

SORAIA SILVA PINHEIRO

**EFEITO DE DIFERENTES PROCESSAMENTOS NA ESTABILIDADE DE
VITAMINAS, CAROTENOIDES E FLAVONOIDES EM SORGO (*Sorghum
bicolor* L.)**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência da Nutrição, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2017

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

Pinheiro, Soraia Silva, 1992-
P654e Efeito de diferentes processamentos na estabilidade de
2017 vitaminas, carotenoides e flavonoides em sorgo (*Sorghum
bicolor* L.) / Soraia Silva Pinheiro. – Viçosa, MG, 2017.
xv, 104f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Helena Maria Pinheiro Sant Ana.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Alimentos - Composição. 2. Sorgo. 3. *Sorghum bicolor*.
4. Vitaminas. 5. Carotenoides. 6. Flavonoides. 7. Compostos
bioativos. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Nutrição e Saúde. Programa de Pós-graduação em Ciência da
Nutrição. II. Título.

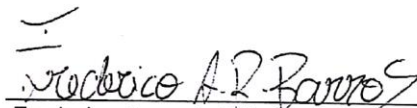
CDD 22 ed. 613.2

SORAIA SILVA PINHEIRO

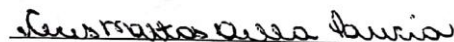
**EFEITO DE DIFERENTES PROCESSAMENTOS NA ESTABILIDADE DE
VITAMINAS, CAROTENOIDES E FLAVONOIDES EM SORGO (*Sorghum
bicolor* L.)**


Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência da Nutrição, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 24 de fevereiro de 2017.


Frederico Augusto Ribeiro de Barros


Hércia Stampini Duarte Martino


Ceres Mattos Della Lucia
(Coorientadora)


Helena Maria Pinheiro Sant'Ana
(Orientadora)

*“É preciso força para sonhar e perceber
que a estrada vai além do que se vê.”*

(Los Hermanos)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força, determinação e luz concedidas ao longo do caminho.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Nutrição e Saúde pela oportunidade de realização do mestrado.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo auxílio financeiro e concessão de de bolsas de mestrado e de iniciação científica.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Milho e Sorgo pelo suporte financeiro para realização dessa pesquisa.

À Embrapa Agroindústria de Alimentos pelas providências para extrusão dos grãos de sorgo.

À professora Dr.^a Helena Maria Pinheiro Sant'Ana, com todos os meus profundos agradecimentos, pela oportunidade, dedicação, apoio, paciência, ensinamentos, confiança e orientação dedicada a este trabalho. Aprendi muito sob sua orientação, não só profissionalmente, mas pessoalmente.

Aos professores Dr.^a Ceres Mattos Della Lucia e Dr. Leandro de Moraes Cardoso pela orientação, amizade e confiança em mim depositada, pelo incentivo e colaboração desde a concepção e execução desta pesquisa, até a redação da dissertação e artigos científicos.

Ao pesquisador Dr. Carlos Wanderlei Piler De Carvalho, pesquisador da Embrapa Agroindústria de Alimentos, pela orientação, suporte e colaboração desde a concepção e execução do projeto de pesquisa, até a redação de artigos científicos.

Aos pesquisadores Jhony Willian Vargas Solórzano e Dr. Flávio Dessaune Tardin pela valiosa contribuição na análise estatística dos dados.

Aos professores Dr.^{as} Ceres Mattos Della Lucia, Hércia Stampini Duarte Martino e Dr. Frederico Augusto Ribeiro de Barros por aceitarem participar da banca examinadora e pelas contribuições a este trabalho.

À bolsista de Iniciação Científica, vitaminada e amiga Paula Camargos Zanatta, pela dedicação, disponibilidade, amizade e pela ajuda fundamental durante a finalização do meu mestrado.

Aos meus pais Luciene e Renato, que nunca mediram esforços para que eu alcançasse meus objetivos, às minhas irmãs Cibele e Sinara, cunhados Igor e Pablo, e sobrinhos Joaquim, Julia e Giovanna pelo estímulo, apoio e força durante minha caminhada. Sem vocês nada disso seria possível.

Às vitaminadas e irmãs de coração Clarice Souza, Lívyá Alves, Poliana Miranda e Pamella Cristine pela ajuda, amizade, carinho, apoio, risadas e companheirismo de todas as horas. O Laboratório de Análise de Vitaminas (LAV) ficou mais leve e divertido com vocês por perto.

Às professoras Dr^{as} Ana Vlândia Bandeira Moreira, coordenadora do Laboratório de Análise de Alimentos, Hércia Stampini Duarte Martino, coordenadora do Laboratório de Nutrição Experimental, Eliana Carla Gomes de Souza e Técnica de Nível Superior Maria Inês Dantas Bastiani, responsáveis pela coordenação do Laboratório de Análise Sensorial e Processamento de Novos Produtos, por disponibilizarem seus respectivos laboratórios para a realização desta pesquisa.

A todos os parceiros do LAV, pela ajuda e apoio durante todas as etapas do trabalho.

Enfim, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho e torceram por mim, muito obrigada!

RESUMO

PINHEIRO, Soraia Silva, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2017. **Efeito de diferentes processamentos na estabilidade de vitaminas, carotenoides e flavonoides em sorgo (*Sorghum bicolor* L.)**. Orientadora: Helena Maria Pinheiro Sant'Ana. Coorientadores: Ceres Mattos Della Lucia, Leandro de Moraes Cardoso e Carlos Wanderlei Piler de Carvalho.

O sorgo (*Sorghum bicolor* L.) é um cereal utilizado para a alimentação humana em países da África, Ásia e América Central, mas ainda pouco consumido no Brasil e em outros países do Ocidente. Este cereal possui elevado valor nutricional e potencial funcional, os quais podem ser alterados durante o processamento dos grãos. No entanto, ainda são escassos na literatura dados sobre os efeitos dos principais tipos de processamento na concentração de vitaminas e compostos bioativos de sorgo. Neste contexto, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a estabilidade de vitaminas, carotenoides e flavonoides em grãos de sorgo desenvolvidos para a alimentação humana, na forma *in natura* e processada. No genótipo BRS 330, foi avaliado o efeito do processamento (diferentes condições de extrusão industrial, maceração, germinação, estalamento em pipoqueira convencional, estalamento em micro-ondas e cocção em água) na concentração de vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e piridoxina), vitamina E (α , β , γ e δ -tocoferóis e tocotrienóis), carotenoides (luteína e zeaxantina) e flavonoides (3-desoxiantocianidinas-3 DXAs, flavonas e flavanonas). Os compostos foram analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), sendo as vitaminas do complexo B e vitamina E detectadas por fluorescência e os carotenoides e flavonoides utilizando Detecção por Arranjo de Diodos (DAD). A maceração e a germinação reduziram as concentrações de tiamina e piridoxina (retenção de 3,8 a 50,2%, respectivamente). A concentração de riboflavina não foi afetada pela maceração e aumentou com a germinação ($p < 0,05$). A concentração de vitamina E total não foi influenciada pela maceração ($p > 0,05$), sendo que a germinação reduziu a concentração total deste composto ($p < 0,05$). A concentração de carotenoides não foi afetada pela maceração e germinação, quando comparada ao controle ($p > 0,05$). As 3-DXAs foram sensíveis à maceração e germinação (retenção entre 69,7 e 70,0%, respectivamente). A concentração de flavonas não foi influenciada pela

maceração ($p>0,05$) e reduziu com a germinação ($p<0,05$). A concentração de flavanonas aumentou nos grãos macerados e reduziu nos grãos germinados ($p<0,05$). Ambos os estalamentos e a cocção em água reduziram as concentrações de tiamina quando comparados ao controle ($p<0,05$) e não influenciaram as de riboflavina. O estalamento em micro-ondas não afetou a concentração de piridoxina ($p>0,05$), sendo que o estalamento em pipoqueira e a cocção em água reduziram as concentrações desta vitamina ($p<0,05$). O estalamento em pipoqueira não afetou a concentração total da vitamina E ($p>0,05$). De forma geral, os perfis de vitamina E após os estalamentos dos grãos foram similares entre si, com exceção do α -tocoferol e do γ -tocotrienol (suas concentrações não foram influenciadas após estalamento em micro-ondas, mas reduziram após o estalamento em pipoqueira e cocção em água). A cocção dos grãos em água não afetou a concentração total de vitamina E e seu perfil foi similar ao apresentado após o estalamento dos grãos em pipoqueira. Ambos os estalamentos e cocção apresentaram comportamento similar, uma vez que reduziram as concentrações das somas de carotenoides, bem como as de zeaxantina e não influenciaram as de luteína. Para as 3-DXAs, os estalamentos e a cocção apresentaram efeitos similares, com retenções que variaram entre 0,04 a 22,4% em relação às concentrações iniciais. Os estalamentos resultaram em retenções de apenas 1,4 a 13,7%, ao mesmo tempo em que reduziram muito a concentração de flavanonas (retenção de 2,7 a 17,7%). Em relação à extrusão dos grãos de sorgo, os pontos centrais de temperatura e rotações do parafuso não influenciaram as concentrações de tiamina e piridoxina. As diferentes temperaturas e rotações do parafuso não influenciaram as concentrações de luteína, zeaxantina e o total de carotenoides. As maiores temperaturas e rotações (161 a 182 °C; 292 a 348 rpm) aumentaram a concentração de α -tocoferol. Menores temperaturas (entre 98 a 119 °C) e maiores rotações do parafuso (entre 292 e 348 rpm) aumentaram a concentração de β -tocotrienol. Os valores médios de rotações do parafuso (entre 178 e 292 rpm) e baixos valores de temperatura (entre 98 e 119 °C) aumentaram a concentração de δ -tocotrienol. O total de 3 DXAs não foi influenciado pelas temperaturas e rotações utilizadas na extrusão, mas as concentrações de apigeninidina e 7-metoxi-apigeninidina aumentaram em

condições de alta temperatura e baixa rotação do parafuso. As temperaturas e rotações não influenciaram as concentrações de flavonas e flavanonas totais, mas as de eriodictiol aumentaram com valores altos de rotações do parafuso. Nossos resultados indicam que as temperaturas e rotações do parafuso apresentaram comportamentos diferentes frente a cada classe de compostos, sendo que maiores valores de rotações e menores valores de temperatura ocasionaram menores perdas de vitaminas, carotenoides e flavonoides. Em conclusão, recomenda-se a ingestão do sorgo especialmente nas formas macerada e cozida em água, bem como em condições de extrusão que incluam altos valores de rotação do parafuso e menores valores de temperatura.

ABSTRACT

PINHEIRO, Soraia Silva, M.Sc., Federal University of Viçosa, February, 2017. **Effect of different processing on the stability of vitamins, carotenoids and flavonoids in sorghum (*Sorghum bicolor* L.)**. Advisor: Helena Maria Pinheiro Sant'Ana. Coauthors: Ceres Mattos Della Lucia, Leandro de Moraes Cardoso and Carlos Wanderlei Piler de Carvalho.

Sorghum (*Sorghum bicolor* L.) is a cereal used for human feeding in countries of Africa, Asia and Central America, but still little consumed in Brazil and other countries of the West. This cereal presents high nutritional value and functional potential, which can be modified during the grain processing. However, data on the effects of the main processing methods on the concentration of vitamins and bioactive compounds in sorghum are still scarce in the literature. In this context, the present study aimed to evaluate the stability of vitamins, carotenoids and flavonoids in sorghum grains developed for human feeding, *in natura* and in its processed form. In the BRS 330 genotype, it was evaluated the effect of processing (different conditions of industrial extrusion, soaking, germination, popping in a conventional popper, popping in microwave oven and water cooking) in the concentration of B complex vitamins (thiamine, riboflavin and pyridoxine), vitamin E (α , β , γ and δ -tocopherols and tocotrienols), carotenoids (lutein and zeaxanthin) and flavonoids (3-desoxyanthocyanidins-3 DXAs, flavones and flavanones). The compounds were analyzed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), the B complex vitamins and vitamin E were detected by fluorescence and carotenoids and flavonoids by Diode Array Detection (DAD). Soaking and germination decreased the concentrations of thiamine and pyridoxine (retention of 3.8 to 50.2%, respectively). Riboflavin concentration was not affected by soaking and increased with germination ($p < 0.05$). The total vitamin E concentration was not influenced by soaking ($p > 0.05$), and germination reduced the total concentration of this compound ($p < 0.05$). The concentration of carotenoids was not affected by soaking and germination, when compared to the control ($p > 0.05$). The 3-DXAs were sensitive to soaking and germination (retention between 69.7 and 70.0%, respectively). The concentration of flavones was not influenced by soaking ($p > 0.05$) and decreased with germination ($p < 0.05$). The concentration of flavanones increased in the soaked grains and reduced in the germinated

grains ($p < 0.05$). Both popping conditions and water cooking decreased thiamine concentrations when compared to the control ($p < 0.05$) and did not influence riboflavin concentrations. Popping in microwave oven did not affect the concentration of pyridoxine ($p > 0.05$), and popping in a conventional popper and water cooking reduced the concentrations of this vitamin ($p < 0.05$). Popping in a conventional popper did not affect the total concentration of vitamin E ($p > 0.05$). In general, the vitamin E profiles after the grain poppings were similar to each other, with the exception of α -tocopherol and γ -tocotrienol (their concentrations were not influenced after popping in microwave oven, but decreased after popping in a conventional popper and water cooking). The water cooking of the grains did not affect the total concentration of vitamin E and its profile was similar to the one presented after the popping in a conventional popper. Both popping conditions and water cooking presented a similar behavior, since they reduced the concentrations of the sum of carotenoids, as well as of zeaxanthin and did not influence those of lutein. For 3-DXAs, the popping conditions and water cooking presented similar behaviour, with retentions that ranged from 0.04 to 22.4% over the initial concentrations. The popping conditions resulted in retentions of only 1.4 to 13.7%, while greatly reduced the concentration of flavanones (retention of 2.7 to 17.7%). Regarding the extrusion of sorghum grains, the central temperature points and screw rotations did not influence thiamine and pyridoxine concentrations. The different temperatures and screw rotations did not influence the concentrations of lutein, zeaxanthin and total carotenoids. Higher temperatures and rotations (between 161 and 182 °C and between 292 and 348 rpm) increased the α -tocopherol concentration. Lower temperatures (between 98 and 119 °C) and higher screw rotations (between 292 and 348 rpm) increased β -tocotrienol concentration. Average values of screw rotations (between 178 and 292 rpm) and low temperatures (between 98 and 119 °C) increased the δ -tocotrienol concentration. The total of 3 DXAs was not influenced by the temperatures and rotations used in the extrusion, but the concentrations of apigeninidine and 7-methoxy-apigeninidine increased under conditions of high temperature and low screw rotation. Temperatures and rotations did not influence the concentrations of flavones and total flavanones, but the concentration of eriodictiol increased

with higher values of screw rotations. Our results indicate that the temperatures and rotations presented different behaviors in relation to each class of compounds, and higher values of screw rotations and lower temperatures resulted in lower losses of vitamins, carotenoids and flavonoids. In conclusion, it is recommended the intake of sorghum especially in its soaked form and cooked in water, as well as in extrusion conditions that include high values of screw rotation and lower temperatures.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL.....	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	O Sorgo.....	18
2.2	Valor Nutricional e Funcional do Sorgo.....	19
2.3	Métodos de Processamento do Sorgo para Alimentação Humana.....	20
2.3.1	Extrusão Industrial	22
2.3.2	Maceração	23
2.3.3	Germinação	24
2.3.4	Estalamento dos Grãos	25
2.3.5	Cocção em Água	25
3	OBJETIVOS.....	31
3.1	Objetivo Geral	31
3.2	Objetivos Específicos.....	31
4	HIPÓTESES	32
5	METODOLOGIA GERAL	33
5.1	Matéria-Prima	33
5.2	Padrões e Reagentes	33
5.3	Processamento dos Grãos de Sorgo	33
5.4	Determinação da Umidade	34
5.5	Determinação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides	34
5.5.1	Extração e Análise de Tiamina e Riboflavina	35
5.5.2	Extração e Análise de Piridoxina	36
5.5.3	Extração e Análise de Vitamina E.....	37
5.5.4	Extração e Análise de Carotenoides.....	37
5.5.5	Extração e Análise de Flavonoides.....	38
5.5.6	Identificação e Quantificação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides.....	39
5.6	Validação das Metodologias	40

5.6.1	Recuperação	41
5.6.2	Linearidade.....	41
5.6.3	Limites de Detecção e Quantificação	41
5.7	Cálculo da Retenção Verdadeira dos Compostos Bioativos.....	41
5.8	Cálculo da Estimativa do Potencial de Contribuição do Sorgo para o Atendimento das Recomendações Nutricionais.....	42
6	RESULTADOS	43
6.1	Artigo 1: Alterações na Estabilidade de Vitaminas do Complexo B, Vitamina E, Carotenoides e Flavonoides Durante a Germinação e Maceração de Sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> L.)	43
1	INTRODUÇÃO.....	44
2	MATERIAIS E MÉTODOS	46
2.1	Matéria-Prima	46
2.2	Padrões e Reagentes	47
2.3	Processamento dos Grãos de Sorgo	47
2.4	Determinação da Umidade	48
2.5	Determinação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides	48
2.5.1	Extração e Análise de Tiamina e Riboflavina	48
2.5.2	Extração e Análise de Piridoxina	49
2.5.3	Extração e Análise de Vitamina E.....	49
2.5.4	Extração e Análise de Carotenoides.....	49
2.5.5	Extração e Análise de Flavonoides.....	49
2.5.6	Identificação e Quantificação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides.....	49
2.6	Validação das Metodologias	50
2.6.1	Recuperação	50
2.6.2	Linearidade.....	51
2.6.3	Limites de Detecção e Quantificação	51
2.7	Cálculo da Retenção Verdadeira dos Compostos Bioativos.....	51

2.8	Cálculo da Estimativa do Potencial de Contribuição do Sorgo para o Atendimento das Recomendações Nutricionais.....	52
2.9	Delineamento Experimental e Análise Estatística dos Dados.....	52
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
3.1	Validação dos Métodos para Análise de Vitaminas do Complexo B.....	52
3.2	Vitaminas do Complexo B.....	53
3.3	Vitamina E.....	54
3.4	Carotenoides.....	55
3.5	Flavonoides.....	56
3.5.1	3-Desoxiantocianidinas.....	56
3.5.2	Flavonas e Flavanonas.....	57
3.6	Potencial de Contribuição do Sorgo Macerado e Germinado para o Atendimento das Necessidades de Vitaminas	58
4	CONCLUSÃO	58
5	AGRADECIMENTOS.....	59
6	REFERÊNCIAS	59
6.2	Artigo 2: Sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> L.) após Estalamento e Cocção é Fonte de Vitaminas do Complexo B e Vitamina E e Sofre Perdas na Concentração de Carotenoides e Flavonoides	69
1	INTRODUÇÃO.....	70
2	MATERIAIS E MÉTODOS	71
2.1	Matéria-Prima	71
2.2	Padrões e Reagentes	71
2.3	Processamento dos Grãos de Sorgo	72
2.4	Determinação da Umidade	72
2.5	Determinação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides	73
2.5.1	Extração e Análise de Tiamina e Riboflavina	73
2.5.2	Extração e Análise de Piridoxina	73
2.5.3	Extração e Análise de Vitamina E.....	73
2.5.4	Extração e Análise de Carotenoides.....	73

2.5.5	Extração e Análise de Flavonoides.....	74
2.5.6	Identificação e Quantificação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides.....	74
2.6	Validação das Metodologias.....	74
2.6.1	Recuperação.....	74
2.6.2	Linearidade.....	75
2.6.3	Limites de Detecção e Quantificação.....	75
2.7	Cálculo da Retenção Real das Vitaminas, Carotenoides e Flavonoides.....	75
2.8	Cálculo da Estimativa do Potencial de Contribuição do Sorgo para o Atendimento das Recomendações Nutricionais.....	75
2.9	Delineamento Experimental e Análise Estatística dos Dados.....	75
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
3.1	Validação dos Métodos para Análise de Vitaminas do Complexo B.....	76
3.2	Vitaminas do Complexo B.....	76
3.3	Vitamina E.....	77
3.4	Carotenoides.....	78
3.5	Flavonoides.....	78
3.5.1	3-Desoxiantocianidinas.....	78
3.5.2	Flavonas e Flavanonas.....	79
4	CONCLUSÃO.....	80
5	AGRADECIMENTOS.....	80
6	REFERÊNCIAS.....	80
6.3	Artigo 3: Alterações na Concentração de Vitaminas do Complexo B, Vitamina E, Carotenoides e Flavonoides em Sorgo (<i>Sorghum bicolor</i> L.) Submetido a Diferentes Condições de Extrusão Industrial.....	89
1	INTRODUÇÃO.....	90
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	91
2.1	Matéria-Prima.....	91
2.1	Padrões e Reagentes.....	91
2.2	Processamento dos Grãos de Sorgo.....	91

2.3	Determinação da Umidade	92
2.4	Determinação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides	92
2.4.1	Extração e Análise de Tiamina e Riboflavina	92
2.4.2	Extração e Análise de Piridoxina	93
2.4.3	Extração e Análise de Vitamina E.....	93
2.4.4	Extração e Análise de Carotenoides.....	93
2.4.5	Extração e Análise de Flavonoides.....	93
2.4.6	Identificação e Quantificação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides	93
2.5	Validação das Metodologias	94
2.5.1	Recuperação	94
2.5.2	Linearidade.....	94
2.5.3	Limites de Detecção e Quantificação	94
2.6	Delineamento Experimental	95
2.7	Análise Estatística.....	95
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	95
3.1	Validação de Metodologias.....	96
3.2	Vitaminas do Complexo B.....	97
3.3	Carotenoides.....	99
3.4	Vitamina E.....	99
3.5	Flavonoides.....	102
3.5.1	3-Desoxiantocianidinas.....	102
3.5.2	Flavonas e Flavanonas.....	103
4	CONCLUSÃO	104
5	AGRADECIMENTOS.....	104
6	REFERÊNCIAS	105
7	CONCLUSÕES GERAIS.....	118
8	CONSIDERAÇÕES FINAIS	119

1 INTRODUÇÃO GERAL

O interesse pelo sorgo na alimentação humana tem aumentado em diversos países do mundo, incluindo nos Estados Unidos e no Brasil, devido as suas vantagens agrônômicas (tolerância à seca, alto rendimento e baixo custo de produção, entre outras) e seu potencial para beneficiar a saúde humana (propriedades anticâncer, anti-inflamatória, antidiabetes, antirradical, redução do risco para doenças cardiovasculares e modulação da microbiota intestinal) (AWIKA e ROONEY, 2004; CARDOSO et al., 2015). Estes benefícios funcionais têm sido verificados *in vitro* e em animais, e atribuídos principalmente aos seus compostos fenólicos e perfil antioxidante, incluindo as 3-desoxiantocianidinas (3-DXAs) (CARDOSO et al., 2015). Além disso, o sorgo possui carotenoides, é fonte de vitamina E e, como todos os cereais, é rico em vitaminas do complexo B, principalmente tiamina, riboflavina e piridoxina. Estas vitaminas, que estão presentes em elevadas concentrações no sorgo, contribuem para a sua elevada capacidade antioxidante frente a outros cereais (CARDOSO et al., 2015).

No entanto, antes do consumo, o sorgo necessita ser submetido a processamentos, os quais podem modificar seu perfil antioxidante, incluindo os compostos fenólicos, carotenoides e vitaminas presentes no grão (CARDOSO et al., 2014; AFIFY et al., 2012; ABDELSEED et al., 2011; OCHANDA et al., 2010; DLAMINI et al., 2007; DICKO et al., 2005). Além disso, os estresses bióticos e abióticos podem afetar a acumulação destes compostos no grão de sorgo (TALEON et al., 2012).

Vários são os estudos (LESTIENNE et al., 2004; AFIFY et al., 2011; TAYLOR et al., 2011; AFIFY et al., 2012) que retratam o impacto dos processamentos mais utilizados sobre o valor nutricional do sorgo em países da África e Ásia, como a maceração, germinação, fermentação, extrusão industrial, estalamento e cocção. No entanto, estes estudos analisaram apenas variáveis como a composição de macronutrientes (AFIFY et al., 2012), digestibilidade de proteínas (TAYLOR et al., 2011; AFIFY et al., 2012), fatores antinutricionais (TAYLOR et al., 2011; AFIFY et al., 2011) e concentração de minerais no sorgo (LESTIENNE et al., 2004). Assim, o conhecimento sobre o

impacto destes processamentos na concentração de vitaminas (principalmente do complexo B), carotenoides e compostos fenólicos, incluindo os flavonoides, é incipiente.

A maceração consiste na manutenção do grão de cereal em condições controladas (temperatura e umidade), com o objetivo de promover o desenvolvimento de enzimas hidrolíticas que não estão ativas no grão *in natura*. Essas enzimas são importantes para o processo de fabricação de malte, por exemplo. A germinação consiste no crescimento externo das partes de gêmula e radícula do grão até que enzimas apropriadas sejam produzidas em quantidades adequadas, também para a produção de malte (PALMER, 1989; THONART, 2013).

O estalamento leva à explosão dos grãos submetidos ao calor, que proporciona a ruptura da parede celular do endosperma, melhorando a disponibilidade do amido e de outros compostos presentes no endosperma (CORREIA *et al.*, 2008). O processo de cocção de grãos, principalmente de sorgo, é muito utilizado para produção de mingaus e de outros pratos típicos, como o *Ting* (mingau duro) (DUODU *et al.*, 2001; TAYLOR e TAYLOR, 2002).

A extrusão constitui um processamento que se destaca frente aos demais devido ao fato de ser um dos poucos que podem ser aplicados a nível industrial. Várias são as condições de extrusão relatadas na literatura, com variações de temperatura do aquecedor e velocidade de rotação do parafuso da extrusora. Entretanto, não se sabe qual seria a condição ideal de extrusão, ou seja, qual temperatura e qual rotação devem ser utilizadas com a finalidade de ocasionar menores perdas de vitaminas, carotenoides e outros compostos bioativos. Com isso, torna-se necessária a realização de novos estudos que abordem os efeitos dos processamentos mais comuns para sorgo no seu perfil de compostos bioativos, bem como a indicação de um tipo de extrusão industrial que ocasione maiores percentuais de retenção de seus nutrientes e compostos bioativos.

Diante do exposto, a presente pesquisa visou avaliar a concentração e estabilidade de vitaminas do complexo B, vitamina E, carotenoides e flavonoides em grãos de sorgo submetidos aos seguintes tratamentos: maceração, germinação, estalamento em micro-ondas e em pipoqueira

convencional, cocção em água e extrusão industrial. Objetivou-se ainda, sugerir a priorização de métodos de processamento que resultem em maiores retenções dos compostos analisados e utilizar diferentes condições de extrusão industrial com a finalidade de sugerir uma condição ideal, que ocasione menores perdas de compostos bioativos no sorgo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O Sorgo

O sorgo (*Sorghum bicolor* L.) é um cereal pertencente à família *Poaceae* (U.S. Grains Council, 2004). Constitui o quinto cereal mais produzido no mundo, sendo antecedido pelo trigo, arroz, milho e cevada. Em países da África, Ásia e América Central, o sorgo constitui um produto básico da alimentação humana, sendo comumente utilizado na produção de mingaus, bebidas alcoólicas, bolos e tortilhas (ELKHALIFA et al., 2005; FAO, 2007; AFIFY et al., 2011). Em países como Estados Unidos, Austrália e Brasil, este cereal é utilizado majoritariamente para a produção de forragem destinada à alimentação animal, produção de álcool e outros produtos industrializados (AWIKA e ROONEY, 2004; FAO, 2007).

Além disso, o sorgo é um dos cereais mais resistentes à seca, a qual está entre os principais estresses abióticos na agricultura moderna (JEDMOWSKI et al., 2013). Portanto, o cultivo deste cereal pode ser adequado em regiões áridas e semiáridas do planeta (TARI et al., 2013), como, por exemplo, o Nordeste brasileiro.

O grão de sorgo é dividido em três estruturas anatômicas: o pericarpo, camada exterior do grão; o endosperma, camada de armazenamento do grão; e o gérmen, também chamado de embrião. Todas as variedades de sorgo também apresentam uma quarta estrutura denominada testa, podendo esta ser ou não pigmentada. Normalmente, as vitaminas do complexo B, lipídios, minerais e vitaminas lipossolúveis estão presentes no gérmen do sorgo. No endosperma, são encontradas algumas vitaminas do complexo B, minerais, proteínas e amido. No pericarpo e na testa, estão presentes os taninos, ácidos

fenólicos, 3-DXAs e carotenoides (Food Security Department, 1999; WANISKA e ROONEY, 2000; EARP, et al., 2004; SLAVIN, 2004; CARDOSO et al., 2015).

Considerando a presença de testa pigmentada e o poder de extração dos taninos, os grãos de sorgo podem ser classificados como tipo I (apresentam testa pigmentada e não possuem taninos), tipo II (possuem testa pigmentada e taninos extraíveis somente em meio metanólico acidificado) e tipo III (possuem testa pigmentada e taninos extraíveis em meio metanólico acidificado ou não acidificado) (EARP et al., 2004; CARDOSO et al., 2015).

2.2 Valor Nutricional e Funcional do Sorgo

O sorgo possui composição química e valor nutricional semelhante à de outros cereais, como o milho e o trigo. Cem gramas de sorgo fornecem de 296,1 a 356,0 Kcal (MARTINO et al., 2012; USDA, 2015). O grão de sorgo é composto, principalmente, por amido (50,0 a 72,5g/100g), o qual, de forma geral, é classificado como lentamente digerível (BOUDRIES et al., 2009; UDACHAN et al., 2012; HILL et al., 2012).

A concentração de fibras alimentares no grão de sorgo pode variar de 6,0 a 15,0 g/100g. Dentre elas, as mais comuns presentes no sorgo são os hemicelulose e as pentosanas (HATFIELD et al., 1999; JOOD et al., 2012). A maioria das fibras alimentares do sorgo (75%) é composta por fibras insolúveis, enquanto que o restante por fibras solúveis (MORAES, 2011; USDA, 2015).

A concentração de proteínas do sorgo pode variar de 7,0 a 15,0 g/100g. Cerca de 79% das proteínas do endosperma do grão são prolaminas e o restante (21%) classificadas como não prolaminas (DICKO et al., 2005; BELTON et al., 2006; MORAES, 2011). As proteínas do sorgo possuem baixa digestibilidade e não possuem glúten em sua composição. Dessa forma, o sorgo constitui uma alternativa de consumo para indivíduos celíacos.

O sorgo apresenta baixa concentração de lipídios (inferior a 3,0 g/100g), os quais se destacam devido à elevada proporção de ácidos graxos insaturados, principalmente, os ácidos oleico, linoleico, palmítico, linolênico, esteárico e palmitoleico (MEHMOOD et al., 2008). Além disso, o sorgo é uma boa fonte de vitaminas lipossolúveis (pró-vitamina A, D, E e K) e de vitaminas do complexo B, principalmente, piridoxina, tiamina e riboflavina (DICKO et al.,

2006). De acordo com as recomendações dietéticas diárias (DRIs), a ingestão de 100 g de sorgo pode fornecer até 34%, 30% e 7% das recomendações diárias para piridoxina, tiamina e riboflavina, respectivamente.

O sorgo se destaca perante aos demais cereais devido à sua elevada atividade antioxidante. Esta atividade antioxidante pode ser atribuída principalmente aos seus compostos fenólicos (taninos e antocianinas), vitaminas, especialmente, a vitamina E, carotenoides e outros compostos antioxidantes presentes no grão (AWIKA e ROONEY, 2004; DYKES e ROONEY, 2009; MORAES, 2011; CARDOSO et al., 2015). Além disso, estudos revelam uma correlação direta entre a sua atividade antioxidante e o seu potencial para beneficiar a saúde humana (propriedades anticâncer, anti-inflamatória, antidiabetes, antirradical, redução do risco para doenças cardiovasculares e modulação da microbiota intestinal) (AWIKA e ROONEY, 2004; CARDOSO et al., 2015).

Além disso, o sorgo se destaca perante aos demais cereais, devido à presença de outros compostos bioativos presentes no grão, tais como minerais (potássio e zinco), outros compostos fenólicos (3-DXAs, taninos, antocianinas, flavonas e flavanonas), estilbenos (*trans*-resveratrol e outros), fitoesteróis (sitosterol, campesterol e stigmasterol) e policosanóis (CARDOSO et al., 2015).

2.3 Métodos de Processamento do Sorgo para Alimentação Humana

O sorgo pode ser utilizado na alimentação humana na forma de grão ou farinha. No entanto, antes de ser consumido, o sorgo necessita ser processado e, ou submetido a diferentes técnicas de cocção e, ou preparo. Devido à sua semelhança com outros cereais, as técnicas utilizadas para o processamento do milho e do trigo também podem ser aplicadas para obtenção de produtos alimentícios à base de sorgo (SCHOBER et al., 2005; DICKO et al., 2006; CIACCI et al., 2007). Desta maneira, a partir do sorgo, podem ser desenvolvidos produtos de panificação sem glúten, cereais matinais, barras de cereais, bolos, pipoca, cerveja, mingaus, entre outros (U.S. Grains Council, 2004).

Em países da África e da Ásia, o sorgo é utilizado na alimentação humana e animal. Nestes países, o sorgo constitui um alimento básico da

alimentação humana, sendo utilizado para o preparo de alimentos regionais, com destaque para *chips*, *cookies*, cervejas alcoólicas e não alcoólicas, cuscuz, mingau duro, tortilhas e mingau fino (ANGLANI, 1998; MÉNDEZ-ALBORES et al., 2009;). Apesar de ser pouco utilizado na alimentação humana em países ocidentais, tais como o Brasil, o interesse pelo uso do sorgo com este objetivo tem aumentado devido às suas vantagens agrônômicas, o seu valor nutricional e funcional, e o seu potencial para beneficiar a saúde humana (AWIKA e ROONEY, 2004; CARDOSO et al., 2015).

De forma geral, o processamento possui como objetivo tornar o alimento viável para o consumo humano, de forma a satisfazer as necessidades dos consumidores (BAPTISTA e VENÂNCIO, 2003). Estes processos podem provocar alterações desejáveis e indesejáveis no alimento. Entre as alterações desejáveis, pode-se citar a redução da concentração de compostos antinutricionais, melhoria da qualidade nutricional por meio do aumento da biodisponibilidade de nutrientes e de compostos bioativos, e o aumento da vida de prateleira dos produtos. Entre as alterações indesejáveis, destacam-se as perdas de vitaminas e de outros compostos bioativos, resultando na diminuição da qualidade nutricional dos alimentos. Além disso, o perfil de antioxidantes do sorgo também pode ser modificado durante o processamento do grão (DLAMINI et al., 2007; CARDOSO et al., 2014).

