

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

LUCIANA RIBEIRO DA SILVA LIMA

**ABORDAGEM METABOLÔMICA NÃO-ALVO REVELA O PERFIL
FENÓLICO EM FARINHAS DE TRIGO INTEGRAL DE DIFERENTES
GENÓTIPOS E QUALIDADES TECNOLÓGICAS**

Rio de Janeiro

2022

Luciana Ribeiro da Silva Lima

ABORDAGEM METABOLÔMICA NÃO-ALVO REVELA O PERFIL FENÓLICO EM FARINHAS DE TRIGO INTEGRAL DE DIFERENTES GENÓTIPOS E QUALIDADES TECNOLÓGICAS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do
Estado do Rio de Janeiro como requisito parcial para
obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientadora: Profa. Dra. Mariana Simões Larraz Ferreira

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Carlos Gutkoski

Rio de Janeiro

2022

L732 Lima, Luciana Ribeiro da Silva Abordagem
metabolômica não-alvo revela o perfil fenólico em
farinhas de trigo integral de diferentes genótipos e
qualidades tecnológicas / Luciana Ribeiro da Silva
Lima. -- Rio de Janeiro, 2022.

76

Orientadora: Mariana Simões Larraz Ferreira.
Coorientador: Luiz Carlos Gutkoski.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do
Estado do Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação
em Alimentos e Nutrição, 2022.

1. compostos fenólicos. 2. farinha integral. 3.
trigo brasileiro. I. Ferreira, Mariana Simões
Larraz, orient. II. Gutkoski, Luiz Carlos, coorient.
III. Título.

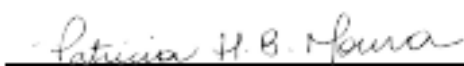
Nome: Luciana Ribeiro da Silva Lima

Título: Abordagem metabolômica não-alvo revela o perfil fenólico em farinhas de trigo integral de diferentes genótipos e qualidades tecnológicas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição da Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

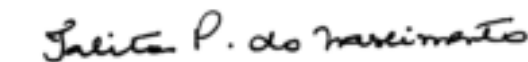
Aprovada em: 17/03/2022

BANCA EXAMINADORA



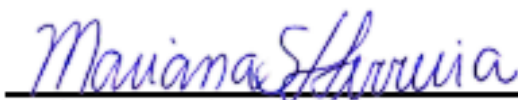
Dr^a. Patrícia Homobono Brito de Moura

Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ



Dr^a. Talita Pimenta do Nascimento

Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ



Profa. Dra. Mariana Simões Larraz Ferreira

Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro - UNIRIO

AGRADECIMENTOS

Às agências de fomento à pesquisa CNPq, FAPERJ e especialmente à CAPES, pela bolsa de estudo, possibilitando minha dedicação exclusiva e a realização desse trabalho.

Agradeço à UNIRIO, ao PPGAN e a todos os funcionários da Instituição pelo suporte oferecido durante esses dois anos.

Aos meus pais Ruy e Maria Lúcia, com todo meu amor. Obrigada por sempre me incentivarem e torcerem por mim, mesmo às vezes não entendendo exatamente o que eu faço. Pai, serei eternamente grata por todo seu apoio e sei que você está feliz por mim nesse momento, onde quer que você esteja. Mãe, obrigada por todo seu amor, apoio e palavras nos momentos difíceis nesse último ano.

Ao meu irmão Guilherme, por me apoiar e me fazer sorrir quando tudo parecia o caos. E, claro, pelas caronas de volta para a casa.

Aos meus amigos por entenderem e continuarem ao meu lado, mesmo com todos os encontros desmarcados em cima da hora porque eu ainda estava no laboratório ou terminando algum trabalho e não tinha hora para terminar.

Aos membros do Laboratório de Bioativos, pelas pausas e cafés compartilhados no meio da tarde, que se tornaram escassos nos últimos 2 anos, infelizmente.

À Millena e Carol por sempre me socorrerem e compartilharem o conhecimento. Vocês fazem o caminho ser mais leve.

Ao prof. Luiz Carlos pelo apoio e por sempre estar disponível para dúvidas.

Não menos importante, agradeço à minha orientadora, Profa. Mariana Ferreira, pela confiança em me aceitar em seu grupo, por todo o apoio, incentivo e ensinamento nesses últimos anos. Se temos sucesso no que fazemos, saiba que é reflexo de toda sua dedicação para com seu trabalho e suas alunas.

A todos os professores que cruzaram meu caminho e cultuaram em mim a vontade de aprender, ensinar e as infinitas possibilidades do conhecimento.

À Ciência. À Nutrição. Muito obrigada!

LIMA, L.R.S. Abordagem metabolômica não-alvo revela o perfil fenólico em farinhas de trigo integral de diferentes genótipos e qualidades tecnológicas

O trigo (*Triticum aestivum*, L.) apresenta rica composição nutricional, sendo amplamente consumido na forma de produtos de panificação. O farelo apresenta grande diversidade de compostos bioativos, especialmente compostos fenólicos (CF), reconhecidos por apresentarem bioatividades promotoras da saúde. Estudos demonstram que mesmo após tratamentos térmicos, mecânicos e bioprocessos, os CF ainda permanecem presentes nos produtos à base de trigo. No entanto, a composição fenólica difere entre as frações de moagem do grão de trigo (farelo, farinha e germe) e sofre influência de diversos fatores, como genótipo, clima, local e forma de cultivo. Técnicas analíticas avançadas têm sido utilizadas para a identificação e caracterização desses compostos. O objetivo deste trabalho foi caracterizar por ferramentas metabolômicas modernas o perfil de CF de oito genótipos de farinhas de trigo integral de diferentes qualidades tecnológicas, baseadas na força do glúten. Os extratos de CF livres e ligados foram caracterizados por abordagem metabolômica não-alvo aplicando cromatografia líquida de ultraperformance acoplada à espectrometria de massas *em tandem* (UPLC-MS^E), além de análises espectrofotométricas. A composição química e colorimetria das farinhas integrais também foram determinadas por análises clássicas. Globalmente, 38 CF foram tentativamente identificados por UPLC-MS^E, pertencentes a três classes majoritárias (ácidos fenólicos, flavonoides e outros polifenóis). Destes, 10 CF foram confirmados por padrões e 14 CF foram identificados em todas as farinhas. Os CF ligados foram os mais abundantes, correspondendo a 87% da abundância total, principalmente os ácidos hidroxicinâmicos como o *trans*-ferúlico e seu isômero. Não houve diferença nos teores de amido e proteína, as classes de farinhas distinguiram apenas pelo teor de cinzas (2% nas fracas, 1,5% nas superiores e médias). O teor de fenólicos totais (TPC) variou de 124,5 (Jadeite 11) a 171,4 (Campeiro) mg EAG/100 g, sendo majoritários os CF ligados (60%). Os resultados de TPC mostraram consistência com a análise ômica. As farinhas superiores mostraram o perfil fenólico mais distinto, especialmente devido à classe de flavonoides e outros polifenóis. Os ácidos fenólicos *trans*-ferúlico, 4-hidroxibenzóico, isoferúlico e cafeico foram os principais responsáveis pelos distintos perfis das amostras. A metabolômica não-alvo, associada às análises estatísticas multivariadas foram essenciais para revelar o distinto perfil fenólico das farinhas integrais de trigo oriundas de diferentes

genótipos e classes tecnológicas. **Palavras-chave:** *Triticum aestivum*, metabolômica, *foodomics*, fitoquímicos, fenilpropanoides.

LIMA, L.R.S. Untargeted metabolomic approach reveals the phenolic profile of whole wheat flours of different genotypes and technological qualities.

Wheat grain (*Triticum aestivum* L.) presents a rich nutritional composition, being widely consumed from diverse bakery products. The bran layer presents a great diversity of bioactive compounds, especially phenolic compounds (PC), recognized by bioactivities correlated to the health promotion. Studies have shown that PC remains in wheat products even after bioprocessing, thermal and mechanical treatments. However, the phenolic composition differs among milling fractions (germ, flour, bran) and is influenced by several factors, such as genotype, environmental, location, and cultivation method. Advanced analytical techniques have been used for the extensive identification and characterization of PC. The aim of this study was to characterize by modern metabolomic approaches the phenolic profile of eight genotypes of whole wheat flours (WWF) presenting different technological classifications, based on the gluten strength. The extracts of free and bound PC were comprehensively characterized through untargeted metabolomics applying ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry *en tandem* (UPLC-MS^E) and spectrophotometric analyses. Chemical composition and colorimetry of WWF was also determined by classical analyses. Globally, 38 PC were tentatively identified by UPLC- MS^E belonging to three classes (phenolic acids, flavonoids, and other polyphenols). Ten PC were fully confirmed by the reference standards and 14 PC were identified in all WWF samples. Bound PC were the most abundant, corresponding to 87% of total ion counting, mainly the hydroxycinnamic acids such as *trans*-ferulic acid and its isomer. No difference was found in starch and protein contents, the technological qualities of flours differ only relative to ash content (2% low-gluten strength flours, 1.5% superior and medium). Total phenolic content (TPC) ranged between 124.5 (genotype Jadeite 11) and 171.4 (genotype Campeiro) mg GAE/100 g WWF and, bound PC were responsible for 60%. The TPC results showed consistency with the omic analysis. Superior flours showed the most distinct phenolic profile, especially due to the flavonoids and other polyphenols. The *trans*-ferulic, 4-hydroxybenzoic, isoferulic, and caffeic acids were the main responsible to the distinct profile among samples. Untargeted metabolomic together with the multivariate statistical analyses were essential to reveal the distinct phenolic profile of WWF from different genotypes and technological qualities.

KEYWORDS: *Triticum aestivum*, metabolomics, foodomics, phytochemicals, phenylpropanoids.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do grão de trigo.....	19
Figura 2 - Presença de carbonila (C4) e dupla ligação entre C2 e C3 no anel C de um flavonoide.	23
Figura 3 - Representação da estrutura da parede celular e ligação cruzada entre os componentes estruturais e compostos fenólicos. (A) celulose, (B) hemicelulose, (C) proteínas estruturais, (D) pectina, (E) ácidos fenólicos, (F) lignina.....	24
Figura 4 - Estrutura básica dos ácidos fenólicos e seus derivados.....	25
Figura 5 - Via de síntese de ácidos fenólicos e lignanas a partir do ácido chiquímico.	25
Figura 6 - Estruturas das principais subclasses de flavonoides.....	27
Figura 7 - Lignanas encontradas nos cereais.	29
Figura 8 - Metabolomic analysis of whole wheat flours. (A) Classification of the phenolic compounds putatively identified in free (FPC) and bound (BPC) extracts. (B) Number of phenolic compounds present in each genotype. (C) Total relative abundance of phenolic compounds. Means $\pm$ SD (n=3). Different lowercase letters mean significant difference among genotypes and different uppercase letters mean significant difference among technological qualities (one-way ANOVA, $p < 0.05$). PA, phenolic acids; F, flavonoids; OP, other polyphenols.	Error! Bookmark not defined.
Figura 9 - Total relative abundance of phenolic acids (PA), flavonoids (F) and other polyphenols (OP) in whole wheat flours. Means $\pm$ SD (n=3). Different lowercase letters mean a significant difference among genotypes and different uppercase letters mean significant difference among the technological qualities (one-way ANOVA, $p < 0.05$).	Error! Bookmark not defined.
Figura 10 - (A) Principal component analysis (PCA) biplot of physicochemical and Folin-Ciocalteu analyses. Dot: dependent variables (results); diamond: samples. L*, brightness; a*, redness coordinate; b*, yellowness coordinate; C*, chroma; PTN, protein content; TPC, total phenolic content. (B) PCA biplot of all tentatively identified phenolic compounds by	

metabolomics in the different genotypes of whole wheat flours. Circle: phenolic compounds;
triangle: whole wheat flours. **Error! Bookmark not defined.**

Figura 11 - Score plots of partial least square-discriminant analysis (PLS-DA). **Error!
Bookmark not defined.**

Figura 12 - Hierarchical cluster analysis (HCA) and heatmap of the phenolic compounds low,
medium and superior flours. **Error! Bookmark not defined.**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classes de trigo do Grupo II da Instrução Normativa do MAPA nº 38/2010 21

Tabela 2 - Chemical composition, colorimetric parameters, and Folin-Ciocalteu reagent reducing capacity of whole wheat flours. **Error! Bookmark not defined.**

Tabela 3 - Phenolic compounds tentatively identified in whole wheat flours by UPLC-Q-TOF-MS^E. **Error! Bookmark not defined.**

