Aos meus pais, **Selma e Jesus**, que mesmo com todas as dificuldades me deram amor, carinho e valores para me tornar uma pessoa melhor. Obrigada por me mostrarem que a educação, o aprendizado e a sabedoria são os tesouros mais importantes que uma pessoa pode ter. Obrigada por todo amor, compreensão e apoio. Tenho muito orgulho de ser filha de pessoas tão generosas. Amo vocês!

Ao meu companheiro de vida **Guilherme**, por todo amor, carinho, compreensão e incentivo. Obrigada por aguentar minhas crises, estar ao meu lado em todos os momentos, bons e ruins, e por acreditar em mim e em meus sonhos. Te admiro muito e que possamos conquistar muitas coisas juntos. Te amo!

Ao meu sogro **Marquinhos**, vó e tia emprestadas **Dorva e Lucia** e minha irmã **Veridiana** pelo carinho, apoio e incentivo.

À professora **Eliana**, por ter aceitado me orientar, pela confiança, disponibilidade, pelos os ensinamentos, conversas e conselhos durante todo o mestrado que me ajudam a crescer profissionalmente e pessoalmente. A senhora é um exemplo de dedicação, pessoa e profissional, pois deposita amor em tudo o que faz, defende e acredita em todos do LAMCA, o que a torna admirável! Obrigada por tudo!

À **Maris**, por ter aceitado o desafio de co-orientar um trabalho de tricotecnos em arroz e ainda com o uso do cromatógrafo gasoso acoplado a um espectrômetro de massas, hoje vejo que foi muita coragem! Haha! Enfim, obrigada por todo o carinho, paciência, atenção e pelos “mates” nestes dois anos. És uma mãezona para todos do LAMCA e um exemplo de profissional e pessoa. Obrigada por tudo!

Às queridas “ICs” **Cinthia e Carol**, pelo trabalho conjunto, comprometimento e amizade. Vocês foram peças fundamentais no desenvolvimento deste trabalho. Desejo sucesso a vocês e obrigada por tudo!

À professora **Jaqueline** por me acolher no laboratório e pelos ensinamentos, conversas e ajudas durante o mestrado.

Às professoras **Giniani e Myriam**, por todas as contribuições e conselhos para o desenvolvimento do meu trabalho. Ao **Ricardo** por ter possibilitado a realização do beneficiamento do arroz no LabGrãos (UFPel) e por toda a ajuda desde a época do TCC.

À família **LAMCA**, por terem me acolhido tão bem e por compartilhar momentos alegres, de conquistas e de dificuldades. Agradeço por fazer parte de um grupo tão legal, onde todos se ajudam e torcem pelas conquistas um do outro. À amiga **Kelly**, por estar sempre disposta a ajudar e explicar o que acontece com o “amido resistente”, “micotoxinas”, entre outros assuntos que foram fundamentais para meu aprendizado. Obrigada pelos ensinamentos, conversas, conselhos e amizade. À **Marcy** “detetive” que aos poucos, com seu jeito quieto, crítico e “analítico” foi mostrando a grande pessoa que é. Obrigada pela parceria, conversas, conselhos, desabafos e amizade. À **Anelise** por ser uma mãezona e por estar sempre disposta a ajudar, conversar e aconselhar. Tua energia e disposição fazem a diferença no dia-a-dia do laboratório. Obrigada pela amizade, carinho e também pelas caronas. Haha! Ao **Wesclen** pela amizade e por compartilhar os medos, desafios e aprendizados do mestrado. À **Larine**, que apesar de ter ficado mais próxima no último semestre, está sempre disposta a ajudar e a ensinar. Obrigada pelas contribuições com o trabalho, convívio e parceria. À **Gabi** pela amizade, conversas e ajudas. Ao **Manuel** por toda a ajuda em estatística e pela parceria. À **Karen, Rafa, Keven, Elisa (mãe), Eliza (filha), Maicon, Xicão, Cíntia, Sabrina, Carmen, Pri Rodrigues, Patrick, Diean, Fran, Andressa, Carol Marques**, enfim, obrigada a todos que convivi durante o mestrado no LAMCA pela parceria, ajuda e risadas no laboratório.

Podem ter certeza que fiz muitos amigos e torço pelo sucesso de todos!

Por fim, à CAPES e a FAPERGS pelo apoio financeiro e ao PPGECA pela oportunidade.

*Tente uma, duas, três vezes e se possível tente a quarta,
a quinta e quantas vezes for necessário.
Só não desista nas primeiras tentativas,
a persistência é amiga da conquista.
Se você quer chegar aonde a maioria não chega,
faça o que a maioria não faz.*

Bill Gates

RESUMO

O arroz é considerado um alimento básico com amplo consumo mundial. No Brasil, seu cultivo ocorre em ecossistemas de várzeas (arroz irrigado) e de terras altas (arroz de sequeiro). Entretanto, as condições de cultivo e composição podem favorecer a contaminação do arroz por fungos toxigênicos e micotoxinas. Os tricotecenos são micotoxinas sintetizadas principalmente por espécies de *Fusarium* e se ingeridos, causam micotoxicoses em humanos e animais. O beneficiamento do arroz resulta em diferentes produtos como: arroz branco polido, integral, parboilizado polido e parboilizado integral. Durante a parboilização, devido ao amolecimento dos grãos e abertura da casca durante a maceração e gelatinização, a migração de micotoxinas para o interior do grão é facilitada e a digestibilidade do amido pode ser alterada, pela modificação da estrutura dos grânulos de amido, aumentando a fração de amido resistente. O objetivo do presente estudo foi comparar os efeitos do beneficiamento em cultivares de arroz irrigado e de sequeiro quanto a qualidade nutricional e sua relação com tricotecenos do grupo B em produtos de arroz beneficiados. A composição físico-química dos subgrupos branco polido, integral, parboilizado polido, parboilizado integral de arroz irrigado e de sequeiro foi realizada em termos de umidade, cinzas, lipídios, proteínas, carboidratos, amido total, amilose, amilopectina, açúcares redutores, amido disponível e resistente, cor, textura, poder de inchamento e índice de solubilidade. A determinação de tricotecenos do grupo B ocorreu pela extração de deoxinivalenol (DON), 3-acetil-deoxinivalenol (3-ADON) e 15-acetil-deoxinivalenol (15-ADON) por dispersão da matriz em fase sólida assistida por vórtex (VA-MSPD) e quantificação por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM). A migração de DON foi avaliada durante a parboilização de arroz irrigado e sequeiro. A análise dos componentes principais confirmou que o grau de beneficiamento e o emprego de parboilização em arroz irrigado e de sequeiro são determinantes na composição físico-química do arroz. O arroz parboilizado integral e o integral destacaram-se pelos maiores teores de amido resistente (11,5%-17,2%) e também de proteínas (9,0%-10,6%) em arroz irrigado e de sequeiro. Um método para determinação de DON, 3-ADON e 15-ADON em arroz por CG-EM utilizando a técnica de extração VA-MSPD foi desenvolvido e validado mostrando-se confiável e eficiente, cujas recuperações variaram entre 73,4% e 117,4%. A aplicabilidade do método em diferentes subgrupos de arroz demonstrou que DON teve maior incidência em arroz integral, enquanto que 3-ADON não foi detectado. A parboilização não promoveu a migração de DON para o interior do grão, constatando sua presença apenas no farelo, cujos percentuais foram de 13,4% e 12,0% para arroz de sequeiro e irrigado, respectivamente, não permitindo afirmar que o modo de cultivo influi na migração de micotoxinas durante a parboilização, visto que os percentuais são semelhantes e o DON foi encontrado na mesma fração. Os cultivos irrigado e de sequeiro não apresentaram diferenças marcantes em relação as propriedades físico-químicas e micotoxicológicas, no entanto, estes resultados mostram que processos industriais estão relacionados com a formação de amido resistente, bem como com a mitigação de micotoxinas ao longo da cadeia produtiva do arroz consumido no Brasil.

Palavras-Chave: Arroz Irrigado. Arroz de Sequeiro. Amido Resistente. Tricotecenos. Parboilização. Migração de micotoxinas.

PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES AND ITS RELATIONSHIP WITH TRICHOTHECENES OF GROUP B IN IRRIGATED RICE AND UPLAND RICE

ABSTRACT

Rice is considered a staple food with wide world consumption. In Brazil, its cultivation occurs in lowlands (irrigated rice) and upland ecosystems (upland rice). However, the conditions of cultivation and composition may favor the contamination of rice by toxigenic fungi and mycotoxins. The milling of the rice results in different products such as white polished, brown, parboiled polished and brown parboiled rice. During the parboiling, due to softening of the grains and opening of the husks during maceration and gelatinization, the migration of mycotoxins into the grain is facilitated and the digestibility of the starch can be altered by modifying the structure of the starch granules, increasing the starch fraction. The objective of the present study was to compare the effects of milling in irrigated and irrigated rice cultivars on nutritional quality and its relation with trichothecenes of group B in rice products milled. The physico-chemical composition of the white polished, brown, polished parboiled and brown parboiled subgroups of irrigated and upland rice was performed in terms of moisture, ashes, lipids, proteins, carbohydrates, total starch, amylose, amylopectin, reducing sugars, available and resistant starch, color, texture, swelling power and solubility index. The determination of trichothecenes of group B occurred by extraction of deoxynivalenol (DON), 3-acetyl-deoxynivalenol (3-ADON) and 15-acetyl-deoxynivalenol (15-ADON) by vortex-assisted matrix solid phase dispersion (VA-MSPD) and quantification by gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). DON migration was evaluated during the parboiling of irrigated and upland rice. The principal components analysis confirmed that the degree of milling and the use of parboiling in irrigated and upland rice are determinant in the physico-chemical composition of the rice. The brown parboiled and the brown rice were characterized by the highest resistant starch (11.5%-17.2%) and protein contents (9.0%-10.6%) in irrigated and upland rice. A method for the determination of DON, 3-ADON and 15-ADON in rice by GC-EM using the extraction technique VA-MSPD was developed and validated showing it reliable and efficient, whose recoveries ranged from 73.4% to 117.4%. The applicability of the method in different rice subgroups showed that DON had a higher incidence in brown rice, whereas 3-ADON was not detected. Parboiling did not promote the migration of DON to the interior of the grain, noting that it was present only in the meal, whose percentages were 13.4% and 12.0% for upland and irrigated rice, respectively. Cultivation influences the migration of mycotoxins during parboiling, since the percentages are similar and the DON was found in the same fraction. The irrigated and upland crops did not present marked differences in relation to the physico-chemical and mycotoxicological properties, however, these results show that industrial processes are related to resistant starch formation, as well as to the mitigation of mycotoxins along the productive chain of rice consumed in Brazil.

Key-Words: Irrigated Rice. Upland Rice. Resistant Starch. Trichothecenes. Parboiling. Migration of mycotoxins.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Condições espectrométricas para análise de tricotecenos derivatizados por CG-EM.....	52
Tabela 2 – Composição química de produtos de arroz beneficiados das cultivares Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada.	68
Tabela 3 – Parâmetros físicos de produtos de arroz beneficiados das cultivares Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada.....	69
Tabela 4 – Testes preliminares de extração de Tricotecenos do grupo B por VA-MSPD variando quantidade de Al_2O_3 neutra e proporção MeOH:MeCN.	74
Tabela 5 – Condições testadas para a extração de Tricotecenos do grupo B por VA-MSPD variando quantidades de C18 e Al_2O_3 neutra.	75
Tabela 6 – Parâmetros analíticos para determinação de DON, 3-ADON e 15-ADON em arroz por CG-EM.....	78
Tabela 7 – Recuperações obtidas para DON, 3-ADON e 15-ADON em arroz.	78
Tabela 8 – Ocorrência de Tricotecenos em Arroz.	81
Tabela 9 – Percentual de Migração de Deoxinivalenol em cultivares de arroz irrigado (Guri Inta CL) e de sequeiro (BRSGO Serra Dourada).	84
Quadro 1 – Coeficientes de Correlação de Pearson (R) e valores de p da Análise de Componentes Principais para a cultivar Guri Inta CL.....	109
Quadro 2 – Coeficientes de Correlação de Pearson (R) e valores de p da Análise de Componentes Principais para a cultivar BRSGO Serra Dourada.....	110

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura do grão de arroz	30
Figura 2 – Fluxograma do beneficiamento industrial de arroz.....	32
Figura 3 – Estrutura química dos tricotecenos DON, 3-ADON e 15-ADON.	39
Figura 4 – Reação de derivatização por Sililação.....	46
Figura 5 – Análise dos Componentes Principais para a cultivar de Arroz Irrigado Guri Inta CL.....	70
Figura 6 – Análise dos Componentes Principais para a cultivar de arroz de Arroz de Sequeiro BRSGO Serra Dourada.....	71
Figura 7 – Recuperações obtidas de Tricotecenos do grupo B por VA-MSPD variando quantidades de C18 e Al ₂ O ₃ neutra.	75
Figura 8 – Cromatogramas de DON, 3-ADON e 15-ADON em seus respectivos limites de quantificação após etapas de extração e derivatização.....	80
Figura 9 – Cromatogramas da Migração de DON em Arroz Parboilizado da cultivar Guri Inta CL.....	85
Figura 10 – Cromatogramas da Migração de DON em Arroz Parboilizado da cultivar BRSGO Serra Dourada.....	86

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABPI – Arroz Branco Polido Irrigado

ABPS – Arroz Branco Polido de Sequeiro

ACP – Análise dos Componentes Principais

ARed – Açúcares Redutores

ARedT – Açúcares Redutores Totais

AD – Amido Disponível

Adesiv – Adevisidade

AII – Arroz Integral Irrigado

AIS – Arroz Irrigado de Sequeiro

ALD – Amido Lentamente Digerido

ANOVA – Análise de Variância

Am – Amilose

Amp – Amilopectina

APII – Arroz Parboilizado Integral Irrigado

APIS – Arroz Parboilizado Integral de Sequeiro

APPI – Arroz Parboilizado Polido Irrigado

APPS – Arroz Parboilizado Polido de Sequeiro

AR – Amido Resistente

AR₁ – Amido Resistente tipo 1

AR₂ – Amido Resistente tipo 2

AR₃ – Amido Resistente tipo 3

AR₄ – Amido Resistente tipo 4

AR₅ – Amido Resistente tipo 5

ARD – Amido Rapidamente Digerido

AT – Amido Total

BSA – N,O-bis-(trimetilsilil)-acetamida

BP – Branco Polido

Carb – Carboidratos

Cinz – Cinzas

CG – Cromatografia Gasosa

CG-EM – Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massas

CP₁ – Componente Principal 1

CP₂ – Componente Principal 2

CV – Coeficiente de Variação

DON – Deoxinivalenol;

Dur – Dureza

Elas. – Elasticidade

GB – Grau de Beneficiamento

Gomos – Gomosidade

I – Integral

ISA – Índice de Solubilidade em Água

Lip – Lipídios

LMT – Limite Máximo Tolerável

LOD – Limite de Detecção

LOQ – Limite de Quantificação

Mastig – Mastigabilidade

MSPD – do inglês “*Matrix Solid-Phase Dispersive*” (em português “Dispersão de Matriz em Fase Sólida)

MeCN – Acetonitrila

MetOH – Metanol

PCA – do inglês “*Principal Components Analysis*”

pH – Potencial Hidrogeniônico

PP – Parboilizado Polido

PI – Parboilizado Integral

Prot. – Proteínas

R – Coeficiente de correlação

R² – Coeficiente de determinação

R(%) – Percentual de Recuperação

SCAN – do inglês “*Scanning*”

SIM – do inglês “*Monitoring Ions Selected*”

TMCS – Trimetilclorossilano

TMS – Trimetilsilil

TMSI – N-trimetilsililimidazol

VA-MSPD – do inglês “*Vortex Assisted-Matrix Solid-Phase Dispersive*”

3-ADON – 3-Acetil-Deoxinivalenol

15-ADON – 15-Acetil-Deoxinivalenol

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 OBJETIVOS	25
2.1 OBJETIVO GERAL	25
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
3 REVISÃO DA LITERATURA	27
3.1 ARROZ E SEU CULTIVO	27
3.2 MORFOLOGIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO GRÃO DE ARROZ	29
3.3 BENEFICIAMENTO DO ARROZ	31
3.4 AMIDO E SEU PAPEL NA QUALIDADE DO ARROZ	34
3.5 FUNGOS E MICOTOXINAS	37
3.5.1 Tricotecenos	39
3.5.2 Tricotecenos em Arroz	40
3.5.3 Determinação de Micotoxinas	42
4 MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1 MATERIAL	47
4.2 AMOSTRAS	48
4.3 PADRÕES	48
4.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA	49
4.5 TRATAMENTO HIDROTÉRMICO	49
4.6 DETERMINAÇÃO DAS FRAÇÕES DE AMIDO DISPONÍVEL E RESISTENTE	50
4.7 PROPRIEDADES FÍSICAS DO ARROZ	50
4.8 DETERMINAÇÃO DE TRICOTECENOS	52
4.8.1 Condições Cromatográficas	52
4.8.2 Extração de Tricotecenos	53
4.8.3 Derivatização de Tricotecenos	53
4.8.4 Validação do Método Cromatográfico	53
4.9 MIGRAÇÃO DE DEOXINIVALENOL DURANTE A PARBOILIZAÇÃO DO ARROZ	55
4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA	56
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	59
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ARROZ IRRIGADO E DE SEQUEIRO	59
5.1.1 Composição Química	59
5.1.2 Propriedades Físicas	62
5.1.3 Análise dos Componentes Principais	64
5.1.3.1 Análise dos Componentes Principais da cultivar Guri Inta CL	64
5.1.3.2 Análise dos Componentes Principais da cultivar BRSGO Serra Dourada	65
5.1.3.3 Comparação entre as análises de componentes principais das cultivares Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada	66
5.2 DETERMINAÇÃO DE TRICOTECENOS	72
5.2.1 Derivatização	72
5.2.2 Otimização da técnica VA-MSPD	73

5.2.3 Validação do Método	77
5.2.4 Aplicabilidade do Método	81
5.3 MIGRAÇÃO DE DEOXINIVALENOL DURANTE A PARBOILIZAÇÃO DO ARROZ	83
6 CONCLUSÃO	89
7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS	91
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93
APÊNDICE 1 – MATERIAL SUPLEMENTAR DAS ANÁLISES DOS COMPONENTES PRINCIPAIS DA CARACTERIZAÇÃO DAS CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO (GURI INTA CL) E DE SEQUEIRO (BRSGO SERRA DOURADA).	109

1 INTRODUÇÃO

O arroz *Oryza sativa* L., é o terceiro cereal mais produzido no mundo, cerca de 741 milhões de toneladas, sendo a China a maior produtora mundial e o Brasil o maior produtor do Continente Americano (FAOSTAT, 2018). Este cereal é considerado um alimento básico em muitos países, devido a sua alta produtividade e por ser fonte de energia acessível (BHULLAR; GRUISSEM, 2013). No Brasil, o cultivo do arroz ocorre em dois tipos de ecossistemas, o predominante é o de várzea, que produz arroz irrigado sob inundação, e o de terras altas, o qual produz arroz de sequeiro em regiões de cerrado com ou sem irrigação suplementar (GUIMARÃES et al., 2006). O levantamento realizado pela Companhia Nacional de Abastecimento sobre a safra de arroz 2018/2019, estima que a produção nacional para este período é de 11.269,3 mil toneladas, sendo 90,1% da produção total de arroz irrigado e 9,9% de arroz de sequeiro (CONAB, 2018).

Apesar da composição do arroz estar sujeita aos efeitos de variáveis bióticas, de manejo e de processamento, este é composto basicamente por amido e por menores teores de proteínas, lipídios, fibras e cinzas (ZHOU et al., 2002). A retrogradação do amido ocorre em alimentos que são gelatinizados e resfriados. O amido retrogradado fica menos disponível para a digestão, sendo uma interessante fonte de amido resistente (THOMPSON, 2000; TOVAR et al., 2002). Diferentemente do arroz integral e branco polido, o arroz parboilizado sofre um tratamento térmico que pode proporcionar o aumento da fração não digerível (WALTER; SILVA; EMANUELLI, 2005). O amido resistente atua como fibra funcional (MONTEIRO; NASCIMENTO, 2013) na redução da glicemia pós-prandial e nas respostas insulinêmicas, contribuindo para o tratamento da diabetes (THARANATHAN; MAHADEVAMMA, 2003; KUMAR et al., 2018) e na excreção de micotoxinas pela possibilidade de associação do polímero a estes contaminantes (MASSAROLO et al., 2018; DA SILVA et al., 2019).

Devido a práticas de manejo inadequadas, o arroz é facilmente contaminado por fungos que podem levar ao acúmulo de micotoxinas (ZHAO et al., 2019), como aflatoxinas, citrinina, fumonisinas, tricotecenos, ocratoxina A e zearalenona (TANAKA et al., 2007). Na pós-colheita, a contaminação ocorre se a secagem for retardada e durante o armazenamento se a umidade exceder o nível crítico, propício ao crescimento fúngico. A colheita atrasada em clima chuvosos, precipitação não sazonal e deposição do orvalho, são fatores que favorecem a contaminação por micotoxinas. Durante a parboilização, devido ao amolecimento dos grãos e abertura da casca durante o encharcamento e gelatinização, a migração de fungos e micotoxinas

para o interior do grão é facilitada (COELHO; FURLONG; ALMEIDA, 1999; KUMAR; BASU; RAJENDRAN, 2008; DORS; PINTO; BADIALE-FURLONG, 2009).

A contaminação do arroz por micotoxinas resulta em sério risco a saúde mundial (TANAKA et al., 2007). O deoxinivalenol é um tricoteceno comumente encontrado em arroz, sendo relatado mundialmente por diversos autores (NUNES et al., 2003; MURTHY; RATI; MANOMANI, 2009; DORS; BIERHALS; BADIALE-FURLONG, 2011; OK; LEE; CHUN, 2018), porém, outros tricotecenos do grupo B como nivalenol, 3-acetil-deoxinivalenol e 15-acetil-deoxinivalenol também são encontrados em arroz, porém com menor frequência (PARK et al., 2005; LEE et al., 2011; OK et al., 2011; KIM et al., 2016; SUN; HU, 2016; OK; LEE; CHUN, 2018). A ingestão de alimentos contaminados por tricotecenos do grupo B provoca diversos efeitos em humanos e animais como anorexia, dor abdominal, vômitos, perda de peso, alterações neuroendócrinas e imunológicas, leucocitose, hemorragia, choque circulatório e, eventualmente, morte (PESTKA; SMOLINSKI, 2005; PESTKA, 2010).

Portanto, o desenvolvimento de técnicas para a determinação de diversos contaminantes em uma única extração bem como a busca pela minimização do impacto ambiental, o tempo de exposição dos analistas a solventes tóxicos são fatores importantes a seres considerados (HANS et al., 2008; HERNANDEZ-HIERRO et al., 2008). A técnica de extração Dispersão da Matriz em Fase Sólida, permite que as etapas de extração e limpeza ocorram simultaneamente, possibilita a combinação de diferentes suportes sólidos e solventes e reduz a quantidade mínima de amostra, caracterizando a técnica como viável, de baixo custo, rápida, flexível, versátil e confiável (CALDAS et al., 2013; CAPRIOTTI et al., 2013). A substituição do empacotamento em coluna pelo emprego de vórtex durante a eluição (VA-MSPD), além de reduzir o risco de exposição do analista ao solvente e do manuseio da amostra, tem sido aplicada na extração de micotoxinas, como aflatoxinas em farinhas de milho (MASSAROLO et al., 2018). Os tricotecenos podem ser detectados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) (KRSKA; MOLINELLI, 2007), porém, devido sua polaridade, há a necessidade de derivatização para redução do ponto de ebulição tornando-os vaporizáveis em CG-EM e com maior estabilidade térmica (RAN et al., 2013).

As poucas informações em arroz produzido por diferentes sistemas de cultivo e as respostas destes grãos frente ao beneficiamento no que se refere a qualidade nutricional e micotoxicológica, em particular os tricotecenos do grupo B, deoxinivalenol e seus acetilados 3-acetil-deoxinivalenol e 15-acetil-deoxinivalenol, bem como, a necessidade de rotinas analíticas ambientalmente amigáveis para determinação de tricotecenos em alimentos acessíveis a população justificam a realização desta pesquisa.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Comparar os efeitos do beneficiamento em cultivares de arroz irrigado e de sequeiro quanto a qualidade nutricional e sua relação com tricotecenos do grupo B em produtos de arroz beneficiados.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito do beneficiamento nas propriedades físico-químicas e na formação de amido resistente em cultivares específicas de arroz irrigado e de sequeiro;
- Validar um método analítico com menor geração de resíduos para determinação de deoxinivalenol e seus acetilados 3-acetil-deoxinivalenol e 15-acetil-deoxinivalenol em arroz por CG-EM;
- Identificar o potencial de migração de deoxinivalenol durante a parboilização de cultivares de arroz irrigado e de sequeiro.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 ARROZ E SEU CULTIVO

O arroz, pertencente a família *Gramineae* e subfamília *Pooideae*, é originário do Sudoeste Asiático. Dentre as 21 espécies existentes do gênero *Oryza*, a espécie *Oryza sativa* é uma das mais produzidas mundialmente (JULIANO, 1985). As principais subespécies de arroz cultivadas são a Indica, Japônica e Javanica, sendo as duas primeiras as de maior consumo. Os grãos da subespécie Indica são mais longos e finos e os da subespécie Japônica são mais curtos e largos. Grãos da subespécie Indica possuem maior teor de amilose, endosperma vítreo e amido com maior temperatura de gelatinização. Grãos da subespécie japônica possuem menor teor de amilose, endosperma menos vítreo e amido com menor temperatura de gelatinização (KENNEDY; BURLIGAME, 2003; KOBLITZ, 2011).

O arroz é considerado uma espécie hidrofílica adaptável a uma grande variedade de ecossistemas. No Brasil, seu cultivo ocorre em dois tipos de ecossistemas, o predominante é o de várzea onde a produção de arroz irrigado ocorre por meio de inundações controladas, e o de terras altas, empregado para produzir arroz de sequeiro em regiões de cerrado com ou sem irrigação suplementar por aspersão (GUIMARÃES et al., 2006).

A escolha da cultivar de arroz deve ser realizada com base em diversos fatores, como o sistema de cultivo (irrigado ou de sequeiro), disponibilidade de água e o conhecimento das principais características das cultivares, verificação de quais cultivares são recomendadas para a região de interesse, disponibilidade de sementes certificadas, nível de tecnologia a ser empregado e fertilidade do solo. O ciclo, a altura da planta, tolerância ao estresse hídrico, qualidade do produto e produtividade são também características das cultivares a serem consideradas. Dentre as principais cultivares de arroz irrigado recomendadas para cultivo no Brasil, têm-se: BRS Tropical, BRS Jaçanã, BRS Chuí, BR Irga 424, BRS Pampa, Puitá Inta CL, Guri Inta CL, etc. As principais cultivares de arroz de sequeiro recomendadas para cultivo no Brasil são: BRS Esmeralda, BRS Sertaneja, BRS Monarca, BRS Pepita, BRS Primavera, BRSGO Serra Dourada, etc. (EMBRAPA, 2013).

As diferenças na qualidade do arroz proveniente de ecossistemas irrigado e de terras altas estão cada vez menores devido ao melhoramento de suas cultivares recomendadas para cada modo de cultivo (GARCIA et al., 2011). A qualidade do arroz não é somente definida pelas propriedades físico-químicas do grão, mas também pelas propriedades após cocção do arroz, como viscosidade e maciez (MOHAPATRA; BAL, 2006).

Apesar de cerca de 33% das áreas de arroz plantadas no mundo corresponderem a arroz de sequeiro, apenas 19% da produção total provem de arroz de sequeiro e o restante é proveniente de arroz irrigado (aproximadamente 81%) (GRiSP, 2013). No Brasil, o levantamento realizado pela Companhia Nacional de Abastecimento sobre a safra de arroz 2018/2019, estima que a área destinada à rizicultura é de 1.836,5 mil hectares, sendo 74% proveniente do cultivo de arroz irrigado e 26% do cultivo de arroz de sequeiro. A produção nacional para este período é de 11.269,3 mil toneladas, destas 1.114,5 mil correspondem a arroz de sequeiro e 10.154,8 mil toneladas a arroz irrigado, representando cerca de 9,9% e 90,1% da produção total, respectivamente. Além disso, o arroz de sequeiro possui menor produtividade média (2.368 kg ha^{-1}) em relação ao arroz irrigado (7.434 kg ha^{-1}) (CONAB, 2018).

O arroz de sequeiro (arroz de terras altas), caracterizado pela condição aeróbia de desenvolvimento radicular da planta, é adotado principalmente no Brasil e no Continente Africano. A região Centro-Oeste do Brasil apresenta condições que favorecem o cultivo em sequeiro. Na década de 1960, no Brasil, a cultura do arroz de sequeiro foi pioneira no processo de ocupação agrícola dos cerrados. A exploração das regiões de cerrado ocorreu devido ao baixo custo de produção que não requer observação de práticas de plantio muito elaboradas, incluindo a possibilidade de plantios tardios. A partir de 1980, o sistema de sequeiro começou a ser explorado com o maior emprego de tecnologia e desde então é considerado uma alternativa para a cadeia produtiva nacional (GUIMARÃES et al., 2006).

O arroz de sequeiro adquiriu destaque em sistemas de produção utilizados na abertura de cerrados anteriormente destinados para a produção de pastagens. O decréscimo da sua área cultivada ocorreu devido à preferência dos consumidores pelo arroz tipo agulhinha, cultivado em condições irrigadas, principalmente na região Sul do país, e pela redução de incorporação de novas áreas à agricultura do país, na região central do Brasil (GUIMARÃES; STONE, 2004).

O cultivo em sequeiro é realizado em solos desnivelados onde o abastecimento de água durante o plantio é decorrente principalmente das chuvas, logo, não há acúmulo de água durante o crescimento das plantas. A semeadura ocorre de forma direta, sob as condições ambientais instáveis, e como consequência há grande incidência de doenças, insetos e ervas daninhas, e o rendimento dos grãos é baixo (FAGERIA, 2001). Em vista disso, as condições de sequeiro devem ser aplicadas em cultivares de arroz tolerantes à seca. As plantas ficam propensas à mudanças fisiológicas, metabólicas e moleculares devido ao estresse hídrico (ZU et al., 2017), portanto, o fornecimento de água é um aspecto muito importante para o aumento da eficiência do uso de nutrientes do solo, pois a deficiência de água prolongada reduz a

disponibilidade de nutrientes, comprometendo o crescimento da planta e a produtividade dos grãos (FAGERIA, 2001; CRUSCIOL et al., 2013).

Devido a baixa capacidade de retenção de água e a ocorrência de períodos de estiagem durante a estação chuvosa (“veranicos”) uma das alternativas encontradas para o aumento da produtividade e qualidade das culturas de sequeiro é a utilização da irrigação por aspersão (CRUSCIOL et al., 2003).

O primeiro sistema de cultivo irrigado foi introduzido no Brasil, no estado do Rio Grande do Sul, na cidade de Pelotas, no ano de 1903, que passou a se destacar pela maior produtividade em relação ao cultivo em sequeiro. A partir disso, o contínuo desenvolvimento de cultivares modernas e os avanços da mecanização de irrigação consolidaram ainda mais este modo de cultivo no país (GOMES; TERRES; AZAMBUJA, 2002).

O cultivo irrigado é caracterizado por ocorrer em solos nivelados, com abastecimento de água proveniente de chuvas e irrigação facilitando o acúmulo de água no campo durante o crescimento da cultura. A semeadura é direta ou suplantada, as condições de cultivo são mais estáveis do que as de sequeiro, há menor risco de incidência de doenças, insetos e ervas daninhas e o rendimento dos grãos é alto e estável (FAGERIA, 2001).

O manejo integrado da cultura de arroz irrigado é importante para a maximização da eficiência dos recursos naturais e insumos, uma vez que propicia aumento da produtividade da lavoura e reduz o custo de produção. A irrigação permanente e a fertilização nitrogenada no arroz irrigado deve ser realizada em épocas apropriadas. A manutenção da lâmina de água na superfície do solo influencia os aspectos fisiológicos da planta de arroz, as condições físicas, químicas e biológicas do solo e interfere na disponibilidade de nutrientes, no controle de plantas indesejáveis, pragas e doenças (FAGERIA; BALIGAR, 2005).