Diante do grande consumo deste cereal em países da África e Ásia, a maioria dos estudos presentes na literatura aborda o efeito de processamentos como a maceração, fermentação e germinação na concentração e biodisponibilidade de alguns componentes, como proteínas, minerais, fitatos, taninos, flavonoides, fibra alimentar, ácidos fenólicos e algumas vitaminas (ELKHALIFA et al., 2005; LESTIENNE et al., 2005; AFIFY et al., 2011; RAHMAN E OSMAN, 2011; JOOD et al., 2012; AFIFY et al., 2012). Em contrapartida, não há estudos que avaliaram o impacto destes processamentos, principalmente na concentração de vitaminas do complexo B, carotenoides e outros compostos bioativos, utilizando-se da técnica Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Entre as lacunas identificadas na literatura, destacam-se a falta de estudos que abordem o impacto dos processamentos convencionais do sorgo

na concentração de seus principais nutrientes e compostos bioativos. Dentre estes processamentos, a extrusão industrial tem se tornado o método mais utilizado na indústria de alimentos (RIAZ et al., 2009; TIWARI e CUMMINS, 2009; BRENNAN et al., 2011). O estalamento do grão de sorgo, seja em pipoqueira convencional ou em micro-ondas é muito comum, mas existem poucos estudos que avaliaram o impacto deste processamento nas características químicas deste cereal. Entretanto, ainda é incipiente o conhecimento das alterações provocadas tanto pela extrusão industrial quanto pelo estalamento, principalmente na concentração de vitaminas do complexo B.

2.3.1 Extrusão Industrial

A extrusão é um processamento contínuo de cocção de alimentos, com elevada produtividade e com alegação de retenção de nutrientes, devido à sua alta temperatura e curto tempo necessário (GUY, 2001; SINGH et al., 2007). No entanto, segundo Cardoso et al. (2015), a extrusão industrial provocou perdas nas concentrações de tococromanois, carotenoides, flavonas, flavanonas, 3-DXAs, proantocianidinas e compostos fenólicos em grãos de sorgo. Este processamento permite que diferentes matrizes alimentares umedecidas, expansivas, amiláceas ou fontes de proteínas sejam plastificadas e cozidas em um tubo por uma combinação de umidade, pressão, temperatura e cisalhamento mecânico.

A extrusão promove transformações moleculares e reações químicas que aumentam a palatabilidade dos alimentos (HAUCK e HUBER, 1989; CASTELLS et al, 2005; SINGH et al., 2007). Durante a extrusão, as ligações covalentes de biopolímeros são quebradas e a estrutura destes compostos é modificada, o que facilita e altera as propriedades funcionais e a textura dos alimentos (ASP e BJÖRCK, 1989; CARVALHO e MITCHELL, 2000; SINGH et al., 2007). Além disso, o processo de extrusão desnatura enzimas indesejáveis, inativa alguns fatores antinutricionais, inibe a atividade microbológica do produto extrusado e mantém a cor e sabor dos alimentos (FELLOWS, 2000; BHANDARI et al, 2001; SINGH et al., 2007).

O processo de extrusão é cada vez mais utilizado para tornar possível a utilização de ingredientes como o sorgo em barras de cereais, cereais matinais

e salgadinhos tipo snacks, por exemplo (ATHAR et al., 2006). Durante o processo de extrusão podem ser utilizados diferentes tipos de extrusoras industriais, níveis de umidade, velocidade de rotação do parafuso, temperatura do aquecedor. Dessa forma, os efeitos da extrusão sob os aspectos tecnológicos e nutricionais de um alimento podem ser diferentes (SVIHUS et al., 2005; KIM et al., 2006; STOJCESKA et al., 2009).

2.3.2 Maceração

A maceração consiste na manutenção do grão de cereal em condições de ar e umidade controladas, com o objetivo de promover o desenvolvimento de enzimas hidrolíticas que não estão presentes no grão *in natura*. Este processo pode anteceder a germinação e, ou fermentação, além de poder limitar o crescimento de mudas ou brotos do cereal (THONART, 2013).

Na maioria das vezes, a maceração constitui um pré-tratamento, ou seja, a primeira etapa para os processos de germinação e fermentação. Como exemplo, destaca-se a aplicação deste processamento como uma importante etapa prévia para a produção de cervejas (THONART, 2013).

Durante a produção da cerveja, a imersão em água promove a modificação do endosperma do grão de sorgo, com produção do malte na qualidade desejada (THONART, 2013). Os grãos maltados, ou seja, aqueles obtidos após processo de fabricação do malte, também são utilizados para a produção de alimentos tais como pratos tradicionais oriundos de países da África (ELKHALIFA, 2013).

Existem diferentes técnicas de maceração, as quais variam em relação ao tempo de imersão na água, temperatura e proporção água: cereal. De forma geral, a primeira etapa da maceração consiste na imersão do grão em água destilada. A proporção de peso do grão para o volume de água pode ser livre ou fixa em 1:2 ou 1:5 p/v (CLAVER et al, 2010; AFIFY et al, 2012). Dependendo do produto a ser elaborado, antes de serem imersos em água (macerados), os grãos são embebidos em solução de NaOH, variando sua concentração de 0,05%, 0,1% e 0,2% (ALI et al., 2009). O tempo de imersão pode variar entre 10 horas e 2 dias e este processo pode acontecer em temperatura ambiente ou em temperatura controlada (10-16°C ou 30°C)

(LESTIENNE et al., 2005; CLAVER et al, 2010; PHATTANAKULKAEWMORIE, 2011; AFIFY et al, 2012).

2.3.3 Germinação

A germinação consiste no crescimento externo das partes de gêmula (parte do grão responsável pelo desenvolvimento do caule e das folhas) e da radícula (estrutura que dá origem à raiz) do grão até que enzimas apropriadas sejam produzidas em quantidades adequadas (THONART, 2013; PALMER, 1989). As principais enzimas envolvidas no processo de germinação são proteases e enzimas que degradam o amido. As enzimas carboxipeptidases e α -amilase são produzidas por uma parte do grão denominada *scutellum*, enquanto que outras enzimas como endo- β -glicanase, dextrinase e endoprotease são produzidas no endosperma, o qual contém amido (THONART, 2013).

Durante a germinação, a atividade enzimática de amilases, proteases, fitases intrínsecas e enzimas que degradam fibras é aumentada, o que leva à quebra de proteínas, carboidratos e lipídios em formas mais simples, aumentando a disponibilidade de nutrientes (ELKHALIFA, 2013).

As técnicas utilizadas para a germinação de um cereal diferem quanto às suas etapas. De forma geral, o grão previamente macerado, é acondicionado em um recipiente coberto (com fibra vegetal, gaze, papel alumínio ou papel de filtro), o qual é mantido em ambiente isolado e escuro por 2 a 7 dias, em temperatura ambiente, a 16,5°C ou a 37°C (DICKO et al., 2005; CLAVER et al., 2010; TIZAZU, 2011; AFIFY et al., 2011; PHATTANAKULKAEWMORIE, 2011; JOOD et al., 2012; RAIMI et al., 2012; DONKOR et al., 2012; ELKHALIFA et al., 2013).

A germinação constitui um processamento amplamente utilizado para vegetais e cereais com a finalidade de aumentar a sua palatabilidade e valor nutricional, particularmente por meio da degradação de certos fatores antinutricionais, tais como fitato e inibidores de protease (AFIFY et al., 2011). Em algumas partes do Sudão, onde o sorgo é um dos principais cereais utilizados na alimentação, as pessoas dependem de seus grãos para constituírem suas refeições principais. O sorgo germinado é geralmente

consumido como ingrediente de um mingau grosso (*Aceda*), de um mingau fino (*Nasha*), e também em saladas (ELKHALIFA e BERNHARDT, 2013).

2.3.4 Estalamento dos Grãos

O consumo do grão de cereal submetido ao estalamento é muito comum em países da África e em países do Ocidente. No Brasil, por exemplo, destaca-se a produção de pipoca a partir de cereais, especialmente, do milho. Devido às semelhanças entre o sorgo e o milho, a prática do estalamento do sorgo para produção de pipoca tem aumentado. O estalamento do sorgo pode ser realizado por meio do aquecimento do grão em uma panela submetida a fogo constante, em pipoqueira convencional e, ou em micro-ondas, constituindo práticas comuns utilizadas pela população (CORREIA et al., 2010; CARDOSO et al. 2014). Durante este processo, os grãos podem ou não ser adicionados de outros ingredientes (como sal, óleo e outros temperos, por exemplo).

De acordo com Correia et al. (2008), o estalamento leva ao estouro do grão submetido ao calor, que proporciona a ruptura da parede celular do endosperma, melhorando a disponibilidade do amido e de outros componentes presentes no endosperma do grão.

2.3.5 Cocção em Água

O processo de cocção de grãos, principalmente de sorgo, consiste numa prática muito comum em países da África e da Ásia, onde o sorgo é muito utilizado para produção de mingaus e de outros pratos típicos, como o *Ting* (mingau duro) (TAYLOR e TAYLOR, 2002; DUODU et al., 2001).

As técnicas utilizadas para cocção dos cereais variam amplamente. Para o sorgo, por exemplo, as etapas mais comuns deste processamento são a cocção dos grãos em água em uma panela tampada, com variação da temperatura e o tempo de cocção, dependendo da característica da preparação desejada (exemplo: mingau duro ou mole) (DUODU et al., 2001). Cardoso et al. (2014) relataram cocção dos grãos por 25 minutos a uma temperatura de 100°C, enquanto que Taylor e Taylor (2002) relataram imersão dos grãos em água de ebulição (100°C) por aproximadamente 10 minutos.

REFERÊNCIAS

- ABDELSEED, B. et al. Some nutritional attributes of selected newly developed lines of sorghum (*Sorghum bicolor*) after fermentation. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 13, p. 399-409, 2011.
- AFIFY, A. E.-M. M. R. et al. Bioavailability of iron, zinc, phytate and phytase activity during soaking and germination of white sorghum varieties. **Plos one**, v. 6, n. 10, p. e25512, 2011.
- AFIFY, A. E.-M. M. R. et al. Biochemical changes in phenols, flavonoids, tannins, vitamin E, β -carotene and antioxidant activity during soaking of three white sorghum varieties. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 3, p. 203-209, 2012.
- ALI, N. M. M. et al. Effect of alkaline pretreatment and cooking on protein fractions of a high-tannin sorghum cultivar. **Food Chemistry**, v. 114, n. 2, p. 646-648, 2009.
- ANGLANI, C. Sorghum for human food—A review. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 52, n. 1, p. 85-95, 1998.
- ASP, N.-G.; BJÖRCK, I. Nutritional properties of extruded foods. **Extrusion Cooking**, p. 399-434, 1989.
- ATHAR, N. et al. Vitamin retention in extruded food products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 4, p. 379-383, 2006.
- AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. **Phytochemistry**, v. 65, n. 9, p. 1199-1221, 2004.
- AWIKA, J. M. et al. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v. 90, n. 1-2, p. 293-301, 2004.
- AWIKA, J. M. et al. Properties of 3-deoxyanthocyanins from sorghum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 14, p. 4388-4394, 2004.
- BAPTISTA, P.; VENÂNCIO, A. Os perigos para a segurança alimentar no processamento de alimentos. **Guimarães: Forvisão**, 2003.
- BELTON, P. S. et al. Kafirin structure and functionality. **Journal of Cereal Science**, v. 44, n. 3, p. 272-286, 2006.
- BHANDARI, B. et al. Flavour retention during high temperature short time extrusion cooking process: a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 36, n. 5, p. 453-461, 2001.
- BOUDRIES, N. et al. Physicochemical and functional properties of starches from sorghum cultivated in the Sahara of Algeria. **Carbohydrate Polymers**, v. 78, n. 3, p. 475-480, 2009.

- BRENNAN, C. et al. Effects of extrusion on the polyphenols, vitamins and antioxidant activity of foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 22, n. 10, p. 570-575, 10, 2011.
- CARVALHO, C. W. P; MITCHELL, J. R. Effect of sugar on the extrusion of maize grits and wheat flour. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 35, n. 6, p. 569-576, 2000.
- CARDOSO, L. d. M.; et al. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum (*Sorghum bicolor* L.). **Food Chemistry** 152, 201-217, 2014.
- CARDOSO, L. d. M. et al. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): nutrients, bioactive compounds and potential impact on the human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, In press n. just-accepted, p. 00-00, 2015.
- CARDOSO, L. d M. et al. Phenolic compounds profile in sorghum processed by extrusion cooking and dry heat in a conventional oven. **Journal of Cereal Science**, v. 65, p. 220-226, 2015.
- CARDOSO, L. d. M. et al. Tocochromanols and carotenoids in sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Diversity and stability to the heat treatment. **Food Chemistry**, v. 172, p. 900-908, 2015.
- CASTELLS, M. et al. Fate of mycotoxins in cereals during extrusion cooking: a review. **Food Additives and Contaminants**, v. 22, n. 2, p. 150-157, 2005.
- CIACCI, C. et al. Celiac disease: in vitro and in vivo safety and palatability of wheat-free sorghum food products. **Clinical Nutrition**, v. 26, n. 6, p. 799-805, 2007.
- CLAVER, I. P. et al. Optimized conditions of steeping and germination and their effect on sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] composition. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 9, n. 7, p. 686-695, 2010.
- CORREIA, I. et al. Protein profile and malt activity during sorghum germination. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 15, p. 2598-2605, 2008.
- DICKO, M. H. et al. Evaluation of the Effect of Germination on Phenolic Compounds and Antioxidant Activities in Sorghum Varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 7, p. 2581-2588, 2005.
- DICKO, M. H. et al. Review: Sorghum grain as human food in Africa: relevance of starch content and amylase activities. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, p. 384-395, 2006.
- DLAMINI, N. R. et al. The effect of sorghum type and processing on the antioxidant properties of African sorghum-based foods. **Food Chemistry**, v. 105, n. 4, p. 1412-1419, 2007.

- DONKOR, O. N. et al. Germinated grains—Sources of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 135, n. 3, p. 950-959, 2012.
- DUODU, K. G. et al. FTIR and solid state ¹³C NMR spectroscopy of proteins of wet cooked and popped sorghum and maize. **Journal of Cereal Science**, v. 33, n. 3, p. 261-269, 2001.
- DYKES, L. et al. Flavonoid composition of red sorghum genotypes. **Food Chemistry** 116, 313-317.
- EARP, C. F. et al. Testa development in the caryopsis of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. **Journal of cereal science**, v. 39, n. 2, p. 303-311, 2004.
- ELKHALIFA, A. E. O. et al. Effect of fermentation on the functional properties of sorghum flour. **Food Chemistry**, v. 92, n. 1, p. 1-5, 2005.
- ELKHALIFA, A. E. O.; BERNHARDT, R. Some physicochemical properties of flour from germinated sorghum grain. **Journal of Food Science and Technology**, v. 50, n. 1, p. 186-190, 2013.
- FELLOWS, P. et al. Food processing technology: principles and practice. **Tecnología del procesado de los alimentos: principios y práctica**. 2000.
- Food and Agricultural Organization. (2007). "Sorghum and millet in human nutrition. No. 27." FAO Food and Nutrition Series Retrieved 27/10/, 2012, de <http://www.fao.org/docrep/T0818E/T0818E00.htm>.
- Food Security Department. (1999). Sorghum: Post-harvest Operations. United Kingdom: Natural Resources Institute.
- GUY, R. **Extrusion Cooking: Technologies and Application**. Pp.3–5. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd (2001).
- HATFIELD, R. D. et al. Composition of cell walls isolated from cell types of grain sorghum stems. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, n. 6, p. 891-899, 1999.
- HAUCK, B. W.; HUBER, G. R. Single screw vs twin screw extrusion. **Cereal foods world (USA)**, 1989.
- HILL, H. et al. Variation in sorghum starch synthesis genes associated with differences in starch phenotype. **Food Chemistry**, v. 131, n. 1, p. 175-183, 2012.
- JEDMOWSKI, C. et al. Reactions of Egyptian landraces of *Hordeum vulgare* and *Sorghum bicolor* to drought stress, evaluated by the OJIP fluorescence transient analysis. **Acta physiologiae plantarum**, v. 35, n. 2, p. 345-354, 2013.
- JOOD, S. et al. Effect of germination and probiotic fermentation on pH, titratable acidity, dietary fibre, β -Glucan and vitamin content of sorghum based food mixtures. **J Nutr Food Sci**, v. 2, n. 164, p. 2, 2012.

- KIM, J. H. et al. Effect of extrusion conditions on resistant starch formation from pastry wheat flour. **Food Chemistry**, v. 99, n. 4, p. 718-723, 2006.
- LESTIENNE, I. et al. Effects of soaking whole cereal and legume seeds on iron, zinc and phytate contents. **Food Chemistry**, v. 89, n. 3, p. 421-425, 2005.
- MARTINO, H. S. D. et al. Chemical characterization and size distribution of sorghum genotypes for human consumption. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 71, n. 2, p. 337-344, 2012.
- MEHMOOD, S. et al. Fatty acid composition of seed oil of different Sorghum bicolor varieties. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 855-859, 2008.
- MÉNDEZ-ALBORES, A. et al. Efecto de la adición de ácido cítrico sobre la degradación de las aflatoxinas y las propiedades funcionales de productos extrudidos de sorgo. **Interciencia**, v. 4, p. 252-8, 2009.
- MORAES, E. A. **Antioxidant activity, protein quality and functional potential of sorghum genotypes available for human consumption**. Tese de doutorado, Universidade Federal de Viçosa, 2011.
- OCHANDA, S. O. et al. Effects of malting and fermentation treatments on group B-vitamins of red sorghum, white sorghum and pearl millets in Kenya. **J. Appl. Biosci**, v. 34, p. 2128-2134, 2010.
- PALMER, G. H. et al. A. Sorghum as brewing material. **MIRCEN Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 5, n. 3, p. 265-275, 1989.
- PHATTANAKULKAEWMORIE, N. et al. Chemical compositions and physico-chemical properties of malted sorghum flour and characteristics of gluten free bread. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, v. 57, p. 9-27, 2011.
- RAHMAN, I. E. A.; OSMAN, M. A. W. Effect of sorghum type (Sorghum bicolor) and traditional fermentation on tannins and phytic acid contents and trypsin inhibitor activity. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v. 9, n. 3, p. 163-166, 2011.
- RAIMI, O. G. et al. Effect of germination time on fat and protein contents, and α -amylase activity of Guinea Corn (Sorghum vulgare). **Pakistan Journal of Food Sciences**, v. 22, n. 2, p. 86-89, 2012.
- RIAZ, M. N. et al. Stability of Vitamins during Extrusion. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 49, n. 4, p. 361-368, 2009.
- SCHOBBER, T.J. et al. Gluten-free bread from sorghum: quality differences among hybrids. **Cereal Chemistry**, v. 82, n. 4, p. 394-404, 2005.
- SINGH, S. et al. Nutritional aspects of food extrusion: a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 42, n. 8, p. 916-929, 2007.

- SLAVIN, J. Whole grains and human health. **Nutrition research reviews**, v. 17, n. 01, p. 99-110, 2004.
- STOJCESKA, V. et al. The effect of extrusion cooking using different water feed rates on the quality of ready-to-eat snacks made from food by-products. **Food Chemistry**, v. 114, n. 1, p. 226-232, 2009.
- SVIHUS, B. et al. Effect of starch granule structure, associated components and processing on nutritive value of cereal starch: A review. **Animal Feed Science and Technology**, v. 122, n. 3, p. 303-320, 2005.
- TALEON, V. et al. Effect of genotype and environment on flavonoid concentration and profile of black sorghum grains. **Journal of Cereal Science**, v. 56, n. 2, p. 470-475, 9, 2012.
- TARI, I. et al. Response of Sorghum to abiotic stresses: a review. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v. 199, n. 4, p. 264-274, 2013.
- TAYLOR, J.; TAYLOR, J. Alleviation of the adverse effect of cooking on sorghum protein digestibility through fermentation in traditional African porridges. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 37, n. 2, p. 129-137, 2002.
- THONART, P. et al. Characteristics of African traditional beers brewed with sorghum malt: a review. **Base**, 2013.
- TIWARI, U.; CUMMINS, E. Nutritional importance and effect of processing on tocols in cereals. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 11-12, p. 511-520, 12, 2009.
- TIZAZU, S. et al. Effect of germination on mineral bioavailability of sorghum-based complementary foods. **African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development**, v. 11, n. 5, p. 5083-5095, 2011.
- UDACHAN, I. S. et al. Extraction and characterization of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) starch. **International Food Research Journal**, v. 19, n. 1, p. 315-319, 2012.
- U.S. Department of Agriculture, A. R. S. (2015). **USDA National Nutrient Database for Standard Reference** (25 ed.). Washington DC.
- U.S. Grains Council (2004). **Sorghum Handbook: White Sorghum, the New Food Grain**. Washington, DC, U.S. Grains Council.
- WANISKA, R. D.; ROONEY, L. W. Structure and chemistry of the sorghum caryopsis. **Sorghum: origin, history, technology, and production**, v. 2, p. 649-679, 2000.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Determinar a estabilidade de vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e piridoxina), vitamina E, carotenoides e flavonoides (3-DXAs, flavonas e flavanonas) em sorgo após métodos de processamento e, ou preparo para consumo humano.

3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Otimizar diferentes métodos para a análise de tiamina total (tiamina, tiamina monofosfato e tiamina pirofosfato), riboflavina total (riboflavina, flavina adenina dinucleotídeo e flavina mononucleotídeo) e piridoxina total (piridoxol, piridoxal e piridoxamina) em sorgo cru e processado;
- ✓ Determinar a estabilidade de tiamina total, riboflavina total, piridoxina total, vitamina E total (α , β , γ e δ -tocoferóis e tocotrienóis), carotenoides (luteína e zeaxantina), 3-DXAs (luteolinidina, apigeninidina, 7-metoxi-apigeninidina e 5-metoxi-luteolinidina), flavonas (luteolina e apigenina) e flavanonas (naringenina e eriodictiol) em sorgo submetido a diferentes condições de processamento e preparo (extrusão industrial, maceração, germinação, cocção em água, e estalamento em micro-ondas e em pipoqueira convencional);
- ✓ Estimar o potencial de contribuição do sorgo submetido a diferentes tipos de processamento para o atendimento das recomendações de vitaminas para adultos na faixa etária de 19 a 30 anos.

4 HIPÓTESES

A extrusão industrial termoplástica, de forma geral, reduz a concentração de vitaminas, carotenoides e flavonoides de grãos de sorgo.

Os grãos de sorgo apresentam alta variabilidade nas concentrações de compostos bioativos quando submetidos às diferentes condições de extrusão.

A maceração diminui a concentração de vitaminas do complexo B, vitamina E, carotenoides e flavonoides.

A germinação aumenta a concentração de vitaminas do complexo B e diminui a concentração de vitamina E, carotenoides e flavonoides.

O estalamento reduz a concentração de vitaminas e carotenoides e não altera a de flavonoides.

A cocção em água diminui a concentração de vitaminas do complexo B, vitamina E e flavonoides e aumenta a de carotenoides.

5 METODOLOGIA GERAL

5.1 Matéria-Prima

Foram utilizados grãos de sorgo do genótipo BRS 330, pertencente a um painel de linhagens da EMBRAPA Milho e Sorgo. O plantio foi realizado no campo experimental da EMBRAPA Milho e Sorgo, localizado em Nova Porteirinha, MG. Após colhidos, os grãos foram encaminhados para a EMBRAPA Milho e Sorgo (Sete Lagoas, MG, Brasil), onde foram triados e, posteriormente, armazenados em câmara fria (10 ± 2 °C) até o transporte para o Departamento de Nutrição e Saúde (DNS) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

5.2 Padrões e Reagentes

Os padrões de vitaminas do complexo B (hidroclorato de tiamina, riboflavina e hidroclorato de piridoxina), carotenoides (luteína e zeaxantina) e flavonoides (3-desoxiantocianidinas: cloreto de luteolinidina e cloreto de apigeninidina; flavonas: luteolina e apigenina, e flavanonas: naringenina e eriodictiol) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Os padrões de vitamina E (α , β , γ e δ -tocoferóis e tocotrienóis) foram obtidos da Calbiochem (EMD Biosciences, Inc., EUA).

Reagentes grau analítico (VETEC, São Paulo, Brasil) foram utilizados para extração das vitaminas, carotenoides e flavonoides. A claradiastase foi adquirida da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Para análise, foram utilizados reagentes grau HPLC (metanol, acetonitrila, ácido fórmico, acetato de etila, acetona, hexano, isopropanol, ácido acético glacial) obtidos da Tedia (São Paulo, Brasil) e grau analítico (acetato de sódio e heptanossulfonato de sódio), obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA).

5.3 Processamento dos Grãos de Sorgo

Os grãos integrais de sorgo foram submetidos a diferentes processamentos, conforme descritos a seguir:

1) *Controle*: 150 g de grãos *in natura* foram moídos em moinho analítico micro-rotor de facas (MA 090, Marconi, São Paulo, Brasil), obtendo-se uma farinha com granulometria média de 850 μm ;

2) *Maceração*: 150 g de grãos *in natura* foram imersos em água destilada, na proporção 1:5 p/v, por 20 h. A água de maceração foi substituída duas vezes durante o período de imersão e descartada ao final deste (AFIFY et al., 2012);

3) *Germinação*: 150 g de grãos macerados como descrito anteriormente foram germinados em placas de Petri cobertas com filtro de papel umedecido, em temperatura ambiente ($\pm 23\text{ }^{\circ}\text{C}$), por 72 h. Os grãos foram umedecidos com água duas vezes ao dia (AFIFY et al., 2012).

Para o armazenamento, os grãos macerados e germinados foram secos em estufa com circulação forçada de ar ($50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 24 h) até umidade inferior a 15% (BRASIL, 1996) e, em seguida, moídos em um moinho analítico micro-rotor de facas (MA 090, Marconi, São Paulo, Brasil), obtendo-se uma farinha com granulometria média de 850 μm .

As farinhas de todos os processamentos foram acondicionadas em sacos plásticos de polietileno recobertos com papel alumínio e armazenadas em freezer ($-20 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$) até a conclusão das análises, que ocorreu em, no máximo, 30 dias.

5.4 Determinação da Umidade

A umidade das farinhas dos grãos *in natura* e dos grãos processados foi determinada por gravimetria, após secagem em estufa (Nova Etica, 4000, São Paulo, Brasil) a $105\text{ }^{\circ}\text{C}$, até atingir peso constante (AOAC, 2005).

5.5 Determinação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides

Os tratamentos e as análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Vitaminas do DNS/UFV, em 4 repetições, que foram obtidas a partir dos tratamentos. Durante a extração e a análise, as amostras e os extratos foram protegidos da luz solar e artificial pela utilização de vidrarias âmbar, papel alumínio e cortinas do tipo *blackout*, e protegidos do oxigênio por meio do

acondicionamento em frasco âmbar com tampa, com ambiente com gás nitrogênio.

5.5.1 Extração e Análise de Tiamina e Riboflavina

A tiamina total (tiamina, tiamina monofosfato e tiamina pirofosfato) e a riboflavina total (riboflavina, flavina adenina dinucleotídeo e flavina mononucleotídeo) foram extraídas simultaneamente baseadas nos métodos propostos por Ndaw et al. (2000) e Arella et al. (1996). Cinco gramas de farinha de sorgo foram adicionadas de 50 mL de solução de ácido clorídrico 0,1 M. A suspensão foi incubada em autoclave (121°C, por 30 min) e, em seguida, resfriada em banho de gelo. O pH da suspensão foi ajustado para 4,5 com solução de acetato de sódio 2,5 M. Posteriormente, a suspensão foi adicionada de 500 mg de claradiastase e incubada em banho metabólico (37°C, por 18 h). A suspensão foi avolumada com água destilada para 100 mL e filtrada a vácuo em funil de Büchner. O extrato obtido nesta filtração foi utilizado para a análise de riboflavina.

Imediatamente antes da análise de tiamina, o extrato foi derivatizado para tiocromo com o objetivo de se obter uma solução fluorescente. Para tanto, 1 mL do filtrado obtido na etapa de extração foi adicionado de 3 mL de solução alcalina de ferricianeto de potássio (1 mL de solução de ferricianeto de potássio 1% e 24 mL de solução de hidróxido de sódio 3,75 M). A solução foi agitada manualmente por 15 segundos e mantida em repouso por, exatamente, 1 minuto. Posteriormente, o extrato derivatizado foi purificado em cartucho de 500 mg (Varian Bond Elut C18 500 mg, Agilent Technologies, EUA) previamente ativado com 2 mL de metanol e condicionado com 5 mL de água ultrapura, a um fluxo de 3 gotas/segundo. Em seguida, 4 mL de extrato derivatizado foi adicionado ao cartucho e lavado com 10 mL de solução de acetato de sódio 0,05 M. O tiocromo retido no cartucho foi eluído em 8 mL de metanol:água (70:30 v/v).

Antes da análise, ambos os extratos obtidos foram filtrados em unidades de acetato de celulose, com porosidade de 0,2 µm (MFS, Nova Analítica, São Paulo, Brasil). As análises de riboflavina e tiamina foram realizadas em corridas individuais, utilizando as condições desenvolvidas por Arella et al. (1996), com

modificações: sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detecção por fluorescência (excitação em 366 nm e emissão em 435 nm para tiocromo e excitação em 422 nm e emissão em 522 nm para riboflavina); coluna cromatográfica RP-18 Phenomenex Gemini (250 mm x 4,6 mm, 5 µm) acoplada a coluna de guarda Phenomenex ODS C18 (4 mm x 3 mm); fase móvel composta por metanol: solução de acetato de sódio 6,25 mM e ácido heptanosulfônico 2,5 mM (30:70, v/v); eluição isocrática; fluxo da fase móvel de 0,9 e 1,2 mL/min para tiamina e riboflavina, respectivamente; tempo de corrida de 13 e 14 minutos para tiamina e riboflavina, respectivamente.

5.5.2 Extração e Análise de Piridoxina

A piridoxina total (piridoxol, piridoxal e piridoxamina) foi extraída de acordo com o método proposto por Ndaw et al. (2000). Cinco gramas de farinha de sorgo foram adicionados de 50 mL de solução de ácido clorídrico 0,1 M, sendo a suspensão posteriormente incubada em autoclave (121°C por 30 min). Em seguida, a suspensão foi resfriada em banho de gelo e o seu pH ajustado para 4,5 com solução de acetato de sódio 2,5 M. Adicionou-se 2,5 mL de solução de ácido glioxílico 1 M; 400 µL de solução de sulfato ferroso a 2%; e 500 mg de clara-diafastase, sendo a suspensão novamente incubada em banho metabólico (37°C, por 18 h). A suspensão foi avolumada para 100 mL com água destilada e filtrada à vácuo em funil de Büchner. Uma alíquota de 5 mL do extrato filtrado foi adicionada de 4,5 mL de solução de hidróxido de sódio 0,2 M contendo borohidreto de sódio 0,1 M, seguido de agitação manual (15 segundos) e repouso (5 min). Ao final, 0,5 mL de ácido acético glacial foram adicionados ao extrato.

Antes da análise, o extrato foi filtrado em unidade de polipropileno com porosidade 0,45 µm (Millipore, EUA). A análise foi realizada utilizando as condições desenvolvidas por Bergaentzlé et al. (1995), as quais incluíram: sistema CLAE com detecção por fluorescência (excitação em 290 nm e emissão em 395 nm); coluna cromatográfica RP-18 Phenomenex Gemini (250 mm x 4,6 mm, 5 µm), munida de coluna de guarda Phenomenex ODS C18 (4 mm x 3 mm); fase móvel composta por acetonitrila: solução de dihidrogeno fosfato de potássio 0,05 M (4:96, v/v) contendo heptanosulfonato de sódio 0,5

$\times 10^{-3}$ M e pH ajustado a 2,5 com ácido fosfórico; eluição isocrática; fluxo da fase móvel de 1 mL/min; tempo de corrida de 15 min.

5.5.3 Extração e Análise de Vitamina E

A extração e análise dos componentes da vitamina E (α , β , γ e δ -tocoferóis e tocotrienóis) foram realizadas de acordo com Pinheiro-Sant'Ana et al. (2011), com algumas modificações. Cinco gramas de farinha de sorgo foram adicionadas de 4 mL de água ultrapura aquecida ($80 \pm 1^\circ\text{C}$); 10 mL de isopropanol; 1 mL de hexano contendo 0,05% de BHT, 5 g de sulfato de sódio anidro e 25 mL da mistura solvente de extração (hexano: acetato de etila, 85:15, v/v). A suspensão foi homogeneizada utilizando-se microtritador (Ultra Turrax[®], IKA, Staufen, Alemanha), por 1 min, e filtrada a vácuo em funil de Büchner utilizando-se papel de filtro, mantendo-se o resíduo no tubo de extração. A etapa de extração foi repetida, adicionando-se ao resíduo 5 mL de isopropanol e 30 mL da mistura solvente, com posterior homogeneização e filtração a vácuo. Em seguida, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo a $70 \pm 1^\circ\text{C}$ (2 min), transferido para balão volumétrico e o volume completado para 25 mL com mistura solvente.

Após a extração, alíquotas de 5 mL do extrato foram secas em nitrogênio gasoso, redissolvidas em 2 mL de hexano grau HPLC e filtradas utilizando-se unidades filtrantes (0,45 μm). As análises foram realizadas injetando-se 20 μL dos extratos. As condições cromatográficas utilizadas incluíram: sistema CLAE; detector de fluorescência (290 nm de excitação e 330 nm de emissão); coluna cromatográfica Phenomenex Luna Si100 (250 mm x 4 mm, 5 μm) acoplada de coluna de guarda Phenomenex Si100 (4 x 3 mm); fase móvel composta por hexano: isopropanol: ácido acético glacial (98,9:0,6:0,5, v/v/v); fluxo da fase móvel de 1,0 mL/min e tempo de corrida de 18 min.

5.5.4 Extração e Análise de Carotenoides

Os carotenoides (luteína e zeaxantina) foram extraídos de acordo com Rodriguez-Amaya et al. (1976), com modificações. Dois gramas e meio de farinha de sorgo foram homogeneizados em 15 mL de acetona resfriada, por 5 min, utilizando um microtritador. A suspensão obtida foi filtrada a vácuo em

funil de Büchner com papel de filtro, mantendo-se o resíduo no tubo de extração. Em seguida, o procedimento de extração foi repetido adicionando-se 15 mL de acetona resfriada ao resíduo, com posterior homogeneização e filtração a vácuo.

Posteriormente, foi realizada a partição dos carotenoides da acetona para o éter de petróleo. O filtrado foi transferido, em duas frações, para um funil de separação contendo 20 mL de éter de petróleo resfriado. Após a transferência de cada fração, água destilada foi adicionada para a separação de fases (carotenoides-éter de petróleo e acetona-água), sendo a fase inferior (acetona-água) descartada. Foi acrescentado sulfato de sódio anidro ao extrato etéreo para remoção do resíduo de água. Em seguida, o extrato foi transferido para balão volumétrico de 25 mL, sendo o volume completado com éter de petróleo.