Tabela 4 - Correlation matrix between chemical composition, colorimetric parameters and reducing capacity of Folin-Ciocalteu (Pearson correlation coefficients (r)). **Error! Bookmark not defined.**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AACC	American Association of Cereal Chemists
ANOVA	Analysis Of Variance (Análise de Variância)
AOAC	Association of Official Agricultural Chemists
AVA	Avenantramidas
d.b.	Dry basis (Base seca)
GAE	Gallic Acid Equivalents (Equivalentes de Ácido Gálico)
HCA	Análise de agrupamento hierárquico
m/z	razão massa-carga
MS	Mass spectrometry (Espectrometria de massas)
NH₄Fo	Formiato de amônio
PCA	Principal Component Analysis (Análise de Componentes Principais)
PLS-DA	Análise discriminante por mínimos quadrados parciais
ppm	parte por milhão
Q	Quadrupolo
TOF	Time of Flight (Tempo de voo)
UHPLC	Cromatografia líquida de ultra-performance
VIP	Variable Importance in Projection (Importância da variável na projeção)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	14
CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
1. ORIGEM E IMPORTÂNCIA DO TRIGO.....	17
2. ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO GRÃO DE TRIGO.....	19
3. CLASSIFICAÇÃO COMERCIAL DO TRIGO E DA FARINHA DE TRIGO NO BRASIL.....	20
4. COMPOSTOS FENÓLICOS.....	23
4.1 Compostos fenólicos no trigo.....	27
4.2 Compostos fenólicos e efeitos benéficos à saúde.....	29
5. EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE COMPOSTOS FENÓLICOS POR FERRAMENTAS ÔMICAS.....	31
CAPÍTULO II - OMICS DATA REVEALS THE PHENOLIC FINGERPRINT OF BRAZILIAN WHOLE WHEAT FLOURS OF DIFFERENT TECHNOLOGICAL QUALITIES.....	36
1. INTRODUCTION.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
2. MATERIAL AND METHODS.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
2.1 Chemicals.....	Error! Bookmark not defined.
2.2 Plant material.....	Error! Bookmark not defined.
2.3 Chemical composition and colorimetric analysis of whole wheat flour	Error! Bookmark not defined.
2.4 Extraction of free and bound phenolic compounds in whole wheat flour....	Error! Bookmark not defined.
2.5 Reducing capacity of Folin–Ciocalteu reagent.....	Error! Bookmark not defined.
2.6 Metabolomics-based identification of phenolic compounds by UPLC-Q-TOF-MS ^E	Error! Bookmark not defined.
2.7 UPLC-MS ^E data processing.....	Error! Bookmark not defined.
3. RESULTS AND DISCUSSION.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
3.1 Chemical and color analyses of whole wheat flours.....	Error! Bookmark not defined.
3.2 Phenolic fingerprint revealed by UPLC-ESI-QTOF-MS ^E	Error! Bookmark not defined.
3.3 Reducing capacity of Folin–Ciocalteu reagent.....	Error! Bookmark not defined.
3.4 Correlations and multivariate statistics revealed similarities and differences between whole wheat flours.....	Error! Bookmark not defined.
4. CONCLUSION.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
CONCLUSÃO GERAL.....	37

REFERÊNCIAS.....	39
APÊNDICE	52

INTRODUÇÃO

O trigo pertence à família botânica Poaceae e é o segundo cereal mais consumido no mundo. Constitui importante papel no cenário econômico, visto que o Brasil importa cerca de metade da quantidade consumida no país. A produção nacional de trigo no ano de 2021 atingiu a marca de 7,6 milhões de toneladas (CONAB, 2022; FAO, 2021).

O consumo de cereais integrais tem sido incentivado nas diretrizes alimentares de diversos países, uma vez que a ingestão regular desses grãos tem sido associada a efeitos benéficos sobre a saúde, como redução do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Ainda que os mecanismos de ação não estejam completamente elucidados, sugere-se cada vez mais que os benefícios à saúde estão altamente relacionados também à presença de compostos fenólicos (CF) e não somente à presença de fibras alimentares e vitaminas (LI *et al.*, 2016; SZWAJGIER; BOROWIEC; PUSTELNIAK, 2017; ZHANG *et al.*, 2018). Ademais, os efeitos benéficos do consumo de grãos integrais são maximizados pela sinergia, diversidade e mistura de compostos bioativos, produzindo melhores resultados do que quando os compostos encontram-se isolados (LIU, 2004; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Os CF compõem o principal grupo de metabólitos secundários produzidos pelas plantas e são considerados antioxidantes primários (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). No trigo, a maior parte dos CF encontra-se ligada covalentemente a componentes da parede celular, proteínas e polissacarídeos (ACOSTA-ESTRADA; GUTIÉRREZ-URIBE; SERNA-SALDÍVAR, 2014; ADOM; LIU, 2002). Esses compostos podem ser classificados de acordo com sua estrutura química, dentre as principais classes presentes no trigo estão os ácidos fenólicos e os flavonoides.

A composição fenólica do grão pode sofrer influência de diversos fatores, tais como estágio de maturação (SANTOS *et al.*, 2019), genótipo (SANTOS *et al.*, 2022; SHARMA *et al.*, 2020), local de cultivo (ABOZED *et al.*, 2014), safra (PODIO; BARONI; WUNDERLIN, 2017; ZHANG *et al.*, 2012) e outros fatores. Também podem ser encontradas diferenças na composição qualitativa e quantitativa entre as frações de moagem (farelo, farinha, germe) (LI *et al.*, 2015; ZHU *et al.*, 2022), onde os envelopes externos dos grãos podem apresentar até 90% do conteúdo fenólico e da capacidade antioxidante em alguns cereais, como o arroz, por exemplo (DING *et al.*, 2019).

Embora a capacidade antioxidante dos CF seja uma das bioatividades mais investigadas, diversos trabalhos têm demonstrado que os CF possuem atuações que vão muito além de sua ação antioxidante. Esses compostos podem participar de diversas reações bioquímicas e enzimáticas como substratos, cofatores e inibidores, de acordo com sua estrutura química, modulando o metabolismo humano e até mesmo a microbiota intestinal (HANHINEVA *et al.*, 2010; SZWAJGIER; BOROWIEC; PUSTELNIAK, 2017; WANG; LI; BI, 2018).

Contudo, o potencial benéfico dos CF depende da sua liberação da matriz alimentícia (bioacessibilidade), de sua absorção no trato gastrointestinal e da fração que vai efetivamente chegar à circulação sistêmica e atingir a célula ou tecido-alvo (biodisponibilidade) (MASISI; BETA; MOGHADASIAN, 2016). E embora os CF possam apresentar diversas bioatividades, esses compostos apresentam baixa biodisponibilidade *in vivo*. MANACH *et al.* (2005) relataram que a absorção destes compostos no trato gastrointestinal (TGI) é de 1 a 5% da quantidade ingerida na dieta. A baixa biodisponibilidade dos CF pode ser devida à sua baixa solubilidade aquosa, baixa estabilidade no TGI, mas também à complexidade e à microestrutura da matriz alimentícia (CHANG, 2019). Estudos mostram que o processamento doméstico (HITHAMANI; SRINIVASAN, 2014) e processos como fermentação (HOLE *et al.*, 2012), extrusão e cozimento (HOLE *et al.*, 2013; ZENG *et al.*, 2016) podem melhorar significativamente a bioacessibilidade dos CF em cereais.

Diante da complexidade de fatores que podem influenciar a composição fenólica e a bioatividade dos CF, as ferramentas metabolômicas vem sendo utilizadas com sucesso na solução e compreensão desses dados. A metabolômica tem sido aplicada desde estudos de caracterização e identificação dos CF em diferentes matrizes, como talo de couve e coroa de abacaxi (BRITO *et al.*, 2021) e frutas amazônicas (LIMA *et al.*, 2020); avaliação dos efeitos de diferentes tratamentos sobre o perfil fenólico, como extrusão no sorgo (D'ALMEIDA *et al.*, 2021) e fermentação e cozimento de grãos de centeio (RAVISANKAR; QUEIROZ; AWIKA, 2020); como também tem sido aplicada em trabalhos que investigam as bioatividades, bioacessibilidade e biodisponibilidade dos CF (FERNÁNDEZ-OCHOA *et al.*, 2017; ROCCHETTI *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2019).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar o perfil de CF de farinhas integrais de trigo brasileiro oriundas de diferentes genótipos e de diferentes qualidades

tecnológicas por cromatografia líquida de ultraperformance (UPLC) acoplada à espectrometria de massas de alta resolução (MS^E).

CAPÍTULO I - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Origem e importância do trigo

O trigo é uma monocotiledônea pertencente à família botânica Poaceae, conhecida anteriormente como Gramineae, e podem ser encontrados grãos de trigo com diferentes números de cromossomos, a depender da espécie (HARLAN; DE WET; PRICE, 1973). O cultivo do grão de trigo iniciou-se há cerca de 9.000 a.C. na região do Egito antigo. Atualmente, o trigo comum (*Triticum aestivum*, hexaploide) e o Trigo durum (*T. durum*, tetraploide) são as espécies de trigo mais cultivadas e consumidas mundialmente, enquanto outras espécies do gênero *Triticum* L. são cultivadas em regiões mais específicas, como o trigo *Einkorn* (*T. monococcum*, diploide), *Emmer* (*T. turgidum* subespécie *dicoccum*, tetraploide) e *Espelta* (*T. aestivum* subespécie *spelta*, hexaploide), também conhecidos como trigos antigos ou ancestrais (MCKEVITH, 2004; SHEWRY, P. R.; HEY, S., 2015).

O trigo é o segundo cereal mais produzido no mundo, ficando apenas atrás do milho que é utilizado na alimentação e outros setores, como produção de biocombustíveis (FAO, 2021). Esse grão chegou ao Brasil trazido pelos europeus ainda no século XVI, em meados dos anos 1530. Desde então, a produção de trigo no país é exclusiva de trigo comum, principalmente por questões edafoclimáticas, que incluem condições do solo, clima, temperatura e foto exposição (BORÉM; SCHEEREN, 2015). O trigo no Brasil é classificado como uma cultura de inverno e os estados do Paraná e Rio Grande do Sul são os principais produtores desse grão. A estimativa de produção nacional de trigo para o ano de 2022 é de mais 7,6 milhões de toneladas (CONAB, 2022), enquanto mundialmente é esperada uma produção superior a 775 milhões de toneladas (FAO, 2021).

No geral, a produção nacional de cereais consegue prover em grande parte o consumo no país, contudo para o caso do trigo, o Brasil ainda é considerado um dos principais importadores mundiais, pois a produção interna supre apenas metade do que é consumido e utilizado no país (CONAB, 2022). Para suprir o consumo nacional, o Brasil importa grande parte do trigo da Argentina (mais de 80% do volume importado), mas também de outros países, como Uruguai (6%) e Paraguai (5%) (CONAB, 2022), movimentando o mercado econômico sul-americano de maneira relevante.

Além da importância econômica, o trigo possui papel fundamental na nutrição humana. Dentre os fatores que contribuem para esse grão ser amplamente consumido, pode-se destacar o baixo custo; fácil transporte e armazenamento; não perecibilidade; rica composição em carboidratos, responsável pelo considerável aporte energético; versatilidade tecnológica, podendo originar diferentes produtos, como pães, biscoitos, bolos e massas (MCKEVITH, 2004; SALDIVAR, 2016).

Especificamente para a população brasileira, produtos à base de trigo são alimentos frequentemente consumidos, especialmente o pão de sal (51%), biscoitos (29%), macarrão e derivados (18,5%), de acordo com os resultados da última análise do consumo alimentar da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) 2017-2018 (IBGE, 2020). Em consequência do alto consumo desses alimentos pela população, ainda que à base de farinha refinada, o trigo pode ser considerado relevante no fornecimento de nutrientes e compostos bioativos na dieta brasileira, especialmente de CF.

