

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 15/03/2025.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
INSTITUTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO**

CÉLIA CRISTINA MALAGUTI FIGUEIREDO

**Aplicação de técnica biotecnológica de fermentação em estado sólido para aproveitamento de
resíduos da indústria de farinha de trigo e desenvolvimento de novo produto alimentício
funcional**

**ARARAQUARA
2024**

CÉLIA CRISTINA MALAGUTI FIGUEIREDO

Aplicação de técnica biotecnológica de fermentação em estado sólido para aproveitamento de resíduos da indústria de farinha de trigo e desenvolvimento de novo produto alimentício funcional

Tese apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutora em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Regildo Márcio Gonçalves da Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Pedro de Oliva Neto

ARARAQUARA
2024

F475a	Figueiredo, Celia Cristina Malaguti Aplicação de técnica biotecnológica de fermentação em estado sólido para aproveitamento de resíduos da indústria de farinha de trigo e desenvolvimento de novo produto alimentício funcional / Celia Cristina Malaguti Figueiredo. -- Araraquara, 2024 81 f. : il. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Química, Araraquara Orientador: Regildo Marcio Gonçalves da Silva Coorientador: Pedro de Oliva Neto 1. Antioxidante. 2. Subprodutos. 3. Tecnologia de bioprocesso. 4. Glucose. 5. Alimentos funcionais. I. Título.
-------	--

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Química, Araraquara. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

IMPACTO POTENCIAL DA PESQUISA

A utilização do farelo de trigo como substrato para fermentação em estado sólido (FES) representa uma abordagem ecológica e sustentável. Isso é crucial em um momento em que a busca por soluções ambientalmente amigáveis na indústria é uma prioridade global. A pesquisa destaca a importância de aproveitar subprodutos agrícolas, transformando-os em recursos valiosos. Isso contribui para a economia circular, reduzindo o desperdício e maximizando a utilização de recursos disponíveis.

A capacidade de produzir enzimas e xarope de glucose a partir do farelo de trigo tem implicações significativas na indústria alimentícia. Esses produtos são de grande relevância industrial e podem ser utilizados em uma variedade de aplicações, contribuindo para a diversificação de produtos alimentares e possivelmente reduzindo a dependência de fontes não renováveis.

A barra de flocos de arroz caramelizado com glucose de trigo, derivada do processo descrito, demonstra potencial como alimento funcional. Além de suas propriedades antioxidantes, ela também é rica em macronutrientes como proteínas. Isso abre portas para o desenvolvimento de produtos alimentares mais saudáveis e nutritivos. A eficácia do bioprocesso demonstrado na pesquisa é um indicador importante de sua viabilidade e escalabilidade. Isso sugere que a técnica pode ser aplicada em larga escala na indústria, potencialmente beneficiando a produção de alimentos em nível comercial.

Em resumo, a pesquisa não apenas oferece uma abordagem inovadora e sustentável para a produção de alimentos, mas também destaca o potencial de valorização de subprodutos agrícolas e a criação de produtos alimentares funcionais e nutricionalmente ricos. Esses resultados têm implicações importantes não apenas para a indústria alimentícia, mas também para a sustentabilidade ambiental e a saúde pública.

POTENTIAL IMPACT OF THE RESEARCH

The use of wheat bran as a substrate for solid-state fermentation (SSF) represents an ecological and sustainable approach. This is crucial at a time when the search for environmentally friendly solutions in industry is a global priority. The research highlights the importance of harnessing agricultural by-products, turning them into valuable resources. This contributes to the circular economy, reducing waste and maximizing the use of available resources.

The ability to produce enzymes and glucose syrup from wheat bran has significant implications for the food industry. These products are of great industrial relevance and can be used in a variety of applications, contributing to the diversification of food products and possibly reducing dependence on non-renewable sources.

The bar of rice flakes caramelized with wheat glucose, derived from the process described, shows potential as a functional food. In addition to its antioxidant properties, it is also rich in macronutrients such as proteins. This opens the door to the development of healthier and more nutritious food products. The effectiveness of the bioprocess demonstrated in the research is an important indicator of its viability and scalability. This suggests that the technique can be applied on a large scale in industry, potentially benefiting food production at a commercial level.

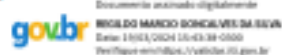
In summary, the research not only offers an innovative and sustainable approach to food production, but also highlights the potential for valorizing agricultural by-products and creating functional and nutritionally rich food products. These results have important implications not only for the food industry, but also for environmental sustainability and public health.

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA TESE: "Aplicação de técnica biotecnológica de fermentação em estado sólido para aproveitamento de resíduos da indústria de farinha de trigo e desenvolvimento de novo produto alimentício funcional"

AUTORA: CELIA CRISTINA MALAGUTI FIGUEIREDO
ORIENTADOR: REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA SILVA
COORIENTADOR: PEDRO DE OLIVA NETO

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Doutora em Biotecnologia, pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA SILVA (Participação Virtual)
Departamento de Biotecnologia / Faculdade de Ciências e Letras do Campus de Assis da Unesp

Prof. Dr. LEVI POMPERMAYER MACHADO (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia e Pesca / Campus Experimental de Registro - UNESP - Registro

Prof. Dr. VALTER HENRIQUE MARINHO DOS SANTOS (Participação Virtual)
Universidade do Vale do Sapucaí - UNIVAS - Pouso Alegre

Profa. Dra. ALEJANDRA TERESA FAZIO (Participação Virtual)
Universidad de Buenos Aires - UBA

Prof. Dr. PAULO EDUARDO AMARAL DEBIAGI (Participação Virtual)
Departamento de Engenharia Química e Ambiental / Faculdade de Ciências e Engenharia - UNNC - China

Araraquara, 15 de março de 2024

DADOS CURRICULARES

Nome da aluna: Célia Cristina Malaguti Figueiredo

Nome do orientador: Regildo Márcio Gonçalves da Silva

Endereço eletrônico: celiamalagutti@hotmail.com

Endereço currículo lattes: <http://lattes.cnpq.br/7482028580340810>

Formação Acadêmica

Graduação em Nutrição. Universidade Paulista. UNIP, Brasil.

Mestrado em Biotecnologia. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP.

Especialização em Nutrição em Oncologia. Faculdade Unyleya. Título: Nutrição em Oncologia.

Doutorado em Biotecnologia. Universidade Julio de Mesquita Filho, UNESP.

Trabalhos publicados:

1. Figueiredo, Célia Cristina Malaguti.; Gomes, A.C.; Granero, F.O.; Bronzel Junior, J.L.; Silva, L.P.; Ruiz, A.L.T.G.; Silva, R.M.G. 2020. Antiglycation and antitumoral activity of *Tribulus terrestris* dry extract. **Publicado na Revista:** Avicenna Journal of Phytomedicine. <https://doi.org/10.22038/AJP.2020.16957>

2. Silva, R.M.G, Figueiredo, Célia Cristina Malaguti.; Gomes, A.C, Ferreira, P.C.; Granero, F.O.; Santiago, P.S.; V.F., Silva. 2020. Evaluation of the antigenotoxic and antioxidante activity induced by *Croton antisiphiliticus* **Publicado na Revista:** Anais da Academia Brasileira de Ciencias. 92(Suppl. 2). <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020190047>

3. Figueiredo, Célia Cristina Malaguti.; Gomes, A.C.; Granero, F.O.; Bronzel Junior, J.L.; Silva, L.P.; Ximenes, V.F., Silva, R.M.G. 2021. Antiglycation and antioxidant activities of the crude extract and saponins fraction of *Tribulus terrestris* before and after microcapsule release. **Publicado na revista: Journal of Integrative Medicine.** 20, 153–162. <https://doi.org/10.1016/j.joim.2021.12.003>

4. Peixoto, E.C.T.M.; Silva, F.R.; Figueiredo, A.; Granero, F.O, Figueiredo, Célia Cristina Malaguti.; Silva, L.P.; Silva, R.M.G. 2022. Efficacy and Safety of *Curcuma longa* L: Relevant Results for Cancer Treatment. **Publicado na revista:** Journal of Horticultural Science and Research. 5(1):175-183. <https://doi.org/10.36959/745/413>

