

EFEITOS DA PRESSÃO DE AUTOCLAVAGEM SOBRE O POTENCIAL GENOTÓXICO DE RAÇÕES À BASE DE GRÃOS DE ARROZ PARBOILIZADO

Jander Luis Fernandes Monks¹; Marília da Costa Alvarengo²; Elizabete Helbig³; Moacir Cardoso Elias⁴, Nathan Levien Vanier⁵ Daniel Prá⁶

Palavras-chave: Parboilização, arroz, micronúcleo, cometas, Wistar.

INTRODUÇÃO

O arroz é um alimento básico na dieta da população brasileira e seu consumo se dá principalmente na forma de grão branco polido, sendo o arroz parboilizado e o integral, consumidos em menor escala. Entretanto, os dois últimos são nutricionalmente melhores, uma vez que apresentam maiores teores de micronutrientes, principalmente minerais e vitaminas do complexo B (AMATO, 2005; ELIAS e FRANCO, 2006; MONKS, 2010).

Ultimamente, a aceitação do arroz parboilizado tem melhorado de forma expressiva, a ponto de sua produção atingir cerca de 23% do total de arroz industrializado no país (ABIAP, 2011). A parboilização é um processo que utiliza operações hidrotérmicas, o que altera a estrutura do amido, causando modificações nas propriedades físicas, químicas e sensoriais dos grãos, deixando o produto resultante com cor amarelada, odor e sabor característicos (SUJATHA et al. 2003; AMATO e ELIAS, 2005; DORS et al., 2009).

O arroz, além de possuir a melhor fração proteica em qualidade entre os cereais de grande consumo, na fração insaponificável de seu óleo (GONÇALVES, 2007) são creditados, entre outras funções benéficas, o potencial anticancerígeno. A qualidade nutricional desse grão tem recebido muita atenção nos países emergentes, uma vez que uma dieta baseada apenas no seu consumo pode levar a deficiências nutricionais. Há indicativos de que a carência de certos nutrientes na alimentação aumente os níveis de danos e prejudique o reparo de DNA, tanto em animais (ORTIZ et al., 1995; CORTES et al., 2001), quanto em humanos (PADULA et al., 2009).

O ensaio cometa vem se expandindo ao longo das décadas, com o objetivo de indicar ação genotóxica de algumas substâncias, tendo como vantagens a facilidade de aplicação e a detecção de múltiplas classes de danos no DNA. Por outro lado, o teste de micronúcleo em medula óssea de roedores é o teste internacionalmente aceito na avaliação do potencial mutagênico de substâncias químicas e alimentos (HARTMANN et al., 2003; PRÁ et al., 2008).

Objetivou-se, com o trabalho, avaliar in vivo o efeito da substituição da dieta controle AIN-93M por dietas à base de arroz parboilizado, em diferentes pressões de autoclavagem, a fim de detectar possíveis danos primários no DNA de ratos Wistar.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas amostras de grãos de arroz da classe longo fino, com alto teor de amilose, pertencentes à coleção de amostras do Laboratório de Pós-Colheita, Industrialização e Qualidade de Grãos do Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal de Pelotas.

A parboilização das amostras de arroz em casca foi realizada em escala piloto,

¹ Engº. Químico, Dr., (Professor da UCPEL), Universidade Federal de Pelotas, Caixa Postal 354, CEP 96010-900, Capão do Leão, RS, Brasil, jander@ucpel.edu.br

² Bióloga, Universidade Católica de Pelotas, alvarengobio@yahoo.com.br

³ Nutricionista, Dra., Universidade Federal de Pelotas, helbignt@gmail.com.

⁴ Engº. Agrônomo, Dr., Universidade Federal de Pelotas, eliasmc@ufpel.tche.br.

⁵ Engº. Agrônomo, M. Sc., Universidade Federal de Pelotas, nathanvanier@hotmail.com.

⁶ Biólogo, Dr., Universidade Federal de Pelotas, daniel_pra@yahoo.com.br.

segundo metodologia desenvolvida no próprio laboratório (ELIAS, 1998). As amostras foram encharcadas durante 6h30min, em água a 65°C, e autoclavadas nas pressões 0,4; 0,7 e 1,0 kgf.cm⁻², durante 10 minutos, com temperaturas de 108 a 121°C, sendo posteriormente secadas em estufa com circulação forçada de ar, com a operação sendo completada por secagem com ar aquecido após temperagem.

Após as operações hidrotérmicas e antes do descascamento, as amostras foram armazenadas em ambiente com temperatura de 20°C, monitoramento técnico operacional e rígido controle contra ataques de pragas (ELIAS, 2007).

De cada amostra de 50 kg de arroz em casca foram coletadas três alíquotas de 100g, as quais foram descascadas e polidas (BRASIL, 2009) em engenho de provas modelo Zaccaria®. A intensidade de polimento variou de 7 a 9% de remoção de farelo e foi determinada pela fórmula: Intensidade de polimento (IP) = [1 – (peso do arroz polido / peso do arroz integral)] x 100.

