

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

TAMY CRISTINA GONÇALVES DE LIMA LAMMERS

**EFEITO DO PROCESSAMENTO QUÍMICO E TÉRMICO DO FARELO DE
TRIGO NA SOLUBILIZAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS BENÉFICOS PARA
A SAÚDE HUMANA**

SÃO PAULO

2018

TAMY CRISTINA GONÇALVES DE LIMA LAMMERS

**EFEITO DO PROCESSAMENTO QUÍMICO E TÉRMICO DO FARELO DE
TRIGO NA SOLUBILIZAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS BENÉFICOS PARA
A SAÚDE HUMANA**

Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da
Universidade de São Paulo como requisitos
para a obtenção do título de Mestre em Ciências
de Alimentos.

Área de concentração: Bromatologia

Orientador: Prof. Dr. João Paulo Fabi

SÃO PAULO

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica elaborada eletronicamente pelo autor, utilizando o programa desenvolvido pela Seção Técnica de Informática do ICMC/USP e adaptado para a Divisão de Biblioteca e Documentação do Conjunto das Químicas da USP

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

L158e Lammers, Tamy Cristina Gonçalves de Lima
Efeito do processamento químico e térmico do farelo de trigo na solubilização de polissacarídeos benéficos para a saúde humana / Tamy Cristina Gonçalves de Lima Lammers. - São Paulo, 2018.
101 p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental. Orientador: Fabi, João Paulo

1. Polissacarídeos. 2. Fibras. 3. Trigo. 4. Extração. 5. Alimentos funcionais. I. T. II. Fabi, João Paulo, orientador.

Aluno: Tamy Cristina Gonçalves de Lima Lammers

Título: Efeito do processamento térmico do farelo de trigo na solubilização de polissacarídeos benéficos para a saúde humana

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Mestre em Ciências de Alimentos.

Aprovado em:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr: _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

“A vocês, minha amada família, e por vocês sempre...”

AGRADECIMENTOS

Essa tese é resultado de um trabalho intenso de 2 anos e meio e sem dúvidas, foi o principal motivo para a minha evolução pessoal, profissional e espiritual.

Parecia impossível conseguir uma oportunidade de mestrado na USP, parecia impossível que permitissem a conciliação do mestrado com o emprego, parecia impossível sobreviver com uma bolsa, parecia impossível voltar à um laboratório após 3 anos trabalhando na área estratégica de uma multinacional, parecia impossível sobreviver à qualificação, parecia impossível conseguir uma oportunidade de mestrado no exterior, parecia impossível ficar 3 meses longe da minha família e marido, parecia impossível receber inúmeras visitas durante minha estadia na Argentina, parecia impossível voltar ao Brasil para me despedir da minha amada Mãe Cida, parecia impossível voltar empregada em um momento em que mais precisei, parecia impossível realizar o sonho de ser pesquisadora em uma multinacional de renome, parecia impossível conciliar a escrita dessa tese com as viagens de trabalho, parecia impossível digitar a tese com uma mão e fazer carinho na minha filha de quatro patas Dory Cristina com a outra mão... Parecia tudo impossível, até que eu, com muita fé, dedicação, humildade e apoio, consegui... Parecia impossível, até que eu fiz.

E essas vitórias só se tornaram possibilidades devido ao apoio e amor incondicional de meus amados pais Mara e Osni. A eles que me ensinaram que “depois da tempestade vem a calmaria”. A eles que com seu jeito único e especial deixam o caminho muito mais fácil e a vida bem mais leve.

À minha amada irmã Lyvia, que com seu jeito despojado de ver a vida, me dá inspiração para ser mais tranquila e leve. A ela que junto com nossa mãe me visitou na Argentina e nós 3 tivemos experiências memoráveis.

Ao meu eterno namorado e marido Eduard, que sem dúvidas foi a pessoa que deu todo apoio necessário para a realização dos meus sonhos. A ele, a calmaria que não tenho e que me equilibra nos momentos mais decisivos.

À minha amada mãe de criação, mãe Cida (in memorian), que me escolheu como filha de alma e me ensinou o significado de amor verdadeiro e humildade. A ela, que me esperou para se despedir. A ela, que acalma e sempre acalmará meu coração.

Aos meus amados avós Antônio, Izaíra e Laíde (in memorian) que me ensinaram que a fé move montanhas.

Ao meu querido orientador Professor Doutor João Paulo Fabi, que acreditou em mim em momentos que nem eu mesma podia acreditar. A ele, que topou a loucura de ter uma aluna

que trabalhava. A ele, que esclarece todas as minhas dúvidas. A ele, que me faz ter os raciocínios mais complexos, que jamais imaginei ter! A ele, que tem um futuro brilhante e me permitiu fazer parte de sua história.

A minha amada família Lima, Gonçalves e Lammers, pelo apoio e carinho de sempre.

Às minhas amigas da Mauá Iris, Vivian, Jaqueline e Karina, que entenderam minha ausência durante o mestrado e sempre estão ao meu lado.

Ao Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP e ao FoRC por permitir que esse projeto de pesquisa acontecesse.

Ao CNPq pela bolsa de estudo disponibilizada.

Aos técnicos Tati, Lúcia, Luciane, Tânia e Aline pela dedicação em seu trabalho e auxílio em minhas análises.

Ao Instituto Mauá de Tecnologia e à Técnica Janaina pelo suporte nas análises.

A Professora Elisena, que me ensinou conhecimentos de panificação e principalmente que “o não eu já tenho”.

Ao meu amigo Diego, que conciliou o mestrado na Unifesp com o trabalho e me permitiu enxergar novas possibilidades.

Às minhas amigas Paula e Natasha, que me visitaram na Argentina e compartilharam comigo mais um momento da minha vida.

À Bunge Alimentos pelas amostras de farelo cedidas e às minhas ex companheiras de trabalho Fátima, Nancy, Raquel, Dani e ex gestor Iralla. que permitiu que o mestrado se tornasse realidade.

À minha tia de alma Marli, por ser minha maior inspiração pessoal e profissional.

À Redmacros pela bolsa de estudos no exterior que permitiu que o sonho do mestrado no exterior se tornasse realidade.

À Universidad Nacional de Córdoba que me recebeu de braços abertos.

À querida Gabriela Perez, por acreditar em mim e me receber como uma filha. A ela que tem uma inteligência única e me ensinou demasiadamente.

Às minhas amigas argentinas Malena, Candela e Lorena, que compartilharam comigo momentos incríveis em Córdoba.

E finalmente, o agradecimento à Deus, que permitiu que eu acreditasse, por mais impossível que parecesse...

“Siempre parece imposible, hasta que se hace...”

Nelson Mandela

LISTA DE ABREVIATURAS

AX Arabinosídeos

HPSEC High Performance Size Exclusion Chromatography with Refractive Index
Detector

HPAEC PAD High Performance Anion Exchange Chromatography

H₂SO₄ Ácido Sulfúrico

NaOH Hidróxido de Sódio

NaClO Hipoclorito de Sódio

PNA Polissacarídeos não amido

FAS Fração solúvel

FIS Fração insolúvel

Na₂CO₃ Carbonato de sódio

CR Crescimento relativo

AP Atividade Prebiótica

IP Índice Prebiótico

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Concentração de fibras no grão e farelos de trigo	22
Tabela 2- Teor de arabinoxilanos por tipo de grão.....	24
Tabela 3- Teor de beta-glicanos nos grãos.	25
Tabela 4- Percentual de polissacarídeos nas frações do trigo.....	30
Tabela 5- Composição de polissacarídeos não amido no farelo de trigo.....	35
Tabela 6- Probióticos e os respectivos alimentos que são adicionados.....	36
Tabela 7- Resultado de análise centesimal realizada da amostra fornecida pela indústria.	47
Tabela 8- Resultado do rendimento das FAS do farelo de trigo.....	50
Tabela 9- Peso molecular dos polissacarídeos (KDa) extraídos em solução ácida de H ₂ SO ₄ em diferentes molaridades.	52
Tabela 10- Tamanho dos polissacarídeos (KDa) extraídos em solução alcalina de NaOH em diferentes molaridades.	53
Tabela 11- Tamanho dos polissacarídeos (KDa) extraídos em solução de hipoclorito 10%.....	54
Tabela 12- Comparação do teor de proteínas na fração solúvel nos polissacarídeos com tratamento químico e tratamento químico com a adição da enzima Proteinase K.....	54
Tabela 13- Percentual molar de açúcar por FAS extraída nos diferentes meios.	56
Tabela 14- Quantidade de β-glicanos das frações solúveis estudadas.....	57
Tabela 15- Atividades antioxidantes dos polissacarídeos não amidos extraídos do farelo de trigo.....	58
Tabela 16- Valores de umidade, solubilidade e WAC das amostras.....	59
Tabela 17- Crescimento relativo das FAS do farelo de trigo em diferentes cepas.....	61
Tabela 18- Atividade prebiótica das FAS do farelo de trigo em diferentes cepas.....	62
Tabela 19- Comparação da análise centesimal do farelo obtida a partir de diferentes literaturas	65
Tabela 20- Açúcares encontrados na farinha e no farelo de trigo.	69

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação da estrutura dos arabinoxilanos. Fonte: Angélica & Rocha (2010)	23
Figura 2- Estrutura básica dos β -glicanos em cereais com as ligações β 1-3 e β 1-4. Fonte: Havrlentová et al. (2011)	25
Figura 3- A figura exhibe a matriz da parede celular o farelo de trigo, onde os β -glicanos são representados pela cor azul, as proteínas pela cor vermelha e as manchas em preto representam os carboidratos do grão, como o amido. As siglas indicam as seguintes composições da parede celular: EP – Epiderme, HP – Hipoderme, CC: Células cruzadas, TC: Células tubulares, SC: Casca da semente, NE: Epiderme nuclear, AL: Camada aleurona, ES: Endosperma amiláceo. Fonte: (Adaptado de Lehtinen, 2012).	26
Figura 4- Estrutura esquemática da lignina do farelo de trigo. Fonte: Oliveira, 2015 .	27
Figura 5- Produção mundial do trigo em 2016 pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos.	28
Figura 6- Grão de trigo seccionado ao meio. Fonte: Próprio autor	29
Figura 7- Representação da estrutura de um grão de trigo. Fonte: Adaptado de Onipe et al. (2015).....	30
Figura 8- Processo de moagem com os tipos de moinhos utilizados na indústria.....	31
Figura 9- Regiões de extração - 1: farinha comum, 2: farinha especial, 3: farelo de trigo.....	33
Figura 10- Estrutura do prebiótico inulina. Fonte: Adaptado de Barclay et al. (2010).	37
Figura 11- Fluxograma de extração da fração solúvel não amido do farelo de trigo. ..	49
Figura 12- Gráfico do peso molecular dos polissacarídeos extraídos com solução ácida de ácido sulfúrico em comparação com a água.	51
Figura 13- Gráfico do peso molecular dos polissacarídeos extraídos com solução alcalina de hidróxido de sódio em comparação com a água.....	52
Figura 14- Gráfico do peso molecular dos polissacarídeos extraídos com solução de hipoclorito de sódio 10%.....	53
Figura 15- O gráfico apresenta a FC (capacidade espumante) e FS (estabilidade da espuma) pelas colunas azul e vermelho, onde AC corresponde à extração em meio ácido de 25 e 5 as molaridades de 0,5 e 0,25 M. AG corresponde à extração em água e B às extrações alcalinas, onde 1 e 25 são as molaridades de 0,1 e 0,025 M.	60
Figura 16- Índice prebiótico das FAS extraídas do farelo de trigo.....	63

SUMÁRIO

Resumo	16
ABSTRACT	18
Introdução	20
1 Revisão bibliográfica.....	28
1.1 Trigo.....	28
1.1.1 Estrutura do grão de trigo.....	28
1.2 Farinha de trigo	30
1.2.1 Produtos provenientes da moagem do trigo.....	32
1.3 Farelo	33
1.4 Fibras alimentares	34
1.5 Alimentos probióticos e prebióticos	35
1.6 Reações Químicas das fibras alimentares	37
2 objetivos	39
3 Materiais e métodos	40
3.1 Composição centesimal	40
3.2 Amostras	40
3.2.1 Análise do teor de umidade.....	40
3.2.2 Análise do teor de Proteínas.....	40
3.2.3 Análise do teor de Gorduras.....	40
3.2.4 Análise do teor de cinzas	40
3.2.5 Análise do teor de fibras	40
3.2.6 Análise do teor de carboidratos.....	40
3.3 Tratamento químico das amostras	41
3.4 Separação dos polissacarídeos solúveis em meio aquoso.....	41
3.4.1 Degradação do amido e proteínas remanescente da extração	41
3.4.2 Análise da distribuição do peso molecular dos polissacarídeos solúveis do farelo de trigo	42

3.4.3	Análise da composição de açúcares dos polissacarídeos solúveis do farelo de trigo.....	42
3.4.4	Análise dos compostos fenólicos nas frações dos polissacarídeos solúveis.....	42
3.4.5	Poder redutor dos compostos fenólicos presentes nos polissacarídeos solúveis.....	43
3.4.6	Capacidade de captura de radicais livres	43
3.4.7	Análise dos teores de proteínas nas frações de polissacarídeos solúveis..	43
3.4.8	Análise do teor de β -glicano	43
3.5	Propriedades funcionais	43
3.5.1	Umidade	43
3.5.2	Capacidade de absorção de água (WAC).....	44
3.5.3	Solubilidade	44
3.5.4	Propriedades espumantes	44
3.6	Efeito prebiótico <i>in vitro</i>	44
3.6.1	Cepas e meios de cultura.....	44
3.6.2	Efeito prebiótico <i>in vitro</i>	45
3.6.3	Crescimento relativo (CR)	45
3.6.4	Atividade Prebiótica (PA).....	45
3.6.5	Índice prebiótico (IP)	46
4	Resultados	47
4.1	Análise centesimal do farelo de trigo.....	47
4.2	Determinação do fluxograma de extração da fração solúvel do farelo de trigo.....	47
4.3	Cálculo do rendimento da extração da fração solúvel não amido do farelo de trigo.....	50
4.4	Cromatogramas de distribuição do peso molecular de polissacarídeos extraídos do farelo de trigo.....	50

4.4.1	Análise dos compostos solúveis extraídos com ácido sulfúrico em diferentes concentrações.....	51
4.4.2	Análise dos compostos solúveis extraídos com hidróxido de sódio em diferentes concentrações.....	52
4.4.3	Análise dos compostos solúveis extraídos com hipoclorito de sódio diluído em 10%	53
4.5	Teor de proteína nos polissacarídeos não amido do trigo remanescente após tratamento químico e enzimático com protease.	54
4.6	Análise da quantidade e dos tipos de açúcares das frações solúveis obtidas pelos diferentes tipos de extração	55
4.7	Análise do teor de beta-glicanos nas frações solúveis do farelo de trigo	56
4.8	Compostos fenólicos presentes nas frações solúveis extraídas no farelo de trigo	57
4.9	Propriedades funcionais das frações solúveis do farelo de trigo – Umidades e absorção de água (WAC).....	58
4.10	Propriedades espumantes das frações solúveis do farelo de trigo.....	59
4.11	Efeito prebiótico das frações solúveis não amido do farelo de trigo	61
4.11.1	Crescimento relativo	61
4.11.2	Atividade prebiótica.....	62
4.11.3	Índice prebiótico	62
5	Discussão.....	64
5.1	Composição centesimal do farelo de trigo.....	64
5.2	Características de peso molecular das FAS	65
5.3	Teor de proteína nos polissacarídeos não amido do trigo remanescente após tratamento químico e enzimático com protease.	68
5.4	Composição da parede celular – Análise de açúcares	68
5.5	Teor de β -Glicano nas frações solúveis do farelo de trigo	71
5.6	Compostos fenólicos presentes nas frações solúveis extraídas no farelo de trigo	72

5.7	Propriedades funcionais das frações solúveis do farelo de trigo – Umidades e absorção de água (WAC).....	73
5.8	Propriedades espumantes das frações solúveis do farelo de trigo	74
5.9	Efeito prebiótico das frações solúveis do farelo de trigo.....	75
6	conclusão.....	78
	REFERÊNCIAS	79

RESUMO

LAMMERS, Tamy Cristina Gonçalves de Lima. **Efeito do processamento químico e térmico do farelo de trigo na solubilização de polissacarídeos benéficos para a saúde humana.** 2018. 87 páginas. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

A ingestão regular de fibras alimentares pode auxiliar na redução do risco de certas doenças crônicas, como doenças cardiovasculares, síndromes metabólicas, diabetes tipo 2 e alguns tipos de câncer. Dentre as principais fontes de fibras alimentares, destaca-se o grão de trigo, que é rico em fibras solúveis e insolúveis. O grão de trigo pode ser identificado por três macrorregiões distintas, sendo elas o pericarpo, o gérmen e o endosperma. O principal alimento oriundo do trigo é a farinha produzida através da moagem seriada do endosperma dos grãos, sendo o principal subproduto a casca do grão conhecido como farelo de trigo, cujo pericarpo é o principal constituinte. As fibras alimentares estão concentradas no pericarpo, ou seja, no farelo do trigo, e estão associadas através de uma estrutura tridimensional não uniforme e compactada, o que prejudica a solubilidade de polissacarídeos complexos diminuindo suas biodisponibilidades caso ingeridos na alimentação humana. Apesar do farelo de trigo ser um resíduo com razoável valor biológico e com alto teor de fibras, o principal destino do farelo é a alimentação animal.

Devido ao fato do farelo de trigo possuir baixo custo, elevado teor de fibras e grande volume disponível no mercado, o objetivo desse trabalho é estudar três métodos físico-químicos que modifiquem a estrutura do farelo de trigo e permitam que uma maior quantidade de polissacarídeos se tornem mais solúveis em água. Uma vez diluídas, essas frações de polissacarídeos consideradas como fibras alimentares solúveis (FAS) poderão ser extraídas, isoladas e aplicadas como ingredientes na produção de alimentos funcionais, como margarinas e sucos. Assim, o projeto permitirá que a indústria de alimentos desenvolva uma fonte de fibras solúveis a partir de uma matéria prima de baixo custo e alta produção. As modificações químicas foram feitas em meio alcalino (solução de NaOH nas concentrações 0,025, 0,05 e 0,1M), meio ácido (solução de H₂SO₄ nas concentrações 0,25, 0,5e 1,0M) e com agentes oxidantes (solução de hipoclorito de sódio a 10%). Com relação ao rendimento da extração das frações solúveis, as extrações em meio ácido foram as melhores. Todos os polissacarídeos não amido extraídos do farelo de trigo apresentaram baixo peso molecular e composição de açúcares diferentes. Os polissacarídeos oriundos das extrações em meio ácido demonstraram mais

glicose e um menor percentual de arabinose e xilose ao serem comparadas com a água, enquanto os oriundos das extrações alcalinas apresentaram um teor menor de glicose e maior de arabinose e xilose (em comparação com as frações da água).

A partir da análise de açúcares (foi avaliado maiores quantidades dos monossacarídeos arabinose, xilose e glicose) e do rendimento das extrações, foram escolhidas 5 amostras, sendo elas a fração solúvel extraída em água, H₂SO₄ 0,25 e 0,5M e NaOH 0,25 e 0,1M para as análises do teor de β-glicanos, compostos fenólicos, propriedades funcionais (propriedades espumantes, absorção de água, solubilidade e umidade) e efeito prebiótico. Como resultado, todas os polissacarídeos não amido apresentaram elevada solubilidade e não possuíram propriedades espumantes e de absorção de água (WAC) relevantes. O teor de compostos fenólicos foi reduzido em todas as frações solúveis, quando comparado com o teor de compostos fenólicos do farelo de trigo e o pequeno percentual remanescente de compostos fenólicos possui baixo poder redutor.

Foi encontrado β-glicano em todas as frações dos polissacarídeos não amido extraídas, sendo 0,82% nas frações extraídas em água, 0,97 e 2,79% nas frações extraídas com H₂SO₄ e 5,42 e 4,62% nas frações extraídas com NaOH 0,025 e 0,1M. Embora tenha sido encontrado β-glicano em todas as amostras extraídas, somente as extrações em água e com NaOH 0,1 M apresentaram possível efeito prebiótico *in vitro*.

Palavras-chave: Polissacarídeos. Fibras. Trigo. Extração. Alimentos funcionais.

ABSTRACT

LAMMERS, Tamy Cristina Gonçalves de Lima. **Effect of chemical and thermal processing of wheat bran on the solubilization of polysaccharides beneficial to human health.** 2018. 87 páginas. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

Regular intake of dietary fiber can help to reduce the risk of certain chronic diseases, such as cardiovascular disease, metabolic syndromes, type 2 diabetes and some types of cancer. Among the main sources of dietary fiber is the wheat grain, which is rich in soluble and insoluble fibers. The wheat grain can be identified by three distinct macroregions, they are the pericarp, the germ and the endosperm. The main food made by wheat is its flour produced by serial grinding of the grain endosperm, and the main by-product is the husk of the grain known as wheat bran, whose pericarp is the main constituent. Food fibers are concentrated in the pericarp and are associated through a non-uniform and compacted three-dimensional structure, which impairs the solubility of complex polysaccharides, decreasing their bioavailability when ingested in human food. Although wheat bran is a residue with reasonable biological value and high fiber content, the main destination of the bran is animal feed.

Due to the fact that wheat bran has a low cost, high fiber content and a great volume available in the market, the objective of this work was to study three physic-chemical methods that modify the structure of wheat bran and allow a greater amount of polysaccharides to become more soluble in water. Once diluted, these fractions of polysaccharides considered as soluble dietary fiber (FAS) can be extracted, isolated and applied as ingredients in the production of functional foods such as margarines and juices. Thus, the project will enable the food industry to develop a source of soluble fiber from a low-cost, high-yield raw material. The chemical modifications were made in alkaline medium (NaOH solution at concentrations of 0.025, 0.05 and 0.1M), acid medium (H₂SO₄ solution at concentrations of 0.25, 0.5 and 1.0M) and with oxidizing agents (10% sodium hypochlorite solution). In relation to the extraction yield of the soluble fractions, acid extraction was the best. All non-starch polysaccharides extracted from wheat bran had low molecular weight and different sugar composition. The polysaccharides from acid extraction showed more glucose and a lower percentage of arabinose and xylose when compared to water, while those from the alkaline extractions had a lower glucose content and higher arabinose and xylose (compared to the fractions from water).

From the analysis of sugars (higher amounts of monosaccharides arabinose, xylose and glucose) and extraction yields, 5 samples were chosen, being the soluble fraction extracted in water, 0.25 and 0.5M H₂SO₄ and NaOH 0.25 and 0.1M for analyzes of β-glycan content, phenolic compounds, functional properties (foaming properties, water absorption, solubility and moisture) and prebiotic effect. As a result, all non-starch polysaccharides exhibited high solubility and did not possess relevant foaming and water absorption properties (WAC). The content of phenolic compounds was reduced in all soluble fractions when compared to the phenolic compounds content of wheat bran and the small remaining percentage of phenolic compounds had low reducing power.

β-glucan was found in all fractions of the extracted non-starch polysaccharides, 0.82% in fractions extracted in water, 0.97 and 2.79% in fractions extracted with H₂SO₄ and 5.42 and 4.62% in fractions extracted with 0.025 and 0.1M NaOH. Although β-glycan was found in all the extracted samples, only extractions in water and with 0.1M NaOH showed possible prebiotic effect *in vitro*.

Keywords: Polysaccharides. Fibers. Wheat. Extraction. Functional food.

INTRODUÇÃO

As fibras alimentares têm recebido uma especial atenção dos profissionais de saúde, pois desempenham importante papel na alimentação humana devido as suas ações benéficas no organismo. Embora não se tenha total aceitação na comunidade científica, a ANVISA define as fibras alimentares como “alimentos que auxiliam o bom funcionamento do intestino” (ANVISA RDC 360, 2003). As fibras alimentares são consideradas polissacarídeos estruturalmente diferentes do amido, que se caracterizam pela resistência à hidrólise por meio de enzimas digestivas no trato gastrointestinal, podendo estar atreladas a alguns tipos de proteínas e de compostos fenólicos.