5. Silva, R.M.G.; Amâncio, I.F.N.; Andrade, A.R.; Santos, V.H.M.; Santiago, P.S.; Granero, F.O.; Figueiredo, Célia Cristina Malaguti.; Silva, L.P. 2022. Phytotoxic, cytogenotoxic, and insecticidal activities of compounds from extract of freshwater *Lyngbya sp.* **Publicado na Revista:** Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A. p. 1-15. <https://doi.org/10.1080/15287394.2022.2102100>

6. Viel, A.M.; Figueiredo, Célia Cristina Malaguti.; Granero, F.O.; Silva, L.P.; Ximenes, V.F.; Godoy, T.M.; Quintas, L.E.M.; Silva, R.M.G. 2022. Antiglycation, antioxidant and cytotoxicity activities of crude extract of *Turnera ulmifolia* L. before and after microencapsulation process. **Publicado na revista:** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.114975>

7. Silva, R.M.G.; Martins, G.R.; Nucci, L.M.B.; Granero, F.O.; Figueiredo, Célia Cristina Malaguti.; Santiago, P.S.; Silva, L.P. 2022. Antiglycation, antioxidant, antiacne and photoprotective,

in vitro activities of crude extracts and triterpene saponins fraction of *Sapindus saponaria* L. fruits". 12(9): 391-399. **Publicado na revista:** Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. <https://doi.org/10.4103/2221-1691.354430>

8. Gomes, A.C.; Granero, F.O.; **Figueiredo, Célia Cristina Malaguti.**; Bronzel Junior, J.L.; Ximenes, V.F.; Silva, L.P.; Nicolau-Junior, N.; Silva, R.M.G. 2022. Antioxidant and antiglycation activities and inhibitory action of *Passiflora cincinnata* on collagenase, elastase and tyrosinase: *in vitro* and *in silico* study. **Publicado na revista:** Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102464>

9. Regildo Márcio Gonçalves da Silva, Vanessa Marques de Oliveira Moraes, Valter Henrique Marinho dos Santos, Filipe Oliveira Granero, **Célia Cristina Malaguti Figueiredo**, Luciana Pereira Silva. 2022. Heavy metal accumulation efficiency and subsequent of cytogenotoxicity evaluation in the medicinal plant *Equisetum hyemale* by *Allium cepa* test. **Publicado na revista:** Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A. <https://doi.org/10.1080/15287394.2022.2139313>

10. Martins, G.R.; Bronzel Junior, J.L.; Granero, F.O.; **Figueiredo, Célia Cristina Malaguti.**; Silva, L.P.; Silva, R.M.G. 2023. Phytoconstituents, antioxidant and antiglycation activity of *Chrysophyllum cainito* L., *Hancornia speciosa* G and *Plinia glomerata* Berg. fruits. **Publicado na revista:** Anais da Academia Brasileira de Ciências. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202320201853>

11. **Figueiredo, Célia Cristina Malaguti.**; Gomes, A.C.; Zibordi, I.C.; Granero, F.O.; Ximenes, V.F.; Pavan, N.M.; Silva, I.P.; Sonvesso, C.S.M.; Job, A.E.; Nicolau-Junior, N. ; Regildo M. G. Silva,, ; Silva, R.M.G. 2023. Biosynthesis of silver nanoparticles of *Tribulus terrestris* food supplement and evaluated antioxidant activity and collagenase, elastase and tyrosinase enzyme inhibition: *in vitro* and *in silico* approaches. **Publicado na revista** Food and Bioproducts Processing, p. 150-161, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2023.01.010>

12. Gimenis, J.M.; **Figueiredo, Célia Cristina Malaguti.**; Gomes, A.C.; Granero, F.O.; Ximenes, V.F.; Silva, L.P.; Bronzel Junior, J.L.; Silva, V.R.L.E.; Silva, R.M.G.; Silva, R.M.G. Microencapsulation of *Moringa oleifera* L. extract in liposomes: Evaluation of antioxidant and antiglycation activities, cytotoxicity, and skin biometric parameters. **Publicado na revista** Journal of Drug Delivery Science and Technology, p. 104972, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.104972>

13. Gomes, A.C.; **Figueiredo, Célia Cristina Malaguti.**; Martins, G.R.; Granero, F.O.; Silva, L.P.; Silva, R.M.G. Antiglycation and antioxidant activity of herbal medicines used in the treatment of climacteric symptoms. **Publicado na revista:** Journal of Herbal Medicine, v. x, p. xx-xx, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2023.100689>

14. Regildo M.G. Silva.; Andrade, A.R.; Granero, F.O.; **Figueiredo, Célia Cristina Malaguti**; Santos, V.H.M.; Machado, I.P.; Silva, L.P. Cytogenotoxic, insecticidal, and phytotoxic activity from biomass extracts of the freshwater algae. **Publicado na revista** Journal of Toxicology and Environmental Health-Part A-Current Issues, v. 1, p. 1-16, 2023. <https://doi.org/10.1080/15287394.2023.2172501>

15. Silva, Regildo Márcio Gonçalves Da; Alves, Caio Pismel; Barbosa, Fernando Cesar; Santos, Hugo Henrique; Adão, Kaue Mendonça; Granero, Filipe Oliveira; **Figueiredo, Célia Cristina Malaguti**; Figueiredo, Carlos Rogério; Nicolau-Junior, Nilson; Silva, Luciana Pereira. 2024. Antioxidant, antitumoral, antimetastatic effect and inhibition of collagenase enzyme activity of *Eleutherine bulbosa* (Dayak onion) extract: *In vitro*, *in vivo* and *in silico* approaches. **Publicado na**

16. Regildo Márcio Gonçalves da Silva, Isabelly do Nascimento Pereira, Laura Camargo Zibordi, Pedro Augusto Pereira Rosatto, Filipe Oliveira Granero, **Célia Cristina Malaguti Figueiredo**, Luciana Pereira Silva, Cibely da Silva Martin Sonvesso, Aldo Eloizo Job, Nilson Nicolau-Junior. 2023. Green synthesis of silver nanoparticles using *Solanum aculeatissimum* Jacq. leaf extract and evaluation of *in vitro* and *in silico* biological and pharmacological properties. **Publicado na revista:** Journal of Toxicology and Environmental Health. Part a Current Issues. p. 57-76. <https://doi.org/10.1080/15287394.2023.2275691>

Trabalhos aceitos para publicação:

1. **Célia Cristina Malaguti Figueiredo**, Filipe Oliveira Granero, Luciana Pereira Silva, Ilca Fabiane Amâncio Nogueira, Joyce Faria de Souza, Bruna Escaramboni, Pedro de Oliva Neto, Regildo Márcio Gonçalves da Silva. Solid-state fermentation using wheat bran to produce glucose syrup and functional cereal bars. **Artigo em andamento/correção na revista Bioprocess and Biosystems Engineering (2024).**

Apresentação de trabalho:

1 - Ilca Fabiane Nogueira Amancio, **Celia Cristina Malagutti Figueiredo**, Regildo Marcio Gonçalves da Silva. Trabalho intitulado: Potencial antioxidante e composição polifenólica de extrato de *Lynghya majuscula* - Anais do II Congresso Nacional de Comestologia. Abril/2021.

2 - Carlos Takashi Ota Yaekashi, Milene Aparecida Kaczanoski de Oliveira, Amanda Martins Viel, **Célia Cristina Malagutti Figueiredo** e Regildo Márcio Gonçalves da Silva. Trabalho intitulado: Determinação de Compostos Fenólicos e Atividade Antioxidante dos extratos de folha e fruto de *Hovenia Dulcis* T. - II Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas. Junho/2021

3 - Milene Aparecida Kaczanoski de Oliveira, Carlos Takashi Ota Yaekashi, Amanda Martins Viel, **Célia Cristina Malagutti Figueiredo** e Regildo Márcio Gonçalves da Silva. Trabalho intitulado: Atividade Antioxidante e Determinação de Compostos Fenólicos do extrato da folha de *Cissus Sicyoides* L. - II Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas. Junho/2021.