Durante as fases de cultivo da planta de arroz é possível observar os impactos decorrentes da temperatura. Baixas temperaturas limitam a expansão de área foliar e reduzem o número de folhas e a quantidade foliar decresce na etapa de maturação (SHIMONO et al., 2012). O percentual de espiguetas estéreis aumenta, diminuindo consideravelmente a biomassa acumulada e, conseqüentemente, a produtividade do arroz (DENG et al., 2015).

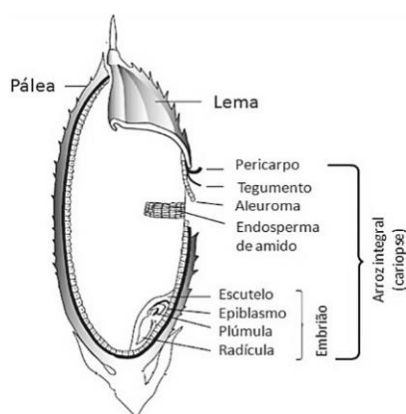
3.2 MORFOLOGIA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO GRÃO DE ARROZ

O arroz é responsável pelo suprimento de 20% de calorias necessárias diariamente. O consumo médio mundial de arroz é de 54 kg/pessoa/ano, sendo que nos países asiáticos esta

média é mais elevada (78 kg/pessoa/ano) e o Brasil tem destaque na América do Sul por ser um grande consumidor deste cereal (32 kg/pessoa/ano) (SOSBAI, 2018).

O grão de arroz é constituído por casca, cariopse e germe. A casca, formada pela pálea e lema, representa cerca de 20% do grão inteiro. Além disso, 80% da casca são consideradas partes do grão de arroz integral. A composição da casca consiste em celulose e minerais (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008; KOBLITZ, 2011). A cariopse é composta por camadas distintas, sendo as principais o pericarpo, o tegumento e a aleurona, correspondendo de 5 a 8% do arroz integral, e pelo endosperma. O endosperma é formado pela aleurona e pelo endosperma amiláceo e representa de 89 a 94% do grão. O germe, ou embrião, encontra-se no lado ventral da base do grão e constitui de 2 a 3% do arroz integral (JULIANO; BRECHTEL, 1985; ZHOU et al, 2002) (Figura 1).

Figura 1 – Estrutura do grão de arroz



Fonte: MCLEAN et al. (2002).

A composição do arroz está sujeita aos efeitos de variáveis bióticas, de manejo e de processamento (abióticas). O amido é o principal constituinte, seguido de quantidades menores de proteínas, lipídios, fibras e cinzas (ZHOU et al, 2002). O polimento reduz o valor nutricional do grão devido a distribuição dos nutrientes não ser uniforme nas diferentes frações do grão. O endosperma é rico em amido e as camadas externas possuem maiores teores de proteínas, lipídios, fibras, minerais e vitaminas, afetando a composição do arroz integral, branco polido e parboilizado (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008).

O teor de proteínas encontrado no arroz varia de 7% a 10% (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008; DORS; BIERHALS; BADIALE-FURLONG, 2011; ABUBAKAR et al., 2018) e é influenciado pelas condições de manejo, clima e genótipo (CHAMPAGNE et al., 2004). O polimento reduz o teor proteico do arroz devido a remoção do

farelo rico em proteínas, logo, arroz integral apresenta maiores conteúdos de proteínas do que o polido (AMAGLIANI et al., 2017) com ou sem emprego de parboilização (HEINEMANN et al., 2005). A glutelina é a maior fração proteica do endosperma do arroz e a albumina é predominante no farelo. Em relação aos demais cereais, o arroz se destaca pelo maior conteúdo do aminoácido limitante lisina (KOBELITZ, 2011; AMAGLIANI et al., 2017).

No arroz, os lipídios (cerca de 2%) podem estar na forma livre na aleurona, no endosperma e no germe, ou ligados a grânulos de amido (KOBELITZ, 2011). O teor de lipídios é maior no arroz integral e menor em arroz branco polido (menor que 1%), uma vez que os lipídios estão mais concentrados no gérmen (1/3 do conteúdo total) e na camada de aleurona (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008). Os principais ácidos graxos encontrados no arroz são os ácidos palmítico, oleico e linoleico, correspondendo a 95% dos ácidos graxos presentes nos lipídios totais (ZHOU et al., 2003; STRIEDER et al., 2017).

Os minerais estão mais concentrados nas camadas externas do grão de arroz, correspondendo a aproximadamente 72% no farelo e 28% no grão, e apresentam grande influência pelas condições de cultivo e de processamento. As vitaminas do complexo B e vitamina E estão mais concentradas nas camadas externas do grão (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008). A parboilização promove a migração de componentes do farelo e da casca para o interior do grão, como vitaminas, minerais e proteínas, melhorando o valor nutricional e alterando as propriedades físico-químicas e organolépticas do arroz (LAMBERTS et al., 2008).

Os principais constituintes do arroz são os carboidratos, compostos majoritariamente por amido que compõe aproximadamente 90% da matéria seca do arroz polido, e por menores frações de açúcares livres e fibras. O endosperma é composto basicamente por amido enquanto que no farelo e gérmen estão as fibras e os açúcares livres (JULIANO, 1993; WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008). A sacarose, glicose e frutose são os açúcares livres mais encontrados no arroz (TRAN et al., 2004). As paredes celulares do endosperma do arroz apresentam maiores quantidades de celulose e pectina e menores quantidades de pentosana e β -glicanas do que os demais cereais, apresentando menores proporções de fibras (ZHOU et al., 2002; KOBELITZ, 2011).

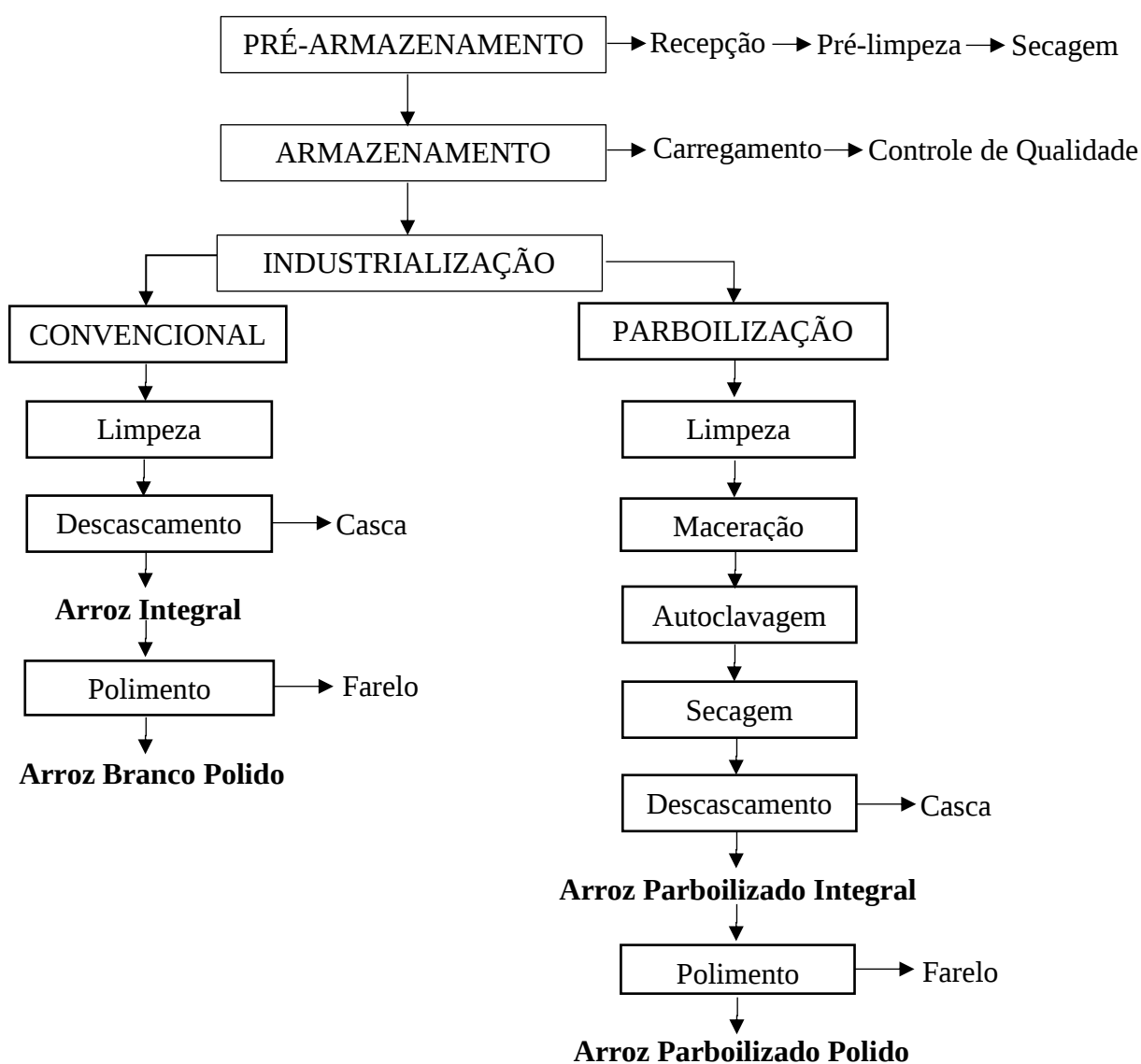
3.3 BENEFICIAMENTO DO ARROZ

A Instrução Normativa nº 6 de 2009 do Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) estabelece que o arroz no Brasil deve ser proveniente da espécie *Oryza sativa* L e sua forma de apresentação deve ser arroz com casca ou arroz beneficiado. O arroz

com casca engloba arroz natural e o arroz parboilizado, e o arroz beneficiado compreende o arroz integral, arroz polido, arroz parboilizado integral e arroz parboilizado polido (BRASIL, 2009).

A colheita ocorre quando os grãos de arroz apresentam umidade entre 18 e 24% e o prolongamento do período de campo não é indicado devido ao aumento do risco de ocorrência de grãos quebrados e defeituosos no beneficiamento (GOMES; MAGALHÃES JUNIOR, 2004; SANTOS; STONE; VIEIRA, 2006). O beneficiamento consiste basicamente nas etapas de pré-armazenamento, armazenamento e industrialização e pode ocorrer pelo modo convencional ou com o emprego de parboilização (Figura 2).

Figura 2 – Fluxograma do beneficiamento industrial de arroz



Fonte: Adaptado de Koblitiz (2011) e Elias, Oliveira, Vanier (2012).

Ao chegar à indústria, o arroz é submetido à pesagem e à amostragem para análises de qualidade dos grãos. Posteriormente, devido a possibilidade do arroz chegar na unidade industrial com teores de impurezas, matérias estranhas e umidade elevadas, é necessário realizar pré-limpeza e secagem dos mesmos na etapa de pré-armazenamento. Os grãos pré-limpos e secos são armazenados em silos metálicos onde ocorre o controle da qualidade do cereal basicamente pela verificação da temperatura do silo, incidência de pragas e umidade dos grãos (GOMES; MAGALHÃES JUNIOR, 2004; ELIAS et al., 2012).

Na industrialização, os grãos são submetidos a um flutuador em máquina de limpeza convencional de ar e peneiras planas para completar a retirada de poeiras e materiais leves. Em seguida, os grãos passam por um conjunto composto por “trieurs” e peneiras. O “trieur” é um cilindro de paredes alveoladas que separa os grãos quebrados e outros materiais de comprimento menor do que os grãos. A peneira, plana ou cilíndrica, separa os materiais de menor espessura dos grãos (ELIAS et al., 2012).

Na etapa de industrialização convencional, o arroz integral é obtido por meio do descascamento do grão de arroz separando a casca da cariopse. Durante o polimento, obtêm-se o arroz branco polido, pela remoção do farelo, composto pelo pericarpo, tegumento, aleurona e germe (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2008).

A parboilização dos grãos de arroz com casca contribui para o aumento do rendimento industrial devido a redução da quebra dos grãos durante a moagem, redução da adesividade do arroz, aumento da vida útil, migração de vitaminas hidrossolúveis e minerais do farelo para o centro do grão (HEINEMANN et al., 2005; LAMBERTS et al., 2008). Porém, ocorrem algumas transformações físico-químicas indesejáveis, como desenvolvimento de sabor, textura e cor desagradáveis para alguns consumidores e também a migração de contaminantes (COELHO; BADIALE-FURLONG; ALMEIDA, 1999). A parboilização consiste nas etapas de encharcamento, autoclavagem e secagem (AMATO; ELIAS, 2005).

O encharcamento (maceração) consiste na hidratação dos grãos de arroz com casca em água aquecida para que o amido tenha umidade adequada a fim de facilitar sua gelatinização. A absorção de água ocorre até o grão atingir cerca de 30% de umidade, evitando o máximo possível a abertura da casca. Esta etapa resulta na difusão de substâncias solúveis em água e facilita a distribuição de calor da casca até o centro do endosperma conforme os espaços vazios são umedecidos. O processo é realizado com água quente pois facilita a atuação da água sobre as pontes de hidrogênio existentes entre as estruturas de amilose e amilopectina que compõem o amido, rompendo-as e aumentando a absorção de água pelos grãos (BHATTACHARYA; ALI, 1985; ELIAS et al., 2012). A hidratação pode ser acelerada por temperaturas acima da

temperatura de gelatinização, porém, favorece a ação microbiológica e a abertura das cascas resultando em perda de compostos hidrossolúveis. Temperaturas abaixo da temperatura de gelatinização, resultam em maior tempo para encharcamento e menor quantidade de água absorvida (GUTKOSKI; ELIAS, 1994). Comumente temperaturas entre 58 e 70 °C com duração de 4 a 7 h são utilizadas para que os grãos atinjam cerca de 30% de umidade (MIAH et al., 2002; AMATO; ELIAS, 2005).

Ao fim da etapa de maceração, o excesso de água dos grãos é eliminado e os grãos são transferidos para a autoclave. A autoclavagem utiliza pressões que variam de 0,5 a 1,2 kgf cm⁻² durante 5 a 30 min (ELIAS et al., 2012; BUGGENHOUT et al., 2013). A gelatinização, é uma operação unitária que visa “soldar” os grãos que estariam quebrados na operação de beneficiamento convencional, especificamente quando há a remoção da casca e do farelo, para obtenção de arroz branco polido. Esta etapa possui efeito positivo de pasteurização, devido ao fornecimento de calor, eliminando micro-organismos e inativando enzimas (AMATO; CARVALHO; SILVEIRA FILHO, 2002). Quando o arroz atinge a temperatura de gelatinização, rupturas na estrutura cristalina dos grânulos de amido ocorrem e os mesmos começam a intumescer e formar soluções viscosas, promovendo um excesso de água no grão (BOTELHO, et al. 2010). A gelatinização torna os grãos mais resistentes à quebra e fixa nutrientes que migraram durante o encharcamento, como vitaminas e sais minerais hidrossolúveis. Após a gelatinização, os grãos de arroz com casca encontram-se com umidade entre 30 e 32% (AMATO; CARVALHO; SILVEIRA FILHO, 2002).

A secagem reduz a umidade dos grãos à valores abaixo de 14% e favorece a retrogradação do amido. Para a obtenção do rendimento máximo de grãos inteiros, determina-se uma condição ótima entre tempo e temperatura para que a secagem seja lenta e prolongada (AMATO; ELIAS, 2005; RAO; BAL; GOSWAMI, 2007).

3.4 AMIDO E SEU PAPEL NA QUALIDADE DO ARROZ

A alta concentração de amido presente no arroz caracteriza o cereal como excelente fonte de energia, pois representa cerca de 80 à 90% do total de polissacarídeos consumidos em uma dieta (WALTER; SILVA; EMANUELLI, 2005). O amido é um carboidrato de reserva abundante em cereais, raízes e tubérculos. É composto por cadeias de amilose (ligações α -1,4 linear) e amilopectina (ligações α -1,4 e α -1,6 ramificado). O teor de amido e a proporção de amilose-amilopectina dependem do tipo de cereal, tubérculo, raiz e genótipo (FENNEMA; DAMADORAN; PARKIN, 2010).

As moléculas de amilose e amilopectina estão dispostas radialmente no grânulo de amido (FENNEMA; DAMADORAN; PARKIN, 2010). A cristalinidade dos grânulos é atribuída principalmente em função das duplas hélices formadas pelas ramificações da amilopectina (HOOVER, 2001). As áreas cristalinas mantêm a estrutura do amido e controlam o seu comportamento na presença de água e o tornam resistente ou não à ataques químicos e enzimáticos. A região amorfa do amido é menos densa, mais suscetível a ataques enzimáticos e absorve mais água em temperaturas abaixo da temperatura de gelatinização (BILLIADERIS, 1991).

Em função dos diferentes teores de amilose, o amido de arroz é classificado em quatro grupos: ceroso (1-2% de amilose), teor muito baixo de amilose (2-12%), baixo teor de amilose (12-20%), conteúdo intermediário de amilose (20-25%) e alto teor de amilose (>25%) (JULIANO, 1993; TECHAWPHARAT; SUPHANTHARIKA; BEMILLER, 2008). O conteúdo de amilose é um parâmetro importante para avaliação da qualidade tecnológica e de consumo do arroz (WALTER; MARCHEZAN; AVILA 2008). Grãos aquosos e pegajosos no cozimento são característicos de cultivares com baixo teor de amilose; grãos secos, soltos e mais duros são de cultivares com alto teor de amilose; e grãos soltos e macios são de cultivares com teor intermediário de amilose (PEREIRA; RANGEL, 2001). A estrutura das cadeias de amilopectina e o teor de proteínas também são parâmetros importantes para características tecnológicas do arroz (ONG; BLANSHARD, 1995).

A gelatinização do amido ocorre quando grânulos, aquecidos em água, incham de forma irreversível, causando perda da organização estrutural, isto é, perda de birrefringência e fusão dos cristais. Este processo inicia no hilum e se expande rapidamente para a periferia, iniciando em regiões amorfas devido à fragilidade das ligações de hidrogênio nessas áreas, ao contrário do que ocorre nas regiões cristalinas (SINGH et al., 2003). O conjunto de mudanças que envolvem a ruptura da estrutura granular, o inchamento, a hidratação e a solubilização das moléculas de amido caracteriza o fim da gelatinização (THARANATHAN, 2002).

A retrogradação é caracterizada pela reassociação das moléculas de amido, estabilizadas pelas ligações de hidrogênio, obtendo uma estrutura mais ordenada (KOKSEL et al., 2008). Esse fenômeno ocorre, principalmente, pelas moléculas de amilose que se aproximam com maior facilidade devido à sua estrutura linear, enquanto que na amilopectina, a retrogradação ocorre somente na periferia da sua molécula (JAILLAIS et al., 2006).

Em relação à digestibilidade, o amido pode ser classificado como glicêmico ou resistente. O amido glicêmico, ou amido disponível (AD), é degradado a glicose por meio de enzimas do trato digestivo no qual se subdivide em amido rapidamente digerível (ARD) e em

amido lentamente digerível (ALD) no intestino delgado (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992; YUE; WARING, 1998). O amido resistente (AR) é a fração de amido que resiste a digestão no intestino delgado, mas que é fermentado no intestino grosso pela microflora bacteriana (YUE; WARING, 1998). Os produtos dessa fermentação são ácidos graxos de cadeia curta, acético, propiônico e butírico e gases como hidrogênio, dióxido de carbono e metano (TOPPING; CLIFTON, 2001). A produção de ácidos graxos de cadeia curta contribui para a saúde intestinal, como aumento da absorção de cálcio e de magnésio, proliferação epitelial e a manutenção do equilíbrio das espécies bacterianas. Estes efeitos auxiliam na prevenção de doenças, como câncer do trato digestivo, dislipidemia, diabetes e doenças cardiovasculares (BROUNS; KETTLITZ; ARRIGONI, 2002).

O amido resistente é classificado em cinco tipos: AR₁ é o amido fisicamente inacessível, envolto por matriz proteica e material de parede celular que o impede de sofrer hidrólise enzimática e de gelatinizar, e é comumente encontrado em grãos grosseiramente moídos integrais como o trigo duro; AR₂ é o amido granular com polimorfos do tipo B ou C em sua estrutura que o tornam altamente resistente a hidrólise enzimática, como o amido de batata crua, amido de banana verde e amido de milho com alto teor de amilose; AR₃ se refere a amilose e ao amido retrogradado que após gelatinização e armazenamento (4-5 °C), suas moléculas de amilose e as longas cadeias ramificadas de amilopectina formam dupla hélices, perdendo sua capacidade de ligação com a água e dificultando a hidrólise enzimática, e é comum em alimentos amiláceos que foram cozidos e resfriados; AR₄ é o amido quimicamente modificado, como amido reticulado e amido octenil succinato; e AR₅, provenientes da amilose e das cadeias longas de amilopectina que formam complexos helicoidais com ácidos graxos simples e álcoois graxos, este tipo é termicamente estável e é encontrado em alimentos com alto teor de amilose e ácido esteárico (BIRT et al., 2013).

Os teores de amido disponível e resistente são parâmetros importantes para avaliar a qualidade do arroz, principalmente quanto à digestibilidade do amido. O consumo de alimentos à base de arroz com maiores teores de AR pode auxiliar no controle de diabetes *Mellitus* tipo II, devido sua lenta digestão e absorção no intestino delgado, reduzindo respostas glicêmicas e insulinêmicas pós-prandiais (KUMAR et al., 2018). Os tipos de amido resistente que podem estar presentes no arroz cozido são principalmente AR₃, formado pela lixiviação e retrogradação da amilose, em que a estrutura helicoidal dupla da amilose retrogradada perde sua capacidade de associação com a água e não se encaixa no sítio de ligação da amilase, resistindo a digestão, e AR₅, pela formação de complexos amilose-lipídeo (BIRT et al., 2013). As mudanças na estrutura do complexo durante o cozimento e resfriamento podem afetar a

formação de AR e as camadas de aleurona presentes em grãos de arroz integral e parboilizado integral inibem a penetração das enzimas digestivas para o interior do grão, reduzindo a taxa de hidrólise do amido durante a digestão gastrointestinal (TAMURA et al., 2016).

A digestibilidade do amido também pode ser afetada por fatores intrínsecos como a presença de complexos amido-lipídio e amido-proteína e de inibidores como a α -amilase e polissacarídeos não amiláceos (THARANATHAN, 2002), assim como por fatores extrínsecos, como tempo de mastigação, tempo de trânsito do alimento da boca até o íleo terminal, concentração de amilase no intestino, quantidade de amido presente no alimento e a presença de outros componentes que podem retardar a hidrólise enzimática (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992; THARANATHAN, 2002).

O teor de AR pode ser determinado por método *in vivo*, técnica onerosa e complexa, pois envolve humanos e animais, que consiste na realização de coletas de amostra diretamente do íleo ou pela estimativa da quantidade de amido fermentado no cólon. Os métodos *in vitro* simulam a hidrólise realizada por meio de enzimas amilolíticas que ocorre na parte superior do trato digestivo e determinam o teor de AD de acordo com a glicose liberada. O resíduo remanescente passa por outra hidrólise com hidróxido de potássio ou dimetilsulfóxido e enzimas amilolíticas, sendo determinado como AR (CHAMP; FAISANT, 1996). Os métodos de determinação de AR *in vitro* dependem do preparo da amostra, tipo e quantidade de enzimas, condições de tempo e temperatura de incubação e substâncias utilizadas para a solubilização da fração resistente (WALTER; SILVA; EMANUELLI, 2005).

3.5 FUNGOS E MICOTOXINAS

Os fungos tendem a crescer em alimentos com pH baixo (3 ou menos), atividade de água de 0,66 a 0,99 e em temperaturas que variam de 0 °C a acima de 40 °C, utilizam uma gama de nutrientes e podem formar esporos e se disseminar. O metabolismo fúngico adapta-se melhor a alimentos com alto teor de carboidratos, pois possuem enzimas ativas para hidrolisar este tipo de substrato (TANIWAKI; IAMANAKA; BANHE, 1999), como é o caso dos cereais.

Fungos patogênicos causam danos à produtividade de *commodities* agrícolas (BRYDEN, 2007). Em plantas de arroz e em seus grãos, os fungos são os principais responsáveis pela deterioração da cultura desde o cultivo até as etapas de pós-colheita, levando a perda do valor nutricional e alterações de cor, sabor e odor dos grãos de arroz. A presença de fungos, mesmo quando pouco visível, gera grandes perdas durante o cultivo e armazenamento (SCUSSEL; SAVI; BEBER-RODRIGUES, 2012).

Os fungos contaminantes de grãos são divididos em dois grupos, de campo ou de armazenamento. Dentre os fungos de campo, têm-se o gênero *Fusarium*, que invade os grãos no período de pré-colheita e requer um alto teor de umidade para seu crescimento, em torno de 20%. Os fungos de armazenamento, principalmente os gêneros *Aspergillus* e *Penicillium*, requerem menor teor de umidade para seu crescimento, ao redor de 16% (FIGUEIRA et al., 2003).

O *Fusarium* pertence ao gênero cosmopolita de fungos ascomicetos filamentosos (O'DONNELL et al., 2013) e é geralmente encontrado na fase haploide em parte do ciclo, os quais se multiplicam como saprófitos em resíduos da cultura de cereais (MCMULLEN; JONES; GALLEMBERG, 1997). Na fase assexuada, de um ascomiceto ocorre a produção de esporos assexuais (macroconídios). Na fase sexuada, há a produção de esporos sexuais (ascósporos) em corpos de frutificação (peritécios). Ambos esporos podem iniciar epidemias de grande impacto em cultivos de cereais (GOSWAMI; KISTLER, 2005; KLIX; BEYER; VERRET, 2008).

O gênero *Fusarium* possui uma ampla gama de espécies adaptáveis em diferentes climas. Muitas destas espécies são patogênicas e afetam a produção agrícola e a saúde animal devido a capacidade de produção de micotoxinas como zearalenona, fumonisinas e tricotecenos, responsáveis por micotoxicoses que acometem globalmente a saúde de humanos e de animais. As espécies *F. graminearum* e *F. culmorum* são comumente encontradas nas etapas de pré e pós-colheita de muitos cereais, como trigo, cevada, milho e arroz, ou até mesmo após processamento destas matérias-primas (BRYDEN, 2007).

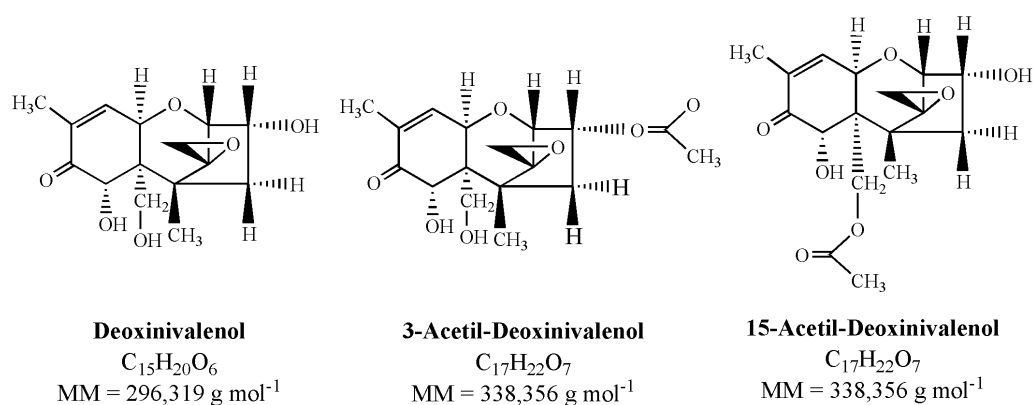
As micotoxinas são metabólitos secundários produzidos por fungos filamentosos como resposta ao estresse oxidativo, deficiência de nutrientes, competição com outros micro-organismos ou pragas e presença de ativadores e inibidores no ambiente de infecção (BADIALE-FURLONG, 2012; PONTS et al., 2006). Durante a colonização e infecção, os fungos podem ser expostos aos metabólitos do hospedeiro e espécies reativas de oxigênio, podendo desencadear vias de resposta, como a que produz estas toxinas fúngicas (PONTS et al., 2006). As micotoxinas possuem baixo peso molecular e estruturas distintas pois são provenientes de metabolismos secundários distintos, próprios das espécies produtoras e da biomolécula precursora. A termoestabilidade das micotoxinas está relacionada com as suas estruturas, geralmente cíclicas e complexas (BADIALE-FURLONG, 2012).

3.5.1 Tricotecenos

Os tricotecenos são sesquiterpenóides não voláteis sintetizados pela via biossintética dos terpenóides (GROVE, 2007) provenientes principalmente dos metabolismos secundários dos fungos das espécies de *Fusarium* e em menor extensão pelos gêneros *Trichotecium* e *Myrothecium* (HUSSEIN; BRASEL, 2001). Esta classe de micotoxinas é composta por anéis sesquiterpênicos com uma estrutura central de 12,13-epoxitricotec-9-eno tricíclico, caracterizada pela presença de dupla ligação entre os carbonos 9 e 10 e um grupo epóxido entre os carbonos 12 e 13. A toxicidade dos tricotecenos é atribuída principalmente pelo anel 12,13-epóxido (ALEXANDER; PROCTOR; MCCORMICK, 2009). A classificação dos tricotecenos em tipos A, B, C ou D refere-se aos grupos de substituição nos carbonos 3, 4, 7, 8 e 15 em que os tipos A, B e C diferem apenas no substituinte do carbono 8 (TERCIOLO et al., 2018).

Os tricotecenos do grupo B, são encontrados em maiores concentrações nos alimentos à base de cereais, sendo o deoxinivalenol o mais prevalente (LEBRUN et al., 2015). O grupo B é representado por nivalenol (NIV), deoxinivalenol (DON), 3-acetil-deoxinivalenol (3-ADON) e 15-acetil-deoxinivalenol (15-ADON) (KRSKA; MOLINELLI, 2007). O deoxinivalenol (DON) é o tricoteceno mais estudado do grupo B, e dele derivam os acetilados 3-acetil-deoxinivalenol (3-ADON) e 15-acetil-deoxinivalenol (15-ADON) (BENSASSI et al., 2009). O 3-ADON possui um grupamento acetil na posição 3 da molécula de DON, enquanto que o 15-ADON possui um grupamento acetil na posição 15 da molécula de DON (ALEXANDER et al., 2011) (Figura 3).

Figura 3 – Estrutura química dos tricotecenos DON, 3-ADON e 15-ADON.



Em nível celular, os tricotecenos ligam-se aos ribossomos, inibem a síntese de proteínas, DNA e RNA e ativam várias quinases de sinalização associadas ao ribossomo (MINERVINI; FORNELLI; FLYNN, 2004; PESTKA, 2010). Além disso, induzem o estresse oxidativo e afetam a integridade e função da membrana celular em células eucarióticas (ARUNACHALAM; DOOHAN, 2013). O DON inibe a síntese proteica pela ligação ao ribossoma e interage com a peptidil-transferase na subunidade ribossômica 60S, levando à estresse ribotóxico, ativação da via de sinalização MAPK e parada do ciclo celular (SUNDSTOL; PETTERSSON; LUNDH, 2004; WANG et al., 2014).

A ingestão de alimentos contaminados por tricotecenos do grupo B ocasiona diversos efeitos em humanos e animais como anorexia, dor abdominal, vômitos, perda de peso, alterações neuroendócrinas e imunológicas, leucocitose, hemorragia, choque circulatório e, eventualmente, morte. A gravidade dos efeitos destas micotoxinas, depende da dose e duração da exposição (PESTKA; SMOLINSKI, 2005; PESTKA, 2010). Os tricotecenos podem atuar como imunoestimuladores ou imunossupressores em animais (LI; PESTKA, 2008).

A transformação microbiológica do DON pode ocorrer no intestino de animais principalmente no ceco, cólon e reto. Essa transformação de DON é caracterizada pela redução da citotoxicidade em células do rim de suínos (UENO, 1986). A tolerância à ação de tricotecenos é maior em ruminantes, enquanto que animais monogástricos são mais sensíveis a estas micotoxinas (UENO, 1986; LANGSET; RUNDBERGET, 1998). Em humanos, o decréscimo na taxa de leucócitos, náusea, vômito, anorexia e convulsões estão relacionados a contaminações de alimentos por *F. graminearum* (BRYDEN, 2007). Os derivados acetilados 3-ADON e 15-ADON apresentam toxicidade equivalente ou maior do que o DON em animais. Além disso, podem ser desacetiladas em DON no trato digestivo de organismos (ERIKSEN; PETTERSSON; LUNDH, 2004).