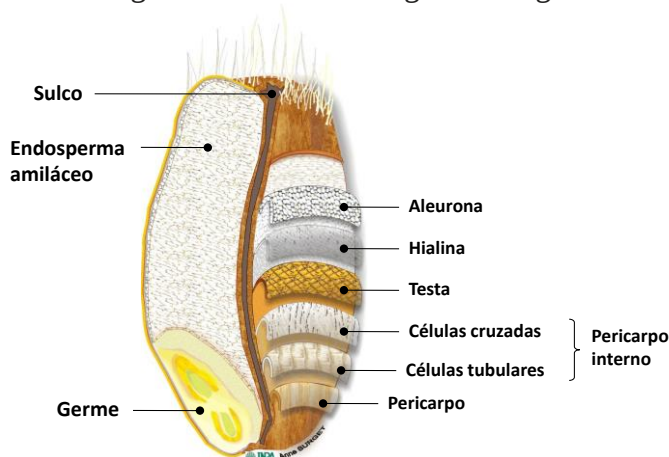
Embora escassos, alguns trabalhos apresentam o consumo de CF pela população brasileira, como o trabalho de CORRÊA *et al.* (2015) que estimou a ingestão de CF a partir dos resultados da POF 2008-2009. Segundo os autores, os cereais (16,7%) possuem maior contribuição na ingestão de CF do que as frutas (9,4%), sendo menos importantes somente do que as bebidas (48,9%), provenientes majoritariamente do café, e as leguminosas (19,5%). Produtos derivados de arroz, trigo e milho também foram relevantes no fornecimento de CF para idosos de Minas Gerais (NASCIMENTO-SOUZA *et al.*, 2018) e adultos e idosos de São Paulo (MIRANDA *et al.*, 2016). Este panorama difere do que é observado em outros países, onde alimentos como frutas, óleos vegetais e bebidas não alcoólicas são as principais fontes de CF da dieta do Japão (TAGUCHI *et al.*, 2015), Argentina (ROSSI; BASSETT; SAMMAN, 2018), Espanha (MENDONÇA *et al.*, 2019) e de outros países europeus (GROSSO *et al.*, 2014; WISNUWARDANI *et al.*, 2019).

Diante disso, a relevância dos cereais, especialmente do trigo, na contribuição da ingestão de CF na dieta brasileira é notória. Ademais, ressalta-se que alguns fenólicos encontrados nos cereais não estão presentes em outros alimentos, como frutas e hortaliças, e mesmo quando encontrados, estão em menores quantidades que em grãos cereais (LIU, 2007).

2. Estrutura e composição química do grão de trigo

De forma geral, a planta é composta por um colmo (caule), nós, entrenós, folhas e a inflorescência na forma de espiga. A cariopse (fruto) são os grãos, formados essencialmente por 2 partes: semente e pericarpo. Botanicamente, o grão de trigo é dividido em 3 partes: endosperma, germe e pericarpo e cada um desses tecidos possui uma estrutura e composição diferente (Figura 1) (HEMERY *et al.*, 2007; SALDIVAR, 2016).

Figura 1 - Estrutura do grão de trigo.



Fonte: Adaptado de SURGET e BARRON (2005).

A cariopse do grão de trigo é descoberta, diferentemente de outros cereais, como aveia, cevada e arroz, que apresentam uma camada protetora (casca). O farelo consiste no conjunto das camadas periféricas do grão mais o germe, constituído, majoritariamente, por polissacarídeos não-digeríveis (fibras) insolúveis, como lignina, celulose e hemicelulose (xiloglucanos, arabinoxilanos, etc), além de proteínas, vitaminas e outros compostos bioativos, como os CF. Apresenta também em sua composição fibras solúveis, como as D-glucanas (α e β -glucanas), porém em menor proporção do que as fibras insolúveis (HEMERY *et al.*, 2007; JI; MA; BAIK, 2020).

O endosperma e o germe encontram-se aderidos um ao outro e são recobertos pela camada aleurona, que no trigo consiste em uma fina camada composta principalmente por proteínas, lipídeos, minerais e vitaminas do complexo B (SALDIVAR, 2016). O endosperma amiláceo representa cerca de 80-85% do peso total do grão de trigo e é a principal parte utilizada da cariopse, formado basicamente por proteínas e carboidratos de reserva, majoritariamente grânulos de amido. Apresenta também pequenas quantidades de fibras

solúveis e insolúveis (HEMERY *et al.*, 2007; JI; MA; BAIK, 2020). Em menor proporção, o germe representa 3% do grão e é formado pelo embrião e escutelo. Nesse tecido é encontrado a maior parte da fração lipídica do trigo, principalmente ácidos graxos insaturados, mas também açúcares redutores, proteínas, minerais e vitaminas E e do complexo B, especialmente tiamina (B1) e riboflavina (B2) (SALDIVAR, 2016).

As proteínas representam de 7-12% do grão e estão distribuídas pelos diferentes tecidos: no endosperma amiláceo são encontradas as proteínas de reserva (80%): gliadinas (prolaminas) e gluteninas (glutelinas), enquanto as proteínas metabólicas (20%): globulinas e albuminas podem ser encontradas na aleurona, germe e farelo. Podem também ser classificadas de acordo com a solubilidade em solúveis em água (albuminas); soluções salinas diluídas (globulinas); álcool (prolaminas); em bases ou ácidos diluídos (glutelinas). As proteínas de reserva do trigo, após hidratação e aporte mecânico, formam a rede proteica polimérica chamada glúten, por isso são também chamadas de proteínas do glúten. Embora proteínas de outros cereais como centeio e cevada também sejam capazes de formar a rede do glúten, as proteínas do trigo conferem propriedades viscoelásticas únicas às massas produzidas a partir deste cereal. (SALDIVAR, 2016; TACER-CABA; NILUFER-ERDIL; AI, 2015).

3. Classificação comercial do trigo e da farinha de trigo no Brasil

A composição química da farinha é afetada pela taxa de extração aplicada durante a moagem do grão. A taxa de extração corresponde ao grau de separação do endosperma, e consequentemente, ao rendimento da farinha. Podem ser aplicadas diferentes taxas de extração, mas no geral, na farinha refinada varia entre 50-80%, enquanto para a farinha integral é de 95-100%, uma vez que há aproveitamento integral do grão de trigo (BORÉM; SCHEEREN, 2015). Sendo assim, na farinha integral são encontrados todos os nutrientes já relacionados anteriormente no item 2, como fibras insolúveis e solúveis, amido, proteínas de reserva e metabólicas, minerais e todos os outros nutrientes. Já a farinha refinada é composta basicamente pelo endosperma amiláceo e parte da camada aleurona, portanto, a composição dessa farinha é essencialmente de carboidratos, majoritariamente o amido, e proteínas de reserva (proteínas formadoras do glúten).

Desta forma, com base na composição de cada farinha, a refinada apresenta menor teor de cinzas do que a farinha integral, por apresentar menor conteúdo de minerais. Esse dado é relevante, uma vez que a classificação brasileira da farinha de trigo quanto à identidade e qualidade considera o teor de cinzas para classificá-la em 2 grupos: para uso doméstico e para uso industrial. As farinhas domésticas são classificadas em tipo 1, 2 e integral, que apresentam valor máximo de cinzas em base seca de 0,8%, 1,4% e 2,5%, respectivamente, enquanto a farinha industrial apresenta teor máximo de 2,5% (BRASIL, 2005).

Além da farinha, o grão de trigo também é classificado em grupos, classes e tipos, definidos a partir das análises de alveografia, farinografia, número de queda, peso do hectolitro e limite máximo de tolerância de defeitos, como impurezas e grãos com ponta preta (BRASIL, 2010). Os grãos de trigo do grupo I são destinados diretamente à alimentação humana, enquanto do grupo II pode ser classificado como Melhorador, Pão, Doméstico, Básico e Outros usos. Basicamente a diferença entre as classes é devido à força do glúten e estabilidade, relacionada à quantidade e qualidade das proteínas presentes (Tabela 1). Os trigos das classes Melhorador e Pão são indicados para a fabricação de pães industriais, massas alimentícias secas e biscoitos tipo *cracker*; os trigos das classes Pão e Doméstico são destinados à produção de pães caseiros e uso doméstico; enquanto os trigos das classes Básico e Outros usos são indicados na produção de biscoitos e bolos.

Tabela 1 - Classes de trigo do Grupo II da Instrução Normativa do MAPA nº 38/2010

Classes	Força do Glúten (Valor mínimo expresso em 10 ⁻⁴ J)	Estabilidade (Tempo expresso em minutos)	Número de Queda (Valor mínimo expresso em segundos)
Melhorador	300	14	250
Pão	220	10	220
Doméstico	160	6	220
Básico	100	3	200
Outros Usos	Qualquer	Qualquer	Qualquer

A farinha de trigo refinada (tipo 1) é o principal produto da moagem, sendo mais utilizado na panificação e confeitaria, por ser composta basicamente de endosperma amiláceo e originar produtos sensorialmente mais aceitos pelos consumidores, devido à aparência mais clara e mais leve. O farelo e o germe são utilizados de diferentes formas na indústria, como na

produção de produtos alimentícios (cereais matinais, granola, barrinhas), ração animal, complexos vitamínicos e etanol são alguns exemplos de utilização dessas frações (BORÉM; SCHEEREN, 2015).

Embora o consumo de farinha integral ainda seja baixo, devido a fatores como preço e disponibilidade dos produtos, a ingestão de produtos fabricados com farinha de trigo integral pode ser benéfica para o consumidor (GÓMEZ; GUTKOSKI; BRAVO-NÚÑEZ, 2020). Pela sua composição nutricional ser maior em fibras e em outros compostos bioativos em relação à farinha refinada, seu consumo pode ser associado à maior saciedade após ingestão, como também à manutenção de uma microbiota intestinal saudável (DAHL; STEWART, 2015). Contudo, uma das desvantagens da farinha de trigo integral é sua menor vida de prateleira, uma vez que apresenta maior teor de lipídeos do que a farinha refinada, o que pode acelerar a rancificação da farinha. Além disso, a degradação dos lipídeos nos produtos finais pode afetar a aceitação do consumidor, por alterar propriedades organolépticas, como escurecimento da cor, sabor, aroma e consistência (BORÉM; SCHEEREN, 2015; GÓMEZ; GUTKOSKI; BRAVO-NÚÑEZ, 2020).

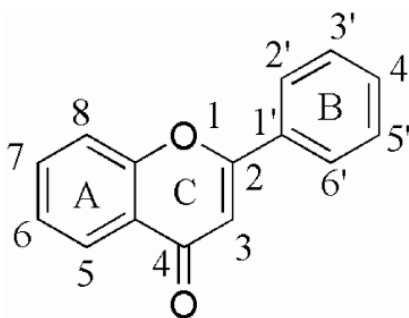
Apesar da maior suscetibilidade à degradação, o consumo de cereais integrais vem sendo incentivado em diretrizes alimentares, como o Guia Alimentar para população brasileira. Essas recomendações estão baseadas em evidências que indicam que a ingestão regular desses grãos está associada à redução do risco de desenvolvimento de doenças crônicas não-transmissíveis, tais como as doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2 e alguns tipos de câncer, como cólon e mama, e até mesmo algumas doenças neurológicas. Embora os mecanismos de ação ainda não sejam completamente conhecidos, sugere-se cada vez mais que os benefícios à saúde estão altamente relacionados com os CF e não somente à presença de fibras alimentares e vitaminas (LI *et al.*, 2016; MCRAE, 2017; SZWAJGIER; BOROWIEC; PUSTELNIAK, 2017). Além do mais, os efeitos benéficos do consumo dos grãos integrais são maximizados pela sinergia, diversidade e mistura de compostos bioativos, produzindo melhores resultados do que quando os compostos estão isolados (LIU, 2004; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

4. Compostos fenólicos

Os CF são produtos do metabolismo secundário das plantas e possuem papel essencial nos mecanismos de defesa contra agentes agressores e estresse oxidativo, como parasitas e radiação ultravioleta (ADOM; LIU, 2002). Contribuem também nas características sensoriais e de pigmentação das plantas. Ressalta-se ainda que a composição fenólica qualitativa e quantitativa dos grãos é influenciada por múltiplos fatores, tais como estágio de maturação (SANTOS *et al.*, 2019), genótipo (SANTOS *et al.*, 2022; SHARMA *et al.*, 2020), local de cultivo (ABOZED *et al.*, 2014), safra (PODIO; BARONI; WUNDERLIN, 2017; ZHANG *et al.*, 2012). Também são encontradas diferenças entre as frações de moagem (farelo, farinha, germe) (LI *et al.*, 2015; ZHU *et al.*, 2022), onde os envelopes externos dos grãos podem apresentar até 90% do conteúdo fenólico e da capacidade antioxidante em alguns cereais, como o arroz, por exemplo (DING *et al.*, 2019).