4 - **Celia Cristina Malaguti Figueiredo** e demais autores. Trabalho intitulado: Avaliação da atividade antiglicante de extratos de frutos de *S. purpurea* L. - Anais do II Congresso Nacional de Comestologia. Abril/2021.

5 - Laura Maria Bigeschi Nucci, **Célia Cristina Malaguti Figueiredo**, Luciana Pereira Silva, Regildo Márcio Gonçalves da Silva. Trabalho intitulado: Determinação do conteúdo de polifenóis e flavonoides e atividade antioxidante de extratos de *Lemna aequinocialis*. III Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas. Outubro/2022.

6 - Ilca Fabiane Nogueira Amâncio, **Célia Cristina Malaguti Figueiredo**, Regildo Márcio Gonçalves da Silva. Trabalho intitulado: Avaliação dos extratos vegetais de *Piper arboreum* com possível ação fungicida em *Fusarium sp.* III Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas. Outubro/2022.

7 - **Célia Cristina Malaguti Figueiredo**, Ilca Fabiane Nogueira Amâncio, Joyce Faria de Souza, Pedro de Oliva Neto, Regildo Márcio Gonçalves da Silva. Trabalho intitulado: Caracterização

centesimal e avaliação da atividade antioxidante do farelo de trigo (*Triticum aestivum*). III Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas. Outubro/2022.

8 - **Celia Cristina Malaguti Figueiredo**, Regildo Márcio Gonçalves Da Silva, Ilca Fabiane Nogueira Amâncio, Joyce Faria De Souza E Pedro De Oliva Neto. Trabalho intitulado: Análise bromatológica e avaliação da atividade antioxidante do farelo de trigo (*Triticum aestivum*). IV Congresso Brasileiro de Ciências Biológicas. Outubro/2023.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho ao meu esposo e toda minha família, por todo amor e por ser meu maior incentivador, compartilhando comigo todas as alegrias e aprendizados da vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus por todo alento e força recebidos nos momentos de dificuldades. Ao meu esposo que sempre foi o melhor companheiro e me passou muita força, equilíbrio e serenidade para que eu pudesse transpassar pelos obstáculos que surgiram. A toda minha família, mãe, irmãos, sogros, cunhados e sobrinhos, por me apoiarem incondicional e apoio e incentivo para que esse sonho se realizasse

Ao meu orientador Prof. Dr. Regildo Marcio Gonçalves da Silva, amigo e um “anjo” que Deus me concedeu o privilégio de conhecer, meu grande incentivador a nunca desistir e sempre insistir e persistir, fazendo com que minha vida profissional se tornasse agradável e cheia de oportunidades.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Pedro de Oliva Neto, que me abriu as portas de seu laboratório para realização dos meus experimentos, Joyce Faria de Souza e Bruna Escaramboni que me auxiliaram me conduzindo nos experimentos que eu não dominava, pelas orientações e explicações compartilhadas.

Ao Prof. Dr. Miguel Angel Galvagno (*in memorian*) e a Profa. Dra. Alejandra T. Fazio da Universidad de Buenos Aires (Argentina), onde realizei um intercâmbio e fui muito bem recebida por todos, sempre prontos a me ajudar com meus experimentos.

Ao Prof. Levi Pompermayer Machado – Aquário de Idéias, e ao professor Guilherme Wolff ambos são da Unesp de Registro, por participarem da minha banca de qualificação e promover muitas idéias empreendedoras á minha pesquisa.

Ao Prof. Dário Abel Palmieri, por ter me apoiado a ingressar no Doutorado Acadêmico de Inovação, foi fundamental para o meu progresso acadêmico e para o alcance dos meus objetivos.

Para que eu não corra o risco de esquecer ninguém, agradeço a toda equipe do Fitolab em especial à Ilca Fabiane Nogueira Amâncio e ao Filipe de Oliveira Granero, que foram meus companheiros, não somente de pesquisa, mas principalmente nas dificuldades, e que foram imensas, pois a pandemia dificultou muitas coisas.

Agradeço em especial a Empresa Moinho Nacional sob a direção do Sr. Dorival Finotti (*in memorian*), que infelizmente hoje não está entre nós, me incentivou demais com suas idéias empreendedoras, e que acima de tudo me forneceu a matéria prima da sua empresa para que eu pudesse realizar minha pesquisa de doutorado.

A todos os funcionários e professores da Faculdade de Ciências e Letras de Assis e do Instituto de Química de Araraquara, por serem tão solícitos e gentis em todos os momentos em que necessitei de vossas colaborações. Em especial a professora Dra. Monica Rosa Bertão (*in memorian*), pela troca de idéias e aprendizado com esta pessoa maravilhosa, que está hoje nos braços de Deus.

Aos Funcionários Allan Chiea de Souza, Eliana Tiemi Ito e todos os laboratórios parceiros ao nosso redor na Unesp por toda contribuição no desenvolvimento da pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Número do processo 142384/2019-4.

Enfim, a todos que de alguma forma contribuíram e torceram por mim, meus sinceros agradecimentos,

Muito obrigada!

“Aquele que me guarda não dorme
não falha e nunca me abandona.”
(Salmo 121)

RESUMO

O farelo de trigo é um dos subprodutos mais abundantes da moagem de cereais. Representa um recurso alimentar renovável de grande importância. O processo de fermentação em estado sólido (FES) utilizando este resíduo agroindustrial demonstra uma abordagem ecológica e sustentável e oferece uma oportunidade para produzir várias enzimas de relevância industrial e consequentemente gerar diferentes produtos, incluindo xarope de glucose. A caracterização centesimal do farelo de trigo foi determinada pela quantificação de amido total, umidade, cinzas, lipídios, proteínas, fibras e carboidratos. A FES foi realizada utilizando o farelo de trigo como substrato e *Rhizopus oligosporus* como microrganismo. A amilase produzida foi aplicada na proporção de 15 U/g para obter o hidrolisado de farelo de trigo. Mais de 40% de hidrólise foi alcançada na 1ª hora de hidrólise apresentando 2,87 mg/mL de açúcar redutor glicose e o valor mais baixo foi observado na 7ª hora apresentando 13% de hidrólise e 0,53 mg/mL de açúcar redutor. O xarope produzido foi concentrado por evaporação. Considerando os relatos da literatura, se constata a superioridade da tecnologia desenvolvida no presente trabalho para a produção de um xarope de glucose de trigo para o desenvolvimento de um novo produto para aplicação na indústria alimentícia. Os resultados indicaram que a barra de flocos de arroz caramelizado com glucose de trigo produzida pode ser considerada um alimento funcional, considerando suas atividades antioxidantes e macronutrientes como proteínas, podendo ser inserida na alimentação diária, demonstrando que a técnica utilizada foi eficiente. Além disso, a fermentação em estado sólido utilizando farelo de trigo e *R. oligosporus* para produzir enzimas e xarope de glucose de trigo mantém os compostos antioxidantes do farelo de trigo, mostrando que o bioprocessamento produz um produto alimentar nutricional, ecológico e funcional.

Palavras-chave: Antioxidante, Subprodutos, Tecnologia de Bioprocessos, Glucose, Alimentos Funcionais.

ABSTRACT

Wheat bran is one of the most abundant by-products of cereal milling. It represents a renewable food resource of great importance. The solid-state fermentation (SSF) process using this agro-industrial waste demonstrates an ecological and sustainable approach and offers an opportunity to produce various enzymes of industrial relevance and consequently generate different products, including glucose syrup. The centesimal characterization of wheat bran was determined by quantifying total starch, moisture, ash, lipids, proteins, fibers, and carbohydrates. SSF was carried out using wheat bran as a substrate and *Rhizopus oligosporus* as a microorganism. The amylase produced was applied at a rate of 15 U/g to obtain wheat bran hydrolysate. More than 40% hydrolysis was achieved in the first hour of hydrolysis with 2.87 mg/mL of glucose reducing sugar and the lowest value was observed in the seventh hour with 13% hydrolysis and 0.53 mg/mL of reducing sugar. The syrup produced was concentrated by evaporation. Considering the reports in the literature, the superiority of the technology developed in this study to produce wheat glucose syrup for the development of a new product for application in the food industry can be seen. The results indicate that the caramelized rice flake bar with wheat glucose produced can be considered a functional food, considering its antioxidant activities and macronutrients such as proteins, and can be included in the daily diet, demonstrating that the technique used was efficient. In addition, solid-state fermentation using wheat bran and *R. oligosporus* to produce enzymes and wheat glucose syrup maintains the antioxidant compounds of wheat bran, showing that the bioprocess produces a nutritional, ecological and functional food product.