3.5.2 Tricotecenos em Arroz

O arroz é facilmente contaminado por fungos devido a práticas de manejo inadequadas que levam ao acúmulo de micotoxinas (ZHAO et al., 2019) como aflatoxinas, citrinina, deoxinivalenol, fumonisinas, nivalenol, ocratoxina A e zearalenona, resultando em sério risco à saúde de humanos e animais (TANAKA et al., 2007). Na pós-colheita, a contaminação ocorre se a secagem for retardada e durante o armazenamento se a umidade exceder o nível crítico, propício ao crescimento fúngico. A colheita atrasada em climas chuvosos, precipitação não sazonal e deposição de orvalho, são fatores que favorecem a

contaminação por micotoxinas. Durante a parboilização, devido ao amolecimento dos grãos e abertura da casca durante a maceração e gelatinização, a migração de fungos e micotoxinas para o interior do grão é facilitada (KUMAR; BASU; RAJENDRAN, 2008).

O deoxinivalenol é o tricoteceno mais comumente encontrado no arroz, sendo relatado mundialmente por diversos autores. No Brasil, Nunes et al. (2003) ao realizarem levantamento de ocorrência de micotoxinas em 56 amostras de arroz comercial da região Sul do Brasil, detectaram a presença de DON em apenas uma amostra de arroz branco polido na concentração de $300 \mu\text{g kg}^{-1}$, correspondendo a apenas 1,8% de incidência desta micotoxina em relação as demais amostras analisadas e Dors, Bierhals e Badiale-Furlong (2011) verificaram 22% de incidência de DON com concentrações obtidas de até $400 \mu\text{g kg}^{-1}$ em amostras de arroz parboilizado polido e parboilizado integral. Em outros países, como Índia, Murthy, Rati e Manonmani (2009) revelaram incidência de 24% de DON, em concentrações que chegaram até $500 \mu\text{g kg}^{-1}$ em amostras de arroz. Lee et al. (2011), na Coreia, relataram incidência de DON de 4%, 4%, 68% e 0% para arroz integral, arroz tingido de azul, arroz descolorido e branco polido, respectivamente. O arroz descolorido destacou-se por apresentar a maior contaminação por DON, a qual correspondeu a $1355 \mu\text{g kg}^{-1}$. Ok, Lee e Chun (2018) verificaram incidência de DON em 5% das amostras de arroz branco polido (contaminação máxima de $372,2 \mu\text{g kg}^{-1}$), 7% em arroz integral (concentração máxima de $434,5 \mu\text{g kg}^{-1}$) e 31% no farelo de arroz (concentração máxima de $655,6 \mu\text{g kg}^{-1}$) da Coreia do Sul.

Outros tricotecenos do grupo B como nivalenol, 3-acetil-deoxinivalenol, 15-acetil-deoxinivalenol e fusarenona X já foram encontrados em arroz produzido no mundo, porém com menor frequência (PARK et al., 2005; LEE et al., 2011; OK et al., 2011; KIM et al., 2016; SUN; HU, 2016; OK; LEE; CHUN, 2018). No Brasil, Gomes et al. (2015) ao avaliarem a extensão da diversidade do complexo de espécies de *Fusarium Graminearum* (FGSC) em sementes de arroz produzidas no sul do país, detectaram 4 espécies e 2 genótipos de tricotecenos entre os 89 isolados do complexo. Dentre os isolados, 69,6% corresponderam a *F. asiaticum* com o genótipo nivalenol (NIV), 14,6% a *F. graminearum* com o genótipo 15-ADON e 14,6% de *F. cortaderiae* e 1,1% de *F. meridionale*, ambos com o genótipo de NIV. Além disso, 7 isolados de *F. asiaticum* produziram NIV e 2 isolados de *F. graminearum* produziram 15-ADON e 3-ADON em teste *in vitro* com substrato à base de arroz. Com isso, os autores confirmaram a dominância de *F. asiaticum* em agroecossistemas de arroz do Brasil bem como a composição do complexo FGSC em arroz fora da Ásia.

A legislação vigente no Brasil delimita limite máximo tolerável apenas para o tricoteceno deoxinivalenol (DON) (BRASIL, 2011). Para o arroz beneficiado e seus derivados,

o Limite Máximo Tolerável (LMT) de DON no Brasil é de $750 \mu\text{g kg}^{-1}$ (BRASIL, 2011), no entanto, a partir do ano de 2019, o LMT de DON em farelo de arroz o passa a ser de $1000 \mu\text{g kg}^{-1}$ (BRASIL, 2017). A União Europeia estabelece limite máximo tolerável de $1250 \mu\text{g kg}^{-1}$ para cereais não transformados com exceção de trigo duro, aveia e milho, cabendo apenas ao arroz com casca, e de $750 \mu\text{g kg}^{-1}$ para alimentos destinados ao consumo direto, farinha, sêmola e gérmen de cereais, onde o arroz dos subgrupos de arroz branco polido, parboilizado integral, parboilizado polido e integral se enquadram a esta última classificação (UE, 2007).

Os tricotecenos são estáveis por muitos anos quando estocados à temperatura ambiente e podem ser aquecidos a 100°C sem sofrer degradação. Variações das propriedades físico-químicas tornam complexa a detecção destes compostos (SNYDER, 1986). Para a quantificação simultânea de tricotecenos dos grupos A e B é importante considerar suas diferentes polaridades, necessitando a padronização de metodologias para determinação destes analitos em matrizes específicas, preferencialmente com geração mínima de resíduos (IBAÑEZ-VEA; LIZARRAGA; GONZALEZ-PENAS, 2011).

3.5.3 Determinação de Micotoxinas

Para minimizar os níveis de contaminação ou evitar os efeitos tóxicos causados em humanos e animais por micotoxinas, a determinação destes contaminantes pela utilização de métodos analíticos que envolvem técnicas de separação é necessária. Em função disso, a sensibilidade, especificidade, rapidez e eficiência exigidos, bem como, os limites de tolerância para micotoxinas estabelecidos pelos órgãos regulamentadores, têm sido respeitado pelos pesquisadores (RODRIGUEZ-MOZAZ; ALDA; BARCELÓ, 2007).

Os métodos para determinação de micotoxinas devem ser rápidos, confiáveis e economicamente viáveis. Dentre eles, os mais conhecidos e utilizados são os instrumentais, como cromatografia gasosa e líquida de alta eficiência, e os métodos rápidos, que envolvem a cromatografia de camada delgada, métodos enzimáticos e imunoensaios. Em vista disso, a cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas tem sido considerada uma boa ferramenta para detecção simultânea e confirmação de tricotecenos e zearalenona (TANAKA et al., 2000; FURLONG; BARAJ, 2003; EKE; TORKOS, 2004).

Em multi-análise de micotoxinas um dos principais desafios é desenvolver uma técnica rápida e simples de extração destes analitos em matrizes de alimentos complexas. As etapas de extração e de limpeza são consideradas as mais críticas para a determinação de micotoxinas, devido a possibilidade de ocorrer perdas que comprometem os resultados das

análises (LATTANZIO et al., 2007). A extração de micotoxinas de suas matrizes é complexa pois depende do tipo de matriz, das propriedades físico-químicas das micotoxinas e do solvente mais apropriado para seu isolamento (SORIANO et al., 2004). As principais técnicas bem como métodos de extração de micotoxinas que vem sendo utilizados são a partição sólido-líquido, partição líquido-líquido, extração em fase sólida (SPE), QuEChERS, dispersão da matriz em fase sólida (MSPD), e colunas de imunoafinidade (SOARES; RODRIGUES-AMAYA, 1989; ANASTASSIADES et al., 2003; BARKER, 2007; LAGANÁ et al., 2010). A minimização do impacto ambiental, o tempo de exposição dos analistas a solventes tóxicos e o desenvolvimento de multimétodos que determinam uma ampla gama de analitos em uma única extração são fatores que também têm sido considerados ao longo dos anos na análise de contaminantes (HANS et al., 2008; HERNANDEZ-HIERRO et al., 2008).

A técnica de extração MSPD (do inglês *Matrix Solid-Phase Dispersion*), aplicada a amostras biológicas sólidas, semi-sólidas e/ou altamente viscosas, envolve a dispersão da matriz sobre suportes sólidos, seguida de eluição (BARKER, 2000). A MSPD, permite que as etapas de extração e limpeza ocorram simultaneamente, possibilita a combinação de diferentes suportes sólidos e solventes e reduz a quantidade mínima de amostra, caracterizando a técnica como viável, de baixo custo, rápida, flexível, versátil e confiável (BARKER, 2000; CALDAS et al., 2013; CAPRIOTTI et al., 2013).

A utilização de menores quantidades de amostra combinada com menor consumo de solvente aumentam consideravelmente a competitividade da MSPD frente a outros métodos clássicos já utilizados e dever ser considerada como alternativa no desenvolvimento de novos protocolos analíticos (BARKER, 2007), uma vez que esta técnica apresenta procedimento analítico simplificado e reduzido, elimina a possibilidade de formação de emulsão e eleva a eficiência de extração dos analitos à medida que toda a amostra é exposta ao suporte sólido (BOGLIALLI; DI CORCIA, 2007). A natureza do suporte sólido e o tipo de solvente de eluição, são fatores que podem afetar esta técnica (BARKER, 2002). O desenvolvimento e/ou utilização de novos suportes sólidos aliado a utilização de solventes apropriados para isolar o composto de escolha e a miniaturização e automação da técnica de MSPD ampliam sua aplicação para diversas matrizes e analitos (BARKER, 2007).

Em razão da complexidade da matriz em estudo, a utilização de suportes sólidos alternativos para melhorar a extração de analitos e a retirada de interferentes torna-se necessária (CALDAS et al., 2013). Os suportes sólidos (dispersantes), podem ser materiais inertes que possuem material abrasivo simples que garantem a completa ruptura da matriz, ou materiais seletivos que melhoram a seletividade e limpeza juntamente com a etapa de extração

(CAPRIOTTI et al., 2015). O suporte sólido C18 atua na retirada de interferentes de caráter lipofílico (LANÇAS, 2008) e já foi reportado para a extração de micotoxinas (RUBERT; SOLER; MAÑES, 2011; MASSAROLO et al., 2018). A alumina neutra atua como suporte alternativo para a retirada de interferentes polares e já foi relatada na extração de pesticidas em arroz (DÓREA; SOBRINHO, 2004). Quando a cromatografia gasosa é utilizada como técnica analítica de separação, o sulfato de sódio anidro pode ser adicionado ao meio de dispersão da técnica de MSPD como agente dessecante, retendo água e solventes menos polares, para melhorar a extração e posteriores recuperações do método analítico (CAPRIOTTI et al., 2010).

Algumas modificações da técnica têm sido realizadas para torná-la mais simples e de fácil execução, como a modificação conhecida como dispersão da matriz em fase sólida assistida por vórtex (VA-MSPD) em que a etapa de eluição realizada em cartucho é substituída pela agitação em vórtex (SEBASTIA et al., 2010; CALDAS et al., 2013; CERQUEIRA et al., 2018). A substituição do empacotamento em coluna (cartuchos) pelo emprego de vórtex na etapa de eluição (VA-MSPD) além de proporcionar redução do risco de exposição do analista ao solvente e do manuseio da amostra, já têm sido aplicada na extração de micotoxinas em matrizes complexas proporcionando resultados satisfatórios e confiáveis no que se refere a extração de aflatoxinas em farinhas de milho e arroz (MASSAROLO et al., 2018; DA SILVA et al., 2019).

A cromatografia é uma técnica analítica de separação amplamente utilizada devido ao seu alto desempenho e por ser possível sua combinação a diferentes sistemas de detecção (VÉKEY, 2001). A cromatografia gasosa (CG) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) são as técnicas cromatográficas mais comumente acopladas à espectrometria de massas (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008). Este acoplamento combina as vantagens da cromatografia como alta seletividade e eficiência de separação com as vantagens da espectrometria de massas como obtenção de informações estruturais, massa molar e aumento da seletividade (VÉKEY, 2001).

A grande vantagem da cromatografia gasosa é seu alto poder de resolução, superior a outras técnicas cromatográficas. Além disso, é capaz de separar dezenas de substâncias presentes em uma mesma amostra em aproximadamente 20-30 minutos. A preparação da amostra pode ser longa e complexa, pois para separação por cromatografia gasosa, os compostos devem ser voláteis, ou tornados voláteis por derivatização química, e termicamente estáveis (SOARES, 2006). O acoplamento do cromatógrafo à gás ao espectrômetro de massas (CG-EM) promove alta especificidade, precisão e facilidade para lidar com misturas complexas que este detector possui (PITT, 2009) e é simples pois a necessidade de alto vácuo do

espectrômetro de massas é compatível com o funcionamento do cromatógrafo à gás (ARDREY, 2003).

Os tricotecnos podem ser detectados empregando cromatografia gasosa, acoplada a detectores de ionização de chama, captura eletrônica e espectrometria de massas devido a baixa absorvidade na região do ultravioleta-visível (CIGIC; PROSEN, 2009; KOCH, 2004; KRŠKA; MOLINELLI, 2007). Embora os tricotecnos, em função da sua polaridade, necessitem de derivatização para redução do ponto de ebulição tornando-os vaporizáveis em CG-EM e com maior estabilidade térmica (RAN et al., 2013). A CG-EM oferece um desempenho analítico vantajoso, conferindo maior seletividade e resolução cromatográfica (SOARES, 2006; RODRÍGUEZ-CARRASCO et al., 2014).

A derivatização consiste em uma reação química que modifica a estrutura de compostos pela geração de novos produtos com melhores propriedades cromatográficas. Moléculas contendo grupos funcionais como $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, $-\text{NH}$ e $-\text{SH}$ em sua estrutura tem a capacidade de formar pontes de hidrogênio, acarretando em fraca volatilidade e baixa estabilidade térmica, o que leva a interações com a fase estacionária, resultando em baixa detecção e diminuição da vida útil da fase estacionária (HALKET; ZAIKIN, 2003).

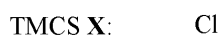
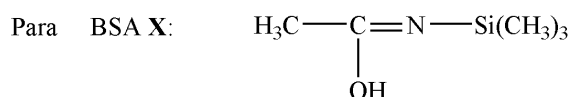
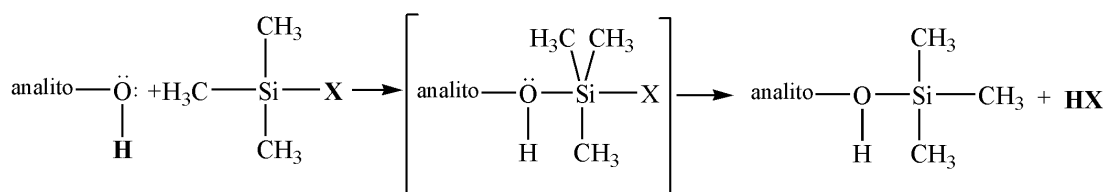
A principal função da derivatização é reduzir o ponto de ebulição de moléculas não voláteis tornando-as vaporizadas em CG-EM, contribuindo também para maior estabilidade térmica de moléculas lábeis ao calor (RAN et al., 2013), aumento da sensibilidade e seletividade de análises em nível traço e determinação quantitativa por monitoramento de íon selecionados (SIM) (HALKET; ZAIKIN, 2003).

As reações de derivatização mais utilizadas na detecção de analitos por CG-EM são sililação, acilação e alquilação. Para a detecção de tricotecnos como o deoxinivalenol e seus derivados, as reações de sililação e acilação são as mais adotadas. Dentre os reagentes de sililação estão o BSA (N,O-bis-(trimetilsilil)-acetamida), TMCS (trimetilclorossilano), TMSI (N-trimetilsililimidazol) e TMS (trimetilsilil) (TANAKA et al., 2000). Os reagentes de acilação mais utilizados são TFAA (anidrido ácido trifluoroacético), PFPA (anidrido pentafluoropropiônico) e HFBI (heptafluorobutiril imidazol) (YUE et al., 2010).

A sililação é vantajosa devido sua simplicidade, rapidez e versatilidade para análises via CG, além de ocorrer em uma única etapa e apresentar alto rendimento até em condições brandas, há o bloqueio dos sítios próticos, o que reduz as interações do tipo dipolo-dipolo e eleva a volatilidade dos compostos de interesse, resultando em picos cromatográficos mais estreitos e simétricos (HALKET; ZAIKIN, 2003).

O mecanismo da reação de sililação é de substituição de segunda ordem S_N2, em que o par de elétrons do heterotátomo mais eletronegativo (oxigênio, nitrogênio ou enxofre) ataca o átomo de silício do grupo silil pela região de menor impedimento estérico, produzindo um estado de transição bimolecular (Figura 4). O grupo de saída (X) deve apresentar pouca ou nenhuma tendência para se ligar novamente com o átomo de silício e ter facilidade de saída do estado de transição bimolecular. Devido a formação do estado de transição ser reversível, a derivatização completa ocorre se a basicidade do grupo de saída X for maior que a do grupo analito-silil (BLAU; HALTEK, 1993). Além disso, quanto menor o impedimento estérico do grupamento do analito a ser ligado no grupo silil, mais rápida e facilitada se torna a derivatização. A sililação ocorre em hidrogênios ativos, logo, é necessário evitar a utilização de solventes próticos, portanto, os solventes mais comumente utilizados são piridina, hexano, isooctano, dimetilsulfóxido e acetonitrila. O emprego de aquecimento durante a reação também proporciona uma derivatização mais efetiva (HALKET; ZAIKIN, 2003).

Figura 4 – Reação de derivatização por Sililação



FONTE: Adaptado de Knapp (1979).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 MATERIAL

Os reagentes e solventes utilizados nos experimentos foram: metanol grau HPLC (J. T. Baker), acetonitrila grau HPLC (J. T. Baker), n-hexano grau HPLC (Qhemis), tolueno (Merck), sulfato de sódio anidro (Dinâmica), alumina neutra (Merck), C18 (DSC 18 Supelco), derivatizante composto por N,O-bis(trimetilsil)acetamida, trimetilclorossilano e N-trimetilsilimidazol (BSA:TMCS:TMSI, 3:2:3, v/v/v, Supelco), bicarbonato de sódio (ProQuimios), éter de petróleo P.A. (Neon), albumina de soro bovino (Inlab), álcool etílico 95% (Dinâmica), água destilada, hidróxido de sódio P.A. (Cinética), ácido clorídrico P.A. (Vetec), iodo P.A. (Synth), cloreto de sódio P.A. (Synth), óleo de soja, bicarbonato de sódio P.A. (Synth), ácido cítrico P.A. (Vetec), citrato de sódio P.A. (Synth), citrato de sódio tribásico (Sigma-Aldrich), acetato de sódio P.A. (Synth), dimetilsulfóxido P.A. (Neon), ácido 3,5-dinitrosalicílico P.A. (Vetec), glicose P.A. (Synth), ácido sulfúrico (Synth), peróxido de hidrogênio (Synth), ácido bórico (Synth), folin (Dinâmica), α -amilase (produzida por *Aspergillus oryzae*, Sigma-Aldrich), amiloglicosidade (produzida por *Aspergillus niger*, Sigma-Aldrich) e protease (produzida por *Aspergillus oryzae*, Sigma-Aldrich).

Os principais equipamentos utilizados nos experimentos foram espectrofotômetro (UV-Vis modelo Cirrus 80, Femto; modelo SP220, Biospectro), balança analítica de precisão (modelo AY220, Marte), banho termostático com agitação (Quimis), banho ultrassônico (modelo Ultrasonic Cleaner, Unique), centrífuga refrigerada (modelo CT-5000R, Cientec), agitador tipo vórtex (modelo Biomixer VTX-2500), agitador orbital (Incubadora modelo TE-420, Tecnal); autoclave (Phoenix); mufla (Quimis), pHmetro (modelo HI221, Hanna Instruments), peneiras (Bertel Indústria Metalúrgica), bloco digestor (Oxylab), destilador (modelo TE0363, Tecnal), digestor (Gerhardt Kjeldatherm), estufa de secagem com circulação de ar (modelo Q314M222, Quimis), extrator Soxhlet (modelo Q30826B, Quimis), banho de areia (Quimis), cromatógrafo à gás acoplado a espectrômetro de massas (Shimadzu, modelo GC-MS-QP2010 SE), mini-engenho de provas (modelo PAZ-1-DTA; Zaccaria S/A, São Paulo, Brasil), colorímetro (Minolta, modelo CR400, Japão) e texturômetro (TA.XTplus).

4.2 AMOSTRAS

As amostras de arroz irrigado (cultivar Guri Inta CL) e de arroz de sequeiro (cultivar BRSGO Serra Dourada) foram obtidas dos estados brasileiros Rio Grande do Sul e Goiás, respectivamente, coletados em empresas destas regiões. Cerca de 1 kg de arroz foram beneficiados em mini-engenho de provas Zaccaria (modelo PAZ-1-DTA; Zaccaria S/A, São Paulo, Brasil) para obter arroz branco polido, integral, parboilizado polido e parboilizado integral. Os grãos foram moídos e as partículas passantes por peneiras com diâmetro de 0,5 mm foram utilizadas para o estudo da composição química, determinação das frações de amido disponível e resistente, índice de solubilidade em água, poder de inchamento e na determinação de tricotecenos.

Para a realização da aplicabilidade do método validado para determinação de tricotecenos em arroz, foram adquiridas 16 amostras de arroz (tipo 1, classe longo fino) de diferentes marcas do comércio local da cidade de Rio Grande (RS). Além destas, as 4 amostras de arroz irrigado (cultivar Guri Inta CL) e 4 amostras de arroz de sequeiro (cultivar BRSGO Serra Dourada) também foram utilizadas. Entre as 24 amostras de arroz, foram avaliados os subgrupos de arroz branco polido (n=6), integral (n=6), parboilizado polido (n=6) e parboilizado integral (n=6) devido à maior preferência do consumidor e disponibilidade no mercado para compra.

4.3 PADRÕES

Os padrões de tricotecenos deoxinivalenol (DON), 3-acetil-deoxinivalenol (3-ADON) e 15-acetil-deoxinivalenol (15-ADON), com pureza $\geq 98\%$, foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, Missouri, EUA). Foram preparadas soluções trabalho de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$, para cada micotoxina, a partir das soluções estoque previamente ressuspensas em tolueno:acetonitrila (95:5, v/v). As concentrações dos tricotecenos foram determinadas em espectrofotômetro à 220 nm considerando as absorvidades molar de DON (6805 mol L^{-1}), 3-ADON (6983 mol L^{-1}) e 15-ADON (6983 mol L^{-1}). Posteriormente, as soluções trabalho foram secas em atmosfera de N_2 e armazenadas sob congelamento à -18°C até a utilização (AOAC, 1995).

4.4 COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Os conteúdos de umidade (Método nº 935.29), cinzas (Método nº 923.03), lipídios (Método nº 920.85) e proteínas (fator de conversão 5,95) (Método nº 920.87) foram determinados de acordo com a AOAC (2000). Os carboidratos foram estimados por diferença. Os teores de açúcares redutores e redutores totais foram quantificados por método colorimétrico com o ácido 3,5-dinitrosalicílico (3,5-DNS) de Miller (1959).

O amido total presente nas amostras de arroz foi determinado pelo método colorimétrico do complexo amido-iodo adaptado (GARDA-BUFFON; BARAJ; BADIALE-FURLONG, 2010). Para a obtenção do extrato, 0,3 g de amostra e cerca de 30 mL de água destilada foram aquecidos a 80 °C por aproximadamente 5 min, sob constante agitação, até a gelatinização dos grânulos (solução translúcida). Após resfriamento, o extrato teve seu volume ajustado para 50 mL. A reação colorimétrica consistiu na adição de 0,4 mL de extrato, 14,4 mL de água destilada e 0,2 mL de iodo (0,3% de I₂ em solução de KI 3%) em tubo de ensaio. A quantificação foi realizada pela curva padrão de amido (faixa linear 0 a 0,21 mg mL⁻¹) em espectrofotômetro à 620 nm.

O conteúdo de amilose foi determinado segundo Martínéz e Cuevas (1989) com adaptações. A extração de amilose do arroz foi realizada a partir de 100 mg de amostra, 1mL de álcool etílico (95%, v/v) e 9 mL de NaOH 1M, seguido de incubação à 100 °C por 10 min, resfriamento a temperatura ambiente, volume ajustado a 100 mL com água destilada e repouso por 3 h. A reação colorimétrica consistiu na adição de 1 mL de extrato, 8,2 mL de água destiladas e 0,8 mL de iodo (0,3% de I₂ em solução de KI 3%). Os extratos foram quantificados pela curva padrão de amilose (0 a 20 µg mL⁻¹) em espectrofotômetro à 620 nm. A amilopectina foi estimada pela diferença entre o conteúdo de amido e amilose para cada amostra de arroz.

4.5 TRATAMENTO HIDROTÉRMICO

Para determinação das frações de amido disponível e resistente, cor e textura, grãos beneficiados de arroz irrigado e de sequeiro foram tratados hidrotermicamente em chapa elétrica simulando a cocção convencional doméstica conforme Becker-Algeri et al. (2013). A proporção de arroz:NaCl:óleo de soja foi de 1:0,01:0,02 (p/p/p). As proporções de água em relação ao arroz foram 1:3 (p/v) para arroz branco e parboilizado polido e de 1:4 (p/v) para arroz integral e parboilizado integral. O tratamento hidrotérmico foi realizado a 100 °C até completa absorção de água e gelatinização. O teste de cocção foi realizado pela compressão do

grão cozido sobre duas placas de vidro para avaliação visual da gelatinização dos grãos. O produto foi considerado cozido quando o centro do grão se tornou transparente.

4.6 DETERMINAÇÃO DAS FRAÇÕES DE AMIDO DISPONÍVEL E RESISTENTE

As frações de amido disponível (AD) e amido resistente (AR) foram determinadas para as amostras de arroz cozido de acordo com método de digestão *in vitro* da AOAC 996.11 com modificações de Walter, Silva e Perdomo (2005). Foram realizadas duas lavagens com 20 mL de etanol 80% aquecido nas amostras previamente pesadas (300 mg) para remoção de interferentes (açúcares livres e lipídios). Após, as amostras foram hidrolisadas com 190 μ L de α -amilase e 3 mL de tampão citrato 100 mM pH 6,0 (incubação por 5 min a 95 °C); 25 μ L de protease (incubação de 30 min a 60 °C); e 3 mL amiloglicosidase e 4 mL tampão acetato de sódio 200 mM pH 4,5 (incubação de 30 min a 50 °C). Em seguida, foram centrifugadas a 3220 $\times g$ por 10 min. Aos resíduos foram adicionados 10 mL tampão acetato de sódio 200 mM pH 4,5 seguido de centrifugação a 3220 $\times g$ por 10 min. Para cada amostra, os sobrenadantes resultantes das duas centrifugações foram avolumados a 100 mL para determinação do amido disponível. Aos resíduos obtidos da segunda centrifugação foram adicionados 2 mL de dimetilsulfóxido com posterior incubação por 5 min a 95 °C e realização de hidrólises com 190 μ L de α -amilase (incubação de 5 min a 95 °C) e 3 mL de amiloglicosidase e 4 mL de tampão acetato de sódio 200 mM pH 4,5 (incubação de 30 min a 50 °C). Ao fim das incubações, as amostras foram centrifugadas a 3220 $\times g$ por 10 min e então os sobrenadantes foram avolumados a 10 mL para a determinação de amido resistente. As atividades enzimáticas das enzimas α -amilase, protease e amiloglicosidase utilizadas foram, respectivamente, 30 U mg^{-1} de amido não hidrolisado, 1 U mL^{-1} de tirosina consumida e 1,8 U mL^{-1} de glicose produzida.

Os teores de AD e AR foram determinados pela quantificação da glicose livre pelo método colorimétrico de redução do ácido 3,5-DNS (Miller, 1959) considerando o fator de conversão de glicose livre em amido de 0,9. O percentual de absorção de água pelas amostras de arroz cozido foi considerado nos cálculos e os resultados foram expressos em relação aos percentuais de amido dos grãos de arroz.

4.7 PROPRIEDADES FÍSICAS DO ARROZ

A cor dos grãos crus e cozidos das amostras de arroz foi avaliada utilizando colorímetro (Minolta, modelo CR400, Japão). Foram medidos os parâmetros luminosidade L^*

(luminosidade; branco=100; preto=0) e cromaticidades a^* (positivo=vermelho; negativo=verde) e b^* (positivo=amarelo; negativo=azul).

O perfil de textura dos grãos de arroz cozidos foi obtido em texturômetro TA.XTplus, software Exponent Stable Micro System, com célula de carga de 5 g e compressão de dois ciclos necessária para comprimir 80% da espessura original do grão cozido, retornar à sua posição original e comprimir novamente. A velocidade de pré-teste e pós-teste foi de 1 e 5 mm s⁻¹, respectivamente, velocidade de teste de 5 mm s⁻¹ e distância inicial de teste de 10 mm. Os parâmetros determinados foram: dureza, força máxima requerida para comprimir a amostra em percentagem pré-estabelecida (N); mastigabilidade, número de mastigações necessárias para tornar o alimento com consistência aceitável para ser engolido (N/s); gomosidade, energia requerida para desintegrar um alimento semissólido para um estado pronto para ser engolido, sem mastigar (N); elasticidade, grau com que o alimento retoma a sua forma após compressão parcial da língua contra os dentes ou céu da boca (mm); e adesividade, força necessária para remover o alimento que adere na língua, nos dentes e nas mucosas (N/s) (BOURNE, 2002).

O Índice de Solubilidade em Água (ISA) e o Poder de Inchamento das amostras de arroz foram determinados de acordo com Leach, McCowen e Schoch (1959). Para a determinação do índice de solubilidade em água, 1 g de amostra foi adicionado em tubo Falcon com 50 mL de água com posterior agitação em vórtex por 30 s, em seguida, foi incubado a 90 °C por 30 min. Após resfriamento, a solução foi centrifugada por 20 min a 3220 xg . O sobrenadante foi coletado e transferido para uma cápsula e então foi seco a 105 °C até peso constante. O índice de solubilidade em água foi calculado de acordo com a Equação 1. O poder de inchamento consistiu em pesar o resíduo sólido para posterior cálculo pela Equação 2.

$$ISA = \left(\frac{PRE}{PA} \right) \times 100 \quad (1)$$

$$PI = \frac{PRC}{PA - PRE} \quad (2)$$

Em que ISA é o Índice de Solubilidade em Água (%); PA é o Peso da Amostra em base seca (g); PI é o Poder de Inchamento (%); PRC é o Peso do Resíduo de Centrifugação (g); e PRE é o Peso do Resíduo de Evaporação (g).

4.8 DETERMINAÇÃO DE TRICOTECENOS

4.8.1 Condições Cromatográficas

A identificação e quantificação de tricotecenos foi realizada em Cromatógrafo à Gás (CG) acoplado à um Espectrômetro de Massas (EM) (Shimadzu – GC-MS-QP2010 SE) equipado com porta de injeção split/splitless com câmara de ionização de Impacto de Elétrons. A separação ocorreu em coluna capilar (Restek, modelo RTX-5MS 30m x 0,25mm ID x 0,25 µm UDF), tendo como gás de arraste Hélio e analisador tipo Quadrupolo.

Os parâmetros cromatográficos e de espectrometria de massas aplicados foram de acordo com Pereira, Fernandes e Cunha (2015). A injeção cromatográfica foi realizada no modo splitless a 270 °C (60 s). A programação da rampa de aquecimento do forno foi a seguinte: a. 140 °C por 1,5 min; b. 280 °C a 10 °C min⁻¹; c. 300 °C a 20 °C min⁻¹, mantido por 5 min. O tempo total de execução foi de 21,5 min. A temperatura da interface para o EM foi de 280 °C. Os parâmetros espectrométricos utilizados foram: ionização por impacto de elétrons de 70 eV; temperatura da fonte de íons de 230 °C; temperatura do analisador quadrupolo de 150 °C; e tempo de atraso do solvente de 3 min.