Para análise, 5 mL de extrato foram evaporados sob fluxo de gás nitrogênio e o resíduo seco redissolvido em 1,0 mL de hexano: isopropanol (90:10 v/v) (PANFILI et al., 2004). Em seguida o extrato foi filtrado em unidades filtrantes de politerafluoretileno (PTFE) (0,45 µm), sendo injetados 100 µL na coluna cromatográfica. As análises de carotenoides foram realizadas por CLAE utilizando as condições cromatográficas desenvolvidas por Panfili et al. (2004), com modificações: sistema CLAE, detector de arranjo de diodos (DAD) com detecção a 450 nm; coluna cromatográfica Phenomenex Luna Si100 (250 mm x 4 mm, 5 µm) acoplada a coluna de guarda Phenomenex Si100 (4 mm x 3 mm); fase móvel composta por hexano: isopropanol (95:5, v/v); eluição isocrática; fluxo da fase móvel de 1,3 mL/min, tempo de corrida de 13 min.

5.5.5 Extração e Análise de Flavonoides

Para a extração, 1 g de farinha de sorgo foi adicionado de 10 mL de metanol/HCl a 1% (v:v) e agitado em banho metabólico MA231 (Marconi, Brasil) por 2 h, a 180 rpm. Em seguida, a suspensão foi centrifugada (centrífuga FANEM, Excelsa Baby II, Brasil) a 2790 g, por 5 min, sendo o sobrenadante coletado e seu volume completado para 20 mL com metanol acidificado. Posteriormente, o extrato foi acondicionado em frasco âmbar e

armazenado em freezer ($-18 \pm 1^\circ\text{C}$) até análise (DYKES et al., 2009), a qual ocorreu em até 2 h.

A concentração dos flavonoides (3-DXAs, flavonas e flavanonas) foi analisada simultaneamente nos grãos de sorgo por CLAE. O método proposto por Yang et al. (2012) e modificado por Cardoso et al. (2014) foi utilizado para identificar e quantificar as 3-DXAs (luteolinidina, apigeninidina, 7-metoxi-apigeninidina e 5-metoxi-luteolinidina), flavonas (luteolina e apigenina) e flavanonas (naringenina e eriodictiol) do sorgo. As análises foram realizadas em um sistema CLAE (Shimadzu, SCL 10AT VP, Japão) equipado com detector de arranjos de diodos (DAD) (Shimadzu, SPD-M10A, Japão), bomba quaternária para gradiente de alta pressão (Shimadzu, LC-10AT VP, Japão), auto-injetor com loop de 500 μL (Shimadzu, SIL-10AF, Japão), e sistema de degasamento da fase móvel com gás hélio (Shimadzu, DGU-2 A, Japão).

As condições cromatográficas utilizadas incluíram: coluna C-18 Kinetex (150 mm x 4,6 mm, 5 μm) equipada com coluna de guarda C-18 (4 mm x 3 mm) (Phenomenex, Torrance, CA), temperatura da coluna a 35 $^\circ\text{C}$, volume de injeção de 15 μL , varredura do espectro de 200 a 700 nm com detecção a 480 nm para 3-desoxiantocianidinas, 360 nm para flavonas e 280 nm para flavanonas. A fase móvel foi composta de 2% de ácido fórmico em água ultrapura (linha A) e 2% de ácido fórmico em acetonitrila (linha B). O gradiente de eluição para B foi o seguinte: 0-3 min, 10% isocrático; 3-4 min, 10-12%; 4-5 min, 12% isocrático; 5-8 min, 12-18%; 8-10 min, 18% isocrático; 10-12 min, 18-19%; 12-14 min, 19% isocrático; 14-18 min, 19-21%; 18-22 min, 21-26%; 22-28 min, 26-28%; 28-32 min, 28-40%; 32-34 min, 40-60%; 34-36 min, 60% isocrático; 36-38 min, 60-10%; 38-45 min, 10% isocrático. A fase móvel foi degaseificada com gás hélio (50 kPa) durante as corridas e utilizando o seguinte gradiente de fluxo: 0-36 min, 1,0 mL/min; 36-38 min, 1,0-2,0 mL/min; 38-44 min, 1,0 mL/min; 44-45 min, 1,0-2,0 mL/min.

5.5.6 Identificação e Quantificação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides

Todos os compostos foram identificados por co-cromatografia e pela comparação do tempo de retenção dos padrões comerciais autênticos com os

componentes de interesse nas amostras. Além disso, os carotenoides e os flavonoides foram identificados pela comparação entre os espectros de absorção dos padrões e picos de interesse nas amostras.

Os compostos foram quantificados utilizando-se curvas analíticas construídas a partir da injeção, em duplicata, de seis diferentes concentrações de soluções padrão. A 5-metoxi-luteolinidina (5-MeO-LUT) e 7-metoxi-apigeninidina (7-MeO-AP) foram quantificadas utilizando padrões de luteolinidina (LUT) e apigeninidina (API), respectivamente, ajustados em função do peso molecular dos compostos de interesse (DYKES et al., 2009).

As concentrações totais de tiamina (tiamina + tiamina monofosfato + tiamina pirofosfato), riboflavina (riboflavina + flavina adenina dinucleotídeo + flavina mononucleotídeo) e piridoxina (piridoxol + piridoxal + piridoxamina) foram expressas em mg/100g de sorgo (base úmida e seca). As concentrações totais de carotenoides (luteína + zeaxantina) e vitamina E (α , β , γ e δ tocoferóis e tocotrienóis) e seus componentes isolados foram expressos em $\mu\text{g}/100\text{g}$ (base úmida e seca). A concentração total de flavonoides (DXAs: luteolinidina, apigeninidina, 5-metoxi-luteolinidina e 7-metoxi-apigeninidina; flavonas: luteolina e apigenina; e flavanonas: eriodictiol e naringenina) e de seus componentes isolados foi expressa em $\mu\text{g}/\text{g}$ de amostra (base úmida e seca).

O equivalente de α -tocoferol foi calculado utilizando a equação: (α -tocoferol \times 1,0) + (β -tocoferol \times 0,5) + (γ -tocoferol \times 0,1) + (δ -tocoferol \times 0,03) + (α -tocotrienol \times 0,3) + (β -tocotrienol \times 0,05) (U. S. Institute of Medicine, 2000).

5.6 Validação das Metodologias

Foram realizados testes para validação das metodologias utilizadas para as análises de tiamina, riboflavina e piridoxina.

As demais metodologias utilizadas para análise de carotenoides, vitamina E e flavonoides foram previamente validadas para análise de sorgo (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 1976; PANFILI et al., 2004; DYKES et al., 2009; PINHEIRO-SANT'ANA et al., 2011; YANG et al., 2012; CARDOSO et al., 2014).

5.6.1 Recuperação

Os testes de recuperação das vitaminas foram realizados por meio da adição dos padrões às amostras na proporção de 20 a 100% da concentração média original observada. As porcentagens de recuperação foram obtidas a partir da seguinte equação:

$$R = [Q(O+S) - Q(O) / Q(S)] \times 100$$

Onde:

R: porcentagem de recuperação;

Q(O+S): concentração de vitamina na amostra adicionada de padrão;

Q(O): concentração de vitamina na amostra;

Q(S): peso do padrão adicionado à amostra.

5.6.2 Linearidade

A faixa de linearidade foi determinada pela injeção, em duplicata, de seis concentrações crescentes das soluções padrão, utilizando-se as mesmas condições cromatográficas empregadas para análise das amostras. Os dados obtidos para as áreas dos picos foram utilizados para análise de regressão linear (LANÇAS, 2004).

5.6.3 Limites de Detecção e Quantificação

O limite de detecção (LD) foi determinado por meio de diluições sucessivas dos padrões de tiamina, riboflavina e piridoxina, seguida da determinação da menor quantidade detectável, como sendo três vezes o valor médio da amplitude do ruído da linha de base ($S/R \geq 3$). O limite de quantificação (LQ) foi considerado como sendo 10 vezes o LD (CATHARINO et al., 2006).

5.7 Cálculo da Retenção Verdadeira dos Compostos Bioativos

A retenção verdadeira das vitaminas, carotenoides e flavonoides foi avaliada nos grãos de sorgo submetidos aos diferentes tipos de processamentos, por meio do cálculo da porcentagem de retenção real (% RR) utilizando a equação de Murphy et al. (1975):

$$\% \text{ RR} = \frac{\text{concentração do composto no grão processado} \times \text{peso (g) do grão processado}}{\text{concentração do composto no grão antes do processamento} \times \text{peso (g) do grão antes do processamento}} \times 100$$

5.8 Cálculo da Estimativa do Potencial de Contribuição do Sorgo para o Atendimento das Recomendações Nutricionais

De acordo com Phillippi (2008), os alimentos podem ser considerados como “fonte”, “boa fonte” ou “excelente fonte” de nutrientes. Se este alimento suprir de 5 a 10% das Dietary Reference Intake (DRI), ele pode ser considerado como “fonte” do nutriente; se suprir de 10 a 20% da DRI, pode ser considerado “boa fonte” do nutriente; e se supri mais de 20% da DRI, pode ser considerado “excelente fonte” do nutriente.

6 RESULTADOS

6.1 Artigo 1: Alterações na Estabilidade de Vitaminas do Complexo B, Vitamina E, Carotenoides e Flavonoides Durante a Germinação e Maceração de Sorgo (*Sorghum bicolor* L.)

RESUMO

A estabilidade de vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e piridoxina), vitamina E (α , β , γ e δ tocoferóis e tocotrienóis), carotenoides (luteína e zeaxantina) e flavonoides (3-desoxiantocianidinas-3-DXAs, flavonas e flavanonas) foi avaliada em grãos de sorgo submetidos à maceração (grãos crus submersos em água destilada, proporção 1:5 p/v por 20 horas) e à germinação (grãos macerados, temperatura ambiente por 72 horas). As análises de vitaminas do complexo B e vitamina E foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)-fluorescência e as análises de carotenoides e flavonoides foram feitas por CLAE-DAD (detecção por arranjo de diodos). As concentrações médias obtidas (em base fresca) foram de 0,46 mg/100g e 0,41 mg/100g para tiamina; 0,06 mg/100g e 0,18 mg/100g para riboflavina; 0,03 mg/100g e 0,04 mg/100g para piridoxina; 2462,10 μ g/100g e 1078,50 μ g/100g para vitamina E total; 35,00 μ g/100g e 27,40 μ g/100g para total de carotenoides; 55,13 μ g/100g e 52,86 μ g/100g para 3-DXAs; 105,85 μ g/100g e 11,45 μ g/100g para flavonas; 356,62 μ g/100g e 100,27 μ g/100g para flavanonas em sorgo macerado e germinado, respectivamente. A maceração e a germinação reduziram pela metade ou a níveis muito baixos as concentrações de tiamina e piridoxina (retenções de 3,8 – 50,2%). A concentração de riboflavina não foi afetada pela maceração e aumentou com a germinação ($p < 0,05$). A concentração de vitamina E total não foi influenciada pela maceração ($p > 0,05$), sendo que a germinação reduziu a concentração total desta vitamina ($p < 0,05$). A concentração de carotenoides não foi afetada pelos processamentos, quando comparada ao controle ($p > 0,05$). As 3-DXAs foram sensíveis à maceração e germinação (retenções de 69,6 e 69,9%, respectivamente). A concentração de flavonas não foi influenciada pela maceração e reduziu com a germinação ($p < 0,05$). A concentração de

flavanonas aumentou nos grãos macerados e reduziu nos grãos germinados ($p < 0,05$). O sorgo macerado foi classificado como excelente fonte de tiamina e vitamina E, além de ser fonte de riboflavina, enquanto que o sorgo germinado foi classificado como excelente fonte de tiamina, boa fonte de riboflavina e fonte de vitamina E. Nossos resultados indicam que após germinação e, especialmente, após a maceração, o sorgo apresenta importante valor nutricional e funcional. Nossos resultados sugerem que a sua ingestão principalmente na forma macerada deve ser estimulada, uma vez que as concentrações de riboflavina, vitamina E total e flavonas totais não foram alteradas com a utilização desta forma de processamento.

Palavras chave: Tiamina; riboflavina; piridoxina; vitamina E; 3-DXAs; flavonas; flavanonas.

COMPOSTOS QUÍMICOS ESTUDADOS NESTE ARTIGO

Tiamina (PubChem CID: 1130); riboflavina (PubChem CID: 493570); piridoxina (PubChem CID: 1054); α -tocoferol (PubChem CID: 14985); β -tocoferol (PubChem CID: 6857447); γ -tocoferol (PubChem CID: 92729); δ -tocoferol (PubChem CID: 92094); α -tocotrienol (PubChem CID: 5282347); β -tocotrienol (PubChem CID: 5282348); γ -tocotrienol (PubChemCID: 5282349); δ -tocotrienol (PubChem CID: 5282350); luteína (PubChem CID: 5281243); zeaxantina (PubChem CID: 53477763); luteolinidina (PubChem CID: 441701); 5-metoxi-luteolinidina (PubChem CID: não disponível); Apigeninidina (PubChem CID: 159360); 7-metoxi-apigeninidina (PubChem CID: não disponível); Luteolina (PubChem CID: 5280445); Apigenina (PubChem CID: 159360); Naringenina (PubChem CID: 932); Eriodictiol (PubChem CID: 440735).

1 INTRODUÇÃO

O paradigma de dieta saudável tem evoluído e o consumo de alimentos com elevado valor nutricional e funcional tem sido enfatizado (SARKAR, 2007). O interesse pelo sorgo (*Sorghum bicolor* L.) na alimentação humana tem aumentado em diversos países do mundo devido às suas vantagens agrônomicas (tolerância à seca, alto rendimento e baixo custo de produção) e

seu potencial para beneficiar a saúde humana (propriedades anticâncer, anti-inflamatória, antidiabetes, antirradical, redução do risco para doenças cardiovasculares e modulação da microbiota intestinal) (CARDOSO et al., 2017).

O sorgo se destaca perante aos demais cereais devido a sua elevada atividade antioxidante. Esta atividade antioxidante pode ser atribuída principalmente aos seus compostos fenólicos (taninos; antocianinas; flavonas e flavanonas), vitaminas, especialmente, a vitamina E, carotenoides e outros compostos antioxidantes presentes no grão (AWIKA e ROONEY, 2004; CARDOSO et al., 2017).

Os fatores genéticos e ambientais (solo e clima) determinam o perfil de compostos fenólicos e vitaminas do sorgo (CHUNG et al., 2013). No entanto, antes do consumo, este cereal necessita ser submetido a processamentos, os quais podem modificar seu perfil antioxidante, incluindo os flavonoides, carotenoides e vitaminas presentes no grão (OCHANDA et al., 2010; AFIFY et al., 2012).

O sorgo é utilizado na alimentação humana na forma de grão íntegro ou farinha. No entanto, antes de ser consumido, o sorgo necessita ser processado e, ou submetido a diferentes técnicas de cocção e, ou preparo. Devido à sua semelhança com outros cereais, as técnicas utilizadas para o processamento do milho e do trigo também podem ser aplicadas para obtenção de produtos alimentícios à base de sorgo, com destaque para a maceração, germinação e fermentação (SCHOBER et al., 2005; DICKO et al., 2006; CIACCI et al., 2007). A variedade de processamentos que podem ser aplicados ao sorgo é importante, uma vez que permite a elaboração de várias formas de preparação deste cereal, visando aumentar a sua ingestão.

Estudos retratam o impacto dos processamentos mais utilizados sobre o valor nutricional do sorgo em países da África e Ásia, como a maceração e germinação, têm sido realizados. A maceração consiste na manutenção do grão de cereal em condições controladas (variáveis temperatura e umidade), com o objetivo de promover o desenvolvimento de enzimas hidrolíticas que não estão presentes no grão *in natura*. Essas enzimas são importantes para o processo de fabricação de malte, por exemplo. A germinação consiste no

crescimento externo das partes de gêmula e radícula do grão até que enzimas apropriadas sejam produzidas em quantidades adequadas, também para a produção de malte (PALMER, 1989; THONART, 2013).

Os estudos que avaliaram estes processamentos analisaram a composição de macronutrientes (AFIFY et al., 2012), digestibilidade de proteínas (TAYLOR et al., 2011; AFIFY et al., 2012), fatores antinutricionais (TAYLOR et al., 2011; AFIFY et al., 2012) e concentração de minerais no sorgo (LESTIENNE et al., 2004). Assim, o conhecimento sobre o impacto destes processamentos na concentração de vitaminas (principalmente do complexo B), carotenoides e compostos bioativos, incluindo os flavonoides, precisa ser avaliada.

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade de vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e piridoxina), vitamina E (α , β , γ e δ tocoferóis e tocotrienóis), carotenoides (luteína e zeaxantina) e flavonoides (3-DXAs, flavonas e flavanonas) em grãos de sorgo submetidos à maceração e à germinação, além de avaliar o potencial de contribuição do sorgo após os processamentos para o atendimento das recomendações de vitaminas para adultos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Matéria-Prima

Foram utilizados grãos de sorgo do genótipo BRS 330 pertencente a um painel de linhagens da EMBRAPA Milho e Sorgo. O plantio foi realizado no campo experimental da EMBRAPA Milho e Sorgo, localizado em Nova Porteirinha, MG. Após colhidos, os grãos foram encaminhados para a EMBRAPA Milho e Sorgo (Sete Lagoas, MG, Brasil), onde foram triados e, posteriormente, armazenados em câmara fria (10 ± 2 °C) até o transporte para o Departamento de Nutrição e Saúde (DNS) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

2.2 Padrões e Reagentes

Os padrões de vitaminas do complexo B (hidroclorato de tiamina, riboflavina e hidroclorato de piridoxina), carotenoides (luteína e zeaxantina) e flavonoides (3-desoxiantocianidinas: cloreto de luteolinidina e cloreto de apigeninidina; flavonas: luteolina e apigenina, e flavanonas: naringenina e eriodictiol) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Os padrões de vitamina E (α , β , γ e δ -tocoferóis e tocotrienóis) foram obtidos da Calbiochem (EMD Biosciences, Inc., EUA).

Reagentes grau analítico (VETEC, São Paulo, Brasil) foram utilizados para extração das vitaminas, carotenoides e flavonoides. A claradiastase foi adquirida da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Para análise, foram utilizados reagentes grau HPLC (metanol, acetonitrila, ácido fórmico, acetato de etila, acetona, hexano, isopropanol, ácido acético glacial) obtidos da Tedia (São Paulo, Brasil) e grau analítico (acetato de sódio e heptanossulfonato de sódio), obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA).

2.3 Processamento dos Grãos de Sorgo

Os grãos integrais de sorgo foram submetidos a diferentes processamentos, conforme descritos a seguir:

1) *Controle*: 150 g de grãos *in natura* foram moídos em moinho analítico micro-rotor de facas (MA 090, Marconi, São Paulo, Brasil), obtendo-se uma farinha com granulometria média de 850 μm ;

2) *Maceração*: 150 g de grãos *in natura* foram imersos em água destilada, na proporção 1:5 p/v, por 20 h. A água de maceração foi substituída duas vezes durante o período de imersão e descartada ao final deste (AFIFY *et al.*, 2012);

3) *Germinação*: 150 g de grãos macerados como descrito anteriormente foram germinados em placas de Petri cobertas com filtro de papel umedecido, em temperatura ambiente ($\pm 23\text{ }^{\circ}\text{C}$), por 72 h. Os grãos foram umedecidos com água duas vezes ao dia (AFIFY *et al.*, 2012).

Para o armazenamento, os grãos macerados e germinados foram secos em estufa com circulação forçada de ar ($50\text{ }^{\circ}\text{C}$, 24 h) até umidade inferior a

15% (BRASIL, 1996) e, em seguida, moídos em um moinho analítico micro-rotor de facas (MA 090, Marconi, São Paulo, Brasil), obtendo-se uma farinha com granulometria média de 850 μm .

As farinhas de todos os processamentos foram acondicionadas em sacos plásticos de polietileno recobertos com papel alumínio e armazenadas em freezer (-20 ± 1 °C) até a conclusão das análises, que ocorreu em, no máximo, 30 dias.

2.4 Determinação da Umidade

A umidade das farinhas obtidas dos grãos *in natura* e dos grãos processados foi determinada por gravimetria, após secagem em estufa (Nova Etica, 4000, São Paulo, Brasil) a 105 °C, até atingir peso constante (AOAC, 2005).

2.5 Determinação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides

Os tratamentos e as análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Vitaminas do DNS/UFV, em 4 repetições, que foram obtidas a partir dos tratamentos. Durante a extração e a análise, as amostras e os extratos foram protegidos da luz solar e artificial pela utilização de vidrarias âmbar, papel alumínio e cortinas do tipo *blackout*, e protegidos do oxigênio por meio do acondicionamento em frasco âmbar com tampa, com ambiente com gás nitrogênio.

2.5.1 Extração e Análise de Tiamina e Riboflavina

A tiamina total (tiamina, tiamina monofosfato e tiamina pirofosfato) e a riboflavina total (riboflavina, flavina adenina dinucleotídeo e flavina mononucleotídeo) foram extraídas simultaneamente baseadas nos métodos propostos por Ndaw et al. (2000) e Arella et al. (1996).

As análises de riboflavina e tiamina foram realizadas em corridas individuais, utilizando as condições desenvolvidas por Arella et al. (1996), com modificações: sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detecção por fluorescência (excitação em 366 nm e emissão em 435 nm para

tiocromo e excitação em 422 nm e emissão em 522 nm para riboflavina); coluna cromatográfica RP-18 Phenomenex Gemini (250 mm x 4,6 mm, 5 μ m) acoplada a coluna de guarda Phenomenex ODS C18 (4 mm x 3 mm); fase móvel composta por metanol: solução de acetato de sódio 6,25 mM e ácido heptanosulfônico 2,5 mM (30:70, v/v); eluição isocrática; fluxo da fase móvel de 0,9 e 1,2 mL/min para tiamina e riboflavina, respectivamente; tempo de corrida de 13 e 14 minutos para tiamina e riboflavina, respectivamente.

2.5.2 Extração e Análise de Piridoxina

A piridoxina total (piridoxol, piridoxal e piridoxamina) foi extraída de acordo com o método proposto por Ndaw et al. (2000) e analisada utilizando as condições desenvolvidas por Bergaentzlé et al. (1995).

2.5.3 Extração e Análise de Vitamina E

A extração e análise dos componentes da vitamina E (α , β , γ e δ -tocoferóis e tocotrienóis) foram realizados de acordo com Pinheiro-Sant'Ana et al. (2011), com algumas modificações.

2.5.4 Extração e Análise de Carotenoides

Os carotenoides (luteína e zeaxantina) foram extraídos de acordo com Rodriguez-Amaya *et al.* (1976), com modificações, e analisados segundo Panfili et al. (2004).

2.5.5 Extração e Análise de Flavonoides

Os flavonoides foram extraídos e analisados simultaneamente, utilizando-se as metodologias propostas por Dykes et al. (2009) e Yang et al. (2012), respectivamente.

2.5.6 Identificação e Quantificação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides

Todos os compostos foram identificados por co-cromatografia e pela comparação do tempo de retenção dos padrões comerciais autênticos com os componentes de interesse nas amostras. Além disso, os carotenoides e os

flavonoides foram identificados pela comparação entre os espectros de absorção dos padrões e picos de interesse nas amostras, utilizando o DAD.

Os compostos foram quantificados utilizando-se curvas analíticas construídas a partir da injeção, em duplicata, de seis diferentes concentrações de soluções padrão (Tabela 1). A 5-metoxi-luteolinidina (5-MeO-LUT) e 7-metoxi-apigeninidina (7-MeO-AP) foram quantificadas utilizando padrões de luteolinidina (LUT) e apigeninidina (API), respectivamente, ajustados em função do peso molecular dos compostos de interesse (DYKES et al., 2009).

As concentrações totais de tiamina (tiamina + tiamina monofosfato + tiamina pirofosfato), riboflavina (riboflavina + flavina adenina dinucleotídeo + flavina mononucleotídeo) e piridoxina (piridoxol + piridoxal + piridoxamina) foram expressas em mg/100g de sorgo (base úmida e seca). As concentrações totais de carotenoides (luteína + zeaxantina) e vitamina E (α , β , γ e δ tocoferóis e tocotrienóis) e seus componentes isolados foram expressos em $\mu\text{g}/100\text{g}$ (base úmida e seca). A concentração total de flavonoides (DXAs: luteolinidina, apigeninidina, 5-metoxi-luteolinidina e 7-metoxi-apigeninidina; flavonas: luteolina e apigenina; e flavanonas: eriodictiol e naringenina) e de seus componentes isolados foi expressa em $\mu\text{g}/\text{g}$ de amostra (base úmida e seca).

O equivalente de α -tocoferol foi calculado utilizando a equação: (α -tocoferol \times 1,0) + (β -tocoferol \times 0,5) + (γ -tocoferol \times 0,1) + (δ -tocoferol \times 0,03) + (α -tocotrienol \times 0,3) + (β -tocotrienol \times 0,05) (U. S. Institute of Medicine, 2000).

2.6 Validação das Metodologias

Foram realizados testes para validação das metodologias utilizadas para as análises de tiamina, riboflavina e piridoxina (Tabela 1).

As demais metodologias utilizadas para análise de carotenoides, vitamina E e flavonoides foram previamente validadas para análise de sorgo (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 1976; PANFILI et al., 2004; DYKES et al., 2009; PINHEIRO-SANT'ANA et al., 2011; YANG et al., 2012; CARDOSO et al., 2014).

2.6.1 Recuperação

Os testes de recuperação das vitaminas foram realizados por meio da adição dos padrões às amostras na proporção de 20 a 100% da concentração

média original observada. As porcentagens de recuperação foram obtidas a partir da seguinte equação:

$$R = [Q(O+S) - Q(O) / Q(S)] \times 100$$

Onde:

R: porcentagem de recuperação;

Q(O+S): concentração de vitamina na amostra adicionada de padrão;

Q(O): concentração de vitamina na amostra;

Q(S): peso do padrão adicionado à amostra.

2.6.2 Linearidade

A faixa de linearidade foi determinada pela injeção, em duplicata, de seis concentrações crescentes das soluções padrão, utilizando-se as mesmas condições cromatográficas empregadas para análise das amostras. Os dados obtidos para as áreas dos picos foram utilizados para análise de regressão linear (LANÇAS, 2004) (Tabela 1).

2.6.3 Limites de Detecção e Quantificação

O limite de detecção (LD) foi determinado por meio de diluições sucessivas dos padrões de tiamina, riboflavina e piridoxina, seguida da determinação da menor quantidade detectável, como sendo três vezes o valor médio da amplitude do ruído da linha de base ($S/R \geq 3$). O limite de quantificação (LQ) foi considerado como sendo 10 vezes o LD (CATHARINO et al., 2006).

2.7 Cálculo da Retenção Verdadeira dos Compostos Bioativos

A retenção verdadeira das vitaminas, carotenoides e flavonoides foi avaliada nos grãos de sorgo submetidos aos diferentes tipos de processamentos, por meio do cálculo da porcentagem de retenção real (% RR), utilizando a equação de Murphy et al. (1975).

2.8 Cálculo da Estimativa do Potencial de Contribuição do Sorgo para o Atendimento das Recomendações Nutricionais

De acordo com Phillippi (2008), os alimentos podem ser considerados como “fonte”, “boa fonte” ou “excelente fonte” de nutrientes. Se este alimento suprir de 5 a 10% das Dietary Reference Intake (DRI), ele pode ser considerado como “fonte” do nutriente; se suprir de 10 a 20% da DRI, pode ser considerado “boa fonte” do nutriente; e se supri mais de 20% da DRI, pode ser considerado “excelente fonte” do nutriente.

2.9 Delineamento Experimental e Análise Estatística dos Dados

Os dados da concentração de nutrientes e de compostos bioativos do sorgo foram avaliados utilizando o delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições. Os dados foram avaliados quanto à normalidade utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Em seguida, foram submetidos à One-Way ANOVA. Quando necessário, as médias dos dados foram submetidos ao teste de Duncan para a comparação múltipla de médias. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa SPSS, adotando-se um nível de significância (α) de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Validação dos Métodos para Análise de Vitaminas do Complexo B

As porcentagens de recuperação para tiamina, riboflavina e piridoxina foram, em média: 114,6%; 92,1% e 99,3%, respectivamente (Tabela 2). Estes valores foram considerados como percentuais adequados de retenção e refletiram ótima eficiência dos processos de extração (processo adequado de limpeza nas etapas de extração, baixos níveis de perdas de compostos durante sua extração e baixo nível de erros).

De forma similar, os coeficientes de linearidade obtidos se mostraram excelentes e refletiram ótima linearidade dos dados, uma vez que foram muito próximos ao valor de 1. Já os limites de detecção e quantificação apresentaram valores muito baixos, o que indica uma maior sensibilidade dos métodos

utilizados para a quantificação de compostos presentes em pequenas quantidades nas matrizes alimentares.

3.2 Vitaminas do Complexo B

As três vitaminas do complexo B analisadas em nosso estudo foram identificadas nas amostras de sorgo não submetidas ao processamento (amostras controle) (Figura 1, Tabela 3). A concentração de riboflavina total foi similar, a de piridoxina inferior e a de tiamina duas vezes maior que a observada em outros genótipos de sorgo (0,06 mg/100g; 0,33 mg/100g; e 0,33 mg/100g, respectivamente) (U.S. Department of Agriculture, 2016). A divergência entre os resultados obtidos e os relatados na literatura pode ser decorrente da variabilidade genética e de condições de cultivo (Ex: solo e clima), as quais podem afetar a concentração e o perfil de vitaminas em sorgo (OCHANDA et al., 2010).

A maceração aumentou a concentração de riboflavina nos grãos em 40% quando comparada ao controle ($p < 0,05$). Este aumento foi similar ao verificado por outros autores em sorgo macerado por três dias (aumento de 44,2% a 82%) (MALLESCHI e KLOPFENSTEIN, 1998; OCHANDA et al., 2010). Durante a maceração, verifica-se o início da germinação, o que resulta em transformações bioquímicas, texturais e fisiológicas nos grãos, incluindo a síntese de algumas vitaminas do complexo B, como a riboflavina (CHAVAN et al., 1989; OCHANDA et al., 2010). Em contrapartida, a concentração de tiamina total e de piridoxina total reduziram (retenções de 60,8 e 30,1%, respectivamente) após a maceração ($p < 0,05$), possivelmente, devido a lixiviação destes compostos na água (AFIFY et al., 2012). Alguns autores relataram que a maceração do sorgo reduziu ou não afetou a concentração de ambas as vitaminas (MALLESCHI e KLOPFENSTEIN, 1998; OCHANDA et al., 2010).

Frente a este comportamento diferenciado das vitaminas do complexo B, sugere-se que também tenham ocorrido perdas nas concentrações de riboflavina após a maceração, mas estas perdas não foram significativas a ponto de serem menores que as concentrações do sorgo controle (uma vez que sua concentração no sorgo macerado ainda foi maior que a do grão cru).

Com isso, sugere-se que tenha havido uma maior síntese de riboflavina pelos grãos de sorgo durante o processo de germinação, quando comparada às demais vitaminas do complexo B.

Após a germinação, apenas a concentração de riboflavina aumentou significativamente quando comparada ao controle. Este resultado foi compatível com o relatado por outros autores, que observaram aumento da concentração de riboflavina e ausência de alterações na concentração de outras vitaminas do complexo B (OCHANDA et al., 2010). Os grãos germinados apresentaram um aumento de, no mínimo, 70% na retenção de riboflavina e piridoxina em relação aos macerados, o que corrobora com a possível síntese destas vitaminas durante a germinação verificada por Chavan et al. (1989).

3.3 Vitamina E

A concentração de vitamina E no sorgo controle variou dentro da faixa relatada na literatura (AFIFY et al., 2012; CARDOSO et al., 2014;) (Figura 1, Tabela 4). O sorgo utilizado em nosso estudo apresentou seis compostos da vitamina E, com prevalência do γ -tocotrienol (66,5% do total de vitamina E) e dos tocotrienóis em relação aos tocoferóis (razão tocoferóis/tocotrienóis = 0,23). O perfil de vitamina E verificado no presente estudo diferiu do relatado por Cardoso et al. (2014), que observaram prevalência dos tocoferóis e do γ -tocoferol em 97 genótipos de sorgo. Ressalta-se que o sorgo possui grande variabilidade genética e no perfil de vitamina E (CARDOSO et al., 2015), o que justifica essas divergências.

Poucos são os estudos disponíveis sobre a concentração e perfil da vitamina E em sorgo macerado e germinado (AFIFY et al., 2012). A concentração total desta vitamina e o equivalente de α -tocoferol no sorgo não foram alterados pela maceração ($p > 0,05$), embora este processamento tenha aumentado as concentrações de β e δ -tocoferóis e reduzido os de δ -tocotrienóis e γ -tocoferol ($p < 0,05$). Afify et al. (2012), ao avaliarem o efeito da maceração no α -tocoferol de sorgo, verificaram redução da concentração deste composto, o que difere do presente estudo, no qual verificou-se a manutenção. Ao final da maceração, os grãos apresentaram maior concentração de

equivalentes de α -tocoferol, o que resulta em um aumento do potencial do grão para suprir as necessidades nutricionais de vitamina de um indivíduo.

A germinação reduziu a concentração total de vitamina E, tocotrienóis (α , γ e δ -tocotrienóis) e γ -tocoferol, porém, aumentou a de β -tocoferol e β -tocotrienol ($p < 0,05$). O aumento na concentração de vitamina E total e de seus compostos foi observado após a germinação de arroz (NG et al., 2013). Deve-se destacar que o arroz possui características químicas e metabólicas diferentes daquelas do sorgo, o que pode justificar o comportamento diferenciado durante a germinação. Os mecanismos envolvidos na alteração da concentração e perfil de vitamina E em sorgo durante a germinação são pouco conhecidos. No entanto, é possível que, apesar de não ter influenciado a concentração total de vitamina E, tenha ocorrido a síntese de alguns de seus compostos, visando suprir as necessidades de nutrientes durante o desenvolvimento do grão (CHAVAN et al., 1989).

3.4 Carotenoides

A concentração e o perfil de carotenoides (luteína e zeaxantina) no sorgo foram semelhantes ao observado por outros autores (CARDOSO et al., 2014). Ambos os processamentos não afetaram a concentração total e o perfil de carotenoides no grão ($p > 0,05$).

Estudos sobre as concentrações de luteína e de zeaxantina em grãos de sorgo macerados e germinados ainda são escassos e necessitam ser objeto de estudos futuros. Embora não tenham avaliado os efeitos da maceração na concentração de luteína e zeaxantina do sorgo, os quais são os carotenoides mais prevalentes neste cereal, diferente do nosso estudo, Afify et al. (2012) verificaram que a maceração reduziu a concentração de β -caroteno em três variedades de sorgo. Porém, similar a este estudo, outros autores também não verificaram alteração na concentração de luteína e zeaxantina em grãos de milho macerados (LI et al., 2007).