Keywords: Antioxidant, Agro-industrial residue, Bioprocess, Functional Food, Glucose syrup.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Desperdício de alimento no Brasil	18
Figura 2 - Processo fermentativo no cultivo de microrganismo.....	19
Figura 3 – Resíduos agroindustriais e geração de produtos.....	20
Figura 4 - Estrutura do grão de trigo.....	22
Figura 5 – Tipos de farinha de trigo.....	23
Figura 6 - Processos Químicos <i>versus</i> Processos Enzimáticos.....	25
Figura 7 - Fluxograma da utilização de resíduos na produção de produtos biotecnológicos.....	26
Figura 8 – Modelo de fermentação submersa e fermentação em estado sólido...	29
Figura 9 – Gelatinização do amido.....	30
Figura 10 – Imagem do fungo <i>R. oligosporus</i> por microscópico eletrônico.....	32
Figura 11 – Obtenção de Enzimas de Origem Microbiana.....	33
Figura 12 – Xarope de glicose de milho.....	35
Figura 13 – Xarope de glicose trigo.....	35
Figura 14 – Fatores que influenciam na opção de alimentos de conveniência....	37
Figura 15 - Barra de flocos de arroz e Barra de cereal com glicose de trigo.....	41
Figura 16 - Propriedades biológicas de componentes/compostos bioativos dos alimentos funcionais.....	42

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	22
3. OBJETIVOS.....	46
3.1 Objetivo geral.....	46
3.2 Objetivos específicos.....	46
4. REFERÊNCIAS.....	48
5. CAPÍTULO ÚNICO.....	59
1. INTRODUÇÃO.....	61
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	62
2.1 Obtenção do farelo de trigo.....	62
2.2 Caracterização centesimal do farelo de trigo.....	63
2.2.1 Determinação de amido total.....	63
2.2.2 Determinação da umidade.....	63
2.2.3 Determinação das cinzas.....	63
2.2.4 Determinação de lipídeo.....	63
2.2.5 Determinação de proteína.....	63
2.2.6 Determinação de fibra total.....	63
2.2.7 Conteúdo de carboidratos.....	63
2.3 Obtenção de enzimas amilolíticas.....	64
2.3.1 Preparação do inóculo do microrganismo.....	64
2.3.2 Fermentação em estado sólido.....	64
2.3.3 Atividade amilolítica.....	64
2.4 Obtenção xarope de glucose de trigo.....	64
2.4.1 Gelatinização do farelo de trigo utilizando caldo de fermentação enzimática	64
2.4.2 Hidrólise enzimática e produção do xarope de glucose de trigo.....	62
2.5 Obtenção da matéria prima para produção da barra de cereal de flocos de arroz.....	64
2.6 Determinação dos compostos bioativos do xarope de glucose trigo, xarope de glucose milho, barra de cereal de flocos de arroz e flocos de arroz.....	65
2.6.1 Determinação do conteúdo de polifenóis.....	65
2.6.2 Determinação do conteúdo de flavonoides.....	65
2.6.3 Determinação do conteúdo de proteínas solúveis.....	67

2.6.4 Determinação do conteúdo de açúcares redutores.....	67
2.7 Avaliação da atividade antioxidante do xarope de glucose trigo, xarope de glucose milho, barra de cereal de flocos de arroz e flocos de arroz.....	67
2.7.1 Atividade antioxidante DPPH.....	67
2.7.2 Potencial redutor do íon ferro FRAP.....	67
2.7.3 Teste de sequestro do radical ABTS.....	67
2.8 Rótulo de informações nutricionais.....	67
2.9 Análise Estatística.....	67
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
3.1 Caracterização centesimal do farelo de trigo.....	67
3.2 Obtenção das enzimas amilolíticas.....	67
3.2.1 Fermentação em estado sólido.....	67
3.2.2 Atividade amilolítica.....	68
3.3 Obtenção do xarope de glucose trigo.....	68
3.3.1 Gelatinização do farelo de trigo utilizando caldo enzimático fermentado.....	68
3.3.2 Hidrólise enzimática e produção do xarope de glucose trigo.....	69
3.4 Produção da barra de cereal de flocos de arroz.....	69
3.5 Determinação de compostos bioativos do xarope de glucose trigo, xarope de glucose milho, barra de cereal de flocos de arroz e flocos de arroz.....	70
3.6 Avaliação antioxidante do xarope de glucose trigo, xarope de glucose milho, barra de cereal de flocos de arroz e flocos de arroz.....	71
3.7 Rótulo de informação nutricional.....	72
CONCLUSÃO.....	73
REFERÊNCIAS.....	74

1 - INTRODUÇÃO

Mais de um terço da produção de alimentos é desperdiçado ao longo da cadeia de abastecimento alimentar, antes de chegar ao consumidor, com grandes impactos ambientais e econômicos associados, que estão crescendo exponencialmente com o rápido crescimento global experimentado pelas indústrias de produção de alimentos (FAO, 2019). Isso demanda uma necessidade urgente de desenvolver estratégias para atingir a redução do desperdício, minimização ou reaproveitamento de alimentos que resultam em toneladas de resíduos provenientes de processos industriais (SABATER *et al.*, 2022).

Os resíduos e subprodutos agroalimentares têm sido subutilizados, geralmente destinados à compostagem ou à produção de ração animal. No entanto, uma abordagem promissora para reduzir o desperdício de alimentos é transformá-los em novos produtos de maior valor agregado, com potenciais aplicações nas indústrias cosmética, farmacêutica e, sobretudo, na indústria alimentar. Essa valorização oferece oportunidades para gerar renda adicional, ao mesmo tempo em que promove práticas sustentáveis na produção de alimentos (CALDEIRA *et al.*, 2019).

Atualmente, há uma crescente demanda do consumidor por esses produtos, refletindo na conscientização sobre o poder da nutrição para melhorar a saúde de modo geral, fazendo com que os resíduos (agroalimentares), muitas vezes descartados, tornem-se fontes ricas de nutrientes capazes de fornecer benefícios fisiológicos além da nutrição e, portanto, possuam um potencial valioso para desenvolver novos alimentos funcionais (OSORIO, 2020). Um exemplo de resíduos vegetais é que é abundante em substratos prebióticos, incluindo polifenóis e uma variedade de carboidratos complexos não digeríveis definidos como fibra alimentar solúvel, cujo consumo contribui para melhorar a saúde humana e a utilização seletiva por populações microbianas intestinais (GIBSON *et al.*, 2017; FAUSTINO *et al.*, 2019).

No Brasil, formas diferentes de produção agroindustrial funcionam em paralelo com a produção agrícola. Em sua maioria, o beneficiamento está condicionado diretamente à geração de subprodutos, os quais são originalmente derivados do processamento de couro, fibras, alimentos, madeira e produção da indústria sucroalcooleira. Sua produção é geralmente sazonal e está ligada à cultura ou oferta da matéria-prima. A característica e quantidade desses subprodutos produzidos são versáteis com o tempo (SAKARIKA *et al.*, 2019). Assim, submeter os resíduos a processos capazes de gerar subprodutos para outras indústrias é de grande interesse econômico, científico e tecnológico (SOUZA *et al.*, 2021).

Estudos recentes têm abordado a obtenção de diversos ingredientes a partir de resíduos, incluindo cereais como trigo, milho e arroz, que estão no topo da lista de grãos com a maior demanda mundial, superando 70%, seguidos por sorgo, centeio e cevada com menor demanda (SHARMA e WARDHAN, 2017; GUERRIERI e CVALETTTO, 2018).