Primeiramente, foi utilizado o modo SCAN para a identificação e definição do tempo de retenção, íon de quantificação e íons de identificação pela varredura dos íons gerados para cada micotoxina em estudo. Posteriormente, para quantificação destes analitos foi adotado o modo SIM, que consiste no monitoramento dos íons selecionados na etapa anterior (Tabela 1).

Tabela 1 – Condições espectrométricas para análise de tricotecenos derivatizados por CG-EM.

Micotoxinas [M] ⁺	Tempo de Retenção (min)	Íons modo SIM (m/z)	
		Identificação	Quantificação
DON [MW+216] ⁺	14,6	235	247, 297, 422
3-ADON [MW+144] ⁺	15,6	377	223, 289, 244
15-ADON [MW+144] ⁺	15,8	235	350, 392, 304

[M]⁺: forma ionizada dos analitos; DON: deoxinivalenol; 3-ADON: 3-acetil-deoxinivalenol; 15-ADON: 15-acetil-deoxinivalenol.

4.8.2 Extração de Tricotecenos

O método de extração utilizado foi o de Dispersão da Matriz em Fase Sólida Assistido por Vórtex (em inglês, *VA-MSPD*) adaptado de Massarolo et al. (2018). As modificações realizadas foram: adição de 0,25 g de Na_2SO_4 anidro, redução do volume de solvente na etapa de eluição de 10 mL para 5 mL, volume de extrato coletado de 5 mL para 2 mL e testes variando proporção de solventes MeOH:MeCN (0:100, 100:0 e 50:50, v/v) e de quantidades de suportes sólidos C18 (0, 0,25, 0,3 e 0,5 g) e Al_2O_3 neutra (0, 0,25, 0,3, 0,5 e 1,0 e 1,5 g).

Em um *graal* de porcelana foram adicionados 1 g de amostra, 0,25 g de Na_2SO_4 anidro e misturas de C18: Al_2O_3 neutra, seguido por maceração por 5 min. Em seguida, a mistura foi transferida para tubos de polipropileno para realização da etapa de eluição com 5 mL de diferentes proporções de MeOH:MeCN. Posteriormente, a amostra foi agitada em vórtex por 3 min, centrifugada a 3220 xg por 10 min e 2 mL do sobrenadante foram coletados para a obtenção do extrato. O extrato obtido foi seco a 60 °C em banho de areia para posterior etapa de derivatização.

4.8.3 Derivatização de Tricotecenos

O método de derivatização utilizado foi adaptado de Pereira, Fernandes e Cunha (2015). Inicialmente, foram adicionados 50 µL do derivatizante BSA:TMCS:TMSI (3:2:3, v/v/v) ao extrato seco com posterior agitação em vórtex por 30 s. Após, a mistura foi aquecida em banho de areia a 80 °C por 20 min seguida da adição de 1 mL de n-hexano e 300 µL de NaHCO_3 0,1% pH 9,1. Em seguida, a mistura foi agitada vórtex por 30 s e submetida a congelamento a -18°C por 30 min, para separação e visualização das fases pelo congelamento da fase inferior. Por fim, 800 µL da fase superior foram recolhidos, seco sob atmosfera de N_2 e ressuspenso em 1 mL de n-hexano e agitado em vórtex por 1 min antes da injeção cromatográfica.

4.8.4 Validação do Método Cromatográfico

O limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) para cada tricoteceno foi obtido considerando três e dez vezes a relação sinal-ruído, respectivamente. A linearidade foi avaliada pelas curvas de calibração padrão na faixa de concentração do LOQ para cada

micotoxina, variando do LOQ a 10 vezes o LOQ para cada micotoxina. A exatidão (recuperação) e precisão (repetibilidade e precisão intermediária) do método foi avaliada em conformidade com SANTE/11945/2015 (SANTE, 2016) e Brasil (2003). Arroz integral irrigado (1g) foi fortificado com os padrões de DON, 3-ADON e 15-ADON em três níveis de recuperação 1, 5 e 10 vezes o LOQ para DON e 15-ADON e 1, 3 e 6 vezes o LOQ para 3-ADON. Cada nível de fortificação foi extraído por VA-MSPD em triplicata e injetado três vezes (n=9). As recuperações, exatidão e precisão para cada micotoxina nos três níveis de contaminação foram obtidas de acordo com as Equações 3 e 4, respectivamente.

$$R (\%) = \left(\frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100 \quad (3)$$

$$CV (\%) = \left(\frac{s}{\bar{x}} \right) \times 100 \quad (4)$$

Onde R(%) é o percentual de recuperação, C_1 concentração determinada na amostra fortificada, C_2 concentração determinada na amostra não fortificada (branco da amostra), C_3 concentração do analito no solvente, CV(%) é o coeficiente de variação em percentual, s é o desvio padrão das recuperações e $\bar{x}$ é a média das recuperações.

A incerteza do método foi determinada segundo Ellison e Williams (2012) e Martins et al. (2016) a partir dos resultados de repetibilidade e precisão intermediária referentes aos três níveis de recuperação de DON, 3-ADON e 15-ADON, conforme indicado pelas Equações 5, 6, 7, 8 e 9.

$$I_{\text{nível}} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (5)$$

$$I_{(c)} = \sqrt{I_1^2 + I_2^2 + I_3^2} \quad (6)$$

$$I_{(t)} = 100 - R_{\text{média}} \quad (7)$$

$$I_{(c,t)} = \sqrt{I_c^2 + I_t^2} \quad (8)$$

$$I = 2 \cdot I_{(c,t)} \quad (9)$$

Em que $I_{\text{nível}}$ é a incerteza calculada em cada nível de recuperação, s é o desvio padrão, n é o número de réplicas, $I_{(c)}$ é a incerteza padrão combinada dos três níveis, $I_{(t)}$ é a incerteza total obtida pela médias das recuperações obtidas dos três níveis, $I_{(c,t)}$ é a incerteza obtida pela incerteza padrão combinada e a incerteza total e I é a incerteza obtida para cada micotoxina em termos de repetibilidade e precisão intermediária.

O efeito de matriz (EM) foi avaliado de acordo com SANTE/11945/2015 (SANTE, 2016) e Brasil (2003) conforme a Equação 10, comparando a inclinação da curva do solvente com a inclinação da curva da matriz, preparadas com fortificações (seis pontos) das micotoxinas no solvente e no branco do extrato de arroz integral, respectivamente. A extensão dos efeitos provenientes dos interferentes da matriz foi observada pela porcentagem de superestimação (+) ou supressão (-) do sinal.

$$EM(\%) = \left(1 - \frac{S_m}{S_s}\right) \times 100 \quad (10)$$

Onde EM(%) é o efeito de matriz, S_m é a inclinação da curva na matriz e S_s é a inclinação da curva no solvente.

4.9 MIGRAÇÃO DE DEOXINIVALENOL DURANTE A PARBOILIZAÇÃO DO ARROZ

Para a realização do estudo de migração de deoxinivalenol durante a parboilização dos grãos de arroz irrigado e de sequeiro, as amostras foram previamente contaminadas com $750 \mu\text{g kg}^{-1}$ do tricoteceno deoxinivalenol 24 h antes da realização do processo. A contaminação consistiu em adicionar alíquotas de deoxinivalenol à medida que os grãos com casca eram colocados em camadas no frasco de parboilização. A proporção de arroz com casca e água foi utilizada de acordo com Dors, Pinto e Badiale-Furlong (2009) e as condições de processo adotadas foram segundo Paiva et al. (2016). Primeiramente, foi realizada a etapa de maceração em que os grãos com casca foram submersos em água destilada na proporção 1:2 (p/v) e mantidos em banho-maria a 60°C por 4 h. Posteriormente, o excesso de água dos grãos foi retirado e estes foram gelatinizados a 108°C ($0,4 \text{ kgf cm}^{-2}$) por 10 min. Em seguida, os grãos gelatinizados foram deixados em repouso por aproximadamente 12 h a temperatura ambiente. Por fim, os grãos parboilizados foram secos a 38°C em estufa de secagem com circulação de ar até alcançarem aproximadamente 13% de umidade.

Os grãos parboilizados e secos foram beneficiados em mini-engenho de provas Zaccaria (modelo PAZ-1-DTA; Zaccaria S/A, São Paulo, Brasil) para obtenção de arroz parboilizado polido, parboilizado integral, casca e farelo. Os grãos beneficiados foram moídos e as partículas passantes por peneiras com diâmetro de 0,5 mm foram utilizadas para determinação de deoxinivalenol.

A determinação de deoxinivalenol foi de acordo com o método validado para extração por VA-MSPD e determinação dos tricotecenos por CG-EM descrito ao decorrer do Item 4.8. O percentual de migração para cada amostra foi cálculo de acordo com a equação 6.

$$M_{\text{DON}}(\%) = \left(\frac{C_{\text{final}}}{C_{\text{inicial}}} \right) \times 100 \quad (6)$$

Em que M_{DON} é o percentual de migração do deoxinivalenol (%), C_{final} é a concentração de deoxinivalenol final na amostra após parboilização ($\mu\text{g kg}^{-1}$) e C_{inicial} é a concentração de deoxinivalenol inicial na amostra antes da parboilização ($\mu\text{g kg}^{-1}$).

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os efeitos do emprego de parboilização (parboilizado ou não) e grau de beneficiamento (integral ou polido) foram analisados frente a composição físico-química das cultivares de arroz irrigado (Guri Inta CL) e de sequeiro (BRSGO Serra Dourada), respectivamente, e o efeito de diferentes condições de extração sobre as recuperações das três micotoxinas estudadas (DON, 3-ADON e 15-ADON) foram avaliados por Análises de Variância Bifatoriais (ANOVA). Testes de Shapiro-Wilks e Bartlett foram utilizados para verificação da normalidade e homocedasticidade dos dados, respectivamente. Quando necessário, os dados foram transformados para melhor ajuste aos pressupostos da ANOVA. O Teste de Tukey foi utilizado para avaliar a diferença estatística entre as médias dos experimentos realizados em triplicata. As Análises de Variância foram realizadas utilizando o software *Statistica 7.0* (StatSoft. Inc.) a 5% de significância.

Relações entre a composição proximal (cinzas, lipídios, proteínas e carboidratos), açúcares redutores e redutores totais, amido total, amilose, amilopectina, amido disponível, amido resistente, dureza, poder de inchamento e índice de solubilidade em água foram verificadas por correlações de Pearson. Posteriormente, estas variáveis dependentes foram submetidas a análise multivariada ACP (Análise dos Componentes Principais) para suas

interações com as independentes Emprego de Parboilização e Grau de Beneficiamento. As correlações de Pearson e as análises dos componentes principais foram realizadas para cada cultivar em estudo (Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada) utilizando o *software Past versão 2.17c* (D.A.T. Harper).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ARROZ IRRIGADO E DE SEQUEIRO

Os efeitos das variáveis independentes de pós-colheita tais como o emprego de parboilização e o grau de beneficiamento foram avaliadas na caracterização de duas variedades de arroz: uma recomendada para cultivo irrigado (Guri Inta CL) e outra pra cultivo em sequeiro (BRSGO Serra Dourada). O grau de beneficiamento (GB) está considerado em dois níveis, menor GB, etapa em que ocorre apenas o descascamento dos grãos (obtenção dos subgrupos de arroz integral e parboilizado integral), e maior GB, etapa em que ocorre descascamento seguido de polimento dos grãos (obtenção dos subgrupos de arroz branco polido e parboilizado polido). A Tabela 2 apresenta os resultados de composição química, amido disponível e resistente e na Tabela 3 estão os resultados dos parâmetros físicos para as cultivares de arroz irrigado e de sequeiro, respectivamente.

5.1.1 Composição Química

Os teores de cinzas para as cultivares Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada foram menores em grãos com maior grau de beneficiamento (polidos). Para os diferentes subgrupos da cultivar Guri Inta CL, o grau de polimento provocou diferença estatística entre arroz polido e integral pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Os subgrupos integral e parboilizado polido da cultivar de arroz de sequeiro não diferiram significativamente em relação ao grau de polimento ($p > 0,05$) (Tabela 2). O emprego da parboilização proporcionou aumento no percentual de cinzas em arroz parboilizado polido e parboilizado integral quando comparado ao arroz branco polido, principalmente para os produtos provenientes do arroz cultivado em sequeiro. Os resultados obtidos estão de acordo com Abubakar et al. (2018), que encontraram variações entre 0,3% e 0,6% e 1,7% e 1,8% para arroz branco e arroz integral, respectivamente, e Dors, Pinto e Badiale-Furlong (2009) com variação entre 0,6% e 0,7% em arroz parboilizado polido.

O conteúdo lipídico do arroz é reduzido com a remoção do farelo e do gérmen durante o polimento dos grãos, como indicado pelos diferentes subgrupos das cultivares de arroz irrigado e de sequeiro em relação a diferença estatística ($p < 0,05$) (Tabela 2). Heinemann et al. (2005), encontraram resultados semelhantes, obtendo para amostras de arroz branco polido, integral, parboilizado polido e parboilizado integral, cultivados sob irrigação, teores de lipídios de 0,5%, 2,7%, 0,4% e 2,7%, respectivamente.

O conteúdo de proteínas encontrado em arroz branco polido difere significativamente dos subgrupos integral e parboilizado integral ($p < 0,05$), sendo o teor proteico maior nos subgrupos parboilizados provenientes da cultivar BRSGO Serra Dourada (Tabela 2). Os teores de proteínas obtidos estão de acordo com o encontrado na literatura em que Abubakar et al. (2018) encontraram em arroz branco e arroz integral conteúdos proteicos entre 7,8 e 9,8% e 9,5 e 9,8%, respectivamente.

Os teores de carboidratos encontrados em arroz branco polido provenientes das suas cultivares são significativamente diferentes dos encontrados em arroz integral e parboilizado integral ($p < 0,05$) (Tabela 2), devido a estes compostos estarem mais concentrados no endosperma amiláceo do grão, no entanto, menores frações de carboidratos também podem ser encontradas no farelo e no gérmen sob a forma de açúcares livres. Silva et al. (2017) encontraram valores semelhantes na farinha obtida do arroz branco polido da cultivar Guri Inta CL (aproximadamente 91%).

Uma vez que o amido é o principal carboidrato deste cereal, este também foi maior em arroz branco polido e parboilizado polido e menor em arroz integral tanto da cultivar Guri Inta CL quanto para a cultivar BRSGO Serra Dourada ($p < 0,05$) (Tabela 2). Li et al. (2016), obtiveram resultados semelhantes quando determinaram teores de amido entre 78% e 86,1% em 12 variedades de arroz branco polido. As condições de cultivo, como suprimento de água e temperatura, influenciam a formação de amido no grão de arroz, além disso, sua concentração pode ser alterada pelo emprego de parboilização onde a gelatinização parcial acarreta na modificação estrutural desta macromolécula. O maior grau de beneficiamento promove aumento do teor de amido total dos grãos de arroz branco polido e parboilizado polido devido a remoção de outros constituintes do farelo como proteínas, lipídios e cinzas.

Maiores teores de amilose foram encontrados em arroz branco polido das cultivares Guri Inta CL (21,0%) e BRSGO Serra Dourada (19,0%), que diferiram significativamente dos outros produtos ($p < 0,05$). Em contrapartida, maiores teores de amilopectina foram encontrados em arroz parboilizado, destacando-se o arroz parboilizado polido proveniente da cultivar Guri Inta CL (66,9%) e o parboilizado integral da cultivar BRSGO Serra Dourada (64,5%). A proporção amilose/amilopectina foi maior em arroz branco polido tanto para a cultivar irrigada (0,35) quanto para a de sequeiro (0,30) (Tabela 2). Silva et al. (2017), encontraram 21,4% de amilose em arroz branco (cultivar Guri Inta CL) e Abubakar et al. (2018) obtiveram variações entre 12,5-26,1% e 12,5-25,7% nos teores de amilose de arroz branco polido e integral, respectivamente, valores similares aos encontrados neste estudo.

Segundo Birt et al. (2013), ocorre lixiviação durante a parboilização e posterior retrogradação das cadeias de amilose que anteriormente estavam ligadas as moléculas de amilopectina, podendo facilitar a quantificação. No entanto, a redução dos conteúdos de amilose e amido total pode ocorrer devido a formação de complexos amilose-lipídio, amilose-amilose e amilose-amilopectina quando o amido é submetido a tratamento hidrotérmico (WADUGE et al., 2006) como a parboilização e/ou cocção do arroz. Além disso, os resultados de quantificação de amido total e amilose pelo método colorimétrico utilizando iodo podem ser afetados pela competição entre o iodo e os lipídios na formação do complexo com a amilose (SILVA et al., 2017).

Maiores conteúdos de açúcares redutores e redutores totais, encontrados em arroz integral e parboilizado integral de ambas cultivares (Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada, Tabela 2), podem estar relacionados com o emprego de temperaturas mais altas e pressão durante a parboilização, o que facilita a degradação do amido, bem como a migração dos açúcares presentes nas camadas externas para o interior dos grãos durante a parboilização e/ou isomerização de outros carboidratos concentrados no farelo (LAMBERTS et al., 2008; MOONGNGARM; SAETUNG, 2010), visto que o arroz branco polido foi o que apresentou menor teor de açúcares redutores. Moongngarm e Saetung (2010) encontraram valores semelhantes em arroz integral, correspondendo a 190 mg e 910 mg 100g⁻¹ para açúcares redutores e açúcares redutores totais, respectivamente.

Os teores de amido disponível (AD) e de amido resistente (AR) são parâmetros considerados importantes para avaliar a qualidade do arroz, principalmente quanto à digestibilidade do amido. O AD é degradado a glicose por enzimas do trato digestivo (ENGLYST; KINGMAN; CUMMINGS, 1992) enquanto que o AR resiste a digestão no trato gastrointestinal (KUMAR et al., 2018). Portanto, esta relação afeta o valor nutricional do arroz como fonte de energia uma vez que o consumo de alimentos à base de arroz com maiores teores de AR pode auxiliar no controle de diabetes tipo II, devido sua lenta digestão e absorção no intestino delgado, reduzindo respostas glicêmicas e insulinêmicas pós-prandiais (KUMAR et al., 2018).

O arroz parboilizado integral da cultivar Guri Inta CL e o arroz integral da cultivar BRSGO Serra Dourada apresentaram os menores teores de amido disponível (67,7% e 68,6%, respectivamente). Quanto ao amido resistente, o arroz parboilizado integral e o integral da cultivar de sequeiro seguido do arroz parboilizado polido da cultivar irrigada, destacaram-se pelos maiores conteúdos (17,2%, 16,4% e 15,7%, respectivamente) (Tabela 2). Farooq et al. (2018), encontraram teores de amido resistente semelhantes em amido de arroz dos subgrupos

integral (16,1%) e branco (18,9%) tratados termicamente. O polimento dos grãos de arroz contribuiu para aumento do percentual de amido disponível enquanto que a parboilização promoveu a formação de maiores teores de amido resistente, provavelmente devido a potencializar a formação de amido resistente do tipo 3 (AR₃).

De forma geral, comparando a composição química dos produtos beneficiados das cultivares irrigada e sequeiro, percebe-se que a cultivar BRSGO Serra Dourada se destacou pelos maiores teores de proteínas e amido resistente, principalmente para os subgrupos integral e parboilizado integral. Em contrapartida, a cultivar Guri Inta CL apresenta maior teor de carboidratos e amilose, o que pode justificar a maior migração de açúcares redutores durante a parboilização. No campo, estas variações entre as cultivares, podem ser atribuídas principalmente às práticas de manejo, clima, genótipo e cultivar que podem interferir na acumulação e/ou degradação de nutrientes dos grãos, do que pelo tipo de ecossistema utilizado para cultivo de arroz, uma vez que o melhoramento genético das cultivares tem diminuído as diferenças entre cultivares de sistema irrigado e de sequeiro. Após beneficiamento dos grãos de arroz provenientes das cultivares Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada, a parboilização e o grau de beneficiamento apresentaram grande influência na composição química dos diferentes subgrupos de arroz.

5.1.2 Propriedades Físicas

Os grãos crus de arroz dos subgrupos parboilizado polido e parboilizado integral apresentaram menor luminosidade e os subgrupos integral e parboilizado integral mostraram tom mais avermelhado (a^*), tanto para cultivar Guri Inta CL quanto para a cultivar BRSGO Serra Dourada ($p < 0,05$) (Tabela 3). Todos os produtos de beneficiamento de arroz da cultivar de sequeiro apresentaram cor mais amarelada (b^*) em relação aos da cultivar Guri Inta CL. Houve aumento da luminosidade e diminuição dos tons avermelhados e amarelados após cocção dos grãos de arroz. O arroz parboilizado integral cozido apresentou coloração mais avermelhada e amarelada. As mudanças de coloração durante a parboilização ocorrem devido a migração de pigmentos da casca e do farelo, escurecimento enzimático e produtos da reação de Maillard (melanoidinas) (LAMBERTS et al., 2008). Neste estudo, maiores teores de açúcares redutores foram encontrados em grãos de arroz integral e parboilizado integral das duas variedades, os quais são mais escuros que grãos de arroz parboilizado polido e branco polido. Possivelmente, este escurecimento esteja relacionado com a reação de Maillard mais intensa visto que estes subgrupos de arroz também apresentaram maiores teores de proteínas.

Os subgrupos de arroz branco polido de ambas cultivares (Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada), apresentaram grãos menos duros, seguido pelo parboilizado polido (Tabela 3). O arroz parboilizado integral proveniente do cultivo em sequeiro apresentou maior dureza. Os subgrupos integral da cultivar Guri Inta CL e parboilizado polido da cultivar BRSGO Serra Dourada apresentaram menores valores de adesividade. Arroz branco polido de ambas cultivares apresentaram menor gomosidade e mastigabilidade, além disso, não houve diferença estatística entre os valores de elasticidade obtidos para os diferentes subgrupos de arroz das cultivares irrigada e de sequeiro ($p>0,05$) (Tabela 3).

Durante a cocção, ocorre a ruptura dos grãos, inchamento e diminuição da dureza. A maior dureza observada no arroz parboilizado polido e no parboilizado integral em relação ao arroz branco polido é determinada pela intensidade do processo de parboilização, que promove aumento dos tons amarelados dos grãos e menor adesividade. Grãos de arroz menos adesivos são desejáveis pela maioria dos consumidores brasileiros, pois os caracteriza como mais soltos (PARAGINSKI et al, 2014).

Arroz dos subgrupos branco polido e parboilizado polido provenientes da cultivar Guri Inta CL apresentaram maior poder de inchamento (9,0 e 9,2%, respectivamente), porém, os maiores percentuais de poder de inchamento foram encontrados em arroz integral (8,7%), parboilizado polido (7,9%) e parboilizado integral (8,0%) da cultivar BRSGO Serra Dourada (Tabela 3). Apesar das diferenças entre os valores obtidos serem baixas, o emprego de calor pode melhorar o inchamento dos domínios amorfos do amido gerando instabilidade dos cristalitos e até rompimento. Este rompimento resulta em perda da organização estrutural do amido e maior interação com as moléculas de água, levando a um maior inchamento dos grânulos de amido. A redução do poder de inchamento pode ser atribuída a interação das cadeias de amilose-amilose, amilose-amilopectina e amilopectina-amilopectina e também pela formação do complexo amilose-lipídio (HE et al., 2018).

Os diferentes subgrupos de arroz da cultivar Guri Inta CL apresentaram maior índice de solubilidade em água (ISA) quando comparado ao arroz da cultivar BRSGO Serra Dourada (Tabela 3). Em virtude do amido ser semicristalino e apresentar duplas hélices em sua estrutura, este é apenas ligeiramente solúvel em água. Entretanto, ao invés da dissolução, as moléculas de água podem estar presentes no grânulo de amido principalmente pela formação de ligação de hidrogênio com a cadeia polimérica do amido pelo emprego de gelatinização (inchamento dos grânulos de amido) (WANG et al., 2018).

Em geral, a cultivar BRSGO Serra Dourada cultivada em condições de sequeiro apresentou grãos crus e cozidos mais amarelados e avermelhados e também mais duros que a

cultivar Guri Inta CL proveniente de condições irrigadas. A maior dureza observada na cultivar de sequeiro já era esperada visto que este cultivo apresenta maior teor proteico e de cinzas em comparação a cultivar irrigada.

5.1.3 Análise dos Componentes Principais

A geração de componentes principais contribui para explicação da variabilidade dos resultados e apresenta a correlação entre diferentes variáveis (KUPSKI; BADIALE-FURLONG, 2015). As análises dos componentes principais (ACP) foram realizadas neste estudo para verificar como as variáveis independentes emprego de parboilização e grau de beneficiamento influem na composição química (principalmente em termos de amido disponível e amido resistente) e nos parâmetros físicos (dureza, índice de solubilidade em água e poder de inchamento) nos diferentes subgrupos de arroz das cultivares Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada.

5.1.3.1 Análise dos Componentes Principais da cultivar Guri Inta CL

A Figura 5 apresenta graficamente a análise dos componentes principais realizada para os diferentes subgrupos de arroz (branco polido, integral, parboilizado polido e parboilizado integral) provenientes da cultivar Guri Inta CL, a qual demonstrou que 59,2% e 25,4% da variabilidade dos resultados são explicados pelos componentes principais 1 (CP₁) e 2 (CP₂), respectivamente.

As correlações obtidas pela análise multivariada ACP permitiu verificar que um aumento no teor de cinzas nos subgrupos de arroz da cultivar Guri Inta CL reduz os teores de carboidratos ($R=-0,88$, $p=0,12$), amido total ($R=-0,99$, $p=0,01$), amilose ($R=-0,80$, $p=0,20$), amido disponível ($R=-0,73$, $p=0,27$) e o poder de inchamento dos grãos ($R=-0,89$, $p=0,11$). Maiores teores de lipídios e proteínas também indicaram redução dos teores de carboidratos ($R=-0,99$, $p=0,01$; e $R=-0,99$, $p=0,00$), amido total ($R=-0,91$, $p=0,09$; e $R=-0,85$, $p=0,15$), respectivamente (Figura 5). Estas correlações negativas de cinzas, lipídios e proteínas com carboidratos e amido total é explicada pelo grau de polimento, uma vez que quanto maior o polimento dos grãos maior é a remoção de farelo onde estão concentradas as maiores frações de cinzas, lipídios e proteínas.

A dureza dos grãos oriundos dos diferentes subgrupos de arroz da cultivar Guri Inta CL indicou correlações positivas e altas principalmente com proteínas

($R=0,93$, $p=0,07$) e açúcares redutores totais ($R=0,97$, $p=0,03$) e negativa com carboidratos ($R=0,93$, $p=0,07$) e poder de inchamento ($R=-0,83$, $p=0,17$). O índice de solubilidade em água apresentou correlação alta apenas com a proporção amilose/amilopectina ($R=-0,93$, $p=0,047$), enquanto que o poder de inchamento indicou que além da dureza, também é influenciado pelos conteúdos de cinzas ($R=-0,89$, $p=0,11$), lipídios ($R=-0,99$, $p=0,01$), proteínas ($R=-0,96$, $p=0,04$) e carboidratos ($R=0,98$, $p=0,02$) (Figura 5).

Quanto aos parâmetros de digestibilidade do amido dos subgrupos de arroz da cultivar Guri Inta CL, verifica-se que o amido disponível apresentou correlação positiva principalmente com os teores de amido total ($R=0,66$, $p=0,34$), amilose ($R=0,82$, $p=0,18$), amilopectina ($R=0,51$, $p=0,49$) e negativa com cinzas ($R=-0,73$, $p=0,27$) e açúcares redutores ($R=-0,98$, $p=0,02$). A correlação alta e negativa entre amido disponível e açúcares redutores é observada graficamente pelo ângulo formado de cerca de 180° . O amido resistente apresentou correlação alta e negativa principalmente com a proporção amilose/amilopectina ($R=0,74$, $p=0,26$) em que é possível observar um ângulo de aproximadamente 180° (Figura 5).

Diante de todas as correlações obtidas e pela distribuição dos subgrupos de arroz da cultivar Guri Inta CL na Figura 5, verifica-se que a CP_1 parece estar associada ao grau de polimento em que os subgrupos de arroz branco polido e parboilizado polido estão posicionados ao lado positivo do eixo, enquanto que os subgrupos de arroz integral e parboilizado integral, estão no lado negativo do eixo. Além disso, a CP_2 parece estar relacionada ao emprego de parboilização, onde os subgrupos de arroz parboilizados (parboilizado polido e parboilizado integral) estão localizados na parte negativa do eixo e os que não são parboilizados (branco polido e integral) encontram-se positivamente no eixo da CP_2 .

5.1.3.2 Análise dos Componentes Principais da cultivar BRSGO Serra Dourada

A Figura 6 demonstra graficamente a análise dos componentes principais dos diferentes subgrupos de arroz (branco polido, integral, parboilizado polido, parboilizado integral) da cultivar BRSGO Serra Dourada em que as componentes principais 1 (CP_1) e 2 (CP_2) explicaram 69,3% e 21,0%, respectivamente, a variabilidade dos resultados.

As correlações resultantes da análise dos componentes principais da cultivar BRSGO Serra Dourada demonstram que o aumento do teor de cinzas reduz os carboidratos ($R=-0,82$, $p=0,18$) e amilose ($R=-0,90$, $p=0,10$), porém, contribui consideravelmente para o aumento da dureza ($R=0,98$, $p=0,02$) dos diferentes produtos beneficiados de arroz. Os lipídios e as proteínas também são importantes no aumento ou redução dos teores de carboidratos

($R=-0,89$, $p=0,11$; e $R=-0,97$, $p=0,03$) e amido total ($R=-0,89$, $p=0,11$; $R=-0,80$, $p=0,12$), respectivamente (Figura 6). Da mesma forma que a cultivar Guri Inta CL, os teores de cinzas, lipídios e proteínas da cultivar BRSGO Serra Dourada também exibiram correlações negativas com os conteúdos de carboidratos e amido total, indicando que o grau de polimento é importante para a qualidade nutricional do cereal, independente do tipo de cultivar e modo de cultivo (irrigado e sequeiro) devido a retirada de farelo diminuir consideravelmente os níveis de proteínas, cinzas e lipídios.

A dureza dos grãos de arroz provenientes dos subgrupos de arroz da cultivar BRSGO Serra Dourada, além de estar altamente relacionada com as cinzas, também demonstrou ser influenciada por proteínas ($R=0,98$, $p=0,02$), carboidratos ($R=0,90$, $p=0,10$), amilose ($R=-0,97$, $p=0,03$), proporção amilose/amilopectina ($R=-0,94$, $p=0,06$), açúcares redutores ($R=0,87$, $p=0,13$), açúcares redutores totais ($R=0,89$, $p=0,11$) (Figura 6).

Em relação ao amido disponível dos diferentes subgrupos de arroz da cultivar BRSGO Serra Dourada, este obteve correlações positivas com carboidratos ($R=0,74$, $p=0,26$), amido total ($R=0,76$, $p=0,24$) amilose ($R=0,61$, $p=0,39$) e proporção amilose/amilopectina ($R=0,55$, $p=0,45$) e negativas com lipídios ($R=-0,97$, $p=0,03$), proteínas ($R=-0,56$, $p=0,44$), amido resistente ($R=-0,69$, $p=0,31$) e açúcares redutores totais ($R=-0,74$, $p=0,26$). O amido resistente apresentou correlações positivas com lipídios ($R=0,67$, $p=0,33$), proteínas ($R=0,53$, $p=0,47$), açúcares redutores ($R=0,75$, $p=0,25$) e açúcares redutores totais ($R=0,54$, $p=0,46$). É importante ressaltar que o amido disponível, além do valor de correlação alto e negativo, graficamente este parâmetro demonstrou ângulo de aproximadamente 180° com os lipídios. Ângulo semelhante (180°) também é observado entre amido resistente e proporção amilose/amilopectina na Figura 6.

Diferentemente da análise de componentes principais da cultivar Guri Inta CL, esta análise multivariada referente a cultivar BRSGO Serra Dourada (Figura 6), ilustra que apesar da componente principal 1 também indicar associação com grau de polimento, visto que os subgrupos integral e parboilizado integral estão posicionados no lado positivo do eixo e os subgrupos branco polido e parboilizado polido estão localizados na parte negativa do eixo, não é possível prever com qual variável (dependente ou independente) a componente principal 2 está mais relacionada, como na ACP da cultivar Guri Inta CL em que esta componente demonstrou afinidade com a variável independente emprego de parboilização.