As fibras dos alimentos vegetais são formadas por polissacarídeos não metabolizados pelas enzimas humanas, podendo apresentar alto e baixo pesos moleculares, sendo classificadas em solúveis e insolúveis baseadas em seu grau de solubilidade na água (Meyer, 2014; Cummings & Stephen, 2017). A fração solúvel é fermentada no cólon, gerando gases como metano, hidrogênio e CO₂, além de ácidos graxos de cadeia curta (Topping & Clifton, 2001; Gemen et al., 2011). Em termos de saúde, foi evidenciado que o consumo de fibras solúveis pode reduzir o risco de algumas doenças crônicas, em particular as doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 e alguns tipos de cânceres (Stevenson et al., 2012) além de auxiliar na redução do colesterol sérico (Bernaud & Rodrigues, 2013). São consideradas fibras solúveis as gomas, pectinas, mucilagens, beta-glicanos e hemiceluloses solúveis (Gutkoski & Trombeta, 1999; Buckeridge & Tiné, 2001). Em termos de tecnologia, as fibras alimentares solúveis (FAS) têm maior capacidade de formar géis e atuar como emulsificantes (Yan et al., 2015). Já as fibras insolúveis não sofrem fermentação no cólon (Buckeridge & Tiné, 2001) e, portanto, aumentam o volume das fezes, diminuem o tempo do trânsito intestinal e a glicemia pós-prandial (Menezes et al., 2010). São consideradas fibras insolúveis as fibras estruturais como ligninas, celulosas e algumas hemicelulosas e pectinas insolúveis (Bernstein et al., 2013).

O consumidor está cada vez mais exigente em relação à qualidade nutricional dos alimentos que compõem a sua dieta e essa demanda vem movimentando a indústria de alimentos na busca de novos ingredientes e inovações (Bernardino, 2011). Esses alimentos, que podem ajudar na prevenção de algumas doenças, são conhecidos como alimentos funcionais e as fibras podem fazer parte de sua formulação. Hoje é possível encontrar nas gôndolas de mercado produtos como iogurtes, margarinas, leites fermentados, cereais e águas minerais que alegam serem alimentos funcionais (Raud, 2008). Alimentos prebióticos levam destaque na procura pelo consumidor e são definidos como substâncias alimentares que possuem

oligos/polissacarídeos não-digeríveis (oligofrutose e inulina, por exemplo), que são fermentadas pela microbiota intestinal (Ahamad et al., 2010).

As principais fontes de fibra alimentar são os cereais, vegetais, frutas e oleaginosas, com a quantidade e composição diferindo entre os alimentos de classes distintas ou até mesmo dentro das próprias classes (Araújo, 2014). O grão de trigo é um cereal que possui em média 17g de fibra/100 g de grão e é considerado um dos principais alimentos fonte de fibras (Stevenson et al., 2012). Estruturalmente o grão de trigo é constituído basicamente por três macrorregiões, sendo elas o pericarpo (13 a 17% do peso do grão), o endosperma (80 a 85%) e o gérmen (2,0 a 3,0%). O pericarpo é rico em polissacarídeos não amido (fibras) e minerais (cinzas), portanto é nessa região que as fibras do trigo estão concentradas (Boukid et al., 2018).

O principal produto oriundo do processamento do trigo é a sua farinha que é produzida pela moagem dos grãos. O principal subproduto do processamento do trigo é o farelo de trigo, que apresenta em média 41,5 g de fibras por 100 gramas de grão, remanescentes da estrutura primária do grão (Stevenson et al., 2012). A moagem do trigo gera como produto 25% de farelo e 75% de farinha. Segundo a ABITRIGO (Associação Brasileira da Indústria de Trigo) em 2017 o Brasil moeu 10.619 milhões de toneladas de trigo gerando 2.655 milhões de toneladas de farelo e 7.964 milhões de toneladas de farinha.

O farelo de trigo é constituído pelas camadas externas do grão, o pericarpo e as camadas superficiais da aleurona (localizada entre o endosperma e a casca). Seu conteúdo proteico é similar ao do trigo, embora suas proteínas não sejam de boa qualidade para panificação. Além disso, as partículas remanescentes das partes mais externas do grão no farelo alteram as estruturas das bolhas formadas durante a fermentação, influenciando na retenção do gás pela massa com característica de formação de uma rede proteica viscoelástica (Šramková et al., 2009). O farelo possui um conteúdo maior de cinzas, lipídeos e pentosanas, sendo também uma fonte de vitaminas do complexo B e de minerais (Boukid et al., 2018). As camadas externas do grão contêm em torno de 36,5–52,4% de polissacarídeos não amido (PNA) e os principais componentes presentes nessa região são os arabinosilanos, celulose e beta-glicanos nas quantidades de 70, 24 e 6%, respectivamente (Stevenson et al. 2012). As concentrações de fibra solúvel e insolúvel estão descritas na tabela 1, bem como a comparação dos valores de fibras do grão de trigo inteiro com o farelo:

Tabela 1- Concentração de fibras no grão e farelos de trigo

	Fibras totais (g/100g)	Fibras insolúveis (g/100g)	Fibras solúveis (g/100g)
Grão de trigo	11,6-17,0	10,2-14,7	1,4-2,3
Farelo de trigo	36,5-52,4	35,0-48,4	1,5-4,0

Informações adaptadas de Stevenson et al. (2012).

O farelo de trigo é uma mistura complexa de polissacarídeos solúveis e insolúveis em água. Esses componentes, como celulose, hemiceluloses, proteínas e compostos fenólicos (ligninas) estão firmemente associados uns aos outros através de ligações covalentes e não covalentes. Essas ligações formam uma estrutura tridimensional, não uniforme e compactada, responsável por manter a estrutura do cereal (Santala et al., 2011). É devido a essas interações complexas que a parede celular do trigo possui papel fundamental na proteção aos estresses abióticos e bióticos, como proteção ao sol, poeira e chuva além de proteção contra insetos, fungos e bactérias (Santala et al., 2011).

Sendo assim, apesar do trigo (especialmente o farelo de trigo) possuir quantidade considerável de fibras alimentares solúveis, essas estão pouco disponíveis para extração aquosa e, conseqüentemente, aos seus possíveis efeitos biológicos quando ingeridas pelos seres humanos. Isso ocorre devido à interação intermolecular das estruturas químicas das moléculas que perfazem as fibras totais, prejudicando tanto a indústria, que não consegue utilizar o farelo como fonte de fibras solúveis, quanto os consumidores, que não conseguem disponibilizar as fibras solúveis para a fermentação colônica. Portanto, seria de grande interesse para a indústria de alimentos buscar soluções que agreguem valor a esse resíduo altamente nutritivo (Lehtinen 2012), como por exemplo, a extração de fibras solúveis.

Há pouco consenso sobre a metodologia mais vantajosa para a extração das fibras solúveis do farelo de trigo. As abordagens variam de tratamentos químicos, tais como hidrólise ácida, alcalina ou oxidação, tratamentos enzimáticos e tratamentos mecânicos (Hell et al., 2015). Hell et al. (2015) avaliaram diferentes tratamentos químicos para a extração de arabinoxilanos do farelo de trigo e encontraram efeitos mais efetivos na extração alcalina em comparação com o tratamento enzimático. Porém, o estudo encontrou diferenças estruturais nos compostos isolados.

β -glicanos e arabinoxilanos (AX) são os dois principais componentes estruturais da parede celular primária em cereais, tais como trigo, aveia, cevada e centeio. As quantidades relativas dos dois polissacarídeos variam com as espécies e ambientes de crescimento. As

paredes celulares de cevada e aveia são geralmente ricas em β -glicanos, enquanto as paredes de centeio e de células de trigo contêm níveis mais elevados de arabinoxilanos (Cui et al., 2000). Durante o isolamento de AX, podem ser recuperados outros componentes da parede celular de plantas, tais como β -glicanos, proteínas ou compostos fenólicos (Zhang et al., 2011).

Os arabinoxilanos são os principais polissacarídeos não celulósicos na parede celular do trigo e quando o farelo é utilizado como matéria prima em panificação, parte da viscosidade da massa é resultado do intumescimento dos arabinoxilanos, sendo que essas moléculas podem ser modificadas quimicamente (enzimas ou fermentação ácida) potencializando os seus efeitos (Lehtinen, 2012). Além disso, os arabinoxilanos são considerados fibras alimentares solúveis com reconhecida ação benéfica no organismo humano (Broekaert et al., 2013), como os aumentos das atividades imunomodulatórias e antitumoral (Mendis & Simsek 2014).

A dificuldade na solubilização dos arabinoxilanos presentes na parede celular do trigo pode ser associada pelas ligações covalentes entre os grupos carboxílicos dos grupos dos ácidos urônicos com os grupos hidroxilas do AX, assim como a formação de pontes de ácido diferúlico entre cadeias adjacentes de arabinoxilanos (Zhou, 2010). Estruturalmente, os AX dos cereais são heteropolissacarídeos compostos unicamente por resíduos de xilose (Xyl) e arabinose (Ara). A sua cadeia principal é constituída por resíduos de D-Xyl ρ em ligações β -(1 \rightarrow 4), com ramificações laterais de L-Ara f em ligações α -(1 \rightarrow 2) e/ou α -(1 \rightarrow 3) (Angélica & Rocha, 2010) e sua estrutura está descrita na figura 1.

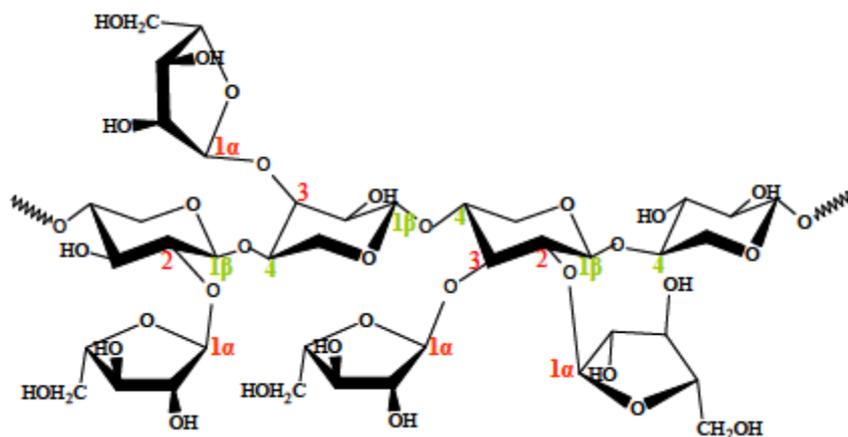


Figura 1- Representação da estrutura dos arabinoxilanos. Fonte: Angélica & Rocha (2010)

O arabinoxilano é um componente importante das paredes celulares do endosperma na maioria das espécies de cereais e está presente em grandes quantidades nos grãos de trigo, centeio e milho. Centeio e trigo têm as maiores quantidades, seguido por cevada, milho, arroz

e aveia. Os níveis mais baixos são encontrados no sorgo (Collins et al., 2010). A tabela 2 exibe o teor de AX de diversos tipos de grãos.

Tabela 2- Teor de arabinosilanos por tipo de grão.

Cereal	Total Arabinosilanos (g/100g farinha)	FAS (g/100g farinha)	FAS % Arabinosilanos totais
Trigo (<i>Triticumaestivum L.</i>)			
Grão inteiro	40-9,0	0,3-0,9	7,5-10
Farinha	1,4-2,1	0,54-0,68	34,0
Farelo	19,4	0,88	4,6
Cevada (<i>Hordeumvulgare L.</i>)			
	3,4-8,0	0,3-0,4	5,3-9,4
Cevada (<i>Hordeumvulgare L.</i>) hulles			
	-	-	-
Aveia inteira (<i>Avena sativa L.</i>)			
	2,2-4,1	0,2	4,9-9,1
Arroz (<i>Oryza sativa L.</i>)			
Farinha	2,6	0,1	2,3
Farelo	4,8-5,1	0,3-0,7	7,3-15
Centeio (<i>Secalecereale L.</i>)			
Grão inteiro	7,1-12,2	0,6-2,4	8,5-19,7
Farinha	3,1-4,3	1,0-1,5	34
Farelo	12,1-14,7	1,0-1,5	8,6-10,0
Sorgo grão inteiro (<i>Sorghum bicolor L.</i>)			
	1,8	0,1	4,4
Milho grão inteiro (<i>Zeamays L.</i>)			
	5,1-6,8	0,5	6-9

Informações adaptadas de Collins et. al. (2010).

β -glicanos solúveis em água têm sido alvo de diversos estudos, pois podem apresentar efeitos benéficos para a saúde humana quando ingeridos, podem melhorar a regulação da glicemia e reduzir níveis de colesterol em pacientes diabéticos. A redução do colesterol no soro sanguíneo e a regulação dos níveis de glicose no sangue estão correlacionadas com a quantidade e peso molecular dos β -glicanos solubilizados no trato gastrointestinal (Comino et al., 2014). Estruturalmente, são definidos como polissacarídeos formados por unidades de D-glicose ligados em longas cadeias glicosídicas por ligações β -(1 \rightarrow 3) e β -(1 \rightarrow 4). As ligações β -(1 \rightarrow 3) são irregularmente espaçadas e dobras moleculares são formadas, evitando assim alinhamentos ou cristalizações nas cadeias dos β -glicanos, e por essa questão estrutural os β -glicanos se

tornam moléculas solúveis em água. Um exemplo de estrutura química de β -glicanos é exibida na figura 2 (Collins et al., 2010).

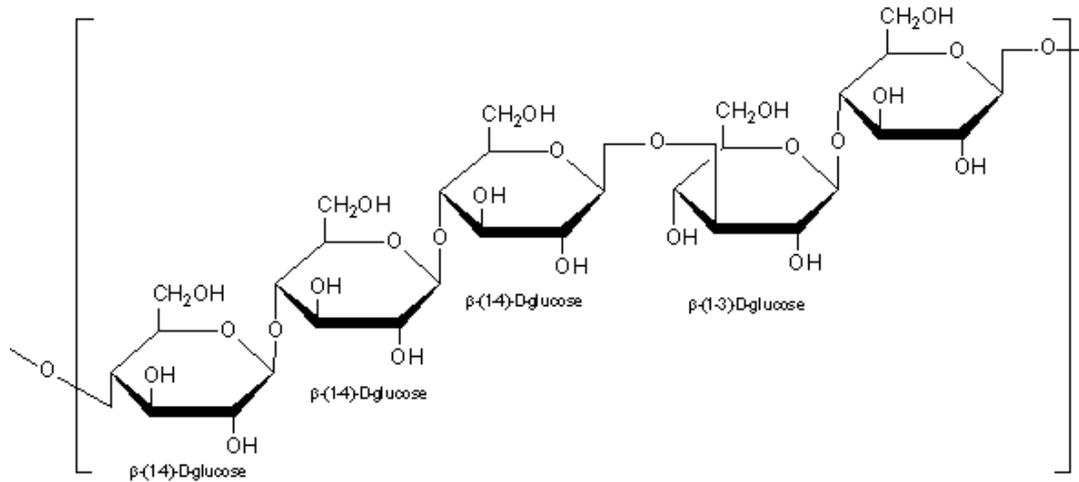


Figura 2- Estrutura básica dos β -glicanos em cereais com as ligações β 1-3 e β 1-4. Fonte: Havrlentová et al. (2011)

Há uma significativa concentração de β -(1 \rightarrow 3) e β -(1 \rightarrow 4) D-glicanos nas camadas da aleurona no grão de trigo (Collins et al., 2010). A tabela 3 exhibe o percentual de β -glicanos encontrados nos cereais e a figura 3 mostra como esse polissacarídeo está distribuído na matriz celular.

Tabela 3- Teor de beta-glicanos nos grãos.

Cereal	Total β -Glicano (g/100g farinha)	FAS (g/100g farinha)	FAS % Total β -Glicano	Tamanho molecular (kDa)
Trigo (<i>Triticumaestivum L.</i>)	0,50-2,30	0,02	1,00-4,00	350,00-800,00
Cevada (<i>Hordeum vulgare L.</i>)	2,00-20,00	1,70-2,60	36,00-54,00	800,00-2.000,00
Aveia (<i>Avena sativa L.</i>)	-	3,70-5,00	82,00-97,00	800,00-2.000,00
Arroz (<i>Oryza sativa L.</i>)	0,10	0,03	23,00	-
Centeio (<i>Secalecereale L.</i>)	1,00-2,00	-	-	-
Sorgo (<i>Sorghum bicolor .</i>)	1,10-6,20	-	-	-
Milho (<i>Zeamays L.</i>)	0,80-1,70	-	-	-

Fonte: Informações adaptadas de Collins et. al. (2010).

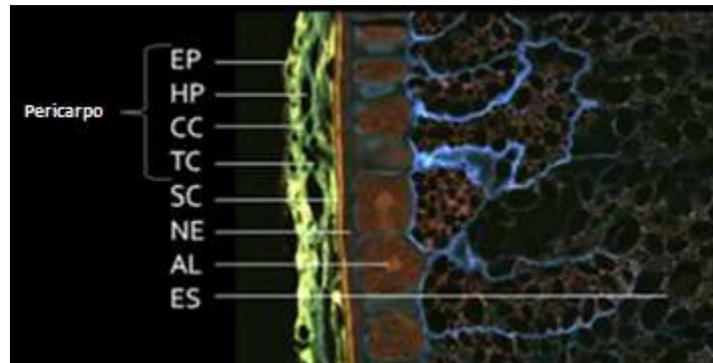


Figura 3- A figura exibe a matriz da parede celular o farelo de trigo, onde os β -glicanos são representados pela cor azul, as proteínas pela cor vermelha e as manchas em preto representam os carboidratos do grão, como o amido. As siglas indicam as seguintes composições da parede celular: EP – Epiderme, HP – Hipoderme, CC: Células cruzadas, TC: Células tubulares, SC: Casca da semente, NE: Epiderme nuclear, AL: Camada aleurona, ES: Endosperma amiláceo. Fonte: (Adaptado de Lehtinen, 2012).

Outro tipo de conjunto de compostos presentes no farelo de trigo são as ligninas. As ligninas são polímeros fenólicos e apesar de não serem carboidratos se enquadram na classificação de fibra alimentar. A lignina, devido às características físico-químicas, não é digerível nem pelo organismo dos ruminantes. Estudos indicam que esses compostos polifenólicos podem prevenir obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares, alguns tipos de câncer e outras doenças gastrointestinais (Oliveira, 2015). Na parede celular do trigo, a lignina atua no fortalecimento e na proteção do grão de trigo ao ataque químico, físico e biológico (Oliveira, 2015). Estruturalmente, a lignina é uma substância hidrofóbica que apresenta uma estrutura tridimensional e amorfa (Ogata, 2013) e essa estrutura é representada na figura 4.

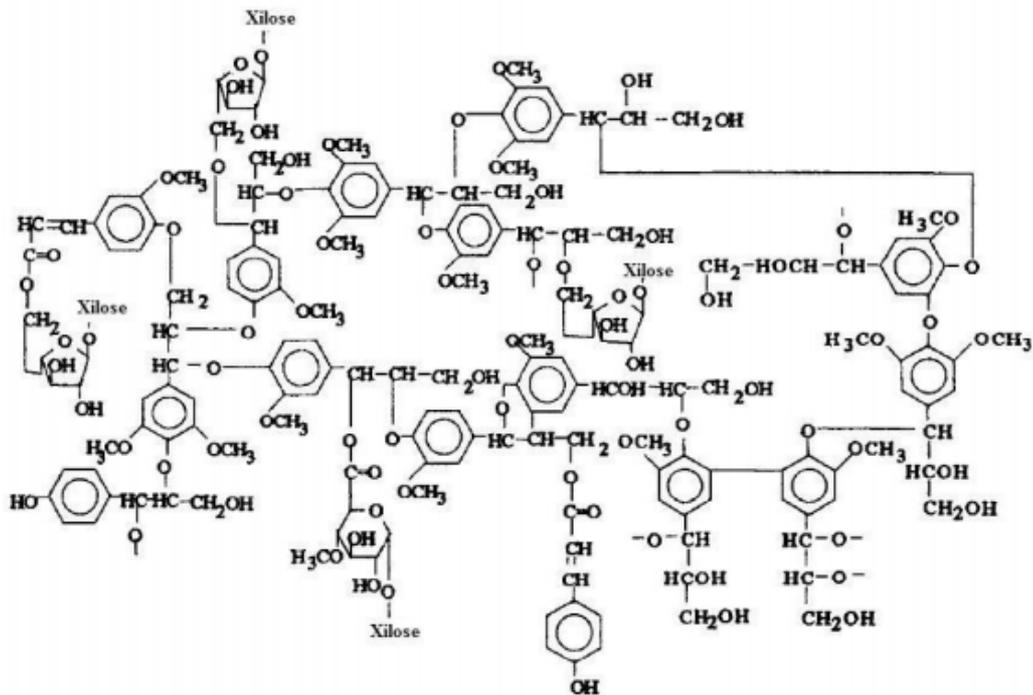


Figura 4- Estrutura esquemática da lignina do farelo de trigo. Fonte: Oliveira, 2015

O farelo de trigo é aplicado na indústria de panificação como matéria prima em produtos onde se deseja elevar o teor de fibras alimentares. Embora o farelo de trigo possua grande potencial como suplemento alimentar devido ao seu elevado teor de fibras e baixo custo de produção, somente uma pequena porção é utilizada com essa finalidade em humanos sendo a maioria utilizada como suplemento de rações para animais de criadouro e/ou de estimação.

Devido ao fato dos polissacarídeos, que compõem as fibras alimentares solúveis do grão de trigo, estarem interagindo fortemente às moléculas de menor solubilidade, uma maneira de aumentar o teor dessas fibras seria aplicar métodos físico-químicos para desfazer essas interações. Sendo assim, seria possível extrair fibras solúveis a partir de uma fonte com baixo custo e elevada disponibilidade de volume no mercado. Portanto, o objetivo desse trabalho é desenvolver métodos físico-químicos que otimizem o processo de extração de fibras solúveis do farelo de trigo com possíveis benefícios para a saúde humana, podendo esses polissacarídeos solúveis serem adicionados em alimentos possivelmente funcionais como margarinas e sucos.

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Trigo

O trigo (*Triticum sp.*) é o cereal com maior volume de produção mundial sendo que o principal produto oriundo da moagem dos seus grãos é a farinha de trigo que é amplamente utilizada na fabricação de pães, massas alimentícias, bolos e biscoitos (Zhao et al., 2017). A importância econômica do trigo é derivada da capacidade do glúten formar filmes elástico-extensíveis, com elevado poder de absorção de água (Zardo, 2010).

Historicamente, o trigo é o cereal mais importante para o cotidiano humano. Sua história se inicia cerca de 10 ou 12 mil anos atrás, contribuindo para o crescimento populacional do homem no mundo. A produção mundial de grãos dedica, em média, 30% das terras cultiváveis para o cultivo do grão de trigo. Economicamente, sua produção interfere diretamente nas balanças comerciais dos países importadores e exportadores (Zardo, 2010). Segundo o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), estima-se que a Produção Mundial de Trigo entre 2016/2017 foi de 744,72 milhões de toneladas métricas, cerca de 0,28 milhões de toneladas a mais do que a projeção do ano anterior. A figura 5 exhibe o consumo de trigo em 2016 nos países de maior hábito de consumo desse grão.

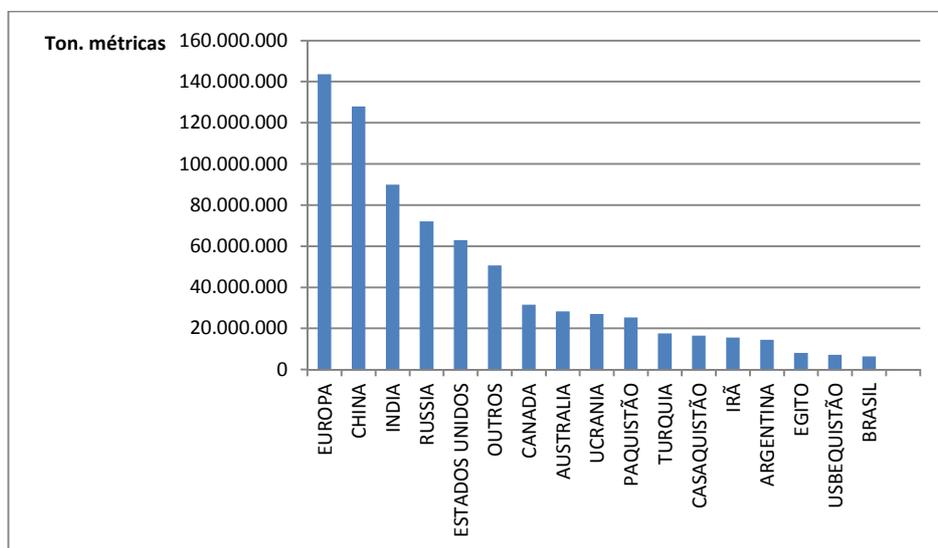


Figura 5- Produção mundial do trigo em 2016 pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos. Fonte: Departamento de Agricultura dos Estados Unidos, 2017

1.1.1 Estrutura do grão de trigo

O grão de trigo é uma cariopse, ou seja, possui uma semente única com 6 a 8 mm de comprimento e 3 a 4 mm de largura. Apresenta um sulco em sua extensão longitudinal da parte ventral, o que dificulta a extração da farinha do grão e exige sucessivas triturações na moagem

para produção de farinha (Scheuer et al., 2011). Através da figura 6 é possível ver a estrutura interna do grão de trigo.