O comportamento dos carotenoides durante a germinação parecem divergir em função do composto e do tipo de cereal analisado. Em um estudo com sorgo, Chavan et al. (1989) verificaram aumento da concentração de provitamina A. Diferente do presente estudo, Yang (2001) verificaram aumento

da concentração de carotenoides durante a germinação de grãos de trigo, sendo este aumento proporcional ao tempo de germinação dos grãos. Além dos fatores supracitados, também podem contribuir para a variabilidade dos resultados as características das técnicas de maceração e de germinação de grãos, tais como tempo de imersão em água, tempo de germinação, temperatura e proporção água: cereal. Além disso, os carotenoides são compostos lipossolúveis, o que dificultaria suas possíveis perdas somente pelo processo de imersão em água (maceração).

3.5 Flavonoides

3.5.1 3-Desoxiantocianidinas

Os grãos controle apresentaram as 3-DXAs pesquisadas (Figura 1 e Tabela 5), com prevalência da LUT e 5-MeO-LUT (26,7% e 29,4% do total de 3-DXAs, respectivamente). O total de 3-DXAs dos grãos crus representou 61,8% do total de flavonoides (3-DXAs, flavonas e flavanonas). Estes resultados foram similares aos observados por outros autores (CARDOSO et al., 2015).

Ambos os processamentos reduziram a concentração total de 3-DXAs e de suas formas de 11,7 a 43,7%, quando comparados ao controle ($p < 0,05$). Após a maceração, a LUT e a 5-MeO-LUT se mantiveram como as 3-DXAs majoritárias. A redução do total de 3-DXAs em grãos de sorgo após a germinação também foi verificada por Dicko et al. (2005), quando determinada por espectrometria. Além disso, Afify et al. (2012), ao analisarem três variedades de sorgo branco macerados, também verificaram redução nas concentrações de flavonoides, sendo que as 3-DXAs apresentaram perdas de 21,9 a 28,3%.

De forma geral, a redução na concentração das formas de 3-DXAs ocorreu de maneira equânime. Porém, após a germinação do grão, verificou-se redução da concentração da LUT e 5-MeO-LUT e aumento da API e 5-MeO-API, quando comparado aos grãos macerados. Especificamente neste estudo, deve-se considerar a possibilidade da conversão de formas derivadas da luteolinidina em formas derivadas da apigeninidina, bem como síntese e

degradação destes compostos de maneira independente (CARDOSO et al., 2015).

Os mecanismos envolvidos nas alterações no perfil de 3-DXAs durante a maceração e germinação do sorgo são pouco conhecidos e, portanto, necessitam ser estudados. Vários mecanismos têm sido propostos para explicar estes efeitos da maltagem, o qual inclui uma etapa de maceração seguida de germinação, em compostos fenólicos. A lixiviação de compostos fenólicos durante a maceração e a germinação de cereais tem sido proposta como um dos principais motivos para a redução dos compostos fenólicos (CHAVAN et al., 1989; AFIFY et al., 2012). O ambiente aquoso durante estes processamentos facilita a solubilização de compostos fenólicos, que subsequentemente lixiviam para a água (TAYLOR e DUODU, 2015).

Outro mecanismo proposto pelo qual a maceração e germinação de grãos podem diminuir os compostos fenólicos de sorgo é a entrada destes compostos para o endosperma junto com água embebida durante o processamento (TOWO et al., 2003). Dentro do endosperma, os compostos fenólicos podem se ligar com proteínas e outras macromoléculas (principalmente amido) e tornam-se menos extraíveis (TOWO et al., 2003).

3.5.2 Flavonas e Flavanonas

A concentração total e o perfil de flavonas observado nos grãos *in natura*, com prevalência da luteolina (Figura 1, Tabela 5) foi similar ao relatado na literatura (AFIFY et al., 2012; CARDOSO et al., 2015). A concentração total de flavonas e de suas formas isoladas não foram alterados pela maceração, o que diferiu do relatado por Afify et al. (2012), que observaram reduções destes em três variedades de sorgo. Em contrapartida, a germinação reduziu as concentrações de flavonas (retenção de 20,2%), o que também diferiu do encontrado por Dykes et al. (2009), que observaram que a germinação de diferentes variedades de sorgo não influenciou a concentração total de flavonas e de suas formas isoladas.

As flavanonas investigadas (eriodictiol e naringenina) foram identificadas nos grãos de sorgo *in natura* e processados (Figura 1 e Tabela 4), com prevalência do eriodictiol (em média, 58,8% do total). A prevalência de

eriodictiol diverge do observado por Dykes et al. (2009) e se assemelha ao relatado por Cardoso et al. (2015). Deve-se considerar que a concentração de flavanonas pode ser influenciado pela cor do pericarpo do grão, o que poderia ocasionar discrepâncias nos valores de flavanonas encontrados em diferentes variedades de sorgo (DYKES et al., 2011).

Poucos são os estudos que avaliaram os efeitos da maceração e germinação sobre as flavanonas do sorgo. A maceração manteve a concentração total de flavanonas e de suas formas isoladas, enquanto que a germinação reduziu estes compostos entre 73 e 87%. Diferente do presente estudo, reduções superiores a 45,3% no total de flavononas e de seus compostos isolados em sorgo também foram verificadas por Afify et al. (2012) em três variedades de sorgo submetidas à maceração. No que se refere à germinação, a redução da concentração de flavanonas no sorgo é compatível com a descrita por Dykes et al. (2009). Os mecanismos para alteração das concentrações de flavonas e flavanonas podem compreender a lixiviação destes compostos para a água de maceração e a migração para o interior do grão, seguida de ligação a macromoléculas, como discutido anteriormente para as 3-DXAs (TOWO et al., 2003; TAYLOR e DUODU, 2015).

3.6 Potencial de Contribuição do Sorgo Macerado e Germinado para o Atendimento das Necessidades de Vitaminas

Seguindo as DRIs para indivíduos do sexo masculino e faixa etária entre 19 e 30 anos, o sorgo macerado se apresentou como excelente fonte de tiamina e vitamina E, além de ser fonte de riboflavina. Já o sorgo germinado foi classificado como excelente fonte de tiamina, boa fonte de riboflavina e fonte de vitamina E (Tabela 6).

4 CONCLUSÃO

Os efeitos da maceração e germinação nas concentrações e estabilidade de vitaminas, carotenoides e flavonoides do sorgo foram variados. A maceração resultou na maior estabilidade de vitaminas, carotenoides e flavonoides, enquanto que, de forma geral, a germinação resultou em menores

retenções dos compostos analisados. Nossos resultados indicam que, após a germinação e, especialmente, após a maceração, o sorgo apresenta importante valor nutricional. O sorgo macerado foi classificado como excelente fonte de tiamina e vitamina E, além de ser fonte de riboflavina, enquanto que o sorgo germinado foi classificado como excelente fonte de tiamina, boa fonte de riboflavina e fonte de vitamina E. Nossos resultados sugerem que a ingestão do sorgo, principalmente na forma macerada, deve ser estimulada. No entanto, atributos sensoriais destes tratamentos não foram avaliados, o que torna este tema uma sugestão para estudos futuros.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa Milho e Sorgo (Brasil), à Fundação de Apoio à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG, Brasil), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasil) pelo suporte financeiro e concessão de bolsas de mestrado e de iniciação científica.

6 REFERÊNCIAS

AFIFY, A. E.-M. M. et al. Effect of Soaking, Cooking, Germination and Fermentation Processing on Proximate Analysis and Mineral Content of Three White Sorghum Varieties (*Sorghum bicolor* L. Moench). **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 40, n. 2, p. 92-98, 2012.

AFIFY, A. E.-M. M. R. et al. Biochemical changes in phenols, flavonoids, tannins, vitamin E, β -carotene and antioxidant activity during soaking of three white sorghum varieties. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 3, p. 203-209, 2012.

ARELLA, F. et al. Liquid chromatographic determination of vitamins B1 and B2 in foods. A collaborative study. **Food Chemistry**, v. 56, n. 1, p. 81-86, 1996.

Association of Official Analytical Chemists 2005. Official methods of analysis of the AOAC, Washington, D.C.

AWIKA, J. M.; ROONEY, L. W. Sorghum phytochemicals and their potential impact on human health. **Phytochemistry**, v. 65, n. 9, p. 1199-1221, 2004.

BERGAENTZLÉ, M. et al. Determination of vitamin B6 in foods by HPLC—a collaborative study. **Food chemistry**, v. 52, n. 1, p. 81-86, 1995.

CARDOSO, L. D. M. et al. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum (*Sorghum bicolor* L.). **Food Chemistry**, v. 152, p. 201-217, 2014.

CARDOSO, L. D. M. et al. Tocochromanols and Carotenoids in Sorghum (*Sorghum Bicolor* L.): Diversity and Stability to the Heat Treatment. **Food Chemistry**, 2014.

CARDOSO, L. D. M. et al. Phenolic compounds profile in sorghum processed by extrusion cooking and dry heat in a conventional oven. **Journal of Cereal Science**, v. 65, p. 220-226, 2015.

CARDOSO, L. D. M. et al. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. **Critical reviews in food science and nutrition**, v. 57, n. 2, p. 372-390, 2017.

CATHARINO, R. R. et al. Metodologia analítica para determinação de folatos e ácido fólico em alimentos. **Química Nova**, v. 29, p. 972-976, 2006.

CHAVAN, J. et al. Nutritional improvement of cereals by sprouting. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 28, n. 5, p. 401-437, 1989.

CHUNG, I.-M. et al. Effect of genotype and cultivation location on β -sitosterol and α -, β -, γ -, and δ -tocopherols in sorghum. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 971-976, 5, 2013.

CIACCI, C. et al. Celiac disease: in vitro and in vivo safety and palatability of wheat-free sorghum food products. **Clinical Nutrition**, v. 26, n. 6, p. 799-805, 2007.

DICKO, M. H. et al. Evaluation of the Effect of Germination on Phenolic Compounds and Antioxidant Activities in Sorghum Varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 7, p. 2581-2588, 2005.

DICKO, M. H. et al. Review: Sorghum grain as human food in Africa: relevance of starch content and amylase activities. **African Journal of Biotechnology**, v. 5, p. 384-395, 2006.

DYKES, L. et al. Flavonoid composition of lemon-yellow sorghum genotypes. **Food Chemistry**, v. 128, n. 1, p. 173-179, 2011.

DYKES, L. et al. Flavonoid composition of red sorghum genotypes. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 313-317, 2009.

KEAN, E. G. et al. Carotenoid bioaccessibility from whole grain and decorticated yellow endosperm sorghum porridge. **Journal of Cereal Science**, v. 54, n. 3, p. 450-459, 11, 2011.

LANÇAS, F. M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. 6. São Carlos: Rima, 2004.

LI, S. et al. Retention of provitamin A carotenoids in high β -carotene maize (*Zea mays*) during traditional African household processing. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 55, n. 26, p. 10744-10750, 2007.

MALLESHI, N.; KLOPFENSTEIN, C. Nutrient composition, amino acid and vitamin contents of malted sorghum, pearl millet, finger millet and their rootlets. **International journal of food sciences and nutrition**, v. 49, n. 6, p. 415-422, 1998.

MURPHY, E. W. et al. Comparisons of methods for calculating retentions of nutrients in cooked foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 23, n. 6, p. 1153-1157, 1975.

NDAW, S. et al. Extraction procedures for the liquid chromatographic determination of thiamin, riboflavin and vitamin B 6 in foodstuffs. **Food Chemistry**, v. 71, n. 1, p. 129-138, 2000.

NG, L.-T. et al. Changes of tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and γ -aminobutyric acid levels in the germinated brown rice of pigmented and nonpigmented cultivars. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 61, n. 51, p. 12604-12611, 2013.

OCHANDA, S. O. et al. Effects of malting and fermentation treatments on group B-vitamins of red sorghum, white sorghum and pearl millets in Kenya. **J. Appl. Biosci**, v. 34, p. 2128-2134, 2010.

PANFILI, G. et al. Improved Normal-Phase High-Performance Liquid Chromatography Procedure for the Determination of Carotenoids in Cereals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 6373-6377, 2004/10/01 2004.

PHILIPPI, S. T. **Pirâmide dos alimentos: fundamentos básicos da nutrição**. Barueri: Manole, 2008.

PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. et al. Method for simultaneous analysis of eight vitamin E isomers in various foods by high performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 47, p. 8496-8502, 2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. Carotenoid changes in ripening *Momordica charantia*. **Annals of Botany**, v. 40, p. 615-624, 1976.

SARKAR, S. Functional foods as self-care and complementary medicine. **Nutrition & Food Science**, v. 37, n. 3, p. 160-167, 2007.

SCHOBBER, T. J. et al. Gluten-free bread from sorghum: quality differences among hybrids. **Cereal Chemistry**, v. 82, n. 4, p. 394-404, 2005.

TAYLOR, J.; DUODU, K. G. Effects of processing sorghum and millets on their phenolic phytochemicals and the implications of this to the health-enhancing properties of sorghum and millet food and beverage products. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 95, n. 2, p. 225-237, 2015.

TOWO, E. E. et al. Effect of grain pre-treatment on different extractable phenolic groups in cereals and legumes commonly consumed in Tanzania. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 9, p. 980-986, 2003.

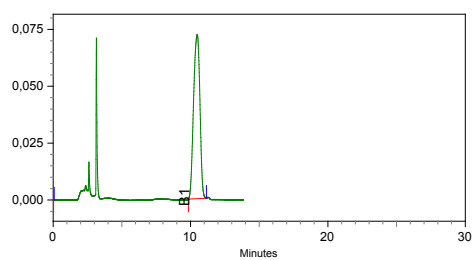
U. S. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids**. Washington, D.C.: National Academy Press, 2000.

U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, A. R. S. **USDA National Nutrient Database for Standard Reference**. 26. Washington DC: 2016. Disponível em: < <<http://www.ars.usda.gov/ba/bhncr/ndl>> >. Acesso em: 09-23-2016.

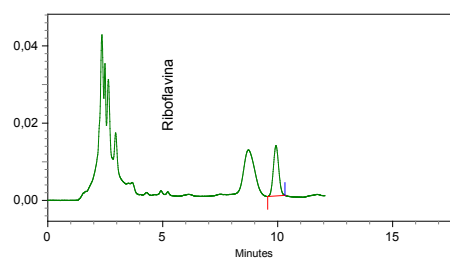
YANG, L. et al. Sorghum phenolics demonstrate estrogenic action and Induce apoptosis in nonmalignant colonocytes. **Nutrition and Cancer**, v. 64, n. 3, p. 419-427, 2012.

YANG, T. B., B. OORAIKUL, F. Studies on germination conditions and antioxidant contents of wheat grain. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 52, n. 4, p. 319-330, 2001.

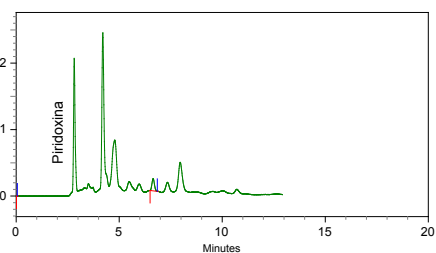
FIGURAS E TABELAS



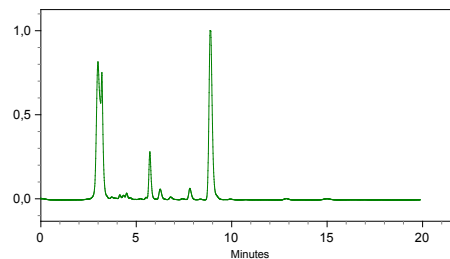
(a)



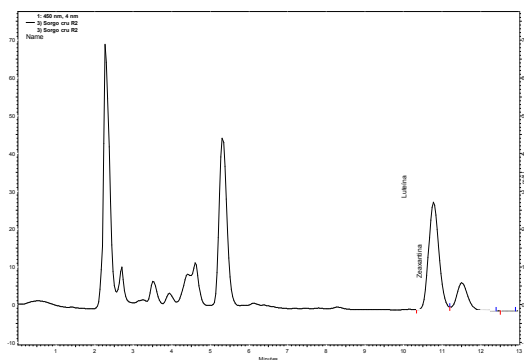
(b)



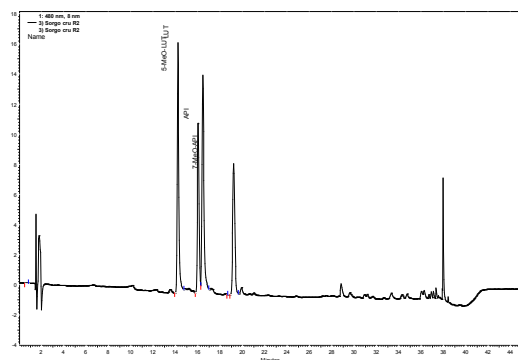
(c)



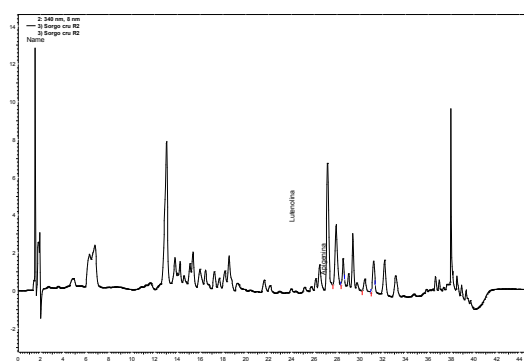
(d)



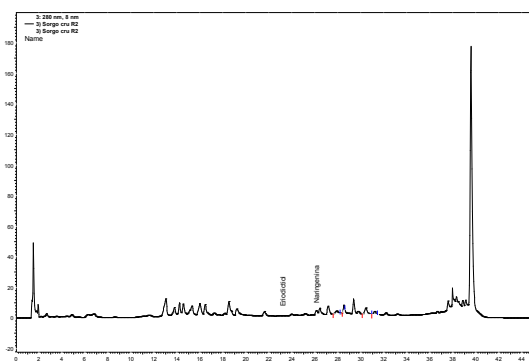
(e)



(f)



(g)



(h)

Figura 1: Cromatogramas típicos obtidos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência na análise do sorgo controle. (a) Tiamina; (b) Riboflavina; (c) Piridoxina; (d) Vitamina E; (e) Carotenoides; (f) 3-desoantocianidinas; (g) Flavonas; (h) Flavanonas.

Tabela 1: Concentração mínima e máxima dos padrões de vitaminas do complexo B para a construção de curvas analíticas, equações de regressão e seus respectivos coeficientes de regressão (R^2), obtidos para a quantificação dos compostos.

Vitamina	Concentração mínima e máxima dos padrões (ng)	Equação de regressão	R^2
Tiamina	0,08 – 4,35	$y = 2038489.93x + 108766.32$	1,00
Riboflavina	0,21 – 21,30	$y = 248925x - 26032$	1,00
Piridoxina	0,17 – 13,05	$y = 339167x - 36329$	0,9936

Tabela 2: Limites de detecção (LD), limites de quantificação (LQ) e recuperação obtidas das vitaminas.

Vitamina	LD (ng/mL)	LQ (ng/mL)	Recuperação (%)
Tiamina	0,03	0,35	114,6
Riboflavina	0,0010	0,010	92,1
Piridoxina	0,03	0,33	99,3

Tabela 3: Efeito da maceração e da germinação na concentração e retenção real (%) de vitaminas do complexo B (mg/100 g em base seca) em sorgo ^{A, B}

Vitaminas	Controle		Maceração		RR	Germinação		
	Conc. em base fresca	Conc. em base seca	Conc. em base fresca	Conc. em base seca		Conc. em base fresca	Conc. em base seca	RR
Tiamina	0,70 ± 0,04	0,79 ± 0,04 ^a	0,46 ± 0,09	0,48 ± 0,09 ^b	60,8	0,41 ± 0,05	0,45 ± 0,05 ^b	57,1
Riboflavina	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00 ^b	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,01 ^b	140,0	0,18 ± 0,06	0,19 ± 0,06 ^a	380,2
Piridoxina	0,09 ± 0,02	0,10 ± 0,02 ^a	0,03 ± 0,00	0,03 ± 0,00 ^b	30,1	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00 ^b	50,3

^A Os resultados foram expressos como a média de 4 repetições ± desvio padrão; ^B Médias seguidas da mesma letra nas linhas para concentração em base seca não são estatisticamente diferentes a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Retenção real = [(concentração do composto no grão processado x peso do grão processado) / (concentração do composto no grão antes do processamento x peso do grão antes do processamento)] x 100. Onde: Conc. = Concentração; RR = Retenção Real.

Tabela 4: Efeito da maceração e da germinação na concentração e retenção real de vitamina E ($\mu\text{g}/100\text{g}$), carotenoides ($\mu\text{g}/100\text{g}$) (%) em sorgo ^{A, B}

Vitaminas	Controle		Maceração			Germinação		
	Conc. base fresca	Conc. base seca	Conc. base fresca	Conc. base seca	RR	Conc. base fresca	Conc. base seca	RR
Vitamina E total	1950,2 \pm 179,2	2216,4 \pm 179,2 ^a	2462,1 \pm 517,8	2573,0 \pm 517,8 ^a	116,1	1078,5 \pm 77,1	1180,6 \pm 77,1 _b	53,3
<i>α-tocoferol</i>	281,8 \pm 36,5	320,3 \pm 36,5 ^a	244,0 \pm 29,6	255,0 \pm 29,6 ^a	79,6	226,5 \pm 52,8	248,0 \pm 52,8 ^a	77,4
<i>α-tocotrienol</i>	250,2 \pm 29,7	284,3 \pm 29,7 ^a	132,0 \pm 16,5	137,9 \pm 16,5 ^b	48,5	49,9 \pm 11,4	54,6 \pm 11,4 ^c	19,2
<i>β-tocoferol</i>	11,3 \pm 17,8	12,8 \pm 17,8 ^c	573,9 \pm 291,5	599,8 \pm 291,5 ^{ab}	85,9	223,8 \pm 19,2	245,0 \pm 19,2 _{bc}	1914,1
<i>γ-tocoferol</i>	81,0 \pm 16,9	92,0 \pm 16,9 ^a	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0 ^b	0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0 ^b	0,0
<i>β-tocotrienol</i>	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0 ^b	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0 ^b	0,0	89,2 \pm 16,3	97,6 \pm 16,3 ^a	0,0
<i>γ-tocotrienol</i>	1296,4 \pm 122,4	1473,4 \pm 122,4 ^a	1367,2 \pm 204,3	1428,8 \pm 204,3 ^a	96,9	475,2 \pm 29,3	520,2 \pm 29,3 ^b	35,30
<i>δ-tocoferol</i>	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0 ^b	20,2 \pm 1,4	21,1 \pm 1,4 ^a	0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0 ^b	0,0
<i>δ-tocotrienol</i>	29,6 \pm 3,3	33,6 \pm 3,3 ^a	17,9 \pm 2,7	18,7 \pm 2,7 ^b	55,7	14,6 \pm 0,7	16,0 \pm 0,7 ^b	289,5
Equiv. α -T	370,6 \pm 35,8	421,2 \pm 35,8 ^b	511,7 \pm 43,8	534,7 \pm 43,8 ^a	126,9	360,4 \pm 49,3	394,5 \pm 49,3 ^b	93,7
Carotenoides (soma)	27,2 \pm 8,4	30,9 \pm 8,4 ^a	35,0 \pm 6,9	36,6 \pm 6,9 ^b	118,8	27,4 \pm 23,0	30,0 \pm 23,0 ^a	97,0
<i>Luteína</i>	12,2 \pm 8,9	13,9 \pm 8,9 ^a	12,8 \pm 5,5	13,4 \pm 5,5 ^a	521,6	13,1 \pm 4,8	14,3 \pm 4,8 ^a	102,8
<i>Zeaxantina</i>	16,7 \pm 4,1	19,0 \pm 4,1 ^a	22,2 \pm 4,8	23,2 \pm 4,8 ^a	122,1	14,3 \pm 78,2	15,6 \pm 78,2 ^a	82,1

^A Os resultados foram expressos em base seca como a média de 4 repetições \pm desvio padrão; ^B Médias seguidas da mesma letra nas linhas não são estatisticamente diferentes a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Equiv. α -T: equivalentes de α -tocoferol. Retenção real = [(concentração do composto no grão processado x peso do grão processado) / (concentração do composto no grão antes do processamento x peso do grão antes do processamento)] x 100.

Tabela 5: Efeito da maceração e da germinação na concentração e retenção real de flavonoides ($\mu\text{g}/100\text{g}$) (%) em sorgo ^{A, B}

Flavonoides	Controle		Maceração		Retenção real	Germinação		Retenção real
	Concentração em base fresca	Concentração em base seca	Concentração em base fresca	Concentração em base seca		Concentração em base fresca	Concentração em base seca	
Total 3-DXAs	72,78 \pm 3,73	82,71 \pm 3,73 ^a	55,13 \pm 3,42	57,61 \pm 3,42 ^b	69,6	52,86 \pm 7,62	57,86 \pm 7,62 ^b	69,9
<i>Luteolinidina</i>	19,44 \pm 3,64	22,09 \pm 3,64 ^a	13,75 \pm 3,21	14,37 \pm 3,21 ^b	65,3	11,56 \pm 1,61	12,66 \pm 1,61 ^b	57,3
<i>Apigeninidina</i>	16,08 \pm 2,31	18,28 \pm 2,31 ^a	10,77 \pm 1,30	11,25 \pm 1,30 ^b	61,5	12,74 \pm 1,96	13,95 \pm 1,96 ^b	76,3
5-MeO- <i>Luteolinidina</i>	21,37 \pm 1,62	24,29 \pm 1,62 ^a	17,24 \pm 1,94	18,02 \pm 1,94 ^b	74,2	12,78 \pm 1,78	13,99 \pm 1,78 ^c	57,5
7-MeO- <i>Apigeninidina</i>	15,86 \pm 1,19	18,02 \pm 1,19 ^a	13,36 \pm 1,60	13,96 \pm 1,60 ^c	77,4	14,54 \pm 1,37	15,92 \pm 1,37 ^b	88,3
Total de Flavonas	86,41 \pm 4,95	98,21 \pm 4,95 ^{ab}	105,85 \pm 22,48	110,62 \pm 22,48 ^a	112,6	11,45 \pm 1,30	12,53 \pm 1,30 ^b	20,2
<i>Luteolina</i>	55,94 \pm 6,31	63,58 \pm 6,31 ^a	66,69 \pm 8,97	69,69 \pm 8,97 ^a	109,6	7,09 \pm 0,99	7,76 \pm 0,99 ^b	12,2
<i>Apigenina</i>	30,47 \pm 1,36	34,63 \pm 1,36 ^a	39,16 \pm 3,56	40,92 \pm 3,56 ^a	118,1	4,36 \pm 0,82	4,77 \pm 0,82 ^b	13,7
Total de Flavanonas	362,55 \pm 22,50	412,03 \pm 22,50 ^b	356,62 \pm 15,91	372,68 \pm 15,91 ^a	90,4	100,27 \pm 8,92	109,76 \pm 8,92 ^c	26,6
<i>Eriodictiol</i>	213,01 \pm 7,40	242,08 \pm 7,40 ^a	182,25 \pm 3,48	190,46 \pm 3,48 ^a	78,6	75,77 \pm 1,11	82,94 \pm 1,11 ^b	34,3
<i>Naringenina</i>	149,53 \pm 9,65	169,94 \pm 9,65 ^a	174,37 \pm 3,06	182,22 \pm 3,06 ^a	107,3	20,73 \pm 2,23	22,69 \pm 2,23 ^b	13,3

^A Os resultados foram expressos em base seca como a média de 4 repetições \pm desvio padrão; ^B Médias seguidas da mesma letra nas linhas não são estatisticamente diferentes a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Retenção real = [(concentração do composto no grão processado x peso do grão processado) / (concentração do composto no grão antes do processamento x peso do grão antes do processamento)] x 100.

Tabela 6. Potencial de contribuição* do sorgo macerado e germinado para o suprimento das recomendações diárias de vitaminas para homens adultos na faixa etária de 19 a 30 anos.

Composto	Sorgo Macerado		Sorgo Germinado	
	% Potencial de contribuição (100 g sorgo)	% Potencial de contribuição (porção** de 50,7 g)	% Potencial de contribuição (100 g sorgo)	% Potencial de contribuição (porção** de 50,7 g)
Tiamina	46,0	23,0	41,0	21,0
Riboflavina	5,5	2,7	16,4	8,2
Piridoxina	2,7	1,8	3,6	1,8
Vitamina E	20,5	10,4	9,0	4,6

**Calculado com base na Resolução nº 39(ANVISA, 2001). *Calculado com base nas *Recommended Dietary Allowance* de vitaminas para adultos com idade entre 19 e 30 anos (U. S INSTITUTE OF MEDICINE, 2001).

6.2 Artigo 2: Sorgo (*Sorghum bicolor* L.) após Estalamento e Cocção é Fonte de Vitaminas do Complexo B e Vitamina E e Sofre Perdas na Concentração de Carotenoides e Flavonoides

RESUMO

A concentração e a estabilidade de vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e piridoxina), vitamina E (α , β , γ e δ tocoferóis e tocotrienóis), carotenoides (luteína e zeaxantina) e flavonoides (3-desoxiantocianidinas-3 DXAs, flavonas e flavanonas) foram avaliadas em grãos de sorgo submetidos ao estalamento em forno de micro-ondas (grãos crus estalados em forno de micro-ondas, potência média por 4 minutos), estalamento em pipoqueira (grãos crus estalados em pipoqueira, 150°C por 3 minutos) e cocção em água (grãos crus cozidos em água, proporção 1:5 p/v, 100°C por 25 minutos). As análises de vitaminas do complexo B e vitamina E foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detecção por fluorescência e as análises de carotenoides e flavonoides foram feitas por CLAE-DAD (detecção por arrajos de diodos). As concentrações médias obtidas (em base fresca) foram de 0,06; 0,17 e 0,30 mg/100g para tiamina; 0,05; 0,05 e 0,04 mg/100g para riboflavina; 0,06; 0,05 e 0,04 mg/100g para piridoxina; 2445,3; 1490,1 e 1138,7 μ g/100g para vitamina E total; 5,0; 4,0 e 5,9 μ g/100g para soma de carotenoides; 3,99; 8,98 e 8,33 μ g/100g para total de 3-DXAs; 3,64; 3,15 e 4,38 μ g/100g para total de flavonas e 54,72; 21,69 e 15,48 μ g/100g para total de flavanonas em sorgo submetido aos estalamentos e cocção, respectivamente. Os quatro processamentos reduziram as concentrações de tiamina quando comparados ao controle ($p < 0,05$) e não influenciaram as de riboflavina ($p > 0,05$). O estalamento em forno de micro-ondas não afetou a concentração de piridoxina, enquanto que o estalamento em pipoqueira e a cocção em água reduziram as concentrações desta vitamina ($p < 0,05$). O processamento que provocou menores retenções ($p < 0,05$) de vitamina E foi o estalamento em forno de micro-ondas, enquanto que o estalamento em pipoqueira não afetou a concentração total desta vitamina ($p > 0,05$). De forma geral, as concentrações de vitamina E após os estalamentos dos grãos foram similares entre si, com exceção do α -tocoferol e do γ -tocotrienol (suas concentrações não foram influenciadas após estalamento em forno de micro-ondas, mas reduziram após o estalamento em pipoqueira e cocção em água). A cocção dos grãos em água não afetou a concentração total de vitamina E e seu perfil foi similar ao apresentado após o estalamento dos grãos em pipoqueira. Em relação aos carotenoides, os três processamentos apresentaram comportamento similar, uma vez que reduziram as concentrações do total de carotenoides, bem como reduziram as de zeaxantina ($p < 0,05$) e não influenciaram a de luteína ($p > 0,05$). Para as 3-DXAs, todos os processamentos foram similares, sendo que o estalamento e a cocção resultaram em retenções de apenas 0,4% a 22,4%. Os processamentos utilizados apresentaram comportamentos similares em relação à concentração de flavonas, com retenções de apenas 1,42% a 8,26%. Os quatro processamentos reduziram drasticamente

($p < 0,05$) a concentração de flavanonas (retenção de apenas de 2,70% a 17,69%). O potencial de contribuição para o atendimento das recomendações de tiamina, riboflavina, piridoxina e vitamina E para homens adultos foram, em média, 6,0; 4,5; 5,5 e 20,4% para o sorgo estalado em forno de micro-ondas; 17,0; 4,5; 4,5 e 12,4% para o sorgo estalado em pipoqueira; e 30,0; 3,6; 3,6 e 9,5% para o sorgo cozido, respectivamente. Diante dos resultados obtidos, estimula-se o consumo deste cereal, especialmente em sua forma cozida em água, já que as concentrações de riboflavina e vitamina E total não foram alteradas com a utilização desta forma de processamento.

Palavras chave: Tiamina; riboflavina; piridoxina; 3-desoxiantocianidinas; flavonas; flavanonas.

COMPOSTOS QUÍMICOS ESTUDADOS NESTE ARTIGO

Tiamina (PubChem CID: 1130); riboflavina (PubChem CID: 493570); piridoxina (PubChem CID: 1054); α -tocoferol (PubChem CID: 14985); β -tocoferol (PubChem CID: 6857447); γ -tocoferol (PubChem CID: 92729); δ -tocoferol (PubChem CID: 92094); α -tocotrienol (PubChem CID: 5282347); β -tocotrienol (PubChem CID: 5282348); γ -tocotrienol (PubChemCID: 5282349); δ -tocotrienol (PubChem CID: 5282350); luteína (PubChem CID: 5281243); zeaxantina (PubChem CID: 53477763); luteolinidina (PubChem CID: 441701); 5-metoxi-luteolinidina (PubChem CID: não disponível); Apigeninidina (PubChem CID: 159360); 7-metoxi-apigeninidina (PubChem CID: não disponível); Luteolina (PubChem CID: 5280445); Apigenina (PubChem CID: 159360); Naringenina (PubChem CID: 932); Eriodictiol (PubChem CID: 440735).

1 INTRODUÇÃO

O sorgo é um dos cereais mais resistentes à seca e, devido ao aumento da população mundial e à redução da disponibilidade de água, representa uma importante cultura para uso atual e futuro. Este cereal é o quinto mais produzido no mundo e fornece até 70% das calorias ingeridas por indivíduos de países da África, Ásia e América Central (TAYLOR et al., 2006).

Atualmente, o uso de sorgo na alimentação humana em países ocidentais tem aumentado devido ao seu potencial funcional. Os resultados de estudos *in vitro* e *in vivo* utilizando animais demonstraram que extratos e frações de sorgo ricos em compostos bioativos modulam parâmetros relacionados ao diabetes (FARRAR et al., 2008), obesidade (BURDETTE et al., 2010; HWANG et al., 2013), dislipidemias, estresse oxidativo (AWIKA et al., 2009) e inflamação (BURDETTE et al., 2010; HWANG et al., 2013).