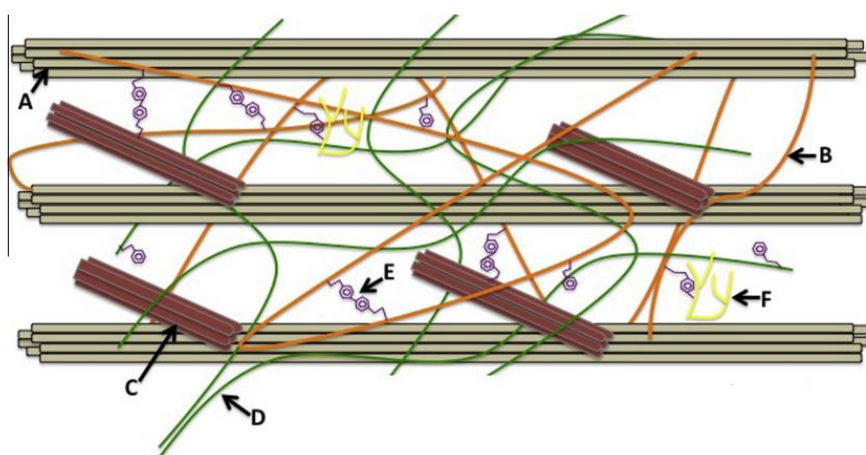
Os fenólicos apresentam em sua estrutura química pelo menos um anel aromático com um ou mais grupamentos hidroxilas e, por esse motivo, podem ser considerados antioxidantes primários (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). A capacidade antioxidante dos CF está diretamente relacionada com sua estrutura química, arranjo espacial e número de hidroxilas. A presença de glicosídeo pode diminuir a atividade antioxidante do composto, mas por outro lado, pode aumentar sua biodisponibilidade. Em flavonoides, o aumento da atividade antioxidante também está associado à presença de ligação dupla C2=C3 no anel C, sendo potencializada quando há presença de um grupo carbonila no C4 desse mesmo anel (Figura 2) (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015; WANG; LI; BI, 2018).

Figura 2 - Presença de carbonila (C4) e ligação dupla entre C2 e C3 no anel C de um flavonoide.



Os CF podem ser naturalmente encontrados na forma livre na matriz celular, especialmente em vacúolos na parede vegetal; podem também estar conjugados por ligações éster a monossacarídeos (glicosídeos), proteínas ou outros macronutrientes de baixo peso molecular. Contudo, os CF do trigo encontram-se, predominantemente, ligados covalentemente por ligações éter, éster ou carbono-carbono a componentes da parede celular, proteínas e polissacarídeos, tais como as arabinoxilanas e β -glucanas (Figura 3) (ACOSTA-ESTRADA; GUTIÉRREZ-URIBE; SERNA-SALDÍVAR, 2014; SHAHIDI; YEO, 2016). Neste trabalho, será adotada a nomenclatura de CF livres (solúvel, conjugado ou não) e ligados (insolúvel) (SANTOS *et al.*, 2019).

Figura 3 - Representação da estrutura da parede celular e ligação cruzada entre os componentes estruturais e compostos fenólicos. (A) celulose, (B) hemicelulose, (C) proteínas estruturais, (D) pectina, (E) ácidos fenólicos, (F) lignina.



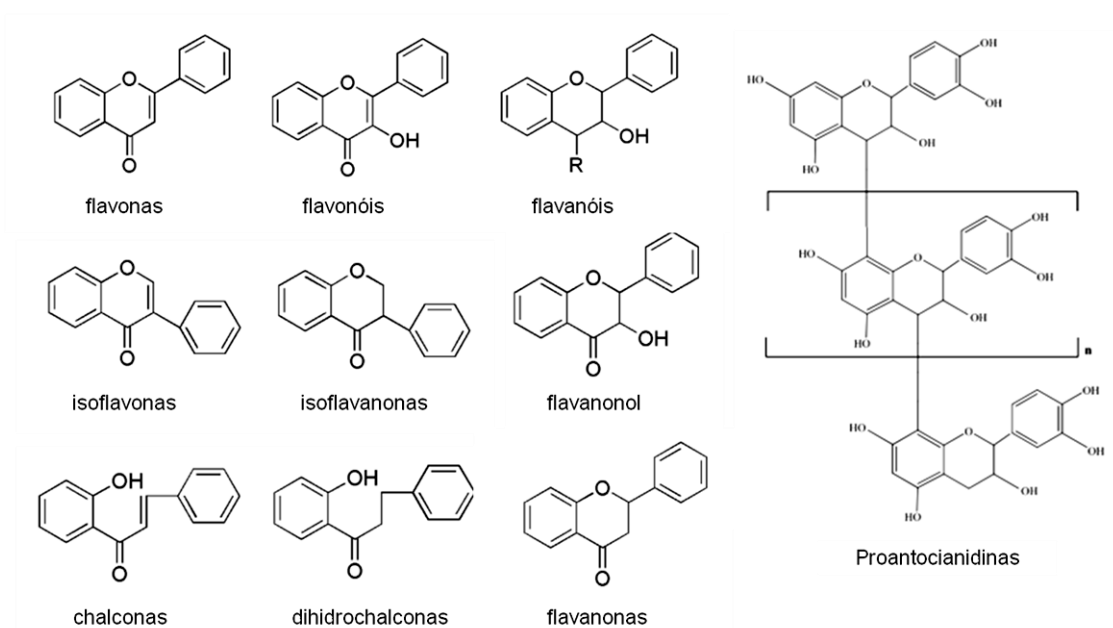
Fonte: ACOSTA-ESTRADA; GUTIÉRREZ-URIBE e SERNA-SALDÍVAR (2014)

Os ácidos fenólicos e flavonoides são as principais classes de CF, mas esses compostos também podem ser classificados em lignanas e estilbenos de acordo com a estrutura química que apresentam. Podem também ser classificados simplesmente como flavonoides e não-flavonoides (CROZIER; JAGANATH; CLIFFORD, 2009; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Os ácidos hidroxicinâmicos podem também existir na forma esterificada ao ácido quínico, formando compostos conhecidos como ácidos clorogênicos (Figura 4). Atualmente, são mais de 400 compostos reportados, variando a formação em número de ácidos hidroxicinâmicos e epímeros (diastereoisômeros) do ácido quínico. Os ácidos ferúlico, cafeico, cumárico e sinápico são os principais ácidos hidroxicinâmicos que compõem os ácidos clorogênicos. Alguns autores também consideram compostos dessa família aqueles formados pela união de um ácido hidroxicinâmico com o ácido chiquímico, como o ácido 5-O-cafeoilchiquímico (CLIFFORD *et al.*, 2017). São exemplos de compostos dessa família os ácidos 5-cafeoilquínico (clorogênico), 3-cafeoilquínico (neoclorogênico), 5-feruloilquínico, 5-*p*-cumaroilquínico, dicafeoilquínico, diferuloilquínico, alguns destes previamente identificados em grãos de trigo (RAZGONOVA *et al.*, 2021; SANTOS *et al.*, 2019; SHARMA *et al.*, 2020)

Os ácidos hidroxicinâmicos também podem se ligar a um ácido hidroxiantranílico, formando compostos denominados avenantramidas (AVA) ou amidas fenólicas, classificadas também como alcaloides fenólicos. Assim como nos clorogênicos, pode haver variação na composição das avenantramidas em relação ao isômero do ácido antranílico e ao ácido fenólico, podendo ser um ácido ferúlico, cafeico ou *p*-cumárico. Estes são especialmente encontrados em aveia e cevada e possuem alta capacidade antioxidante (EMMONS; PETERSON, 2001; LIU; WISE, 2021) (Figura 4).

Os flavonoides por sua vez são os metabólitos mais abundantes na natureza, com mais de 6.000 compostos identificados atualmente. Esses compostos apresentam em seu esqueleto básico dois anéis aromáticos conectados por uma pequena cadeia de carbonos (C6-C3-C6) (Figura 6). São encontrados em maior frequência glicosilados ou esterificados a outras moléculas. É possível subdividir essa classe em grupos menores de acordo com a estrutura química do composto, como flavanóis, flavanonas, flavonóis, isoflavonas, chalconas, entre outros (Figura 6) (CROZIER; JAGANATH; CLIFFORD, 2009; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015).

Figura 6 - Estruturas das principais subclasses de flavonoides.

Fonte: adaptada de Shahidi e Ambigaipalan (2015).

4.1 Compostos fenólicos no trigo

Ao contrário de frutas e hortaliças que apresentam maior abundância de CF livres, especialmente de flavonoides, o perfil de CF nos cereais é distinto, uma vez que apresentam os ácidos fenólicos como principal classe (BRITO *et al.*, 2021; LIU, 2007).

No trigo, os ácidos hidroxibenzoicos são encontrados principalmente livres, sendo exemplos de compostos dessa classe os ácidos gálico, 4-hidroxibenzoico, siríngico e vanílico. Podem também ser encontrados sob a forma de taninos hidrolisáveis, que são dímeros, trímeros ou agrupamento de mais unidades do ácido gálico e/ou ácido elágico (LIU, 2007). Em contrapartida, os ácidos hidroxicinâmicos, que são mais comuns na natureza, estão predominantemente ligados a polissacarídeos e proteínas no trigo. Dentre os principais ácidos no trigo estão ácidos ferúlico, cafeico, cumárico e sinápico (SHARMA *et al.*, 2020; SHEWRY, P. R.; HEY, S. J., 2015).

Pela significativa relevância dessa classe nos grãos, os ácidos fenólicos têm sido amplamente investigados para melhor compreensão desde a fisiologia da planta até os efeitos biológicos em organismos animais. HORVAT *et al.* (2020) avaliaram a influência da safra e do genótipo sobre teor de ácidos fenólicos e atividade antioxidante em cereais e observaram

que o teor varia de acordo com a espécie, onde o milho apresentou o maior conteúdo de ácidos fenólicos, seguido pela cevada e trigo. Em outro estudo, WANG *et al.* (2013) avaliaram o efeito da aplicação de diferentes taxas de extração sobre a concentração de ácidos fenólicos na farinha de trigo. Esses autores observaram que o teor de compostos foi significativamente maior nas farinhas com as taxas de extração mais altas (54 µg/g – 60%; 695 µg/g – 100%), ou seja, nas farinhas que apresentavam maior proporção de farelo.

Os flavonoides podem estar presentes no trigo como aglicona ou glicosilados ou ainda podem estar na forma de estruturas mais complexas, como no caso das proantocianidinas (taninos condensados). As proantocianidinas são dímeros, trímeros ou agrupamento de mais unidades de flavanóis, geralmente epigalotequina, catequina ou epicatequina (ZHU, 2019). E embora sejam encontradas em maior quantidade em cereais como sorgo e algumas espécies de milheto, as proantocianidinas já foram previamente identificadas em grãos de trigo também, principalmente em grãos de pericarpo colorido (RAZGONOVA *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2020).

Além dos ácidos fenólicos, os flavonoides também são encontrados em abundância no trigo. No trabalho de SHARMA *et al.* (2020), dos 115 CF identificados em 100 genótipos de trigo, 71 pertenciam à classe dos flavonoides, principalmente flavonóis (24) e flavonas (21). Os autores observaram que a concentração e composição dos flavonoides variou de acordo com o genótipo, embora tenham sido identificados compostos dessa classe em todos os 100 grãos. A composição e concentração de flavonoides varia também de acordo com a fração de moagem do trigo, como verificado por ZHU *et al.* (2022). Os autores observaram que as camadas mais externas do grão apresentaram maior concentração desses compostos do que a farinha com maior proporção de endosperma.

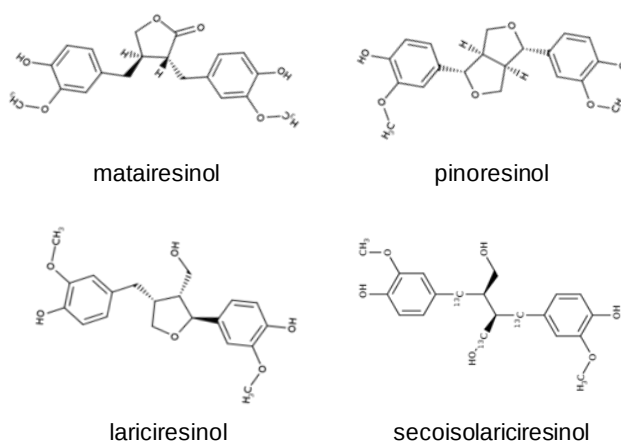
E, por isso, devido à sua composição, a farinha integral de trigo apresenta maior capacidade antioxidante do que a farinha refinada por apresentar maior teor e diversidade de CF (LI *et al.*, 2015; WANG *et al.*, 2013). Além do mais, diversos trabalhos mostram que, apesar da capacidade antioxidante sofrer um decréscimo desde a obtenção da farinha até o produto final, os CF ainda persistem presentes ao final do processamento, podendo até mesmo ocorrer um aumento do teor de CF livres, possivelmente pela modificação estrutural da matriz e ruptura das ligações químicas ocasionadas pelos tratamentos mecânicos, térmicos e

bioprocessos (fermentação, germinação) (ABDEL-AAL; RABALSKI, 2013; BOUDAUD *et al.*, 2021; KIM; KIM, 2017).

E embora outros grupos de alimentos apresentem maior abundância em quantidade ou diversidade de flavonoides, o grão de trigo contribui significativamente na ingestão desses compostos pelo alto consumo de produtos derivados desse cereal, como pães e massas alimentícias (CORRÊA *et al.*, 2015; GROSSO *et al.*, 2014; NASCIMENTO-SOUZA *et al.*, 2018).