5.1.3.3 Comparação entre as análises de componentes principais das cultivares Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada

De forma geral, as análises dos componentes principais das cultivares Guri Inta CL (para cultivo irrigado) e BRSGO Serra Dourada (para cultivo em sequeiro) indicaram que a variabilidade dos resultados em termos de cinzas, lipídios, proteínas, carboidratos, amido total, amilose, amilopectina, açúcares redutores e redutores totais, bem como a dureza possuem correlações relativamente semelhantes. Além disso, a análise multivariada realizada para cada cultivar confirmou que o grau de polimento e o emprego de parboilização são variáveis que influenciam grandemente na qualidade nutricional dos produtos de arroz beneficiados, independente da cultivar e do modo de cultivo utilizado durante o plantio deste cereal.

No entanto, algumas correlações obtidas merecem destaque visto que contribuem para o entendimento dos resultados obtidos e informação sobre a qualidade nutricional, principalmente em termos de digestibilidade do amido. O amido disponível em ambas cultivares (Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada) é maior em subgrupos de arroz com teor de amido total e amilose maiores, porém, as correlações negativas com proteínas e lipídios indicam que pode ocorrer a formação de complexos entre amido-lipídio e amido-proteína que afetam a digestibilidade do amido, tornando-o menos acessível (THARANATHAN, 2002). O tamanho dos grânulos de amido também influenciam na digestibilidade da macromolécula, visto que a alta digestibilidade do amido é maior em grânulos de amido com menor tamanho de partícula, devido ao aumento da área de superfície que oferece maior acessibilidade às enzimas hidrolíticas, levando a uma taxa de digestão mais alta e consequentemente maior índice glicêmico, indesejável para indivíduos diabéticos (SNOW; O'DEA, 1981; GANI et al., 2017).

Em relação ao amido resistente, para a cultivar Guri Inta CL este apresentou correlação alta e significativa com a proporção de amilose/amilopectina e para a cultivar BRSGO Serra Dourada esta variável correlacionou-se positivamente com lipídios, proteínas e açúcares redutores. Paralelamente, os tipos de amido resistente presentes no arroz cozido são principalmente AR₃, formado pela lixiviação e retrogradação da amilose, em que a estrutura helicoidal dupla da amilose retrogradada perde sua capacidade de associação com a água e não se encaixa no sítio de ligação da amilase, resistindo a digestão (BIRT et al., 2013) e AR₅, pela formação de complexos amilose-lipídio (SHU et al., 2006). Logo, estas mudanças na estrutura do complexo durante o cozimento e resfriamento podem afetar a formação de amido resistente (KIM et al., 2006). Além disso, as camadas de aleurona presentes em grãos de arroz integral e parboilizado integral, inibem a penetração das enzimas digestivas para o interior do grão, reduzindo a taxa de hidrólise do amido durante a digestão gastrointestinal (TAMURA et al., 2016). Portanto, estes fatores associados ao grau de beneficiamento e emprego de parboilização, explicam a obtenção de maiores teores de amido resistente em arroz

Tabela 2 – Composição química de produtos de arroz beneficiados das cultivares Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada.

Subgrupo	Cinz	Lip	Prot	CHO	AT	Am	Amp	<u>Am</u>	AD	AR	ARed	ARedT	
de Arroz	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	Amp	(%)	(%)	(mg 100g ⁻¹)	(mg 100g ⁻¹)	
Cultivar Guri Inta CL	BP	0,7 ^b	0,6 ^c	6,8 ^c	92,0 ^a	81,4 ^a	21,0 ^a	60,4 ^b	0,35 ^a	90,0 ^a	10,4 ^b	51,7 ^d	155,7 ^c
		(7,1)	(11,7)	(0,6)	(0,6)	(1,5)	(2,1)	(2,5)	(4,4)	(2,0)	(1,1)	(6,7)	(3,1)
	I	1,2 ^a	2,3 ^a	10,5 ^a	85,9 ^c	66,6 ^b	16,3 ^b	50,3 ^c	0,32 ^a	87,4 ^a	13,4 ^{ab}	91,9 ^c	1082,2 ^a
		(17,9)	(14,1)	(0,9)	(0,9)	(0,4)	(1,4)	(0,3)	(1,3)	(3,9)	(13,7)	(14,4)	(2,4)
	PP	0,7 ^b	0,7 ^c	7,3 ^c	91,3 ^a	83,6 ^a	16,7 ^b	66,9 ^a	0,25 ^b	84,9 ^a	15,7 ^a	161,3 ^b	522,2 ^b
		(5,7)	(7,7)	(0,2)	(0,2)	(1,7)	(7,7)	(4,0)	(11,5)	(6,6)	(2,6)	(2,3)	(3,0)
	PI	1,4 ^a	1,8 ^b	9,0 ^b	87,7 ^c	62,9 ^c	13,6 ^c	49,3 ^c	0,28 ^b	67,7 ^b	11,5 ^b	329,5 ^a	593,5 ^b
		(1,2)	(11,1)	(0,8)	(0,8)	(3,0)	(1,8)	(4,0)	(4,8)	(3,7)	(14,3)	(0,9)	(8,6)
Cultivar BRSGO Serra Dourada	BP	0,5 ^B	0,9 ^C	9,5 ^B	89,1 ^A	81,8 ^A	19,0 ^A	62,8 ^A	0,30 ^A	84,8 ^A	14,2 ^B	97,4 ^C	113,3 ^D
		(12,5)	(7,6)	(4,1)	(0,4)	(1,0)	(4,4)	(2,0)	(6,2)	(6,6)	(8,3)	(3,9)	(8,5)
	I	1,3 ^C	2,8 ^A	10,5 ^A	85,3 ^C	66,7 ^C	11,3 ^C	55,3 ^C	0,20 ^B	68,6 ^B	16,4 ^{AB}	143,6 ^B	910,1 ^A
		(3,4)	(6,5)	(2,3)	(0,3)	(0,3)	(3,8)	(0,3)	(4,1)	(3,5)	(10,0)	(2,4)	(11,5)
	PP	1,2 ^C	0,9 ^C	10,0 ^{AB}	87,8 ^B	74,7 ^B	16,6 ^B	58,1 ^B	0,29 ^A	89,6 ^A	9,3 ^C	90,5 ^C	412,4 ^C
		(17,9)	(15,7)	(2,1)	(0,1)	(1,7)	(2,3)	(1,5)	(0,9)	(4,9)	(0,7)	(7,2)	(3,5)
	PI	1,8 ^A	1,7 ^B	10,6 ^A	85,9 ^C	74,5 ^B	10,0 ^C	65,5 ^A	0,15 ^C	72,0 ^B	17,2 ^A	237,8 ^A	744,2 ^B
		(12,4)	(5,6)	(0,7)	(0,3)	(1,0)	(1,8)	(1,1)	(2,0)	(6,6)	(3,9)	(2,8)	(3,7)

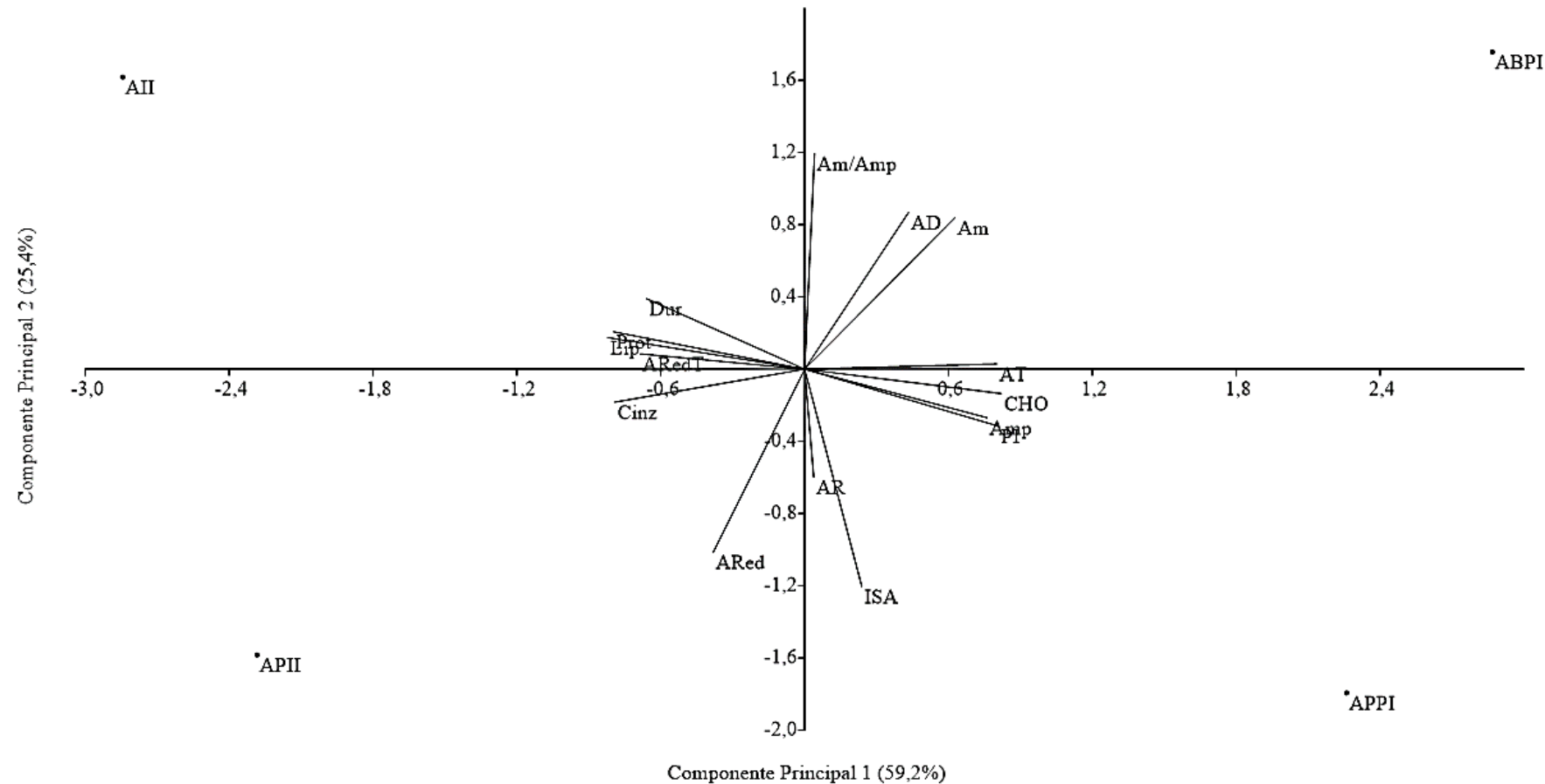
BP: Branco Polido; I: Integral; PP: Parboilizado Polido; PI: Parboilizado Integral; Cinz: Cinzas; Lip: Lipídios; Prot: Proteínas; Carb: Carboidratos; AT: Amido Total; Am: Amilose; Amp: Amilose; AD: Amido Disponível; AR: Amido Resistente; ARed: Açúcares Redutores; ARedT: Açúcares Redutores Totais. Dados apresentados em base seca como Média(CV), em que CV é o coeficiente de Variação (%), n=3. Letras sobrescritas minúsculas diferentes na mesma coluna para cultivar Guri Inta CL e maiúsculas para cultivar BRSGO Serra Dourada indicam que há diferença significativa pelo teste de Tukey (p<0,05) entre os diferentes subgrupos de arroz.

Tabela 3 – Parâmetros físicos de produtos de arroz beneficiados das cultivares Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada.

Subgrupo		Parâmetros de Cor						Parâmetros de Textura					ISA	PI
de Arroz		L* cru	a* cru	b* cru	L* coz	a* coz	b* coz	Dur	Adesiv	Elast	Gomos	Mast		
Guri Inta CL	BP	68,33 ^a	-0,32 ^d	9,43 ^c	70,08 ^a	-1,40 ^c	0,76 ^c	51,23 ^c	-0,23 ^a	0,84 ^a	11,71 ^c	9,19 ^c	3,3 ^b	9,0 ^a
		(0,7)	(7,8)	(0,6)	(0,6)	(3,1)	(14,4)	(14,2)	(13,5)	(12,2)	(6,0)	(11,1)	(7,5)	(11,5)
	I	60,33 ^b	2,94 ^b	19,43 ^b	59,84 ^b	0,59 ^b	16,63 ^a	254,05 ^a	-0,34 ^b	0,83 ^a	52,75 ^a	32,13 ^a	2,9 ^b	7,7 ^a
		(0,6)	(2,4)	(0,8)	(0,5)	(10,0)	(3,4)	(18,7)	(8,9)	(7,8)	(16,1)	(4,0)	(14,9)	(3,7)
	PP	54,51 ^c	0,71 ^c	19,62 ^b	67,71 ^a	-1,35 ^c	7,65 ^b	92,46 ^b	-0,24 ^a	0,85 ^a	23,05 ^{bc}	19,80	6,5 ^a	9,2 ^a
		(0,7)	(11,5)	(1,4)	(0,4)	(8,3)	(7,3)	(6,7)	(15,0)	(9,6)	(7,9)	(12,6) ^b	(18,6)	(4,5)
BRSGO Serra Dourada	PI	50,97 ^d	5,21 ^a	23,58 ^a	58,97 ^b	1,70 ^a	17,37 ^a	111,93 ^b	-0,30 ^{ab}	0,87 ^a	25,03 ^b	30,27	5,1 ^a	8,1 ^a
		(16)	(1,6)	(0,9)	(0,3)	(8,7)	(1,3)	(3,1)	(10,6)	(5,9)	(7,0)	(5,2) ^a	(6,0)	(8,3)
	BP	75,66 ^A	-0,43 ^D	11,14 ^C	77,31 ^A	-1,43 ^C	3,20 ^C	57,19 ^D	-0,19 ^A	0,92 ^A	11,99 ^C	9,22 ^C	2,0 ^A	6,7 ^C
		(0,2)	(12,9)	(6,4)	(0,7)	(5,7)	(6,5)	(6,4)	(5,3)	(4,7)	(14,2)	(13,6)	(17,4)	(2,0)
	I	62,18 ^B	3,76 ^B	22,32 ^B	68,43 ^B	0,49 ^B	15,20 ^B	253,01 ^B	-0,37 ^B	0,83 ^A	45,84 ^A	29,41 ^A	2,9 ^A	8,7 ^A
		(1,1)	(1,1)	(0,5)	(0,5)	(8,2)	(0,8)	(14,2)	(10,8)	(5,5)	(13,0)	(3,6)	(14,9)	(4,4)
	PP	59,19 ^C	3,32 ^C	26,20 ^C	61,43 ^C	0,62 ^B	15,30 ^B	170,75 ^A	-0,22 ^A	0,87 ^A	25,92 ^B	17,77 ^B	2,7 ^A	7,9 ^B
		(1,4)	(4,6)	(0,6)	(0,9)	(6,5)	(2,2)	(4,5)	(7,1)	(11,7)	(11,4)	(10,5)	(13,1)	(1,2)
	PI	54,54 ^D	5,47 ^A	25,46 ^C	62,36 ^C	2,39 ^A	19,00 ^A	335,62 ^B	-0,42 ^B	0,90 ^A	24,16 ^B	30,75 ^A	2,3 ^A	8,0 ^B
		(0,7)	(2,1)	(1,1)	(0,8)	(11,2)	(2,3)	(5,8)	(5,9)	(12,4)	(14,5)	(7,4)	(11,6)	(0,7)

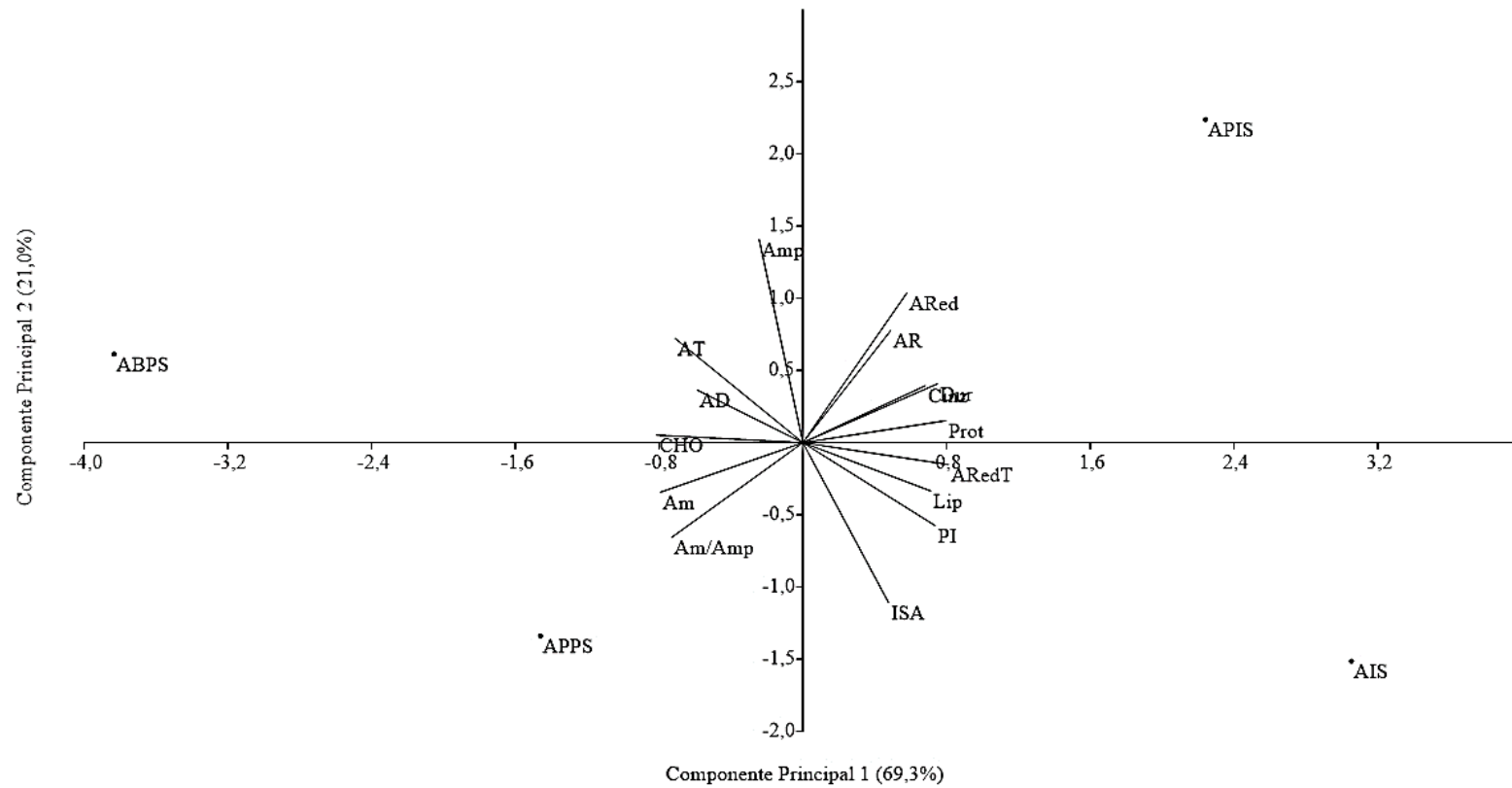
BP: Branco Polido; I: Integral; PP: Parboilizado Polido; PI: Parboilizado Integral; L*, a* e b*cru e coz: Parâmetros de cor em grãos crus e cozidos; Dur: Dureza (N); Adesiv: Adesividade (N/s); Gomos: Gomosidade (N); Mast: Mastigabilidade (N/mm); Elast: Elasticidade (mm). ISA: Índice de Solubilidade em Água (%); PI: Poder de Inchamento (%). Dados apresentados como Média(CV), em que CV é o coeficiente de variação (%), n=3. Letras sobrescritas minúsculas diferentes na mesma coluna para cultivar Guri Inta CL e maiúsculas para cultivar BRSGO Serra Dourada indicam que há diferença significativa pelo teste de Tukey (p<0,05) entre os diferentes subgrupos de arroz.

Figura 5 – Análise dos Componentes Principais para a cultivar de Arroz Irrigado Guri Inta CL.



ABPI: Arroz Branco Polido Irrigado; AII: Arroz Integral Irrigado; APII: Arroz Parboilizado Polido Irrigado; APII: Arroz Parboilizado Integral Irrigado; Cinz: Cinzas; Lip: Lipídios; Prot: Proteínas; CHO: Carboidratos; AT: Amido Total; Am: Amilose; Amp: Amilopectina; Am/Amp: Amilose/Amilopectina; AD: Amido Disponível; AR: Amido Resistente; ARed: Açúcares Redutores; ARedT: Açúcares Redutores Totais; Dur: Dureza; ISA: Índice de Solubilidade em Água; PI: Poder de Inchamento.

Figura 6 – Análise dos Componentes Principais para a cultivar de arroz de Arroz de Sequeiro BRSGO Serra Dourada.



ABPS: Arroz Branco Polido Sequeiro; AIS: Arroz Integral Sequeiro; APPS: Arroz Parboilizado Polido Sequeiro; APII: Arroz Parboilizado Integral Sequeiro; Cinz: Cinzas; Lip: Lipídios; Prot: Proteínas; CHO: Carboidratos; AT: Amido Total; Am: Amilose; Amp: Amilopectina; Am/Amp: Amilose/Amilopectina; AD: Amido Disponível; AR: Amido Resistente; ARed: Açúcares Redutores; ARedT: Açúcares Redutores Totais; Dur: Dureza; ISA: Índice de Solubilidade em Água; PI: Poder de Inchamento.

integral e parboilizado integral, principalmente em arroz proveniente da cultivar BRSGO Serra Dourada. A formação de complexos com a amilose e as limitações quanto a sua quantificação também podem ter influenciado para estas correlações.

Diante da variabilidade dos resultados explicada correlações entre as variáveis apontadas pelas análises dos componentes principais para os diferentes subgrupos de arroz das cultivares Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada, ficou demonstrado que o emprego parboilização favorece o aumento do teor de amido resistente, provavelmente pela formação de amido resistente dos tipos 3 (AR₃) e 5 (AR₅) e que polimento proporciona menores teores de açúcares redutores e maiores teores de amido disponível, principalmente para arroz do subgrupo branco polido, possivelmente o menor conteúdo lipídico, que dificultou a formação de complexos amilose-lipídio característico do AR₅. Logo, a parboilização além de contribuir para maior formação de amido resistente, também pode facilitar a ligação de micotoxinas com amido resistente. As condições de armazenamento dos grãos, beneficiamento, parboilização e de cocção, como tempo e temperatura, são pontos críticos que também podem afetar a qualidade do arroz, em especial a formação de amido resistente como comprovam os dados deste estudo.

5.2 DETERMINAÇÃO DE TRICOTECENOS

5.2.1 Derivatização

Para a identificação das micotoxinas DON, 3-ADON e 15-ADON por CG-EM e obtenção das condições espectrométricas descritas na Tabela 1, foi necessário adaptar a etapa de derivatização dos tricotecenos de Pereira, Fernandes e Cunha (2015). As modificações realizadas compreenderam em aumento do volume de n-hexano de 100 µL para 1000 µL após a adição do derivatizante, substituição do tampão fosfato 0,1 M pH 7,2 por NaHCO₃ 0,1% pH 9,1 e aumento do volume de n-hexano em que os tricotecenos derivatizados são ressuspensos antes da injeção cromatográfica de 20 µL para 1000 µL. As alterações realizadas possibilitaram a melhor visualização da fase superior que contém n-hexano e as micotoxinas derivatizadas após reação de sililação, maior separação e aumento dos picos cromatográficos dos analitos. A substituição de tampão fosfato 0,1 M pH 7,2 por bicarbonato de sódio 0,1% pH 9,1 proporcionou maior volatilidade e estabilidade térmica aos tricotecenos derivatizados, principalmente para os tricotecenos acetilados 3-ADON e 15-ADON, os quais foram melhor identificados. Isto pode ser explicado devido a necessidade do grupo eletrofílico do derivatizante apresentar maior basicidade que o grupo derivatizado analito-silil para que o

estado de transição da reação não seja reversível e, conseqüentemente, a derivatização se complete (BLAU; HALTEK, 1993). Portanto, uma vez que o bicarbonato de sódio 0,1% é mais básico (pH 9,1) que o tampão fosfato 0,1 M (pH 7,2) e este também pode ser adicionado na etapa de lavagem para a retirada do derivatizante remanescente, isto pode ter auxiliado para a maior estabilidade dos produtos formados da reação, neste caso, os tricotecnos derivatizados.

Furlong e Soares (1995) ao utilizarem heptafluorobutiril imidazol (HFBI) como derivatizante dos tricotecnos do grupo A (diacetoxiscirpenol, toxina HT₂, toxina T₂, T₂ tetraol e T₂ triol) e do grupo B (DON e NIV) testaram diferentes catalisadores, dentre eles bicarbonato de sódio, tampão fosfato pH 7,0 e solução de amônia e verificaram que não houve diferença entre os cromatogramas. Milanez, Valente Soares e Baptista (2004) obtiveram melhores resultados cromatográficos na derivatização de DON e NIV com a utilização do catalisador bicarbonato de sódio em conjunto com o derivatizante TFAA relatando a presença de menos interferentes, maior estabilidade e sensibilidade. Garda e Badiale-Furlong (2008) ao utilizarem anidrido trifluoroacético (TFAA) como derivatizante do tricoteceno DON testaram como catalisadores da reação de derivatização piridina e bicarbonato de sódio e o planejamento experimental realizado pelos autores mostrou que o bicarbonato de sódio proporcionava maior área relativa para o DON. Portanto, além do bicarbonato de sódio já ter sido utilizado como catalisador nas reações de derivatização por acilação citadas este também se mostrou eficaz em reações de sililação para os tricotecnos DON, 3-ADON e 15-ADON.

5.2.2 Otimização da técnica VA-MSPD

Após adaptação do método de derivatização e obtenção das condições espectrométricas (Tabela 1), foram realizados doze testes com diferentes condições de extração pela técnica de extração VA-MSPD com o intuito de obter as melhores recuperações para DON, 3-ADON e 15-ADON dentro das condições estabelecidas pela ANVISA e União Europeia (BRASIL, 2003; EU, 2006). Nos quatro primeiros testes de extração (Tabela 4), foi utilizada Al₂O₃ neutra como um suporte sólido alternativo para a retirada de interferentes polares (DÓREA; SOBRINHO, 2004), como os carboidratos presentes no arroz, e a proporção de MeOH:MeCN a fim de melhorar a extração dos analitos e promover a retirada dos interferentes da matriz. Em todas as quatro condições avaliadas, utilizou-se 1 g de amostra e 0,25 g de Na₂SO₄ anidro durante a etapa de maceração. O sulfato de sódio anidro auxilia na clarificação do extrato e na retirada de umidade e compostos menos polares da amostra. Para a avaliação das recuperações nestes testes, o arroz integral irrigado foi escolhido devido a complexidade da

amostra em termos de carboidratos, lipídios e proteínas, o qual fortificado simultaneamente com 500 $\mu\text{g}_{\text{micotoxina}} \text{kg}_{\text{arroz}}^{-1}$ para DON e 15-ADON e 1000 $\mu\text{g}_{\text{micotoxina}} \text{kg}_{\text{arroz}}^{-1}$ para 3-ADON 24 h antes da extração.

Tabela 4 – Testes preliminares de extração de Tricotecenos do grupo B por VA-MSPD variando quantidade de Al_2O_3 neutra e proporção MeOH:MeCN.

Condição	Massa Al_2O_3 neutra (g)	Proporção MeOH:MeCN (v/v)	Recuperações (%)		
			DON	3-ADON	15-ADON
1	0,50	0:100	8,0(12,5)	18,6(5,8)	81,5(6,5)
2	0,50	100:0	6,9(13,1)	0	167,7(9,5)
3	1,50	0:100	4,1(4,2)	7,8(24,0)	46,0(2,1)
4	1,50	100:0	11,3(4,2)	0	193,0(8,4)

Al_2O_3 neutra: alumina neutra; MeOH: Metanol; MeCN: Acetonitrila; DON: deoxinivalenol; 3-ADON: 3-acetil-deoxinivalenol; 15-ADON: 15-acetil-deoxinivalenol. Dados apresentados como média(CV%) em que CV é o Coeficiente de Variação (%).

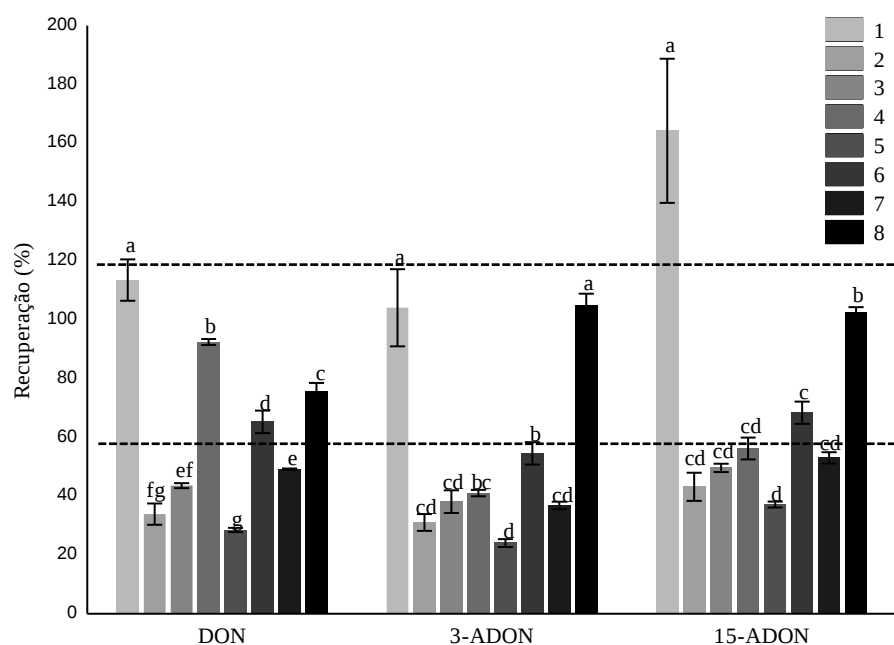
O Comitê Europeu de Regulamentação (EC nº 401/2006) estipula que para concentrações de DON maiores que 100 e menores ou iguais a 500 $\mu\text{g kg}^{-1}$ as recuperações devem estar na faixa de 60 a 100% e para concentrações maiores que 500 $\mu\text{g kg}^{-1}$, as recuperações devem estar entre 70 a 120%. Além disso, o coeficiente de variação deve ser menor ou igual a 20%. Pela Tabela 4, pode-se verificar que as recuperações para DON, 3-ADON e 15-ADON variaram de 4,1-11,3%, 0-18,6% e 46,0-193,0%, respectivamente. A condição 1 (0,5 g de alumina neutra e 100% de ACN) proporcionou recuperação satisfatória para 15-ADON, porém, baixa para DON e 3-ADON. A utilização de apenas MeOH como eluente, tanto em quantidades menor e maior de Al_2O_3 neutra (0,5 e 1,5 g), demonstrou que o 3-ADON não é recuperado (condições 2 e 4), em contrapartida, a ACN foi capaz de eluir DON e seus acetilados 3-ADON e 15-ADON (condições 1 e 3). O aumento da quantidade de Al_2O_3 neutra não promoveu maiores recuperações de DON, 3-ADON e 15-ADON (condição 4). Portanto, para aumentar a retirada de interferentes da matriz e melhorar a eficiência da extração, oito novos testes foram realizados (Tabela 5 e Figura 7), utilizando 1 g de amostra, 0,25 g de Na_2SO_4 anidro, proporção 50:50 MeOH:ACN (v/v) e quantidades variáveis dos suportes sólidos Al_2O_3 neutra (0, 0,25, 0,3, 0,5 e 1,0 g) e C18 (0, 0,25, 0,3 e 0,5 g). O suporte sólido C18 foi adicionado aos testes com o intuito de retirar os interferentes de caráter lipofílico, devida a sua capacidade de romper as membranas celulares de amostras biológicas durante a etapa de maceração decorrente da técnica de MSPD (LANÇAS, 2008).

Tabela 5 – Condições testadas para a extração de Tricotecenos do grupo B por VA-MSPD variando quantidades de C18 e Al₂O₃ neutra.