Para o ensaio biológico, as amostras foram cozidas em recipientes de alumínio e as dietas experimentais foram formuladas segundo as recomendações do American Institute of Nutrition (AIN-93M) para ratos em manutenção de peso, sendo essas isocalóricas (380 kcal 100g⁻¹) e isoprotéicas (12,0%). Como fonte de fibras foi utilizada celulose microcristalina MC-102 (Microcel®).

Foram utilizados ratos machos, da cepa Wistar-UFPel, idade 90 dias, com peso médio de 448g, provenientes do Biotério Central da UFPel. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos de seis (6 animais por tratamento), alojados em gaiolas metabólicas individuais, sob condições controladas de temperatura (23±1°C), umidade relativa (50 a 60%) e fotoperíodo de 12 horas, com livre acesso a água e dieta. O ensaio biológico teve duração de 45 dias, sendo as duas primeiras semanas utilizadas para adaptação dos animais às dietas experimentais.

Os ensaios do potencial genotóxico foram realizados no Laboratório de Genética da Universidade Católica de Pelotas (UCPel). Para avaliação do nível de danos primários no DNA pelo ensaio cometa, utilizou-se um protocolo descrito por Frank et al. (2005), onde 100 células sanguíneas/rato foram analisadas em microscopia, de acordo com sua morfologia em forma de “cometa”. O índice de dano (ID) foi obtido pela soma de células individuais classificadas, variando de 0 (nenhum dano: 100 células x 0) para 400 (dano máximo: 100 células x 4). Para o teste de frequência de micronúcleos, eritrócitos policromáticos (PCE) de medula óssea foram fixados com metanol e ácido acético 3:1, e corados com giemsa a 2%, sendo analisadas 2.000 células/rato, quanto à presença ou ausência de micronúcleos, avaliadas de acordo com Huber et al. (1983) e Titenko-Holland et al. (1997).

A avaliação estatística foi feita utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido do Teste de Dunn, com nível de significância de 5% (p ≤ 0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os potenciais genotóxico e mutagênico de rações preparadas à base de grãos de arroz parboilizados polidos, utilizados na alimentação de ratos adultos machos Wistar.

TABELA 1 – Nível de dano no DNA de ratos Wistar alimentados com dietas à base de arroz parboilizado, de acordo com o ensaio cometa e o teste de micronúcleos

Dietas*	ID (u.a.)	FD (%)	MN/2.000PCE
Controle	3,0	2,5 ± 1,7	3,2
Parb 0,5	9,3	4,3	3,8
Parb 0,7	4,3	2,2	2,5
Parb 1,0	5,7	2,2	3,8
<i>p</i> (segundo o teste de Kruskal-wallis)	0,65	0,718	0,141

p ≤ 0,05 indica diferença significativa entre as médias

*Instrução Normativa 06/09 (Brasil, 2009)

Controle: AIN-93M

ID: índice de dano; u.a.: unidade arbitrária; FD: frequência de dano; MN: micronúcleos; PCE: eritrócitos policromáticos

Parb 0,5: arroz parboilização em pressão de autoclavagem de 0,5 Kgf.cm⁻²

Parb 0,7: arroz parboilização em pressão de autoclavagem de 0,7 Kgf.cm⁻²

Parb 1,0: arroz parboilização em pressão de autoclavagem de 1,0 Kgf.cm⁻²

Observa-se na Tabela 1 que não houve diferença significativa nos parâmetros índice de dano (ID), a frequência de danos (FD) no DNA (ensaio cometa) e o teste de micronúcleo (MN) das células dos animais alimentados com dietas à base de arroz parboilizado polido, nas pressões de autoclavagem de 0,5, 0,7 e 1,0 Kgf cm⁻².

Uma forma de aumentar o valor nutritivo do arroz é por meio da parboilização, que além de aprimorar algumas qualidades tecnológicas do grão, também possibilita um incremento do valor nutricional, em comparação com o arroz branco, sobretudo nos conteúdos mineral, vitamínico, proteico, lipídico, amido digestível e nas frações de fibra alimentar (SUJATHA et al. , 2003; BRUM et al., 2007).

Nos testes realizados (Tabela 1), o ensaio cometa (ID e FD) confirmou os resultados encontrados na contagem de células com micronúcleo, em medula óssea, indicando que a composição nutricional contida nos grãos de arroz parboilizado, decorrente das transformações físico-químicas ocorridas durante as operações hidrotérmicas, não causaram danos no DNA dos ratos Wistar.

Levando-se em consideração a extensão do ensaio biológico executado (45 dias), não se esperou genotoxicidade devido à desnutrição nos animais alimentados diariamente e exclusivamente com as rações citadas neste experimento. Estudos relacionados ao potencial mutagênico de grãos de arroz parboilizado (Tabela 1) não estão disponíveis a literatura.

CONCLUSÃO

Os resultados indicam ausência de genotoxicidade e aneugênese/clastogênese para todos os grupos testados, concluindo-se que o processo de beneficiamento por parboilização, mesmo realizado em diferentes pressões de autoclavagem, isenta os grãos de arroz de causar danos no DNA de ratos machos adultos Wistar.