Apesar da composição química, valor nutricional e funcional do sorgo serem determinadas por fatores genéticos e ambientais, elas podem ser modificadas pelo processamento dos grãos (KAYODÉ et al., 2005). Os efeitos de processamentos que refletem a cultura da população e as necessidades das indústrias ocidentais foram pouco estudados até o momento. Entre esses

processamentos, destacam-se o estalamento e a cocção em água, que constituem técnicas de grande uso pela população, a nível mundial.

O consumo do grão de cereal submetido ao estalamento é muito comum em países da África e em países do Ocidente. No Brasil, por exemplo, destaca-se a produção de pipoca a partir de cereais, especialmente, do milho. Devido às semelhanças entre o sorgo e o milho, a prática do estalamento do sorgo para produção de pipoca tem aumentado. O estalamento do sorgo pode ser realizado por meio do aquecimento do grão em uma panela submetida a fogo constante, em pipoqueira convencional e, ou em forno de micro-ondas, constituindo práticas comuns utilizadas pela população (CORREIA et al., 2008; CARDOSO et al. 2014).

O estalamento leva à explosão dos grãos submetidos ao calor, que proporciona a ruptura da parede celular do endosperma, melhorando a disponibilidade do amido e de outros compostos presentes no endosperma (CORREIA et al., 2008). O processo de cocção de grãos, principalmente de sorgo, é muito utilizado para produção de mingaus e de outros pratos típicos, como o *Ting* (mingau duro) (DUODU et al., 2001; TAYLOR e TAYLOR, 2002). São comuns estudos acerca dos efeitos destes processamentos na composição de macronutrientes e digestibilidade de proteínas, mas este é o primeiro trabalho a avaliar o efeito destes tratamentos em diversos compostos do sorgo (vitaminas, carotenoides e flavonoides).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do estalamento (em forno de micro-ondas e em pipoqueira) e da cocção em água na estabilidade de vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e piridoxina), vitamina E (α , β , γ e δ tocoferóis e tocotrienóis), carotenoides (luteína e zeaxantina) e flavonoides (3-DXAs, flavonas e flavanonas) em grãos de sorgo, além de avaliar o potencial de contribuição do sorgo após os processamentos para o atendimento das recomendações de vitaminas para adultos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Matéria-Prima

Foram utilizados grãos de sorgo do genótipo BRS 330 pertencente a um painel de linhagens da EMBRAPA Milho e Sorgo. O plantio foi realizado no campo experimental da EMBRAPA Milho e Sorgo, localizado em Nova Porteirinha, MG. Após colhidos, os grãos foram encaminhados para a EMBRAPA Milho e Sorgo (Sete Lagoas, MG, Brasil), onde foram triados e, posteriormente, armazenados em câmara fria (10 ± 2 °C) até o transporte para o Departamento de Nutrição e Saúde (DNS) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

2.2 Padrões e Reagentes

Os padrões de vitaminas do complexo B (hidroclorato de tiamina, riboflavina e hidroclorato de piridoxina), carotenoides (luteína e zeaxantina) e flavonoides (3-desoxiantocianidinas: cloreto de luteolinidina e cloreto de apigeninidina; flavonas: luteolina e apigenina, e flavanonas: naringenina e eriodictiol) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Os padrões

de vitamina E (α , β , γ e δ -tocoferóis e tocotrienóis) foram obtidos da Calbiochem (EMD Biosciences, Inc., EUA).

Reagentes grau analítico (VETEC, São Paulo, Brasil) foram utilizados para extração das vitaminas, carotenoides e flavonoides. A claradiastase foi adquirida da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Para análise, foram utilizados reagentes grau HPLC (metanol, acetonitrila, ácido fórmico, acetato de etila, acetona, hexano, isopropanol, ácido acético glacial) obtidos da Tedia (São Paulo, Brasil) e grau analítico (acetato de sódio e heptanossulfonato de sódio), obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA).

2.3. Processamento dos Grãos de Sorgo

Os grãos integrais de sorgo foram submetidos a diferentes processamentos, conforme descrito a seguir:

- 1) *Controle*: 150 g de grãos *in natura* foram moídos em moinho analítico micro-rotor de facas (MA 090, Marconi, São Paulo, Brasil), obtendo-se uma farinha com granulometria média de 850 μm ;
- 2) *Estalamento em forno de micro-ondas*: 150 g de grãos *in natura* foram estalados em forno de micro-ondas (BMJ38AR, Brastemp, Brasil), (potência média, 4 min). Em seguida, os grãos estalados foram selecionados para posterior análise (CARDOSO et al., 2014);
- 3) *Estalamento em pipoqueira*: 150 g de grãos *in natura* foram estalados em pipoqueira convencional (150 °C, 3 min). Em seguida, os grãos estalados foram selecionados para posterior análise (CARDOSO et al., 2014);
- 4) *Cocção em água*: 50 g de grãos de sorgo *in natura* foram cozidos em 250 mL de água (100 °C, 25 min) em uma panela doméstica tampada (BRASIL, 1996).

Para o armazenamento, os grãos cozidos foram secos em estufa com circulação forçada de ar (50 °C, 24 h) até umidade inferior a 15% (BRASIL, 1996) e, em seguida, moídos em um moinho analítico micro-rotor de facas (MA 090, Marconi, São Paulo, Brasil), obtendo-se farinhas com granulometria média de 850 μm .

As farinhas obtidas dos quatro processamentos foram acondicionadas em sacos plásticos de polietileno recobertos com papel alumínio e armazenadas em freezer (-20 \pm 1 °C) até a conclusão das análises, que ocorreu em, no máximo, 30 dias.

2.4 Determinação da Umidade

A umidade das farinhas obtidas dos grãos *in natura* e dos grãos processados foi determinada por gravimetria, após secagem em estufa (Nova Etica, 4000, São Paulo, Brasil) a 105 °C, até atingir peso constante (AOAC, 2005).

2.5 Determinação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides

As análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Vitaminas do DNS/UFV, em 4 repetições, que foram obtidas a partir dos tratamentos. Durante a extração e a análise, as amostras e os extratos foram protegidos da luz solar e artificial pela utilização de vidrarias âmbar, papel alumínio e cortinas do tipo *blackout*, e protegidos do oxigênio por meio do acondicionamento em frasco âmbar com tampa, com ambiente com gás nitrogênio.

2.5.1 Extração e Análise de Tiamina e Riboflavina

A tiamina total (tiamina, tiamina monofosfato e tiamina pirofosfato) e a riboflavina total (riboflavina, flavina adenina dinucleotídeo e flavina mononucleotídeo) foram extraídas simultaneamente com base nos métodos propostos por Ndaw et al. (2000) e Arella et al. (1996).

As análises de riboflavina e tiamina foram realizadas em corridas individuais, utilizando as condições desenvolvidas por Arella et al. (1996), com modificações: sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detecção por fluorescência (excitação em 366 nm e emissão em 435 nm para tiocromo e excitação em 422 nm e emissão em 522 nm para riboflavina); coluna cromatográfica RP-18 Phenomenex Gemini (250 mm x 4,6 mm, 5 µm) acoplada a coluna de guarda Phenomenex ODS C18 (4 mm x 3 mm); fase móvel composta por metanol: solução de acetato de sódio 6,25 mM e ácido heptanosulfônico 2,5 mM (30:70, v/v); eluição isocrática; fluxo da fase móvel de 0,9 e 1,2 mL/min para tiamina e riboflavina, respectivamente; tempo de corrida de 13 e 14 minutos para tiamina e riboflavina, respectivamente.

2.5.2 Extração e Análise de Piridoxina

A piridoxina total (piridoxol, piridoxal e piridoxamina) foi extraída de acordo com o método proposto por Ndaw et al. (2000) e analisada utilizando as condições desenvolvidas por Bergaentzlé et al. (1995).

2.5.3 Extração e Análise de Vitamina E

A extração e análise dos componentes da vitamina E (α , β , γ e δ -tocoferóis e tocotrienóis) foram realizados de acordo com Pinheiro-Sant'Ana et al. (2011), com algumas modificações.

2.5.4 Extração e Análise de Carotenoides

Os carotenoides (luteína e zeaxantina) foram extraídos de acordo com Rodriguez-Amaya et al. (1976), com modificações, e analisados segundo Panfili et al. (2004).

2.5.5 Extração e Análise de Flavonoides

Os flavonoides foram extraídos e analisados simultaneamente, utilizando-se as metodologias propostas por Dykes et al. (2009) e Yang et al. (2012), respectivamente. .

2.5.6 Identificação e Quantificação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides

Todos os compostos foram identificados por co-cromatografia e pela comparação do tempo de retenção dos padrões comerciais autênticos com os componentes de interesse nas amostras. Além disso, os carotenoides e os flavonoides foram identificados pela comparação entre os espectros de absorção dos padrões e picos de interesse nas amostras, utilizando o DAD.

Os compostos foram quantificados utilizando-se curvas analíticas construídas a partir da injeção, em duplicata, de seis diferentes concentrações de soluções padrão (Tabela 1). A 5-metoxi-luteolinidina (5-MeO-LUT) e 7-metoxi-apigeninidina (7-MeO-AP) foram quantificadas utilizando padrões de luteolinidina (LUT) e apigeninidina (API), respectivamente, ajustados em função do peso molecular dos compostos de interesse (DYKES et al., 2009).

As concentrações totais de tiamina (tiamina + tiamina monofosfato + tiamina pirofosfato), riboflavina (riboflavina + flavina adenina dinucleotídeo + flavina mononucleotídeo) e piridoxina (piridoxol + piridoxal + piridoxamina) foram expressas em mg/100g de sorgo (base úmida e seca). As concentrações totais de carotenoides (luteína + zeaxantina) e vitamina E (α , β , γ e δ tocoferóis e tocotrienóis) e seus componentes isolados foram expressos em $\mu\text{g}/100\text{g}$ (base úmida e seca). A concentração total de flavonoides (DXAs: luteolinidina, apigeninidina, 5-metoxi-luteolinidina e 7-metoxi-apigeninidina; flavonas: luteolina e apigenina; e flavanonas: eriodictiol e naringenina) e de seus componentes isolados foi expressa em $\mu\text{g}/\text{g}$ de amostra (base úmida e seca).

O equivalente de α -tocoferol foi calculado utilizando a equação: (α -tocoferol $\times 1,0$) + (β -tocoferol $\times 0,5$) + (γ -tocoferol $\times 0,1$) + (δ -tocoferol $\times 0,03$) + (α -tocotrienol $\times 0,3$) + (β -tocotrienol $\times 0,05$) (U. S. Institute of Medicine, 2000).

2.6 Validação das Metodologias

Foram realizados testes para validação das metodologias utilizadas para as análises de tiamina, riboflavina e piridoxina (Tabela 1).

As demais metodologias utilizadas para análise de carotenoides, vitamina E e flavonoides foram previamente validadas para análise de sorgo (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 1976; PANFILI et al., 2004; DYKES et al., 2009; PINHEIRO-SANT'ANA et al., 2011; YANG et al., 2012; CARDOSO et al., 2014).

2.6.1 Recuperação

Os testes de recuperação das vitaminas foram realizados por meio da adição dos padrões às amostras na proporção de 20 a 100% da concentração

média original observada. As porcentagens de recuperação foram obtidas a partir da seguinte equação:

$$R = [Q(O+S) - Q(O) / Q(S)] \times 100$$

Onde:

R: porcentagem de recuperação;

Q(O+S): concentração de vitamina na amostra adicionada de padrão;

Q(O): concentração de vitamina na amostra;

Q(S): peso do padrão adicionado à amostra.

2.6.2 Linearidade

A faixa de linearidade foi determinada pela injeção, em duplicata, de seis concentrações crescentes das soluções padrão, utilizando-se as mesmas condições cromatográficas empregadas para análise das amostras. Os dados obtidos para as áreas dos picos foram utilizados para análise de regressão linear (LANÇAS, 2004) (Tabela 1).

2.6.3 Limites de Detecção e Quantificação

O limite de detecção (LD) foi determinado por meio de diluições sucessivas dos padrões de tiamina, riboflavina e piridoxina, seguida da determinação da menor quantidade detectável, como sendo três vezes o valor médio da amplitude do ruído da linha de base ($S/R \geq 3$). O limite de quantificação (LQ) foi considerado como sendo 10 vezes o LD (CATHARINO et al., 2006).

2.7 Cálculo da Retenção Real das Vitaminas, Carotenoides e Flavonoides

A retenção verdadeira das vitaminas e compostos bioativos foi avaliada nos grãos de sorgo submetidos aos diferentes tipos de processamentos teste, por meio do cálculo da porcentagem de retenção real (% RR) utilizando a equação de Murphy et al. (1975).

2.8 Cálculo da Estimativa do Potencial de Contribuição do Sorgo para o Atendimento das Recomendações Nutricionais

De acordo com Phillippi (2008), os alimentos podem ser considerados como “fonte”, “boa fonte” ou “excelente fonte” de nutrientes. Se este alimento suprir de 5 a 10% das Dietary Reference Intake (DRI), ele pode ser considerado como “fonte” do nutriente; se suprir de 10 a 20% da DRI, pode ser considerado “boa fonte” do nutriente; e se supri mais de 20% da DRI, pode ser considerado “excelente fonte” do nutriente.

2.9 Delineamento Experimental e Análise Estatística dos Dados

Os dados da concentração de nutrientes e de compostos bioativos do sorgo foram avaliados utilizando o delineamento inteiramente casualizado, com 4 repetições. Os dados foram avaliados quanto à normalidade utilizando o teste de Shapiro-Wilk. Em seguida, foram submetidos à One-Way ANOVA. Quando necessário, as médias dos dados foram submetidos ao teste de Duncan para a

comparação múltipla de médias. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa *SPSS*, adotando-se um nível de significância (α) de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Validação dos Métodos para Análise de Vitaminas do Complexo B

As porcentagens de recuperação para tiamina, riboflavina e piridoxina foram, respectivamente: 114,6%; 92,1% e 99,3%. Estes resultados foram considerados adequados, refletindo ótima eficiência dos processos de extração (processo adequado de limpeza entre as etapas de extração e baixos níveis de perdas de compostos durante sua extração e baixo nível de erros).

De forma similar, os coeficientes de linearidade obtidos se mostraram excelentes e refletiram ótima linearidade dos dados, uma vez que foram muito próximos ao valor de 1. Já os limites de detecção e quantificação apresentaram valores muito baixos, o que indica uma maior sensibilidade dos métodos utilizados para a quantificação de compostos presentes em pequenas quantidades nas matrizes alimentares (Tabela 2).

3.2 Vitaminas do Complexo B

As três vitaminas do complexo B analisadas foram identificadas no sorgo antes do processamento (controle) (Figura 1). A concentração de riboflavina total foi similar, a de piridoxina inferior e a de tiamina duas vezes maior que o relatado na literatura (0,06 mg/100g; 0,33 mg/100g; e 0,33 mg/100g, respectivamente) (JOOD et al., 2012; U.S. Department of Agriculture, 2016). As condições de cultivo (ex: solo e clima) e as características genéticas dos grãos afetam o perfil dos compostos antioxidantes do sorgo (FERNANDEZ et al., 2009; CHUNG et al., 2013), o que pode justificar a divergência entre os resultados obtidos neste estudo e os relatados na literatura.

A tiamina foi a única vitamina cuja concentração foi reduzida por todos os processamentos, sendo a menor retenção (7,6%) verificada após o estalamento em forno de micro-ondas. A concentração de riboflavina se manteve após os processamentos ($p>0,05$) enquanto que a concentração de piridoxina foi igualmente reduzida pelo estalamento dos grãos em pipoqueira convencional e pela cocção em água ($p<0,05$) (Tabela 3). A redução nas concentrações de tiamina e piridoxina, em todos os tratamentos, pode ser parcialmente atribuída à degradação destes compostos durante a exposição ao calor (MURAKAMI et al., 2014). Além disso, a lixiviação pode ter contribuído para a perda destas vitaminas durante o processo de cocção em água (AFIFY et al., 2012). Vale ressaltar que a tiamina é uma das vitaminas mais termo sensíveis e, muitas vezes, é utilizada como indicador de perdas de nutrientes (AFIFY et al., 2012).

Até o momento, este é o primeiro estudo que avaliou o impacto de diferentes técnicas de estalamento na concentração de vitaminas do complexo B em sorgo. Em um estudo com amaranto, Murakami et al. (2014) verificaram que, diferente do presente estudo, o estalamento convencional não afetou as

concentrações de seis vitaminas do complexo B, incluindo a riboflavina e piridoxina. Por outro lado, Gamel et al. (2006) observaram redução na concentração destas vitaminas (retenções de 11,1 a 70,8%, respectivamente) após o estalamento de duas espécies de amaranto em prato quente, sob constante aquecimento. Para a tiamina, Hakansson et al. (1987) verificaram redução de 63 a 100% após o estalamento de grãos de trigo. Diferente do observado no presente estudo, Duodu et al. (1999) observaram que a cocção em água em condições similares à utilizada no presente estudo não influenciou a concentração de tiamina de grãos de sorgo. Já Aughey et al. (1940) verificaram redução de 15% na concentração de tiamina do trigo e manutenção da concentração na aveia, após a cocção em água destes grãos.

A variabilidade dos resultados observados por outros autores, especialmente nos estudos que avaliaram o amaranto (GAMEL et al., 2006; MURAKAMI et al., 2014) e outros grãos demonstraram que os efeitos do processamento são fortemente influenciados por características intrínsecas às espécies analisadas. Dessa forma, devido à diferença de espécies, torna-se natural que os resultados do presente estudo sejam diferentes dos observados por outros autores. Além disso, deve-se considerar as características de processamento utilizadas nos diferentes trabalhos. Murakami et al. (2014), por exemplo, estalou os grãos de amaranto por 15 segundos, enquanto que no presente estudo o estalamento ocorreu por, aproximadamente, 4 minutos em forno de micro-ondas e 3 minutos em pipoqueira.

3.3 Vitamina E

A concentração de vitamina E no sorgo controle variou dentro da faixa relatada na literatura (AFIFY et al., 2012; CARDOSO et al., 2014) (Tabela 4). Os grãos controle apresentaram seis compostos da vitamina E, sendo o γ -tocotrienol o componente majoritário (66,5% do total de vitamina E). Verificou-se uma prevalência dos tocotrienóis, com razão tocoferóis/tocotrienóis igual a 0,23. Diferente do presente estudo, Cardoso et al. (2014) observaram prevalência dos tocoferóis (razão tocoferóis/tocotrienóis maior que 1) e do γ -tocoferol em 97 genótipos de sorgo. No entanto, assim como neste estudo, Tiwari et al. (2009) observaram prevalência dos tocotrienóis em sorgo.

A concentração de vitamina E total, α -tocoferol e equivalente de α -tocoferol no sorgo não foram alterados pelo estalamento em forno de micro-ondas ($p > 0,05$). Porém, a concentração destes compostos, bem como dos demais identificados no sorgo, foram reduzidas pelo estalamento em pipoqueira e a cocção em água ($p < 0,05$). Os resultados obtidos neste estudo para os grãos submetidos às duas técnicas de estalamento divergiram dos obtidos por Cardoso et al. (2014), que observaram aumento da concentração total de vitamina E, α -tocoferol e β -tocoferol após ambos os processamentos. Porém, a redução observada nos grãos estalados em pipoqueira convencional foi similar à relatada por Hakansson et al. (1987) ao estalar grãos de trigo em panela sob fogo constante, por um tempo de 10 a 15 minutos.

Porém, Cardoso et al. (2014) observaram redução da concentração de vitamina E total, principalmente de α -tocotrienol, γ -tocoferol e δ -tocotrienol após a cocção (sob as mesmas condições do presente estudo) de grãos de sorgo. Estas diferenças podem ter sido decorrentes de variações nos genótipos das matrizes alimentares analisadas, bem como de variações genéticas dos genótipos analisados, alterações nas condições de cultivo dos grãos e diferentes condições de estalamento (tempo e temperatura) (FERNANDEZ et al., 2009; CHUNG et al., 2013; CARDOSO et al., 2015).

3.4 Carotenoides

A concentração e o perfil de carotenoides (luteína e zeaxantina) no sorgo controle foram semelhantes aos observados por outros autores (CARDOSO et al., 2014). Após o estalamento em forno de micro-ondas e a cocção em água, a zeaxantina se manteve como componente majoritário (53,8% e 63,1%, respectivamente), enquanto nos grãos estalados em pipoqueira verificou-se prevalência da luteína (Figura 1, Tabela 4). A alteração do perfil de carotenoides do sorgo após estes processamentos também foi semelhante ao observado por outros autores (CARDOSO et al., 2014). O efeito de todos os processamentos na soma de carotenoides e nas concentrações de luteína e zeaxantina do sorgo foi similar, sendo verificada retenção de, no mínimo, 21,6%.

De forma geral, as retenções dos carotenoides (soma e isolados) após os processamentos, não diferiram ($p>0,05$). Dados sobre as alterações provocadas pelo estalamento e cocção em água em grãos de sorgo são escassos e, portanto, devem ser objeto de estudos futuros. Até o momento, no único trabalho sobre este tema, também foi verificada redução na concentração de carotenoides do sorgo após o estalamento em pipoqueira, sob as mesmas condições (CARDOSO et al., 2014). Porém, estes autores verificaram aumento da concentração destes compostos após a cocção em água e manutenção após o estalamento em forno de micro-ondas (CARDOSO et al., 2014), o que diverge do presente estudo. As diferenças observadas entre os resultados obtidos por compostos (CARDOSO et al., 2014) e o do presente estudo podem ser atribuídas à influência das características intrínsecas dos genótipos analisados, as quais podem afetar a resposta do grão frente aos processamentos (FERNANDEZ et al., 2009; CHUNG et al., 2013; CARDOSO et al., 2015).

3.5 Flavonoides

3.5.1 3-Desoxiantocianidinas

Os grãos controle apresentaram todas as 3-DXAs pesquisadas (Figura 1 e Tabela 5), com prevalência da LUT e 5-MeO-LUT (26,7% e 29,4% do total de 3-DXAs, respectivamente). O total de 3-DXAs dos grãos *in natura* representou 61,8% do total de flavonoides (3-DXAs, flavonas e flavanonas). Estes resultados foram similares aos observados por outros autores (CARDOSO et al., 2015).

Os efeitos de todos os processamentos sobre a concentração total de 3-DXAs e suas formas isoladas (LUT, API, 5-MeO-LUT e 7-MeO-API) foram

similares, sendo observadas retenções de apenas 0,4 a 22,4%. As reduções mais expressivas foram observadas nos grãos submetidos ao estalamento em forno de micro-ondas. Cardoso et al. (2014), utilizando condições de estalamento (forno de micro-ondas e pipoqueira) semelhantes às adotadas no presente estudo, observaram que estes processamentos não afetaram o total e o perfil de 3-DXAs. Estas diferenças podem ter ocorrido devido a diferenças nos genótipos analisados (CHUNG et al., 2013; CARDOSO et al., 2015).

Porém, de forma similar a este estudo, Cardoso et al. (2015) verificaram que a cocção do grão de sorgo em água diminuiu a concentração total de 3-DXAs e de suas formas isoladas. Vários mecanismos podem ter contribuído para a redução da concentração de 3-DXAs, entre eles, a lixiviação de compostos fenólicos durante o processo de cocção (CHAVAN et al., 1989; AFIFY et al., 2012) e a entrada destes compostos para o endosperma junto com água embebida durante o processamento (TOWO et al., 2003).

3.5.2 Flavonas e Flavanonas

A concentração total e o perfil de flavonas (luteolina e apigenina) observado nos grãos *in natura*, com prevalência da luteolina (Figura 1, Tabela 5) foi similar ao relatado na literatura (AFIFY et al., 2012; CARDOSO et al., 2015). As flavanonas investigadas (eriodictiol e naringenina) foram identificadas nos grãos de sorgo *in natura* e processados (Figura 1, Tabela 5), com prevalência do eriodictiol (em média, 58,8% do total). A prevalência de eriodictiol diverge do observado por Dykes et al. (2009) e se assemelha ao relatado por Cardoso et al. (2015).

Todos os processamentos reduziram drasticamente as concentrações de flavonas, flavanonas e suas formas isoladas (luteolina, apigenina, eriodictiol e naringenina) em 82,3% a 98,6% ($p < 0,05$). Até a presente data, estudos em cereais submetidos ao estalamento e à cocção em água sobre a estabilidade de flavonas e flavanonas não estão disponíveis. Que seja do nosso conhecimento, este foi o primeiro estudo a avaliar a estabilidade destes compostos frente a essas condições.

Os resultados obtidos no presente estudo corroboram com a elevada sensibilidade térmica das flavonas e flavanonas do sorgo. Estudo recente demonstrou que o processamento em forno convencional reduziu o total de flavonas, flavanonas e suas formas isoladas entre 45,1 e 63,6% (CARDOSO et al., 2015). Após a extrusão dos grãos, as flavonas e as flavanonas não foram detectadas (CARDOSO et al., 2015). Além disso, a redução da concentração das flavonas e flavanonas nos grãos submetidos à cocção pode ser parcialmente atribuída à lixiviação dos compostos na água de cocção (AFIFY et al., 2012).

3.5. Potencial de Contribuição do Sorgo Estalado e Cozido para o Atendimento das Necessidades de Vitaminas

Segundo as DRIs para indivíduos do sexo masculino e faixa etária entre 19 e 30 anos, o sorgo estalado em forno de micro-ondas se apresentou como excelente fonte de vitamina E, além de ser fonte de tiamina e piridoxina. Já o

sorgo estalado em pipoqueira foi classificado como excelente fonte de tiamina e boa fonte de vitamina E. Por sua vez, o sorgo cozido em água foi classificado como excelente fonte de tiamina e fonte de vitamina E (Tabela 6).

4 CONCLUSÃO

Os efeitos do estalamento e cocção nas concentrações de vitaminas, carotenoides e compostos bioativos do sorgo foram variados. O processamento que provocou maiores perdas, de forma geral, foi o estalamento em forno de micro-ondas, seguido do estalamento em pipoqueira e, por último, da cocção em água. Apesar das perdas, o sorgo estalado em forno de micro-ondas se apresentou como excelente fonte de vitamina E, além de ser fonte de tiamina e piridoxina. Já o sorgo estalado em pipoqueira foi classificado como excelente fonte de tiamina e boa fonte de vitamina E. Por sua vez, o sorgo cozido em água foi classificado como excelente fonte de tiamina e fonte de vitamina E. Assim, estimula-se o consumo do sorgo especialmente em sua forma cozida. Ainda são incipientes estudos acerca dos efeitos destes processamentos nos compostos presentes no sorgo, o que justifica a realização e direcionamento de novos estudos. Além disso, os atributos sensoriais destes tratamentos não foram avaliados, o que torna este tema uma sugestão para estudos futuros.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa Milho e Sorgo (Brasil), à Fundação de Apoio à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG, Brasil), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasil) pelo suporte financeiro e concessão de bolsas de mestrado e de iniciação científica.

6 REFERÊNCIAS

AFIFY, A. E.-M. M. R. et al. Effect of Soaking, Cooking, Germination and Fermentation Processing on Proximate Analysis and Mineral Content of Three White Sorghum Varieties (*Sorghum bicolor* L. Moench). **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 40, n. 2, p. 92-98, 2012.

AFIFY, A. E.-M. M. R. et al. Biochemical changes in phenols, flavonoids, tannins, vitamin E, β -carotene and antioxidant activity during soaking of three white sorghum varieties. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 3, p. 203-209, 2012.

ARELLA, F. et al. Liquid chromatographic determination of vitamins B1 and B2 in foods. A collaborative study. **Food Chemistry**, v. 56, n. 1, p. 81-86, 1996.

Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the AOAC**, Washington, D.C. 2005.

AUGHEY, E. et al. Effect of Cooking upon the Thiamin Content Of Foods. **Journal of Nutrition**, v. 19, p. 285-96, 1940.

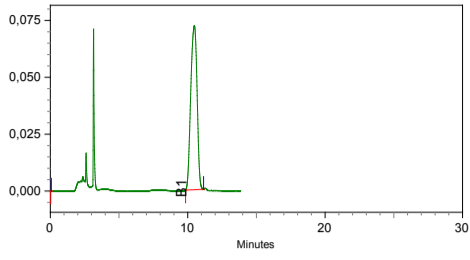
BERGAENTZLÉ, M. et al. Determination of vitamin B6 in foods by HPLC—a collaborative study. **Food Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 81-86, 1995.

BRASIL, M., Companhia Nacional de Abastecimento, (1996). **Acompanhamento de safra brasileira: grãos, décimo segundo levantamento**. Brasília, CONAB.

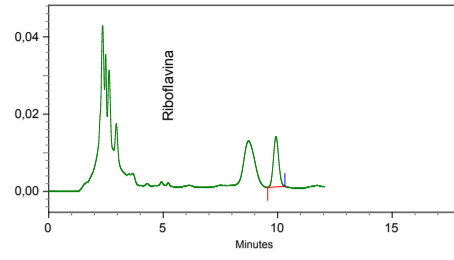
- CARDOSO, L. D. M. et al. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum (*Sorghum bicolor* L.). **Food Chemistry**, 152, 201-217, 2014.
- CARDOSO, L. D. M. et al. Tocochromanols and Carotenoids in Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Diversity and Stability to the Heat Treatment. **Food Chemistry**, 2014.
- CARDOSO, L. D. M. et al. Phenolic compounds profile in sorghum processed by extrusion cooking and dry heat in a conventional oven. **Journal of Cereal Science**, v. 65, p. 220-226, 2015.
- CARDOSO, L. D. M. et al. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds, and potential impact on human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 57, n. 2, p. 372-390, 2017.
- CATHARINO, R. R. et al. Metodologia analítica para determinação de folatos e ácido fólico em alimentos. **Química Nova**, v. 29, p. 972-976, 2006.
- CHAVAN, J. K. et al. Nutritional improvement of cereals by sprouting. **Critical Reviews in Food Science & Nutrition**, v. 28, n. 5, p. 401-437, 1989.
- CHUNG, I.-M. et al. Effect of genotype and cultivation location on β -sitosterol and α -, β -, γ -, and δ -tocopherols in sorghum. **Food Research International**, v. 51, n. 2, p. 971-976, 5, 2013.
- CORREIA, I. et al. Protein profile and malt activity during sorghum germination. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 15, p. 2598-2605, 2008.
- DUODU, K. G. et al. Effect of cooking and irradiation on the labile vitamins and antinutrient content of a traditional African sorghum porridge and spinach relish. **Food Chemistry**, v. 66, n. 1, p. 21-27, 1999.
- DUODU, K. G. et al. FTIR and solid state ^{13}C NMR spectroscopy of proteins of wet cooked and popped sorghum and maize. **Journal of Cereal Science**, v. 33, n. 3, p. 261-269, 2001.
- DYKES, L. et al. Flavonoid composition of red sorghum genotypes. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 313-317, 2009.
- FERNANDEZ, M. S. et al. Collection and characterization of yellow endosperm sorghums from West Africa for biofortification. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 56, n. 7, p. 991-1000, 2009.
- GAMEL, T. H. et al. Effect of seed treatments on the chemical composition of two amaranth species: oil, sugars, fibres, minerals and vitamins. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 86, n. 1, p. 82-89, 2006.
- HÅKANSSON, B. et al. The effects of various thermal processes on protein quality, vitamins and selenium content in whole-grain wheat and white flour. **Journal of Cereal Science**, v. 6, n. 3, p. 269-282, 1987.
- JOOD, S. et al. Effect of germination and probiotic fermentation on pH, titratable acidity, dietary fibre, β -Glucan and vitamin content of sorghum based food mixtures. **J Nutr Food Sci**, v. 2, n. 164, p. 2, 2012.
- KAYODÉ, A. P. P. et al. Genetic and Environmental Impact on Iron, Zinc, and Phytate in Food Sorghum Grown in Benin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54(1): 256-262, 2005.
- LANÇAS, F. M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. 6. São Carlos: Rima, 2004.
- MURAKAMI, T. et al. Effects of popping on nutrient contents of amaranth seed. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 69, n. 1, p. 25-29, 2014.
- MURPHY, E. W. et al. Comparisons of methods for calculating retentions of nutrients in cooked foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 23, n. 6, p. 1153-1157, 1975.

- NDAW, S. et al. Extraction procedures for the liquid chromatographic determination of thiamin, riboflavin and vitamin B 6 in foodstuffs. **Food Chemistry**, v. 71, n. 1, p. 129-138, 2000.
- PANFILI, G. et al. Improved Normal-Phase High-Performance Liquid Chromatography Procedure for the Determination of Carotenoids in Cereals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 6373-6377, 2004.
- PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. et al. Method for simultaneous analysis of eight vitamin E isomers in various foods by high performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 47, p. 8496-8502, 2011.
- RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. Carotenoid changes in ripening *Momordica charantia*. **Annals of Botany**, v. 40, p. 615-624, 1976.
- TAYLOR, J. R. N. et al. Novel food and non-food uses for sorghum and millets. **Journal of Cereal Science** 44(3): 252-271, 2006.
- TAYLOR, J.; TAYLOR, J. Alleviation of the adverse effect of cooking on sorghum protein digestibility through fermentation in traditional African porridges. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 37, n. 2, p. 129-137, 2002.
- TIWARI, U. et al. Nutritional importance and effect of processing on tocopherols in cereals. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, n. 11-12, p. 511-520, 2009.
- TOWO, E. E. et al. Effect of grain pre-treatment on different extractable phenolic groups in cereals and legumes commonly consumed in Tanzania. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 83, n. 9, p. 980-986, 2003.
- U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE, A. R. S. USDA National Nutrient Database for Standard Reference. 26. Washington DC: 2016. Disponível em: <<<http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>>>. Acesso em: 09-23-2016.
- U. S. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids**. Washington, D.C.: National Academy Press, 2000.
- YANG, L. et al. Sorghum phenolics demonstrate estrogenic action and induce apoptosis in nonmalignant colonocytes. **Nutrition and Cancer**, v. 64, n. 3, p. 419-427, 2012.