Condição	Massa C18 (g)	Massa Al ₂ O ₃ neutra (g)	Recuperações (%)		
			DON	3-ADON	15-ADON
1	0,25	0,00	113,5(6,5) ^a	104,1(13,3) ^a	164,3(15,7) ^a
2	0,00	0,00	33,9(11,2) ^{fg}	31,1(9,7) ^{cd}	43,2(11,7) ^{cd}
3	0,50	0,00	43,6(2,1) ^{ef}	38,2(10,6) ^{cd}	49,6(3,0) ^{cd}
4	0,00	0,50	92,4(1,2) ^b	41,1(2,7) ^{bc}	56,2(7,0) ^{cd}
5	0,50	0,50	28,5(2,7) ^g	24,1(5,9) ^d	37,2(2,9) ^d
6	0,25	0,25	65,3(6,2) ^d	54,6(7,4) ^b	68,4(5,8) ^c
7	0,00	1,00	49,2(0,5) ^e	36,8(3,7) ^{cd}	53,0(3,8) ^{cd}
8	0,30	0,30	75,7(3,8) ^c	104,9(4,0) ^a	102,5(1,8) ^b

Al₂O₃ neutra: alumina neutra; DON: deoxinivalenol; 3-ADON: 3-acetil-deoxinivalenol; 15-ADON: 15-acetil-deoxinivalenol. Dados apresentados como média(CV%). CV: Coeficiente de Variação. Letras sobresscritas diferentes na mesma coluna indicam que existe diferença significativa pelo teste de Tukey (p<0,05).

Figura 7 – Recuperações obtidas de Tricotecenos do grupo B por VA-MSPD variando quantidades de C18 e Al₂O₃ neutra.



DON: deoxinivalenol; 3-ADON: 3-acetil-deoxinivalenol; 15-ADON: 15-acetil-deoxinivalenol. 1. 0,25g de C18 e 0 g de Al₂O₃ neutra; 2. 0 g de C18 e 0g de Al₂O₃ neutra; 3. 0,5 g de C18 e 0g de Al₂O₃ neutra; 4. 0 g de C18 e 0,5 g de Al₂O₃ neutra; 5. 0,5g de C18 e 0,5 g de Al₂O₃ neutra; 6. 1. 0,25g de C18 e 0,25g de Al₂O₃ neutra; 7. 0 g de C18 e 1,0 g de Al₂O₃ neutra; 8. 0,3g de C18 e 0,3 g de Al₂O₃ neutra. Dados apresentados como Média(CV%). CV: Coeficiente de Variação. Letras diferentes para cada micotoxina representam que há diferença significativa pelo teste de Tukey (p<0,05).

Nos testes seguintes (Tabela 5), as faixas de recuperações para DON, 3-ADON e 15-ADON foram 28,5-113,5%, 24,1%-104,9% e 37,2%-164,3%, respectivamente. O teste de Tukey mostrou que as condições que utilizaram C18 ou Al₂O₃ neutra de forma isolada bem como condições que utilizaram C18 e Al₂O₃ neutra de forma conjunta obtiveram comportamentos distintos, a 5% de significância, o que pode ser melhor observado pela Figura 7. Independente da mistura de C18 e Al₂O₃ neutra utilizada, todos os tricotecenos foram eluídos com o emprego da proporção 50:50 MeOH:ACN (v/v). As condições 1 e 3, utilizando somente 0,25 g e 0,50 g de C18, respectivamente, mostraram que o aumento da quantidade deste suporte sólido provocou diminuição nas recuperações de DON, 3-ADON e 15-ADON. A não utilização de C18 e Al₂O₃ neutra promoveu baixas recuperações para todos tricotecenos (condição 2). A utilização de apenas 0,5 g de Al₂O₃ neutra (condição 4) indicou recuperação adequada para DON e seu aumento para 1 g de Al₂O₃ neutra (condição 7) mostrou recuperações abaixo dos níveis estabelecidos pela EC nº 401/2006. O emprego conjunto dos dois suportes sólidos (condições 5, 6 e 8) mostrou que 0,5 g e 0,25 g, tanto para C18 quanto para Al₂O₃ neutra, são excessivas ou insuficientes, promovendo recuperações baixas e medianas para DON e seus acetilados. Uma vez que a condição 6 apresentou recuperações dentro faixa confiabilidade analítica para DON e 15-ADON e mediana para 3-ADON, foi verificada a necessidade de aumentar as quantidades de ambos suportes sólidos de 0,25 g para 0,3 g (condição 8). Esta última condição proporcionou maior retirada de interferentes da matriz e valores de recuperações para DON (75,7%), 3-ADON (104,9%) e 15-ADON (102,5%) dentro da faixa de 60 a 110% para até 500 µg_{micotoxina} kg_{arroz} e de 70 a 120% para concentrações maiores que 500 µg_{micotoxina} kg_{arroz}, as quais apresentaram coeficientes de variação abaixo de 20% conforme estabelecido pela EC nº 401/2006.

Rubert, Soler e Mañes (2011) ao aplicarem a técnica de MSPD para extração seguida de identificação e quantificação por HPLC-MS/MS (cromatografia de alta eficiência acoplada a espectrometria de massa sequencial) simultânea de micotoxinas (aflatoxinas, fumonisina, tricotecenos, ocratoxina A, zearalenona e beauvericina) em farinha de multicereais composta por trigo, milho, arroz e aveia, testaram diferentes solventes como eluentes (acetato de etila, diclorometano, metanol e acetonitrila) e suportes sólidos (C18, C8, celite, sílica, florisil, fenila, alumina básica e amina) e verificaram que a mistura metanol:acetonitrila na proporção 50:50 (v/v) em formiato de amônio 1 mM fornecia os melhores resultados para todas micotoxinas analisadas. Em relação aos suportes sólidos testados, a seleção destes foi limitada pela fumonisina, a qual foi somente extraída com C18 e C8, diferentemente da ocratoxina A, zearalenona e beauvericina, as quais foram extraídas pela

maioria dos suportes sólidos. Deste modo, uma vez que recuperações aceitáveis foram obtidas para todas as micotoxinas (entre 72% para zearalenona e 93% para deoxinivalenol) com 1g de C18, os autores optaram por utilizar somente este suporte sólido. Massarolo et al. (2018) ao otimizarem um método de extração para extração de aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ em farinha de milho, também baseado na técnica VA-MSPD, porém com detecção e quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência (HPLC-FL), verificaram que as melhores recuperações (85,7-114,8%) foram obtidas quando a extração foi realizada com 0,025g do suporte sólido C18 e 10 mL MeOH:ACN (50:50, v/v). Portanto, fica confirmado que o C18 além de ser capaz de extrair micotoxinas citadas acima, como o DON, também mostrou ser eficiente na extração de 3-ADON e 15-ADON como mostra a Tabela 5 e Figura 7.

Ficou definido que a condição mais adequada para extração dos tricotecenos DON, 3-ADON e 15-ADON em arroz por VA-MSPD compreendeu na utilização de 1 g de amostra, 0,25 g de Na₂SO₄ anidro, 0,3 g de C18, 0,3 g de Al₂O₃ neutra e proporção 50:50 MeOH:ACN (v/v). Paralelamente, em comparação a Rubert, Soler e Mañes (2011) e Massarolo et al. (2018) ainda foi possível reduzir o volume para 5 mL e utilizar alumina neutra, contribuindo uma melhor performance da matriz, em termos de recuperação e retirada de interferentes, por meio da adição de um suporte sólido de baixo custo em relação ao C18. Além disso, a extração por VA-MSPD com etapa eluição adaptada em vórtex (MASSAROLO et al., 2018) em substituição do empacotamento em cartuchos da mistura para posterior eluição característico do método convencional de MSPD (RUBERT; SOLER; MAÑES, 2011) facilitou a extração. Em VA-MSPD, após a dispersão da matriz com os suportes sólidos, a mistura é colocada em tubos de polipropileno, seguido da adição do solvente ou mistura de solventes e por agitação em vórtex. Esta modificação é vantajosa em relação ao tempo de empacotamento e as variações resultantes deste processo e também diminui o risco de exposição do analista durante execução da técnica de MSPD (MASSAROLO et al., 2018).

5.2.3 Validação do Método

Após a otimização do método de extração VA-MSPD de tricotecenos em arroz, foram determinados os parâmetros analíticos limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), curva padrão, linearidade, coeficiente de correlação (R), coeficiente de determinação (R²), efeito de matriz (EM), recuperação (exatidão) e repetibilidade (precisão intermediária) para validar o método analítico desenvolvido (Tabelas 6 e 7).

Tabela 6 – Parâmetros analíticos para determinação de DON, 3-ADON e 15-ADON em arroz por CG-EM.

Parâmetros Analíticos	DON	3-ADON	15-ADON
LOD _m (µg g ⁻¹)	0,08	0,30	0,19
LOQ _m (µg g ⁻¹)	0,50	1,00	0,50
Linearidade (µg g ⁻¹)	0,50-5,00	1,00-10,00	0,50-5,00
Curva padrão – Solvente (µg mL ⁻¹)	y=26169x-11453	y=17767x-14031	y=14952x-5466,7
Coef. Determinação – Solvente (R ²)	0,9902	0,9923	0,9900
Coef. Correlação – Solvente (R)	0,9951	0,9961	0,9950
Curva padrão – Matriz (µg g ⁻¹)	y=35758x+2797,5	y=16459x-5816	y=12395x-2382,8
Coef. Determinação – Matriz (R ²)	0,9953	0,9993	0,9984
Coef. Correlação - Matriz (R)	0,9976	0,9996	0,9992
Efeito de Matriz	-36,6%	7,4%	17,4%

LOD_m: Limite de Detecção do método; LOQ_m: Limite de Quantificação do método; Coef.: Coeficiente; DON: Deoxinivalenol; 3-ADON: 3-acetil-deoxinivalenol; 15-ADON: 15-acetil-deoxinivalenol.

Tabela 7 – Recuperações obtidas para DON, 3-ADON e 15-ADON em arroz.

Níveis	Repetibilidade (%)			Precisão Intermediária (%)		
	DON	3-ADON	15-ADON	DON	3-ADON	15-ADON
1º	75,7(3,9)	104,9(3,9)	102,5(3,9)	97,3(9,8)	83,0(6,3)	79,1(6,2)
2º	101,0(13,1)	117,3(7,5)	110,4(7,2)	110,2(3,2)	84,4(4,9)	80,8(8,8)
3º	111,1(1,4)	105,6(7,3)	111,8(7,9)	117,4(5,0)	73,4(2,9)	74,2(10,4)
I (%)	12,2	20,3	18,3	18,3	39,7	44,6

CV: coeficiente de variação (%). DON: deoxinivalenol. 3-ADON: 3-acetil-deoxinivalenol; 15-ADON: 15-acetil-deoxinivalenol; I: Incerteza. Dados apresentados como percentual da média(CV%) das recuperações em que CV é o coeficiente de variação (%).

Ferreira, Fernandes e Cunha (2012) ao desenvolverem um método para determinação de multi-micotoxinas (deoxinivalenol, nivalenol, 15-acetil-deoxinivalenol, fusarenona X e zearalenona) em pipoca utilizando QuEChERS como método de extração e GC-MS para identificação e quantificação das micotoxinas, encontraram LODs e LOQs variando entre 0,02 e 0,07 µg g⁻¹ e 0,05 e 0,2 µg g⁻¹, respectivamente, para milho de pipoca *in natura*. Cabe destacar que para fins de comparação, estes autores obtiveram para as micotoxinas DON e 15-ADON, LODs de 0,05 µg g⁻¹ e 0,07 µg g⁻¹ e LOQs de 0,141 e 0,196 µg g⁻¹, respectivamente. O DON apresentou LOD (0,08 µg g⁻¹) ligeiramente superior ao encontrado por Ferreira, Fernandes e Cunha (2012). Os limites de detecção de 15-ADON e

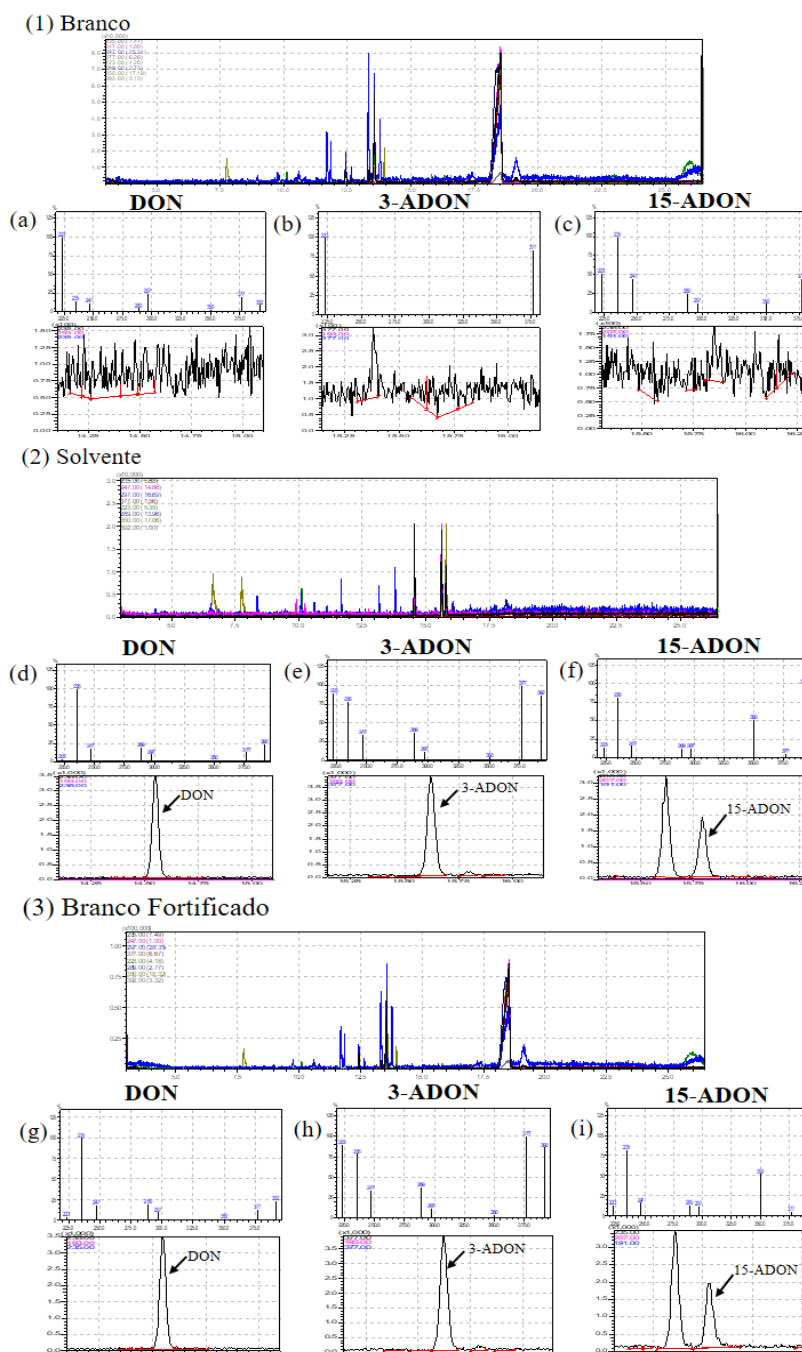
3-ADON foram superiores devido ao grupo acetil presentes em suas estruturas diminuírem a eficiência de derivatização quando comparado com DON, visto que o reagente BSA reage mais facilmente com grupos OH sem impedimentos estérico e também pela técnica de extração utilizada. Isto também justifica a obtenção de LOQs maiores para DON, 3-ADON e 15-ADON de 0,50, 1,00 e 0,50 $\mu\text{g g}^{-1}$, respectivamente, para garantir a confiabilidade dos resultados posteriores a partir de cromatogramas de melhor resolução e separação (Figura 8).

A faixa linear foi estabelecida considerando o LOQ como primeiro ponto da curva padrão e 10 vezes o LOQ como último ponto, para cada tricoteceno. A partir disso, foram obtidas as curvas padrão do DON, 3-ADON e 15-ADON no solvente e na matriz e seus respectivos coeficientes de correlação e determinação (Tabela 6). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabelece que para validação de métodos analíticos o coeficiente de correlação (R) deve ser acima de 0,99 (BRASIL, 2003), logo, observa-se que ambas curvas (solvente e matriz) atenderam ao requisito estabelecido para todos os tricotecenos. Os efeitos de matriz (EM) foram avaliados pelas inclinações das curvas padrão no solvente e da matriz para verificar se a matriz interfere no sinal da micotoxina de interesse, sendo assim, DON, 3-ADON e 15-ADON apresentaram EM de -36,6%, 7,4% e 17,1%, respectivamente. De acordo com SANTE/11945/2015, efeitos de matriz até 20% são aceitáveis para análises de contaminantes de alimentos em nível traço (SANTE, 2016), logo, apenas o DON apresentou EM superior a 20% e negativo, indicando supressão de sinal. Para correção deste efeito, optou-se pela utilização das curvas padrão na matriz dos três tricotecenos com o intuito de garantir maior confiabilidade na quantificação destas micotoxinas simultaneamente.

As recuperações e as repetibilidades foram determinadas em três níveis de fortificação, nos quais corresponderam a 1xLOQ, 5xLOQ e 10xLOQ para DON e 15-ADON e 1xLOQ, 3xLOQ e 6xLOQ para 3-ADON. A repetibilidade e a precisão intermediária foram avaliadas pelos coeficientes de variação resultantes das recuperações e repetibilidades, respectivamente (Tabela 7). Nos três níveis de recuperação, os valores variaram entre 75,7-97,3%, 101,0-110,2% e 111,1-117,4% para DON; 83,0-104,9%, 84,4-117,3% e 73,4-105,6% para 3-ADON; e 79,1-102,5%, 80,8-110,4% e 74,2-111,8% para 15-ADON, respectivamente. A exatidão e precisão intermediária do método variaram 1,4%-13,1% e 2,9-10,4%, respectivamente, para as três micotoxinas. As recuperações foram superiores a 70% e inferiores a 120% para a exatidão e precisão intermediária com coeficientes de variação inferiores a 20% conforme recomendado pela EC nº 401/2006. As medidas de incerteza obtidas para os três tricotecenos analisados em termos de repetibilidade e precisão intermediária variaram de 12,2% a 44,6%, estando abaixo de 50% de acordo com a SANTE (2016). Portanto, os resultados dos

parâmetros de validação avaliados, permitem inferir que o método desenvolvido para extração e quantificação de DON, 3-ADON e 15-ADON é confiável e eficiente.

Figura 8 – Cromatogramas de DON, 3-ADON e 15-ADON em seus respectivos limites de quantificação após etapas de extração e derivatização.



(1) Branco da amostra; (2) Solvente; (3) Branco fortificado; (a), (b) e (c) cromatogramas nos tempos de retenção dos tricotecenos DON, 3-ADON e 15-ADON do branco da amostra; (d), (e) e (f) cromatogramas nos tempos de retenção dos tricotecenos DON, 3-ADON e 15-ADON do solvente; (g), (h) e (i) cromatogramas nos tempos de retenção dos tricotecenos DON, 3-ADON e 15-ADON do branco da amostra fortificado. O Solvente e o branco fortificado foram contaminados no limite de quantificação de cada micotoxina.

5.2.4 Aplicabilidade do Método

Para avaliar a aplicabilidade do método foram analisadas vinte e quatro amostras de quatro diferentes produtos de arroz (branco polido, parboilizado polido, integral e parboilizado integral) como mostra a Tabela 8. Não foi detectada a presença de 3-ADON nas amostras analisadas, porém 45,8% do total destas amostras apresentaram contaminação por DON e/ou 15-ADON (Tabela 8). Produtos de arroz branco polido e parboilizado polido apresentaram contaminação apenas por DON representando um percentual de incidência de 16,7% para ambos. O arroz integral apresentou 50% de incidência de DON e 16,7% de 15-ADON. No arroz parboilizado integral houve 83,3% de incidência por DON. Os diferentes subgrupos de arroz provenientes das cultivares BRSGO Serra Dourada (cultivo em sequeiro) e Guri Inta CL (cultivo irrigado) também estão entre as 24 amostras analisadas e somente no subgrupo parboilizado integral irrigado foi detectada a incidência de DON. Cabe salientar que os níveis de contaminação estavam abaixo do limite de quantificação, isto é, menor que $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$.

Tabela 8 – Ocorrência de Tricotecenos em Arroz.

Micotoxinas		Subgrupos de Arroz				Total
		BP	PP	I	PI	
DON	Incidência (n_p/n_t)	1/6	1/6	3/6	5/6	10/24
	Incidência (%)	16,7	16,7	50,0	83,3	41,7
	NC ($\mu\text{g g}^{-1}$)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
3-ADON	Incidência (n_p/n_t)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/24
	Incidência (%)	0	0	0	0	0
	NC ($\mu\text{g g}^{-1}$)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
15-ADON	Incidência (n_p/n_t)	0/6	0/6	1/6	0/6	1/24
	Incidência (%)	0	0	16,7	0	4,2
	NC ($\mu\text{g g}^{-1}$)	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOQ
Soma Tricotecenos	Incidência (n_p/n_t)	1/6	1/6	4/6	5/6	11/24
	Incidência (%)	16,7	16,7	66,7	83,6	45,8
	NC ($\mu\text{g g}^{-1}$)	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

BP: Branco Polido; PP: Parboilizado Polido; I: Integral; PI: Parboilizado Integral; n_p/n_t : número de amostras positivas/número total de amostras; NC: nível de contaminação; LOQ: limite de quantificação; nd: não detectado; $\text{LOD}_{\text{DON}}=0,08 \mu\text{g kg}^{-1}$; $\text{LOD}_{3\text{-ADON}}=0,3 \mu\text{g kg}^{-1}$; $\text{LOD}_{15\text{-ADON}}=0,19 \mu\text{g kg}^{-1}$; $\text{LOQ}_{\text{DON}}=0,50 \mu\text{g kg}^{-1}$; $\text{LOQ}_{3\text{-ADON}}=1,00 \mu\text{g kg}^{-1}$; $\text{LOQ}_{15\text{-ADON}}=0,50 \mu\text{g kg}^{-1}$.

A legislação brasileira estabelece que para arroz beneficiado e derivados, o limite máximo tolerável (LMT) de deoxinivalenol é de $750 \mu\text{g kg}^{-1}$ (BRASIL, 2011). A União Europeia estipula que o LMT do deoxinivalenol seja de $1250 \mu\text{g kg}^{-1}$ para cereais não transformados como o arroz com casca, com exceção de trigo duro, aveia e milho, e de $750 \mu\text{g kg}^{-1}$ para alimentos destinados ao consumo direto, farinha, sêmola e gérmen de cereais, onde arroz dos subgrupos branco polido, parboilizado integral, parboilizado polido e integral se enquadram a esta última classificação (UE, 2007). As amostras de arroz contaminadas, apresentaram níveis de DON e/ou 15-ADON abaixo dos LMTs estabelecidos pela ANVISA e União Europeia, respectivamente, apesar de não ter sido possível realizar a quantificação, observou-se que estas contaminações são acima dos LODs de DON e 15-ADON de 80 e $190 \mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente.

No Brasil, Nunes et al. (2003), ao avaliarem a ocorrência de aflatoxinas (B_1 , B_2 , G_1 e G_2), ocratoxina A, zearalenona, deoxinivalenol e toxina T-2 em 56 amostras de arroz comercial (24 amostras de arroz branco polido, 16 amostras de arroz parboilizado e 16 amostras de arroz integral) da região Sul do Brasil, detectaram a presença de DON em apenas uma amostra de arroz branco polido na concentração de $300 \mu\text{g kg}^{-1}$, correspondendo a apenas 1,8% de incidência desta micotoxina em relação as demais amostras analisadas. Dors, Bierhals e Badiale-Furlong (2011) verificaram a ocorrência de aflatoxina B_1 , deoxinivalenol, ocratoxina A e zearalenona em 20 amostras de arroz parboilizado polido e 12 amostras de arroz parboilizado integral e encontraram 22% de incidência de DON referente as 32 amostras com concentrações de até $400 \mu\text{g kg}^{-1}$. Gomes et al. (2015) ao avaliarem a extensão da diversidade do complexo de espécies de *Fusarium Graminearum* (FGSC) em sementes de arroz produzidas no sul do país, detectaram 4 espécies e 2 genótipos de tricotecenos entre os 89 isolados do complexo. Dentre os isolados, 7 isolados de *F. asiaticum* foram capazes de produzir NIV e 2 isolados de *F. graminearum* produziram 15-ADON e 3-ADON em teste um *in vitro* realizado utilizando substrato à base de arroz. Diante disto, os autores confirmaram a dominância de *F. asiaticum* em agroecossistemas de arroz do Brasil bem como a composição do complexo FGSC em arroz fora da Ásia e a propensão de contaminação do arroz pelos tricotecenos acetilados 3-ADON e 15-ADON.

Em levantamentos realizados no exterior, a ocorrência de deoxinivalenol, diacetoxiscirpenol, nivalenol, toxina T-2, toxina HT-2 e zearalenona em 50 amostras de arroz do comércio da região de Karnataka na Índia, realizada por Murthy, Rati e Manonmani (2009) revelou incidência de 24% de DON, com concentrações que chegaram até $500 \mu\text{g kg}^{-1}$. Lee et al. (2011), avaliaram a ocorrência de nivalenol, deoxinivalenol e zearalenona em 201

amostras de arroz da Coreia e os percentuais de incidência encontrados para DON foram 4%, 4%, 68% e 0% para arroz integral, arroz tingido de azul, arroz descolorido e branco polido, respectivamente. O arroz descolorido destacou-se por apresentar a maior contaminação por DON, a qual correspondeu a $1355 \mu\text{g kg}^{-1}$. Ok, Lee e Chun (2018) ao estudarem ocorrência de deoxinivalenol e nivalenol em 241 amostras de arroz branco polido, 241 amostras de arroz integral e 239 amostras de farelo de arroz provenientes de diferentes fazendas da Coreia do Sul, encontraram incidência de DON em 5% das amostras de arroz branco polido (contaminação máxima de $372,2 \mu\text{g kg}^{-1}$), 7% em arroz integral (concentração máxima de $434,5 \mu\text{g kg}^{-1}$) e 31% no farelo de arroz (concentração máxima de $655,6 \mu\text{g kg}^{-1}$).

Diante das ocorrências de tricotecenos em arroz relatadas na literatura, verifica-se que apesar de DON ser encontrado em arroz por diversos autores de países distintos, estas contaminações geralmente costumam estar abaixo dos níveis legislados pela União Europeia e pela ANVISA ($750 \mu\text{g kg}^{-1}$), principalmente em arroz branco polido, de acordo com o encontrado pelo presente estudo. A maior frequência observada de DON é em arroz dos subgrupos integral e parboilizado integral, indicando que os tricotecenos tendem a se concentrar no farelo, como apontado por Ok, Lee e Chun (2018). Além disso, relatos de ocorrência dos tricotecenos acetilados 3-ADON e 15-ADON especificamente em arroz são escassos e não há limites máximos legislados para a presença destas micotoxinas em arroz e outros cereais como o trigo, onde a presença de tricotecenos do grupo B é comum.

Portanto, apesar das amostras de arroz brasileiras analisadas apresentarem contaminação principalmente por DON abaixo da legislação e apenas ter detectado 15-ADON em uma amostra de arroz integral, é necessário continuar os estudos quanto a presença de seus acetilados 3-ADON e 15-ADON em diferentes subgrupos e produtos à base de arroz de diversos países, para adotar estratégias que mitiguem os danos decorrentes da contaminação com estes tricotecenos em toda a cadeia produtiva do arroz, com o intuito de garantir a segurança e a qualidade deste alimento considerado básico e amplamente consumido pela população mundial.

5.3 MIGRAÇÃO DE DEOXINIVALENOL DURANTE A PARBOILIZAÇÃO DO ARROZ

Considerando que a parboilização, embora possa aumentar o rendimento e o valor nutritivo dos grãos de arroz pela migração de nutrientes para o endosperma, compostos tóxicos como pesticidas e contaminantes fúngicos também podem ser lixiviados, podendo aumentar a concentração final destes contaminantes no arroz (COELHO; FURLONG; ALMEIDA, 1999; DORS; PINTO; BADIALE-FURLONG, 2009). Durante a maceração (encharcamento) dos

grãos com casca, a água migra para o interior dos grãos transportando compostos solúveis em água como vitaminas e proteínas, facilita a gelatinização do amido na etapa posterior e pode propiciar o desenvolvimento fúngico (DORS; PINTO; BADIALE-FURLONG, 2009; ELIAS et al., 2012). A etapa de gelatinização realizada durante a autoclavagem do arroz, as temperaturas e a secagem completam a gelatinização e a retrogradação do amido, selando trincamentos e fissuras, aumentando a resistência dos grãos às operações que utilizam fricção, proporcionando a maior obtenção de grãos inteiros, arroz mais nutritivo do que o branco polido e mais estável que o integral (ELIAS et al., 2012). Logo, o conhecimento sobre a migração de micotoxinas durante a parboilização é importante para a mitigação destes contaminantes fúngicos e prevenção de danos à saúde humana e animal (DORS; PINTO; BADIALE-FURLONG, 2009).

Os estudos que avaliam a influência do modo de cultivo em relação a migração de micotoxinas durante a parboilização do arroz são escassos, embora seja corrente a verificação de diferenças de rendimento entre grãos provenientes de diferentes tipos de cultivo. Em virtude disso, arroz irrigado (cultivar Guri Inta CL) e arroz de sequeiro (cultivar BRSGO Serra Dourada) foram previamente contaminados com o tricoteceno legislado no Brasil deoxinivalenol (DON) no limite máximo tolerável de $750 \mu\text{g kg}^{-1}$, parboilizados, beneficiados e nas suas frações foram determinados os percentuais de migração de DON como mostra a Tabela 9 e Figuras 9 e 10.

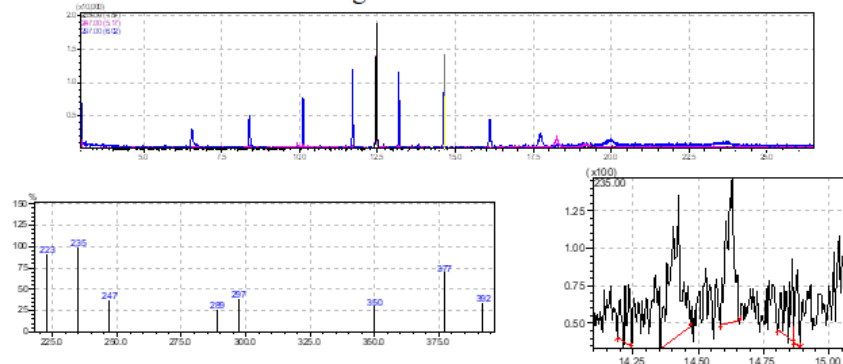
Tabela 9 – Percentual de Migração de Deoxinivalenol em cultivares de arroz irrigado (Guri Inta CL) e de sequeiro (BRSGO Serra Dourada).

Tipo de Cultivo	Amostra	Migração de DON (%)
Irigado	Parboilizado Polido	<LOD
	Parboilizado Integral	<LOD
	Farelo	12,0(8,2)
	Casca	<LOD
Sequeiro	Parboilizado Polido	<LOD
	Parboilizado Integral	<LOD
	Farelo	13,4(10,6)
	Casca	<LOD

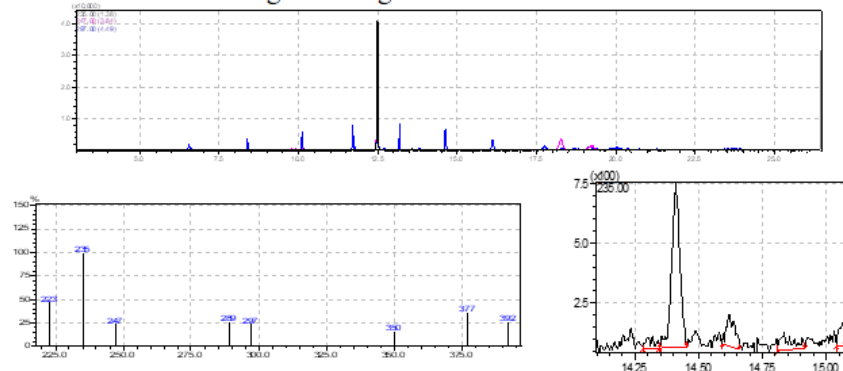
DON: deoxinivalenol; LOD: limite de detecção; $\text{LOD}_{\text{DON}}=0,08 \mu\text{g kg}^{-1}$. Dados apresentados como média(CV), em que CV é o coeficiente de variação (%).