As lignanas também são encontradas no trigo, como em outros cereais, como aveia, triticale, e especialmente no centeio. As lignanas basicamente são dímeros de álcoois cinâmílicos que apresentam estruturas diversas e podem ser organizados em oito principais subgrupos, determinados de acordo com a maneira que o oxigênio é incorporado na estrutura. Algumas lignanas identificadas em grãos de trigo são pinoresinol, secoisolariciresinol, lariciresinol e matairesinol (Figura 7) (HANHINEVA *et al.*, 2012; SANTOS *et al.*, 2022; SMEDS *et al.*, 2009). Os cereais integrais são considerados fontes importantes de lignanas na alimentação, como observado por MENDONÇA *et al.* (2019) e WISNUWARDANI *et al.* (2019) nas análises de consumo alimentar de espanhóis e poloneses, respectivamente.

Figura 7 - Lignanas encontradas nos cereais.



4.2 Compostos fenólicos e efeitos benéficos à saúde

Nos últimos anos, diversos estudos têm apontado as bioatividades dos CF sobre células e tecidos. No entanto, para que um composto exerça qualquer atividade no organismo humano, é necessário primariamente que ele seja liberado da matriz alimentícia, seja

absorvido durante sua passagem no TGI e atinja a célula-alvo através da circulação sanguínea. Além do mais, os CF são absorvidos por difusão passiva ou transporte ativo somente na forma de agliconas, seja ainda na cavidade oral, estômago, intestino delgado ou cólon. Depois de absorvidos, chegam ao fígado, onde passam pela etapa de conjugação e, enfim, retornam à circulação sistêmica, podendo chegar a algum tecido ou serem filtrados e excretados pelos rins (LORENZO *et al.*, 2019; MASISI; BETA; MOGHADASIAN, 2016).

A quantidade consumida também é um fator relevante, uma vez que está relacionada à sua bioatividade. AMMAR *et al.* (2020) observaram que para um CF produzir efeito neuroprotetor, a quantidade ingerida precisa ser superior a 500 mg e a biodisponibilidade precisa ser de intermediária a alta (9-43%), para que o metabólito do CF ultrapasse a barreira hematoencefálica. Segundo CARNAUBA; HASSIMOTTO e LAJOLO (2021), o consumo de CF na dieta brasileira varia de 201-1.008 mg/dia, sendo principalmente consumidos ácidos hidroxycinâmicos (total - 300 mg/dia; aglicona - 153 mg/dia), majoritariamente do café, e flavanonas (total - 86 mg/dia, aglicona - 59 mg/dia), principalmente do suco de laranja. Apesar da quantidade ingerida ser relativamente alta, os CF apresentam baixa biodisponibilidade, que varia entre 1 e 5% da quantidade ingerida (MANACH *et al.*, 2005). No caso do ácido ferúlico, BOURNE e RICE-EVANS (1998) relataram que a concentração máxima desse CF no plasma ocorreu até 9 h após a ingestão e variou de 11 a 25% da quantidade ingerida.

Apesar da baixa biodisponibilidade, trabalhos têm demonstrado os efeitos do consumo de CF à saúde, embora os mecanismos de ação ainda não tenham sido completamente elucidados (GODOS *et al.*, 2019; HANHINEVA *et al.*, 2010; JOHNSON *et al.*, 2021). Os CF podem participar de reações bioquímicas e enzimáticas como substratos, cofatores e inibidores, atuando como agentes anti-inflamatórios, antivirais, antimicrobianos, antidiabéticos, anti-carcinogênicos, entre outros. Tais atividades estão estritamente relacionadas às estruturas químicas dos CF, sendo assim, as diferentes classes de CF (ácidos fenólicos, flavonoides, lignanas, estilbenos) podem ser correlacionadas a diferentes propriedades (AMMAR *et al.*, 2020; HANHINEVA *et al.*, 2010; WANG; LI; BI, 2018).

Na meta-análise de JOHNSON *et al.* (2021), os autores encontraram que o tratamento com flavonoides e ácidos fenólicos glicosilados estão positivamente correlacionados à redução da atividade inflamatória. Já na revisão sistemática e meta-análise

de GODOS *et al.* (2019), foi analisada a relação do consumo de CF e seus efeitos sobre a pressão arterial e hipertensão. Os autores encontraram uma correlação positiva entre o consumo de flavonoides e efeitos benéficos na saúde cardiovascular, entretanto, a única associação positiva significativa encontrada foi o consumo de antocianinas e a redução do risco de hipertensão.

Os CF podem influenciar também mecanismos que envolvem desordens neurológicas, como neuroinflamação, doença de Parkinson e epilepsia, seja inibindo enzimas, produção de citocinas pró-inflamatórias, induzindo a expressão de genes específicos, entre outros mecanismos (SZWAJGIER; BOROWIEC; PUSTELNIAK, 2017). Em um estudo com o ácido ferúlico, ZENI; CAMARGO e DALMAGRO (2017) observaram que a administração desse CF na concentração de 1 mg/kg provocou a melhora de alterações comportamentais e de estresse oxidativo relacionados à depressão em ratos.

As lignanas também têm sido relacionadas a efeitos benéficos à saúde, como atividade anti-inflamatória, antiprotozoária e inibição da reprodução de células neoplásicas de mama e cólon (IONKOVA, 2011). Além do mais, algumas lignanas apresentaram uma absorção e metabolização hepática mais rápida do que outros CF em porcos, sendo seus metabólitos detectados no plasma após 3 h de ingestão (RODRÍGUEZ-GARCÍA *et al.*, 2019).

Vale destacar que os CF produzem efeitos antes mesmo de serem absorvidos pelo organismo, como revisado por HANHINEVA *et al.* (2010). Podem afetar o metabolismo dos carboidratos em diversas etapas, inibindo a atividade de enzimas digestivas e a absorção intestinal de glicose, por exemplo.

5. Extração, caracterização e identificação de compostos fenólicos por ferramentas ômicas

A caracterização química dos CF não é uma tarefa simples, visto que a diversidade e a complexidade das estruturas químicas resultam em uma vasta gama de polaridade, fazendo do processo de extração e dos métodos de caracterização um verdadeiro desafio (IRAKLI *et al.*, 2012; NACZK; SHAHIDI, 2004). Além disso, os estudos metabolômicos requerem um planejamento experimental muito bem definido e executado. Sendo assim, nos últimos anos a comunidade científica vem estabelecendo protocolos para auxiliar na execução desses

estudos, desde o planejamento experimental, passando pela coleta e armazenamento de amostras, extração dos metabólitos de interesse, preparação das amostras de controle de qualidade (QC, *pooled quality control samples*) até a análise e tratamento dos dados (BORGES *et al.*, 2021; BROADHURST *et al.*, 2018; EVANS *et al.*, 2020; KLÅVUS *et al.*, 2020; SCHRIMPE-RUTLEDGE *et al.*, 2016; VIALLO *et al.*, 2021).

A escolha do solvente para extração dos CF é uma etapa essencial, uma vez que os CF estão covalentemente ligados a componentes estruturais da parede celular do grão, requerendo hidrólises químicas ou enzimáticas. Além disso, devido à sua estrutura química e presença de grupos hidroxilas que possibilitam a formação de ligações de hidrogênio com moléculas de água, a utilização de solventes orgânicos puros pode não ser a melhor escolha devido à polaridade dos CF (NACZK; SHAHIDI, 2004; SHAHIDI; YEO, 2016; VAN HUNG, 2016). Além dos solventes e etapas de hidrólises, frequentemente são adicionadas outras técnicas ao protocolo para maximizar a extração, como ultrassom, micro-ondas, pH, extração em fase sólida (SPE), entre outras. A remoção de interferentes também é importante e usualmente são utilizadas membranas hidrofílicas do tipo PTFE (PILON *et al.*, 2020).

Entre os solventes mais comumente utilizados para a caracterização de CF no trigo estão as misturas de solventes orgânicos, como etanol, metanol e acetona, com água em diferentes proporções, bem como a utilização de hidrólises ácidas e alcalinas (ABOZED *et al.*, 2014; HORVAT *et al.*, 2020; PODIO; BARONI; WUNDERLIN, 2017). É importante considerar que as diferentes classes de metabólitos são solúveis de diferentes formas nos diferentes solventes, no entanto, também deve-se ressaltar a responsabilidade ambiental, procurando métodos e solventes de extração mais sustentáveis e menos tóxicos, como etanol e NaDES (*Natural Deep Eutectic Solvents*) (PILON *et al.*, 2020; SANTOS *et al.*, 2021).

A complexidade química dos CF pode ser resolvida por ferramentas e abordagens metabolômicas. A metabolômica pode ser definida como o uso de plataformas analíticas avançadas, como por exemplo, a cromatografia líquida de ultraperformance (UPLC) acoplada à espectrometria de massas *en tandem* (MS-MS), para caracterizar metabólitos de um sistema ou organismo particular (JACOBS; VAN DEN BERG; HALL, 2021).

A utilização dessas ferramentas tem sido considerada cada vez mais essencial na compreensão da complexidade das matrizes alimentares e na detecção de metabólitos em

alimentos, incluindo os CF. A importância desses instrumentos na identificação desses metabólitos tem relação com a sensibilidade e especificidade que os equipamentos podem apresentar. Isso porque são capazes de detectar os CF, que possuem pequena massa molecular (inferior a 1.500 Da) e podem estar presentes em ínfimas quantidades. Entretanto, apesar de já ter sido possível identificar mais de 2.000 metabólitos diferentes, não existe um único equipamento ou técnica capaz de caracterizar um metaboloma inteiro (JACOBS; VAN DEN BERG; HALL, 2021; MIHAILOVA *et al.*, 2021).

Por isso, para maximizar a detecção dos metabólitos de um organismo, frequentemente são utilizadas combinações de diferentes: (1) analisadores de massas: quadrupolo simples (Q), tempo de voo (TOF, *time of flight*), ressonância ciclônica de íons por transformada de Fourier (FT-ICR), Orbitrap, entre outros; (2) modos de aquisição: dependente de dados (DDA), independente de dados (DIA); (3) técnicas de separação: cromatografia líquida (LC), cromatografia gasosa (GC), eletroforese capilar (CE), entre outras; (4) modos de ionização: ionização por eletropulverização (ESI), ionização química à pressão atmosférica (APCI), fotoionização à pressão atmosférica (APPI), entre outros; (4) tipos de coluna cromatográfica: C8, C18, hilic, entre outros. Além do mais, podem ser utilizadas combinações de 2 ou mais analisadores de massas (MS-MS), como Q-TOF, triplo quadrupolo (QqQ), entre outras (FERNÁNDEZ-OCHOA *et al.*, 2021; MIHAILOVA *et al.*, 2021).

Diferentes tipos de abordagens também podem ser utilizados, como a abordagem não-alvo, conhecida também como abordagem global ou exploratória (*untargeted*), como *Metabolic fingerprint* e *Plant metabolomics*. Nesse tipo de estudo, o principal objetivo é a identificação da composição metabólica de um organismo e a quantificação é relativa, geralmente calculada em relação a um controle (padrão analítico, amostra controle, etc). Podem ser escolhidos também métodos alvos (*targeted*), como *Metabolic profiling* e *Target analysis*, cujo principal objetivo é identificar e quantificar um ou poucos metabólitos específicos que compartilham características químicas similares, por exemplo, alcaloides, terpenos, etc (CANUTO *et al.*, 2018; PILON *et al.*, 2020).

O grão de trigo, por sua relevância nutricional e econômica, tem sido objeto de estudo em diversos estudos metabolômicos com propósitos diversos. A utilização dessas ferramentas, principalmente de HPLC ou UPLC-Q-TOF-MS-MS tem sido bem sucedida para

caracterização de metabólitos, como nos trabalhos de SHARMA *et al.* (2020), que caracterizou em alta escala o perfil fenólico de grãos de trigo utilizando 100 genótipos diferentes, identificando mais de 120 CF livres; de SANTOS *et al.* (2019), que forneceu novas percepções sobre a composição fenólica e a regulação do metabolismo em trigo brasileiro ao longo da maturação do grão; de TAIS; SCHULZ e BÖTTCHER (2021), que caracterizou fitoquímicos semi-polares, incluindo CF, em 8 grãos de trigo cultivados em 4 locais distintos; e no de (ZHU *et al.*, 2022), que analisou 6 diferentes grãos de trigo coloridos a partir de 7 diferentes frações de moagem e observou que a abundância dos CF varia de acordo com a fração do grão.