Figura 6- Grão de trigo seccionado ao meio. Fonte: Próprio autor

O pericarpo corresponde à casca, ou seja, a camada mais externa protetora do grão sendo composto pela epiderme, hipoderme, camadas intermediárias, células tubulares, testa e camada hialina. O pericarpo é rico em polissacarídeos não amido (fibras) e minerais (cinzas) e é nessa região que as fibras do trigo estão concentradas. O endosperma corresponde a uma matriz proteica com elevado teor de amido (componentes de reserva) e o gérmen é a parte embrionária da planta, onde consta a maior concentração de lipídios e compostos ligados à germinação do grão de trigo (Scheuer et al., 2011). Há de se destacar que existem inúmeras variedades de trigo que diferem entre si especialmente pela tenacidade do grão, potencial de extração de farinhas, pelo teor de proteínas, pelas características do glúten, pela capacidade de absorção de água e pela atividade enzimática. Estas diferenças apontam para a melhor utilização do trigo em diferentes tipos de farinhas, já que massas, pães, biscoitos e bolos requerem distintas especificações técnicas. As macrorregiões do grão estão exibidas na figura 7.

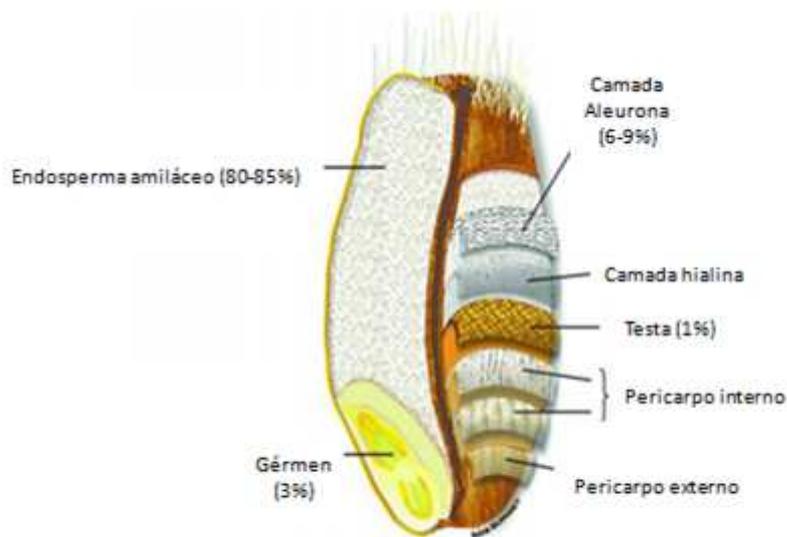


Figura 7- Representação da estrutura de um grão de trigo. Fonte: Adaptado de Onipe et al. (2015).

O amido corresponde a 70% do endosperma do grão de trigo e tem como característica particular sua formação em grânulos (Boukid et al., 2018). É a principal reserva de carboidratos nas plantas e fonte considerável de energia para a alimentação animal e humana com elevada importância comercial. O amido de trigo tem sido explorado na indústria de alimentos, pois confere propriedades características aos alimentos quando utilizado como matéria prima, como a formação de filmes, gelatinização, retenção de umidade e melhoria na textura (Collins et al., 2010). A tabela 4 exhibe os polissacarídeos que compõem as partes do trigo e suas respectivas quantidades.

Tabela 4- Percentual de polissacarídeos nas frações do trigo.

Cereal	Celulose	Gluco- manano	β -Glicano	Hetero- xilano	Pectina	Lignina	Proteína
Aleurona	2	2	29	65	-	-	1
Endosperma	2	2	20	70	-	-	-
Farelo	29	-	6	64	-	8,3	9,2

Fonte: Informações adaptadas de Comino et al. (2013).

1.2 Farinha de trigo

A farinha de trigo é a única com capacidade de formar massas coesas, consistentes, elásticas e extensíveis, característica dada pela presença do glúten que, quando hidratado, forma

uma rede viscoelástica através da interação entre os aminoácidos das frações proteicas gliadina e glutenina (Zardo, 2010).

A taxa de extração da farinha varia de 73 a 77%, dependendo da disposição do diagrama do moinho e do tipo de trigo. As macrorregiões do grão servem como parâmetro para delimitar os produtos obtidos na moagem do cereal. A farinha branca consiste basicamente no endosperma moído e os subprodutos da extração são o gérmen e o farelo de trigo. O farelo de trigo é constituído pelas camadas externas do grão, destacado pelo pericarpo e as camadas superficiais da aleurona (localizada entre o endosperma e a casca), e devido à sua composição, possui elevado valor biológico (Prückler, 2014). Há moinhos onde o gérmen é moído juntamente à farinha, porém isso influencia negativamente nas características do produto final, como a diminuição do *shelflife* devido ao elevado teor lipídico desse componente do trigo. Os processos industriais mais comuns de moagem são conhecidos como processos de redução sucessiva ou de redução gradual. Eles consistem em gradativas fragmentações e separações através de moinhos de rolos e peneirações, sendo o principal objetivo a separação das macrorregiões do trigo (separação entre o farelo do endosperma, que será reduzido até atingir as características padrões da farinha branca). Como produto esses processos de moagem de trigo podem gerar a farinha branca tradicional ou a farinha integral. A figura 8 exhibe os processos de moagem de farinha utilizados em moinhos.

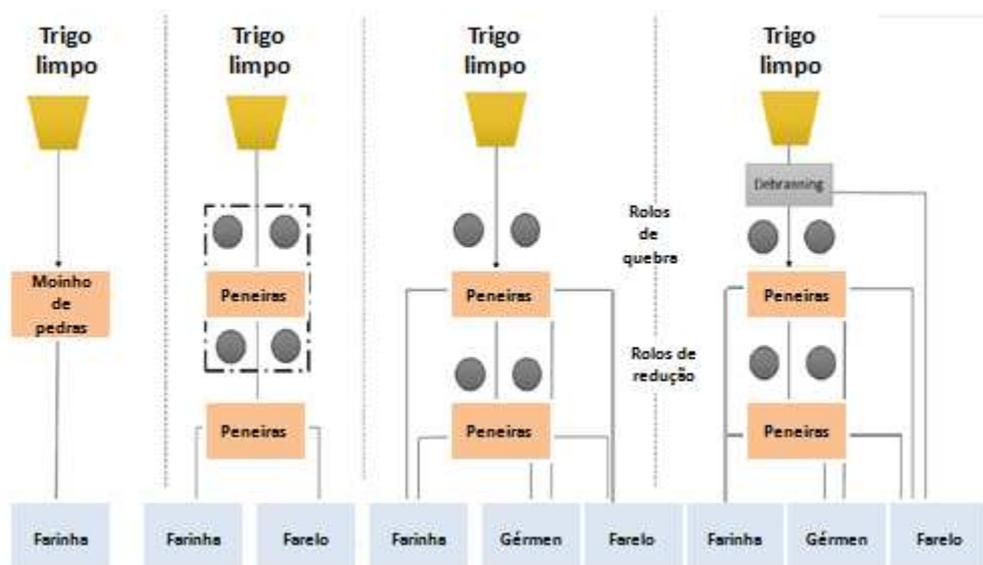


Figura 8- Processo de moagem com os tipos de moinhos utilizados na indústria.
 Fonte: Adaptado de Boukid et al. (2018).

Antes da moagem, os grãos de trigo são “temperados” através da pulverização da água até atingirem uma umidade de 15% e posteriormente são transferidos para um silo de descanso. O tempo de descanso varia de acordo com a dureza do grão do trigo. Durante esse condicionamento, o pericarpo e a camada germinativa do grão absorvem água e o endosperma é amaciado para facilitar o processo de extração. Posteriormente, os grãos são triturados em banco de cilindros ondulados e o endosperma e o gérmen removidos do pericarpo sendo as frações reduzidas separadas de acordo com a macrorregião do trigo (Onipe, 2015).

1.2.1 Produtos provenientes da moagem do trigo

A extração do grão de trigo permite a obtenção de farinhas com diferentes especificações. A diferença entre os tipos está basicamente no grau de extração e teor de cinzas, sendo as especificações dos produtos e subprodutos da moagem como se segue (Zardo, 2010):

- Farinha integral: Proveniente da moagem do grão de trigo inteiro e por esse motivo, possui alto teor de fibras. Utilizado na produção de alimentos integrais;
- Farinha Especial: Extraída da parte central do endosperma e apresenta tonalidade mais clara e quantidade elevada de glúten. É aplicado em massas;
- Farinha Comum: Proveniente da parte externa do endosperma que fica mais próxima da casca. Apresenta tonalidade mais escura, menor teor de glúten. Aplicado em bolos;
- Farinha Inteira: Proveniente da moagem do grão de trigo inteiro, porém com a exclusão do farelo de trigo. Aplicada na fabricação de pães;
- Farelo de trigo: Subproduto da produção de farinha. Costuma ser aplicado em alimentos que almejam o enriquecimento de fibras ou é destinado para ração de animais, destino mais usual;
- Gérmen de trigo: Subproduto da produção de farinha. Costuma ser destinado para a indústria de cosméticos.

A figura 9 exhibe o grão de trigo e indica as regiões formadoras de cada tipo de farinha.

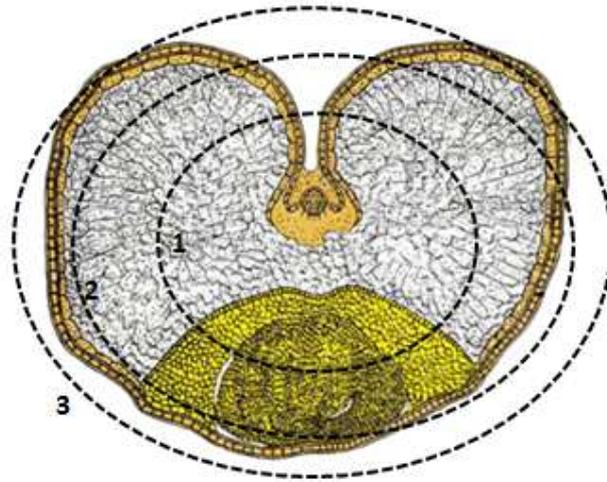


Figura 9- Regiões de extração - 1: farinha comum, 2: farinha especial, 3: farelo de trigo.
Fonte: Próprio autor

1.3 Farelo

O farelo de trigo corresponde à parede celular dos vegetais e é constituído por uma associação entre carboidratos, proteínas, ligninas e minerais, formando uma matriz de estrutura complexa. A constituição da parede celular está intimamente relacionada com o potencial de conservação pós-colheita dos vegetais, bem como a sua resistência contra insetos, patógenos e condições adversas (Santala et al., 2013).

Tratando-se do mercado de alimentos, o farelo de trigo é o principal subproduto dos moinhos de farinha e tem aplicações para o mercado de alimentos (nutrição humana) e não alimentos (nutrição animal). O número de alimentos que incorporam o farelo de trigo como fonte de fibras tem apresentado um elevado aumento desde 2001, porém ainda assim, 90% do farelo gerado como resíduo na moagem do trigo pela indústria de farinha é destinado para alimentação de animais de criadouro ou estimação (Onipe et al., 2015). A composição química da fibra de farelo de trigo é complexa, mas contém, essencialmente, celulose e pentosanas, polímeros à base de xilose e arabinose, que são fortemente ligados a proteínas (Šramková et al., 2009). O farelo de trigo é constituído pelas camadas mais externas do grão, como o pericarpo, as camadas superficiais da aleurona e a testa. O pericarpo é dividido em camadas que contém fibras insolúveis, solúveis e ácidos fenólicos ligados. A camada hialina, conhecida como tecido celular, pertence à camada intermediária do grão. A camada aleurona é a camada mais interna do grão e é parcialmente compartilhada com o endosperma. Essa camada contém ligninas, proteínas, antioxidantes, vitaminas e sais minerais, e devido a essas características funcionais, têm ocorrido uma crescente utilização em estudos relacionados a ingredientes funcionais

(Onipe et al., 2015). A testa é reconhecida como a película que recobre a semente de trigo (Araujo et al., 2014).

Dentre as utilizações mais comuns do farelo de trigo destacam-se a utilização em silagens para alimentação animal e compostagens. Entretanto, devido a sua complexa composição química, o uso deste resíduo para o desenvolvimento de produtos com alto valor agregado se faz promissor, visto que o farelo de trigo constitui uma boa fonte de proteínas e minerais, além de ser uma rica fonte de fibra alimentar.

1.4 Fibras alimentares

O consumo das fibras alimentares pelos seres humanos se deu ao longo da evolução e os benefícios para a saúde humana desse consumo sempre foram conhecidos (Fuller et al., 2016). Embora não haja uma definição universalmente aceita de fibra, todas as definições existentes reconhecem que as fibras alimentares são grupos de polímeros e oligômeros de carboidratos (e lignina) que resistem à digestão no intestino delgado e passam para o intestino grosso, onde são parcialmente ou completamente fermentados. A caracterização das fibras depende do grau de polimerização dos oligossacarídeos e polissacarídeos, do comportamento das fibras na industrialização de alimentos e dos seus efeitos fisiológicos. Porém, a abordagem mais aceita de classificação é diferenciar a solubilidade das diferentes estruturas em uma solução tampão com pH definido e/ou avaliar o grau de fermentação em um sistema *in vitro* (Fuller et al., 2016). Grande parte das fibras é parcialmente fermentada, sendo, portanto, atualmente aceito a classificação das fibras como parcialmente fermentadas, mal fermentadas ou bem fermentadas. Geralmente, as fibras bem fermentadas são solúveis na água, enquanto as fibras parcialmente ou mal fermentadas são parcialmente ou totalmente insolúveis em água (Fuller et al., 2016).

São consideradas fibras solúveis em água as gomas, β -glicanos, pectinas, mucilagens, polissacarídeos de reserva e algumas hemiceluloses, enquanto que as fibras insolúveis estão a celulose, ligninas, pectinas insolúveis e frações insolúveis de hemiceluloses. O efeito fisiológico da fibra solúvel está associado à redução de colesterol e atenuação da resposta da glicose no sangue, enquanto as fibras insolúveis quase não sofrem fermentação no cólon e contribuem apenas para a mobilização do bolo fecal (Meyer, 2014).

No trigo, o seu farelo é a macrorregião do grão onde as fibras estão concentradas, sendo os principais polissacarídeos não amido solúveis os arabinosilanos (AX) e os β -glicanos. O teor desses compostos encontrados no farelo de trigo está descrito na tabela 5.

Tabela 5- Composição de polissacarídeos não amido no farelo de trigo.

Arabinosilanos	70%
Celulose	20%
β -(1,3)/ β -(1,4)-glicano	6%
Outros polissacarídeos	5%

Fonte: Adaptado de Merali et al. (2016) e Stevenson et al. (2012).

1.5 Alimentos probióticos e prebióticos

Os microorganismos que residem no trato gastrointestinal de humanos mantêm uma relação simbiótica com sua espécie hospedeira e desempenham um papel importante nos processos biológicos do hospedeiro, pois auxiliam no metabolismo e na metabolização de nutrientes, na resistência às infecções e na maturação do sistema imunológico. Além de auxiliar em atributos benéficos para a saúde humana, uma microbiota intestinal desbalanceada também pode contribuir para o desenvolvimento de patologias, como as infecções por *Clostridium difficile* e *Campylobacter jejuni*, câncer de cólon, obesidade e diabetes (Tomasik & Tomasik, 2003). A ideia de alterar a microbiota intestinal para melhorar a saúde foi proposta há mais de um século e hoje abrange todo um espectro de ferramentas terapêuticas, desde o transplante de toda a microbiota fecal até a introdução de microrganismos isolados (probióticos). Outra ferramenta importante é o fornecimento de substratos de crescimento, que induzam alterações metabólicas, para os microrganismos residentes (prebióticos) (Bindels et al., 2015). Sendo assim, probióticos são microrganismos vivos cujo objetivo é melhorar a saúde humana quando ingeridos, enquanto prebióticos são substratos para os microrganismos dos hospedeiros e/ou para os probióticos (Gibson et al., 2017).

Os probióticos englobam bactérias dos gêneros *Bifidobacterium* e *Lactobacillus*, e também alguns tipos de leveduras. Os probióticos não são patógenos e sobrevivem às condições do trato gastrointestinal humano, podendo se fixar no intestino humano onde irão se multiplicar e auxiliar na estabilização da microbiota intestinal (Tomasik & Tomasik, 2003). A tabela abaixo mostra os probióticos que são adicionados em alimentos funcionais com o objetivo de tornar um alimento benéfico para a saúde humana.

Tabela 6- Probióticos e os respectivos alimentos que são adicionados.

Probióticos (bactéria ou levedura)	Alimentos	Registro
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Soro de leite, iogurte, manteiga, queijo fermentado	<i>L. acidophilus</i> , Lacidofil, Lakcid, Lakcid forte, Trilac, Yogurt
<i>L. casei Shirota strain</i>	Queijo, Yakult	-
<i>L. delbrueckii</i> sp. <i>Bulgaricus</i>	Iogurte	-
<i>L. plantarum</i>	Pão fermentado	-
<i>L. rhamnosus</i>	Pão fermentado	<i>L. acidophilus</i> , Lacidofilo
<i>L. reuteri</i>	Pão fermentado	-
<i>Bifidobacterium adolescenti</i>	Pão fermentado	-
<i>B. bifidum</i>	Laticínios selecionados	Trilac, Lactobif
<i>B. bree</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. lactis</i>	Leites infantis e queijo	Junior Bifidus Nestle
<i>Saccharomyces boulardii</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>	- - - Enterol	-

Fonte: Adaptado de Tomasik e Tomasik, 2003.

Definem-se prebióticos como ingredientes alimentares não digeríveis que estimulam o crescimento e/ou as atividades das bactérias benéficas à saúde que são hospedeiras no intestino grosso (Bindels et al., 2015). Os oligossacarídeos frutanos (FOS) e galactanos (GOS) não digeríveis são prebióticos que possuem seus efeitos comprovados na saúde humana através de estudos científicos muito bem detalhados. Esse efeito pode ser atribuído à quebra das ligações glicosídicas dos FOS e GOS pelas enzimas β -fructanosidase e β -galactosidase, prevalentes nas bifidobactérias (Gibson et al., 2017). Os açúcares liberados são utilizados como substratos fermentativos pelas mesmas, podendo os produtos serem benéficos à saúde humana (como os ácidos graxos de cadeia curta, por exemplo). A inulina é usada como um ingrediente alimentar funcional que oferece uma combinação única de propriedades nutricionais interessantes e importantes benefícios tecnológicos, pois é uma fibra com capacidade prebiótica. Devido às suas propriedades sensoriais, a inulina é usada na indústria alimentícia como estabilizadora de espuma e emulsões e pode ser um ingrediente que dá corpo, ou seja, substitui a gordura e o açúcar (Rubel et al., 2014). Sua estrutura está representada na figura 10.

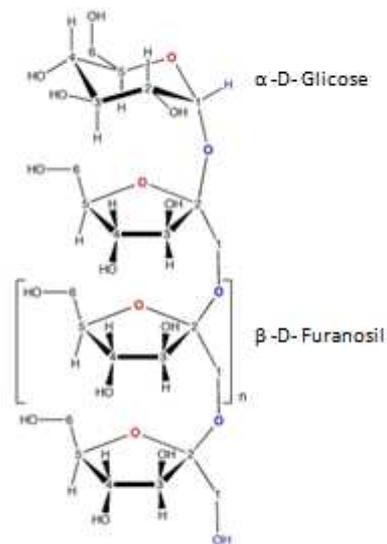


Figura 10- Estrutura do prebiótico inulina. Fonte: Adaptado de Barclay et al. (2010).

1.6 Reações Químicas das fibras alimentares

As moléculas de arabinoxilanos e β -glucanos são encontradas no farelo de trigo nas formas solúveis e insolúveis. Do ponto de vista de funcionalidade, diferentes solubilidades oferecem diferentes benefícios para a saúde humana, portanto, ao controlar a solubilidade de um componente, é possível ter diferentes benefícios para a saúde. Por exemplo, as fibras solúveis tipicamente podem auxiliar na redução da glicemia e colesterol, benefícios que não são provenientes das fibras insolúveis (Comino et al., 2014).

A redução do tamanho de partícula do farelo de trigo e a modificação da sua solubilidade permitem tornar o farelo nutricionalmente mais atraente, uma vez a proporção de fibra dietética pode ser enriquecida. Logo o farelo poderá ser utilizado como um ingrediente de maior valor agregado nos alimentos (Lehtinen, 2011). Como um ingrediente, o farelo tem aplicações na sua forma quimicamente modificada ou como algum componente extraído e purificado (Sibakov et al., 2013). Baseado nisso, é sabido que muitos processos de tratamento químicos e enzimáticos, com o objetivo de produzir novos ingredientes vêm sendo estudados (Onipe, 2015).

O farelo de trigo deve ser modificado em várias etapas, pois a matriz não é fácil de degradar. Maneiras de modificar seus componentes permitem agregar valor em suas frações (Lehtinen, 2011). Métodos biocatalíticos, termomecânicos e diferentes condições de processamento são possíveis opções para modificar as propriedades de solubilidade dos polissacarídeos presentes no farelo de trigo e seus componentes. Os métodos de extração costumam modificar a funcionalidade dos carboidratos e podem quebrar as ligações covalentes

e não covalentes que formam a matriz estrutural da parede celular do farelo de trigo (Valdez-Luna et al., 2017).

A hidrólise dos oligossacarídeos e polissacarídeos é influenciada por vários fatores como o pH, temperatura e configuração anomérica dos monossacarídeos. As ligações glicosídicas são mais facilmente degradadas em meios alcalinos (beta-eliminação) e são catalisadas por aquecimento, mas a hidrólise ácida também representa uma boa opção industrial. A hidrólise das ligações glicosídicas também pode ocorrer por enzimas. O tratamento com ácido é um pré-tratamento comum em biorrefinarias de produtos lignocelulósicos e é seguido de hidrólise enzimática para produzir monossacarídeos em etapa prévia à fermentação (Hell et al., 2015).

O tratamento com base é considerado um método seletivo para a extração de AX partir de biomassa, O peróxido de hidrogênio é frequentemente combinado com condições alcalinas para alcançar a deslignificação simultânea e a extração seletiva do AX (Hell et al., 2015). O uso de solução alcalina é eficiente para extrair AX da parede celular do farelo de trigo e as soluções NaOH, KOH e $\text{Ca}(\text{OH})_2$ são frequentemente utilizadas. No entanto, esse processo de extração é considerado muito drástico podendo alterar negativamente alguns grupos funcionais de AX podendo influenciar as propriedades funcionais dessa fibra solúvel (Zielke et al., 2017).

Para complementar a eficiência das modificações da parede celular do trigo, a inclusão da precipitação dos polissacarídeos é um método muito utilizado. Essa precipitação é um método geralmente aceito para a separação da AX de proteínas contaminantes e mono- e oligossacarídeos para a análise de AX, devido à falta de um método de detecção específico para AX (Sibakov et al., 2013).

2 OBJETIVOS

O objetivo desse trabalho foi avaliar os métodos de modificações químicas associadas ao aquecimento do farelo de trigo para aumento da solubilização de possíveis complexos de oligo/polissacarídeos não amido com possíveis benefícios para a saúde humana.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Composição centesimal

3.2 Amostras

Para o projeto foram utilizadas amostras de farelo de trigo fornecidas pelo moinho de Santos da empresa Bunge Alimentos. A amostra fornecida pela Bunge tem o destino para a indústria de *Non Foods*, ou seja, o farelo será matéria-prima para produtos como a ração animal.

3.2.1 Análise do teor de umidade

A umidade das amostras foi determinada pelo método 012/IV de determinação de umidade a 105°C conforme metodologia descrita por INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005).

3.2.2 Análise do teor de Proteínas

O teor de proteína do farelo de trigo foi determinado pelo método de Kjeldahl, conforme a metodologia descrita pela AOAC (2011), método 950,48. O *f* utilizado para cálculo do teor de proteínas da amostra de farelo de trigo foi de 5,7.

3.2.3 Análise do teor de Gorduras

O teor de gordura foi mensurado através de extração com hexano pelo método de Soxhlet de acordo com INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2005). Os extratos contendo óleo foram quantificados gravimetricamente após a evaporação do solvente.