Figura 9 – Cromatogramas da Migração de DON em Arroz Parboilizado da cultivar Guri Inta CL.

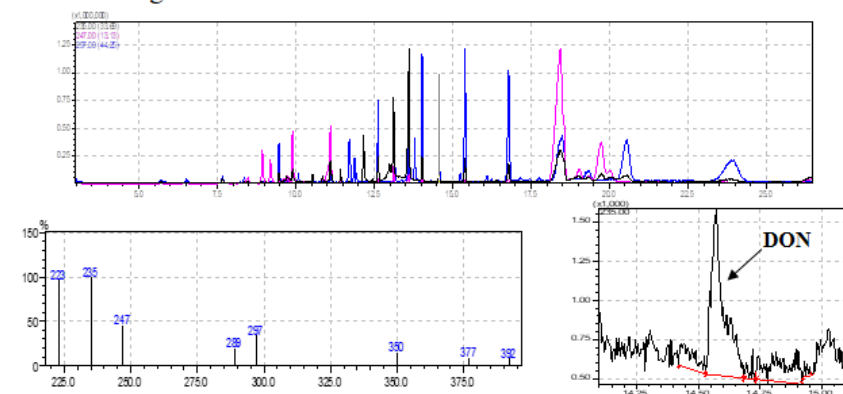
Arroz Parboilizado Polido – Irrigado



Arroz Parboilizado Integral – Irrigado



Farelo – Irrigado



Casca – Irrigado

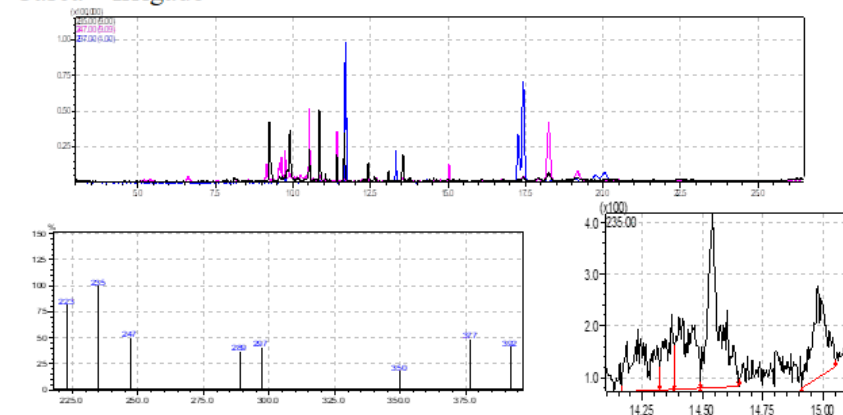
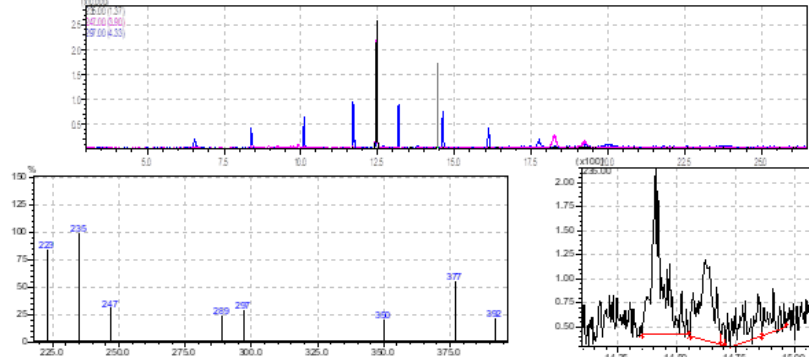
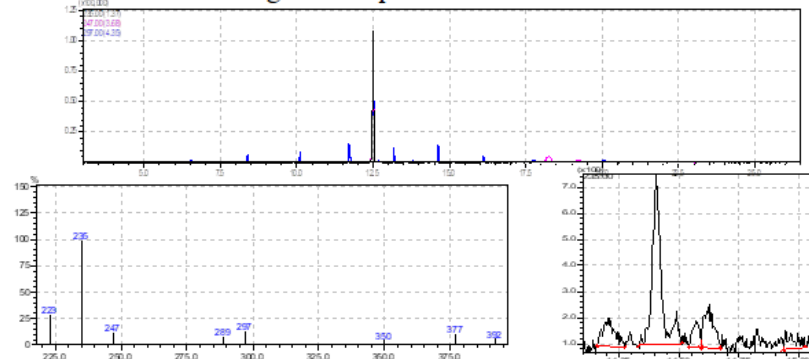


Figura 10 – Cromatogramas da Migração de DON em Arroz Parboilizado da cultivar BRSGO Serra Dourada.

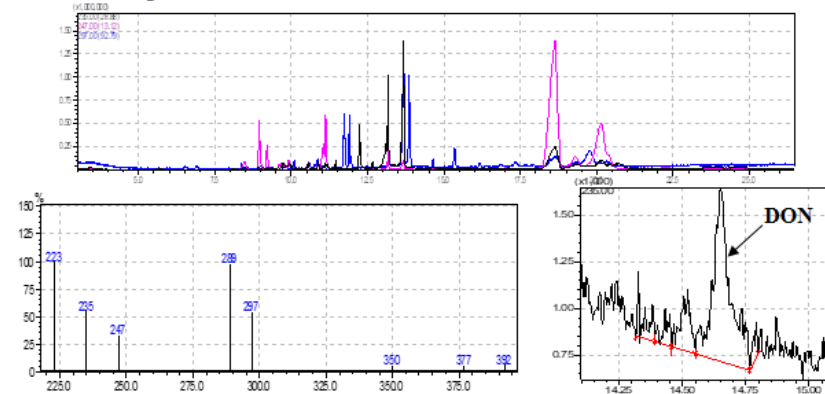
Arroz Parboilizado Polido – Sequeiro



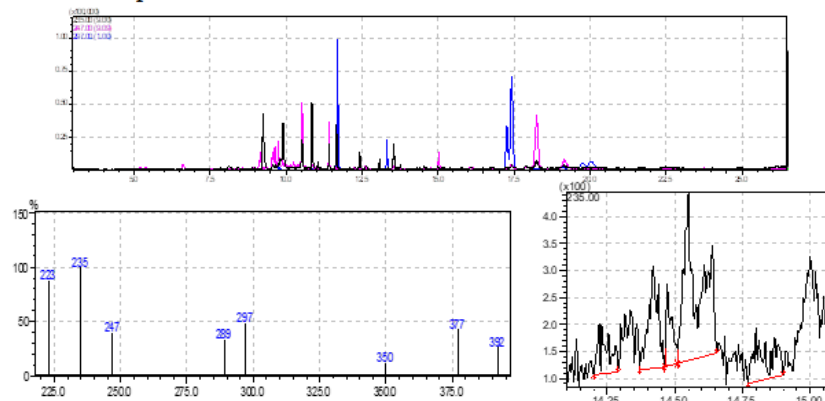
Arroz Parboilizado Integral – Sequeiro



Farelo – Sequeiro



Casca – Sequeiro



Na Tabela 9 e Figuras 9 e 10, é possível observar que DON foi apenas detectado no farelo, tanto em arroz da cultivar irrigada quanto de sequeiro, apresentando percentuais de migração de 12 e 13,4%, respectivamente.

Coelho, Furlong e Almeida (1999) ao avaliarem a migração de Ocratoxina A e Aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂ para o interior do endosperma amiláceo (arroz parboilizado polido) durante o processo de parboilização, verificaram percentuais médios de migração de 66%, 32%, 44%, 36% e 22% para Ocratoxina A e Aflatoxinas B₁, B₂, G₁ e G₂, respectivamente, e observaram que o aumento nas concentrações de micotoxinas ocorre em tempos maiores utilizados nas etapas de encharcamento (6h) e gelatinização (30 min). Estes autores relatam que pode ocorrer a diluição de micotoxinas na água de maceração quando o equilíbrio é atingido nesta etapa e também a degradação das micotoxinas é dificultada pela alta estabilidade térmica que muitas apresentam.

Dors, Pinto e Badiale-Furlong (2009) avaliaram a migração de Deoxinivalenol, Zearalenona e Aflatoxina B₁ para o endosperma amiláceo do arroz durante a parboilização e observaram que no nível mais baixo de contaminação de DON (720 µg kg⁻¹) com o menor tempo de imersão (4h) e 30 min de gelatinização ocorreu a maior migração do tricoteceno para o endosperma amiláceo (100%), enquanto que as menores migrações de DON (3% e 8%) ocorreram com o emprego de 6 h de imersão e 30 e 15 min de gelatinização, respectivamente. A aflatoxina B₁, naturalmente presente no arroz (17 µg kg⁻¹), apresentou a menor migração (7%) quando os tempos de encharcamento e de autoclavagem foram de 4h e 15 min, respectivamente. Nos tempos de 4h de encharcamento e 15 min de gelatinização, bem como menor nível de contaminação (476 µg kg⁻¹), a zearalenona apresentou a menor migração para o endosperma amiláceo (46%). Os autores não encontraram uma única condição que apresentasse menor migração para as três micotoxinas simultaneamente e justificaram que pode ter ocorrido a interferência de uma micotoxina sobre a outra e também por outros compostos presentes na matriz.

Diferentemente de Coelho, Furlong e Almeida (1999) e Dors, Pinto e Badiale-Furlong (2009), este estudo não observou migração de DON para o endosperma amiláceo (arroz parboilizado polido), assim como no parboilizado integral e na casca. Cabe ressaltar que nosso estudo utilizou menor relação temperatura x pressão (108 °C, 0,4 kgf cm⁻²) de gelatinização (121 °C, 1,1 kgf cm⁻²) e tempo (10 min) do que os autores citados. Possivelmente, uma fração de DON pode ter migrado para a água de maceração e o menor tempo, pressão e temperatura de gelatinização, bem como menor temperatura de secagem (38 °C), contribuíram para a menor migração deste tricotecenos ou até mesmo complexação

com outras macromoléculas presentes no arroz, como o amido resistente. Além disso, a condição utilizada foi menos drástica, fazendo com que as cascas dos grãos abram menos durante a gelatinização, dificultando a migração de DON, e os grãos fiquem mais soltos. Outro fator a ser considerado é que a casca de arroz pode funcionar como adsorvente de micotoxinas, como comprovado por Scaglioni e Badiale-Furlong (2016), em que verificaram 100% de remoção de aflatoxinas B₁ e M₁ do leite, explicando a não extração de DON da casca, a qual pode ter retido parte do tricoteceno e por isto não foi extraído e detectado cromatograficamente.

Diante dos estudos anteriores realizados, verifica-se que a condição utilizada de 4h de maceração a 60 °C, gelatinização a 108 °C (0,4 kgf cm⁻²) por 10 min e secagem a 38 °C até a obtenção de 13% de umidade dos grãos, não promoveu a migração de DON para o interior do grão e consequente não detecção dele no endosperma, mas sim constatando a presença da micotoxina apenas no farelo. Apesar do farelo de arroz de sequeiro ter apresentado a maior migração de DON (13,4%) do que o farelo irrigado (12%) não é possível afirmar que o tipo de cultivo influi na migração de micotoxinas durante o processo de parboilização, visto que os percentuais de migração apresentaram pouca diferença e o DON foi encontrado na mesma fração.

Nas condições adotadas, a parboilização contribuiu para a concentração do tricoteceno DON no farelo, permitindo considerar que este estudo mostrou uma condição de maior mitigação de DON em um alimento de consumo diário, mais eficiente que os estudos anteriormente realizados por Coelho, Furlong e Almeida (1999) e Dors, Pinto e Badiale-Furlong (2009) pois não foi constatado a migração do tricoteceno para o endosperma amiláceo de arroz parboilizado integral e parboilizado polido.

O interesse da utilização do farelo para extração de óleo de farelo de arroz (STRIEDER et al., 2017), extração de compostos fenólicos que atuam como conservadores em produtos de panificação (CHRIST-RIBEIRO et al., 2017), elaboração de produtos de panificação (PAZ et al., 2015), ração animal (SANCHEZ et al., 2015) e para outras finalidades alimentícias, tem aumentado devido a este subproduto ser de baixo custo e com alto valor nutricional. Portanto, para o emprego do farelo de arroz como alimento é necessário adotar medidas preventivas e mitigativas para garantir a segurança do consumidor.

6 CONCLUSÃO

O grau de beneficiamento e o emprego de parboilização para as cultivares de arroz irrigado (Guri Inta CL) quanto de sequeiro (BRSGO Serra Dourada) foram determinantes nas características físico-químicas e na formação de amido disponível e resistente, mostrando-se como pontos críticos na cadeia produtiva do arroz. Esta afirmação está corroborada pela análise dos componentes principais que demonstrou que os percentuais de proteínas, lipídios, cinzas, açúcares redutores, parâmetros de amido, dureza, poder de inchamento e índice de solubilidade e água, foram afetados pelo beneficiamento. Os subgrupos de arroz parboilizado integral e integral destacam-se pelos maiores teores de amido resistente (11,5%-17,2%) e também de proteínas (9,0%-10,6%) das cultivares Guri Inta CL e BRSGO Serra Dourada, contribuindo para a qualidade nutricional deste cereal.

Um método para determinação de DON, 3-ADON e 15-ADON em arroz por CG-EM utilizando a técnica de extração VA-MSPD foi desenvolvido e validado, mostrando-se confiável e eficiente com recuperações entre 73,4 e 117,4%, consideradas aceitáveis perante os órgãos regulamentadores. A aplicação do método em diferentes subgrupos de arroz mostrou que DON tem maior incidência em arroz integral, enquanto que 3-ADON não foi detectado nas amostras analisadas.

A parboilização do arroz não promoveu a migração de DON para o interior do grão (endosperma), mas sua presença foi constatada no farelo, portanto, a migração de contaminantes pode ser regulada pelas características físico-químicas dos tecidos mais externos do grão. A migrações de DON no farelo de arroz da cultivar de sequeiro BRSGO Serra Dourada (13,4%) e irrigada Guri Inta CL (12%) não permitem afirmar que o modo de cultivo influi na migração de micotoxinas durante o processo de parboilização, pois os percentuais de migração apresentaram pouca diferença e o DON foi encontrado na mesma fração.

Os cultivos irrigado e de sequeiro não diferiram quanto as propriedades físico-químicas e micotoxicológicas e foram afetados de forma semelhante pelos diferentes processos de beneficiamento. Desta forma, os resultados obtidos contribuem para a divulgação de alimentos com maiores teores de amido resistente, bem como para a mitigação de micotoxinas na cadeia produtiva de arroz.

7 SUGESTÃO PARA TRABALHOS FUTUROS

- Verificar a bioacessibilidade de amido resistente e tricotecenos de diferentes subgrupos (branco polido, integral, parboilizado polido e parboilizado integral) e cultivares de arroz irrigado e de sequeiro;
- Devido a escassez de estudos referentes a ocorrência de micotoxinas (aflatoxinas, zearalenona, tricotecenos, ocratoxina A, etc.) em arroz de sequeiro, é importante avaliar a incidência destes contaminantes em diferentes cultivares provenientes deste modo de cultivo, a fim de avaliar quais fatores bióticos e abióticos que propiciam a ocorrência de micotoxinas;
- Realizar maiores estudos de migração de outras micotoxinas durante a parboilização de arroz irrigado e de sequeiro com o intuito de obter condições que proporcionam a menor migração destes contaminantes para o interior do grão;
- Avaliar se o tempo de armazenamento de farelo de arroz contribui para o aumento ou redução de DON, bem como formação de seus acetilados 3-ADON e 15-ADON, uma vez que se o farelo estiver contaminado, seus mecanismos de defesa podem atuar sobre estas micotoxinas, acarretando em diversas reações de degradação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABUBAKAR, B.; YAKASAI, H. M.; ZAWAWI, N.; ISMAIL, N. Compositional analyses of white, brown and germinated forms of popular Malaysian rice to offer insight into the growing diet-related diseases. **Journal of Food and Drug Analysis**, v. 26, p. 706-715, 2018.
- ALEXANDER, N. J.; MCCORMICK, S. P.; WAALWIJK, C.; LEE, T.; PROCTOR, R. H. The genetic for 3-ADON and 15-ADON trichothecene chemotypes in *Fusarium*. **FungaGenetics and Biology**, v. 48, p. 485-495, 2011.
- ALEXANDER, N. J.; PROCTOR, R. H.; MCCORMICK, S. P. Genes, gene clusters, and biosynthesis of trichothecenes and fumonisins in *Fusarium*. **Toxin Reviews**, v. 28, p. 198-215, 2009.
- AMAGLIANI, L.; O'REGAN, J.; KELLY, A. L.; O'MAHONY, J. A. The composition, extraction, functionality and applications of rice proteins: A review. **Trends in food science & technology**, v. 64, p. 1-12, 2017.
- AMATO, G. W. **Arroz no Programa Mundial da Alimentação das Nações Unidas**. Blucher Preceedings:Ebook, IRGA, 2014. Disponível em: https://issuu.com/lavouraarrozera/docs/livro_libro_arroz_en_pma_onu_170214. Acesso em: 20 de set. 2017.
- AMATO, G. W.; CARVALHO, J. L. V. C.; SILVEIRA FILHO, S. **Arroz parboilizado: tecnologia limpa, produto novo**. PortoAlegre:Ricardo Lenz, 2002.
- AMATO, G. W.; ELIAS, M. C. **Parboilização do arroz**. Porto Alegre:Ricardo Lenz, 2005.
- ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S. J.; ŠTAJNBAHER, D.; SCHENCK, F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase” for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v. 83, p. 412-431, 2003.
- AOAC. **Official Methods of Analysis of International**. – Association of Official Analytical Chemists. 16 th, 1995. CD-ROM.
- AOAC. **Official methods of analysis**. 17th ed. Maryland, USA: Association of Official Analytical Chemistry, 2000.
- ARDREY, R. E. **Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: An Introduction**, Wiley: Huddersfield, 2003.
- ARUNACHALAM, C.; DOOHAN, F. M. Trichothecene toxicity in eukaryotes: Cellular and molecular mechanisms in plants and animals. **Toxicology Letters**, v. 217, p. 149-158, 2013.
- BADIALE-FURLONG, E. Métodos analíticos aplicados à caracterização nutricional, funcional e de contaminantes em arroz e seus derivados. In: ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M.; VANIER, N. L. **Qualidade de arroz da pós-colheita ao consumo**. Pelotas: Editora Universitária da UFPEL, 2012. p. 139-160.

BARKER, S.A. Applications of matrix solid-phase dispersion in food analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 880, p. 63-68, 2000.

BARKER, S.A. Matrix solid-phase dispersion. **Journal of Chromatography A**, v. 885, p. 115-127, 2002.

BARKER, S. A. Matrix Solid Phase Dispersion (MSPD). **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, v. 70, p. 151-162, 2007.

BECKER-ALGERI, T. A.; HEIDTMANN-BEMVENUTI, R.; DOS SANTOS HACKBART, H. C.; BADIALE-FURLONG, E. Thermal treatments and their effects on the fumonisin B1 level in rice. **Food Control**, v. 34, n. 2, p. 488-493, 2013.

BENSASSI, F.; GOLLI-BENNOUR, E.; ABID-ESSEFI, S.; BOUAZIZ, C.; HAJLAOUI, M. R.; BACHA, H. Pathway of deoxynivalenol-induced apoptosis in human colon carcinoma cells. **Toxicology**, v. 264, p. 104-109, 2009.

BHATTACHARYA, K. R.; ALI, S. Z. Changes in rice during parboiling, and properties of parboiled rice. **Advances in Cereal Science Technology**, v. VIII, p. 105-107, 1985.

BHULLAR, N. K.; GRUISSEM, W. Nutritional enhancement of rice for human health: the contribution of biotechnology. **Biotechnology advances**, v. 31, n. 1, p. 50-57, 2013.

BILLIADERIS, C. G. The structure and interactions of starch with food constituents. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 69, n. 1, p. 60-78, 1991.

BIRT, D. F.; BOYLSTON, T.; HENDRICH, S.; JANE, J-L.; HOLLIS, J.; LI, L.; McCLELLAND, J.; MOORE, S.; PHILLIPS, G. J.; ROWLING, M.; SCHALINSKE, K.; SCOTT, M. P.; WHITLEY, E. M. Resistant Starch: Promise of Improving Human Health. **Advances in Nutrition**, v. 4, p. 587-601, 2013.

BLAU, K.; HALKET, J. M. **Handbook of Derivatives for Chromatography**. 2 ed. John Wiley & Sons:Chichester, 1993.

BOTELHO, F. M.; CORRÊA, P. C.; GONELI, A. L. D.; MARTINS, M. A.; BAPTESTINI, F. M. Análise da hidratação do arroz na parboilização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, p. 713-718. 2010.

BOURNE, M. C. **Food texture and viscosity: concept and measurement**. 2 ed. Academic Press: London, 2002.

BRASIL, 2009. Instrução Normativa nº 6 de 16 de fevereiro de 2009. **Regulamento Técnico do Arroz**. MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: <http://www.cidasc.sc.gov.br/classificacao/files/2012/08/INM00000006.pdf>. Acesso em: set. 2017.

BRASIL. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para a validação de métodos analíticos e bioanalíticos. ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2003.

BRASIL, 2011. RDC nº 07, de 18 de Fevereiro de 2011. **Limites Máximos Tolerados (LMT) para Micotoxinas em Alimentos**. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2968262/RDC_07_2011_COMP.pdf/afe3f054-bc99-4e27-85c4-780b92e2b966. Acesso em: nov. 2018.

BRASIL, 2017. RDC nº 138, de 08 de Fevereiro de 2017. **Limites Máximos Tolerados (LMT) para Micotoxinas em Alimentos**. ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em:

http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3219534/RDC_138_2017_.pdf/b36e60b0-5112-43dc-9142-932f502fc46b?version. Acesso em: fev. 2019.

BROUNS, F.; KETTLITZ, B.; ARRIGONI, E. Resistant starch and “the butyrate revolution”. **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n. 8, p. 251-261, 2002.

BRYDEN, W. L. Mycotoxins in the food chain: human health implications. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, v. 16, n. 1, p. 95-101, 2007.

BUGGENHOUT, J.; BRIJS, K.; CELUS, I.; DELCOUR, J. A. The breakage susceptibility of raw and parboiled rice: A review. **Journal of Food Engineering**, v. 117, n. 3, p. 304-315, 2013.

CALDAS, S. S.; BOLZAN, C. M.; DE MENEZES, E. J.; ESCARRONE, A. L. V.; MARTINS, C. D. M. G.; BIANCHINI, A.; PRIMEL, E. G. A vortex-assisted MSPD method for the extraction of pesticide residues from fish liver and crab hepatopancreas with determination by GC-MS. **Talanta**, v. 112, p. 63-68, 2013.

CAPRIOTTI, A. L.; CAVALIERE, C.; GIANSAANTI, P.; GUBBIOTTI, R.; SAMPERI, R.; LAGANÀ, A. Recent developments in matrix solid-phase dispersion extraction. **Journal of chromatography A**, v. 1217, n. 16, p. 2521-2532, 2010.

CAPRIOTTI, A. L.; CAVALIERE, C.; FOGLIA, P.; SAMPERI, R.; STAMPACHIACCHIERE, S.; VENTURA, S.; LAGANÀ, A. Recent advances and developments in matrix solid-phase dispersion. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 186-193, 2015

CAPRIOTTI, A. L.; CAVALIERE, C.; LAGANÀ, A.; PIOVESANA, S.; SAMPERI, R. Recent trends in matrix solid-phase dispersion. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 43, p. 53-66, 2013.

CERQUEIRA, M. B.; SOARES, K. L.; CALDAS, S. S.; PRIMEL, E. G. Sample as solid support in MSPD: A new possibility for determination of pharmaceuticals, personal care and degradation products in sewage sludge. **Chemosphere**, v. 211, p. 875-883, 2018.

CHAMP, M.; FAISANT, N. Resistant starch: analytical and physiological aspects. **Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 37-43, 1996.

CHAMPAGNE, E. T.; WOOD, D. F.; JULIANO, B. O.; BECHTEL, D. B. The rice grain and its gross composition. **Rice chemistry and technology**, v. 3, p. 77-107, 2004.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química nova**, v. 31, n. 3, p. 623-636, 2008.

CHRIST-RIBEIRO, A.; COSTA BRETANHA, C.; GIACOBBO LUZ, G.; MORAES DE SOUZA, M.; BADIALE FURLONG, E. Antifungal compounds extracted from rice bran fermentation applied to bakery product conservation. **Acta Scientiarum Technology**, v. 39, n. 3, p. 263-268, 2017.

CIGIC I.K.; PROSEN, H. An overview of conventional and emerging analytical methods for determination of mycotoxins. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 10, n. 1, p. 62-115, 2009.

COELHO, C. S.; BADIALE-FURLONG, E.; ALMEIDA, T. L. Migração de micotoxinas durante o processo de parboilização do arroz. **Brazilian Journal Food Technology**, v. 2, n. 2, p. 43-50, 1999.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira de grãos – Safra 2018/2019 – Terceiro levantamento**. Brasília, v. 6. n. 3. p. 1-127, 2018. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/component/k2/item/download/23663_93cc161c7f2985c61e7925268dfcc3eb>. Acesso em: dez. 2018.

CRUSCIOL, C. A. C.; ARF, O.; SORATTO, R.; ANDREOTTI, M. Produtividade do arroz de terras altas sob condições de sequeiro e irrigado por aspersão em função do espaçamento entre fileiras. **Agronomia**, v. 37, n. 1, p. 10-15, 2003.

CRUSCIOL, C. A. C.; SORATTO, R. P.; NASCENTE, A. S.; ARF, O. Root distribution, nutrient uptake, and yield of two upland Rice cultivars under two water regimes. **Agronomy Journal, Madison**, v. 105, p. 237-247, 2013.

DA SILVA, M. N.; MASSAROLO, K. C.; KUPSKI, L.; FURLONG, E. B. Hydrothermal treatment of rice: Reduction of aflatoxins and bioaccessibility. **Journal of Cereal Science**, v. 85, p. 199-205, 2019.

DENG, N.; LING, X.; SUN, Y. ZHANG, C.; FAHAD, S.; PENG, S.; CUI, K.; NIE, L.; HUANG, J. Influence of temperature and solar radiation on grain yield and quality in irrigated rice system. **European Journal of Agronomy, Amsterdam**, v. 64, n. 1, p. 37-46, 2015.

DÓREA, H. S.; SOBRINHO, L. L. Analysis of Pesticide Residues in Rice Using Matrix Solid-Phase Dispersion (MSPD). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 15, n. 5, p. 690-694, 2004.

DORS, G. C.; BIERHALS, V. S.; BADIALE-FURLONG, E. Parboiled rice: chemical composition and the occurrence of mycotoxins. **Food Science and Technology**, v. 31, n. 1, p. 172-177, 2011.

DORS, G. C; PINTO, L. A. A.; BADIALE-FURLONG, E. Migration of mycotoxins into rice starchy endosperm during the parboiling process. **LWT – Food Science and Technology**, v. 42, p. 433-437, 2009.

EKE, Z.; TORKOS, K. N. N-dimethyl-trimethylsilyl-carbamate as a derivatizing agent in gás chromatography of trichothecene mycotoxins. **Microchemical Journal**, v. 77, p. 43-46, 2004.

ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M.; VANIER, N. L. **Qualidade de arroz da pós-colheita ao consumo**. Pelotas: Editora Universitária da UFPEL, 2012.

ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M.; VANIER, N. L.; PARAGINSKI, R. T.; SCHIAVON, R. A. Industrialização de arroz por processo convencional e por parboilização. In: ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M.; VANIER, N. L. **Qualidade de arroz da pós-colheita ao consumo**. Pelotas: Editora Universitária da UFPEL, 2012. p. 43-55.

EMBRAPA. **O produtor pergunta, a embrapa responde**. 2 ed rev. e ampl. EMBRAPA: Distrito Federal, BRASIL. 2013. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/101791/1/500perguntasarroz.pdf>>. Acesso: out. 2018.

ENGLYST, H.N.; KINGMAN, S. M.; CUMMINGS, J. H. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.46, p.33-50, 1992.

ERIKSEN, G. S.; PETTERSSON, H.; LUNDH, T. Comparative cytotoxicity of deoxynivalenol, nivalenol, their acetylated derivatives and de-epoxy metabolites. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 619-624, 2004.

EUROPEAN COMMISSION. Commission regulation (EC) 401/2006 of 23 february 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L70, p. 12-34, 2006.

FAGERIA, N. K. Nutrient management for improving upland rice productivity and sustainability. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, v. 32, n. 15-16, p. 2603-2629, 2001.

FAGERIA, N. K.; BALIGAR, V. C. Enhancing nitrogen use efficiency in crop plants. **Advances in Agronomy**, v. 88, p. 97-185, 2005.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations – Statistics Division. **Crops**. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: Dez. 2018.

FENNEMA, O. R.; DAMODARAN, S.; PARKIN, K. L. **Química de Alimentos de Fennema**. 4 ed. Porto Alegre:Editora Artmed, 2010.

FAROOQ, A. M.; LI, C.; CHEN, S.; FU, X.; ZHANG, B.; HUANG, Q. Particle size affects structural and in vitro digestion properties of cooked rice flours. **International journal of biological macromolecules**. v. 118, p. 160-167, 2018.

FERREIRA, I.; FERNANDES, J. O.; CUNHA, S. C. Optimization and validation of a method based in a QuEChERS procedure and gas chromatography–mass spectrometry for the determination of multi-mycotoxins in popcorn. **Food Control**, v. 27, n. 1, p. 188-193, 2012.

FIGUEIRA, E. L. Z.; HIROOKA, E. Y; MENDIOLA-OLAYA, E.; BLANCO-LABRA, A. Characterization of a Hydrophobic Amylase Inhibitor from Corn (*Zea mays*) Seeds with Activity Against Amylase from *Fusarium verticillioides*. **Biochemistry and Cell Biology**, v. 93, n. 8, p. 917-922, 2003.

FURLONG, E. B.; BARAJ, E. Procedimento para determinação simultânea dos tricotecenos: deoxinivalenol e toxina T2. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, p. 18-26, 2003.

FURLONG, E. B.; SOARES, L. V. Gas-chromatographic method for quantitation and confirmation of trichothecenes in wheat. **Journal of Aoac International**, 1995.

GARCIA, D. M; BASSINELO, P. Z.; ASCHERI, D. R. P.; ASCHERI, J. L. R.; TROVO, R. M. A. C. Cooking quality of upland and lowland rice characterized by diferente methods. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, p. 341-348, 2011.

GARDA, J.; BADIALE-FURLONG, E. Otimização de metodologia para derivação de desoxinivalenol através de planejamento experimental. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 270-274, 2008.

GARDA-BUFFON, J.; BARAJ, E.; BADIALE-FURLONG, E. Effect of deoxynivalenol and T-2 toxin in malt amylase activity. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 53, n. 3, p. 505-511, 2010.

GOMES, A. S.; MAGALHÃES JUNIOR, A. M. **Arroz irrigado no Sul do Brasil**. Pelotas:Embrapa Clima Temperado, 2004. 900p.

GOMES, A. S.; TERRES, A. L.; AZAMBUJA, I. H. V. O arroz irrigado no Rio Grande do Sul: solo, área, produção, produtividade e perfil do produtor. 2002. In: **Série Culturas: Arroz**. Assembléia Legislativa do Estado do Rio Grande do Sul, Comissão de Agricultura, Pecuária e Cooperativismo.

GOMES, L. B.; WARD, T. J.; BADIALE-FURLONG, E.; DEL PONTE, E. M. Species composition, toxigenic potential and pathogenicity of *Fusarium graminearum* species complex isolates from southern Brazilian rice. **Plant pathology**, v. 64, n. 4, p. 980-987, 2015.

GANI, A.; ASHWAR, B. A.; AKHTER, G.; SHAH, A.; WANI, I. A.; MASOODI, F. A. Physico-chemical, structural, pasting and thermal properties of starches of fourteen Himalayan rice cultivars. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 1101-1107, 2017.