No entanto, a caracterização de CF por plataformas ômicas ainda é escassa em cultivares brasileiras de cereais. Estes estudos podem fornecer um mapeamento químico abrangente, essencial na compreensão de processos metabólicos e da bioatividade dos compostos presentes nesse tipo de matriz.

O processamento e análise dos dados são etapas desafiadoras e fundamentais na metabolômica, uma vez que esses trabalhos podem resultar em um número grande de variáveis, fazendo-se necessária a utilização de análises complementares para a compreensão dos dados gerados, como a quimiometria (YI *et al.*, 2016).

Nos últimos anos, o número de estudos metabolômicos do tipo não-alvo tem crescido exponencialmente, principalmente pela aplicabilidade em diversos campos da ciência, como agricultura, meio ambiente, ciência de alimentos e medicina. No entanto, uma das limitações da abordagem não-alvo é a falta de padrões analíticos para a quantificação absoluta de todos os compostos, por isso, essa análise é usualmente qualitativa e é realizada uma quantificação relativa. Outra limitação relevante é a ausência dos compostos nos bancos de dados de espectros de massas, como o *MassBank* (<https://massbank.eu/MassBank/>) e o *MassBank of North America (MoNA)* (<https://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/>), que são essenciais para a comparação dos espectros experimentais e, consequente, anotação dos CF que não puderam ser comparados com os padrões analíticos utilizados na análise. Para superar essas limitações e auxiliar na análise dos dados metabolômicos, que quase sempre são muito complexos, a utilização de algoritmos de *machine learning* tem sido incentivada e integrada aos trabalhos de metabolômica (HOFFMANN *et al.*, 2021; LIEBAL *et al.*, 2020; PALM; KRUBE, 2022).

A abordagem por *machine learning* pode ser traduzida como a utilização de algoritmos em modelos matemáticos para prever resultados de dados desconhecidos. Pode ser

utilizada nas etapas iniciais do processamento dos dados, como alinhamento e detecção dos picos; na etapa de anotação dos compostos; e até mesmo para prever rotas de síntese de compostos e possíveis interações entre nutrientes de um alimento, possibilitando uma melhor compreensão das interações químicas (HUBER *et al.*, 2021; LIEBAL *et al.*, 2020; MENGUCCI; BORDONI; CAPOZZI, 2020).

CAPÍTULO II - OMICS DATA REVEALS THE PHENOLIC FINGERPRINT OF BRAZILIAN WHOLE WHEAT FLOURS OF DIFFERENT TECHNOLOGICAL QUALITIES

Luciana Ribeiro da Silva Lima^{a,b}; Millena Cristina Barros Santos^{a,b}; Carolina Thomaz dos Santos D'Almeida^{a,b}; Luiz Claudio Cameron^b; Luiz Carlos Gutkoski^a; Mariana Simões Larráz Ferreira^{a,b*}

^a*Laboratory of Bioactives, Food and Nutrition Graduate Program (PPGAN), Federal University of the State of Rio de Janeiro, UNIRIO, 22290-240, Rio de Janeiro, Brazil;*

^b*Center of Innovation in Mass Spectrometry, Laboratory of Protein Biochemistry, UNIRIO, Rio de Janeiro, Brazil.*

*Corresponding author: **E-mail:** mariana.ferreira@unirio.br

CONCLUSÃO GERAL

A procura por hábitos alimentares mais saudáveis é cada vez maior, seja pelo maior acesso à informação ou pela necessidade de melhorar e promover a saúde e bem-estar. Há também a procura por alimentos que aportem mais benefícios à saúde do que apenas o suprimento das necessidades energéticas, esses alimentos são popularmente chamados de alimentos funcionais.

O consumo de grãos integrais tem sido recomendado por diretrizes alimentares de diversos países, como, por exemplo, pelo Guia Alimentar para a população brasileira. Isso porque o consumo regular desses alimentos pode, além de fornecer energia, desempenhar papel potencialmente benéfico na redução do risco de desenvolver diversas doenças crônicas não transmissíveis. Esses efeitos possuem relação com os compostos bioativos presentes nos cereais integrais, e o consumo destes alimentos ricos em CF tem sido associado aos benefícios à saúde. Dentre os cereais, o trigo possui grande relevância na alimentação dos brasileiros, estando presente diariamente na dieta sob a forma de diferentes produtos (pão francês, pão de forma integral, biscoitos doces, biscoitos salgados, bolos etc.).

No entanto, para verificar os potenciais efeitos biológicos dos CF presentes nos alimentos, a primeira etapa a ser realizada é a caracterização química dessas matrizes. Sendo assim, neste trabalho foi realizada a caracterização dos CF a partir da aplicação de ferramentas ômicas e quimiométricas em farinhas integrais de trigo brasileiro de diferentes genótipos e com distintas classificações comerciais de uso, ou seja, de classes tecnológicas diferentes.

A extração sequencial dos CF e a utilização da abordagem metabolômica foi essencial na detecção e identificação dos CF nas farinhas integrais. Verificou-se que 14 CF foram encontrados em todas as amostras, sendo 9 ácidos fenólicos, 4 flavonoides e 1 outro polifenol. Alguns deles, como os ácidos ferúlico, cafeico e cumárico estão no início da via de síntese de outras classes de CF, sendo considerados precursores das lignanas, por exemplo. Observou-se também que os CF ligados foram os predominantes nos genótipos de trigo analisados no presente estudo, que corresponderam, em média, a 87% da abundância total de íons. Ainda, 42 a 57% da abundância total pode ser relacionada a um único composto, o ácido *trans*-ferúlico ligado. Depois desse ácido fenólico, outros CF da mesma classe, como seu isômero e

o ácido 4-hydroxybenzoic acid foram os mais relevantes nos extratos dos CF ligados. Em relação ao extrato dos CF livres, os isômeros da apigenina glicosídeo foram os compostos com maior abundância em todas as amostras.

A análise metabolômica também possibilitou detectar CF que apresentaram massa-carga (m/z), fórmula molecular e perfil de fragmentação MS/MS similares, mas que eluíram em diferentes tempos durante a análise, indicando a presença de 10 estruturas isoméricas, como os isômeros do ácido diferúlico identificados no trabalho. Esse resultado mostra a especificidade e sensibilidade da técnica em detectar esses compostos de baixo peso molecular e que podem estar presentes em pequenas quantidades.

As análises quimiométricas foram fundamentais na análise e distinção dos genótipos e perfil de CF. A partir da análise de agrupamentos hierárquicos (HCA) foi possível visualizar que as farinhas classificadas como *superior* (maior teor e força do glúten) apresentaram um perfil fenólico diferente das farinhas médias e fracas. Os resultados da análise da capacidade redutora do Folin-Ciocalteu foram consistentes com os resultados da análise metabolômica, onde as farinhas médias demonstraram a maior capacidade de redução (162,6 mg EAG/ 100 g farinha b.s.), e junto com as farinhas fracas apresentaram maior abundância de CF pela análise metabolômica.

Em suma, esse trabalho fornece informações importantes sobre o teor e composição fenólica de farinhas integrais de trigo brasileiro e pode servir como base para estudos futuros, que abranjam desde os impactos de diferentes processamentos sobre a composição fenólica de produtos com essas farinhas integrais até estudos que avaliem a bioacessibilidade e biodisponibilidade dos CF no organismo.

REFERÊNCIAS

AACCI. Approved methods. In 10th ed.). Minneapolis, MN: American Association of Cereal Chemists International. 2000.

ABASTECIMENTO, B. M. d. A. P. e. Instrução Normativa n. 8, de 2 de junho de 2005. Regulamento técnico de identidade e qualidade da farinha de trigo. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, n. 105, p. p. 91-p. 91, 2005.

ABDEL-AAL, E.-S. M.; RABALSKI, I. Effect of baking on free and bound phenolic acids in wholegrain bakery products. **Journal of Cereal Science**, 57, n. 3, p. 312-318, 2013.

ABITRIGO. **Associação Brasileira das Indústrias de Trigo**. 2022.

ABOZED, S. S.; EL-KALYOUBI, M.; ABDELRAHMAN, A.; SALAMA, M. F. Total phenolic contents and antioxidant activities of various solvent extracts from whole wheat and bran. **Annals of Agricultural Sciences**, 59, n. 1, p. 63-67, 2014.

ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food chemistry**, 152, p. 46-55, 2014.

ADDINSOFT. XLSAT Statistical software: version 2016.3. Paris, France 2016.

ADOM, K. K.; LIU, R. H. Antioxidant activity of grains. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 50, n. 21, p. 6182-6187, 2002.

ALVES, T. O.; D'ALMEIDA, C. T.; VICTORIO, V. C.; SOUZA, G. H. *et al.* Immunogenic and allergenic profile of wheat flours from different technological qualities revealed by ion mobility mass spectrometry. **Journal of Food Composition and Analysis**, 73, p. 67-75, 2018.

AMMAR, A.; TRABELSI, K.; MÜLLER, P.; BOUAZIZ, B. *et al.* The effect of (poly) phenol-rich interventions on cognitive functions and neuroprotective measures in healthy aging adults: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Clinical Medicine**, 9, n. 3, p. 835, 2020.

AOAC. Official methods of analysis. Association off Official Analytical Chemists. 1984.

BORÉM, A.; SCHEEREN, P. L. **Trigo: do plantio à colheita**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2015. 260 p. (Embrapa Trigo - Livro técnico 978-85-7269-522-0).

BORGES, R. M.; RESENDE, J. V. M.; DE MORAES, A. O.; PEREIRA, A. K. *et al.* Guia para processamento de dados de cromatografia acoplada a espectrometria de massas. **Química Nova**, 2021.

BOUDAOUD, S.; SICARD, D.; SUC, L.; CONÉJÈRO, G. *et al.* Ferulic acid content variation from wheat to bread. **Food Science & Nutrition**, 9, n. 5, p. 2446-2457, 2021.

BOURNE, L. C.; RICE-EVANS, C. Bioavailability of ferulic acid. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 253, n. 2, p. 222-227, 1998.

BRASIL. Regulamento técnico de identidade e qualidade da farinha de trigo. **República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, pp.

BRASIL. Regulamento técnico do trigo. **República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, pp.

BRITO, T.; LIMA, L.; SANTOS, M.; MOREIRA, R. *et al.* Antimicrobial, antioxidant, volatile and phenolic profiles of cabbage-stalk and pineapple-crown flour revealed by GC-MS and UPLC-MSE. **Food Chemistry**, 339, p. 127882, 2021.

BROADHURST, D.; GOODACRE, R.; REINKE, S. N.; KULIGOWSKI, J. *et al.* Guidelines and considerations for the use of system suitability and quality control samples in mass spectrometry assays applied in untargeted clinical metabolomic studies. **Metabolomics**, 14, n. 6, p. 1-17, 2018.

CANUTO, G. A.; COSTA, J. L. d.; DA CRUZ, P. L.; SOUZA, A. R. L. d. *et al.* Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. **Química Nova**, 41, p. 75-91, 2018.

CARNAUBA, R. A.; HASSIMOTTO, N. M.; LAJOLO, F. M. Estimated dietary polyphenol intake and major food sources of the Brazilian population. **British Journal of Nutrition**, 126, n. 3, p. 441-448, 2021.

CHANG, S. K. **How Food Structure and Processing Affect the Bioavailability of Nutrients and Antioxidants**. 2019.

CHI, C.; LI, X.; ZHANG, Y.; CHEN, L. *et al.* Digestibility and supramolecular structural changes of maize starch by non-covalent interactions with gallic acid. **Food & Function**, 8, n. 2, p. 720-730, 2017.

CHITINDINGU, K.; BENHURA, M. A.; MUCHUWETI, M. In vitro bioaccessibility assessment of phenolic compounds from selected cereal grains: A prediction tool of nutritional efficiency. **LWT**, 63, n. 1, p. 575-581, 2015.

CLIFFORD, M. N.; JAGANATH, I. B.; LUDWIG, I. A.; CROZIER, A. Chlorogenic acids and the acyl-quinic acids: Discovery, biosynthesis, bioavailability and bioactivity. **Natural Product Reports**, 34, n. 12, p. 1391-1421, 2017.

CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da safra brasileira de grãos, v.9 – Safra 2021/2022, n.5- Quarto levantamento.** Brasília, DF, p. 101. 2022.

CORRÊA, V. G.; TURECK, C.; LOCATELI, G.; PERALTA, R. M. *et al.* Estimate of consumption of phenolic compounds by Brazilian population. **Revista de Nutrição**, 28, n. 2, p. 185-196, 2015.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**, 26, n. 8, p. 1001-1043, 2009.

D'ALMEIDA, C. T. d. S.; MAMERI, H.; MENEZES, N. d. S.; DE CARVALHO, C. W. P. *et al.* Effect of extrusion and turmeric addition on phenolic compounds and kafirin properties in tannin and tannin-free sorghum. **Food Research International**, 149, p. 110663, 2021/11/01/ 2021.