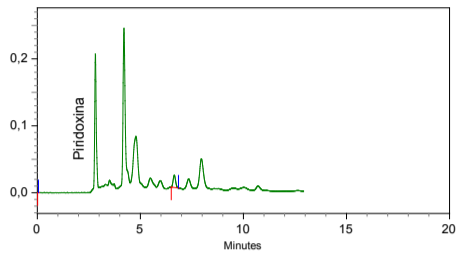
FIGURAS E TABELAS



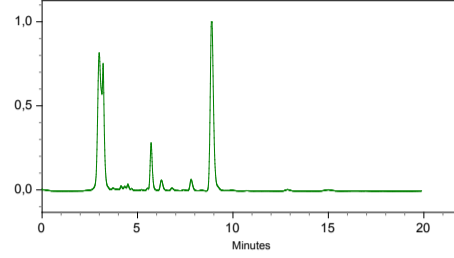
(b)



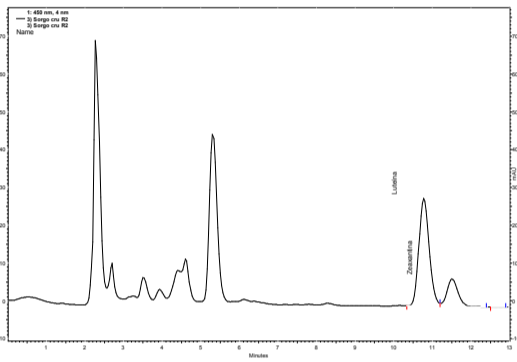
(b)



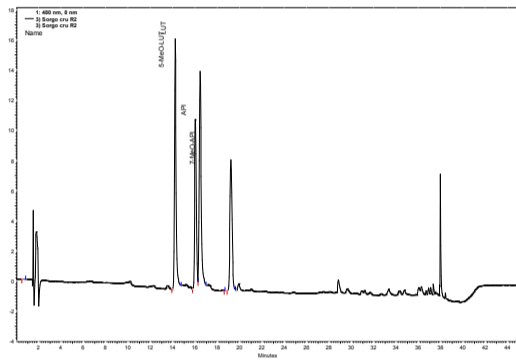
(c)



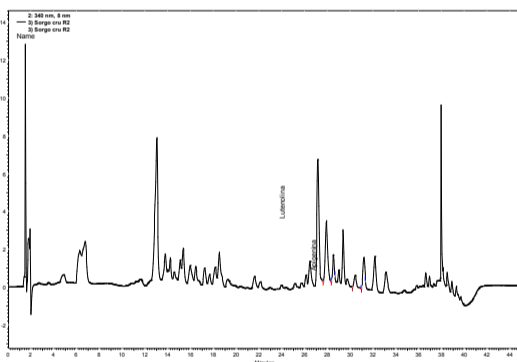
(d)



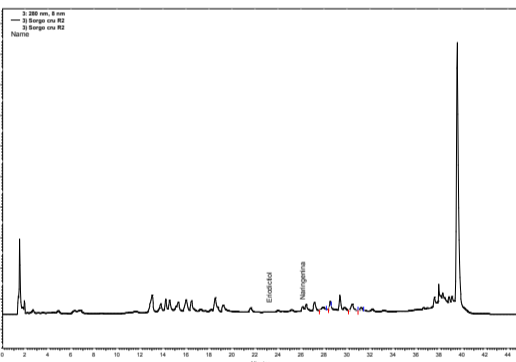
(e)



(f)



(g)



(h)

Figura 1: Cromatogramas típicos obtidos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência na análise do sorgo controle. (a) Tiamina; (b) Riboflavina; (c) Piridoxina; (d) Vitamina E; (e) Carotenoides; (f) 3-desoxiantocianidinas; (g) Flavonas; (h) Flavanonas.

Tabela 1: Concentração mínima e máxima dos padrões de vitaminas do complexo B para a construção de curvas analíticas, equações de regressão e seus respectivos coeficientes de regressão (R^2), obtidos para a quantificação dos compostos.

Vitamina	Concentração mínima e máxima dos padrões (ng)	Equação de regressão	R^2
Tiamina	0,08 – 4,35	$y = 2038489.93x + 108766.32$	1,00
Riboflavina	0,21 – 21,30	$y = 248925x - 26032$	1,00
Piridoxina	0,17 – 13,05	$y = 339167x - 36329$	0,9936

Tabela 2: Limites de detecção (LD), limites de quantificação (LQ) e recuperação obtidas das vitaminas.

Vitamina	LD (ng/mL)	LQ (ng/mL)	Recuperação (%)
Tiamina	0,03	0,35	114,6
Riboflavina	0,0010	0,010	92,1
Piridoxina	0,03	0,33	99,3

Tabela 3: Efeito do estalamento e cocção na concentração e retenção real de vitaminas do complexo B (mg/100 g) em sorgo ^{A, B}

Vitaminas	Controle		Forno de micro-ondas			Pipoqueira			Cocção		
	Conc. BF	Conc. BS	Conc. BF	Conc. BS	RR	Conc. BF	Conc. BS	RR	Conc. BF	Conc. BS	RR
Tiamina	0,70 ± 0,04	0,79 ± 0,04 ^a	0,06 ± 0,00	0,06 ± 0,00 ^d	7,59	0,17 ± 0,02	0,17 ± 0,02 ^c	21,52	0,30 ± 0,04	0,33 ± 0,04 ^b	41,77
Riboflavina	0,04 ± 0,00	0,05 ± 0,00 ^a	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00 ^a	100,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00 ^a	100,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,00 ^a	80,00
Piridoxina	0,09 ± 0,02	0,10 ± 0,02 ^a	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02 ^{ab}	60,00	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01 ^b	50,00	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01 ^b	40,00

^A Os resultados foram expressos como a média de 4 repetições ± desvio padrão; ^B Médias seguidas da mesma letra nas linhas para concentração em base seca não são estatisticamente diferentes a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Retenção real (RR) = [(concentração do composto no grão processado x peso do grão processado) / (concentração do composto no grão antes do processamento x peso do grão antes do processamento)] x 100. Onde: Conc. = Concentração; BF = Base Fresca; BS = Base Seca..

Tabela 4: Efeito do estalamento e cocção na concentração e retenção real (%) de vitamina E ($\mu\text{g}/100\text{g}$) e carotenoides ($\mu\text{g}/100\text{g}$) (%) em sorgo ^{A, B}

Vitaminas	Controle		Forno de micro-ondas			Pipoqueira			Cocção		
	Conc. BF	Conc. BS	Conc. BF	Conc. BS	RR	Conc. BF	Conc. BS	RR	Conc. BF	Conc. BS	RR
Vitamina E total	1950,2 ± 179,2	2216,4 ± 179,2 ^a	2445,3 ± 227,9	2529,5 ± 227,9 ^a	114,1	1490,1 ± 68,9	1517,6 ± 68,9 ^b	68,5	1138,7 ± 146,5	1259,5 ± 146,5 ^b	56,8
<i>α-tocoferol</i>	281,8 ± 36,5	320,3 ± 36,5 ^a	300,5 ± 46,6	310,9 ± 46,6 ^a	97,1	238,1 ± 12,8	242,5 ± 12,8 ^b	75,7	137,1 ± 17,2	151,6 ± 17,2 ^b	47,3
<i>α-tocotrienol</i>	250,2 ± 29,7	284,3 ± 29,7 ^a	123,2 ± 36,1	127,4 ± 36,1 ^b	44,8	113,8 ± 14,1	115,9 ± 14,1 ^b	40,8	105,7 ± 19,8	116,9 ± 19,8 ^b	41,1
<i>β-tocoferol</i>	11,3 ± 17,8	12,8 ± 17,8 ^a	7,6 ± 0,1	7,9 ± 0,1 ^b	61,7	1,9 ± 0,6	1,9 ± 0,6 ^c	14,8	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1 ^d	1,6
<i>γ-tocoferol</i>	81,0 ± 16,9	92,0 ± 16,9 ^a	21,1 ± 6,9	21,8 ± 6,9 ^b	23,7	3,9 ± 0,9	4,0 ± 0,9 ^c	4,3	13,1 ± 1,6	14,5 ± 1,6 ^b	15,8
<i>β-tocotrienol</i>	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0 ^c	369,0 ± 32,8	381,7 ± 32,8 ^a	0,0	154,6 ± 24,6	157,5 ± 24,6 ^b	0,0	56,0 ± 15,3	61,9 ± 15,3 ^c	0,0
<i>γ-tocotrienol</i>	1296,4 ± 122,4	1473,4 ± 122,4 ^a	1585,1 ± 127,7	1639,7 ± 127,7 ^a	111,3	943,0 ± 124,6	960,4 ± 124,6 ^b	65,2	792,4 ± 93,1	876,5 ± 93,1 ^b	59,5
<i>δ-tocoferol</i>	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0 ^b	23,3 ± 4,7	24,1 ± 4,7 ^a	0,0	21,9 ± 5,3	22,3 ± 5,3 ^a	0,0	18,7 ± 1,4	20,7 ± 1,4 ^a	0,0
<i>δ-tocotrienol</i>	29,6 ± 3,3	33,6 ± 3,3 ^a	15,5 ± 3,5	16,0 ± 3,5 ^b	47,6	12,9 ± 1,3	13,1 ± 1,3 ^b	39,0	15,6 ± 3,0	17,2 ± 3,0 ^b	51,2
Equiv. α-T	370,6 ± 35,8	421,2 ± 35,8 ^a	362,6 ± 96,3	375,1 ± 96,3 ^a	89,1	282,0 ± 29,6	287,2 ± 29,6 ^b	68,2	173,5 ± 6,2	191,9 ± 6,2 ^c	45,6
Carotenoides (soma)	27,2 ± 8,4	30,9 ± 8,4 ^a	5,0 ± 0,4	5,2 ± 0,4 ^b	16,8	4,0 ± 0,5	4,1 ± 0,5 ^b	13,3	5,9 ± 2,8	6,5 ± 2,8 ^b	21,0
<i>Luteína</i>	12,2 ± 8,9	13,9 ± 8,9 ^a	2,4 ± 0,5	2,5 ± 0,5 ^a	18,0	3,2 ± 0,3	3,3 ± 0,3 ^a	23,7	2,2 ± 0,7	2,4 ± 0,7 ^a	17,3
<i>Zeaxantina</i>	16,7 ± 4,1	19,0 ± 4,1 ^a	2,7 ± 0,7	2,8 ± 0,7 ^b	14,7	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,2 ^b	4,2	3,7 ± 3,5	4,1 ± 3,5 ^b	21,6

^A Os resultados foram expressos em base seca como a média de 4 repetições ± desvio padrão; ^B Médias seguidas da mesma letra nas linhas não são estatisticamente diferentes a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Equiv. α-T: equivalentes de α-tocoferol. Retenção real = [(concentração do composto no grão processado x peso do grão processado) / (concentração do composto no grão antes do processamento x peso do grão antes do processamento)] x 100. Onde: Conc. = Concentração; BF = Base Fresca; BS = Base Seca; RR = Retenção Real.

Tabela 5: Efeito do estalamento e cocção na concentração e retenção real (%) de flavonoides ($\mu\text{g}/100\text{g}$) em sorgo ^{A, B}

Flavonoides	Controle		Forno de micro-ondas			Pipoqueira			Cocção		
	Conc. BF	Conc. BS	Conc. BF	Conc. BS	RR	Conc. BF	Conc. BS	RR	Conc. BF	Conc. BS	RR
Total 3-DXAs	72,78 \pm 3,73	82,71 \pm 3,73 ^a	3,99 \pm 2,36	4,13 \pm 2,36 ^c	4,99	8,98 \pm 1,12	9,15 \pm 1,12 ^b	11,06	8,33 \pm 0,83	9,21 \pm 0,83 ^b	11,14
<i>Luteolinidina</i>	19,44 \pm 3,64	22,09 \pm 9,64 ^a	1,33 \pm 0,01	1,38 \pm 0,01 ^b	6,25	2,23 \pm 0,18	2,27 \pm 0,18 ^b	10,28	1,60 \pm 0,12	1,77 \pm 0,12 ^b	8,01
<i>Apigeninidina</i>	16,08 \pm 2,31	18,28 \pm 2,31 ^a	0,07 \pm 0,02	0,07 \pm 0,02 ^c	0,38	0,65 \pm 0,16	0,66 \pm 0,16 ^b	3,61	0,11 \pm 0,10	0,12 \pm 0,10 ^c	0,66
<i>5-MeO-Luteolinidina</i>	21,37 \pm 1,62	24,29 \pm 1,62 ^a	2,18 \pm 0,51	2,25 \pm 0,51 ^c	9,26	4,58 \pm 0,48	4,66 \pm 0,48 ^b	19,18	4,92 \pm 0,58	5,44 \pm 0,58 ^b	22,4
<i>7-MeO-Apigeninidina</i>	15,86 \pm 1,19	18,02 \pm 9,19 ^a	0,14 \pm 0,06	0,14 \pm 0,06 ^c	0,78	1,53 \pm 0,34	1,56 \pm 0,34 ^b	8,66	1,70 \pm 0,28	1,88 \pm 0,28 ^b	10,43
Total de Flavonas	86,41 \pm 4,95	98,21 \pm 4,95 ^a	3,64 \pm 0,13	3,77 \pm 0,13 ^b	3,84	3,15 \pm 0,68	3,21 \pm 0,68 ^b	3,27	4,38 \pm 0,65	4,84 \pm 0,65 ^b	4,93
<i>Luteolina</i>	55,94 \pm 6,31	63,58 \pm 6,31 ^a	0,87 \pm 0,04	0,90 \pm 0,04 ^b	1,42	0,94 \pm 0,19	0,96 \pm 0,19 ^b	1,51	3,75 \pm 3,96	4,15 \pm 3,96 ^b	6,53
<i>Apigenina</i>	30,47 \pm 1,36	34,63 \pm 1,36 ^a	2,76 \pm 0,09	2,86 \pm 0,09 ^b	8,26	2,21 \pm 0,55	2,25 \pm 0,55 ^b	6,50	1,68 \pm 0,18	1,86 \pm 0,18 ^b	5,37
Total de Flavanonas	362,55 \pm 22,50	412,03 \pm 22,50 ^a	54,72 \pm 23,30	56,60 \pm 23,30 ^b	13,74	21,69 \pm 1,93	22,09 \pm 1,93 ^b	5,36	15,48 \pm 2,35	17,12 \pm 2,35 ^b	4,16
<i>Eriodictiol</i>	213,01 \pm 7,40	242,08 \pm 7,40 ^a	12,70 \pm 0,64	13,14 \pm 0,64 ^b	5,43	12,32 \pm 6,48	12,55 \pm 6,48 ^b	5,18	5,90 \pm 1,38	6,53 \pm 1,38 ^b	2,70
<i>Naringenina</i>	149,53 \pm 9,65	169,94 \pm 9,65 ^a	29,07 \pm 2,36	30,07 \pm 2,36 ^{ab}	17,69	9,36 \pm 5,33	9,53 \pm 5,33 ^b	5,61	9,57 \pm 0,97	10,58 \pm 0,97 ^b	6,23

^A Os resultados foram expressos em base seca como a média de 4 repetições \pm desvio padrão; ^B Médias seguidas da mesma letra nas linhas não são estatisticamente diferentes a 5% de probabilidade pelo teste de Duncan. Retenção real = [(concentração do composto no grão processado x peso do grão processado) / (concentração do composto no grão antes do processamento x peso do grão antes do processamento)] x 100. Onde: Conc. = Concentração; BF = Base Fresca; BS = Base Seca; RR = Retenção Real.

Tabela 6. Potencial de contribuição* do sorgo estalado e cozido para o suprimento das recomendações diárias de vitaminas para homens adultos na faixa etária de 19 a 30 anos.

Composto	Forno de Microondas		Pipoqueira		Cocção	
	% Contr. (100 g de sorgo)	% Contr. (porção** de 50,7 g de sorgo)	% Contr. (100 g de sorgo)	% Contr. (porção** de 50,7 g de sorgo)	% Contr. (100 g de sorgo)	% Contr. (porção** de 50,7 g de sorgo)
Tiamina	6,0	3,0	17,0	9,0	30,0	15,0
Riboflavina	4,5	2,7	4,5	2,7	3,6	1,8
Piridoxina	5,5	2,7	4,5	2,7	3,6	1,8
Vitamina E	20,4	10,3	12,4	6,3	9,5	4,8

**Calculado com base na Resolução nº 39 (ANVISA, 2001). *Calculado com base nas *Recommended Dietary Allowance* de vitaminas para adultos com idade entre 19 e 30 anos (U. S INSTITUTE OF MEDICINE, 2001).

6.3 Artigo 3: Alterações na Concentração de Vitaminas do Complexo B, Vitamina E, Carotenoides e Flavonoides em Sorgo (*Sorghum bicolor* L.) Submetido a Diferentes Condições de Extrusão Industrial

RESUMO

A ocorrência, concentração e estabilidade de vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e piridoxina), vitamina E (α , β , γ e δ tocoferóis e tocotrienóis), carotenoides (luteína e zeaxantina) e flavonoides (3-desoxiantocianidinas, flavonas e flavanonas) foram avaliadas em grãos de sorgo submetidos a diferentes condições de extrusão industrial, com variações na temperatura de extrusão (98 a 182°C) e velocidade de rotação do parafuso da extrusora (155 a 348 rpm). As análises de vitaminas do complexo B e vitamina E foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detecção por fluorescência e as análises de carotenoides e flavonoides foram feitas por CLAE-DAD (detecção por arranjo de diodos). As respostas que não apresentaram coeficiente de regressão significativo foram: riboflavina, α -tocotrienol, β -tocoferol, γ -tocoferol, vitamina E total, luteolinidina, luteolina e total de flavonas. Isto indica que as concentrações destes compostos não foram influenciadas pelas variações na temperatura e rotações do parafuso utilizadas durante a extrusão. As respostas: β -tocoferol, luteolina e total de flavonas, não apresentaram coeficiente de regressão significativo do termo constante do modelo $\hat{\beta}_0$ (p -valor $\geq 0,05$). As diferentes temperaturas e rotações do parafuso tiveram efeito significativo sobre as concentrações de tiamina, piridoxina, α -tocoferol, β -tocotrienol, δ -tocotrienol, apigeninidina, 7-metoxi-apigeninidina e eriodictiol. Pontos centrais de temperatura e rotações do parafuso não influenciaram as concentrações de tiamina e piridoxina. As variáveis (diferentes temperaturas e rotações do parafuso) não influenciaram as concentrações de luteína, zeaxantina e o total de carotenoides. Para o α -tocoferol, maiores valores das variáveis aumentaram a concentração deste composto. Para o β -tocotrienol, menores temperaturas e maiores rotações do parafuso aumentaram a concentração deste composto. Já para o δ -tocotrienol, valores médios de rotações do parafuso e baixos valores de temperatura aumentaram a concentração deste composto. O total de 3-desoxiantocianidinas não foi influenciado pelas variáveis, mas as concentrações de apigeninidina e 7-metoxi-apigeninidina aumentaram em condições de alta temperatura e baixa rotação do parafuso. As variáveis não influenciaram as concentrações de flavonas e flavanonas totais, mas as de eriodictiol aumentaram com valores altos de rotações do parafuso. Nossos resultados indicam que as variáveis apresentaram comportamentos diferentes frente a cada classe de compostos, sendo que maiores valores de rotações do parafuso e menores valores de temperatura ocasionaram menos perdas dos compostos analisados.

Palavras chave: *Sorghum bicolor* L., processamento, vitaminas, carotenoides, compostos bioativos.

COMPOSTOS QUÍMICOS ESTUDADOS NESTE ARTIGO

Tiamina (PubChem CID: 1130); riboflavina (PubChem CID: 493570); piridoxina (PubChem CID: 1054); α -tocoferol (PubChem CID: 14985); β -tocoferol (PubChem CID: 6857447); γ -tocoferol (PubChem CID: 92729); δ -tocoferol (PubChem CID: 92094); α -tocotrienol (PubChem CID: 5282347); β -tocotrienol (PubChem CID: 5282348); γ -tocotrienol (PubChemCID: 5282349); δ -tocotrienol (PubChem CID: 5282350); luteína (PubChem CID: 5281243); zeaxantina (PubChem CID: 53477763); luteolinidina (PubChem CID: 441701); 5-metoxi-luteolinidina (PubChem CID: não disponível); Apigeninidina (PubChem CID: 159360); 7-metoxi-apigeninidina (PubChem CID: não disponível); Luteolina (PubChem CID: 5280445); Apigenina (PubChem CID: 159360); Naringenina (PubChem CID: 932); Eriodictiol (PubChem CID: 440735).

1 INTRODUÇÃO

O sorgo (*Sorghum bicolor* L.) é um alimento-base da dieta de populações em regiões semiáridas da África e Ásia, mas pouco utilizado para a alimentação humana em países como os Estados Unidos, Austrália e Brasil (TAYLOR et al., 2006; KEAN et al., 2011). O sorgo se destaca frente a outros cereais devido à sua elevada atividade antioxidante, que pode ser atribuída principalmente à presença de carotenoides, vitamina E e vitaminas do complexo B, principalmente tiamina, riboflavina e piridoxina (CARDOSO et al., 2015).

No entanto, antes do consumo, o sorgo precisa ser submetido a diferentes tipos de processamentos, os quais podem modificar a concentração de tocoferóis e tocotrienóis, bem como o perfil antioxidante, incluindo compostos fenólicos e 3-desoxiantocianidinas (3-DXAs) (DICKO et al., 2005; DLAMINI et al., 2007; OCHANDA et al., 2010 ; ABDELSEED et al., 2011; AFIFY et al., 2012; CARDOSO et al., 2014).

O processo de extrusão industrial é cada vez mais utilizado para tornar possível a utilização de ingredientes como o sorgo em barras de cereais, cereais matinais e salgadinhos tipo snacks, por exemplo (ATHAR et al., 2006). De acordo com Singh et al. (2007) e Guy, (2001), a extrusão termoplástica consiste em um processamento contínuo de cocção de alimentos, com elevada produtividade e significativa retenção de nutrientes, devido à combinação de alta temperatura, pressão, cisalhamento e curto tempo necessário. Além disso, este processamento desnatura enzimas indesejáveis, inativa alguns fatores antinutricionais, inibe a atividade microbológica do produto extrusado e mantém a cor e sabor dos alimentos (FELLOWS, 2000; BHANDARI et al, 2001; SINGH et al., 2007; ANUNCIAÇÃO et al., 2017).

O conhecimento sobre modificações no perfil e na concentração de flavonoides, carotenoides, vitaminas do complexo B e vitamina E em sorgo é incipiente e os efeitos da extrusão industrial necessitam ser melhor estudados. Estudos sobre os efeitos dos processamentos térmicos no perfil antioxidante do

sorgo se tornam essenciais para se avaliar os seus possíveis benefícios à saúde humana, bem como, definir a forma de uso na qual o sorgo integral pode promover máximos benefícios (CARDOSO et al., 2014).

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes condições de extrusão industrial termoplástica na ocorrência, concentração e estabilidade de vitaminas do complexo B (tiamina, riboflavina e piridoxina), vitamina E (α , β , γ e δ tocoferóis e tocotrienóis), carotenoides (luteína e zeaxantina) e flavonoides (3-DXAs, flavonas e flavanonas) em farinha de sorgo integral.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Matéria-Prima

Foram utilizados grãos do genótipo de sorgo BRS 330, pertencentes a um painel de linhagens da EMBRAPA Milho e Sorgo. O plantio deste genótipo foi realizado no campo experimental da EMBRAPA Milho e Sorgo, localizado em Nova Porteirinha, MG. Após a colheita, os grãos foram encaminhados para a EMBRAPA Milho e Sorgo (Sete Lagoas, MG) onde foram triados e armazenados em câmara fria em temperatura de 10 ± 2 °C até o transporte para o Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa (DNS-UFV) e para a EMBRAPA Agroindústria de Alimentos (Rio de Janeiro, RJ), onde foi processado por extrusão.

2.1 Padrões e Reagentes

Os padrões de vitaminas do complexo B (hidroclorato de tiamina, riboflavina e hidroclorato de piridoxina), carotenoides (luteína e zeaxantina) e flavonoides (3-desoxiantocianidinas: cloreto de luteolinidina e cloreto de apigeninidina; flavonas: luteolina e apigenina, e flavanonas: naringenina e eriodictiol) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Os padrões de vitamina E (α , β , γ e δ -tocoferóis e tocotrienóis) foram obtidos da Calbiochem (EMD Biosciences, Inc., EUA).

Reagentes grau analítico (VETEC, São Paulo, Brasil) foram utilizados para extração das vitaminas, carotenoides e flavonoides. A claradiastase foi adquirida da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Para análise, foram utilizados reagentes grau HPLC (metanol, acetonitrila, ácido fórmico, acetato de etila, acetona, hexano, isopropanol, ácido acético glacial) obtidos da Tedia (São Paulo, Brasil) e grau analítico (acetato de sódio e heptanossulfonato de sódio), obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA).

2.2 Processamento dos Grãos de Sorgo

Os grãos integrais de sorgo foram moídos em um moinho de discos LM3600 (Perten Instruments, Huddinge, Suécia) ajustado na abertura 2 obtendo-se uma farinha. Esta foi condicionada a 13% de umidade e processada em uma extrusora de parafuso único 19/20 DN (Brabender, Duisburg, Alemanha) acoplada a um reômetro de torque Plasti-Corder

LabStation (Brabender, Duisburg, Alemanha) em diferentes condições de temperatura (°C) e velocidade de rotação do parafuso (rpm). As combinações de temperatura e rotações adotadas estão dispostas na Tabela 2.

Os parâmetros de processo utilizados foram: parafuso com taxa de compressão de 5:1; matriz circular de 3 mm de diâmetro; rotação do alimentador vertical a 15 rpm para o sorgo, o que correspondeu a vazão de 5 kg/h; velocidade de rotação do parafuso variável, de 155 a 348 rpm; perfil de temperatura nas três zonas de aquecimento (Z1, Z2 e Z3, da alimentação à saída do produto): Z1 = 50°C, Z2 = 90°C e Z3 = variável de 97,5 a 182,4°C. A coleta dos produtos foi realizada quando observou-se estabilidade do torque registrado pelo software WinExt (Brabender, Duisburg, Alemanha).

De forma a permitir as análises químicas, após a extrusão, os extrusados obtidos foram secos a 60°C por 4h em estufa de circulação forçada de ar e moídos em moinho de martelo 3100 (Perten, Huddinge, Suécia).

2.3 Determinação da Umidade

A umidade das farinhas obtidas dos grãos *in natura* e dos grãos extrusados de sorgo foi determinada por gravimetria, após secagem em estufa (Nova Etica, 4000, Brasil) a 105 °C, até atingir peso constante (AOAC, 2005).

2.4 Determinação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides

As análises foram realizadas no Laboratório de Análise de Vitaminas do DNS/UFV, em 4 repetições. Durante a extração e a análise, as amostras e os extratos foram protegidos da luz solar e artificial pela utilização de vidrarias âmbar, papel alumínio e cortinas do tipo *blackout*, e protegidos do oxigênio por meio do acondicionamento em frasco âmbar com tampa, com ambiente com gás nitrogênio.

2.4.1 Extração e Análise de Tiamina e Riboflavina

A tiamina total (tiamina, tiamina monofosfato e tiamina pirofosfato) e a riboflavina total (riboflavina, flavina adenina dinucleotídeo e flavina mononucleotídeo) foram extraídas simultaneamente com base nos métodos propostos por Ndaw et al. (2000) e Arella et al. (1996).

As análises de riboflavina e tiamina foram realizadas em corridas individuais, utilizando as condições desenvolvidas por Arella et al. (1996), com modificações: sistema de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detecção por fluorescência (excitação em 366 nm e emissão em 435 nm para tiocromo e excitação em 422 nm e emissão em 522 nm para riboflavina); coluna cromatográfica RP-18 Phenomenex Gemini (250 mm x 4,6 mm, 5 µm) acoplada a coluna de guarda Phenomenex ODS C18 (4 mm x 3 mm); fase móvel composta por metanol: solução de acetato de sódio 6,25 mM e ácido heptanosulfônico 2,5 mM (30:70, v/v); eluição isocrática; fluxo da fase móvel de

0,9 e 1,2 mL/min para tiamina e riboflavina, respectivamente; tempo de corrida de 13 e 14 minutos para tiamina e riboflavina, respectivamente.

2.4.2 Extração e Análise de Piridoxina

A piridoxina total (piridoxol, piridoxal e piridoxamina) foi extraída de acordo com o método proposto por Ndaw et al. (2000) e analisada utilizando as condições desenvolvidas por Bergaentzlé et al. (1995).

2.4.3 Extração e Análise de Vitamina E

A extração e análise dos componentes da vitamina E (α , β , γ e δ -tocoferóis e tocotrienóis) foram realizados de acordo com Pinheiro-Sant'Ana et al. (2011), com algumas modificações.

2.4.4 Extração e Análise de Carotenoides

Os carotenoides (luteína e zeaxantina) foram extraídos de acordo com Rodriguez-Amaya et al. (1976), com modificações, e analisados segundo Panfili et al. (2004).

2.4.5 Extração e Análise de Flavonoides

Os flavonoides foram extraídos e analisados simultaneamente, utilizando-se as metodologias propostas por Dykes et al. (2009) e Yang et al. (2012), respectivamente.

2.4.6 Identificação e Quantificação de Vitaminas do Complexo B, Carotenoides, Vitamina E e Flavonoides

Todos os compostos foram identificados por co-cromatografia e pela comparação do tempo de retenção dos padrões comerciais autênticos com os componentes de interesse nas amostras. Além disso, os carotenoides e os flavonoides foram identificados pela comparação entre os espectros de absorção dos padrões e picos de interesse nas amostras.

Os compostos foram quantificados utilizando-se curvas analíticas construídas a partir da injeção, em duplicata, de seis diferentes concentrações de soluções padrão (Tabela 9). A 5-metoxi-luteolinidina (5-MeO-LUT) e 7-metoxi-apigeninidina (7-MeO-API) foram quantificadas utilizando padrões de luteolinidina (LUT) e apigeninidina (API), respectivamente, ajustados em função do peso molecular dos compostos de interesse (DYKES et al., 2009).

As concentrações totais de tiamina (tiamina + tiamina monofosfato + tiamina pirofosfato), riboflavina (riboflavina + flavina adenina dinucleotídeo + flavina mononucleotídeo) e piridoxina (piridoxol + piridoxal + piridoxamina) foram expressas em mg/100g de sorgo (base úmida e seca). As concentrações totais de carotenoides (luteína + zeaxantina) e vitamina E (α , β , γ e δ tocoferóis e tocotrienóis) e seus componentes isolados foram expressos em μ g/100g (base úmida e seca). A concentração total de flavonoides (DXAs: luteolinidina, apigeninidina, 5-metoxi-luteolinidina e 7-metoxi-apigeninidina; flavonas:

luteolina e apigenina; e flavanonas: eriodictiol e naringenina) e de seus componentes isolados foi expressa em µg/g de amostra (base úmida e seca).

O equivalente de α-tocoferol foi calculado utilizando a equação: (α-tocoferol × 1,0) + (β-tocoferol × 0,5) + (γ-tocoferol × 0,1) + (δ-tocoferol × 0,03) + (α-tocotrienol × 0,3) + (β-tocotrienol × 0,05) (U. S. Institute of Medicine, 2000).

2.5 Validação das Metodologias

Foram realizados testes para validação das metodologias utilizadas para as análises de tiamina, riboflavina e piridoxina (Material Suplementar, Tabela 4).

As demais metodologias utilizadas para análise de carotenoides, vitamina E e flavonoides foram previamente validadas para análise de sorgo (RODRIGUEZ-AMAYA et al., 1976; PANFILI et al., 2004; DYKES et al., 2009; PINHEIRO-SANT'ANA et al., 2011; YANG et al., 2012; CARDOSO et al., 2014).

2.5.1 Recuperação

Os testes de recuperação das vitaminas foram realizados por meio da adição dos padrões às amostras na proporção de 20 a 100% da concentração média original observada. As porcentagens de recuperação foram obtidas a partir da seguinte equação:

$$R = [Q(O+S) - Q(O) / Q(S)] \times 100$$

Onde:

R: porcentagem de recuperação;

Q(O+S): concentração de vitamina na amostra adicionada de padrão;

Q(O): concentração de vitamina na amostra;

Q(S): peso do padrão adicionado à amostra.

2.5.2 Linearidade

A faixa de linearidade foi determinada pela injeção, em duplicata, de seis concentrações crescentes das soluções padrão, utilizando-se as mesmas condições cromatográficas empregadas para análise das amostras. Os dados obtidos para as áreas dos picos foram utilizados para análise de regressão linear (LANÇAS, 2004).

2.5.3 Limites de Detecção e Quantificação

O limite de detecção (LD) foi determinado por meio de diluições sucessivas dos padrões de tiamina, riboflavina e piridoxina, seguida da determinação da menor quantidade detectável, como sendo três vezes o valor médio da amplitude do ruído da linha de base ($S/R \geq 3$). O limite de quantificação (LQ) foi considerado como sendo 10 vezes o LD (CATHARINO et al., 2006).

2.6 Delineamento Experimental

O experimento foi baseado num delineamento central composto rotacional para duas variáveis independentes e cinco níveis. As variáveis independentes estudadas para processar o sorgo por extrusão foram: velocidade de rotação do parafuso (VRP) e temperatura da última (saída do produto) zona de aquecimento zona 3 (TZ3). Os níveis fixados (Tabela 1) foram estabelecidos de acordo com as possibilidades operacionais do equipamento e com base em ensaios prévios.

Na Tabela 2 apresenta-se a matriz do delineamento com níveis codificados e reais. A sequência de execução dos experimentos foi realizada ao acaso, totalizando 12 processos de extrusão.

A concentração de vitaminas (tiamina, riboflavina, piridoxina e vitamina E), carotenoides (luteína e zeaxantina) e flavonoides (3-DXAs, flavonas e flavononas) foram usadas como respostas.

Definida a região de estudo das variáveis independentes, os dados experimentais por resposta foram ajustados a modelos quadráticos da seguinte forma:

$$\hat{y} = \hat{\beta}_0 + \hat{\beta}_1(VRP) + \hat{\beta}_{11}(VRP)^2 + \hat{\beta}_2(TZ3) + \hat{\beta}_{22}(TZ3)^2 + \hat{\beta}_{12}(VRP \times TZ3)$$

Onde \hat{y} é a resposta em avaliação, $\hat{\beta}_i$ são os coeficientes estimados por análise de regressão linear e, em níveis codificados: VRP e $TZ3$ são os fatores lineares, $(VRP)^2$ e $(TZ3)^2$ os fatores quadráticos e $VRP \times TZ3$ o fator de interação.

2.7 Análise Estatística

A análise estatística dos dados foi realizado com o *software* STATISTICA v.7 (StatSoft, Tulsa, EUA), o qual foi utilizado para a verificação da adequação do modelo pela análise dos resíduos, a estimação dos coeficientes de regressão, análise de variância (ANOVA) do modelo testado, com a estimação do erro puro e a perda de ajuste. O valor do teste F nas ANOVAS foi realizado com 5 % de probabilidade. A adequação de um modelo para uso preditivo foi considerado quando $R^2 > 0,70$; com máximo R^2 ajustado e perda de ajuste não significativa. Também foi realizada uma matriz de correlação de *Pearson* das respostas que apresentaram boa adequação do modelo. Os modelos preditivos foram utilizados para representar gráficos de superfície de resposta.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados das análises químicas utilizadas como respostas para o delineamento experimental são apresentados na Tabela 3.

Observa-se na Tabela 4, que na farinha de sorgo extrusada com os parâmetros do ponto central (VRP = 235 rpm, TZ3 = 140°C), a concentração de tiamina foi maior à de piridoxina; γ -tocotrienol e α -tocoferol foram superiores aos demais tocoferóis; zeaxantina foi superior à luteína; 5-MeO-LUT e 7-MeO-

API, superiores às demais 3-DXAs; naringenina e eridictiol apresentaram maior concentração que apigenina.