O trigo, pertencente à família Poaceae e ao gênero *Triticum* com 21 espécies, ocupa a segunda posição no ranking de produção cerealista. Basicamente, o trigo é colhido e transformado em farinha, sendo beneficiado dessa forma e, conseqüentemente, servindo como base para muitos alimentos, como pães, bolos, biscoitos, entre outros produtos feitos a partir da farinha branca, na qual o farelo e o germe são removidos do endosperma antes da moagem. Este último é separado em diferentes frações durante a moagem, sendo chamado de resíduo. De fato, a reutilização dos resíduos da farinha reduziria o desperdício que representa até 25% do peso do grão (CLÉMENT *et al.*, 2018; PAPAGEORGIOU e SKEND, 2018).

O farelo de trigo emerge como um dos resíduos proeminentes derivados do trigo, correspondendo a aproximadamente 30% da massa total do grão (YE *et al.*, 2021). Sua composição inclui 56% de carboidratos, abrangendo amido, 13-18% de proteínas e 3,5% de gordura. Notavelmente, o amido, o componente principal do trigo, não é prontamente fermentável, demandando uma prévia hidrólise de suas cadeias para a obtenção de glicose. Nesse processo de hidrólise, para além da água, torna-se necessária a presença de agentes químicos ou enzimáticos capazes de romper as ligações glicosídicas (CORNEJO *et al.*, 2019). Uma diversidade de enzimas encontra aplicação comercial, sendo que metade delas provém de fontes fúngicas. Muitas dessas enzimas, como amilases e proteases, são amplamente empregadas na indústria (MCKELVEY e MURPHY, 2018). Além disso, diversas outras enzimas com potencial aplicação industrial, como celulase, xilanase, lipase e fitase, podem ser produzidas por distintos gêneros de microorganismos, incluindo cepas fúngicas de *Aspergillus*, *Rhizopus* e *Penicilium* (SCHMIDT *et al.*, 2014; GUSMÃO *et al.*, 2014).

Neste estudo, utilizou-se o microrganismo *Rhizopus oligosporus*, um Zygomyceto considerado seguro, capaz de assimilar diversas fontes de carbono para seu crescimento. Há muito tempo, ele é empregado como cultura inicial para a produção de tempeh na Indonésia, destinado ao consumo humano (POLANOWSKA *et al.*, 2020). Além disso, a biomassa fúngica rica em proteínas de fungos filamentosos, como o *R. oligosporus*, é facilmente aplicável e possui amplo valor de mercado (NITAYAVARDHANA e KHANAL, 2010). A literatura tem explorado o potencial de produção de biomassa de *R. oligosporus* usando resíduos de agroprocessamento (WAINAINA *et al.*, 2020).

A substituição de produtos químicos por enzimas em diversos processos industriais tem contribuído para torná-los mais ecológicos, minimizando os danos ao ambiente. As enzimas, ao atuarem em seus substratos, decompõem-se em aminoácidos que são naturalmente reciclados no ambiente. Essa abordagem não apenas aumenta a eficiência da produção industrial, mas também promove processos mais ecológicos, reduzindo os gastos com energia, água e matérias-primas (RAO *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2017).

A produção de enzimas por meio da fermentação é viável, variando conforme o microrganismo utilizado (MÉSZARÓS *et al.*, 2019). Fungos, leveduras e algumas bactérias podem ser cultivados em escala industrial, utilizando substratos ideais para a fermentação microbiana devido à sua riqueza orgânica, baixo custo e ampla disponibilidade (GONÇALVES, FONSECA, 2018; LANGE *et al.*, 2019).

O farelo de trigo fornece um significativo aporte nutricional ao microrganismo, com destaque para o nitrogênio na forma de proteína (WESENDONCK *et al.*, 2013). Seus benefícios para o consumo humano são notáveis após um adequado processamento (AKTAŞ; AKIN, 2020).

A preocupação com a alimentação tem evoluído, com crescente interesse dos consumidores por alimentos que promovam bem-estar, saúde e redução do risco de doenças ao longo da vida. Esse interesse resultou em uma demanda significativa por alimentos funcionais, incentivando as indústrias alimentícias a inovarem em formulações e produtos. As barras de cereais têm se destacado por sua praticidade e saudabilidade, sendo elaboradas com uma base nutritiva sólida e complementadas por uma mistura de cereais integrais, fontes de vitaminas, sais minerais, fibras, proteínas, carboidratos complexos, compostos bioativos e xarope de glicose, o que as torna atrativas para consumidores associando-as a produtos saudáveis (AHMAD *et al.*, 2017; MELO *et al.*, 2020).

O xarope de glucose desempenha um papel crucial como produto amplamente comercializado e utilizado nas indústrias alimentícias, sendo empregado em diversas aplicações, como adoçantes, espessantes e neutralizantes de cristais de açúcar. Além disso, encontra uso significativo na indústria farmacêutica, sendo empregado na produção de xaropes, pastas e géis. Sua obtenção ocorre a partir de matérias-primas ricas em amido, tais como batata, mandioca e milho, através de um processo de hidrólise intensa do amido. A conversão do amido em xarope de glucose pode ocorrer por meio de hidrólise ácida, ácida enzimática ou por métodos enzimáticos (HARNI *et al.*, 2020).

O xarope resultante, dependendo do grau de hidrólise e do método empregado, apresenta diferentes proporções de dextrose, maltose e outros ingredientes utilizados em diversas indústrias. A glucose de milho é a mais comumente utilizada, desempenhando funções cruciais, como evitar a cristalização do açúcar, conferir brilho, aumentar a viscosidade e contribuir para a maciez em preparações alimentícias. Na indústria alimentícia, é comum a substituição de parte do açúcar pela glucose de milho, com uma substituição que pode atingir até 30%. Isso se deve ao fato de a glucose de milho possuir um poder edulcorante inferior ao açúcar comum, resultando em um aumento no tempo de conservação dos alimentos (CODEX ALIMENTARIUS, 2003; FREITAS, 2014).

Neste estudo, realizamos várias etapas, primeiramente caracterizamos o farelo de trigo em termos de sua composição centesimal. Em seguida, avaliamos a produção enzimática e conduzimos a fermentação em estado sólido para produzir xarope de glucose de trigo, utilizando o microrganismo

R. oligosporus. Como resultado, desenvolvemos uma barra de flocos de arroz caramelizada utilizando esse xarope, com o objetivo de tornar o processo mais compatível com a escala industrial.

Em conclusão, a valorização de resíduos e subprodutos representa uma questão de extrema importância para o setor agroalimentar. Há diversas oportunidades para o desenvolvimento sustentável de novos produtos em várias áreas industriais, destacando-se o baixo custo de insumos empregados na fermentação em estado sólido. Isso realça a importância do aproveitamento desses resíduos, agregando valores aos materiais que frequentemente são descartados.

Conclusion

The results obtained in the present study indicate that the application of solid-state fermentation using wheat bran (agro-industrial waste) produced enzymatic extract that were able to convert this waste into wheat glucose syrup (WGS), which were incorporated in rice flakes to produce rice flakes cereal bars (RFCB). Besides, this product proved to be a source of soluble proteins, dietary fibers, and functional compounds with antioxidant activity. In addition, RFCB produced with WGS maintained organoleptic characteristics compared to RFCB produced with industrialized product (corn glucose syrup) and it showed a decrease in caloric value and sodium content. Therefore, this study demonstrated that the preparation of the food product (RFCB produced with WGS) might be of great interest for food industry, adding nutritional and functional value to a well-established product.