3.2.4 Análise do teor de cinzas

O teor de cinzas foi determinado por incineração a 550°C, em forno mufla, conforme descrito pelo método 950.49 da AOAC (2011).

3.2.5 Análise do teor de fibras

O teor de fibra alimentar total foi determinado através de quadruplicata de amostras desengorduradas que foram submetidas à digestão enzimática com enzimas amilolíticas. Uma duplicata foi utilizada para a determinação de proteínas e a outra para determinação de cinzas. As fibras solúveis foram precipitadas com etanol 78% e o resíduo total foi filtrado e lavado com etanol 78%, etanol 85% e acetona, de acordo com o descrito pelo método 985.29 da AOAC (2011).

3.2.6 Análise do teor de carboidratos

O teor de carboidratos foi encontrado através da diferença da massa total da amostra de farelo de trigo com os valores em massa de gordura, proteína, fibras, cinzas e umidade, obtido através das análises de composição centesimal.

3.3 Tratamento químico das amostras

Foram realizados três tipos de tratamento químico, sendo tratamento térmico em meio ácido, alcalino e oxidante. As amostras foram aquecidas a 60°C durante 4 horas em determinada solução e as concentrações foram de 0,25, 0,5 e 1M de ácido sulfúrico, 0,025, 0,05 e 0,1M de hidróxido de sódio e solução 10% de hipoclorito de sódio, respectivamente. Esses valores foram obtidos depois de diversos testes-piloto terem sido realizados baseado em dados já publicados, mas com restrição da utilização de diferentes concentrações (Hell et al., 2015). Uma amostra foi aquecida em meio aquoso para controle, e todos os procedimentos foram realizados em quadruplicata biológica (4 lotes diferentes de farelo de trigo). Após o tratamento térmico, a fração solúvel da amostra de farelo de trigo foi separada através de filtração com papel miracloth e o pH do meio foi ajustado para 6,0 com HCL 0,4M ou NaOH 0,4M conforme as características das amostras. Posteriormente, adicionou-se etanol absoluto para concentração final de 80% (v/v) e posterior acondicionamento em -20° C *overnight*. Após esse período, as amostras foram centrifugadas à 5.000 rpm por 5 minutos e os *pellets* gerados foram lavados com etanol 80% e centrifugados à 3.000 rpm por 3 minutos repetido por três vezes, sendo o *pellet* final ressuspensionado em 5mL de solução tampão de fosfato de sódio 0,05M pH 6,0.

3.4 Separação dos polissacarídeos solúveis em meio aquoso

3.4.1 Degradação do amido e proteínas remanescente da extração

Nas amostras das frações solúveis ressuspensionadas em 5 mL de solução fosfato de sódio 0,05 M pH 6,0, foi adicionado 60 unidades de α -amilase de *B. licheniformis* (Megazyme International Ireland; EC 3,2,1; 3000 U ml⁻¹) e a mistura foi incubada à 90°C por 1 hora. Posteriormente o pH foi ajustado para 4,5 com HCL 0,4 M e se adicionou 132 unidades de amiloglicosidase de *A. niger* (Megazyme International Ireland; EC 3,2,1,3; 3300 U ml⁻¹) e a mistura foi incubada à 60°C por 30 minutos. Após a degradação do amido, o pH da solução foi alterado para 7,0 com NaOH 2M e se adicionou 60 unidades de Proteinase K e a solução incubada à 60°C por 1 hora. Após a degradação a proteína, adicionou-se uma solução de clorofórmio/metanol (v/v) e aqueceu a mistura à 70°C por 30 minutos. Para finalizar a extração, foram adicionadas frações de etanol absoluto para concentração final de 80% (v/v) nas amostras hidrolisadas (para precipitação dos polissacarídeos solúveis) e as mesmas foram deixadas *overnight* à -20°C. Após o período as amostras de fração solúvel sem amido foram centrifugadas à 5.000 rpm por 5 minutos e os *pellets* gerados foram lavados e centrifugados à 3.000 rpm por 3 minutos três vezes com etanol 80% sendo o *pellet* final ressuspensionado em 5 mL de água, congelado e liofilizado (Shiga et al., 2015).

3.4.2 Análise da distribuição do peso molecular dos polissacarídeos solúveis do farelo de trigo

Os polissacarídeos solúveis do farelo de trigo e dos produtos resultantes do seu processamento foram analisados quanto à distribuição do peso molecular. Cerca de 3 mg das frações solúveis foram pesadas, diluídas em 1 mL de água deionizada, filtradas em membrana de 0,45 µm e analisadas pelo sistema HPSEC-RID (*High Performance Size Exclusion Chromatography with Refractive Index Detector* – Agilent, USA), equipado com quatro colunas PL aquagel-OH MIXED-M 8 µm (60, 50, 40 e 30; 300x7,5 mm em sequência) e pré-coluna PL aquagel-OH guard 25x25 mm (Agilent, USA). As curvas de calibração foram preparadas utilizando padrões externos de poli e oligossacarídeos (série de dextransos - 750, 410, 150,80,50,25 e 12,5 KDa e glicose) (Shiga et al., 2015).

3.4.3 Análise da composição de açúcares dos polissacarídeos solúveis do farelo de trigo

Cerca de 1 mg das frações solúveis em água do farelo de trigo e dos seus produtos foi hidrolisada utilizando 1 mL de ácido trifluoroacético (TFA) 2M a 120°C por 1 hora. Após secagem as amostras foram ressuspendidas em água deionizada, filtradas em membrana de 0,45 µm e analisadas pelo sistema HPAEC-PAD (*High Performance Anion Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection* – Dionex, EUA) equipado com coluna de troca iônica CarboPac PA10 de 250 mm X4 mm (Dionex Corp. Sunny vale, EUA) segundo Shiga et al. (2009). As curvas de calibração foram preparadas utilizando padrões externos de açúcares.

3.4.4 Análise dos compostos fenólicos nas frações dos polissacarídeos solúveis

O teor de polifenóis foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu onde o ácido gálico foi utilizado como padrão para a curva de calibração. Uma solução de Folin-Ciocalteu diluída 10 vezes foi preparada e 0,2 mg do extrato foi adicionado a 0,8 mL da solução de Folin-Ciocalteu. Depois de esperar 3 minutos para a mistura se equilibrar, 2 mL de uma solução de carbonato de sódio (150 g / L) e 2 mL de água foram adicionados. Os tubos foram mantidos no escuro à temperatura ambiente por 60 minutos para que a reação ocorresse. Posteriormente, as amostras foram lidas em um espectrômetro (UV-visível JascoV730, Jasco Corporation, Japão) a 730 nm. O padrão de ácido gálico foi utilizado nas seguintes concentrações: 1; 0,75; 0,5; 0,25; 0,125 e 0,0625 mg/ml. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico equivalente por grama de amostra da fração solúvel do farelo de trigo, em base seca (Prior et al., 2005).

3.4.5 Poder redutor dos compostos fenólicos presentes nos polissacarídeos solúveis

O poder redutor das frações solúveis extraídas do farelo de trigo foi avaliado pelo método FRAP (Benzie & Strain, 1996), que avalia a redução do íon férrico em íon ferroso através da doação de elétrons dos compostos antioxidantes por meio de uma reação calorimétrica. A força dessa reação é medida por uma reação provocada pela adição do composto TPTZ (-s-triazina 2,4,6-tripiryridyl) que em meio ácido se une ao íon ferroso e forma um composto azulado com absorção de 593 nm. O resultado foi comparado com a capacidade antioxidante do Trolox.

3.4.6 Capacidade de captura de radicais livres

O poder oxidativo dos compostos fenólicos presentes na fração solúvel do farelo foi determinada pelo método ABTS. A solução ABTS foi diluída com água na proporção 1:2 até atingir uma absorção de 0,7 a 734 nm. Cem microgramas de amostra foram adicionadas a 3 mL de solução ABTS e a absorbância foi medida a 743 nm durante 4 minutos com o auxílio do espectrofotômetro (UV-visible JascoV730, Jasco Corporation, Japão). O padrão usado foi uma solução de Trolox com as concentrações de 0,50; 0,25; 0,17 e 0,06 mg/ml. Sobre a curva obtida um ajuste bi-exponencial foi feito para mensurar o valor da absorbância em tempo infinito. Os resultados foram expressos em μmol de trolox por grama de amostra (Reet et al., 1999).

3.4.7 Análise dos teores de proteínas nas frações de polissacarídeos solúveis

O teor de proteína da solução foi determinado pelo método de Bradford utilizando curvas padrões com albumina sérica bovina (BSA). A curva foi feita com as concentrações de 5;2,5; 1,250; 0,650; 0,313 e 0,157 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ e o cálculo do teor de proteína nas amostras foi efetuado pela interpolação dos dados com a equação da reta obtida dos padrões (Magalhães, 2008).

3.4.8 Análise do teor de β -glicano

A quantidade dos polissacarídeos β -glicanos foi determinado através do kit de enzimas da Megazyme e a quantificação foi efetuada de acordo com as instruções do fabricante.

3.5 Propriedades funcionais

3.5.1 Umidade

A umidade foi determinada pela balança gravimétrica (Ohaus MB45) e 500 mg de amostra foram utilizadas nessa determinação seguindo o protocolo de Sciarini et al. (2009).

3.5.2 Capacidade de absorção de água (WAC)

A capacidade de absorção de água (WAC) foi determinada pelo método AACC 88-04 (1995). Em um eppendorf, uma massa de 0,05 g das frações solúveis do farelo de trigo (FAS) foi adicionada com 1,5 mL de água destilada. Os tubos foram centrifugados a 2000 g por 10 minutos e o pellet pesado. WAC foi calculada conforme cálculo que segue, onde ssw é a massa da amostra úmida e sw a massa pesada da amostra.

$$WAC=(ssw-sw) *sw$$

3.5.3 Solubilidade

A solubilidade das FAS do farelo foi determinada de acordo com Betancur-Ancona, López-Luna & Chel-Guerrero (2002). Suspensões com 15 mL na concentração de 1% amostra/solução foram agitadas por 30 min e posteriormente centrifugadas à 800 g por 15 minutos. Alíquotas de 5 mL do sobrenadante foram secas em uma estufa a 125 °C *overnight* até que a massa constante fosse atingida. A solubilidade foi calculada conforme cálculo abaixo, onde wi corresponde à massa pesada de amostra e wf a massa seca da amostra:

$$\% \text{ Solubilidade} = ((wi-wf) *30) *100$$

3.5.4 Propriedades espumantes

As propriedades espumantes das FAS foram determinadas conforme Sciarini et al. (2008). As amostras foram suspensas em 30 mL de água e homogeneizadas em um misturador (Philips HR ESENCIA 1357-1305) e o volume da espuma foi mensurado no exato momento. A capacidade de formação de espuma (FC) e a estabilidade da espuma (FS) foram calculadas conforme segue, onde Ifv corresponde ao volume inicial de espuma e Fsv é o volume total da suspensão, onde Tsv é o volume final da espuma, respectivamente.

$$FC = \frac{Ifv}{Tsv} * 100$$

$$FS = \frac{Ffv}{Tsv} * 100$$

3.6 Efeito prebiótico *in vitro*

3.6.1 Cepas e meios de cultura

Lactobacillus reuteri ATCC23272, *Bifidobacterium breve*, *Bacteroides fragilis* 6292 e *Clostridium perfringens* 4168 foram cultivados em M.R.S e *E. coli* ATCC25922 em caldo Brain Heart Infusion (BHI). Os controles de crescimento foram realizados em anaerobiose ou aerobiose para cada uma das cepas conforme necessidade, e sua morfologia foi observada com

coloração de gram sob um microscópio para confirmar a pureza de cada uma das cepas a serem trabalhadas. Para os ensaios de efeitos prebióticos foi realizado um meio semidefinido baseado em Vernazza, Gibson & Rastall, (2005) e Zhang et al (2013) com a seguinte fórmula: Peptona 1,5 g/L, extrato de levedura 2 g/L, K₂HPO₄ 0,04 g/L, KH₂PO₄ 0,04 g/L, MgSO₄.7H₂O 0,04 g/L, NaHCO₃ 2 g/L, Tween 80 2 mL/L, sais biliares 0,5 g/L, CaCl₂ 0,01 g/L.

3.6.2 Efeito prebiótico *in vitro*

O teste foi realizado seguindo o método de Huebner, Wehling & Hutkins (2007) com modificações. Foi adicionado um caldo semidefinido com 1% de glicose (v/v) ou 1% dos polissacarídeos não amido solúveis do farelo de trigo (v/v) (Rivière et al., 2014). Foi inoculado 1% (v/v) de uma cultura incubada a 37°C por 18 horas de cada uma das cepas estudadas. As culturas foram incubadas a 37°C sob condições anaeróbicas em caso de *Bifidobacterium*, *Bacteroides* e *Clostridium*, e em condições aeróbicas para *Lactobacillus* e *E. coli*. Nos tempos t= 0h e t=24 h de incubação foi realizado o inóculo em MRS para todas as cepas, com exceção da *E. coli* que foi plaqueada em ágar BHI. As placas foram incubadas por 24 horas a 37°C e o número de colônias cultivadas por placa foi contado. Cada teste foi realizado em triplicata e a inulina comercial foi usada como um controle positivo. Um tubo com meio semidefinido sem a adição de qualquer carboidrato foi incluído como controle negativo.

3.6.3 Crescimento relativo (CR)

O CR foi encontrado pela relação de crescimento de uma mesma cepa incubada em um meio de glicose com um outro onde foi adicionado os FAS do farelo de trigo e calculado conforme equação, onde (FAS₂₄- FAS₀) é a diferença em UFC/mL da cepa em análise nos tempos t= 0 e 24 h em um meio com as FAS e (G₂₄- G₀) é diferença em UFC/mL da cepa em análise nos tempos t= 0 e 24 h em um meio incubado com glicose. Valores acima de 1 indicam possível atividade prebiótica.

$$CR = \frac{FAS_{24} - FAS_0}{G_{24} - G_0}$$

3.6.4 Atividade Prebiótica (PA)

A Atividade Prebiótica foi calculada com a equação abaixo, que é baseada na relação do crescimento relativo da cepa probiótica com o crescimento relativo da cepa de referência, neste caso a *E. coli*, onde:

- ($FAS_{24} - FAS_0$) é a diferença em UFC/mL da cepa em análise nos tempos $t= 0$ e 24 h em um meio com as FAS e ($G_{24} - G_0$) é diferença em UFC/mL da cepa em análise nos tempos $t= 0$ e 24 h em um meio incubado com glicose;

- ($E. coli_{24} - E. coli_0$) é a diferença em UFC/mL da cepa de *E. coli* nos tempos $t= 0$ e 24 h em um meio com as FAS e ($E. coliG_{24} - E. coliG_0$) é diferença em UFC/mL da cepa de *E. coli* nos tempos $t= 0$ e 24 h em um meio incubado com glicose.

$$PA = \left(\frac{FAS_{24} - FAS_0}{G_{24} - G_0} \right) / \left(\frac{E. coli FAS_{24} - E. coli FAS_0}{E. coli G_{24} - E. coli G_0} \right)$$

Para um composto apresentar atividade prebiótica, os valores finais dessa equação devem ser positivos.

3.6.5 Índice prebiótico (IP)

O índice prebiótico foi calculado conforme a equação abaixo.

$$IP = \left(\frac{Lb}{total} \right) - \left(\frac{Bac}{total} \right) + \left(\frac{Bif}{total} \right) - \left(\frac{Cl}{total} \right)$$

Onde:

- *Lb* é a diferença da quantidade em UFC/mL em $t=24$ e 0h de *Lactobacillus*;
- *Bac* é a diferença da quantidade em UFC/mL em $t=24$ e 0h de *Bacteroides*;
- *Bif* é a diferença da quantidade em UFC/mL em $t=24$ e 0h de *Bifidobacteria*;
- *Cl* é a diferença da quantidade em UFC/mL em $t=24$ e 0h de *Clostridium*;
- *Total* é diferença do número total em UFC/mL em $t=24$ e 0h de todas as cepas.

Se os *Lactobacillus* e *Bifidobacteria* mostrarem um aumento relativo maior que a população de bactérias total, o valor de IP será >1 e o polissacarídeo estudado poderá ser considerado como tendo um efeito prebiótico positivo.

4 RESULTADOS

4.1 Análise centesimal do farelo de trigo

As amostras de farelo de trigo utilizadas no projeto foram fornecidas pela Empresa Bunge Alimentos e fazem parte do portfólio do segmento de *Non Foods*, ou seja, alimentos que serão destinados para a alimentação animal. A tabela 7 exhibe os resultados obtidos pelas análises de composição centesimal.

Tabela 7- Resultado de análise centesimal realizada da amostra fornecida pela indústria.

Comp. Centesimal	Amostra Bunge (g/100 g amostra)	Desv. Pad.
Umidade	11,28	0,005
Proteínas	13,73	0,112
Gordura	4,45	0,069
Cinzas	5,00	0,017
Carboidratos Totais	65,53	-

4.2 Determinação do fluxograma de extração da fração solúvel do farelo de trigo

Os procedimentos para solubilização e isolamento dos polissacarídeos não solúveis presentes na parede celular de grãos envolvem amplamente a degradação e remoção de amido com as enzimas amilolíticas (amiloglicosidase e α -amilase), a recuperação do material (frações solúveis e insolúveis) da parede celular com precipitação com etanol e centrifugação e remoção das proteínas solúveis através do uso de proteases. Subsequentemente, a precipitação seletiva com diferentes soluções aquosas de álcool pode ser utilizada para recuperar os polissacarídeos não amido que se tornaram solúveis (Comino et al., 2014). Conforme procedimento listado, a metodologia para extrair os polissacarídeos não amido do farelo de trigo foi baseada no tratamento das amostras realizados em Hell et al. (2015) com a utilização de outras concentrações dos componentes extratores e também de adaptações conforme a necessidade de otimização do fluxograma de extração do projeto.

As etapas do procedimento estão descritas na figura 11. O uso do papel Miracloth como filtro permite que haja uma efetiva separação da fração solúvel com os resíduos insolúveis do farelo de trigo. As lavagens com etanol 80% garantem que os monossacarídeos sejam quase que eliminados por completo e com isso a fração isolada seja composta majoritariamente por oligossacarídeos e polissacarídeos solúveis em água. Resíduos das lavagens de etanol 80% foram guardados para análise futura para detecção de mono/oligossacarídeos. Após o

procedimento da extração da fração solúvel do farelo de trigo, foi detectada a presença de amido através do teste qualitativo de lugol. Como padrão, para comparação da presença ou ausência do amido, utilizou-se solução de amido a 3,0% e solução a 3% de pectina de maçã.

Uma vez que houve a detecção qualitativa do amido, procedeu-se com a degradação total desse polissacarídeo nas amostras extraídas seguindo a metodologia descrita por Shiga et al. (2015). Quando a degradação do amido foi finalizada, realizou-se o teste com lugol novamente para verificar a presença ou ausência do amido e se de fato o amido havia sido eliminado. Posteriormente foi realizada a degradação das proteínas remanescentes com a enzima proteinase K.

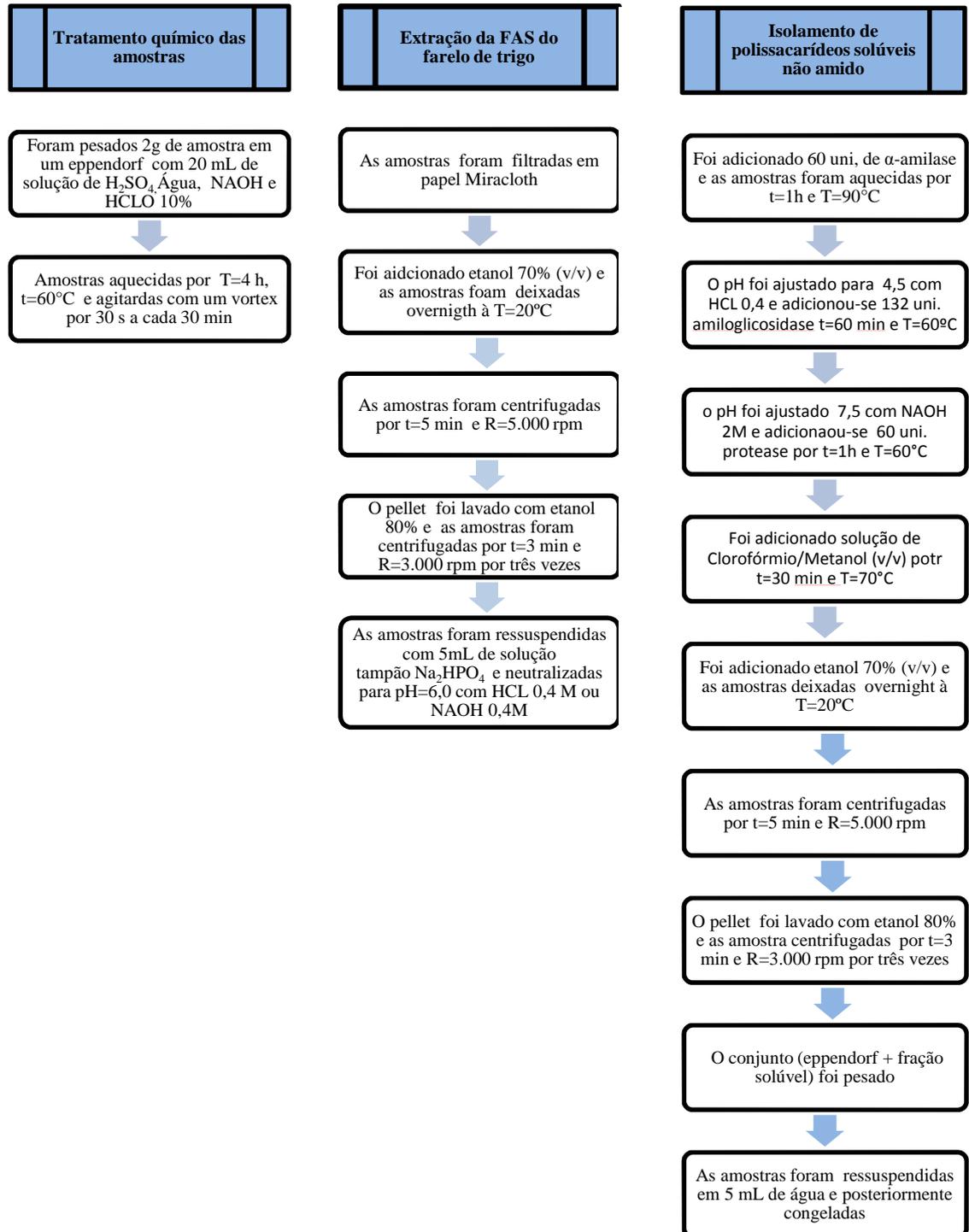


Figura 11- Fluxograma de extração da fração solúvel não amido do farelo de trigo.

4.3 Cálculo do rendimento da extração da fração solúvel não amido do farelo de trigo

O rendimento do processo de extração da fração solúvel não amido do farelo de trigo em água, nas soluções ácidas de H₂SO₄ nas concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0M, em soluções alcalinas de 0,025, 0,05 e 0,1M e em solução de hipoclorito 10% estão descritas na tabela 8.

As extrações realizadas em meio ácido, alcalino e oxidante (hipoclorito 10%) apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) quando os seus valores das quadruplicatas de rendimento foram comparados com o rendimento da extração em meio aquoso. As extrações com soluções ácidas pareceram ter sido mais efetivas na extração de polissacarídeos do que o controle (extração em água). A extração em água gerou um rendimento de $8,80 \pm 0,01$ g fração solúvel/grama de amostra, enquanto os rendimentos dos tratamentos com solução de ácido sulfúrico nas diferentes concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0M foram $11,22 \pm 0,01$, $9,22 \pm 0,01$ e $10,24 \pm 0,013$ g fração solúvel/grama de amostra, respectivamente. A extração em hipoclorito, quando comparado com a água, obteve o menor rendimento, sendo de $6 \pm 0,008$ g fração solúvel/grama de amostra. Extrações em meio alcalino foram mais efetivas que as extrações em hipoclorito pois os rendimentos para as molaridades de 0,025, 0,05 e 0,1M foram de $9,85 \pm 0,01$, $7,96 \pm 0,05$ e $8,00 \pm 0,02$ g fração solúvel/grama de amostra.

Tabela 8- Resultado do rendimento das FAS do farelo de trigo.