DAHL, W. J.; STEWART, M. L. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: health implications of dietary fiber. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics**, 115, n. 11, p. 1861-1870, 2015.

DING, C.; LIU, Q.; LI, P.; PEI, Y. *et al.* Distribution and quantitative analysis of phenolic compounds in fractions of Japonica and Indica rice. **Food Chemistry**, 274, p. 384-391, 2019.

DJANDE, C. Y. H.; PIATER, L. A.; STEENKAMP, P. A.; TUGIZIMANA, F. *et al.* A Metabolomics Approach and Chemometric Tools for Differentiation of Barley Cultivars and Biomarker Discovery. **Metabolites**, 11, n. 9, p. 578, 2021.

EMMONS, C. L.; PETERSON, D. M. Antioxidant activity and phenolic content of oat as affected by cultivar and location. **Crop Science**, 41, n. 6, p. 1676-1681, 2001.

EVANS, A. M.; O'DONOVAN, C.; PLAYDON, M.; BEECHER, C. *et al.* Dissemination and analysis of the quality assurance (QA) and quality control (QC) practices of LC–MS based untargeted metabolomics practitioners. **Metabolomics**, 16, n. 10, p. 1-16, 2020.

FAO. **Crop Prospects and Food Situation - Quarterly Global Report No. 4**. Rome: December. 2021.

FERNÁNDEZ-OCHOA, Á.; BORRAS-LINARES, I.; PÉREZ-SÁNCHEZ, A.; BARRAJÓN-CATALÁN, E. *et al.* Phenolic compounds in rosemary as potential source of bioactive compounds against colorectal cancer: In situ absorption and metabolism study. **Journal of Functional Foods**, 33, p. 202-210, 2017.

FERNÁNDEZ-OCHOA, Á.; LEYVA-JIMÉNEZ, F. J.; DE LA LUZ CÁDIZ-GURREA, M.; PIMENTEL-MORAL, S. *et al.* The Role of High-Resolution Analytical Techniques in the Development of Functional Foods. **International Journal of Molecular Sciences**, 22, n. 6, p. 3220, 2021.

GIUBERTI, G.; ROCCHETTI, G.; LUCINI, L. Interactions between phenolic compounds, amylolytic enzymes and starch: An updated overview. **Current Opinion in Food Science**, 2020.

GODOS, J.; VITALE, M.; MICEK, A.; RAY, S. *et al.* Dietary polyphenol intake, blood pressure, and hypertension: a systematic review and meta-analysis of observational studies. **Antioxidants**, 8, n. 6, p. 152, 2019.

GÓMEZ, M.; GUTKOSKI, L. C.; BRAVO-NÚÑEZ, Á. Understanding whole-wheat flour and its effect in breads: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 19, n. 6, p. 3241-3265, 2020.

GONG, L.; CAO, W.; CHI, H.; WANG, J. *et al.* Whole cereal grains and potential health effects: Involvement of the gut microbiota. **Food Research International**, 103, p. 84-102, 2018.

GÓRNAŚ, P.; DWIECKI, K.; SIGER, A.; TOMASZEWSKA-GRAS, J. *et al.* Contribution of phenolic acids isolated from green and roasted boiled-type coffee brews to total coffee antioxidant capacity. **European Food Research and Technology**, 242, n. 5, p. 641-653, 2016.

GRANATO, D.; SHAHIDI, F.; WROLSTAD, R.; KILMARTIN, P. *et al.* Antioxidant activity, total phenolics and flavonoids contents: Should we ban in vitro screening methods? **Food Chemistry**, 264, p. 471-475, 2018.

GROSSO, G.; STEPANIAK, U.; TOPOR-MĄDRY, R.; SZAFRANIEC, K. *et al.* Estimated dietary intake and major food sources of polyphenols in the Polish arm of the HAPIEE study. **Nutrition**, 30, n. 11-12, p. 1398-1403, 2014.

HANHINEVA, K.; ROGACHEV, I.; AURA, A.-M.; AHARONI, A. *et al.* Identification of novel lignans in the whole grain rye bran by non-targeted LC–MS metabolite profiling. **Metabolomics**, 8, n. 3, p. 399-409, 2012.

HANHINEVA, K.; TÖRRÖNEN, R.; BONDIA-PONS, I.; PEKKINEN, J. *et al.* Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. **International Journal of Molecular Sciences**, 11, n. 4, p. 1365-1402, 2010.

HARLAN, J. R.; DE WET, J.; PRICE, E. G. Comparative evolution of cereals. **Evolution**, 27, n. 2, p. 311-325, 1973.

HEMERY, Y.; ROUAU, X.; LULLIEN-PELLERIN, V.; BARRON, C. *et al.* Dry processes to develop wheat fractions and products with enhanced nutritional quality. **Journal of Cereal Science**, 46, n. 3, p. 327-347, 2007.

HITHAMANI, G.; SRINIVASAN, K. Effect of domestic processing on the polyphenol content and bioaccessibility in finger millet (*Eleusine coracana*) and pearl millet (*Pennisetum glaucum*). **Food Chemistry**, 164, p. 55-62, 2014.

HOFFMANN, M. A.; NOTHIAS, L.-F.; LUDWIG, M.; FLEISCHAUER, M. *et al.* High-confidence structural annotation of metabolites absent from spectral libraries. **Nature Biotechnology**, p. 1-11, 2021.

HOLE, A. S.; KJOS, N. P.; GRIMMER, S.; KOHLER, A. *et al.* Extrusion of barley and oat improves the bioaccessibility of dietary phenolic acids in growing pigs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 61, n. 11, p. 2739-2747, 2013.

HOLE, A. S.; RUD, I.; GRIMMER, S.; SIGL, S. *et al.* Improved bioavailability of dietary phenolic acids in whole grain barley and oat groat following fermentation with probiotic *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus johnsonii*, and *Lactobacillus reuteri*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 60, n. 25, p. 6369-6375, 2012.

HORVAT, D.; ŠIMIĆ, G.; DREZNER, G.; LALIĆ, A. *et al.* Phenolic Acid Profiles and Antioxidant Activity of Major Cereal Crops. **Antioxidants**, 9, n. 6, p. 527, 2020.

HUBER, F.; RIDDER, L.; VERHOEVEN, S.; SPAAKS, J. H. *et al.* Spec2Vec: Improved mass spectral similarity scoring through learning of structural relationships. **PLoS Computational Biology**, 17, n. 2, p. e1008724, 2021.

IBGE. **Pesquisa de orçamentos familiares 2017-2018: Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE, 2020. 120 p. 978-65-87201-15-3.

IONKOVA, I. Anticancer lignans-from discovery to biotechnology. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, 11, n. 10, p. 843-856, 2011.

IRAKLI, M. N.; SAMANIDOU, V. F.; BILIADERIS, C. G.; PAPADOYANNIS, I. N. Development and validation of an HPLC-method for determination of free and bound phenolic acids in cereals after solid-phase extraction. **Food Chemistry**, 134, n. 3, p. 1624-1632, 2012.

JACOBS, D. M.; VAN DEN BERG, M. A.; HALL, R. D. Towards superior plant-based foods using metabolomics. **Current Opinion in Biotechnology**, 70, p. 23-28, 2021.

Jl, T.; MA, F.; BAIK, B. K. Biochemical characteristics of soft wheat grain associated with endosperm separation from bran and flour yield. **Cereal Chemistry**, 97, n. 3, p. 566-572, 2020.

JOHNSON, J. B.; MANI, J. S.; BROSZCZAK, D.; PRASAD, S. S. *et al.* Hitting the sweet spot: A systematic review of the bioactivity and health benefits of phenolic glycosides from medicinally used plants. **Phytotherapy Research**, 2021.

KARUNARATNE, R.; ZHU, F. Physicochemical interactions of maize starch with ferulic acid. **Food Chemistry**, 199, p. 372-379, 2016.

KIM, M. J.; KIM, S. S. Utilisation of immature wheat flour as an alternative flour with antioxidant activity and consumer perception on its baked product. **Food Chemistry**, 232, p. 237-244, 2017.

KLÄVUS, A.; KOKLA, M.; NOERMAN, S.; KOISTINEN, V. M. *et al.* “Notame”: Workflow for non-targeted LC–MS metabolic profiling. **Metabolites**, 10, n. 4, p. 135, 2020.

LI, B.; ZHANG, G.; TAN, M.; ZHAO, L. *et al.* Consumption of whole grains in relation to mortality from all causes, cardiovascular disease, and diabetes: Dose–response meta-analysis of prospective cohort studies. **Medicine**, 95, n. 33, 2016.

LI, Y.; MA, D.; SUN, D.; WANG, C. *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. **The Crop Journal**, 3, n. 4, p. 328-334, 2015.

LIEBAL, U. W.; PHAN, A. N.; SUDHAKAR, M.; RAMAN, K. *et al.* Machine Learning Applications for Mass Spectrometry-Based Metabolomics. **Metabolites**, 10, n. 6, p. 243, 2020.

LIMA, L. G. B.; MONTENEGRO, J.; ABREU, J. P. d.; SANTOS, M. C. B. *et al.* Metabolite Profiling by UPLC-MSE, NMR, and Antioxidant Properties of Amazonian Fruits: Mamey Apple (*Mammea Americana*), Camapu (*Physalis Angulata*), and Uxi (*Endopleura Uchi*). **Molecules**, 25, n. 2, p. 342, 2020.

LIU, K.; WISE, M. L. Distributions of nutrients and avenanthramides within oat grain and effects on pearled kernel composition. **Food Chemistry**, 336, p. 127668, 2021.

LIU, R. H. Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: mechanism of action. **The Journal of Nutrition**, 134, n. 12, p. 3479S-3485S, 2004.

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

LORENZO, J. M.; ESTÉVEZ, M.; BARBA, F. J.; THIRUMDAS, R. *et al.* Polyphenols: Bioaccessibility and bioavailability of bioactive components. In: **Innovative thermal and non-thermal processing, bioaccessibility and bioavailability of nutrients and bioactive compounds**: Elsevier, 2019. p. 309-332.

LUTHRIA, D. L.; LU, Y.; JOHN, K. M. M. Bioactive phytochemicals in wheat: Extraction, analysis, processing, and functional properties. **Journal of Functional Foods**, 18, Part B, p. 910-925, 10// 2015.

MANACH, C.; WILLIAMSON, G.; MORAND, C.; SCALBERT, A. *et al.* Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 81, n. 1, p. 230S-242S, 2005.

MASISI, K.; BETA, T.; MOGHADASIAN, M. H. Antioxidant properties of diverse cereal grains: A review on in vitro and in vivo studies. **Food Chemistry**, 196, p. 90-97, 2016/04/01/ 2016.

MCKEVITH, B. Nutritional aspects of cereals. **Nutrition Bulletin**, 29, n. 2, p. 111-142, 2004.

MCRAE, M. P. Health benefits of dietary whole grains: an umbrella review of meta-analyses. **Journal of Chiropractic Medicine**, 16, n. 1, p. 10-18, 2017.

MENDONÇA, R.; CARVALHO, N.; MARTIN-MORENO, J.; PIMENTA, A. *et al.* Total polyphenol intake, polyphenol subtypes and incidence of cardiovascular disease: The SUN cohort study. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, 29, n. 1, p. 69-78, 2019.

MENGUCCI, C.; BORDONI, A.; CAPOZZI, F. Understanding the Kinetics of Nutrients Bioaccessibility by Modelling Foodomics Data. **Current Opinion in Food Science**, 2020.

METSÄMUURONEN, S.; SIRÉN, H. Bioactive phenolic compounds, metabolism and properties: A review on valuable chemical compounds in Scots pine and Norway spruce. **Phytochemistry Reviews**, 18, n. 3, p. 623-664, 2019.

MIHAILOVA, A.; KELLY, S. D.; CHEVALLIER, O. P.; ELLIOTT, C. T. *et al.* High-resolution mass spectrometry-based metabolomics for the discrimination between organic and conventional crops: A review. **Trends in Food Science & Technology**, 110, p. 142-154, 2021.

MIRANDA, A. M.; STELUTI, J.; FISBERG, R. M.; MARCHIONI, D. M. Association between polyphenol intake and hypertension in adults and older adults: A population-based study in Brazil. **PLoS One**, 11, n. 10, p. e0165791, 2016.

MOLFESE, E. R.; CASTRO FRANCO, M.; DOMENECH, M.; FRITZ, N. *et al.* Environmental and cultivar effects on technological quality of the bread wheat produced in the Pampean plain of Argentina. **Crop Science**, 61, n. 5, p. 3647-3659, 2021.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **J Chromatogr A**, 1054, n. 1-2, p. 95-111, Oct 29 2004.