References

1. Sisti L, Gioia C, Totaro G, Verstichel S, Cartabia M, Camere S, Celli A (2021). Valorization of wheat bran agro-industrial byproduct as an upgrading filler for mycelium-based composite materials. *Ind Crops Prod* 170:113742. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113742>
2. Saini P, Islam M, Das R, Shekhar S, Sinha ASK, Prasad K (2023). Wheat bran as potential source of dietary fiber: Prospects and challenges. *J Food Compos Anal* 116:105030. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.105030>
3. Cesaretti A, Montegiove N, Calzoni E, Leonardi L, Emiliani C (2020). Protein hydrolysates: From agricultural waste biomasses to high added-value products (minireview). *AgroLife Sci J* 9(1):79-87.
4. Nirmala Prasadi VP, Joye IJ (2020). Dietary fibre from whole grains and their benefits on metabolic health. *Nutrients* 12(10):3045. <https://doi.org/10.3390/nu12103045>
5. Wu J, Ren L, Zhao N, Wu T, Liu R, Sui W, Zhang M (2022). Solid-state fermentation by *Rhizopus oryzae* improves flavor of wheat bran for application in food. *J Cereal Sci* 107:103536. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2022.103536>
6. Dahiya D, Sharma H, Rai AK, Nigam PS (2022). Application of biological systems and processes employing microbes and algae to Reduce, Recycle, Reuse (3Rs) for the sustainability of circular bioeconomy. *AIMS Microbiol* 8(1):83-102. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2022008>
7. Shirahigue LD, Ceccato-Antonini SR (2020). Agro-industrial wastes as sources of bioactive compounds for food and fermentation industries. *Cienc Rural* 50(4):e20190857. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20190857>
8. Azevedo ARG, Amin M, Hadzima-Nyardo M, Agwa IS, Zeyad AM, Tayeh BA, Adesina A (2022). Possibilities for the application of agro-industrial wastes in cementitious materials: A brief review of the Brazilian perspective. *Clean Mater* 3:100040. <https://doi.org/10.1016/j.clema.2021.100040>
9. Naik B, Kumar V, Rizwanuddin S, Chauhan M, Gupta AK, Rustagi S, Kumar V, Gupta S (2023). Agro-industrial waste: a cost-effective and eco-friendly substrate to produce amylase. *Food Prod Process Nutr* 5:30. <https://doi.org/10.1186/s43014-023-00143-2>

10. Boodhoo KVK, Flickinger MC, Woodley JM, Emanuelsson EAC (2022). Bioprocess intensification: A route to efficient and sustainable biocatalytic transformations for the future. *Chem Eng Process: Process Intensif* 172:108793. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2022.108793>
11. Sakarika M, Stavropoulos K, Kopsahelis A, Koutra E, Zafiri C, Kornaros M (2020). Two-stage anaerobic digestion harnesses more energy from the co-digestion of end-of-life dairy products with agro-industrial waste compared to the single-stage process. *Biochem Eng J* 153:107404. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107404>
12. Hansen GH, Lübeck M, Frisvad JC, Lübeck PS, Andersen B (2015). Production of cellulolytic enzymes from ascomycetes: Comparison of solid state and submerged fermentation. *Process Biochem* 50(9):1327-1341. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2015.05.017>
13. Tanasković SJ, Šekuljica N, Jovanović J, Gazikalović I, Grbavčić S, Đorđević N, Sekulić MV, Hao J, Luković N, Knežević-Jugović Z (2021). Upgrading of valuable food component contents and anti-nutritional factors depletion by solid-state fermentation: A way to valorize wheat bran for nutrition. *J Cereal Sci* 99:103159. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103159>
14. Namboodiri MMT, Paul T, Mediseti RMN, Pakshirajan K, Narayanasamy S, Pugazhenth G (2022). Solid state fermentation of rice straw using *Penicillium citrinum* for chitosan production and application as nanobiosorbent. *Bioresour Technol Rep* 18:101005. <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101005>
15. Egbune EO, Avwioroko OJ, Anigboro AA, Aganbi E, Amata A-I, Tonukari NJ (2022). Characterization of a surfactant-stable α -amylase produced by solid-state fermentation of cassava (*Manihot esculenta* Crantz) tubers using *Rhizopus oligosporus*: Kinetics, thermal inactivation thermodynamics and potential application in laundry industries. *Biocatal Agric Biotechnol* 39:102290. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102290>
16. Chavan S, Yadav B, Atmakuri A, Tyagi RD, Wong JWC, Drogui P (2022). Bioconversion of organic wastes into value-added products: A review. *Bioresour Technol* 344(Part B):126398. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126398>
17. Yafetto L (2022). Application of solid-state fermentation by microbial biotechnology for bioprocessing of agro-industrial wastes from 1970 to 2020: A review and bibliometric analysis. *Heliyon* 8(3):e09173. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09173>
18. Asadollahzadeh M, Mohammadi M, Lennartsson PR (2023). 2 - Fungal biotechnology. In: Taherzadeh MJ, Ferreira JA, Pandey A (eds) *Current Developments in Biotechnology and Bioengineering: Filamentous Fungi Biorefinery*, 1st edn. Elsevier, Amsterdam, pp. 31-66. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91872-5.00006-5>
19. Yadav P, Anu, Kumar Tiwari S, Kumar V, Singh D, Kumar S, Manisha, Malik V, Singh B (2022). Sugarcane bagasse: an important lignocellulosic substrate for production of enzymes and biofuels. *Biomass Conv Bioref*. <https://doi.org/10.1007/s13399-022-02791-9>

20. Naeem M, Imran M, Latif S, Ashraf A, Hussain N, Boczkaj G, Smulek W, Jesionowski T, Bilal M (2023). Multifunctional catalyst-assisted sustainable reformation of lignocellulosic biomass into environmentally friendly biofuel and value-added chemicals. *Chemosphere* 330:138633. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.138633>
21. Salim AA, Grbavčić S, Šekuljica N, Stefanović A, Tanasković SJ, Luković N, Knežević-Jugović Z (2017). Production of enzymes by a newly isolated *Bacillus* sp. TMF-1 in solid state fermentation on agricultural by-products: The evaluation of substrate pretreatment methods. *Bioresour Technol* 228:193-200. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.081>
22. Paulino BN, Molina G, Pastore GM, Bicas JL (2021). Current perspectives in the biotechnological production of sweetening syrups and polyols. *Curr Opin Food Sci* 41:36-43. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.02.004>
23. Barros RRO, Becarelli P, Oliveira RA, Tognotti L, Bon EPS (2019). *Triticum spelta* straw hydrothermal pretreatment for the production of glucose syrups via enzymatic hydrolysis. *Biochem Eng J* 151:107340. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107340>
24. Rigo D, Gayeski L, Tres GA, Camera FD, Zeni J, Valduga E, Cansian RL, Backes GT (2021). Produção microbiológica de enzimas: uma revisão [Microbiological production of enzymes: a review]. *Braz J Dev* 7(1):9232-9254. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n1-624>
25. Scholliers P (2015). Convenience foods. What, why, and when. *Appetite* 94:2-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.appet.2015.02.017>
26. Imtiyaz H, Soni P, Yukongdi V (2022). Understanding consumer's purchase intention and consumption of convenience food in an emerging economy: Role of marketing and commercial determinants. *J Agric Food Res* 10:100399. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100399>
27. Aleksejeva S, Sikсна I, Rinkule S (2017). Composition of cereal bars. *J Health Sci* 5:139-145. <https://doi.org/10.17265/2328-7136/2017.03.004>
28. Bhakha T, Ramasawmy B, Toorabally Z, Neetoo H (2019). Development, characterization and shelf-life testing of a novel pulse-based snack bar. *AIMS Agric Food* 4(3):756-777. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2019.3.756>
29. Deepa C, Singh V (2011). Nutrient changes and functional properties of rice flakes prepared in a small-scale industry. *Oryza* 48(1):56-63.
30. Kumar S, Prasad K (2017). Optimization of flaked rice dry roasting in common salt and studies on associated changes in chemical, nutritional, optical, physical, rheological and textural attributes. *Asian J Chem* 29(6):1380-1392. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2017.20563>
31. Dahare R, Sahu B, Patel S (2019). Effect on physical, chemical and functional characteristics during transformation of paddy to flaked rice: (POHA). *Int J Chem Stud* 7(3):73-80.