Solução	Concentração molar da solução	Rend. fração solúvel não amido (g/100 g de amostra)
Água	-	$8,80 \pm 0,01^a$
HClO	1,00	$5,80 \pm 0,01^b$
H ₂ SO ₄	0,25	$11,22 \pm 0,05^c$
H ₂ SO ₄	0,50	$9,22 \pm 0,01^d$
H ₂ SO ₄	1,00	$10,24 \pm 0,01^e$
NaOH	0,025	$9,85 \pm 0,01^f$
NaOH	0,05	$7,96 \pm 0,05^g$
NaOH	0,10	$8,00 \pm 0,02^g$

Letras diferentes representam a diferença significativa entre os valores de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

4.4 Cromatogramas de distribuição do peso molecular de polissacarídeos extraídos do farelo de trigo

Os cromatogramas obtidos pela cromatografia de exclusão de tamanho (HPSEC) estão representados nas figuras 12, 13 e 14. As extrações em meio ácido, alcalino e meio oxidante

(hipoclorito) são comparadas com a extração em água em relação ao peso molecular aparente (representado pelo tempo de retenção dos picos).

Por meio de padrões de dextrans (750, 410, 150, 80, 50, 25 e 12,5 KDa) e a glicose, foi possível presumir o volume de exclusão total (volume morto – V_0) e o volume de Permeação Total (volume de eluição – V_e). Utilizando-se da equação da reta da análise de regressão linear dos padrões de dextrano vs tempo de retenção (demonstrada nos gráficos), foi possível estimar o tamanho (KDa) dos picos dos polissacarídeos solúveis em água através da equação de reta $y = -2,10 \ln(x) + 49,08$ com $R^2 = 0,998$.

4.4.1 Análise dos compostos solúveis extraídos com ácido sulfúrico em diferentes concentrações

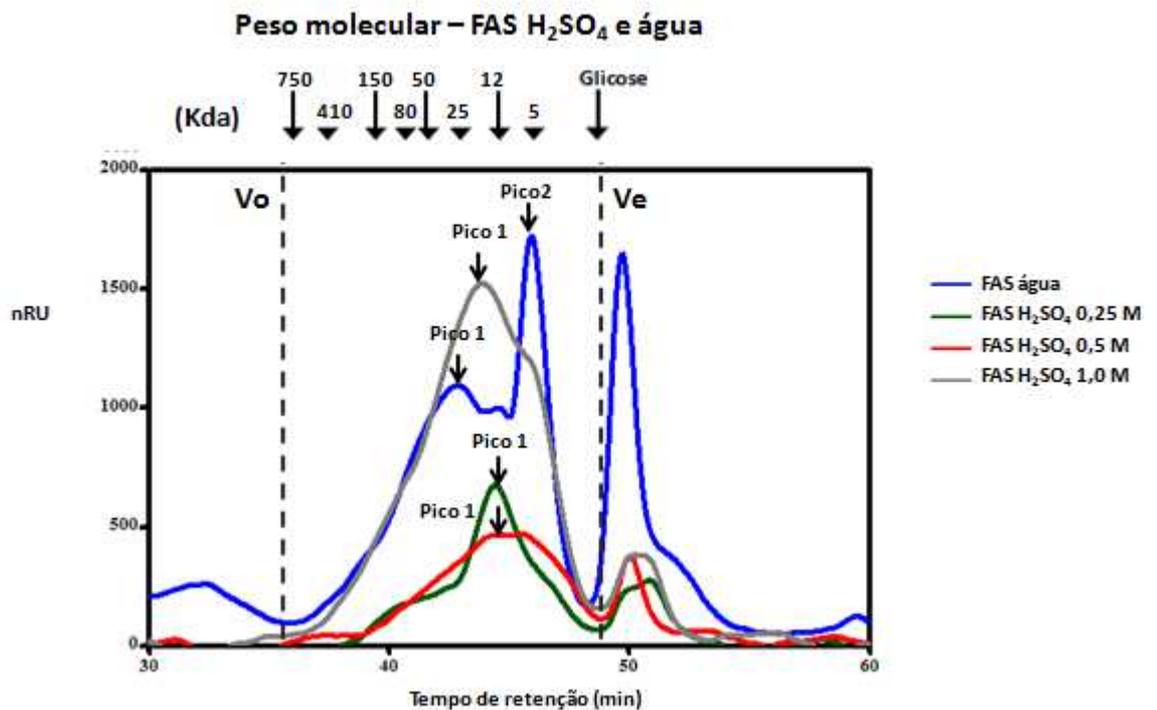


Figura 12- Gráfico do peso molecular dos polissacarídeos extraídos com solução ácida de ácido sulfúrico em comparação com a água.

Tabela 9- Peso molecular dos polissacarídeos (KDa) extraídos em solução ácida de H₂SO₄ em diferentes molaridades.

Amostra	TR	KDa
H ₂ SO ₄ 0,25 M	44,43	13,05
H ₂ SO ₄ 0,5 M	45,39	8,71
H ₂ SO ₄ 1,0 M	43,89	16,32
Água - Pico 1	42,85	25,19
Água - Pico 2	45,95	6,90

Os pesos moleculares das frações solúveis em água e em meio ácido estão exibidos na tabela 9. As diferentes extrações com soluções ácidas de concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0M de ácido sulfúrico resultaram na identificação de polissacarídeos de baixo peso molecular com tempos de retenção diferentes dos picos majoritários dos polissacarídeos extraídos em água. Verifica-se que o pico majoritário da fração de 1M de ácido apresenta um peso molecular maior do que o pico majoritário da água e com maior resolução (mais estreito).

4.4.2 Análise dos compostos solúveis extraídos com hidróxido de sódio em diferentes concentrações

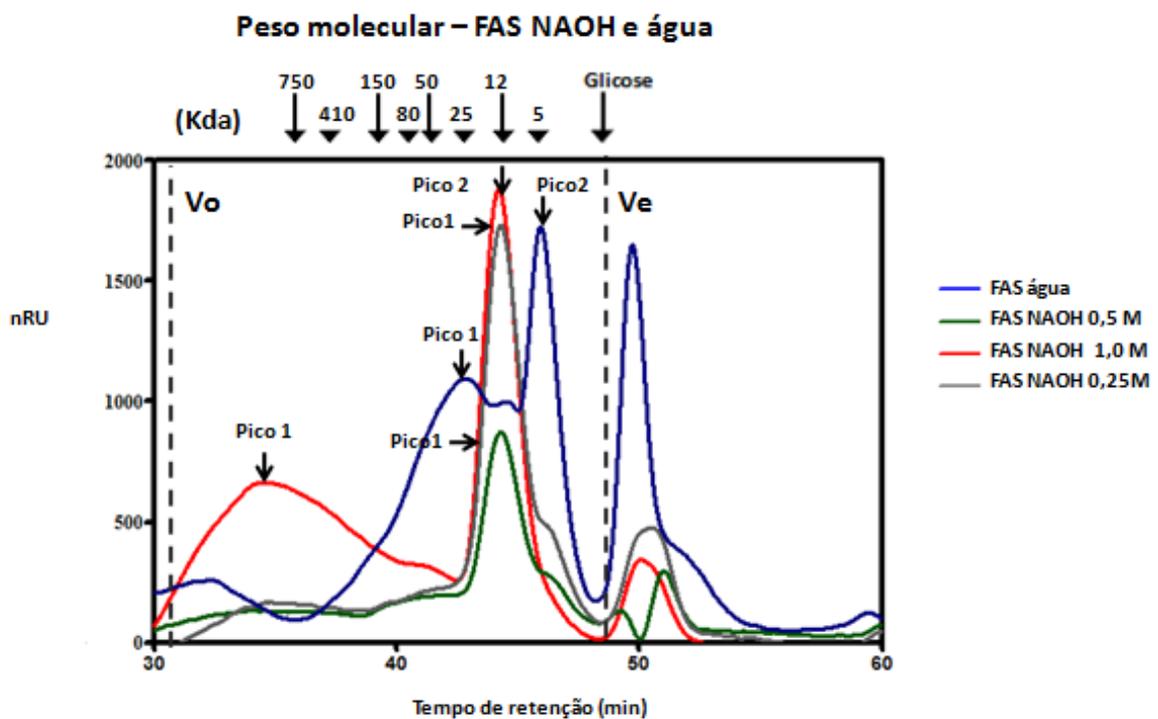


Figura 13- Gráfico do peso molecular dos polissacarídeos extraídos com solução alcalina de hidróxido de sódio em comparação com a água.

Tabela 10- Tamanho dos polissacarídeos (KDa) extraídos em solução alcalina de NaOH em diferentes molaridades.

Amostra	TR	KDA
NAOH 0,1 M	33,791	1,119,35
NAOH 0,1 M	44,222	14,24
NAOH 0,05 M	44,307	13,74
NAOH 0,025 M	44,31	13,73
Água - Pico 1	42,859	25,19
Água - Pico 2	45,954	6,90

A tabela 10 exibe o peso molecular das frações solúveis extraídas em água e em meio alcalino. As diferentes extrações com soluções alcalinas de concentrações de 0,025, 0,05 e 0,1M de NaOH também resultaram na visualização de polissacarídeos de baixo peso molecular com tempos de retenção diferentes dos picos majoritários dos polissacarídeos extraídos em água. Verifica-se que os dois picos majoritários da fração de 0,1M de álcali apresentaram pesos moleculares maiores do que o pico majoritário da água, sendo mais estreitos (maior resolução) com maiores intensidades.

4.4.3 Análise dos compostos solúveis extraídos com hipoclorito de sódio diluído em 10%

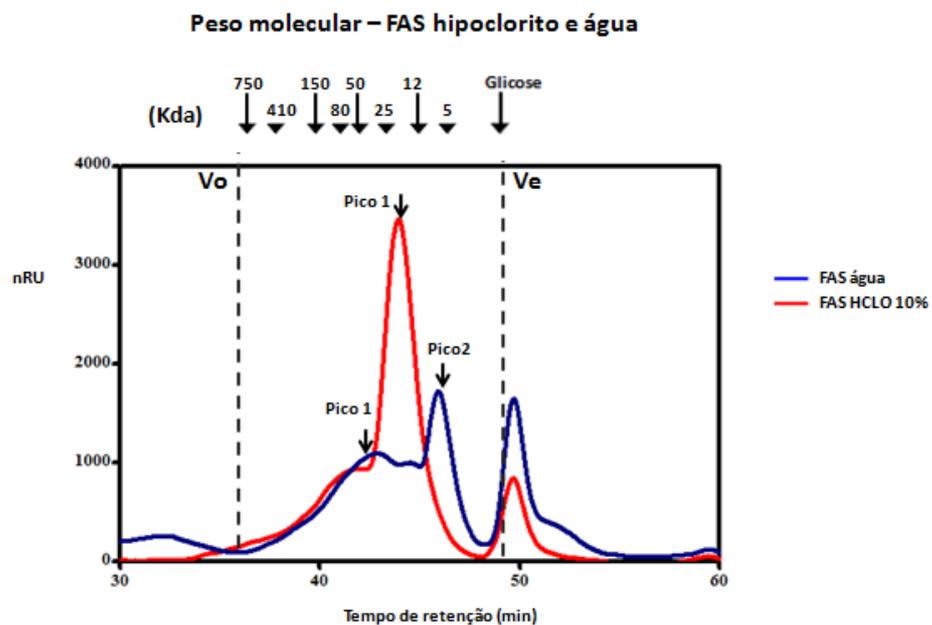


Figura 14- Gráfico do peso molecular dos polissacarídeos extraídos com solução de hipoclorito de sódio 10%.

Tabela 11- Tamanho dos polissacarídeos (KDa) extraídos em solução de hipoclorito 10%.

Amostra	TR	KDA
Hipoclorito - 10%	44,33	13,59
Água - Pico 1	42,85	25,19
Água - Pico 2	45,95	6,90

A tabela 11 exibe os pesos moleculares das frações solúveis em meio de hipoclorito e água. A extração de polissacarídeos solúveis com hipoclorito também apresentou baixo peso molecular, sendo os cromatogramas os mais parecidos com os da extração aquosa. Entretanto, o pico majoritário encontrado nas amostras extraídas com hipoclorito se assemelha em tempo de retenção e peso molecular aos picos majoritários das frações extraídas com soluções alcalinas sendo que a identificação e caracterização dos polissacarídeos dessas frações mostraram, uma possível semelhança entre os compostos extraídos, em resultados descrições em seções posteriores.

4.5 Teor de proteína nos polissacarídeos não amido do trigo remanescente após tratamento químico e enzimático com protease.

Foi quantificado o conteúdo de proteínas nos polissacarídeos não amido extraído em água, ácido, meio alcalino e oxidante após tratamento químico e nas mesmas frações solúveis após o tratamento enzimático com a enzima proteinase. A comparação dos teores de proteína consta na tabela 12 e é possível observar a redução do percentual de proteínas após o tratamento enzimático em todas as frações solúveis.

Tabela 12- Comparação do teor de proteínas na fração solúvel nos polissacarídeos com tratamento químico e tratamento químico com a adição da enzima Proteinase K.

Extração	Proteínas (g/g amostra) após tratamento enzimático	Proteínas (g/g amostra) após tratamento químico
Água	0,03±0,03	0,09±0,10
Hipoclorito 10%	0,05±0,03	0,06±0,02
H ₂ SO ₄ 0,25M	0,04±0,01	0,09±0,02
H ₂ SO ₄ 0,5M	0,04±0,01	0,08±0,05
H ₂ SO ₄ 1,0M	0,04±0,01	0,09±0,05
NAOH 0,025M	0,04±0,03	0,07±0,03
NAOH 0,05M	0,04±0,02	0,10±0,12
NAOH 0,1M	0,05±0,01	0,09±0,03

4.6 Análise da quantidade e dos tipos de açúcares das frações solúveis obtidas pelos diferentes tipos de extração

Os β -glicanos de cereais são polissacáridos compostos por unidades de D-glucose ligadas com ligações β - (1 \rightarrow 3) e β - (1 \rightarrow 4) (Letinehn, 2012) e os arabinoxilanos consistem em cadeias de β -(1-4)-xilopiranosose ligados com cadeiras de α -L-arabinofuranose (Zhou et al.,2010).Uma vez que o objetivo do trabalho é isolar esses polissacarídeos benéficos para a saúde humana, é desejável que as FAS tenham em sua composição de monossacarídeos moléculas de arabinose, xilose e glicose, pois a presença desses monossacarídeos pode ser um indício da presença de arabinoxilanos e beta glicanos nas amostras.

Os açúcares foram determinados através da cromatografia por troca iônica (HPAEC) e os resultados estão na tabela 13. Foram encontrados percentuais de arabinose, galactose, glicose, xilose, manose, ácido galacturônico e ácido glicurônico em todas as frações solúveis, independentemente do tipo de extração.

A fração solúvel de polissacarídeos não amido extraído em água demonstrou um percentual molar de $14,4 \pm 0,9$ de arabinose, $16,9 \pm 0,1$ de xilose e $55,6 \pm 0,4$ de glicose. As extrações em meio ácido apresentaram valores próximos do percentual molar de arabinose em sua composição, sendo $3,4 \pm 0,3$, $3,3 \pm 0,6$ e $3,3 \pm 0,3$ para as soluções de H_2SO_4 0,25, 0,5 e 1M, respectivamente. O percentual molar de xilose foi menor na extração ácida de menor molaridade, $20,7 \pm 1,2$, porém as FAS extraídas nos meios ácidos 0,5M e 0,1M apresentaram quantidades molares próximas, sendo $23,4 \pm 0,8$ e $23,3 \pm 0,5$. Para a glicose cada extração possuiu um percentual molar diferente, sendo $62,6 \pm 3,4$, $61,5 \pm 0,7$ e $56,4 \pm 3,3$ para as soluções 0,25, 0,5 e 1M, respectivamente.

Extrações em meio básico também apresentaram concentrações molares parecidas de arabinose nas diferentes concentrações, sendo $27,4 \pm 1,7$, $27,3 \pm 0,9$ e $27,7 \pm 0,2$ nos meios de NaOH 0,025M, 0,05M e 0,1M, respectivamente. Porém os percentuais molares de xilose foram diferentes para cada molaridade, sendo $28,0 \pm 2,1$, $21,5 \pm 1,0$ e $25,5 \pm 2,1$ nos meios contendo NaOH 0,025M, 0,05M e 0,1M, respectivamente. O maior percentual molar de glicose é $39,6 \pm 1,5$ e foi encontrado na extração de menor molaridade de álcali. As extrações em meio alcalino 0,05M e 0,1M apresentaram $30,8 \pm 0,8$ e $36,9 \pm 0,1$ de percentual molar de xilose, respectivamente.

Tabela 13- Percentual molar de açúcar por FAS extraída nos diferentes meios.

Fração solúvel	Ara	Gal	Glc	Xil	Man	Agal	Aglic
Água	14,4±0,95	6,37±0,53	55,62±0,41	16,93±0,14	3,69±0,3	0,30±0,01	2,12±0,29
H ₂ SO ₄ 0,25	3,41±0,28	6,51±0,55	62,63±3,39	20,71±1,19	3,84±0,57	1,15±0,23	1,30±0,34
H ₂ SO ₄ 0,5	3,30±0,55	6,64±0,8	61,48±0,73	23,40±0,78	3,55±0,65	1,17±0,58	1,43±0,39
H ₂ SO ₄ 1M	3,28±0,32	5,69±0,59	56,39±3,27	23,28±0,5	2,62±1,01	3,68±1,4	5,46±2,08
NAOH 0,025	27,36±1,67	5,80±1,23	39,64±1,45	28,00±2,11	4,02±0,13	0,37±0,75	0,51±0,39
NAOH 0,05	27,35±0,93	4,83±0,56	30,85±0,77	21,49±1,03	4,30±1,77	2,00±1,23	0,83±0,46
NAOH 0,1	27,75±0,22	4,68±0,64	36,88±0,12	25,52±2,11	2,39±0,11	1,94±0,2	2,29±0,23
HClO 10%	25,56±1,57	13,47±1,43	28,68±3,64	20,89±1,58	5,09±0,87	1,39±0,52	1,43±0,41

4.7 Análise do teor de beta-glicanos nas frações solúveis do farelo de trigo

Após avaliar os resultados dos açúcares, foram escolhidas 5 amostras que pareciam ter maior rendimento na extração dos polissacarídeos arabinosilanos e β -glicanos, sendo elas a extração padrão em água (controle), duas extrações ácidas e duas extrações alcalinas. A escolha foi baseada nos percentuais molares extraídos dos açúcares arabinose, xilose e glicose. Os percentuais de β -glicanos encontrados nas frações extraídas do farelo de trigo e o percentual de β -glicanos por glicose (encontrada na análise de açúcares por cromatografia de troca iônica) estão representados na tabela 13. As frações solúveis extraídas apresentaram diferentes percentuais de β -glicanos, sendo um teor de 0,8% na extração em água, 1,0 e 2,8% nas extrações ácidas 0,5M e 1,0M e 5,4 e 4,6% nas extrações básicas 0,025M e 0,1M.

Utilizando-se os dados absolutos de glicose adquiridos pela cromatografia de troca iônica, avaliou-se o quanto de β -glicano estaria representado na quantidade de glicose total encontrada. Os resultados mostram que 16,30% eram de β -glicanos na FAS extraída em água, 12,20% e 3,41 % de beta-glicano nas extrações ácidas 0,5M e 1,0M e 100,00% e 84,70% de β -glicanos nas extrações básicas 0,025M e 0,1M. Os valores estão reportados na tabela 14.

O teor de β -glicano nas frações solúveis extraídas em meio ácido e alcalino está maior que o valor encontrado na extração em água. Isso indica que os tratamentos químicos alteraram a estrutura da parede celular do farelo de trigo permitindo a solubilização de β -glicanos que estavam previamente ligados a outros polissacarídeos estruturais. A maior solubilização de β -glicano foi encontrada nas extrações em meio alcalino, no qual o seu percentual (5,42% e 4,62% para NaOH 0,25M e 0,1M) aumentou quase 5 vezes em comparação com o percentual de β -glicano obtido a partir das frações solúveis em água (0,82%). Soluções ácidas também influenciaram na solubilidade dos β -glicano. A extração com ácido sulfúrico 0,25 M teve um aumento no percentual de β -glicano (0,97%) em relação à extração em água, porém a maior

solubilização ocorreu na solução com maior molaridade (0,5M), em que foi encontrado quase 2 vezes mais β -glicano (2,79%) que as quantidades encontradas na extração com água.

A glicose presente nas frações solúveis não amido, obtidas pela extração alcalina, é originada basicamente dos β -glicanos (100,00% para NaOH 0,025 M e 84,7% NaOH 0,01M). Essa questão, junto ao aumento da solubilização dos β -glicanos nas soluções alcalinas, poderiam ser indícios iniciais de que tratamentos com álcalis poderiam extrair maiores quantidades de β -glicanos do farelo de trigo.

O percentual de β -glicanos na glicose total é menor para os tratamentos ácidos quando os valores são comparados com a água. A hidrólise ácida pode ter desfeito as ligações glicosídicas dos β -glicanos e as convertido em glicose que foi eliminada no processo de precipitação com a solução de etanol 80% e posteriormente descartado com o sobrenadante.

Tabela 14- Quantidade de β -glicanos das frações solúveis estudadas.

Tipo de extração	% beta glicano/Glicose	% beta glicano/Fração solúvel
Água	16,30%	0,82%
H ₂ SO ₄ 0,5 M	12,20%	0,97%
H ₂ SO ₄ 1,0 M	3,41%	2,79%
NAOH 0,025 M	100,00%	5,42%
NAOH 0,1 M	84,7%	4,62%

4.8 Compostos fenólicos presentes nas frações solúveis extraídas no farelo de trigo

O trigo não é apenas uma fonte de nutrientes básicos, como carboidratos, proteínas e vitaminas, mas também uma fonte de antioxidantes, como flavonoides e ácidos fenólicos. Esses compostos estão localizados principalmente no pericarpo do grão, portanto o farelo de trigo possui maior concentração de ácidos fenólicos que a farinha branca (Li et al.,2015). Os compostos fenólicos são considerados sequestrantes de radicais livres, e suas propriedades antioxidantes dependem de sua estrutura química. Especificamente, essas propriedades dependem de sua capacidade de doar hidrogênio ou elétron e sua capacidade de deslocar o elétron desemparelhado dentro da estrutura aromática (Zilic et al., 2012).

A atividade antioxidante dos polissacarídeos não amido foi mensurada através das análises de compostos fenólicos, da determinação do poder redutor com FRAP e através da capacidade de sequestrar os radicais livres por ABTS. Como mostrado na tabela 15, as propriedades antioxidantes diferem significativamente entre as variedades de extrações e quando comparadas com as extrações em água. Os tratamentos químicos aumentaram a

quantidade de compostos fenólicos nas frações solúveis em relação à água e o maior teor de compostos fenólicos foi encontrado na extração com H_2SO_4 0,5M e NaOH 0,025M, enquanto o menor teor é proveniente da extração em água.

Os maiores valores de FRAP também foram observados nas extrações em H_2SO_4 0,5M e NaOH 0,025M e embora os tratamentos químicos tenham aumentado o teor de compostos fenólicos nas frações solúveis, o poder redutor da FAS em água é maior que o dos polissacarídeos não amido obtidos em H_2SO_4 0,25M. Todas as extrações apresentaram diferença significativa no valor de ABTS em relação à amostra extraída em água.

Tabela 15- Atividades antioxidantes dos polissacarídeos não amidos extraídos do farelo de trigo.

Amostra (FAS farelo de trigo)	Compostos fenólicos (μg ácido gálico/ mg amostra)	Frap (μg ácido gálico/ mg produto)	ABTS (μmol trolox/mg amostra)
Água	2,0255 \pm 0,0738*	0,2441 \pm 0,0544*	0,0132 \pm 0,0014*
H_2SO_4 0,25 M	4,5486 \pm 0,5836	0,0594 \pm 0,023	0,0098 \pm 0,0034
H_2SO_4 0,5 M	8,8143 \pm 0,2221	0,2039 \pm 0,0258	0,0067 \pm 0,0016
NaOH 0,025 M	7,1771 \pm 0,0611	0,1604 \pm 0,0107	0,0148 \pm 0,0003
NaOH 0,01 M	4,2311 \pm 0,1276	0,1051 \pm 0,0243	0,0167 \pm 0,0004

O asterisco representa a diferença significativa entre a extração em água e todas as outras extrações, de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

4.9 Propriedades funcionais das frações solúveis do farelo de trigo – Umidades e absorção de água (WAC)

Hidrocolóides são ingredientes muito utilizados na indústria de alimentos como coadjuvantes de tecnologia, pois podem auxiliar na alteração da textura dos produtos, na modificação das propriedades reológicas, na aparência e conservação de alimentos, uma vez que têm capacidade de estabilizar emulsões e dispersões além de reter água aumentando a viscosidade de suas suspensões. Do ponto de vista químico, eles são polissacarídeos, como as gomas, amidos modificados e pectinas, ou podem ser proteínas (Sciarini et al., 2009).