Os coeficientes de regressão para as variáveis respostas estão apresentados na Tabela 4.

Os resultados de análise cujo coeficiente de regressão foi igual ou maior a 70%, ou seja, que podem prever o efeito das variáveis independentes estão dispostos na Tabela 5 e estão representadas nas superfícies de respostas dispostas na Figura 1.

Os coeficientes estimados que apresentaram p -valor não significativo ($\geq 0,05$) foram eliminados dos modelos (Tabela 4). Todo coeficiente com p -valor baixo ($<0,05$) indica que mudanças no preditor associado com este coeficiente (VRP, VRP2, TZ3, TZ32, VRP x TZ3) estão relacionadas a mudanças na resposta. As respostas com tendência a depender de todos os preditores foram α -tocoferol, luteína, API, apigenina, eridictiol, naringenina e total de flavanonas. Quanto mais coeficientes significativos diferentes do termo constante (β_0), justifica-se melhor o uso do modelo quadrático testado. Assim, as respostas que apresentaram a tendência de depender apenas de um preditor foram: δ -tocoferol e 5-MeO-LUT, do efeito lineal de VRP; γ -tocotrienol, do efeito de interação VRP x TZ3; e equivalentes de α -tocoferol, do efeito lineal de TZ3.

Os modelos de regressão para os atributos químicos dos extrusados de farinha de sorgo, como função das variáveis independentes codificadas (rotação do parafuso e temperatura) são apresentados no Material Suplementar, Tabela 1.

As respostas que não apresentaram coeficiente de regressão significativo são apresentadas no Material Suplementar, Tabela 2.

As respostas: β -tocoferol, luteolina e total de flavonas não apresentaram coeficiente de regressão significativo do termo constante do modelo $\hat{\beta}_0$ (p -valor $\geq 0,05$). Isto ocorreu devido ao fato destes compostos (Material Suplementar, Tabela 3) apresentarem dados diferentes no ponto central (nenhum deles apresentou repetitividade).

A não significância nos demais coeficientes destas respostas indica que, a média da concentração de cada composto foi estatisticamente igual, quando realizaram-se mudanças nas variáveis independentes dentro da região estudada. Qualquer combinação de variáveis independentes utilizada no processo de extrusão do presente estudo degradou estes compostos em proporções similares. Com isso, recomenda-se mudar a região de experimentação para níveis menos severos de rotação do parafuso e temperatura, para voltar a modelar os dados desses compostos.

3.1 Validação de Metodologias

As porcentagens de recuperação para estas vitaminas foram, respectivamente: 114,6%; 92,1% e 99,3% para tiamina, riboflavina e piridoxina recuperação, uma vez que refletiram ótima eficiência dos processos de

extração e análise (processo adequado de limpeza dos extratos, baixos níveis de perdas durante a extração e análise e baixo nível de erros).

De forma similar, os coeficientes de linearidade obtidos se mostraram excelentes e refletiram ótima linearidade dos dados, uma vez que foram muito próximos ao valor de 1. Já os limites de detecção e quantificação apresentaram valores muito baixos, o que indica uma maior sensibilidade dos métodos utilizados para a quantificação de compostos presentes em pequenas quantidades nas matrizes alimentares.

3.2 Vitaminas do Complexo B

Para esta classe de compostos, a análise de regressão múltipla para os modelos foram altamente significativas (p -valor $< 0,01$), não apresentaram falta de ajuste e seus coeficientes de determinação múltipla (R^2) foram altos (valores $> 0,70$).

Tiveram efeito significativo sobre a concentração de tiamina, os fatores linear e quadrático da rotação do parafuso (p -valor $< 0,01$), o fator linear da temperatura (p -valor $< 0,01$) e o fator de interação (p -valor $< 0,05$). O gráfico de superfície de resposta para a concentração de tiamina como função da rotação do parafuso e da temperatura é dado na Figura 1a. Em níveis baixos de temperatura, a concentração de tiamina não foi afetada pelo aumento da rotação do parafuso. Em níveis altos de temperatura, a taxa de variação de tiamina (sua concentração) tendeu a não mudar em níveis de rotação do parafuso próximo a 235 rpm. Em níveis baixos de rotação do parafuso não houve variação na concentração de tiamina, independente de mudanças na temperatura. Em níveis altos de rotação do parafuso, a concentração desta vitamina variou de forma diretamente proporcional a mudanças na temperatura (quanto maior a temperatura, maior a concentração de tiamina).

Como observado na Tabela 5, o efeito combinado do aumento da temperatura e da velocidade de rotação do parafuso não resultou na degradação em altas temperaturas de tiamina, porém observou-se redução da sua concentração quando se utilizou maior valor de rotação do parafuso, correspondendo ao maior cisalhamento provocado pela ação mecânica. Dessa forma, o processamento em altas temperaturas não seria suficiente para ocasionar degradação de sua estrutura quando associada a alto cisalhamento. Por outro lado, em condição de temperaturas mais baixas associada à alta rotação do parafuso, observou-se expressiva redução da sua concentração.

As mudanças na concentração de tiamina apresentaram correlação positiva com as concentrações de API e 7-MeO-API, porém houve correlação negativa com a concentração de δ -tocotrienol (p -valor $< 0,01$) (Tabela 5).

Em relação à piridoxina, os fatores quadráticos da rotação do parafuso e da temperatura apresentaram efeito significativo sobre sua concentração (p -valor $< 0,05$). Conforme ilustrado na Figura 1b, a taxa de variação na concentração desta vitamina tendeu a diminuir quando variou-se ambas as variáveis independentes, desde níveis baixos até o nível central (nestas

condições, apesar das mudanças nas concentrações de piridoxina serem reduzidas, houve tendência de aumento da concentração desta vitamina à medida em que se utiliza valores médios de temperatura e rotações do parafuso). Além disso, a taxa de variação de piridoxina tendeu a aumentar quando variou-se ambas as variáveis independentes, desde o nível central até níveis altos (a concentração de piridoxina diminuiu à medida em que são utilizadas temperaturas e rotações do parafuso mais altas). Ou seja, sua taxa de variação tendeu a não mudar no centro da região de experimentação e atingiu um ponto de máxima concentração de piridoxina na combinação 241 rpm e 138°C (níveis intermediários de temperatura e rotação do parafuso). Dessa forma, os maiores valores desta vitamina foram encontrados na condição intermediária de velocidade de rotação do parafuso (235 rpm) e temperatura (140 °C) deste estudo. Tanto o aumento como a redução da velocidade de rotação e temperatura resultaria em degradação de piridoxina nos produtos de sorgo integral obtidos por extrusão.

As mudanças na concentração de piridoxina foram positivamente correlacionadas com mudanças na concentração de δ -tocotrienol e negativamente correlacionadas com mudanças na concentração de API (p -valor < 0,05) (Tabela 5).

Diferente do presente estudo, ao analisar milho extrusado, Beetner et al. (1974) obtiveram reduções de 54% e 92% para as concentrações tiamina e riboflavina, respectivamente. A concentração de riboflavina praticamente não foi afetada, sendo que o mesmo não ocorreu para a tiamina, a qual foi mais sensível. Diante disso, estas vitaminas apresentaram uma estabilidade diferenciada frente a uma mesma condição de extrusão. Em um outro estudo, o aumento da temperatura e da rotação do parafuso aumentou a degradação de tiamina (BEETNER et al., 1976; BJORCK e ASP; 1983).

Também de forma contrária ao presente estudo, a extrusão reduziu a concentração de tiamina e riboflavina no tritcale em 90% e 50%, respectivamente (DE MUELENAERE e BUZZARD, 1969; BJORCK e ASP, 1983). Em contrapartida, quando o milho foi extrusado, as perdas na concentração de tiamina, riboflavina, piridoxina e ácido fólico foram de apenas 10%. Estes resultados sugerem que o efeito da extrusão pode variar em função do tipo de cereal (MERCIER e FEILLET, 1975).

A condição da extrusão pode afetar o efeito sobre os compostos presentes no alimento. Athar et al. (2006) demonstraram que o processamento de cereais, de forma geral, em extrusoras de cano curto utilizadas para a produção de alimentos do tipo lanches mantiveram entre 44% e 62% das vitaminas do complexo B. Esta retenção foi superior ao observado quando milho foi processado em extrusoras de cano longo (20% de retenção).

Em outro estudo também com milho extrusado, foi observado resultados similares, onde mesmo com diferentes estabilidades, a riboflavina e a niacina se destacaram perante às demais vitaminas do complexo B por terem apresentado maior estabilidade. A piridoxina se manteve estável durante a

extrusão deste cereal, porém, foi ligeiramente reduzida na aveia e no milho. Os resultados têm demonstrado a tiamina como a vitamina do complexo B menos estável durante a extrusão (MERCIER e FEILLET, 1975).

Deve se levar em conta que os efeitos da extrusão industrial nas características químicas e funcionais de cereais podem variar em função do tipo de cereal, tipo de composto e de tipo e condições da extrusão (tipo da extrusora, temperatura, rotações do parafuso da extrusora), o que pode ocasionar efeitos variados nas concentrações de vitaminas e compostos bioativos de matrizes extrusadas. Estudos sobre este tema ainda são escassos e devem ser objeto de estudos futuros.

3.3 Carotenoides

Foram realizadas análises de variância para testar o modelo quadrático sobre os dados dos compostos bioativos após o processamento por extrusão de farinha de sorgo, variando a velocidade de rotação do parafuso (VRP) e a temperatura do canhão na terceira zona (TZ3).

Os modelos para luteína, zeaxantina e total de carotenoides não foram significativos (p -valor $\geq 0,05$) e apresentaram falta de ajuste (p -valor $< 0,05$). Isto indica que as diferentes temperaturas e rotações do parafuso não influenciaram as concentrações de luteína, zeaxantina e o total de carotenoides. Este fato pode ser explicado pela dispersão dos resíduos versus os valores preditos. Para estes compostos, o Material Suplementar, Figuras 1a, 1b e 1c mostram que os tratamentos T2, T4 e T8, com as maiores temperaturas de cocção para extrusão, apresentaram altos resíduos.

Na Figura 1 do Material Suplementar, os tratamentos mais distantes da linha horizontal (resíduo 0) possuem a tendência de acumular mais erro durante a predição de uma resposta. Assim, o modelo nestes compostos químicos falhou, uma vez que predições com T2 (155 rpm – 170°C), T4 (315 rpm – 170°C) e T8 (235 rpm – 182°C) acumularam mais erros nas concentrações de luteína, zeaxantina e total de carotenoides. Isto indica que o modelo utilizado para estes compostos não explicou a variabilidade nas concentrações destes compostos, ou seja, as concentrações dos carotenoides não foram influenciadas pelas variáveis utilizadas (temperatura e rotações do parafuso).

Segundo Basto et al. (2016) e Cardoso et al. (2015), a extrusão industrial provocou perdas nas concentrações de carotenoides (luteína e zeaxantina) em grãos de sorgo. As condições de extrusão utilizadas por estes autores foram diferentes daquelas utilizadas no presente estudo (temperatura e rotações do parafuso da extrusora), o que pode ter justificado resultados discrepantes.

3.4 Vitamina E

A análise de regressão múltipla para o modelo da resposta de α -tocoferol foi significativa (p -valor $< 0,05$), porém a falta de ajuste foi significativa (p -valor $< 0,05$). No entanto, foi observado valor de coeficiente de determinação dos

modelos preditivos superior a 0,81. O modelo de regressão para este composto não conseguiu descrever adequadamente a relação funcional entre os fatores experimentais (VRP e TZ3) e a resposta. Dado que os cinco termos estão incluídos no modelo (graus de liberdade = 5), a falta de ajuste ocorreu pelo resíduo excepcionalmente grande durante a predição pelo modelo (Material Suplementar, Figura 2): para α -tocoferol nos T2, T3, T5 e T8.

A análise de regressão múltipla para os modelos das respostas: δ -tocoferol, equivalentes de α -tocoferol e γ -tocotrienol, foram significativas (p -valor $< 0,05$) e não apresentaram falta de ajuste, porém o seus coeficientes de determinação múltipla (R^2) foram baixos (valores $< 0,70$). Isto indica que a concentração destes compostos não foi influenciada pelas variáveis temperatura e rotações do parafuso.

Os dados experimentais destes compostos (observações) não se encaixaram bem nos seus modelos ajustados obtidos por análise de regressão (Material Suplementar, Figura 3). O extrusado obtido com a combinação T3 foi a que apresentou maior variabilidade na concentração de δ -tocoferol. Esta combinação de VRP e TZ3 afetou particularmente a concentração deste composto, e assim comprometeu ligeiramente o R^2 , que foi de 0,6504. Já as concentrações de γ -tocotrienol e equivalentes de α -tocoferol apresentaram alta variabilidade com mais combinações de VRP e TZ3, como observado na Figura 4, onde γ -tocotrienol apresentou maior variabilidade com T3, T4 e T7 ($R^2 = 0,3541$) e equivalentes de α -tocoferol com T1, T2, T4 e T7 ($R^2 = 0,3537$).

A análise de regressão múltipla para os modelos das respostas: β -tocotrienol e δ -tocotrienol foram altamente significativas (p -valor $< 0,01$), não apresentaram falta de ajuste e seus coeficientes de determinação múltipla (R^2) foram altos (valores $> 0,70$). Os dados experimentais destes compostos se encaixaram melhor nos seus modelos ajustados ($R^2 > 0,70$) (Material Suplementar, Figura 4).

Todos os fatores do modelo quadrático influenciaram significativamente a concentração de α -tocoferol durante o processo de extrusão de farinha de sorgo (p -valor $< 0,01$; exceto para o fator linear da temperatura, com p -valor $< 0,05$). A superfície de resposta para a concentração de α -tocoferol em função da rotação do parafuso e da temperatura é mostrado na Figura 1c. A taxa de variação de α -tocoferol tendeu a aumentar quando variou-se ambas as variáveis independentes, desde níveis baixos até níveis altos (a concentração de α -tocoferol aumentou à medida em que se aumentou os valores das variáveis). A taxa de variação de α -tocoferol tendeu a mudar pouco em níveis baixos de ambas variáveis independentes estudadas (baixas temperaturas e rotações do parafuso não influenciaram a concentração deste composto) e atingiu um ponto de mínima concentração de α -tocoferol na combinação 164 rpm e 121°C (valores baixos das variáveis). Dessa forma, os maiores concentrações indicados de α -tocoferol pelo modelo foi encontrado em duas situações distintas: menor velocidade de rotação do parafuso associada à maior temperatura de processo (182 °C e 122 rpm) e maior velocidade de

rotação de parafuso e menor temperatura de processo (122 °C e 348 rpm). Para que ocorra menor redução da concentração de α -tocoferol, deve ser atendida a condição de processo onde a combinação de alto cisalhamento e temperatura não deve ser buscada. As mudanças na concentração de α -tocoferol apresentaram correlação negativa com mudanças na concentração de β -tocotrienol (p -valor < 0,05) (Tabela 5).

O β -tocotrienol foi afetado significativamente pelo efeito de interação da rotação do parafuso e da temperatura (p -valor < 0,01). A rotação do parafuso teve efeito linear significativo e a temperatura teve efeito quadrático significativo (p -valor < 0,05) sobre este composto. A superfície de resposta apresentada na Figura 1d revela que as variações na concentração de β -tocotrienol foi dependente de mudanças na temperatura. Em temperatura de processo mais baixa, a concentração de β -tocotrienol decresceu fortemente com o aumento da rotação do parafuso, enquanto que ao se processar em temperatura mais alta, a concentração de β -tocotrienol decresceu levemente na medida que foi diminuída a rotação do parafuso. Por outro lado, a taxa de variação de β -tocotrienol aumentou com a temperatura, em níveis baixos de rotação do parafuso. O oposto aconteceu em níveis altos de rotação do parafuso, onde a taxa de variação de β -tocotrienol diminuiu com a temperatura. As condições de processo previstas pelo modelo que indicariam maior concentração de β -tocotrienol seria a combinação de mais baixa velocidade de rotação do parafuso e menor temperatura. No entanto, ainda segundo o modelo poderia ser encontrado em condição de alta rotação do parafuso e temperatura. Na superfície de resposta também se observa uma região onde a taxa de variação de β -tocotrienol é nula (ponto de mínimo), que é a que apresentou menores concentrações deste composto, sendo a combinação de variáveis para atingir este ponto de 268 rpm e 150°C (valores centrais para as variáveis).

A concentração de δ -tocotrienol dos extrusados foi significativamente afetada pelo efeito quadrático da rotação do parafuso (p -valor < 0,01) e pelo efeito linear da temperatura (p -valor < 0,05). A superfície de resposta para a concentração de δ -tocotrienol foi dependente da rotação do parafuso e da temperatura (Figura 1e). A taxa de variação de δ -tocotrienol tendeu a diminuir quando variou-se a rotação do parafuso, desde o nível baixo até o nível central (apesar das variações nas concentrações deste composto foram baixas, houve tendência a aumentar sua concentração à medida em que se aproxima de valores centrais de temperatura e rotações do parafuso). De forma contrária, a taxa de variação tendeu a aumentar quando variou-se a rotação do parafuso, desde o nível central até o nível alto (a concentração de δ -tocotrienol tendeu a diminuir à medida em que se aproxima de pontos mais elevados de temperatura e rotações do parafuso). Ou seja, a taxa de variação de δ -tocotrienol tendeu a não mudar no nível central da rotação do parafuso. A taxa de variação de δ -tocotrienol foi constante com mudanças na temperatura. Na medida em que se aumentou a temperatura, decresceu a concentração de δ -tocotrienol. Assim, em condição intermediária de velocidade de rotação do

parafuso (235 rpm) e baixa temperatura, δ -tocotrienol (abaixo de 120 °C) concentração próxima a 20 μ g ainda seria encontrada. As mudanças na concentração de δ -tocotrienol apresentaram correlação negativa com mudanças na concentração de API (p -valor < 0,01) (Tabela 5).

Segundo Cardoso et al. (2015), a extrusão industrial provocou perdas nas concentrações de tocoferóis e tocotrienóis em grãos de sorgo. As condições de extrusão utilizadas por estes autores foram diferentes das do presente estudo (temperatura e rotações do parafuso da extrusora), o que pode justificar resultados diferentes.

3.5 Flavonoides

3.5.1 3-Desoxiantocianidinas

A análise de regressão múltipla para o modelo da resposta de API foi significativa (p -valor < 0,05), bem como a falta de ajuste (p -valor < 0,05). No entanto, foi observado valor de coeficiente de determinação do modelo preditivo superior a 0,81. O modelo de regressão para este composto não conseguiu descrever adequadamente a relação funcional entre os fatores experimentais (VRP e TZ3) e a resposta. Dado que os cinco termos estão incluídos no modelo (graus de liberdade = 5), a falta de ajuste ocorreu pelo resíduo excepcionalmente grande durante a predição pelo modelo (Material Suplementar, Figura 2) para API T2, T4 e T8.

Todos os fatores do modelo testado influenciaram significativamente a concentração de API (p -valor < 0,01; exceto para o fator de interação, com p -valor < 0,05). O efeito da rotação do parafuso e da temperatura na concentração de API é apresentado na Figura 1f. A taxa de variação de API tendeu a diminuir conforme incrementou-se a rotação do parafuso, indicando que este composto é suscetível à energia mecânica ou cisalhamento e não ao efeito da temperatura. A taxa de variação de API tendeu a aumentar conforme incrementou-se a temperatura do processo, sendo mais notório este efeito em níveis altos de rotação do parafuso. A taxa de variação de API tendeu a mudar pouco em níveis altos de rotação do parafuso e níveis baixos de temperatura, atingindo um ponto de mínima concentração de API na combinação 310 rpm e 104°C. As mudanças na concentração deste composto apresentaram correlação positiva entre a concentração de tiamina (p -valor < 0,01), porém apresentaram correlação negativa com as concentrações de δ -tocotrienol (p -valor < 0,01) e piridoxina (p -valor < 0,05) (Tabela 5).

A análise de regressão múltipla para os modelos das respostas: 5-MeO-LUT e total de 3-DXAs foram significativas (p -valor < 0,05) e não apresentaram falta de ajuste, porém o seus coeficientes de determinação múltipla (R^2) foram baixos (valores < 0,70). Os dados experimentais destes compostos (observações) não se encaixaram bem nos seus modelos ajustados obtidos por análise de regressão (Material Suplementar, Figura 3). Isto indica que as concentrações destes compostos não foi influenciada pelas variáveis. Os extrusados obtidos com a combinação T4 e T8 foram os que apresentaram

maior variabilidade na concentração de 5-MeO-LUT e total de 3-DXAs, respectivamente. Estas combinações de VRP e TZ3 afetaram particularmente a concentração destes compostos, e assim comprometeram ligeiramente o R^2 .

A análise de regressão múltipla para o modelo da resposta de 7-MeO-API foi altamente significativa (p -valor $< 0,01$), não apresentou falta de ajuste e seu coeficiente de determinação múltipla (R^2) foi alto (valor $> 0,70$). Os dados experimentais deste composto se encaixaram melhor no seu modelo ajustado ($R^2 > 0,70$) (Material Suplementar, Figura 4).

De acordo com os resultados da regressão, apenas os fatores lineares da rotação do parafuso e da temperatura foram significativos (p -valor $< 0,05$) na concentração de 7-MeO-API dos extrusados de sorgo. A taxa de variação da concentração deste composto foi constante com ambas as variáveis independentes estudadas (Figura 1g), ao passo que quando se aumentou a rotação do parafuso, a concentração de 7-MeO-API decresceu. O oposto aconteceu com mudanças na temperatura do processo. As variações na concentração de 7-MeO-API apresentaram forte correlação positiva com mudanças na concentração de API e tiamina (p -valor $< 0,01$) (Tabela 5).

3.5.2 Flavonas e Flavanonas

Os modelos para apigenina, naringenina e total de flavanonas foram não significativos (p -valor $\geq 0,05$) e apresentaram falta de ajuste (p -valor $< 0,05$). Isto indica que as concentrações destes compostos não foram afetadas pelas variáveis. Para estes compostos, foram observados altos resíduos nos tratamentos T3, T4 e T6, tratamentos com as maiores rotações do parafuso durante o processo de extrusão (Material Suplementar, Figura 1 d, 1 e e 1 f). Predições com T3 (315 rpm – 110°C), T4 (315 rpm – 170°C) e T6 (348 rpm – 170°C) acumularam mais erros na concentração de apigenina, naringenina e total de flavanonas.

A análise de regressão múltipla para o modelo da resposta de eriodictiol foi significativa (p -valor $< 0,05$), sendo a falta de ajuste também significativa (p -valor $< 0,05$). Foi observado valor de coeficiente de determinação do modelo preditivo superior a 0,81 (o que indica que as variáveis afetaram a concentração deste composto). O modelo de regressão para este composto não conseguiu descrever adequadamente a relação funcional entre os fatores experimentais (VRP e TZ3) e a resposta. Dado que os cinco termos estão incluídos no modelo (graus de liberdade = 5), a falta de ajuste ocorreu pelo resíduo excepcionalmente grande durante a predição pelo modelo (Material Suplementar, Figura 2): para eriodictiol T3, T4 e T6.

Todos os fatores do modelo quadrático influenciaram significativamente a concentração de eriodictiol (p -valor $< 0,01$; exceto para o fator quadrático da temperatura, com p -valor $< 0,05$). A superfície de resposta para a concentração de eriodictiol em função da rotação do parafuso e da temperatura está disposta na Figura 1h. Em níveis altos de temperatura, a taxa de variação de eriodictiol tendeu a diminuir quando variou-se a rotação do parafuso, desde níveis altos até níveis baixos. Já em níveis baixos de temperatura, a taxa de variação de

eriodictiol tendeu a zero no nível central da rotação do parafuso (as concentrações deste composto foram similares entre si). Em níveis baixos de rotação do parafuso, a taxa de variação de eriodictiol tendeu a diminuir com o aumento da temperatura de cocção por extrusão. Em níveis altos de rotação do parafuso, a taxa de variação de eriodictiol foi quase constante com as mudanças na temperatura. Não foi observada correlação alguma entre as mudanças na concentração de eriodictiol e os demais compostos (p -valor $\geq 0,05$) (Tabela 5).

Segundo Cardoso et al. (2015), a extrusão industrial provocou perdas nas concentrações de flavonoides em grãos de sorgo. As condições de extrusão utilizadas por estes autores foram diferentes daquelas do presente estudo (temperatura e rotações do parafuso da extrusora), o que pode justificar resultados diferentes. Estudos acerca deste tema ainda são incipientes e, portanto, devem ser estimulados.

A melhor combinação de temperatura e rotação que, de maneira geral, preservou mais os compostos analisados foi a que utilizou maiores valores de rotação do parafuso e menores valores de temperatura, e portanto é indicada para utilização para a extrusão industrial do sorgo.

De forma contrária, a pior combinação de temperatura e rotação que, de maneira geral, degradou mais os compostos analisados e ocasionou maiores perdas foi a que utilizou menores valores de rotações do parafuso e maiores valores de temperatura e, portanto, deve ser evitada.

4 CONCLUSÃO

Nossos resultados indicam que as variáveis apresentaram comportamentos diferentes frente a cada classe de compostos. A melhor combinação de temperatura e rotação, que preservou mais os compostos analisados, foi a que utilizou maiores valores de rotação do parafuso e menores valores de temperatura, e, portanto, é indicada para utilização para a extrusão industrial do sorgo. A pior combinação de temperatura e rotação, que degradou mais os compostos analisados e ocasionou maiores perdas, foi a que utilizou menores valores de rotações do parafuso e maiores valores de temperatura e, portanto, deve ser evitada. Ainda são incipientes estudos acerca dos efeitos deste processamento nos compostos presentes no sorgo, o que direciona estudos futuros sobre este tema.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Embrapa Milho e Sorgo (Brasil), à Fundação de Apoio à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG, Brasil), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, Brasil) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasil) pelo suporte financeiro e concessão de bolsas de mestrado e de iniciação científica.

6 REFERÊNCIAS

- ABDELSEED, B. et al. Some nutritional attributes of selected newly developed lines of sorghum (*Sorghum bicolor*) after fermentation. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 13, p. 399-409, 2011.
- AFIFY, A. E.-M. M. R. et al. Biochemical changes in phenols, flavonoids, tannins, vitamin E, β -carotene and antioxidant activity during soaking of three white sorghum varieties. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n. 3, p. 203-209, 2012.
- ANUNCIAÇÃO, P. C. et al. Comparing sorghum and wheat whole grain breakfast cereals: Sensorial acceptance and bioactive compound content. **Food Chemistry**, v. 221, p. 984-989, 2017.
- ARELLA, F. et al. Liquid chromatographic determination of vitamins B1 and B2 in foods. A collaborative study. **Food Chemistry**, v. 56, n. 1, p. 81-86, 1996.
- Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of the AOAC**, Washington, D.C. 2005.
- ATHAR, N. et al. Vitamin retention in extruded food products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, n. 4, p. 379-383, 2006.
- BASTO, G. J. et al. Physicochemical properties and carotenoid content of extruded and non-extruded corn and peach palm (*Bactris gasipaes*, Kunth). **LWT-Food Science and Technology**, v. 69, p. 312-318, 2016.
- BEETNER, G. et al. Degradation of thiamine and riboflavin during extrusion processing. **Journal of Food Science**, v. 39, n. 1, p. 207-208, 1974.
- BEETNER, G. et al. Stability of thiamine and riboflavin during extrusion processing of triticale. **Journal of Milk and Food Technology (JMFT)**, v. 39, n. 4, p. 244-245, 1976.
- BERGAENTZLÉ, M. et al. Determination of vitamin B6 in foods by HPLC—a collaborative study. **Food Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 81-86, 1995.
- BHANDARI, B. et al. Flavour retention during high temperature short time extrusion cooking process: a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 36, n. 5, p. 453-461, 2001.
- BJÖRCK, I.; ASP, N.-G. The effects of extrusion cooking on nutritional value—a literature review. **Journal of Food Engineering**, v. 2, n. 4, p. 281-308, 1983.
- CARDOSO, L. D. M. et al. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum (*Sorghum bicolor* L.). **Food Chemistry**, 152, 201-217, 2014.
- CARDOSO, L. D. M. et al. Tocochromanols and Carotenoids in Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Diversity and Stability to the Heat Treatment. **Food Chemistry**, 2014.
- CARDOSO, L. D. M. et al. Phenolic compounds profile in sorghum processed by extrusion cooking and dry heat in a conventional oven. **Journal of Cereal Science**, v. 65, p. 220-226, 2015.
- CATHARINO, R. R. et al. Metodologia analítica para determinação de folatos e ácido fólico em alimentos. **Química Nova**, v. 29, p. 972-976, 2006.
- DE MUELENAERE, H. J. H.; BUZZARD, J. L. Cooker extruders in service of world feeding. **Food Technology**, 1969.
- DICKO, M. H. et al. Evaluation of the Effect of Germination on Phenolic Compounds and Antioxidant Activities in Sorghum Varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 7, p. 2581-2588, 2005.
- DLAMINI, N. R. et al. The effect of sorghum type and processing on the antioxidant properties of African sorghum-based foods. **Food Chemistry**, v. 105, n. 4, p. 1412-1419, 2007.

DYKES, L. et al. Flavonoid composition of red sorghum genotypes. **Food Chemistry**, v. 116, n. 1, p. 313-317, 2009.

FELLOWS, P. et al. Food processing technology: principles and practice. **Tecnología del procesado de los alimentos: principios y práctica**. 2000.

GUY, R. **Extrusion Cooking: Technologies and Application**. Pp.3–5. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd (2001).

KEAN, E. G. et al. Carotenoid bioaccessibility from whole grain and decorticated yellow endosperm sorghum porridge. **Journal of Cereal Science**, v. 54, n. 3, p. 450-459, 11, 2011.

LANÇAS, F. M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. 6. São Carlos: Rima, 2004.

MERCIER, C.; FEILLET, P. Modification of carbohydrate components by extrusion-cooking of cereal products [Wheat, rice, corn]. **Cereal Chemistry**, 1975.

NDAW, S. et al. Extraction procedures for the liquid chromatographic determination of thiamin, riboflavin and vitamin B 6 in foodstuffs. **Food Chemistry**, v. 71, n. 1, p. 129-138, 2000

OCHANDA, S. O. et al. Effects of malting and fermentation treatments on group B-vitamins of red sorghum, white sorghum and pearl millets in Kenya. **J. Appl. Biosci**, v. 34, p. 2128-2134, 2010.

PANFILI, G. et al. Improved Normal-Phase High-Performance Liquid Chromatography Procedure for the Determination of Carotenoids in Cereals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 21, p. 6373-6377, 2004.

PINHEIRO-SANT'ANA, H. M. et al. Method for simultaneous analysis of eight vitamin E isomers in various foods by high performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 47, p. 8496-8502, 2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. et al. Carotenoid changes in ripening *Momordica charantia*. **Annals of Botany**, v. 40, p. 615-624, 1976.

SINGH, S. et al. Nutritional aspects of food extrusion: a review. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 42, n. 8, p. 916-929, 2007.

TAYLOR, J. R. N. et al. Novel food and non-food uses for sorghum and millets. **Journal of Cereal Science**, v. 44, n. 3, p. 252-271, 11, 2006.

U. S. INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids**. Washington, D.C.: National Academy Press, 2000.

YANG, L. et al. Sorghum phenolics demonstrate estrogenic action and Induce apoptosis in nonmalignant colonocytes. **Nutrition and Cancer**, v. 64, n. 3, p. 419-427, 2012.

FIGURAS E TABELAS

Tabela 1. Níveis fixados para as variáveis independentes em estudo.

Fator	Nível codificado				
	-1,414	-1	0	+1	+1,414
Velocidade de rotação do parafuso (rpm)	122	155	235	315	348
Temperatura do canhão na última zona (°C)	98	110	140	170	182

Tabela 2. Condições de extrusão com níveis codificados e reais para o delineamento experimental.

Tratamento (Ordem padrão)	Níveis codificados		Níveis reais	
	Velocidade de rotação do parafuso (VRP)	Temperatura do canhão na última zona (TZ3)	Velocidade de rotação do parafuso (VRP) (rpm)	Temperatura do canhão na última zona (TZ3) (°C)
T1	-1	-1	155	110
T2	-1	1	155	170
T3	1	-1	315	110
T4	1	1	315	170
T5	-1,414	0	122	140
T6	1,414	0	348	140
T7	0	-1,414	235	98
T8	0	1,414	235	182
T9	0	0	235	140
T10	0	0	235	140
T11	0	0	235	140
T12	0	0	235	140

T: tratamento.

Tabela 3. Respostas (concentração em base fresca) para o delineamento central composto rotacional com duas variáveis independentes (VRP e TZ3) e cinco níveis.

Tratamento	Tiamina total (mg/100 g)	Piridoxina total (mg/100 g)	α -tocoferol (μ g/100 g)	δ -tocoferol (μ g/100 g)	β -tocotrienol (μ g/100 g)	γ -tocotrienol (μ g/100 g)	δ -tocotrienol (μ g/100 g)	Eq. α -tocoferol	Luteína (μ g/100 g)
T1	0,1934	0,0562	166,4076	16,9191	99,6512	647,5294	11,4452	848,0599	12,6460
T2	0,2486	0,0221	199,2301	18,4665	0,0000	846,2100	0,0000	721,1039	3,2374
T3	0,0525	0,0440	230,6836	14,9285	0,0000	769,9859	12,9299	1963,4622	3,5463
T4	0,2018	0,0411	198,1013	9,8167	39,8253	734,9223	0,0000	808,6968	13,0508
T5	0,2918	0,0511	191,5340	24,7822	91,3662	754,0664	0,0000	917,8055	3,0870
T6	0,1071	0,0664	207,1315	0,0000	39,7005	675,9087	4,9220	1482,8011	10,7222
T7	0,0958	0,0548	192,0991	16,5503	15,7776	644,8574	13,6438	1063,2809	6,7448
T8	0,1515	0,0620	219,6118	16,2191	30,2850	716,7745	13,2857	0,0000	57,2544
T9	0,1271	0,1044	172,9087	15,6241	47,5141	742,8233	15,7299	1123,8929	3,4797
T10	0,1318	0,1090	173,5341	15,0575	44,9123	754,6735	15,4318	937,3637	3,2488
T11	0,1500	0,0918	177,6692	20,0735	61,4310	799,7258	13,8980	1341,6391	2,9944
T12	0,1158	0,0711	170,2562	12,1857	36,0680	714,7635	10,1107	1591,4647	4,1284

Eq. α -tocoferol: equivalentes de α -tocoferol.