32. Harni M, Putri SK, Gusmalini, Handayani TD (2021). Characteristics of glucose syrup from various sources of starch. IOP Conf Ser: Earth Environ Sci 757:012064. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/757/1/012064>
33. Souza MF, Rodrigues MA, Freitas SP, Bon EPS (2020). Effect of milling and enzymatic hydrolysis in the production of glucose from starch-rich *Chlorella sorokiniana* biomass. Algal Res 50:101961. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101961>
34. Onipe OO, Jideani AIO, Beswa D (2015). Composition and functionality of wheat bran and its application in some cereal food products. Int J Food Sci Technol 50(12):2509-2518. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12935>
35. Astudillo A, Rubilar O, Briceño G, Diez MC, Schalchli H (2023). Advances in agro-industrial waste as a substrate for obtaining eco-friendly microbial products. Sustainability 15(4):3467. <https://doi.org/10.3390/su15043467>
36. Pihlajaniemi V, Mattila O, Koitto T, Nikinmaa M, Heiniö R-L, Sorsamäki L, Siika-aho M, Nordlund E (2020). Production of syrup rich in arabinoxylan oligomers and antioxidants from wheat bran by alkaline pretreatment and enzymatic hydrolysis, and applicability in baking. J Cereal Sci 95:103043. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103043>
37. Lopes FC, Ligabue-Braun R (2021). Agro-industrial residues: Eco-friendly and inexpensive substrates for microbial pigments production. Front Sustain Food Syst 5:589414. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.589414>
38. Noguerol AT, Pagán MJ, García-Segovia P, Varela P (2021). Green or clean? Perception of clean label plant-based products by omnivorous, vegan, vegetarian and flexitarian consumers. Food Res Int 149:110652. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110652>
39. Freitas A, Escaramboni B, Carvalho A, Lima V, Oliva-Neto P (2014). Production and application of amylases of *Rhizopus oryzae* and *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* from industrial waste in acquisition of glucose. Chem Pap 68(4):442-450. <https://doi.org/10.2478/s11696-013-0466-x>
40. Lutz IA (1985). Métodos físico-químicos para análise de alimentos. 3rd edn. Instituto Adolfo Luz, São Paulo, São Paulo, Brazil.
41. AOAC (2000). Official methods of analysis. 17th edn. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, Maryland, United States of America.
42. Junqueira JRJ, Lima Junior FA, Fernandes GS, Paes MCD, Pereira J (2017). Proximate composition and technological characteristics of dry pasta incorporated with micronized corn pericarp. Rev Caatinga 30(2):496-502. <http://dx.doi.org/10.1590/1983-21252017v30n225rc>
43. Soccol CR, Iloki I, Marin B, Raimbault M (1994). Comparative production of alpha-amylase, glucoamylase and protein enrichment of raw and cooked cassava by *Rhizopus* strains in submerged and solid state fermentations. J Food Sci Technol 31(4):320-323.

44. Escaramboni B, Núñez EGF, Carvalho AFA, Oliva Neto P (2018). Ethanol biosynthesis by fast hydrolysis of cassava bagasse using fungal amylases produced in optimized conditions. *Ind Crops Prod* 112:368-377. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.12.004>
45. Miller GL (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal Chem* 31(3):426-428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
46. Gómez-Luría D, Vernon-Carter EJ, Alvarez-Ramirez J, Cruz-Sosa F (2018). Insights of the ability of gelatinized fractions from non-chemical modified corn, rice, wheat, and waxy corn starches to stabilize O/W emulsions. *Food Hydrocoll* 89:726-734. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.11.045>
47. Singleton VL, Rossi JA (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic* 16:144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
48. Silva RMG, Alves CP, Barbosa FC, Santos HH, Adão KM, Granero FO, Figueiredo CCM, Figueiredo CR, Nicolau-Junior N, Silva LP (2024). Antioxidant, antitumoral, antimetastatic effect and inhibition of collagenase enzyme activity of *Eleutherine bulbosa* (Dayak onion) extract: *in vitro*, *in vivo* and *in silico* approaches. *J Ethnopharmacol* 318(Part B):117005. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117005>
49. Christ B, Müller KH (1960). Zur serienmäßigen Bestimmung des Gehaltes an Flavonol-Derivaten in Drogen [Determination of the amount of flavonol derivatives in drugs]. *Arch Pharm* 293(12):1033-1042. <https://doi.org/10.1002/ardp.19602931202>
50. Bradford MM (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72(1-2):248-254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
51. Rufino MSM, Alves RE, Fernandes FAN, Brito ES (2011). Free radical scavenging behavior of ten exotic tropical fruits extracts. *Food Res Int* 44(7):2072-2075. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.002>
52. Guimarães AG, Oliveira GF, Melo MS, Cavalcanti SCH, Antonioli AR, Bonjardim LR, Silva FA, Santos JPA, Rocha RF, Moreira JCF, Araújo AAS, Gelain DP, Quintans-Júnior LJ (2010). Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 107(6):949-957. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2010.00609.x>
53. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, RiceEvans CA (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 26(9-10):1231-1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
54. NEPA (2011). Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO. 4th edn. University of Campinas (UNICAMP), p. 161. Center for Food Studies and Research, Campinas, São Paulo, Brazil.

55. ANVISA (2021). Guia para avaliação de alegação de propriedade funcional e de saúde para substâncias bioativas presentes em alimentos e suplementos alimentares – Guia n° 55/2021. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) [Brazilian Health Regulatory Agency], Brasília, D.F., Brazil. <https://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/466281>. Accessed 15 Sept 2023.
56. Shang X-L, Liu C-Y, Dong H-Y, Peng H-H, Zhu Z-Y (2021). Extraction, purification, structural characterization, and antioxidant activity of polysaccharides from Wheat Bran. *J Mol Struct* 1233:130096. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130096>
57. Babu S, Rathore SS, Singh R, Kumar S, Singh VK, Yadav SK, Yadav V, Raj R, Yadav D, Shekhawat K, Wani OA (2022). Exploring agricultural waste biomass for energy, food and feed production and pollution mitigation: A review. *Bioresour Technol* 360:127566. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127566>
58. Kong F, Wang L, Gao H, Chen H (2020). Process of steam explosion assisted superfine grinding on particle size, chemical composition, and physico-chemical properties of wheat bran powder. *Powder Technol* 371:154-160. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2020.05.067>
59. Ye G, Wu Y, Wang L, Tan B, Shen W, Li X, Liu Y, Tian X, Zhang D (2021). Comparison of six modification methods on the chemical composition, functional properties, and antioxidant capacity of wheat bran. *LWT - Food Sci Technol* 149:111996. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111996>
60. Yadav MP, Kaur A, Singh B, Simon S, Kaur N, Powell M, Sarker M (2021). Extraction and characterization of lipids and phenolic compounds from the brans of different wheat varieties. *Food Hydrocoll* 117:106734. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106734>
61. Babu CR, Ketanapalli H, Beebi SK, Kolluru VC (2018). Wheat bran-composition and nutritional quality: A review. *Adv Biotechnol Microbiol* 9(1):555754. <http://dx.doi.org/10.19080/AIBM.2018.09.555754>
62. Papageorgiou M, Skendi A (2018). 1 - Introduction to cereal processing and by-products. In: Galanakis CM (ed) *Sustainable recovery and reutilization of cereal processing by-products*. 1st edn. Elsevier, Amsterdam, pp. 1-25. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102162-0.00001-0>
63. Kaur A, Yadav MP, Singh B, Bhinder S, Simon S, Singh N (2019). Isolation and characterization of arabinoxylans from wheat bran and study of their contribution to wheat flour dough rheology. *Carbohydr Polym* 221:166-173. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.06.002>
64. Javed MM, Zahoor S, Shafaat S, Mehmooda I, Gul A, Rasheed H, Bukhari AI, Aftab MN, ul-Haq I (2012). Wheat bran as a brown gold: nutritious value and its biotechnological applications. *Afr J Microbiol Res* 6(4):724-733. <http://dx.doi.org/10.5897/AJMRX11.035>
65. Lima EA, Mandelli F, Kolling D, Souza JM, Oliveira Filho CA, Silva MR, Sampaio ILM, Junqueira TL, Chagas MF, Teodoro JC, Morais ER, Murakami MT (2022). Development of an economically competitive *Trichoderma*-based

platform for enzyme production: Bioprocess optimization, pilot plant scale-up, techno-economic analysis and life cycle assessment. *Bioresour Technol* 364:128019. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128019>

66. Sousa D, Salgado JM, Cambra-López M, Dias A, Belo I (2023). Bioprocessing of oilseed cakes by fungi consortia: Impact of enzymes produced on antioxidants release. *J Biotechnol* 364:5-12. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2023.01.008>