A capacidade de absorção de água (WAC) define-se como a quantidade de água que permanece ligada ao polissacarídeo hidratado após a aplicação de uma força externa (pressão ou centrifugação) e a solubilidade são definidas como a propriedade de uma substância química (soluto) para se dissolver em um solvente (Zhao et al., 2017).

Os resultados de umidade, solubilidade e absorção de água estão descritos na tabela 16 e todas as frações solúveis extraídas nos diferentes meios estudados, sendo água, meio ácido 0,25 e 0,5M e alcalino 0,025 e 0,01M apresentaram umidade baixa entre 5 e 3%. A solubilidade

foi positiva em todas as amostras, sendo 100% de solubilidade nas frações extraídas em água, 95 e 91% nas frações obtidas nos meios de H_2SO_4 0,25 e 0,5M e 92 e 93% nas frações obtidas nos meios alcalinos. Sendo assim, todas as amostras são solúveis, independente do processo de extração utilizado. Prospecta-se que as frações solúveis estudadas poderiam ser utilizadas como ingredientes de fácil solubilização na fração aquosa dos alimentos na indústria.

As extrações em água e em meio alcalino não apresentaram a propriedade de absorção de água (WAC g/g), tendo como resultado o valor nulo. Isso representa que se esses polissacarídeos de baixo peso molecular forem adicionados em alimentos, os mesmos não teriam influencia na viscosidade final do produto. Já as extrações com 0,25M e 0,5M de H_2SO_4 apresentaram uma absorção de água de 1,01 e 0,86 g/g, respectivamente. Esses valores de WAC para os compostos analisado representaria uma pequena influencia na textura de alimentos e utilizados como aditivo.

Tabela 16- Valores de umidade, solubilidade e WAC das amostras.

Amostra	Umidade (%)	% Solubilidade	D.P.	WAC (g/g)
Água	5,14	100,00%	0,02	0,00
H_2SO_4 0,25M	5,31	95,00%	0,01	1,01
H_2SO_4 0,5M	3,76	91,00%	0,00	0,86
NAOH 0,025M	5,98	92,00%	0,01	0,00
NAOH 0,01M	5,19	93,00%	0,00	0,00

Valores de umidade determinados pela balança termogravimétrica (balance Ohaus MB45), de solubilidade conforme Betancur-Ancona, López-Luna, and Chel-Guerrero (2002) e absorção de água (WAC (g/g)) pelo método AACC 88-04 (1995).

4.10 Propriedades espumantes das frações solúveis do farelo de trigo

As propriedades espumantes são determinadas pela capacidade espumante (FC), ou seja, o percentual de espuma formado após trabalho mecânico com um determinado misturador mecânico (Philips HR ESENCIA 1357-1305) e pela estabilidade da espuma (FS), que consiste no tempo em que a solução é capaz de manter a espuma (Sciarini et al., 2009). Essas propriedades foram determinadas nas soluções em que as FAS extraídas nessa pesquisa foram diluídas e testadas em diferentes pH, os quais remetem o pH dos alimentos (pH 3, 5 e 6). Os resultados das propriedades espumantes das frações solúveis extraídas do farelo de trigo são exibidos na figura 15.

A solução com pH 3 teve melhor resultado para na estabilidade das espumas, quando comparado com as soluções de pH 5 e 6. As amostras extraídas em meio alcalino apresentaram

maior capacidade espumante ($B_{25} = 51,61\% \pm 0,02$ e $B_1 = 46,43\% \pm 0,01$) e estabilidade ($B_{25} = 15,91\% \pm 0,03$ e $B_1 = 20,06\% \pm 0,03$) por 3 h. As FAS do grupo água apresentaram FC de $26,09\% \pm 0,01$ e FS de $9,64\% \pm 0,06$ em 25 min, enquanto as FAS de solução ácida apresentaram FC de $41,51\% \pm 0,01$ e $38,46\% \pm 0,02$ e FS de $3,75\% \pm 0,02$ e $9,64\% \pm 0,06$ para H_2SO_4 0,25 M e 0,5 M, respectivamente, por 20 min.

Nos pH 5 e 6 as frações solúveis extraídas em água e ácido apresentaram a formação de espumas em $t=0$, porém nenhuma estabilidade. As frações de meio alcalino em pH5 apresentaram FC de $56,25\% \pm 0,01$ e $46,67\% \pm 0,01\%$ e FS de $7,50\% \pm 0,03$ e $9,64\% \pm 0,06$ por 75 min para NaOH 0,025 e 0,1M. Em pH 6 apresentaram FC de $6,16\% \pm 0,01$ e $14,29\% \pm 0,05$ e FS de 0 e $3,75\% \pm 0,01$ por 25 min para NaOH 0,025 e 0,1M.

As FAS extraídas nos diferentes meios não apresentam propriedades espumantes significantes, pois mesmo na melhor condição observada (pH3 – Extração alcalina) o percentual de espuma retido foi baixo (20% por 3 h), sendo que um percentual padrão de boa propriedade espumante é 80% para proteína de albumina (Sciarini et al., 2009).

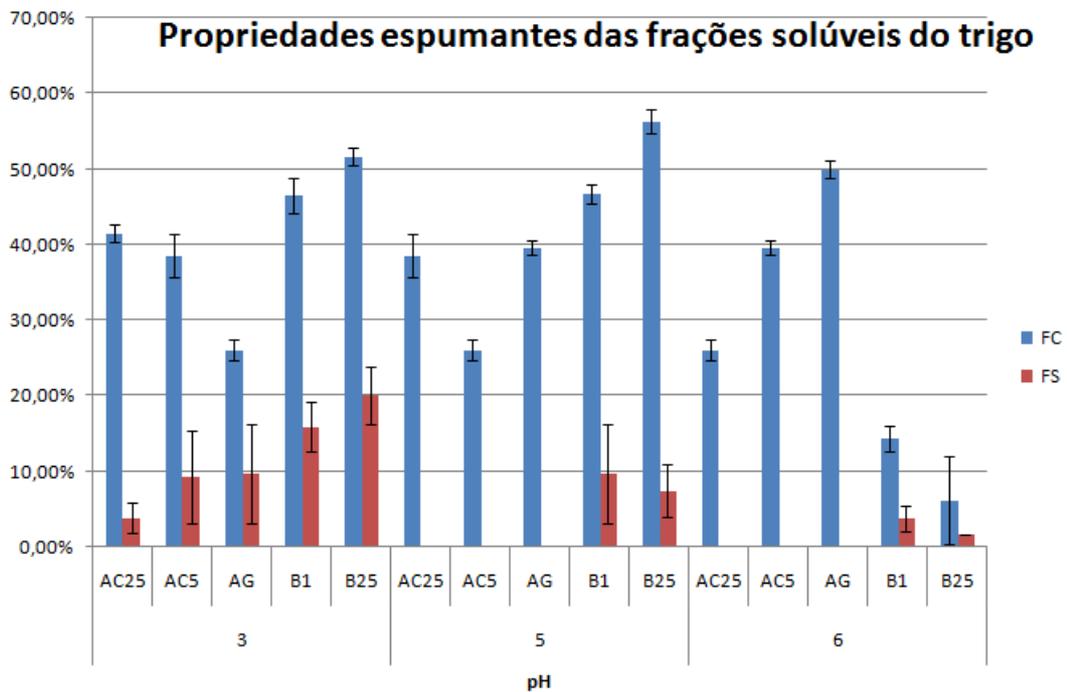


Figura 15- O gráfico apresenta a FC (capacidade espumante) e FS (estabilidade da espuma) pelas colunas azul e vermelho, onde AC corresponde à extração em meio ácido de 25 e 5 as molaridades de 0,5 e 0,25 M. AG corresponde à extração em água e B às extrações alcalinas, onde 1 e 25 são as molaridades de 0,1 e 0,025 M.

4.11 Efeito prebiótico das frações solúveis não amido do farelo de trigo

Foi calculado o efeito prebiótico *in vitro* das FAS do farelo de trigo e para isso foram incubadas cepas das bactérias *Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium breve*, *Bacteroides fragilis* e *Clostridium perfringens* para o cálculo do crescimento relativo (CR), da atividade prebiótica (AP) e do índice prebiótico (IP). *E. coli* foi usado como cepa de referência e a inulina como controle positivo de efeito prebiótico. Em todos os casos as bactérias foram inoculadas em um meio semidefinido sem carboidrato, como controle negativo.

4.11.1 Crescimento relativo

O crescimento relativo (CR) é a capacidade de relacionar o crescimento de uma bactéria em um meio enriquecido com determinado substrato em relação a outro meio com adição de glicose (substrato não prebiótico). Portanto os carboidratos terão atividade prebiótica se foram metabolizados assim como a glicose pelas bactérias probióticas e seletivamente metabolizados pelos probióticos e não por outras bactérias residentes do intestino. Para ter CR positivo os resultados precisam ser maiores que 1 ou maiores e iguais que os valores de CR da inulina (quando $CR < 1$). Portanto é esperado que a inulina, prebiótico de referência, tenha valores de PA maiores ou iguais a 1 (Huebner et al., 2006).

Ao avaliar o resultado de CR das cepas analisadas na tabela 17 é possível dizer que todas as FAS extraídas do farelo apresentam valor de CR igual ou significativamente maior que a inulina (controle positivo). As FAS extraídas em meio aquoso, ácido e alcalino tiveram uma performance igual à inulina nas cepas de *Lactobacillus*, *Bifidum*, *Bacteroide* e *Clostridium*, com exceção das FAS de H_2SO_4 0,5M e $NaOH$ 0,025M, que nas cepas de *Clostridium* tiveram um CR significativamente maior que a inulina.

Tabela 17- Crescimento relativo das FAS do farelo de trigo em diferentes cepas.

Cepa	Inulina	Água	H_2SO_4 0,25 M	H_2SO_4 0,5 M	$NaOH$ 0,025 M	$NaOH$ 0,1 M
<i>Lactobacillus</i>	1,25 ± 0,07	0,85 ± 0,18	0,99 ± 0,17	1,53 ± 0,07	1,73 ± 0,21	2,15 ± 0,52*
<i>Bifidum</i>	1,75 ± 0,05	0,91 ± 0,12	1,04 ± 0,27	1,04 ± 0,27	1,22 ± 0,16	1,41 ± 0,29
<i>Bacteroide</i>	0,72 ± 0,15	0,87 ± 0,23	0,83 ± 0,09	1,13 ± 0,23	1,31 ± 0,15	1,24 ± 0,30
<i>Clostridium</i>	0,72 ± 0,04	0,69 ± 0,01	0,80 ± 0,13	0,98 ± 0,11*	1,10 ± 0,17*	1,30 ± 0,47

O asterisco representa a diferença significativa com a inulina, de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

4.11.2 Atividade prebiótica

A atividade prebiótica (AP) indica o crescimento de uma bactéria probiótica em relação a uma bactéria entérica (*E. coli* nesse estudo) e os substratos metabolizados pelas cepas, que apresentam valores positivos de AP ($AP > 0$), indicam um bom crescimento das bactérias probióticas em relação à *E. coli* e que os substratos possuem efeito prebiótico. Quanto maior o valor de AP, melhor será o efeito probiótico do polissacarídeo (Huebner et al., 2006).

Todas as FAS de trigo deram resultados de $AP > 0$, ou seja, todos os polissacarídeos não amido extraído do farelo apresentam Atividade Prebiótica. Os valores obtidos são iguais ou significativamente inferiores ao de AP da inulina. As FAS extraídas em meio aquoso, ácido e alcalino tiveram um desempenho igual à inulina nas cepas de *Lactobacillus*, *Bifidum*, *Bacteroides* e *Clostridium*, com exceção das FAS de água nas cepas de *Bifidum* e *Clostridium* e das FAS extraídas em H_2SO_4 0,25M nas cepas de *Lactobacillus* e *Bacteroides* que possuem AP positiva, porém significativamente menor que a AP da inulina. Os resultados de AP estão exibidos na tabela 18.

Tabela 18- Atividade prebiótica das FAS do farelo de trigo em diferentes cepas.

	Inulina	Água	H_2SO_4 0,25 M	H_2SO_4 0,5 M	NaOH 0,025 M	NaOH 0,1 M
<i>Lactobacillus</i>	1,16 ± 0,25	0,70 ± 0,03	0,22 ± 0,17*	0,81 ± 0,07	1,03 ± 0,21	1,31 ± 0,10
<i>Bifidum</i>	0,79 ± 0,05	0,62 ± 0,01*	0,26 ± 0,05	0,47 ± 0,10	0,51 ± 0,16	0,57 ± 0,15
<i>Bacteroides</i>	0,77 ± 0,05	0,58 ± 0,15	0,06 ± 0,09*	0,41 ± 0,23	0,61 ± 0,15	0,41 ± 0,10
<i>Clostridium</i>	-0,32 ± 0,24	0,40 ± 0,01*	0,11 ± 0,01	0,26 ± 0,11	0,40 ± 0,17	0,46 ± 0,12

O asterisco representa a diferença significativa com a inulina, de acordo com o teste de Scott-Knott ($p < 0,05$).

4.11.3 Índice prebiótico

O Índice prebiótico (IP) relaciona o crescimento das cepas probióticas (*Lactobacillus* e *Bifidum*) juntamente com o de *Bacteroides* e *Clostridium*, fazendo uma análise mais completa do efeito prebiótico dos extratos. Esse cálculo é baseado no crescimento de grupos bacterianos-chaves durante a fermentação (Huebner et al., 2006). Quando o aumento das populações de *Bifidobacteria* e *Lactobacillus* é maior que o aumento de *Bacteroides* e *Clostridium*, o valor de IP é positivo e isso indica que as bactérias probióticas se desenvolveram melhor que as bactérias entéricas no mesmo ambiente. Ou seja, se $IP > 0$, o polissacarídeo avaliado possui efeito prebiótico.

Os resultados de IP das frações do farelo de trigo são exibidos na figura 16. Somente as frações solúveis de farelo de trigo extraídas em água e NaOH 0,1M apresentaram valores de IP positivo, ou seja, esses polissacarídeos possuem considerável Índice Prebiótico. Embora IP seja

positivo, é significativamente inferior ao IP da inulina. Frações solúveis extraídas nas duas molaridades do meio ácido (0,25M e 0,5M) e na menor molaridade do meio alcalino (0,25M) possuem IP negativo, ou seja, esses polissacarídeos não possuem Índice Prebiótico. Entretanto, esses resultados não significam atividade biológica benéfica nula, sendo que as características inerentes às amostras as cepas utilizadas nos experimentos serão explicadas a seguir.

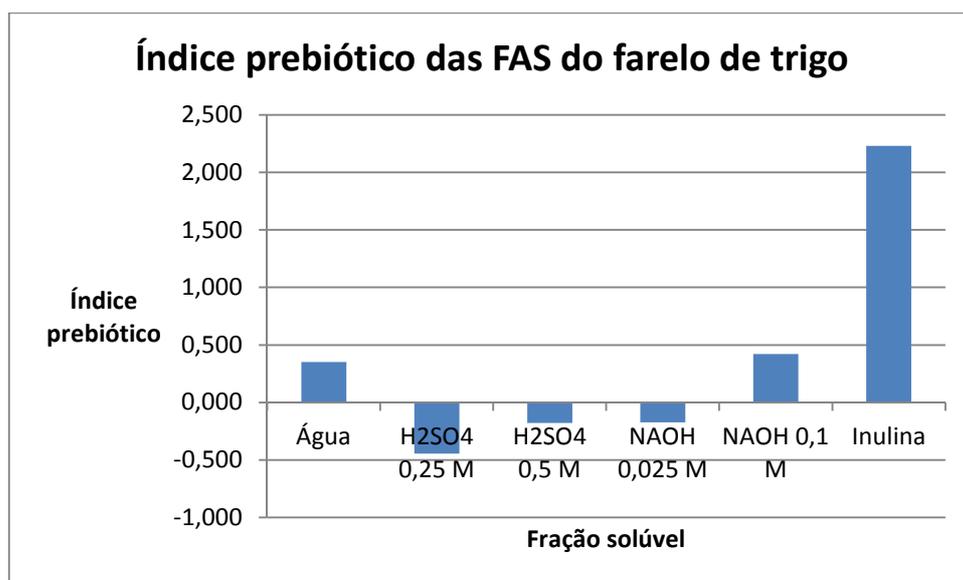


Figura 16- Índice prebiótico das FAS extraídas do farelo de trigo.

5 DISCUSSÃO

5.1 Composição centesimal do farelo de trigo

O trigo é um ingrediente fundamental para a indústria de alimentos pois seu grão apresenta um conteúdo nutricional benéfico para a saúde humana e suas proteínas possuem benefícios tecnológicos para o mercado de panificação. A importância do trigo é dada principalmente pelo fato de que o grão pode ser moído resultando em farinhas com diferentes especificações e aplicações tecnológicas (por exemplo, semolinas e farelo) os quais são ingredientes básicos em massas, pães e alimentos enriquecidos com fibras (Šramková et al., 2009).

O farelo de trigo é rico em polissacarídeos não amido (fibras), minerais além de conter quantidades significativas de proteínas (Onipe, 2015). Ao comparar os resultados da análise centesimal do farelo de trigo utilizado no trabalho com os valores da literatura exibidos na tabela 3, observa-se que os teores de umidade, proteínas, lipídeos e carboidratos totais estão muito próximos entre as amostras e a literatura. O teor de gordura está superior no farelo de trigo cedido pela indústria e isso pode ter ocorrido pelo percentual de gérmen existente na fração do farelo de trigo separado na moagem. O gérmen é um subproduto da produção de farinha de trigo e é nessa fração onde estão concentrados aminoácidos essenciais e ácidos graxos. Embora a adição do gérmen na farinha possa agregar valor nutricional ao produto, a vida de prateleira pode ser reduzida devido à rancificação das gorduras resultantes da oxidação lipídica. Portanto, a qualidade do produto final depende da quantidade de gérmen remanescente ou adicionado (Boukid et al., 2018).

O farelo de trigo possui um conteúdo proteico similar ao grão de trigo (entre 11 e 18%), porém essas proteínas não apresentam benefícios tecnológicos para a panificação. O grão de trigo contém albuminas, globulinas, além dos conjuntos proteicos formadores do complexo do glúten, a gliadina e a glutenina. Entretanto, esses aminoácidos formadores da rede viscoelástica estão concentradas no endosperma, enquanto as proteínas albuminas e globulinas estão concentradas na camada da aleurona e do pericarpo (Šramková et al., 2009). Por esse motivo, o farelo de trigo é utilizado pela indústria como um ingrediente que agrega fibras ao alimento (Stevenson et al., 2012).

A tabela 19 faz uma comparação entre os valores da composição centesimal do farelo encontrado por diferentes autores.

Tabela19- Comparação da análise centesimal do farelo obtida a partir de diferentes literaturas

Análises	Conteúdo (%)^A	Conteúdo (%)^B	Conteúdo (%)^C
Umidade	9,0	8,1	14,0
Cinzas	6,8	8,1	0,4
Proteínas	14,5	8,1	15,0
Lipídeos	0,0	0,0	0,8
Fibra Alimentar	45,2	63,0	-
Carboidratos Totais	-	60,0	78

Fonte: A) Pierarski, 2009; B) Onipe et al., 2015; C) Zardo, 2010.

5.2 Características de peso molecular das FAS

Diferentes métodos de processo para modificação das propriedades nutricionais e estruturais do farelo de trigo vêm sendo estudadas e as modificações podem ser observadas através das diferenças dos tamanhos moleculares dos polissacarídeos obtidos nos processamentos (Santala et al., 2014). Todas as extrações realizadas no presente trabalho resultaram na visualização de polissacarídeos de baixo peso molecular e com picos majoritários diferentes dos extraídos em água.

As extrações em água geraram dois picos majoritários (25,19 e 6,90 KDa) e as diferentes extrações com soluções ácidas de concentrações de 0,25, 0,5 e 1,0M de ácido sulfúrico resultaram na identificação de polissacarídeos de baixo peso molecular com tempos de retenção diferentes dos picos majoritários dos polissacarídeos extraídos em água (13,05 KDa; 8,71 KDa; 16,32 KDa, respectivamente para meio ácido). Verifica-se que o pico majoritário da fração de 1M de ácido apresenta um peso molecular maior do que o pico majoritário da água e com maior resolução (mais estreito). Isso significa que maiores quantidades de polissacarídeos com pesos moleculares parecidos entre eles foram geradas, inclusive diminuindo a intensidade de frações de alto peso molecular verificadas na fração extraída com água, podendo ter ocorrido através de duas principais causas. A primeira pode ser porque o tratamento com ácido degradou os polissacarídeos solúveis em água, sendo que os de alto peso molecular ficaram menores (e se concentraram na faixa de 16 KDa) e os de baixo peso molecular foram hidrolisados em monossacarídeos. A segunda pode ser resultado da hidrólise e rompimento das estruturas ligadas fortemente a outros polissacarídeos insolúveis, tornando-os solúveis na solução ácida e com peso molecular aparente de 16 KDa. No caso das frações derivadas dos tratamentos com soluções ácidas menos concentradas, pode ter ocorrido os mesmos eventos explicados acima, entretanto em intensidades menores.

As diferentes extrações com soluções alcalinas também resultaram na identificação de polissacarídeos de baixo peso molecular com tempos de retenção diferentes dos picos majoritários dos polissacarídeos extraídos em água (NaOH 0,1M – 1.119,35 e 14,24 KDa; 0,05M – 13,74 KDa; 0,025M – 13,73 KDa). Verifica-se que os dois picos majoritários da fração de 0,1M de extração com álcali apresentam pesos moleculares maiores do que o pico majoritário da água, sendo o segundo deles mais estreitos (maior resolução). Esses resultados indicam que a hidrólise alcalina favoreceu a liberação de polissacarídeos de maiores pesos moleculares provenientes das frações menos solúveis em água, pelo menos para o pico de maior peso molecular (1.119 KDa). Entretanto, não se pode descartar que o tratamento com álcali degradou os polissacarídeos solúveis em água de alto peso molecular ficando estes menores e se concentrando na faixa de 14 KDa, sendo, possivelmente, os oligos/polissacarídeos de baixo peso molecular hidrolisados em monossacarídeos. No caso das frações derivadas dos tratamentos com soluções alcalinas menos concentradas, pode ter ocorrido os mesmos eventos explicados acima em menores intensidades.

A extração com hipoclorito também apresentou polissacarídeos solúveis de baixo peso molecular, sendo os cromatogramas mais parecidos com os da extração aquosa (NaClO 10% - 13,59 KDa). Entretanto, o pico majoritário encontrado nas amostras extraídas com hipoclorito se assemelha em tempo de retenção e peso molecular aos picos majoritários das frações extraídas com soluções alcalinas. A identificação e caracterização dos polissacarídeos dessas frações mostraram uma possível semelhança entre os compostos extraídos e essa semelhança é confirmada com a análise de açúcares (resultados descritos em 6.3: Composição da parede celular – Análise de açúcares). Nas frações com hipoclorito, a oxidação extensa de compostos fenólicos (lignina) pode ser o principal responsável pela visualização de um novo pico de 13,59 KDa, pois contrariamente às reações de hidrólise e redução, que rompem a estrutura e removem as funcionalidades químicas de lignina produzindo fenóis simples, as reações de oxidação tendem a formar compostos aromáticos mais complexos (Oliveira, 2015).

Conforme citado acima, através da análise da composição dos monossacarídeos das frações solúveis não amido provenientes das extrações alcalinas e oxidantes, verifica-se que as identidades desses polissacarídeos podem ser semelhantes. Uma provável explicação para isso seria que a hidrólise alcalina liberou fragmentos ligados à lignina tornando-os mais solúveis, enquanto que a oxidação da lignina pelo hipoclorito pode ter resultado na mesma liberação observada pelo tratamento com álcali.

Santala et al. (2013) estudaram o efeito da enzima xilanase no farelo de trigo com os formatos granular e moído e avaliaram a quantidade de arabinoxilanos solúveis. Ao avaliar o

peso molecular dos arabinoxilanos extraídos, foram encontrados polissacarídeos com os tamanhos moleculares entre 158 e 53 KDa e todas as análises estudadas apresentaram somente um pico majoritário de mesmo comportamento. Outro estudo que avaliou a solubilidade dos arabinoxilanos do farelo de trigo através da ação de enzimas α -amilases com diferentes graus de pureza foi de Mathew et al. (2017), onde os autores identificaram polissacarídeos de baixo peso molecular de 38 até 22 KDa provenientes da extração. No caso, os autores afirmaram que a ação das xilanases foi capaz de hidrolisar o AX solúvel de origem dos xilo-oligossacarídeos e como consequência transformar longas cadeias de AX em substratos mais curtos, que podem ser utilizados de maneira mais eficiente pelas bactérias prebióticas.