GOSWAMI, R. S.; KISTLER, H. C. Pathogenicity and in planta mycotoxin accumulation among members of the *Fusarium graminearum* species complex on wheat and rice. **Phytopathology**, v. 35, n. 12, p. 95:1397-404. 2005.

GRiSP. Global Rice Science Partnership. **Rice Almanac**. 4th. International Rice Research Institute: Los Baños (Philippines), 2013.

GROVE, J. The trichothecenes and their biosynthesis. **Progress in the Chemistry of Organic Natural Products**, v. 88, p. 63–130, 2007.

GUIMARÃES, C. M.; SANTOS, A. B.; MAGALHÃES JR., A. M.; STONE, L. F. **Sistemas de cultivo**. In: SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. 2. ed. Embrapa Arroz e Feijão: Santo Antônio de Goiás, 2006. cap. 3, p. 53-108.

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F. Arroz de terras altas em rotação com soja. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 34, n. 3, p. 127-132, 2004.

GUTKOSKI, L. C.; ELIAS, M. C. **Estudo da água de maceração de arroz a 60 °C em diferentes condições de manejo**. Instituto Rio-Grandense de Arroz – IRGA: Lavoura Arrozeira, v. 47, Porto Alegre, 1994.

HALKET, J. M.; ZAIKIN, V. G. Derivatization in mass spectrometry – 1. Silylation. **European Journal of Mass Spectrometry**, v. 9, n. 1, p. 1-21, 2003.

HANS G. J. M.; PLAZA-BOLANOS, P.; ZOMER, P.; RIJK, T. C.; STOLKER, A. A. M.; MULDER, P. J. P. Toward a generic extraction method for simultaneous determination of pesticides, mycotoxins, plant toxins, and veterinary drugs in feed and food matrixes, **Analytical Chemistry**, v. 80, p. 9450-9459, 2008.

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.

HEINEMANN, R. J. B.; FAGUNDES, P. L.; PINTO, E. A.; PENTEADO, M. V. C.; LANFER-MARQUEZ, U. M. Comparative study of nutrient composition of commercial brown, parboiled and milled rice from Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 18, p. 287-296, 2005.

HERNÁNDEZ-HIERRO, J. M.; GARCÍA-VILLANOVA, R. J.; GONZÁLEZ-MARTÍN, I. Potential of near infrared spectroscopy for the analysis of mycotoxins applied to naturally contaminated red paprika found in the Spanish market. **Analytica Chimica Acta**, v. 622, p. 189–194, 2008.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physicochemical properties of tuber and root starches: A review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, n. 3, p. 253-267, 2001.

HUSSEIN, H. S.; BRASEL, J. M. Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals. **Toxicology**, v. 167, n. 2, p. 101-134, 2001.

IBÁÑEZ-VEA, M.; LIZARRAGA, E.; GONZÁLEZ-PEÑAS, E. Simultaneous determination of type-A and type-B trichothecenes in barley samples by GC–MS. **Food Control**, v. 22, n. 8, p. 1428-1434, 2011.

JAILLAIS, B.; OTTENHOF, M. A.; FARHAT, I. A.; RUTLEDGE, D. N. Outer-product analysis (OPA) using PLS regression to study the retrogradation of starch. **Vibrational Spectroscopy**, v. 40, n. 1, p. 10-19, 2006.

JULIANO, B. O. Production and utilization of rice. **Rice: chemistry and technology**. 2 ed. Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists. 1985.

JULIANO, B. O. **Rice in human nutrition**. FAO, 1993. Disponível em: <http://www.fao.org/docrep/t0567e/T0567E00.htm#Contents>. Acesso em: set. 2017.

JULIANO, B.O.; BECHTEL, D.B. The rice grain and its gross composition. In JULIANO B. O. **Rice: chemistry and technology**. Minnesota, USA: American Association of Cereal Chemists, 1985. p. 17-57.

KENNEDY, G.; BURLINGAME, B. Analysis of food composition data on Rice from a plant genetic resources perspective. **Food Chemistry**, v. 89, n. 04, p 589 - 596, 2003.

KIM, D. H.; HONG, S. Y.; JEON, M. H.; AN, J. M.; KIM, S. Y.; KIM, H. Y.; YON, B Y.; CHUNG, S. H. Simultaneous determination of the levels of deoxynivalenol, 3-acetyldeoxynivalenol, and nivalenol in grain and feed samples from South Korea using a high-performance liquid chromatography–photodiode array detector. **Applied Biological Chemistry**, v. 59, n. 6, p. 881-887, 2016.

KIM, J. C.; MULLAN, B. P.; HAMPSON, D. J.; PLUSKE, J. R. Effects of amylose content, autoclaving, parboiling, extrusion, and post-cooking treatments on resistant starch content of different rice cultivars. **Australian Journal of Agricultural Research**, v. 57, n. 12, p. 1291-1296, 2006.

KLIX, M. B.; BEYER, M.; VERREET, J. A. Effects of cultivar, agronomic practices, geographic location, and meteorological conditions on the composition of selected Fusarium species on wheat heads. **Canadian Journal of Plant Pathology**, v. 30, p. 46-57, 2008.

KNAPP, D. R. **Handbook of Analytical Derivatization Reactions**. John Wiley & Sons:New York, 1979.

KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-primas alimentícias: composição e controle de qualidade**. São Paulo:Guanabara Koogan, 2011.

KOCH, P. State of the art of trichothecenes analysis. **Toxicology Letters**, v. 153, p. 109-112, 2004.

KOKSEL, H.; MASETCIOGLU, T.; KAHRAMAN, K.; OZTURK, S.; BASMAN, A. Improving effect of lyophilization on functional properties of resistant starch preparations formed by acid hydrolysis and heat treatment. **Journal of Cereal Science**, v.47, p. 275-282, 2008.

KRSKA, R.; MOLINELLI, A. Mycotoxin analysis: state-of-the-art and future trends. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 387, n. 1, p. 145-148, 2007.

KUMAR, V.; BASU, M. S.; RAJENDRAN, T. P. Mycotoxin research and mycoflora in some commercially important agricultural commodities. **Crop protection**, v. 27, n. 6, p. 891-905, 2008.

KUMAR, A.; SAHOO, U.; BAISAKHA, B.; OKPANI, O. A.; NGANGKHAM, U.; PARAMESWARAN, C.; BASAK, G.; SHARMA, S. G. Resistant starch could be decisive in determining the glycemic index of rice cultivars. **Journal of Cereal Science**, 79, 348-353, 2018.

KUPSKI, L.; BADIALE-FURLONG, E. Principal components analysis: An innovative approach to establish interferences in ochratoxin A detection. **Food chemistry**, v. 177, p. 354-360, 2015.

LAGANÁ, A.; CAPRIOTTI, A. L.; CAVALIERE, P.; GUBBIOTTI, R. S. Recent developments in matrix solid-phase dispersion extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 2521-2532, 2010.

LAMBERTS, L.; ROMBOUTS, I.; BRIJS, K.; DELCOUR, J. A. Impact of parboiling conditions on Maillard precursors and indicators long-grain rice cultivars. **Food Chemistry**, v. 110, p. 916-922, 2008.

LANÇAS, F. M. Avanços Recentes e Tendências Futuras das Técnicas de Separação: uma visão pessoal. **Scientia Chromatographica**, p. 17-44, 2008.

LANGSETH, W.; RUNDBERGET, T. Instrumental methods for determination of nonmacrocyclic trichothecenes in cereals, foodstuffs and cultures. **Journal of Chromatography A**, v. 815, p. 103-121, 1998.

LATTANZIO, V. M. T.; SOLFRIZZO, M.; POWERS, S.; VISCONTI, A. Simultaneous determination of aflatoxins, ochratoxin A and Fusarium toxins in maize by liquid chromatography/tandem mass spectrometry after multitoxin immunoaffinity cleanup. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 21, p. 3253-3261, 2007.

LEACH, H. W.; McCOWEN, L. D.; SCHOCH, T. J. Structure of the starch granule-Swelling and solubility patterns of various starches. **Cereal Chemistry**, v. 36, n. 6, p. 534-544, 1959.

LEBRUN, B.; TARDIVEL, C.; FELIX, B.; ABYSIQUE, A.; TROADEC, J. D.; GAIGE, S.; DALLAPORTA, M. Dysregulation of energy balance by trichothecene mycotoxins: Mechanisms and prospects. **Neurotoxicology**, v. 49, p. 15-27, 2015.

LEE, T.; LEE, S. H.; LEE, S. H.; SHIN, J. Y.; YUN, J. C.; LEE, Y. W.; RYU, J. G. Occurrence of Fusarium mycotoxins in rice and its milling by-products in Korea. **Journal of Food Protection**, v. 74, n. 7, p. 1169-1174, 2011.

LI, M.; PESTKA, J. J. Comparative induction of 28S ribosomal RNA cleavage by ricin and the trichothecenes deoxynivalenol and T-2 toxin in the macrophage. **Toxicological Sciences**, v. 105, p. 67-78, 2008.

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.

MARTINÉZ, C.; CUEVAS, F. **Evaluación de la calidad culinária y molinera del arroz: guia de estudio para ser usada como complemento de la unidad auditorial sobre el mismo tema**. 3 ed. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1989.

MASSAROLO, K. C.; FERREIRA, C. F. J.; KUPSKI, L.; BADIALE-FURLONG, E. Optimization of Matrix Solid-Phase Dispersion Method for Extraction of Aflatoxins from Cornmeal. **Food Analytical Methods**, v. 11, n. 12, p. 3342-3351, 2018.

MCLEAN, J.; DAWE, D.; HARDY, B.; HETTEL, G. **Rice almanac: source book for the most important economic activity on earth**. Los Baños: IRRI, 2002.

MCMULLEN, M.; JONES, R.; GALLENBERG, D. Scab of wheat and barley: are emerging disease of devastating impact. **Plant Disease**, v. 81, n. 12, p. 1340-1348, 1997.

MIAH, M. K.; HAQUE, A.; DOUGLASS, M. P.; CLARKE, B. Parboiling of rice. Part II: Effect of hot soaking time on the degree of starch gelatinization. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 37, n. 5, p. 539-545, 2002.

MILANEZ, T. V.; VALENTE SOARES, L. M.; BAPTISTA, G. G. Avaliação intralaboratorial e otimização de método para determinação de tricotecnos em milho por cromatografia a gás-espectrometria de massas. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, p. 15-23, 2004.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n.3, p. 426-428, 1959.

MINERVINI, F.; FORNELLI, F.; FLYNN, K. Toxicity and apoptosis induced by the mycotoxins nivalenol, deoxynivalenol and fumonisin B1 in a human erythroleukemia cell line. **Toxicology In Vitro**, v. 18, p. 21-28, 2004.

MOHAPATRA, D.; BAL, S. Cooking quality and instrumental textural attributes of cooked rice for different milling fractions. **Journal of Food Engineering**, v. 73, p. 253-259, 2006.

MOONGNGARM, A.; SAETUNG, N. Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. **Food chemistry**, v. 122, n. 3, p. 782-788, 2010.

MONTEIRO, F. V.; NASCIMENTO, K. O. Associação do consumo do amido resistente na prevenção e tratamento do diabetes *mellitus* tipo 2. **Revista Verde**, v. 8, n. 5, p. 12-19, 2013.

MURTHY, K. K.; RATI, E. R.; MANONMANI, H. K. Incidence of Fusarium toxins in rice from Karnataka, India. **Research Journal of Toxins**, v. 1, n. 1, p. 1-7, 2009.

NUNES, I. L.; MAGAGNIN, G.; BERTOLIN, T. E.; FURLONG, E. B. Arroz comercializado na região sul do Brasil: aspectos micotoxicológicos e microscópicos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 190-194, 2003.

O'DONNELL, K.; ROONEY, A. P.; PROCTOR, R. H.; BROWN, D. W.; McCORMICK, S. P.; TODD, J. W.; RASMUS, J. N. F.; ERIK, L.; STEPHEN, A. R.; TAKAYUKI, A.; VINCENT, A. R. G. R.; PEDRO, W. C.; JOHANNES, Z. G.; SEOGCHAN, K.; DAVID, M. G. Phylogenetic analyses of RPB1 and RPB2 support a middle Cretaceous origin for a clade comprising all agriculturally and medically important fusaria. **Fungal Genetic and Biology**, v. 52, p. 20-31, 2013.

OK, H. E.; CHOI, S. W.; CHUNG, S. H.; KANG, Y. W.; KIM, D. S.; CHUN, H. S. Natural occurrence of type-B trichothecene mycotoxins in Korean cereal-based products. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 4, n. 2, p. 132-140, 2011.

OK, H. E.; LEE, S. Y.; CHUN, H. S. Occurrence and simultaneous determination of nivalenol and deoxynivalenol in rice and bran by HPLC-UV detection and immunoaffinity cleanup. **Food Control**, v. 87, p. 53-59, 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, V. L.; BERRIOS, J. 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**, 191, 105-112, 2016.

PARAGINSKI, R. T.; ZIEGLER, V.; TALHAMENTO, A.; ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M. Propriedades tecnológicas e de cocção em grãos de arroz condicionados em diferentes temperaturas antes da parboilização. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17, n. 2, p. 146-153, 2014.

PARK, J. W.; CHOI, S. Y.; HWANG, H. J.; KIM, Y. B. Fungal mycoflora and mycotoxins in Korean polished rice destined for humans. **International Journal of Food Microbiology**, v. 103, n. 3, p. 305-314, 2005.

PAZ, M. F.; MARQUES, R. V.; SCHUMANN, C.; CORRÊA, L. B.; CORRÊA, É. K. Características tecnológicas de pães elaborados com farelo de arroz desengordurado/Technological characteristics of bread prepared with defatted rice bran. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 18, n. 2, p. 128, 2015.

PEREIRA, V. L. FERNANDES, J. O.; CUNHA, S. C. Comparative assessment of three cleanup procedures after QueChERS extraction for determination of trichothecenes (type A and type B) in processed cereal-based baby foods by GC-MS. **Food Chemistry**, v. 182, p. 143-149, 2015.

PEREIRA, J. A.; RANGEL, P. H. N. Produtividade e qualidade de grãos de arroz irrigado no Piauí. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 25, n. 3, p. 569-575, 2001.

PESTKA, J. J. Deoxynivalenol-induced proinflammatory gene expression: mechanisms and pathological sequelae. **Toxins**, v. 2, n. 6, p. 1300-1317, 2010.

PESTKA, J. J.; SMOLINSKI, A. T. Deoxynivalenol: toxicology and potential effects on humans. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, v. 8, n. 1, p. 39-69, 2005.

PITT, J. J. Principles and applications of liquid chromatography-mass spectrometry in clinical biochemistry. **The Clinical Biochemist Reviews**, v. 30, n.1, p. 19-34, 2009.

PONTS, N.; PINSON-GADAIS, L.; VERDAL-BONNIN, M. N.; BARREAU, C.; RICHARD-FORGET, F. Accumulation of deoxynivalenol and its 15-acetylated form is significantly modulated by oxidative stress in liquid cultures of *Fusarium graminearum*. **FEMS Microbiology Letters**, v. 258, n. 1, p. 102-107, 2006.

RAN, R.; WANG, C.; HAN, Z.; WU, A.; ZHANG, D.; SHI, J. Determination of deoxynivalenol (DON) and its derivatives: Current status of analytical methods. **Food Control**, v. 34, n. 1, p. 138-148, 2013.

RAO, P. S.; BAL, S.; GOSWAMI, T. K. Modelling and optimization of drying variables in thin layer drying of parboiled paddy. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 2, p. 480-487, 2007.

RODRÍGUEZ-CARRASCO, Y.; MOLTÓ, J. C.; MAÑES, J.; BERRADA, H. Development of a GC-MS/MS strategy to determine 15 mycotoxins and metabolites in human urine. **Talanta**, v. 128, p. 125-131, 2014.

RODRIGUEZ-MOZAZ, S.; DE ALDA, M. J. L.; BARCELÓ, D. Advantages and limitations of on-line solid phase extraction coupled to liquid chromatography-mass spectrometry technologies versus biosensors for monitoring of emerging contaminants in water. **Journal of chromatography A**, v. 1152, n. 1-2, p. 97-115, 2007.

RUBERT, J.; SOLER, C.; MAÑES, J. Evaluation of matrix solid-phase dispersion (MSPD) extraction for multi-mycotoxin determination in different flours using LC-MS/MS. **Talanta**, v. 85, p. 206-215, 2011.

SANCHEZ, J.; THANABALAN, A.; KHANAL, T.; PATTERSON, R.; SLOMINSKI, B. A.; KIARIE, E. Effects of feeding broiler chickens up to 11% rice bran in a corn-soybean meal diet without or with a multi-enzyme supplement. **Animal Nutrition**, In press, 2018.

SANTE. **Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed**. SANTE/11945/2015, 2016. Disponível em: <https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf>. Acesso em out. 2018.

SANTOS, A. B.; STONE, L. F.; VIEIRA, N. R. A. **A cultura do Arroz no Brasil**. 2ª ed. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2006, 983 p.

SCAGLIONI, P. T.; BADIALE-FURLONG, E. Rice husk as an adsorbent: A new analytical approach to determine aflatoxins in milk. **Talanta**, v. 152, p. 423-431, 2016.

SCUSSEL, V. M.; SAVI, G.; BEBER-RODRIGUES, M. Micotoxinas em arroz e seus produtos. In: ELIAS, M. C.; OLIVEIRA, M.; VANIER, N. L. **Qualidade de arroz da pós-colheita ao consumo**. Pelotas: Editora Universitária da UFPEL, 2012. p. 115-138.

SEBASTIA, N.; SOLER, C.; SORIANO, J. M.; MAÑES, J. Occurrence of aflatoxins in tigernuts and their beverages commercialized in Spain. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 58, n. 4, p. 2609-2612, 2010.

SILVA, W. M. F.; BIDUSKI, B.; LIMA, K. O.; PINTO, V. Z.; HOFFMANN, J. F.; VANIER, N. L.; DIAS, A. R. G. Starch digestibility and molecular weight distribution of proteins in rice grains subjected to heat-moisture treatment. **Food Chemistry**, 219, 260-267, 2017.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; NAVDEEP, S. S.; BALMEET, S. G. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 219-231, 2003.

SHIMONO, H.; FUJIMURA, S.; NISHIMURA, T.; HASEGAWA, T. Nitrogen Uptake by Rice (*Oryza sativa* L.) Exposed to Low Water Temperatures at Different Growth Stages. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 198, n. 2, p. 145-151, 2012.

SHU, X.; JIAO, G.; FITZGERALD, M. A.; YANG, C.; SHU, Q.; WU, D. Starch structure and digestibility of rice high in resistant starch. **Starch**, v. 58, p. 411-417, 2006.

SNOW, P.; O'DEA, K. Factors affecting the rate of hydrolysis of starch in food. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 34, n. 12, p. 2721-2727, 1981.

SOARES, L. V. **Curso básico de instrumentação para analistas de alimentos e fármacos**. Manole:Barueri, SP, 2006.

SOARES L. M. V.; RODRIGUEZ-AMAYA D. B. Survey of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone, and sterigmatocystin in some Brazilian foods by using multi-toxin thin-layer chromatographic method. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, p. 22-26, 1989.

SORIANO J. M.; BLESÁ J.; BERRADA H.; MOLTÓ J. C.; MAÑES J. Rapid determination of ochratoxin A in cereals and cereal products by liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1046, p. 127-131, 2004.

SOSBAI – Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. 2018. Farroupilha, RS. Disponível em: <http://www.sosbai.com.br/docs/Boletim_RT_2018.pdf>. Acesso em: Out. 2018.

SNYDER, A. P. Qualitative, quantitative and technological aspects of the trichothecene mycotoxins. **Journal of Food Protection**, v. 49, p. 544-569, 1986.

STRIEDER, M. M.; PINHEIRO, C. P.; BORBA, V. S.; POHNDORF, R. S.; CADAVAL JR, T. R.; PINTO, L. A. A. Bleaching optimization and winterization step evaluation in the refinement of rice bran oil. **Separation and Purification Technology**, v. 175, p. 72-78, 2017.

SUN, J.; WU, Y. Evaluation of dietary exposure to deoxynivalenol (DON) and its derivatives from cereals in China. **Food control**, v. 69, p. 90-99, 2016.

SUNDSTOL, E. G.; PETTERSSON, H.; LUNDH, T. Comparative cytotoxicity of deoxynivalenol, nivalenol, their acetylated derivatives and de-epoxy metabolites. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 4, p. 619-624, 2004.

TAMURA, M.; SINGH, J.; KAUR, L.; OGAWA, Y. Impact of structural characteristics on starch digestibility of cooked rice. **Food Chemistry**, v. 191, p. 91-97, 2016.

TANAKA, K.; SAGO, Y.; ZHENG, Y.; NAKAGAWA, H.; KUSHIRO, M. Mycotoxins in rice. **International Journal of Food Microbiology**, v. 119, p. 59-66, 2007.

TANAKA, T.; YONEDA, A.; INOUE, S.; SUGIURA, Y.; UENO, Y. Simultaneous determination of trichothecene mycotoxins and zearalenone in cereals by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of chromatography A**, v. 882, n. 1-2, p. 23-28, 2000.

TANIWAKI, M.; IAMANAKA, B. T.; BANHE, A. A. Comparison of culture media to recover fungi from flour and tropical fruit pulps. **Journal Food Mycology**, v. 2, p. 291-302, 1999.

TECHAWIPHARAT, J.; SUPHANTHARIKA, M.; BEMILLER, J. N. Effects of cellulose derivatives and carrageenans on the pasting, paste, and gel properties of rice starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 73, n. 3, p. 417-426, 2008.

TERCIOLO, C.; MARESCA, M.; PINTON, P.; OSWALD, I. P. Role of satiety hormones in anorexia induction by Trichothecene mycotoxins. **Food and Chemical Toxicology**, v. 121, p. 701-714, 2018.

THARANATHAN, R. N. Food-derived carbohydrates – Structural complexity and functional diversity. **Critical Reviews Biotechnology**, v. 22, n. 1 p. 65 - 84, 2002.

THARANATHAN, R. N.; MAHADEVAMMA, S. Grain legumes: A boon to human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14, n. 12, p. 507-518, 2003.

THOMPSON, D. B. Strategies for the manufacture of resistant starch. **Trends Food Science Technology**, v. 11, p. 245-253, 2000.

TOPPING, D. L.; CLIFTON, P. M. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. **Physiological Reviews**, v. 81, p. 1031-1064, 2001.

TOVAR, J.; MELITO, C.; HERRERA, E.; RASCÓN, A.; PÉREZ, E. Resistant starch formation does not parallel syneresis tendency in different starch gels. **Food Chemistry**, v. 76, n. 4, p. 455-459, 2002.

TRAN, T. U.; SUZUKI, K.; OKADOME, H.; HOMMA, S.; OHTSUBO, K. I. Analysis of the tastes of brown rice and milled rice with different milling yields using a taste sensing system. **Food chemistry**, v. 88, n. 4, p. 557-566, 2004.

UE. União Europeia. **Regulation (EC) No 1126/2007 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs as regards Fusarium toxins**. Disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32007R1126>. Acesso em: mar 2018.

UENO, Y. Toxicology of microbial toxins. **Pure and Applied Chemistry**, v. 58, p. 339-350, 1986.

VÉKEY, K. Mass spectrometry and mass-selective detection in chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 921, n. 2, p. 227-236, 2001.

WADUGE, R. N.; HOOVER, R.; VASANTHAN, T.; GAO, J.; LI, J. Effect of annealing on the structure and physicochemical properties of barley starches of varying amylose content. **Food Research International**, v. 39, n. 1, p. 59-77, 2006.

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

WALTER, M.; SILVA, L. P.; EMANUELLI, T. Amido Resistente: características físico-químicas, propriedades fisiológicas e metodologias de quantificação. **Ciência Rural**, v. 35, p. 974-980, 2005.

WALTER, M.; SILVA, L. P.; PERDOMO, D. M. X. Amido disponível e resistente em alimentos: adaptação do método da AOAC 996.11. **Alimentos e Nutrição**, v. 16, n. 1, p. 39-43, 2005.

WANG, W.; WANG, H.; JIN, X.; WANG, H.; LIN, T.; ZHU, Z. Effects of hydrogen bonding on starch granule dissolution, spinnability of starch solution, and properties of electrospun starch fibers. **Polymer**, v. 153, p. 643-652, 2018.

WANG, Z.; WU, Q.; KUCA, K.; DOHNAL, V.; TIAN, Z. Deoxynivalenol: signaling pathways and human exposure risk assessment – an update. **Archives of Toxicology**, v. 88, n. 11, p. 1915-1928, 2014.

YUE, P.; WARING, S. Resistant starch in food applications. **Cereal Food World**, v. 43, n. 9, p. 690-695, 1998.

YUE, Y. T.; ZHANG, X. F.; PAN, J. Y.; ZHEN, O. Y.; WU, J.; YANG, M. H. Determination of deoxynivalenol in medicinal herbs and related products by GC-ECD and confirmation by GC-MS. **Chromatographia**, v. 71, n. 5-6, p. 533-538, 2010.

ZHAO, Y.; WANG, Q.; HUANG, J.; CHEN, Z.; LIU, S.; WANG, X.; WANG, F. Mycotoxin contamination and presence of mycobiota in rice sold for human consumption in China. **Food Control**, v. 98, p. 19-23, 2019.

ZHOU, Z.; BLANCHARD, C.; HELLIWELL, S.; ROBARDS, K. Fatty acid composition of three rice varieties following storage. **Journal of Cereal Science**, v. 37, n. 3, p. 327-335, 2003.

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

ZU, X.; LU, Y.; WANG, Q.; CHU, P.; MIAO, W.; WANG, H.; LA, H. A new method for evaluating the drought tolerance of upland rice cultivars. **The Crop Journal**, v. 5, p. 488-498, 2017.

APÊNDICE 1 – MATERIAL SUPLEMENTAR DAS ANÁLISES DOS COMPONENTES PRINCIPAIS DA CARACTERIZAÇÃO DAS CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO (GURI INTA CL) E DE SEQUEIRO (BRSGO SERRA DOURADA).

Quadro 1 – Coeficientes de Correlação de Pearson (R) e valores de p da Análise de Componentes Principais para a cultivar Guri Inta CL.

R\p	Cinz	Lip	Prot	CHO	AT	Am	Amp	Am/Amp	AD	AR	ARed	ARedT	Dur	ISA	PI
Cinz	-	0,11	0,18	0,12	0,01	0,20	0,07	0,91	0,27	0,78	0,34	0,38	0,44	0,82	0,11
Lip	0,89	-	0,01	0,00	0,09	0,35	0,11	0,95	0,64	0,98	0,70	0,12	0,12	0,61	0,01
Prot	0,82	0,99	-	0,00	0,15	0,38	0,18	0,98	0,74	0,90	0,79	0,06	0,07	0,61	0,04
CHO	-0,88	-0,99	-0,99	-	0,10	0,33	0,13	0,99	0,63	0,97	0,69	0,10	0,11	0,64	0,02
AT	-0,99	-0,91	-0,85	0,90	-	0,27	0,03	0,97	0,34	0,72	0,43	0,36	0,39	0,70	0,07
Am	-0,80	-0,65	-0,62	0,67	0,73	-	0,47	0,33	0,18	0,70	0,14	0,41	0,59	0,59	0,44
Amp	-0,93	-0,89	-0,82	0,87	0,97	0,53	-	0,73	0,49	0,55	0,61	0,43	0,40	0,48	0,06
Am/Amp	-0,09	0,05	0,02	0,00	-0,03	0,67	-0,27	-	0,51	0,26	0,37	0,83	0,93	0,07	0,81
AD	-0,73	-0,36	-0,26	0,36	0,66	0,82	0,51	0,49	-	0,84	0,02	0,91	0,93	0,59	0,66
AR	-0,22	-0,02	0,10	-0,03	0,27	-0,30	0,45	-0,74	0,16	-	0,99	0,57	0,71	0,40	0,83
AçR	0,66	0,30	0,21	0,31	-0,57	-0,86	-0,39	-0,63	-0,98	0,00	-	0,90	0,91	0,44	0,75
AçRT	0,62	0,88	0,94	-0,90	-0,64	-0,59	-0,57	-0,17	-0,09	0,43	0,10	-	0,03	0,79	0,19
Dur	0,56	0,88	0,93	-0,86	-0,61	-0,41	-0,60	0,07	0,07	0,29	-0,09	0,97	-	0,57	0,17
ISA	-0,18	-0,39	-0,39	0,36	0,30	-0,41	0,52	-0,93	-0,41	0,59	0,56	-0,21	-0,43	-	0,49
PI	-0,89	-0,99	-0,96	0,98	0,93	0,56	0,94	-0,19	0,34	0,17	-0,25	-0,80	-0,83	0,51	-

Cinz: Cinzas; Lip: Lipídios; Prot: Proteínas; CHO: Carboidratos; AT: Amido Total; Amp: Amilopectina; Am:Amp: Amilose/Amilopectina; AD: Amido Disponível; AR: Amido Resistente; ARed: Açúcares Redutores; ARedT: Açúcares Redutores Totais; Dur: Dureza; ISA: Índice de Solubilidade em Água; PI: Poder de Inchamento.

Quadro 2 – Coeficientes de Correlação de Pearson (R) e valores de p da Análise de Componentes Principais para a cultivar BRSGO Serra Dourada.

R\p	Cinz	Lip	Prot	CHO	AT	Am	Amp	Am/Amp	AD	AR	ARed	ARedT	Dur	ISA	PI
Cinz	-	0,54	0,07	0,18	0,41	0,10	0,96	0,14	0,77	0,65	0,18	0,20	0,02	0,56	0,27
Lip	0,46	-	0,25	0,11	0,12	0,23	0,49	0,31	0,03	0,33	0,57	0,11	0,38	0,45	0,20
Prot	0,93	0,75	-	0,03	0,20	0,02	0,82	0,08	0,44	0,47	0,22	0,04	0,02	0,45	0,12
CHO	-0,82	-0,89	-0,97	-	0,11	0,04	0,67	0,12	0,26	0,41	0,32	0,00	0,10	0,39	0,08
AT	-0,59	-0,88	-0,80	0,89	-	0,27	0,27	0,43	0,24	0,72	0,72	0,08	0,34	0,13	0,02
Am	-0,90	-0,77	-0,98	0,96	0,73	-	0,93	0,03	0,39	0,32	0,14	0,06	0,03	0,59	0,20
Amp	0,04	-0,51	-0,18	0,33	0,73	0,07	-	0,85	0,50	0,72	0,54	0,61	0,99	0,14	0,37
Am/Amp	-0,86	-0,69	-0,92	0,88	0,57	0,97	-0,15	-	0,45	0,22	0,05	0,15	0,06	0,81	0,36
AD	-0,23	-0,97	-0,56	0,74	0,76	0,61	0,50	0,55	-	0,31	0,71	0,26	0,59	0,59	0,36
AR	0,35	0,67	0,53	-0,59	-0,28	-0,68	0,28	-0,78	-0,69	-	0,25	0,46	0,47	0,77	0,76
AçR	0,82	0,43	0,78	-0,68	-0,28	-0,86	0,46	-0,95	-0,29	0,75	-	0,37	0,13	0,91	0,62
AçRT	0,80	0,89	0,96	-0,99	-0,92	-0,94	-0,39	-0,85	-0,74	0,54	0,63	-	0,11	0,34	0,06
Dur	0,98	0,62	0,98	-0,90	-0,66	-0,97	0,01	-0,94	-0,41	0,53	0,87	0,89	-	0,58	0,23
ISA	0,44	0,55	0,55	-0,61	-0,87	-0,41	-0,86	-0,19	-0,41	-0,23	-0,09	0,66	0,42	-	0,13
PI	0,75	0,80	0,88	-0,92	-0,98	-0,80	-0,63	-0,64	-0,64	0,24	0,38	0,94	0,77	0,87	-

Cinz: Cinzas; Lip: Lipídios; Prot: Proteínas; CHO: Carboidratos; AT: Amido Total; Amp: Amilopectina; Am:Amp: Amilose/Amilopectina; AD: Amido Disponível; AR: Amido Resistente; ARed: Açúcares Redutores; ARedT: Açúcares Redutores Totais; Dur: Dureza; ISA: Índice de Solubilidade em Água; PI: Poder de Inchamento.