NASCIMENTO-SOUZA, M. A.; DE PAIVA, P. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; FRANCESCHINI, S. d. C. C. *et al.* Estimated dietary intake and major food sources of polyphenols in elderly of Viçosa, Brazil: a population-based study. **European Journal of Nutrition**, 57, n. 2, p. 617-627, 2018.

NDOLO, V. U.; BETA, T. Comparative studies on composition and distribution of phenolic acids in cereal grain botanical fractions. **Cereal Chemistry**, 91, n. 5, p. 522-530, 2014.

OGHBAEI, M.; PRAKASH, J. Bioaccessible phenolics and flavonoids from wheat flour products subjected to different processing variables. **Cereal Chemistry**, 96, n. 6, p. 1068-1078, 2019.

PALM, E.; KRUBE, A. Machine Learning for Absolute Quantification of Unidentified Compounds in Non-Targeted LC/HRMS. **Molecules**, 27, n. 3, p. 1013, 2022.

PILON, A. C.; SELEGATO, D. M.; FERNANDES, R. P.; BUENO, P. C. *et al.* Metabolômica de plantas: Métodos e desafios. **Química Nova**, 43, p. 329-354, 2020.

PODIO, N. S.; BARONI, M. V.; WUNDERLIN, D. A. Relation between polyphenol profile and antioxidant capacity of different Argentinean wheat varieties. A Boosted Regression Trees study. **Food Chemistry**, 232, p. 79-88, 2017.

RAVISANKAR, S.; QUEIROZ, V. A.; AWIKA, J. M. Rye flavonoids-structural profile of the flavones in diverse varieties and effect of fermentation and heat on their structure and antioxidant properties. **Food Chemistry**, p. 126871, 2020.

RAZGONOVA, M. P.; ZAKHARENKO, A. M.; GORDEEVA, E. I.; SHOEVA, O. Y. *et al.* Phytochemical Analysis of Phenolics, Sterols, and Terpenes in Colored Wheat Grains by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry. **Molecules**, 26, n. 18, p. 5580, 2021.

ROCCHETTI, G.; GIUBERTI, G.; BUSCONI, M.; MAROCCO, A. *et al.* Pigmented sorghum polyphenols as potential inhibitors of starch digestibility: An in vitro study combining starch digestion and untargeted metabolomics. **Food chemistry**, 312, p. 126077, 2020.

RODRÍGUEZ-GARCÍA, C.; SÁNCHEZ-QUESADA, C.; TOLEDO, E.; DELGADO-RODRÍGUEZ, M. *et al.* Naturally lignan-rich foods: A dietary tool for health promotion? **Molecules**, 24, n. 5, p. 917, 2019.

ROSSI, M. C.; BASSETT, M. N.; SAMMAN, N. C. Dietary nutritional profile and phenolic compounds consumption in school children of highlands of Argentine Northwest. **Food Chemistry**, 238, p. 111-116, 2018.

SALDIVAR, S. O. S. **Cereals: types and composition**. 2016.

SANTOS, M. C. B.; BAROUH, N.; DURAND, E.; BARÉA, B. *et al.* Metabolomics of Pigmented Rice Coproducts Applying Conventional or Deep Eutectic Extraction Solvents

Reveal a Potential Antioxidant Source for Human Nutrition. **Metabolites**, 11, n. 2, p. 110, 2021.

SANTOS, M. C. B.; LIMA, L. R. d. S.; D'ALMEIDA, C. T. d. S.; VICTORIO, V. C. M. *et al.* Foodomics in wheat flour reveals phenolic profile of different genotypes and technological qualities. **LWT**, 153, p. 112519, 2022.

SANTOS, M. C. B.; LIMA, L. R. d. S.; NASCIMENTO, F. R.; NASCIMENTO, T. P. d. *et al.* Metabolomic approach for characterization of phenolic compounds in different wheat genotypes during grain development. **Food Research International**, 124, p. 118-128, 2019.

SCHRIMPE-RUTLEDGE, A. C.; CODREANU, S. G.; SHERROD, S. D.; MCLEAN, J. A. Untargeted Metabolomics Strategies—Challenges and Emerging Directions. **Journal of The American Society for Mass Spectrometry**, 27, n. 12, p. 1897-1905, 2016/12/01 2016.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review. **Journal of Functional Foods**, 18, p. 820-897, 2015.

SHAHIDI, F.; YEO, J. Insoluble-bound phenolics in food. **Molecules**, 21, n. 9, p. 1216, 2016.

SHARMA, M.; RAHIM, M. S.; KUMAR, P.; MISHRA, A. *et al.* Large-scale identification and characterization of phenolic compounds and their marker–trait association in wheat. **Euphytica**, 216, n. 8, p. 127, 2020/07/18 2020.

SHARMA, V.; GUPTA, P.; PRISCILLA, K.; HANGARGI, B. *et al.* Metabolomics intervention towards better understanding of plant traits. **Cells**, 10, n. 2, p. 346, 2021.

SHEWRY, P. R.; HEY, S. Do “ancient” wheat species differ from modern bread wheat in their contents of bioactive components? **Journal of Cereal Science**, 65, p. 236-243, 2015.

SHEWRY, P. R.; HEY, S. J. The contribution of wheat to human diet and health. **Food and Energy Security**, 4, n. 3, p. 178-202, 2015.

SILVA, C. P. d.; SOARES-FREITAS, R. A. M.; SAMPAIO, G. R.; SANTOS, M. C. B. *et al.* Identification and action of phenolic compounds of Jatobá-do-cerrado (*Hymenaea stagnocarpa* Mart.) on α -amylase and α -glucosidase activities and flour effect on glycemic response and nutritional quality of breads. **Food Research International**, 116, p. 1076-1083, 2019.

SILVEIRA, M. M. d.; DITTGEN, C. L.; BATISTA, C. d. S.; BIDUSKI, B. *et al.* Discrimination of the quality of Brazilian wheat genotypes and their use as whole-grains in human nutrition. **Food Chemistry**, 312, p. 126074, 2020.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. M. [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in Enzymology**, 299, p. 152-178, 1999/01/01/ 1999.

SMEDS, A. I.; JAUHIAINEN, L.; TUOMOLA, E.; PELTONEN-SAINIO, P. Characterization of variation in the lignan content and composition of winter rye, spring wheat, and spring oat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57, n. 13, p. 5837-5842, 2009.

SURGET, A.; BARRON, C. Histologie du grain de blé. **Industries des céréales**, n. 145, p. 3-7, 2005.

SZWAJGIER, D.; BOROWIEC, K.; PUSTELNIAK, K. The neuroprotective effects of phenolic acids: molecular mechanism of action. **Nutrients**, 9, n. 5, p. 477, 2017.

TACER-CABA, Z.; NILUFER-ERDIL, D.; AI, Y. Chemical composition of cereals and their products. **Handbook of Food Chemistry**, p. 301-329, 2015.

TAGUCHI, C.; FUKUSHIMA, Y.; KISHIMOTO, Y.; SUZUKI-SUGIHARA, N. *et al.* Estimated dietary polyphenol intake and major food and beverage sources among elderly Japanese. **Nutrients**, 7, n. 12, p. 10269-10281, 2015.

TAIS, L.; SCHULZ, H.; BÖTTCHER, C. Comprehensive profiling of semi-polar phytochemicals in whole wheat grains (*Triticum aestivum*) using liquid chromatography coupled with electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. **Metabolomics**, 17, n. 2, p. 1-18, 2021.

VAN HUNG, P. Phenolic Compounds of Cereals and Their Antioxidant Capacity. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 56, n. 1, p. 25-35, 2016.

VELDERRAIN-RODRÍGUEZ, G.; PALAFOX-CARLOS, H.; WALL-MEDRANO, A.; AYALA-ZAVALA, J. *et al.* Phenolic compounds: their journey after intake. **Food & function**, 5, n. 2, p. 189-197, 2014.

VIALLO, V.; HIS, M.; RINALDI, S.; BREEUR, M. *et al.* A new pipeline for the normalization and pooling of metabolomics data. **Metabolites**, 11, n. 9, p. 631, 2021.

VICTORIO, V. C. M.; ALVES, T. O.; SOUZA, G. H. M. F.; GUTKOSKI, L. C. *et al.* NanoUPLC-MSE reveals differential abundance of gluten proteins in wheat flours of different technological qualities. **Journal of Proteomics**, 239, p. 104181, 2021/05/15/ 2021.

VICTORIO, V. C. M.; SOUZA, G. H. M. F.; SANTOS, M. C. B.; VEGA, A. R. *et al.* Differential expression of albumins and globulins of wheat flours of different technological qualities revealed by nanoUPLC-UDMSE. **Food Chemistry**, 239, p. 1027-1036, 2018/01/15/ 2018.

VISMEH, R.; LU, F.; CHUNDAWAT, S. P.; HUMPULA, J. F. *et al.* Profiling of diferulates (plant cell wall cross-linkers) using ultrahigh-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Analyst**, 138, n. 21, p. 6683-6692, 2013.

WANG, L.; YAO, Y.; HE, Z.; WANG, D. *et al.* Determination of phenolic acid concentrations in wheat flours produced at different extraction rates. **Journal of Cereal Science**, 57, n. 1, p. 67-72, 2013.

WANG, T.-y.; LI, Q.; BI, K.-s. Bioactive flavonoids in medicinal plants: Structure, activity and biological fate. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 13, n. 1, p. 12-23, 2018.

WANG, X.; ZHANG, X.; HOU, H.; MA, X. *et al.* Metabolomics and gene expression analysis reveal the accumulation patterns of phenylpropanoids and flavonoids in different colored-grain wheats (*Triticum aestivum* L.). **Food Research International**, 138, p. 109711, 2020.

WISNUWARDANI, R. W.; DE HENAUW, S.; ANDROUTSOS, O.; FORSNER, M. *et al.* Estimated dietary intake of polyphenols in European adolescents: The HELENA study. **European Journal of Nutrition**, 58, n. 6, p. 2345-2363, 2019.

YI, L.; DONG, N.; YUN, Y.; DENG, B. *et al.* Chemometric methods in data processing of mass spectrometry-based metabolomics: A review. **Analytica Chimica Acta**, 914, p. 17-34, 2016.

ZENG, Z.; LIU, C.; LUO, S.; CHEN, J. *et al.* The profile and bioaccessibility of phenolic compounds in cereals influenced by improved extrusion cooking treatment. **PloS one**, 11, n. 8, p. e0161086, 2016.

ZENI, A. L. B.; CAMARGO, A.; DALMAGRO, A. P. Ferulic acid reverses depression-like behavior and oxidative stress induced by chronic corticosterone treatment in mice. **Steroids**, 125, p. 131-136, 2017.

ZHANG, B.; ZHAO, Q.; GUO, W.; BAO, W. *et al.* Association of whole grain intake with all-cause, cardiovascular, and cancer mortality: a systematic review and dose–response meta-analysis from prospective cohort studies. **European Journal of Clinical Nutrition**, 72, n. 1, p. 57, 2018.

ZHANG, Y.; WANG, L.; YAO, Y.; YAN, J. *et al.* Phenolic acid profiles of Chinese wheat cultivars. **Journal of Cereal Science**, 56, n. 3, p. 629-635, 2012.

ZHU, A.; ZHOU, Q.; HU, S.; WANG, F. *et al.* Metabolomic analysis of the grain pearling fractions of six bread wheat varieties. **Food Chemistry**, 369, p. 130881, 2022.

ZHU, F. Proanthocyanidins in cereals and pseudocereals. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 59, n. 10, p. 1521-1533, 2019.

APÊNDICE

Supplementary Table 1. Determination of technological quality of the whole wheat flour samples.

Genotypes	Classification	Gluten strength (J)	Falling number (s)	Tenacity (mm)	Extensibility (mm)	Water absorption (%)
CAMPEIRO	Low	119.25	291	32	152	49
ORS VINTECINCO	Low	157.2	313	44	123	51.4
ORS 1401	Medium	329	352	110	97	62
ORS 1402	Medium	272.5	327	84.8	116	62
MARFIM	Medium	291.8	350	80.4	116.6	55
JADEÍTE 11	Superior	313.1	381.6	87	117	66
GUABIJU	Superior	241	330	132	95	64
AMETISTA	Superior	352.7	325.5	117	87	67.5

Supplementary Figure 1. Relative abundance of trans-ferulic acid in free, bound and total extracts from immature grains (milky, softy, physiological maturity -PM), mature, whole-wheat flours (WWF) to refined flours, based on the results presented in the current work (WWF), Santos et al., 2019 (immature grains) and 2022 (refined flours). Different lowercase letters mean statistical significance between samples of the same extract ($p < 0.05$, Tukey).