Collins et al. (2010) demonstraram que os β -glicanos de trigo possuem peso molecular variando entre 350-800 KDa. Maheshwari et al. (2017) avaliaram através de uma revisão bibliográfica a extração de β -glicanos em diferentes meios reacionais e concluíram que extrações em água de β -glicanos de aveia resultaram em polissacarídeos com peso molecular de 180, 70 e 30 KDa. Os polissacarídeos de baixo peso molecular encontrados no presente trabalho nas extrações em água, ácido e hipoclorito podem indicar a presença de arabinoxilanos e β -glicanos, uma vez que majoritariamente os açúcares encontrados na análise de açúcares foram arabinose, xilose e glicose (esses resultados são exibidos em 6.3: Composição da parede celular). Embora haja essa tendência na identificação dos monossacarídeos, não é possível afirmar a real natureza dos polissacarídeos que compõem os picos exibidos pelo HPSEC, pois nessa metodologia não é descartado a possibilidade de um pico ser composto por diferentes polissacarídeos, mas com pesos moleculares aparentes semelhantes.

Os procedimentos de extração das frações solúveis usados no presente trabalho aparentam ser mais vigorosos que a metodologia de extração enzimática de polissacarídeos utilizada por Santala et al. (2013), visto que o peso molecular dos polissacarídeos extraídos é menor que os resultados apresentados por esses autores. O tratamento enzimático com xilanase extraiu polissacarídeos de baixo peso molecular, de 38 até 22 KDa (Mathew et al., 2017), ou seja, frações com peso molecular e natureza próximas aos extraídos em meio aquoso, ácido e alcalino no atual trabalho. Essa semelhança no peso molecular pode indicar que a metodologia de extração desses autores teve efeito tão vigoroso na quebra dos polissacarídeos da parede celular do trigo quanto aos estudados nessa pesquisa.

Ao comparar o peso molecular das frações solúveis extraídas em água com os pesos moleculares das extrações dos polissacarídeos da aveia (Maheshwari et al., 2017), as extrações em água do nosso trabalho resultaram em polissacarídeos de menor peso molecular (25,19 e 6,90 KDa). Essa diferença pode ter ocorrido pela diferença na composição dos polissacarídeos

do trigo e da aveia, além do processo extrativo também apresentar variação, uma vez que a aveia apresenta maior quantidade de β -glicanos em sua parede celular do que o trigo.

5.3 Teor de proteína nos polissacarídeos não amido do trigo remanescente após tratamento químico e enzimático com protease.

O farelo de trigo possui um conteúdo proteico similar ao grão de trigo (entre 11 e 18%), destacando-se as albuminas, globulinas, além dos conjuntos proteicos formadores do complexo do glúten, a gliadina e a glutenina (Šramková et al., 2009), e os resultados apresentados no presente trabalho corroboram tal fato. Ao se comparar o teor de proteínas das FAS após o tratamento térmico e após tratamento térmico com a adição da enzima proteinase K com o percentual no farelo (encontrado na análise centesimal) todas as frações apresentaram redução na quantidade de proteína. Primeiramente, somente o tratamento das extrações em meio aquoso, ácido, alcalino e oxidante não foram suficientes para extração das proteínas em sua totalidade visto o caráter predominantemente hidrofóbico das principais proteínas do trigo. Além disso, o tratamento com reagentes químicos pode ter colaborado para a degradação das ligações peptídicas, diminuindo a quantidade de proteínas possivelmente solúveis em solução aquosa. Por fim, o tratamento com protease foi o suficiente para se ter a redução em níveis quase indetectáveis de proteínas nas frações solúveis.

5.4 Composição da parede celular – Análise de açúcares

A parede celular é a região do grão com maior concentração de fibras, logo é considerada a principal fonte de fibra alimentar na estrutura vegetal. É composta por componentes estruturais, destacando os polissacarídeos como celulose, heteroxilanos, glicomananos, xiloglicanos, polissacarídeos pécnicos, proteínas estruturais, ligninas, arabinogalactanos (1-3, 1-4) β -glicanos e arabinoxilanos (Cui e Wang, 2009; Collins et al., 2010). O endosperma de cereais é composto por 70 a 80% de amido, 5 a 15% de proteínas e 0,5 a 4% de polissacáridos não amido, como os arabinoxilanos, β -glicanos e arabinogalactanos (Comino et al., 2014). No endosperma geralmente não há lignina, porém encontram-se ácidos fenólicos (Comino et al., 2013). Como o farelo de trigo é composto principalmente pela parede celular do vegetal, era de se esperar que fossem encontrados os açúcares arabinose, galactose, glicose e xilose na composição do farelo. Ainda, como o farelo pode conter resíduos da farinha branca (principal componente é o endosperma), também era esperado que se encontrasse amido no farelo.

Um indício da presença dos arabinosilanos e β -glicanos na fração solúvel do farelo de trigo, obtida pelas diferentes formas de extração, foi através da identificação dos açúcares (monossacarídeos) das FAS. Foram encontrados percentuais de arabinose, galactose, glicose, xilose, manose, ácidos galacturônico e glicurônico em todas as frações solúveis extraídas com as diferentes soluções. Entretanto, o percentual de cada açúcar variou conforme o tipo do meio de extração e a molaridade da solução utilizada.

As frações solúveis não amido extraídas em água tem indícios da presença de arabiloxinalos, β -glicanos e arabinogalactanos. Segundo Comino et al. (2013), os arabinosilanos e arabinogalactanos altamente ramificados da parede celular do trigo são tipicamente extraídos em solução aquosa junto com resíduos de β -glicanos. Comino et al. (2013; 2014) estudaram os açúcares presentes na fração solúvel e insolúvel da farinha branca e do farelo de trigo, respectivamente, e utilizaram como metodologia de separação das frações o aquecimento em água na temperatura de 90°C por 90 minutos. Posteriormente, os autores separaram as frações solúveis das insolúveis por centrifugação (3200 g – 10 min) e o pellet (fração insolúvel) foi solubilizado em água e tratado com enzimas para degradação do amido e das proteínas, assim como realizado nesse projeto. Essa metodologia foi escolhida com o objetivo de não alterar a estrutura química das fibras dos grãos estudados. A tabela 20 exibe os percentuais molares dos açúcares encontrados pelos autores na farinha e no farelo de trigo e também os açúcares encontrados no farelo de trigo pela extração em água, para fins comparativos com o presente trabalho.

Tabela 20- Açúcares encontrados na farinha e no farelo de trigo.

	Ara	Gal	Glc	Xil	Man
FIS – Farinha branca em água (Comino et al., 2013)	28,3	0,7	19,5	47,7	3,9
FIS – Farelo de trigo em água (Comino et al., 2014)	23,1	0,8	19,5	42,9	3,6
FAS – Farelo de trigo em água*	14,4±0,95	6,37±0,53	55,62±0,41	16,93±0,14	3,69±0,30

* Valores encontrados no presente trabalho.

Ao avaliar a tabela 20, são encontradas diferenças entre os percentuais de açúcares das FIS da farinha e as FAS do farelo extraídas em água (nesse projeto), destacando um teor maior de glicose. Esse maior conteúdo de glicose no farelo pode ser explicado pela diferença na composição do pericarpo e do endosperma, uma vez que o pericarpo possui mais celulose, hemicelulose e pentosanas. A diferença na quantidade de açúcares também pode ser atribuída

pelos diferentes métodos de extração utilizados, uma vez que Comino et al. (2013; 2014) não utilizaram etanol para precipitar e purificar os polissacarídeos.

Ao comparar os açúcares encontrados no farelo de trigo por Comino et al. (2014) com o presente trabalho, também foram encontradas diferenças nas quantidades dos monossacarídeos. O autor encontrou maiores percentuais molares de arabinose e xilose e um valor inferior para a glicose quando há a comparação com os percentuais molares do presente trabalho. Essa variação também pode ter ocorrido devido ao fato dos diferentes métodos de extração utilizados, os quais podem ter extraído polissacarídeos de diferentes naturezas.

Os polissacarídeos resultantes do tratamento com ácido sulfúrico no presente trabalho têm indícios da presença de arabinoxilanos, β -glicanos e arabinogalactanos. O tratamento ácido aumentou o percentual de glicose e xilose e diminuiu as quantidades de arabinose, quando as quantidades são comparadas com a água, demonstrando que a hidrólise ácida modificou a estrutura dos polissacarídeos solúveis. Hell et al. (2015) estudaram o aumento da solubilidade da FAS do farelo de trigo com solução de H_2SO_4 1,0M e também verificaram o mesmo comportamento na identificação dos monossacarídeos que o nosso trabalho, ou seja, redução de arabinose e o aumento de xilose e glicose. A semelhança nos resultados pode ser dada pela conservação parcial das metodologias de extração utilizadas, confirmando uma possível metodologia de extração de FAS do farelo de trigo independentemente do tipo de amostra utilizada.

As frações solúveis em meio alcalino também podem ser compostas por arabinoxilanos, β -glicanos e arabinogalactanos. As três molaridades estudadas apresentaram aumento no percentual de arabinose e xilose e da glicose. Hell et al. (2015) estudaram a extração com solução de NaOH 1,0% e encontraram o aumento das quantidades de glicose, xilose e arabinose. A semelhança dos resultados com o nosso trabalho pode ser explicada pelos mesmos motivos acima, mesmo que a molaridade da solução de NaOH utilizada tenha sido dez vezes menor no nosso trabalho. Em experimentos prévios, tanto a molaridade utilizada por Hell et al. (2015) quanto as concentrações de 0,5M e 0,25M degradaram mais o farelo de trigo, simplesmente carbonizando o material. Devido a outros testes realizados em laboratório, decidiu-se prosseguir com as concentrações dez vezes menores que as propostas inicialmente. Comino et al. (2013) concluíram que os arabinoxilanos insolúveis em água requerem condições químicas mais severas e tipicamente alcalinas para sua solubilização, portanto o aumento dos monossacarídeos arabinose e xilose nos polissacarídeos não amido pode indicar o aumento da solubilidade de arabinoxilanos.

Além de métodos biocatalíticos, térmicos e químicos para aumentar a solubilidade das FAS no farelo de trigo, métodos mecânicos também são possíveis opções para modificar as propriedades do farelo de trigo e seus componentes (Sibakov et al., 2013). Baseado nessa informação, foi encontrado na literatura o trabalho de Arcila et al. (2015), cujos autores visaram aumentar a solubilidade dos polissacarídeos não amido por meio da extrusão. O processo consistiu em extrusão, seguida por solubilização em água e precipitação com etanol 80%. Como resultado, os autores encontraram grandes quantidades dos açúcares arabinose, xilose, glicose e pequenas quantidades de galactose e concluíram que a extrusão teve influência no aumento da quantidade de açúcares nas frações solúveis.

5.5 Teor de β -Glicano nas frações solúveis do farelo de trigo

Embora os β -glicanos encontrados em cereais como aveia, trigo e cevada são parcialmente solúveis em água, problemas com a extração desses componentes são desafios comuns devido ao baixo rendimento, baixa pureza, polimerização e hidrólise dos polissacarídeos. Sendo assim, diferentes temperaturas, diferentes pH e a escolha dos solventes podem aumentar o rendimento da extração de β -glicanos (Zielke et al., 2017). Ao avaliar a concentração de β -glicanos nas diferentes extrações estudadas, foi observado que o tratamento alcalino foi mais eficiente na extração desses polissacarídeos, seguida pelas extrações em meio ácido e por fim em meio aquoso. Esse resultado é confirmado pela literatura, onde Comino et al. (2013) e Zielke et al. (2017) demonstraram que maiores rendimentos de extração de β -glicanos são alcançados com aumento de temperatura e a utilização de soluções alcalinas.

Ahmad et al. (2010) avaliaram a solubilidade de β -glicanos em solução de Na_2CO_2 e encontraram o percentual de 5,14%, valor próximo aos percentuais encontrados nas extrações alcalinas nesse trabalho (5,42 % em NaOH 0,25M e 4,62% em NaOH 0,1M). O conteúdo de β -glicanos no grão de trigo depende do genótipo (Šramková et al., 2009) sendo que o farelo de trigo possui cerca de 6% de β -glicanos em sua composição (Comino et al., 2013). Baseado nesse valor, pode-se dizer que as extrações alcalinas extraíram quase que toda a quantidade desse polissacarídeo presente no farelo de trigo.

Os polissacarídeos extraídos em água apresentaram a menor concentração de β -glicanos (0,82%) do nosso estudo. Comino et al. (2013) demonstraram que o aumento da temperatura de extrações em água de 40°C para 65°C ou 80°C pode aumentar a solubilização dos β -glicano de cevada em 75%. Entretanto, essas condições não podem ser replicadas no grão de trigo, pois os β -glicanos desse grão possuem baixa extração em água à 65°C devido ao emaranhamento físico desses polissacarídeos com os arabinoxilanos e os compostos fenólicos (Comino et al.,

2014). A temperatura de extração de 40°C utilizada na presente pesquisa é inferior à temperatura de 65°C, citada pelos autores, portanto esse fator pode ser o responsável pela baixa extração de β -glicanos em água.

As extrações em solução de H₂SO₄ 0,25 e 0,5M aumentaram o percentual de β -glicanos (0,97 e 2,79%, respectivamente) em relação aos polissacarídeos não amido extraídos em água e esse aumento pode ter ocorrido pelos efeitos da hidrólise ácida na solubilização e degradação de componentes da parede celular. Ahmad et al. (2010) estudaram a solubilização dos β -glicanos em ácido cítrico (pH = 3,5) encontrando 3,8% de quantidade (m/m) após a extração. O atual projeto de pesquisa encontrou menores percentuais de β -glicanos e essa redução pode ter ocorrido pela severidade do tratamento com as soluções de ácido sulfúrico. Talvez a solução de H₂SO₄ possa ter extraído maiores quantidades de polissacarídeos que a solução de ácido cítrico, porém devido às condições mais drástica, pode ter ocorrido hidrólise ácida das ligações glicosídicas dos β -glicanos até a degradação completa em monossacarídeos de glicose.

5.6 Compostos fenólicos presentes nas frações solúveis extraídas no farelo de trigo

β -glicanos e arabinoxilanos são de difícil extração devido às ligações na parede celular com outros polissacarídeos e com os compostos fenólicos (Comino et al., 2014). As formas insolúveis de arabinoxilanos são ricas em ácidos fenólicos ligados (predominando o ácido ferúlico) que podem formar ligações cruzadas entre si e com outros componentes. Para que ocorra a extração desses polissacarídeos, é necessário utilizar métodos químicos severos que possam degradar os compostos fenólicos e solubilizar os polissacarídeos associados a esses compostos (Comino et al., 2013; Šramková et al., 2009).

O ácido fenólico e os flavonoides estão presentes principalmente nas formas insolúveis no farelo de trigo, pois estão ligados a componentes da parede celular, como arabinoxilanos e ligninas. Uma pequena porcentagem de antioxidantes solúveis de baixo peso molecular (cerca de 6%) está livre de interações químicas ou físicas com outros polissacarídeos (Zilic et al., 2012). No atual trabalho, os tratamentos com ácidos e bases aumentaram o teor de compostos fenólicos nos polissacarídeos solúveis não amido, demonstrando possíveis rompimentos das interações dos compostos fenólicos com outras moléculas aumentando assim a concentração nas FAS extraídas em solução ácida e alcalina.

Embora tenha havido um aumento na quantidade dos compostos fenólicos, esse valor ainda é muito baixo, visto que estudos anteriores demonstraram que os compostos fenólicos na

farinha de trigo estavam em torno de 7,44 μg ácido gálico/ μg amostra (Li et al. 2015). O poder redutor encontrado pelos autores foi de 44,4 μmol Trolox/g amostra e esse número também é superior aos valores encontrados no presente trabalho.

Zilic et al. (2012) estudaram os compostos fenólicos no farelo de trigo de diferentes cultivares e a capacidade redutora variou de $27,81 \times 10^3$ a $37,57 \times 10^3$ μmol Trolox/kg de farelo. Os teores fenólicos totais do farelo de trigo tiveram um valor médio de 9,208 μg ácido gálico/ μg de amostra, demonstrando que a capacidade redutora e as concentrações de compostos fenólicos encontrado pelos autores no farelo de trigo são superiores aos resultados do presente trabalho.

Após avaliar as propriedades antioxidantes do farelo e do trigo na literatura, é notado que o conteúdo de compostos fenólicos e os valores de FRAP e ABTS dos polissacarídeos solúveis não amido obtidos nessa pesquisa estão abaixo da literatura. Essa redução pode indicar que o tratamento térmico e os tratamentos químicos tiveram influência na redução do teor dos compostos fenólicos que compõem as FAZ resultando em baixa capacidade redutora.

5.7 Propriedades funcionais das frações solúveis do farelo de trigo – Umidades e absorção de água (WAC)

O farelo de trigo é um ingrediente que quando incorporado em pães pode permitir o aumento da absorção de água, pois é um material higroscópico que compete ativamente pela água com outros componentes essenciais da formulação, como a farinha, o amido e o glúten (Jacobs et al., 2015). Por consequência, frações de componentes extraídos do farelo de trigo também poderiam apresentar semelhante propriedade. As frações solúveis do farelo de trigo extraídas em água, ácido e base no presente trabalho apresentaram um teor de umidade entre 3 e 5%. Esse baixo teor é resultado do processo de secagem por liofilização e pelo posterior armazenamento das amostras em dessecador, evitando assim a absorção de umidade durante o armazenamento das FAS. A solubilidade foi muito alta em todas as frações solúveis e isso pode ocorrer devido ao fato dos polissacarídeos apresentarem baixo peso molecular, além dos métodos de extração terem utilizados etapas de filtragem, centrifugação e precipitação em etanol para isolamento das frações mais solúveis em meio aquoso com posterior liofilização.

Zhao et al. (2017) estudaram a absorção de água em farelo de trigo *in natura* e após modificação química mediada por fermentação *in vitro*. Os autores demonstraram que uma fração de polissacarídeo do farelo de trigo de 45% do total da massa exibiu de 10.000 a 15.000 KDa de variação de peso molecular, enquanto outra fração de 14,03% (m/m) exibiu de 500 a 180 KDa, com o conjunto total de WAC a 4,16g/g. Após modificação estrutural pelas enzimas

fermentativas, as moléculas de 10.000-15.0000 KDa reduziram para 20%, as moléculas com 500 e 180 KDA aumentaram para 49% e os valores de WAC aumentaram para 4,353 g/g. A fermentação permitiu uma maior solubilização de polissacarídeos e por esse motivo houve o aumento da absorção de água.

As frações solúveis extraídas nesse projeto de pesquisa apresentaram uma variação no resultado de WAC, onde somente as extrações em ácido sulfúrico nas concentrações 0,25M e 0,5M absorveram 1,10 e 0,86 g de água por grama de amostra, respectivamente. Sabe-se que as fibras dietéticas solúveis podem absorver mais água que as fibras insolúveis (Zhao et al., 2017), portanto era esperado que todas as frações solúveis obtidas tivessem alta absorção de água, uma vez que suas características estruturais indicam a presença de polissacarídeos solúveis. O resultado de baixo WAC nas extrações em meio alcalino e oxidante pode ser explicado pelo baixo peso molecular das FAS obtidas através dos tratamentos químicos resultado da modificação estrutural promovida pelas reações de beta-eliminação e oxidação. Embora as frações solúveis extraídas em meio ácido também sejam de baixo peso molecular, elas apresentaram uma pequena absorção de água e essa propriedade funcional pode ser devido à diferença estrutural desses polissacarídeos obtidos através da hidrólise ácida.

Jacobs et al. (2013) estudaram a absorção de água em amostras de farelo de trigo com diferentes granulometrias (de 4500 até 38 μm de *mesh*), sendo que a única modificação realizada foram as modificações mecânicas para redução das partículas. Descobriram que a amostra mais grossa teve WAC de 7,3 g / g, o que equivale a 1,8 vezes a quantidade de água absorvida pela amostra mais fina. Santala et al. (2013) também estudaram a influência da absorção de água na granulometria do farelo de trigo, encontrando o valor de 3,7 g/g de WAC no farelo sem modificações mecânicas e 3,3 g/g na menor granulometria estudada de 84 μm . Ambos os estudos encontraram que embora o farelo sofresse uma modificação mecânica, ainda assim tem capacidade de retenção de água. Uma vez que força mecânica no farelo não altera o WAC, a perda dessa propriedade apresentada pelas frações solúveis do farelo no presente trabalho pode ser atribuída pela modificação estrutural provocada pelos tratamentos físico-químicos.

5.8 Propriedades espumantes das frações solúveis do farelo de trigo

Frações solúveis extraídas em água, meio ácido e alcalino apresentaram maior capacidade de retenção de espuma em soluções no menor pH. Segundo Sciarini et al. (2009), a medida que o pH aumenta, a concentração de grupos hidroxila aumenta, aumentando a repulsão entre moléculas e o volume ocupado pelas mesmas. Assim, as moléculas de polissacarídeos

tenderiam a se mover para a interface, contribuindo para a estabilização da espuma. Nesse trabalho o resultado encontrado foi o contrário, ou seja, quanto maior o pH, menor a estabilidade das espumas. Entretanto, embora em pH 3 foi apresentada a melhor estabilidade de espumas, ainda assim esse valor é muito baixo. A baixa propriedade espumante dos polissacarídeos não amido extraídos no trabalho pode ser explicada novamente pelo baixo peso molecular demonstrado pelas frações solúveis e pelo baixo percentual de proteínas em sua composição.

Todas as FAS extraídas do farelo de trigo não apresentaram propriedades espumantes, ou seja, a capacidade de reter 80% da formação inicial da espuma por um certo período de tempo. Porém foi observado uma maior estabilidade nas FAS extraídas em meio alcalino quando a porcentagem de espuma retida é comparada com as extrações em água e meio ácido, ainda que não sejam satisfatórias para considerá-las com boas propriedades espumantes. Os polissacarídeos não amido provenientes das extrações alcalinas foram os únicos que apresentaram uma estrutura de maior peso molecular, ou seja, 1 pico de aproximadamente 1.000 KDa. Essa questão estrutural pode ter ajudado na retenção do gás na solução e a manter a espuma estável por um pouco mais de tempo.

Ahmad et al. (2010), avaliaram as propriedades espumantes de β -glicanos extraídos da aveia por métodos químicos em meio ácido (ácido cítrico) e em meio alcalino (carbonato de sódio). Os β -glicanos extraídos foram misturados vigorosamente em água (pH) e a espuma formada observada. Frações extraídas em ácido e meio alcalino tiveram a estabilidade de 60,2 e 58,5 % por 2 horas. Ao comparar esses resultados dos autores com a presente pesquisa, o pH estudado mais próximo ao da água é o pH 6 e nessa condição nenhuma das FAS extraídas do farelo de trigo apresentaram estabilidade de espuma. Essa diferença de estabilidade pode ser atribuída pelas diferenças estruturais da parede celular da aveia e do trigo, além das diferentes condições de extração empregadas.

5.9 Efeito prebiótico das frações solúveis do farelo de trigo

Um polissacarídeo possui efeito prebiótico quando os valores de CR são maiores ou iguais a um (ou maiores e iguais ao CR da inulina), quando a AP é positiva e por fim, quando IP também é positivo (ou seja, o polissacarídeo permite que os probióticos se desenvolvam mais que as bactérias entéricas do meio). Ao avaliar os resultados de CR, AP e IP dos polissacarídeos não amido do farelo de trigo, as frações extraídas em água e NaOH 0,1 M têm potencial efeito prebiótico *in vitro* (CR>1, AP>0, IP>0), que sugere que seu uso como prebiótico pode modelar positivamente o crescimento dos organismos probióticos. Já as frações extraídas com H₂SO₄

0,25M e 0,5M e NaOH 0,25 M não têm potencial efeito prebiótico *in vitro* quando comparados com a inulina (embora CR>1 e AP>0, os valores de IP foram negativos).

As extrações que H₂SO₄ 0,25M e 0,5M e NaOH 0,25M, embora tenham CR e AP positivos, o valor de IP foi negativo e isso indica que esses polissacarídeos não só estimulam o crescimento das cepas de *Lactobacillus* e *Bifidum*, como também dos *Bacteroides* e *Clostridium*. Os valores de *Bacteroides* e *Clostridium* foram significativamente altos, sendo maiores que o crescimento dos probióticos, o que influencia negativamente no valor de IP.