AGRADECIMENTOS

CNPq, FAPERGS, SCT-RS (Pólos Tecnológicos), IRGA e ZACCARIA Equipamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABIAP - **Associação Brasileira das Indústrias de Arroz Parboilizado**. Disponível em www.abiap.com.br. Acesso em 2011.
- AMATO, G.W. **Parboilização do arroz**: um processo para obtenção de "colheita de plantio virtual". In: Simpósio Sul - Brasileiro de Qualidade de Arroz, 2, Pelotas. Anais... Pelotas: Editora da UFPel, 2005.
- AMATO, G. W.; ELIAS, M.C. **A parboilização do arroz**. 1. ed. Porto Alegre: Ricardo Lenz, 2005. 160p.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução normativa nº 6, de 16 de fevereiro de 2009. Regulamento Técnico do Arroz, definindo o seu padrão oficial de classificação, com os requisitos de identidade e qualidade, a amostragem, o modo de apresentação e a marcação ou rotulagem. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Seção 1, p.3, 17 fev. de 2009.
- BRUM, F.B; ALVES, B.M ; GOLOMBIESKI, J. I. ; SILVA, L.P. da; Fagundes, C.A . Composição nutricional em grãos de arroz polido e parboilizado. In: **V Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado**, Pelotas. p. 517-519. 2007.
- CORTES, E.; GONZALEZ, C.; BETANCOURT, M.; ORTIZ, R. Assessment of DNA damage in spleen, bone marrow, and peripheral blood from malnourished rats by single cell gel electrophoresis assay. **Teratogenesis, Carcinogenesis and Mutagenesis**. v.21, n.3, p.231-247, 2001.

DORS, G.C; PINTO, R.H, BADIALE-FURLONG, E. Influência das condições de parboilização na composição química do arroz. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.29, n.1, p.219-224, 2009.

ELIAS, M. C. **Pós Colheita de Arroz: secagem, armazenamento e qualidade**. 1 ed. Pelotas: Editora e Gráfica Universitária UFPel, 2007. 422p.

ELIAS, M.C. **Tempo de espera para secagem e qualidade de arroz para semente e indústria**. Pelotas, 132 p. Tese (Doutorado em Agronomia) Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas. 1998.

ELIAS, M. C.; FRANCO, D. F. **Pós-Colheita e Industrialização de Arroz**. In: Magalhães Júnior, A. M.; Gomes, A. S.; Santos, A. B. **Sistemas de Cultivo de Arroz Irrigado no Brasil**. 1 ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, v.1, p.229-240, 2006.

FRANKE, SIR. et al. Possible repair action of Vitamin C on DNA damage induced by methyl methanesulfonate, cyclophosphamide, FeSO₄ and CuSO₄ in mouse blood cells in vivo. **Mutation Research**. v.583, n.1, p. 75-84, 2005.

GONÇALVES, P. R. **Influência da temperatura da água na operação de encharcamento sobre a fração lipídica do arroz parboilizado**. Pelotas, UFPel. Tese (Doutorado) – Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas, 74 p, 2007.

HARTMANN A, AGURELL E, BEEVERS C, et al. Recommendations for conducting the in vivo alkaline Comet assay. 4th International Comet Assay Workshop. **Mutagenesis**. v.18, n.1, p. 45-51, 2003.

HUBER, R et al. The suitability of the human lymphocyte micronucleus assay system for biological dosimetry. **Mutation Research**. v.111, n. 2, p.185-193, 1983.

KRISHNA G, URDA G, PAULISSEN J: Historical vehicle and positive control micronucleus data in mice and rats. **Mutation Research**. v.453, n.1, p.45-50, 2000.

MONKS, J. L. F. Efeitos da intensidade do polimento sobre parâmetros de avaliação tecnológica e bioquímica, perfil lipídico e conteúdo de ácido fólico em grãos de arroz. 115p. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) – Faculdade de Agronomia "Eliseu Maciel", Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2010.

ORTIZ, R.; CORTES, E.; GONZALEZ, C.; PEREZ, L. Betancourt M: Micronucleus frequency in spleen lymphocytes from severely malnourished rats during lactation. **Environmental and Molecular Mutagenesis**. v.26, n.1, p.55-59, 1995.

PADULA, G.; SALCEDA, S. A.; SEOANE, AI. Protein-energy malnutrition contributes to increased structural chromosomal alteration frequencies in Argentinean children. **Nutrition Reserch**. v.29, n.1, p.35-40, 2009.

PRÁ, D.; FRANKE, S.I.; GIULIAN, R. et al.: Genotoxicity and mutagenicity of iron and copper in mice. **BioMetals**. v. 21, n.3, p. 289-297, 2008.

SUJATHA, S.J.; AHMAD, R.; BHAT, P.R. Physicochemical properties and cooking qualities of two varieties of raw and parboiled rice cultivated in the coastal region of Dakshina Kannada, India. **Food Chemistry**, 2003.

TITENKO-HOLLAND, N. et al.: Genotoxicity of malathion in human lymphocytes assessed using the micronucleus assay in vitro and in vivo: a study of malathion-exposed workers. **Mutation Research**. 1997;388(1):85-95