67. Singhanian RR, Patel AK, Tseng Y-S, Kumar V, Chen C-W, Haldar D, Saini JK, Dong C-D (2022). Developments in bioprocess for bacterial cellulose production. *Bioresour Technol* 344(Part B):126343. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.126343>

68. Andrade SCA, Baretto TA, Arcanjo NMO, Madruga MS, Meireles B, Cordeiro AMT, Lima MAB, Souza EL, Magnani M (2017). Control of Rhizopus soft rot and quality responses in plums (*Prunus domestica* L.) coated with gum arabic, oregano and rosemary essential oils. *J Food Process Preserv* 2017:e13251. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13251>

69. Prado FG, Miyaoka MF, Pereira GVM, Pagnoncelli MGB, Prado MRM, Bonatto SJR, Spier MR, Soccol CR (2021). Fungal-mediated biotransformation of soybean supplemented with different cereal grains into a functional compound with antioxidant, anti-inflammatory and antitumoral activities. *Biointerface Res Appl Chem* 11(1):8018-8033. <https://doi.org/10.33263/BRIAC111.80188033>

70. Bachi AC, Ito S, Escaramboni B, Oliva Neto P, Herculano RD, Miranda MCR, Passalia FJ, Rocha JC, Núñez EGF (2016). Artificial intelligence approach based on near-infrared spectral data for monitoring of solid-state fermentation. *Process Biochem* 51(10):1338-1347. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2016.07.017>

71. Yang Z, Huang T, Guo A, Chen W, Bai W, Wei L, Tian L (2023). Insights into the fermentation patterns of wheat bran cell wall polysaccharides using an *in-vitro* batch fermentation model. *Carbohydr Poly* 317:121100. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121100>

72. Núñez EGF, Barchi AC, Ito S, Escaramboni B, Herculano RD, Mayer CRM, Oliva Neto P (2016). Artificial intelligence approach for high level production of amylase using *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* and different agro-industrial wastes. *J Chem Technol Biotechnol* 92(3):684-692. <https://doi.org/10.1002/jctb.5054>

73. Melnichuk N, Braia MJ, Anselmi PA, Meini M-R, Romanini D (2020). Valorization of two agro-industrial wastes to produce alpha-amylase enzyme from *Aspergillus oryzae* by solid-state fermentation. *Waste Manag* 106:155-161. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.03.025>

74. Escaramboni B, Oliva Neto P (2014). Processo para obtenção de xarope de glicose via hidrólise por extrato amilolítico. Brazilian Patent, N° BR 102014031591-8 A2, Ministério da Indústria, Comércio Exterior e Serviços, Instituto Nacional da Propriedade Intelectual (INPI), Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil. <http://hdl.handle.net/11449/144565>. Accessed 08 Sept 2023.

75. Vollmuth TA (2018). Caramel color safety - An update. *Food Chem Toxicol* 111:578-596. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.12.004>
76. Kocadağlı T, Gökmen V (2019). Caramelization in foods: A food quality and safety perspective. In: Melton L, Shahidi F, Varelis P (eds.) *Encyclopedia of food chemistry*. Elsevier, Amsterdam, pp. 18-29. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21630-2>
77. Aydın N, Kian-Pour N, Toker OS (2021). Caramelized white chocolate: effects of production process on quality parameters. *J Food Meas Charact* 15:3182-3194. <https://doi.org/10.1007/s11694-021-00890-1>
78. Srebernich SM, Gonçalves GMS, Ormenese RCSC, Ruffi CRG (2016). Physico-chemical, sensory and nutritional characteristics of cereal bars with addition of acacia gum, inulin and sorbitol. *Food Sci Technol* 36(3):555-562. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.05416>
79. Klerks M, Román S, Verkerk R, Sanchez-Siles L (2022). Are cereal bars significantly healthier and more natural than chocolate bars? A preliminary assessment in the German market. *J Funct Foods* 89:104940. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.104940>
80. Stanner SA, Spiro A (2020). Public health rationale for reducing sugar: Strategies and challenges. *Nutr Bull* 45(3):253-270. <http://dx.doi.org/10.1111/nbu.12460>
81. Huang Y, Chen Z, Chen B, Li J, Yuan X, Li J, Wang W, Dai T, Chen H, Wang Y, Wang R, Wang P, Guo J, Dong Q, Liu C, Wei Q, Cao D, Liu L (2023). Dietary sugar consumption and health: umbrella review. *BMJ* 381:e071609. <https://doi.org/10.1136/bmj-2022-071609>
82. Garcia MC, Lobato LP, Benassi MT, Junior MSS (2012). Application of roasted rice bran in cereal bars [Aplicação de farelo de arroz torrado em barras de cereais]. *Food Sci Technol* 32(4):718-724. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612012005000096>
83. Shanmugam H, Rengarajan C, Nataraj S, Sharma A (2022). Interactions of plant food bioactives-loaded nano delivery systems at the nano-bio interface and its pharmacokinetics: An overview. *Food Frontiers* 3(2):256-275. <https://doi.org/10.1002/fft2.130>
84. Patle PK, Shukla SS, Bharti A, Rana GK (2020). Evaluation of different varieties of paddy for production of flaked rice. *Int J Chem Stud* 8(2):2419-2425. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2ak.9112>
85. Janiak MA, Renzetti S, Noort M, Amarowicz R (2019). Antioxidant potential of wheat bran phenolics extracted with organic solvents. *Bulg Chem Commun* 51(Special Issue A):75-78.
86. López-Perea P, Guzmán-Ortiz FA, Román-Gutiérrez AD, Castro-Rosas J, Gómez-Aldapa CA, Rodríguez-Marín ML, Falfán-Cortés RN, González-Olivares LG, Torruco-Uco JG (2019). Bioactive compounds and antioxidant activity of

wheat bran and barley husk in the extracts with different polarity. *Int J Food Prop* 22(1):646-658. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1600543>

87. Mao M, Wang P, Shi K, Lu Z, Bie X, Zhao H, Zhang C, Lv F (2020). Effect of solid-state fermentation by *Enterococcus faecalis* M2 on antioxidant and nutritional properties of wheat bran. *J Cereal Sci* 94:102997. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102997>

88. Jimenez-Pulido IJ, Daniel R, Perez J, Martínez-Villaluenga C, De Luis D, Diana ABM (2022). Impact of protein content on the antioxidants, anti-inflammatory properties and glycemic index of wheat and wheat bran. *Foods* 11(14):2049. <https://doi.org/10.3390/foods11142049>

89. Wayenbergh EV, Langenaeken NA, Struyf N, Goos P, Foubert I, Courtin CM (2023). Stabilisation of vitamin A by wheat bran is affected by wheat bran antioxidants, bound lipids and endogenous lipase activity. *Food Res Int* 169:112911. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112911>

90. Bagchi TB, Chattopadhyay K, Sivashankari M, Roy S, Kumar A, Biswas T, Srikumar P (2021). Effect of different processing technologies on phenolic acids, flavonoids and other antioxidants content in pigmented rice. *J Cereal Sci* 100:103263. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103263>

91. Amrinola W, Sitanggang AB, Kusnandar F, Budijanto S (2022). Characterization of pigmented and non-pigmented flakes glutinous rice (*ampiang*) on chemical compositions, free fatty acids compositions, amino acids compositions, dietary fiber content, and antioxidant properties. *Food Sci Technol* 42:e86621. <https://doi.org/10.1590/fst.86621>

92. Ryland D, Vaisey-Genser M, Arntfield SD, Malcolmson LJ (2010). Development of a nutritious acceptable snack bar using micronized flaked lentils. *Food Res Int* 43(2):642-649. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.032>

93. Machín L, Cabrera M, Curutchet MR, Martínez J, Giménez A, Ares G (2017). Consumer perception of the healthfulness of ultra-processed products featuring different front-of-pack nutrition labeling schemes. *J Nutr Educ Behav* 49(4):330-338.E1. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneb.2016.12.003>

94. Ballco P, Garcia A (2022). Tackling nutritional and health claims to disentangle their effects on consumer food choices and behaviour: A systematic review. *Food Qual Prefer* 101:104634. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2022.104634>