Todas as FAS apresentaram Crescimento Relativo dos probióticos igual ou maior que a Inulina. Os *Lactobacillus*, *Bacteroides* e *Clostridium* não patogênicos são especializados na degradação de carboidratos complexos (como arabinosilanos e β-glicanos) e desempenham um papel importante no metabolismo dos mesmos devido à sua capacidade de produzir uma ampla gama de enzimas despolimerizantes (Grootaert et al., 2007). Os polissacarídeos não amido extraídos através de solução aquosa, ácida e alcalina possuem baixo peso molecular e considerável percentual de β-glicanos. Além disso, há indícios que essas frações solúveis também são compostas por arabinosilanos (através da análise de açúcares), portanto, os polissacarídeos não amido do farelo de trigo podem ser formados por polissacarídeos complexos de baixo peso molecular e de diferente natureza. Como as bactérias *Lactobacillus*, *Bacteroides* e *Clostridium* não patogênicos têm facilidade em metabolizar polissacarídeos complexos, o aumento dessas cepas nos meios com as FAS do farelo pode ter gerado facilidade de degradação dos polissacarídeos.

Também foi observado o aumento do CR das *Bifidobacteria*. Enquanto as bifidobactérias não produzem xilanases (estudos prévios encontraram somente bifidobactérias que produzam α-L-arabinofuranosidases e β-xilosidases) os *Bacteroides* possuem atividades endo-xilanases, α-L-arabinofuranosidases e arabinanases, que permitem a degradação de carboidratos complexos, como por exemplo, os arabinosilanos (Grootaert et al., 2007). A atividade das endo-xilanases dos *Bacteroides* produz oligossacarídeos que serão utilizados pelos *Bifidobacterium*. Sabe-se que em um ambiente intestinal há uma cooperação entre as bactérias, ou seja, aquelas produtoras de xilanases podem favorecer o metabolismo das bifidobactérias (Grootaert et al., 2007). Assim, o CR positivo dos *Bacteroides* pode ter contribuído para o aumento do CR das bifidobactérias. Portanto, o aumento de *Bacteroides* pode não ser um resultado interpretado como não-negativo, uma vez que a atividade hidrolítica pode gerar açúcares para as bifidobactérias. Entretanto, como o oligossacarídeo padrão utilizado nos experimentos é a inulina, pode-se dizer que, comparativamente à inulina, as FAS

extraídas no atual trabalho geraram um comportamento diferente ao esperado para um padrão de frutooligosacarídeo.

A Atividade Prebiótica foi baseada no crescimento relativo de uma cepa, quando comparado com o crescimento da *E. coli* nas mesmas condições. A *E. coli* é utilizada para essa análise, pois não possui atividade probiótica. Foi calculado a AP para *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium* e *Bacteroidese* foi encontrado AP positiva para todas as FAS extraídas do farelo de trigo do presente trabalho. Ou seja, o prebiótico foi utilizado de forma mais seletiva que a glicose pelos *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Clostridium* e *Bacteroides* (permitindo o aumento dessas colônias no meio) e reduzindo a disponibilidade de carboidratos para a *E. coli* (bactéria que teve restrição de substrato, e como consequência, menor crescimento de suas colônias). A AP positiva das bactérias estudadas pode ser explicada pelos mesmos motivos citados acima em CR.

O Índice Prebiótico foi positivo somente para os polissacarídeos extraídos em água e NaOH 0,1M. Ao avaliar a composição centesimal de ambas as frações foi observado que as duas moléculas possuem as maiores quantidades nos monossacarídeos arabinose e xilose quando comparado com os teores das outras extrações. Efeitos prebióticos associados aos arabinoxilanos têm sido relatados na literatura com muita frequência (Pruckler et al., 2014). Portanto, o Índice Prebiótico positivo das frações extraídas em água e NaOH 0,1M pode ser explicado devido ao fato de ambos os polissacarídeos possuírem maior teor de AX em sua composição.

Os β -glicanos também possuem efeito prebiótico já descrito na literatura. Esses polissacarídeos podem impedir a adesão de patógenos à mucosa intestinal e/ou agir como antioxidantes para proteger os probióticos do ambiente intestinal (Tomasik, 2013). Russo et al. (2012) encontraram que os β -glicanos conferiram às cepas de *Pediococcus* e *Lactobacillus* aumento no crescimento relativo e melhor adesão na parede intestinal. Embora se saiba que os β -glicanos possuem efeito prebiótico e esse polissacarídeo foi encontrado em todas as frações solúveis estudadas no presente trabalho, sua presença nas FAS extraídas por ácido (0,25M e 0,5M) e por álcali (0,25M) não aumentou o crescimento das cepas probióticas satisfatoriamente. De alguma forma, a presença dos β -glicanos pode não só pode aumentar o crescimento das cepas probióticas, mas também das cepas de *Clostridium*.

6 CONCLUSÃO

No atual trabalho foram isoladas frações solúveis do farelo de trigo com o auxílio de métodos físico-químicos, desenvolvendo-se as análises da composição e do tamanho molecular das frações solúveis, do rendimento das extrações e do efeito prebiótico.

O tratamento com ácido foi mais vigoroso devido à alta molaridade utilizada nos experimentos de extração, podendo ter gerado polissacarídeos de diferentes identidades quando comparado com as extrações em água, em álcali e em hipoclorito. Esses fatos poderiam demonstrar que a extração com ácido pode ser vantajosa na geração de novos polissacarídeos solúveis do farelo de trigo e nos seus maiores rendimentos de extração. Por outro lado, as extrações das frações em álcali e hipoclorito podem apresentar polissacarídeos de identidades semelhantes entre si e entre a água, o que talvez não seja algo tão vantajoso. Devido à observação dos semelhantes tempos de retenção e pesos moleculares similares dos oligo/polissacarídeos, a aplicação das extrações com álcali e hipoclorito podem ser consideradas quando apenas melhores rendimentos devam ser atingidos. Todos os tratamentos apresentaram aumento no teor de β -glicanos em suas frações solúveis, quando comparado às frações extraídas em água, mostrando um real benefício dos tipos de extração quando o resultado deva ser o isolamento de β -glicanos de baixo peso molecular. Entretanto, o aumento da presença desses componentes não foi o suficiente para um aumento dos possíveis efeitos prebióticos *in vitro*.

Assim sendo, o melhor polissacarídeo não amido do farelo de trigo estudado e com características ainda não descritas na literatura foi o proveniente da extração com NaOH 0,1M, uma vez que possui os maiores teores de β -glicanos, dos monossacarídeos xilose e arabinose (podendo indicar a presença dos arabinoxilanos em sua composição) e tem um possível efeito prebiótico, além do fato de quase forem adicionados como fibras solúveis em alimentos, não influenciarão na reologia do meio.

Ao comparar a eficiência das extrações em água com as extrações meio alcalino (NaOH 0,1M), percebe-se que o tratamento alcalino trouxe um benefício para as frações solúveis, pois ambas possuem efeito prebiótico, porém os percentuais de β -glucano são bem maiores nos polissacarídeos não amido extraídos em meio alcalino. Logo, é possível considerar essa fração solúvel como um ingrediente para a indústria de alimentos que possa trazer não somente benefícios prebióticos, mas também o enriquecimento com a fibra solúvel β -glucano.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA., RESOLUÇÃO - RDC Nº 360, DE 23 DE DEZEMBRO DE 2003, Brasília, DF, 2003.

AHMAD, A.; ANJUM, F. M.; ZAHOOR, T.; et al., Extraction and characterization of β -d-glucan from oat for industrial utilization. **International Journal of Biological Macromolecules**, Paquistão, v. 46, n. 3, p. 304–309, 2010.

ANGÉLICA, M., ROCHA, M., Isolamento e caracterização estrutural das arabinoxilanas da dreche cervejeira. Portugal: Universidade de Aveiro, 2010. 104p.

AOAC -ASSOCIATION of Official Agricultural Chemists; HORWITZ, William; LATIMER JR., George W. (Ed.). Official methods of analysis of AOAC international. 18. ed. Maryland 2011. 1677 p.

ARAÚJO, J. D.; Fibra Alimentar: Classificação, função e efeito sobre a saúde. Juiz de Fora: Universidade Federal de Juíz de Fora, 2014. 25 p.

ARCILA, J. A.; WEIER, S. A.; ROSE, D. J. Changes in dietary fiber fractions and gut microbial fermentation properties of wheat bran after extrusion and bread making. **Food Research International**, Estados Unidos, v. 74, p. 217–223, 2015.

BARCLAY, T., GINICT, M.; COOPER, P., N.Petrovsky n.; Inulin: A versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical user; **Journal of Excipients and Food Chemicals**, Australia, v.1, p 27-50; 2010.

BENZIE, I.; STRAIN, J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power: The FRAP Assay”. **Analytical Biochemistry**, Hong Kong V.239, P.70-76, 1996.

BERNARDINO, M.A., Caracterização e aplicação da farinha do bagaço da cana-de-açúcar em bolo. Pirassununga: Universidade de São Paulo, 2011. 85 p.

BERNAUD, F. S. R. R., TICIANA, C. Fibra alimentar: ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab**, Brasil, v. 57, n. 6, p. 397-405, 2013.

BERNSTEIN, David; DUNNIGAN, Jacques; HESTERBERG, Thomas; *et al.* Health risk of chrysotile revisited. **Critical Reviews in Toxicology**, Suíça, v. 43, n. 2, p. 154–183, 2013.

BETANCUR-ANCONA, D.; LÓPEZ-LUNA, J.; CHEL-GUERRERO, L. Comparison of the chemical composition and functional properties of Phaseolus lunatus prime and tailing starches. **Food Chemistry**, México, v. 82, n. 2, p. 217–225, 2003.

BINDELS, Laure B.; DELZENNE, Nathalie M.; CANI, Patrice D.; *et al.* Opinion: Towards a more comprehensive concept for prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, Bélgica, v. 12, n. 5, p. 303–310, 2015.

BOUKID, F.; FOLLONI, S.; RANIERI, R.; *et al.*, A compendium of wheat germ: Separation, stabilization and food applications. **Trends in Food Science and Technology**, Itália, v. 78, p. 120–133, 2018

BROEKAERT, E.; SNELDERS, J.; DORNEZ, W. F.; *et al.* Determination of the xylan backbone distribution of arabinoxylan- oligosaccharides. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, Bélgica, v. 2, n.1, p. 84–91, 2013.

BUCKERIDGE, M. S.; TINÉ, M. A. Composição polissacarídica: estrutura da parede celular e fibra alimentar. **In: Fibradietética in Iberoamérica: tecnologia y salud**, Brasil, p. 27-38, 2001.

COLLINS, H. M.; BURTON, R. A.; TOPPING, D. L.; *et al.*, REVIEW: Variability in Fine Structures of Noncellulosic Cell Wall Polysaccharides from Cereal Grains: Potential Importance in Human Health and Nutrition, **Cereal Chemistry Journal**, Australia, v. 87, n. 4, p. 272–282, 2010

COMINO, P.; COLLINS, H.; LAHNSTEIN, J.; *et al.* Characterisation of soluble and insoluble cell wall fractions from rye, wheat and hull-less barley endosperm flours. **Food Hydrocolloids**, Austrália, v.41, p 219-226, 2014.

CUI, W.; WOOD, P. J. -PART 1 Relationships between structural features, molecular weight and rheological properties of cereal P-D-glucans, *Hydrocolloids*, Canadá, 2000

CUMMINGS, J, H.: A. M. Stephen. Carbohydrate terminology and classification, "**European Journal of Clinical Nutrition**, Suíça, v. 61, p. S5-S18, 2017

FULLER, S.; BECK, E.; SALMAN, H.; et al., New Horizons for the Study of Dietary Fiber and Health: A Review, **Plant Foods for Human Nutrition**. Australia, v. 71, n. 1, p. 1–12, 2016.

GEMEN R., DE VRIES J. F., SLAVIN J. L. Relationship between molecular structure of cereal dietary fiber and health effects: focus on glucose/insulin response and gut health, *Nutrition Reviews*, Dinamarca, v. 69,n.1, p. 22–33, 2011.

GIBSON, G. R.; HUTKINS, R.; SANDERS, M. E.; et al., Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, Irlanda, v. 14, n. 8, p. 491–502, 2017.

GROOTAERT, Charlotte; VERSTRAETE, Willy; VAN DE WIELE, Tom. Microbial metabolism and prebiotic potency of arabinoxylan oligosaccharides in the human intestine. **Trends in Food Science and Technology**, Bélgica, v. 18, n. 2, p. 64–71, 2007.

GUTKOKI, L. C.; TROMBETA, C. Avaliação dos teores de fibra alimentar e de beta-glicanas em cultivares de aveia (*Avena sativa* L.). **Ciência e tecnologia de alimentos**, Brasil, v. 19, v.19, n.3, p. 387-390, 1999.

HAVRLENTOVÁ, Michaela; PETRULÁKOVÁ, Zuzana; BURGÁROVÁ, Alena; *et al.* Cereal β -glucans and their significance for the preparation of functional foods - A review. **Czech Journal of Food Sciences**, Eslováquia, v. 29, n. 1, p. 1–14, 2011.

HELL, J.; DONALDSON, L.; MICHLMAYR, H.; et al. Effect of pretreatment on arabinoxylan distribution in wheat bran, **Carbohydrate Polymers**. Áustria, v. 121, p. 18–26, 2015.

HOLOPAINEN-MANTILA, U.; MARJAMAA, K.; MERALI, Z.; et al. Impact of hydrothermal pre-treatment to chemical composition, enzymatic digestibility and spatial distribution of cell wall polymers. **Bioresource Technology**, Finlândia, v. 138, p. 156–162, 2013.

HUEBNER, J.; WEHLING, R. L.; PARKHURST, A.; et al. Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics. **International Dairy Journal**, Estados Unidos, v. 18, n. 3, p. 287–293, 2008.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 4. ed. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2005. 1018 p.

JACOBS, P. J.; HEMDANE, S.; DORNEZ, E.; et al. Study of hydration properties of wheat bran as a function of particle size. **Food Chemistry**, Bélgica, v. 179, p. 296–304, 2015.

LEHTINEN; O.P.; Modifying Wheat Bran for Food Applications - Effect of Wet Milling and Enzymatic Treatment. Finlândia: Metropolia University of Applied Sciences, 2012. 91 p.

LI, Y.; MA, D.; SUN, D.; et al. Total phenolic, flavonoid content, and antioxidant activity of flour, noodles, and steamed bread made from different colored wheat grains by three milling methods. **Crop Journal**, China, v. 3, n. 4, p. 328–334, 2015.

LIMBERGER, V. M. Trigo: características e utilização na panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Brasil, n. 48, p. 211–222, 2011.4

MAGALHÃES, CRISTINA. Avaliação comparativa de procedimentos de extração de proteínas em plantas medicinais e fitoterápicos e quantificação de metais associados a essas proteínas, Campinas: **Universidade de Campinas**, p. 133, 2008.

MAHESHWARI, G.; SOWRIRAJAN, S.; JOSEPH, B. Extraction and Isolation of β -Glucan from Grain Sources—A Review. **Journal of Food Science**, Índia, v. 82, n. 7, p. 1535–1545, 2017.

MATHEW, S.; KARLSSON, E. N.; ADLERCREUTZ, P. Extraction of soluble arabinoxylan from enzymatically pretreated wheat bran and production of short xylo-oligosaccharides and arabinoxylo-oligosaccharides from arabinoxylan by glycoside hydrolase family 10 and 11 endoxylanases. **Journal of Biotechnology**, Suécia, v. 260, n. 3, p. 53–61, 2017.

MENDIS, M.; SIMSEK, S. Arabinoxylans and human health. **Food Hydrocolloids**, Estados Unidos, v. 42, n. P2, p. 239–243, 2014.

MENEZES, E.W.; DAN, M. C. T.; CARDENETTE, G.H.L; GOÑI.I.; BELLO-PÉREZ, L. A.; LAJOLO, F.M. In vitro colonic fermentation and glycemic response of different kinds of unripe banana flour. **Plant Foods Human Nutrition**, Brasil, v. 65,p. 379–85, 2010.

MERALI, Z.; MARJAMAA, K.; KÄSPER, A.; et al., Chemical characterization of hydrothermally pretreated and enzyme-digested wheat straw: An evaluation of recalcitrance. **Food Chemistry**, Inglaterra, v. 198, p. 132–140, 2016.

MEYER, P, DIEDERICK, Nondigestible oligosaccharides as dietary fiber, **Journal of AOAC International**, Estados Unidos, v. 87, n.3 p. 718-726, 2014.

OGATA, B.H., Caracterização das frações celulose, hemicelulose e lignina de diferentes genótipos de cana-de-açúcar e potencial de uso em biorrefinarias. São Paulo: Universidade de São Paulo, 2013. 109 p.

OLIVEIRA, Fernanda de Carvalho, Oxidação de lignina proveniente de resíduos lignocelulósicos agroindustriais para obtenção de compostos químicos aromáticos de maior valor agregado. Lorena: Universidade de São Paulo, 2015. 199p.

ONIFE, O. O.; JIDEANI, A. I. O.; BESWA, D. Composition and functionality of wheat bran and its application in some cereal food products. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 50, p. 2509-2518, 2015

PAVLOVICH, A. A.; ROUZAUD, O.S.; TORRES,P.; *et al.* Cereal bran and wholegrain as a source of dietary fibre: Technological and health aspects. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, México, v. 63, n. 7, p. 882–892, 2012.

PETROVSKY, Nikolai. Inulin - a versatile polysaccharide: use as food chemical and pharmaceutical agent. **Journal of Excipients and Food Chemicals**, v. 1, n. 3, p. 27–50, 2010.

PIERARSKI, F.V.B.W.; Folha de Abóbora: Caracterização físico química, minela e efeito de adição na reologia da massa e na qualidade sensorial de pães contendo fibra alimentar. Paraná: Universidade Federel do Paraná, 2009, 165 p.

PRIOR, R.; WU, X.; SCHAICH, K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Estados Unidos, v. 53, n. 10, p. 4290–4302, 2005.

PROJEÇÕES DO AGRONEGÓCIO. MINISTÉRIO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/assuntos/politica-agricola/todas-publicacoes-de-politica-agricola/projecoes-do-agronegocio/projecoes-do-agronegocio-2017-a-2027-versao-preliminar-25-07-17.pdf>>. Acesso em: 22 mai. 2018.

PRÜCKLER, M.; SIEBENHANDL-EHN, S.; APPRICH, S.; *et al.*, Wheat bran-based biorefinery 1: Composition of wheat bran and strategies of functionalization.**LWT - Food Science and Technology**, Áustria, v. 56, n. 2, p. 211–221, 2014.

RAUD, C. Os alimentos funcionais: a nova fronteira da indústria alimentar análise das estratégias da Danone e da Nestlé no mercado brasileiro de iogurtes. **Revista de Sociologia e Política**, Brasil,v. 16, n. 31, p. 85–100, 2008.

REET, R; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v.26, p.1231–1237, 1999.

RIVIÈRE, Audrey; SELAK, Marija; LANTIN, David; *et al.* Bifidobacteria and butyrate-producing colon bacteria: Importance and strategies for their stimulation in the human gut. **Frontiers in Microbiology**, Bélgica v. 7, n. JUN, 2016.

RUBEL, Irene A.; PÉREZ, Ethel E.; GENOVESE, Diego B.; *et al.* In vitro prebiotic activity of inulin-rich carbohydrates extracted from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers at different storage times by *Lactobacillus paracasei*. **Food Research International**, Argentina, v. 62, p. 59–65, 2014.

RUSSO, P.; LÓPEZ, P.; CAPOZZI, V.; *et al.* Beta-glucans improve growth, viability and colonization of probiotic microorganisms. **International Journal of Molecular Sciences**, Italia, v. 13, n. 5, p. 6026–6039, 2012.

SANTALA, O. Impact of water content on enzymatic modification of wheat bran, Espoo:School of Chemical Technology, 2014, 158 p.

SANTALA, O.; LEHTINEN, P.; NORDLUND, E.; *et al.*, Impact of water content on the solubilisation of arabinoxylan during xylanase treatment of wheat bran. **Journal of Cereal Science**, Finlândia, v. 54, n. 2, p. 187–194, 2011.

SANTALA, O.; NORDLUND, E.; POUTANEN, K. Use of an extruder for pre-mixing enhances xylanase action on wheat bran at low water content. **Bioresource Technology**, Finlândia, v. 149, n. 3, p. 191–199, 2013.

SCHEUER, P.M.; FRANCISCO, A.; MIRANDA, M.Z.; *et al.* Trigo: Características E Utilização Na Panificação. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, Brasil, v. 13, n. 2, p. 211–222, 2011.

SCIARINI, L. S.; MALDONADO, F.; RIBOTTA, P. D., *et al.* Chemical composition and functional properties of *Gleditsia triacanthos* gum, **Food Hydrocolloids**, Argentina, v. 23, n. 2, p. 306–313, 2009.

SHIGA, T. M.; FABI, J. P.; DO NASCIMENTO, J. R. O.; PETKOWICZ, C. L. D. O.; VRIESMANN, L. C.; LAJOLO, F. M.; CORDENUNSI, B. R. Changes in cell wall

composition associated to the softening of ripening papaya: evidence of extensive solubilization of large molecular mass galactouronides. **Food Chemistry**, Brasil, 2009, v. 57, p.7064–71, 2009.

SHIGA, T.M, PERONI – OKITA, F.H.G, CARPITA, C. N, LAJOLO, F.M, CORDENUNSI, B.R. Polysaccharide composition of raw and cooked chayote (*Sechhium edule Sw.*) fruits and tuberous roots, **Carbohydrate Polymers**, Brasil, v.130, p.155-165, 2015.

SIBAKOV, J., MYLLYMALI, O., SUORTII, T., KAUKOVISTA, A., LEHTINEN, P., POUTANEN, K., Comparison of acid and enzymatic hydrolyses of oat bran b-glucan at low water content. **Food Research International**, Estados Unidos, v. 52, p.99–108, 2013.

ŠRAMKOVÁ, Z.; GREGOVÁ, E.; ŠTURDÍK, E. Chemical composition and nutritional quality of wheat grain, **Acta Chimica Slovaca**, Eslováquia, v. 2, n. 1, p. 115–138, 2009.

STEVENSON, LEO PHILLIPS, FRANKIE; O’SULLIVAN, KATHRYN; *et al.* Wheat bran: Its composition and benefits to health, a European perspective. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, Inglaterra, v. 63, n.8, p. 1001-1013, 2012.

TOMASIK, P. J.; TOMASIK, P. Probiotics and prebiotics, **Cereal Chemistry**, Rússia, v. 80, n. 2, p. 113–117, 2003.

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

VALDEZ-LUNA, J. G. BALADRÁN-QUINTANA, R.R, AZAMAR-BARRIOS, J. A, MONTFORT, R.C., WILSON, A. M. M, RUIZ, J. N. M., SANTANA, T.J.M., CHU, R., QUILCA, G. C. Structural and physicochemical characterization of nanoparticles synthesized from an aqueous extract of wheat bran by a cold-set gelation/desolvation approach, **Food Hydrocolloids**, México, v.67, p 165-173, 2017

VERNAZZA, C. L.; GIBSON, G. R.; RASTALL, R. A. In vitro fermentation of chitosan derivatives by mixed cultures of human faecal bacteria. **Carbohydrate Polymers**, Inglaterra, v. 60, n. 4, p. 539–545, 2005.

WESENDONCK, W.R.; Valor Nutricional de diferentes subprodutos do trigo para suínos em crescimento. Rio Grande do Sul: Univerisade Federal do Rio Grande, 2012. 89 p.

YAN, X.; YE, R.; CHEN, Y. Blasting extrusion processing: The increase of soluble dietary fiber content and extraction of soluble-fiber polysaccharides from wheat bran. **Food Chemistry**, China, v. 180, p. 106–115, 2015.

ZARDO, P.F.; Análises laboratoriais para o controle de qualidade da farinha. Rio Grande do Sul: Instituto Federal de Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul, 2010. 46 p.

ZHANG, Y; LU, D; JU, T; *et al.* Biodegradation of phenol using *Bacillus cereus* WJ1 and evaluation of degradation efficiency based on a graphene-modified electrode. **International Journal of Electrochemical Science**, CHINA, v. 8, n. 1, p. 504–519, 2013.

ZIELKE, C.; KOSIK, O.; AINALEM, M. L.; *et al.* Characterization of cereal β -glucan extracts from oat and barley and quantification of proteinaceous matter, **PLoS ONE**, Suécia, v. 12, n. 2, p. 1–16, 2017.

ŽILIĆ, S.; SERPEN, A.; AKILLIOĞLU, G.; *et al.* Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Turquia