Tabela 3 (continuação)

Zeaxantina (μ g/100 g)	Total de carotenoides (μ g/100 g)	API (mg/100 g)	5-MeO-LUT (mg/100 g)	7-MeO-API (mg/100 g)	Total de 3-DXAs (mg/100 g)	Apigenina (mg/100 g)	Eriodictiol (mg/100 g)	Naringenina (mg/100 g)	Total de flavanonas (mg/100 g)
8,3960	21,0420	60,6651	597,4809	315,5541	1228,9934	86,6400	1648,8062	0,0000	1648,8062
8,2630	11,5004	115,2393	666,2798	400,6807	1505,1250	194,2241	472,7351	1051,0229	1523,7581
7,1426	10,6889	0,0000	397,9626	118,3138	674,8081	89,0515	1558,6822	0,0000	1558,6822
11,3921	24,4429	81,5661	592,9545	319,9948	1259,8485	230,5806	1631,2054	2131,7717	3762,9771
7,3877	10,4747	68,1920	634,0817	315,6359	1271,9120	89,6792	2110,7007	320,2195	2430,9201
6,5359	17,2580	5,0645	384,0732	159,3258	721,2594	2104,9923	4293,0916	16573,4349	20866,5265
5,9090	12,6537	5,6277	500,0555	209,5845	903,3749	86,1830	1629,4414	0,0000	1629,4414
4,1900	61,4444	52,4914	521,2463	264,9195	1078,9435	187,4816	447,6297	1175,1233	1622,7530
8,2250	11,7047	18,9860	491,7821	232,0368	918,5386	311,0402	826,3762	720,6786	1547,0548
8,1978	11,4465	18,8298	490,3462	236,7840	960,5076	312,5492	819,4327	725,3376	1544,7703
8,4037	10,3210	14,6024	475,7005	226,4620	1114,2626	318,1504	866,8546	749,7777	1616,6323
8,0832	12,9431	23,3333	574,1220	297,7708	823,0301	322,1478	929,2347	806,3913	1722,0261

API: Apigeninidina; 5-MeO-LUT: 5-metoxi-luteolinidina; 7-MeO-API: 7-metoxi-apigeninidina.

Tabela 4. Coeficientes de regressão e seus níveis de significância.

Coeficiente de regressão	Tiamina	Piridoxina	α -tocoferol	δ -tocoferol	β -tocotrienol	γ -tocotrienol	δ -tocotrienol	Eq. α -tocoferol	Luteína
$\hat{\beta}_0$	0,131 **	0,094 **	173,592 **	15,735 **	47,481 **	752,997 **	13,793 **	1248,59 **	3,463 **
$\hat{\beta}_1$	-0,056 **	0,004 ns	10,651 **	-5,711 *	-16,612 *	-12,42 ns	1,056 ns	250,252 ns	1,439 **
$\hat{\beta}_{11}$	0,037 **	-0,022 *	11,873 **	-1,511 ns	6,673 ns	-6,064 ns	-6,133 **	30,696 ns	-1,112 *
$\hat{\beta}_2$	0,035 **	-0,003 ns	4,894 *	-0,504 ns	-4,914 ns	33,165 ns	-3,11 *	-348,178 *	8,941 **
$\hat{\beta}_{22}$	-0,001 ns	-0,022 *	15,135 **	0,486 ns	-14,578 *	-23,15 ns	-0,631 ns	-303,635 ns	11,435 **
$\hat{\beta}_{12}$	0,024 *	0,008 ns	-16,351 **	-1,665 ns	34,869 **	-58,436 *	-0,371 ns	-256,952 ns	4,728 **

$\hat{\beta}_0$: Coeficiente estimado para o intercepto; $\hat{\beta}_i$, $\hat{\beta}_{ii}$ e $\hat{\beta}_{ij}$: Coeficientes estimados para os efeitos lineais, quadráticos e para o efeito de interação, respectivamente; $\hat{\beta}_1$: Rotação do parafuso;

$\hat{\beta}_2$: Temperatura; ** Significância a p -valor < 0,01; * Significância a p -valor < 0,05; ns: Não significativo a p -valor \geq 0,05; Eq. α -tocoferol: Equivalentes de α -tocoferol.

Tabela 4 (continuação)

Zeaxantina	Total de carotenoides	API	5-MeO-LUT	7-MeO-API	Total de 3-DXAs	Apigenina	Eriodictiol	Naringenina	Total de flavanonas
8,227 **	11,604 **	18,938 **	507,988 **	248,263 **	954,085 **	315,972 **	860,475 **	750,546 **	1607,621 **
0,084 ns	1,523 *	-22,952 **	-78,301 *	-62,373 *	-197,275 *	361,106 **	519,339 **	3008,283 **	3527,622 **
0,065 ns	-1,004 ns	16,726 **	13,996 ns	7,426 ns	64,581 ns	273,942 **	972,621 **	2917,766 **	3892,088 **
0,211 *	9,152 **	25,302 **	36,72 ns	45,633 *	138,683 *	49,046 **	-346,86 **	605,584 **	258,723 **
-0,891 **	10,588 **	12,942 **	14,783 ns	7,312 ns	61,868 ns	-206,31 **	-109,059 *	-1011,866 **	-1119,225 **
1,096 **	5,824 **	6,748 *	31,548 ns	29,139 ns	77,227 ns	8,486 *	312,149 **	270,187 **	582,336 **

$\hat{\beta}_0$: Coeficiente estimado para o intercepto; $\hat{\beta}_i$, $\hat{\beta}_{ii}$ e $\hat{\beta}_{ij}$: Coeficientes estimados para os efeitos lineais, quadráticos e para o efeito de interação, respectivamente; $\hat{\beta}_1$: Rotação do parafuso;

$\hat{\beta}_2$: Temperatura; ** Significância a p -valor < 0,01; * Significância a p -valor < 0,05; ns: Não significativo a p -valor \geq 0,05; API: Apigeninidina; 5-MeO-LUT: 5-metoxi-luteolinidina; 7-MeO-API: 7-metoxi-apigeninidina.

Tabela 5. Coeficientes de correlação entre atributos químicos dos extrusados de sorgo.

	Tiamina	Piridoxina	α-tocoferol	β-tocotrienol	δ-tocotrienol	API	7-MeO-API	Eriodictiol
Tiamina	1	-0,369 ns	-0,196 ns	0,47 ns	-0,709 **	0,86 **	0,833 **	-0,108 ns
Piridoxina		1	-0,542 ns	0,301 ns	0,692 *	-0,598 *	-0,369 ns	-0,139 ns
α-tocoferol			1	-0,588 *	-0,219 ns	0,004 ns	-0,362 ns	0,218 ns
β-tocotrienol				1	-0,042 ns	0,103 ns	0,237 ns	0,189 ns
δ-tocotrienol					1	-0,714 **	-0,558 ns	-0,341 ns
API						1	0,903 **	-0,277 ns
7-MeO-API							1	-0,407 ns
Eriodictiol								1

** Significância a p -valor < 0,01; * Significância a p -valor < 0,05; ns: Não significativo a p -valor \geq 0,05; API: Apigeninidina; 7-MeO-API: 7-metoxi-apigeninidina.

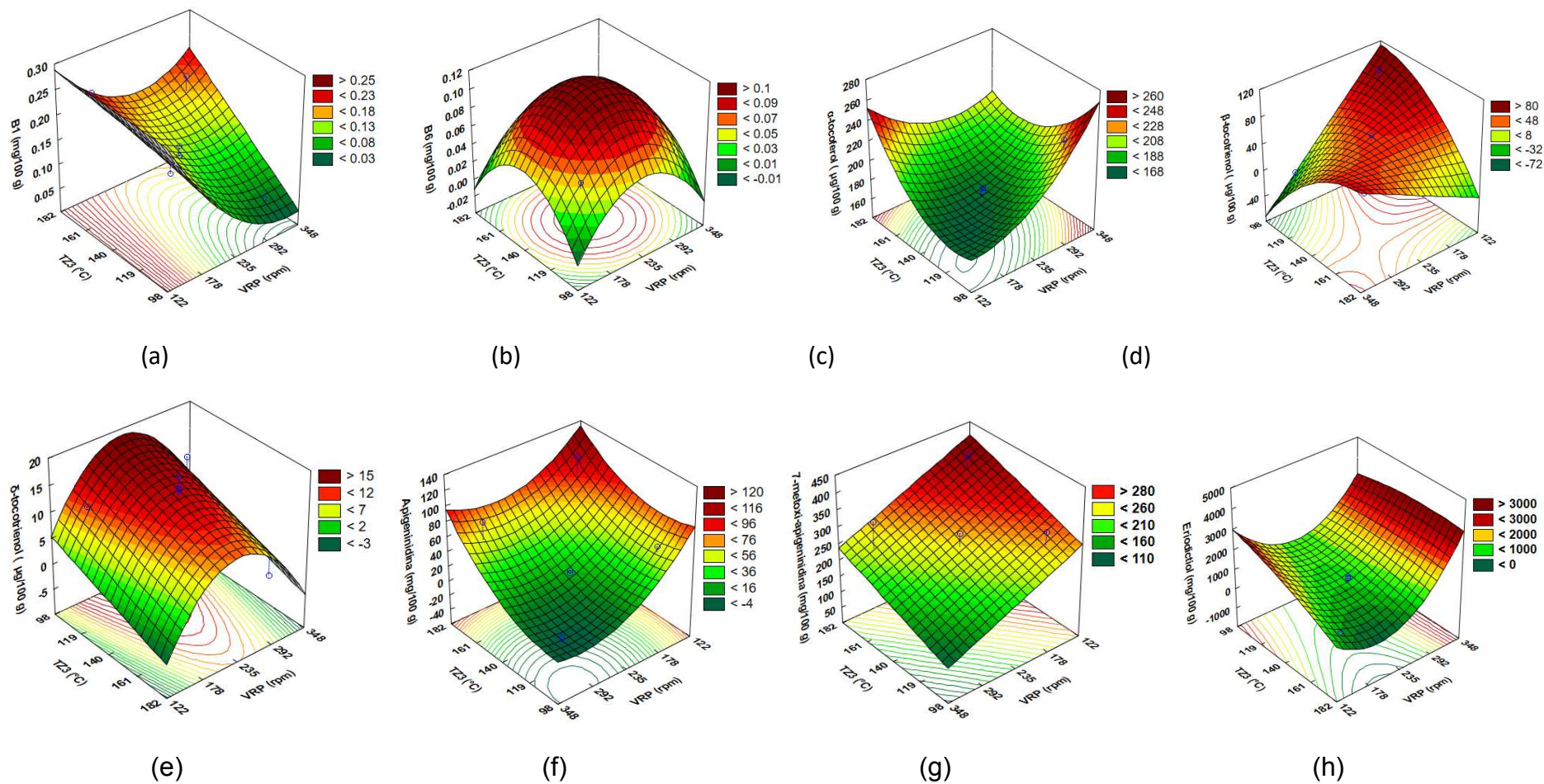


Figura 1. Superfície de resposta para as concentrações de vitaminas e compostos bioativos em função da rotação do parafuso e da temperatura. (a) Tiamina; (b) Piridoxina; (c) α -tocoferol; (d) β -tocotrienol; (e) δ -tocotrienol; (f) Apigeninidina; (g) 7-metoxi-apigeninidina; (h) Eriodictiol. VRP: Velocidade de rotação do parafuso.

MATERIAL SUPLEMENTAR

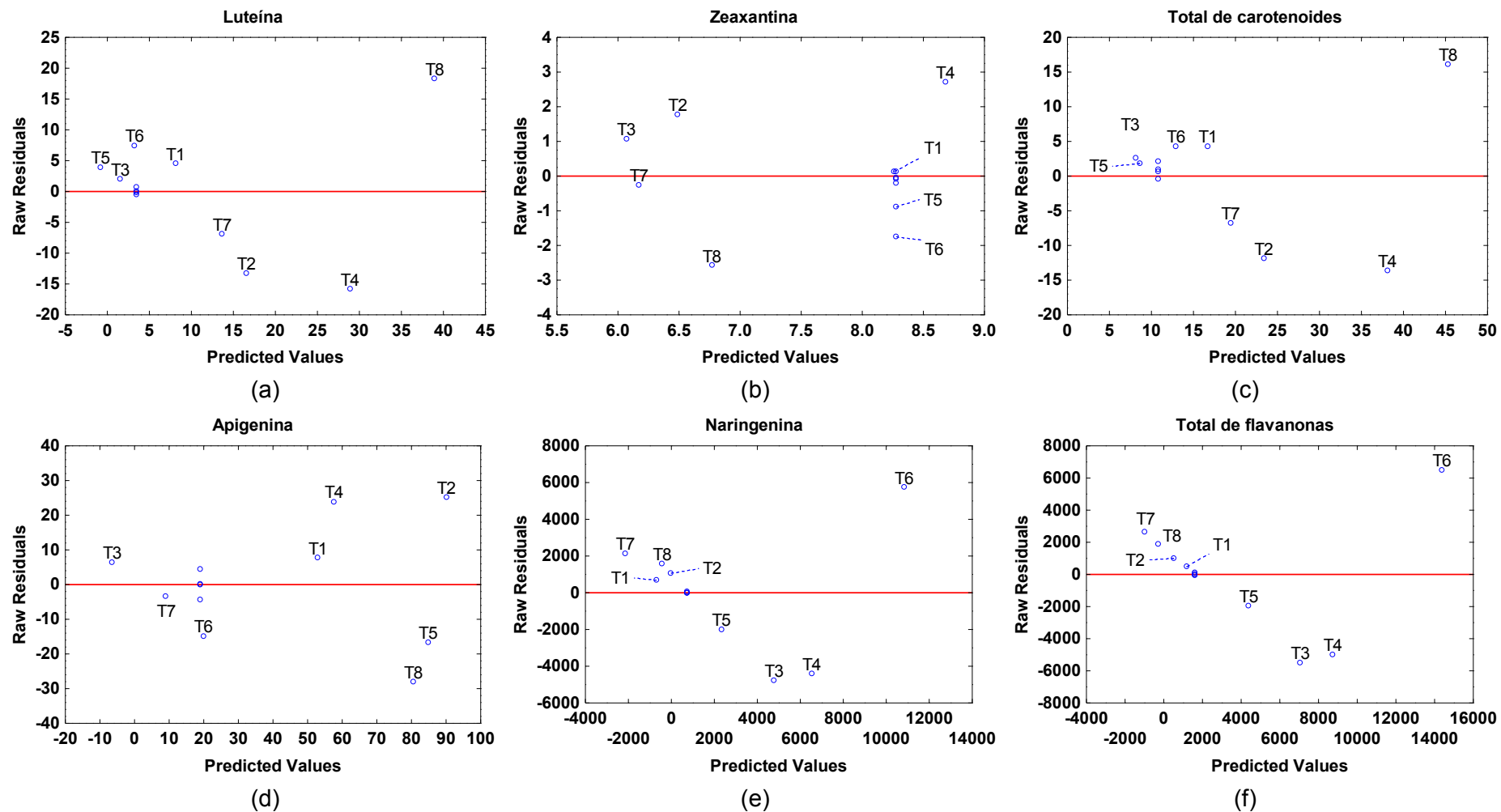
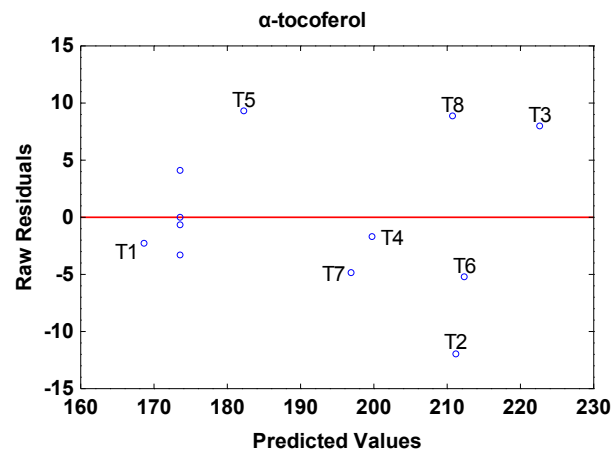
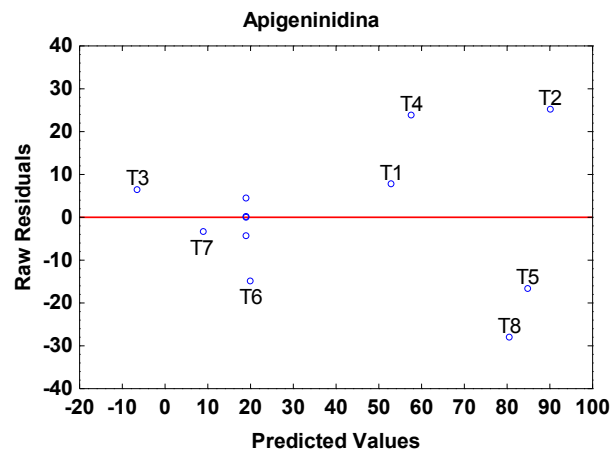


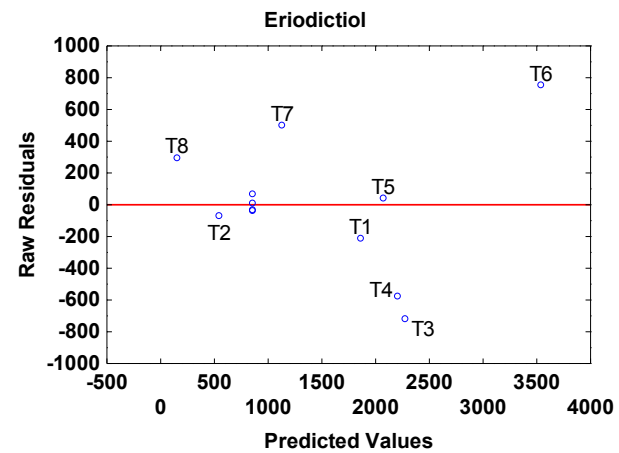
Figura 1. Análise de resíduos para as respostas com modelos de regressão não significativos.



(a)



(b)



(c)

Figura 2. Análise de resíduos para as respostas com modelos de regressão significativos e falta de ajuste.

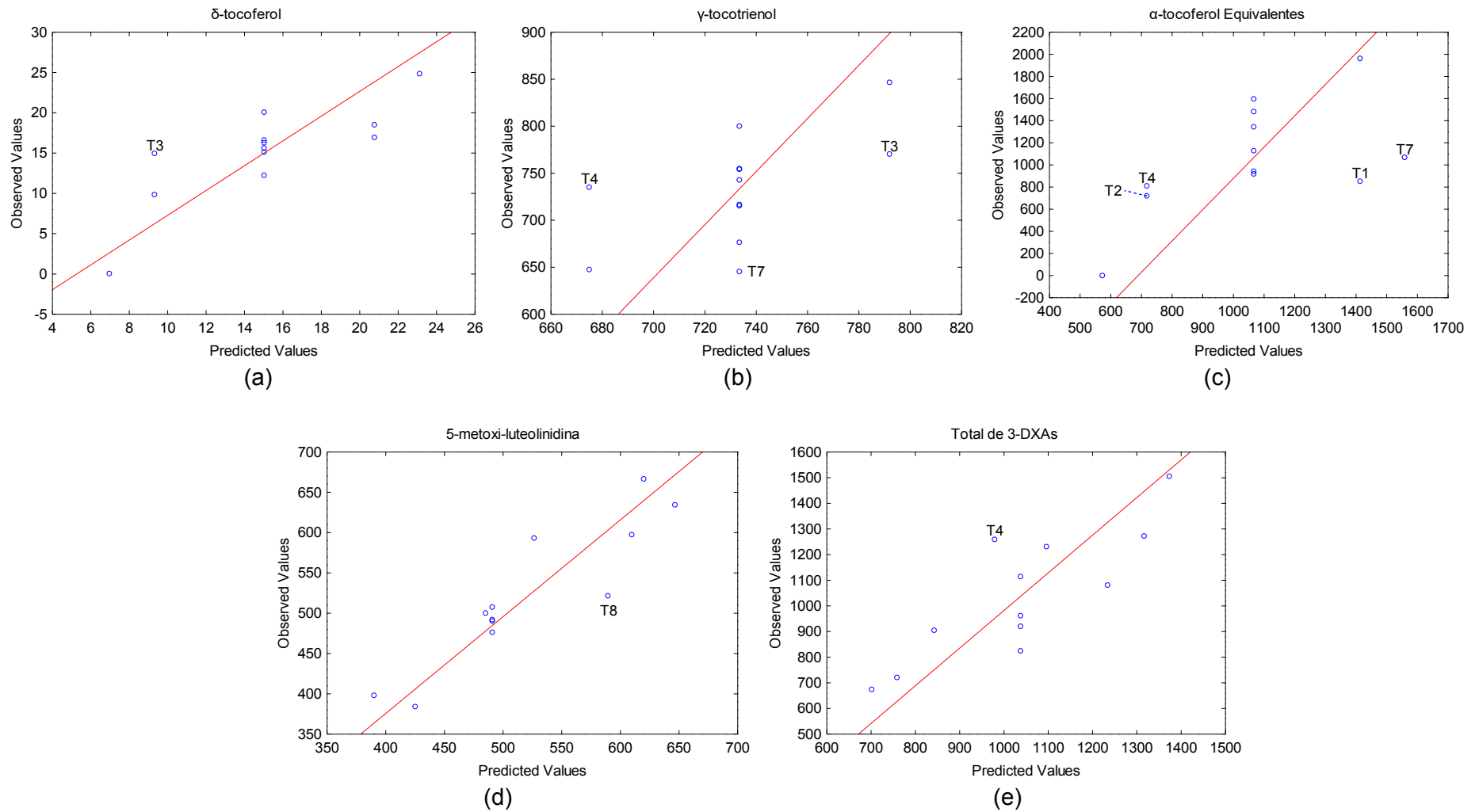


Figura 3. Análise de resíduos para as respostas com coeficientes de determinação múltipla baixos (R^2).

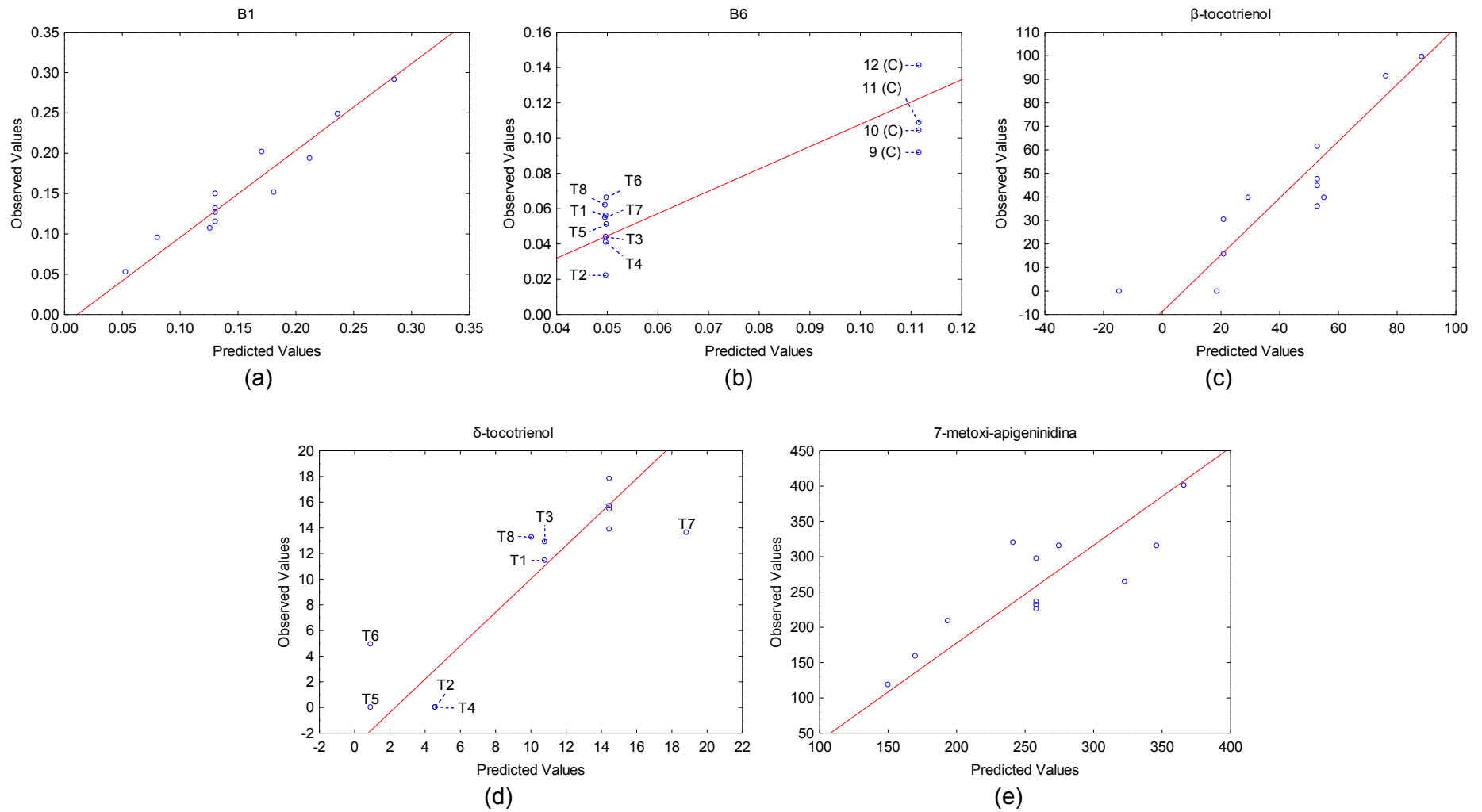


Figura 4. Análise de resíduos para as respostas com coeficientes de determinação múltipla altos (R^2).

Tabela 1. Modelos ajustados que explicam mais de 70% da variabilidade nos compostos do extrusado de sorgo em função da rotação do parafuso e a temperatura de extrusão.

Resposta	Modelo	R ²
Tiamina	$0,131 - 0,056 \text{ VRP} + 0,037 \text{ VRP}^2 + 0,035 \text{ TZ3} + 0,024 \text{ VRP} \times \text{TZ3}$	0,9289 ^b
Piridoxina	$0,094 - 0,022 \text{ VRP}^2 - 0,022 \text{ TZ3}^2$	0,7013 ^c
α -tocoferol	$173,592 + 10,651 \text{ VRP} + 11,873 \text{ VRP}^2 + 4,894 \text{ TZ3} + 15,135 \text{ TZ3}^2 - 16,351 \text{ VRP} \times \text{TZ3}$	0,9007 ^a
β -tocotrienol	$47,481 - 16,612 \text{ VRP} - 14,578 \text{ TZ3}^2 + 34,869 \text{ VRP} \times \text{TZ3}$	0,8283 ^b
δ -tocotrienol	$13,793 - 6,133 \text{ VRP}^2 - 3,11 \text{ TZ3}$	0,7361 ^c
API	$18,938 - 22,952 \text{ VRP} + 16,726 \text{ VRP}^2 + 25,302 \text{ TZ3} + 12,942 \text{ TZ3}^2 + 6,748 \text{ VRP} \times \text{TZ3}$	0,8188 ^a
7-MeO-API	$248,263 - 62,373 \text{ VRP} + 45,633 \text{ TZ3}$	0,7220 ^c
Eriodictiol	$860,475 + 519,339 \text{ VRP} + 972,621 \text{ VRP}^2 - 346,86 \text{ TZ3} - 109,059 \text{ TZ3}^2 + 312,149 \text{ VRP} \times \text{TZ3}$	0,8488 ^a

^a Apresentaram falta de ajuste. ^b R²-prediction > 0,5; ^c R²-prediction < 0,5; API: Apigeninidina; 7-MeO-API: 7-metoxi-apigeninidina.

Tabela 2. Respostas (concentração em base fresca) para o delineamento central composto rotacional com duas variáveis independentes (VRP e TZ3) e cinco níveis, que não apresentaram coeficientes significativos.

Tratamento	Riboflavina (mg/100 g)	β -tocoferol ($\mu\text{g}/100 \text{ g}$)	γ -tocoferol ($\mu\text{g}/100 \text{ g}$)	α -tocotrienol ($\mu\text{g}/100 \text{ g}$)	Vitamina E total ($\mu\text{g}/100 \text{ g}$)	LUT (mg/100 g)	Luteolina (mg/100 g)	Total de flavonas (mg/100 g)
T1	0,0450	1209,4306	0,0000	117,1497	2268,5327	255,2933	89,0842	175,7242
T2	0,0400	963,946	13,0830	126,7944	2167,7304	322,9252	272,2058	466,4299
T3	0,0525	3375,3564	17,1704	142,9859	4556,5763	158,5317	0,0000	89,0515
T4	0,0465	1141,4831	18,7526	118,9764	2261,8777	265,3331	419,9459	650,5265
T5	0,0432	1361,6553	13,9946	129,1089	2566,5075	254,0024	97,3151	186,9943
T6	0,0549	2478,7676	19,3345	107,8912	3533,6560	175,3282	1464,6854	2837,3350
T7	0,0503	1657,2891	18,0058	131,5043	2689,7273	188,1073	10,5672	96,7502
T8	0,0449	1358,5572	13,7958	116,9622	2463,4508	240,2863	237,0728	424,5545
T9	0,0412	1774,3197	14,9918	267,2214	2910,0919	201,7736	591,0056	909,1560
T10	0,0387	1462,0606	17,4955	287,7267	3344,4390	214,5477	405,6913	718,2405
T11	0,0496	2167,1764	21,3137	158,1783	1225,2797	270,0672	1122,5632	1433,6034
T12	0,0667	0,0000	33,3341	12,1857	2379,4391	0,0000	0,0000	0,0000

LUT: Luteolinidina.

Tabela 3. Coeficientes de regressão dos modelos para as respostas que não apresentaram significância.

Coeficiente de regressão	Riboflavina (mg/100 g)	β -tocoferol ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	γ -tocoferol ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	α -tocotrienol ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	Vitamina E total ($\mu\text{g}/100\text{ g}$)	LUT (mg/100 g)	Luteolina (mg/100 g)	Total de flavonas (mg/100 g)
$\hat{\beta}_0$	0,0399 *	1618,1902 ns	16,2437 *	277,474 *	3127,2655 *	208,1607 *	498,3484 ns	813,6□83 ns
$\hat{\beta}_1$	0,0038 ns	490,4122 ns	3,799 ns	-1,4985 ns	468,7432 ns	-33,202 ns	249,0512 ns	480,6964 ns
$\hat{\beta}_{11}$	-0,0023 ns	-362,7285 ns	1,0889 ns	-4,3663 ns	-339,438 ns	31,0282 ns	115,4244 ns	164,4708 ns
$\hat{\beta}_2$	-0,0002 ns	-497,0973 ns	-2,8752 ns	-8,41□5 ns	-548,4741 ns	9,7924 ns	59,2061 ns	67,6923 ns
$\hat{\beta}_{22}$	0,004 ns	140,6324 ns	-0,7973 ns	-78,2095 ns	-38,5059 ns	12,2748 ns	77,0506 ns	213,9893 ns
$\hat{\beta}_{12}$	0,0033 ns	-65,5118 ns	-1,1792 ns	-75,3429 ns	-275,2522 ns	12,0405 ns	-251,5395 ns	-411,7668 ns

$\hat{\beta}_0$: Coeficiente estimado para o intercepto; $\hat{\beta}_i$, $\hat{\beta}_{ii}$ e $\hat{\beta}_{ij}$: Coeficientes estimados para os efeitos lineais, quadráticos e para o efeito de interação, respectivamente; * Significância a p -valor < 0,05; ns: Não significativo a p -valor \geq 0,05; LUT: Luteolinidina.

Tabela 4: Concentração mínima e máxima dos padrões de vitaminas do complexo B para a construção de curvas analíticas e equação de regressão utilizadas para a quantificação dos compostos.

Vitamina	Concentração mínima e máxima dos padrões (ng)	Equação de regressão	R ²	LD (ng/mL)	LQ (ng/mL)
Tiamina	0,08 – 4,35	$y = 2038489.93x + 108766.32$	1,00	0,03	0,35
Riboflavina	0,21 – 21,30	$y = 248925x - 26032$	1,00	0,0010	0,010
Piridoxina	0,17 – 13,05	$y = 339167x - 36329$	0,9936	0,03	0,33

LD: Limite de detecção; LQ: Limite de quantificação.

7 CONCLUSÕES GERAIS

Os efeitos da maceração e germinação nas concentrações e estabilidade de vitaminas, carotenoides e flavonoides do sorgo foram variados. A maceração resultou na maior estabilidade de vitaminas, carotenoides e flavonoides, enquanto que, de forma geral, a germinação resultou em menores retenções dos compostos analisados. Nossos resultados indicam que após a germinação e, especialmente, após a maceração, o sorgo apresenta importante valor nutricional. O sorgo macerado foi classificado como excelente fonte de tiamina e vitamina E, além de ser fonte de riboflavina, enquanto que o sorgo germinado foi classificado como excelente fonte de tiamina, boa fonte de riboflavina e fonte de vitamina E. Nossos resultados sugerem que a ingestão do sorgo principalmente na forma macerada deve ser estimulada. No entanto, a análise sensorial do sorgo após esses processamentos não foi avaliada, o que torna este tema uma sugestão para estudos futuros.

Os efeitos do estalamento e cocção nas concentrações de vitaminas, carotenoides e compostos bioativos do sorgo foram variados. O processamento que provocou maiores perdas, de forma geral, foi o estalamento em forno de micro-ondas, seguido do estalamento em pipoqueira e, por último, da cocção em água. O sorgo estalado em forno de micro-ondas se apresentou como excelente fonte de vitamina E, além de ser fonte de tiamina e piridoxina. Já o sorgo estalado em pipoqueira foi classificado como excelente fonte de tiamina e boa fonte de vitamina E. Por sua vez, o sorgo cozido em água foi classificado como excelente fonte de tiamina e fonte de vitamina E. Assim, estimula-se o consumo do sorgo especialmente em sua forma cozida. Ainda são incipientes estudos acerca dos efeitos destes processamentos nos compostos presentes no sorgo, o que justifica a realização e direcionamento de estudos futuros sobre este tema.

Com relação à extrusão industrial do sorgo, nossos resultados indicam que as variáveis apresentaram comportamentos diferentes frente a cada classe de compostos. A melhor combinação de temperatura e rotação, que preservou mais os compostos analisados, foi a que utilizou maiores valores de rotação do parafuso e menores valores de temperatura, e portanto é indicada para utilização para a

extrusão industrial do sorgo. A pior combinação de temperatura e rotação, que degradou mais os compostos analisados e ocasionou maiores perdas, foi a que utilizou menores valores de rotações do parafuso e maiores valores de temperatura e, portanto, deve ser evitada. Ainda são incipientes estudos acerca dos efeitos destes processamentos nos compostos presentes no sorgo, o que direciona estudos futuros sobre este tema.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com esses estudos inéditos realizados, espera-se contribuir para o avanço nas pesquisas sobre o sorgo, fornecendo informações que possam subsidiar a introdução deste cereal na alimentação humana no Brasil, como um alimento funcional fonte de nutrientes e compostos bioativos. Além disso, a presente pesquisa poderá contribuir para a ampliação do consumo deste cereal por meio do incentivo à extrusão, tornando esse alimento de mais fácil acesso à população.