

**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:



Documento assinado digitalmente
REGILDO MÁRCIO GONÇALVES DA SILVA
Data: 15/03/2024 10:43:39 -0500
Certificação em: <https://validar.ig.gov.br>

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 Silvaa, 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 CAVALETTO, 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.

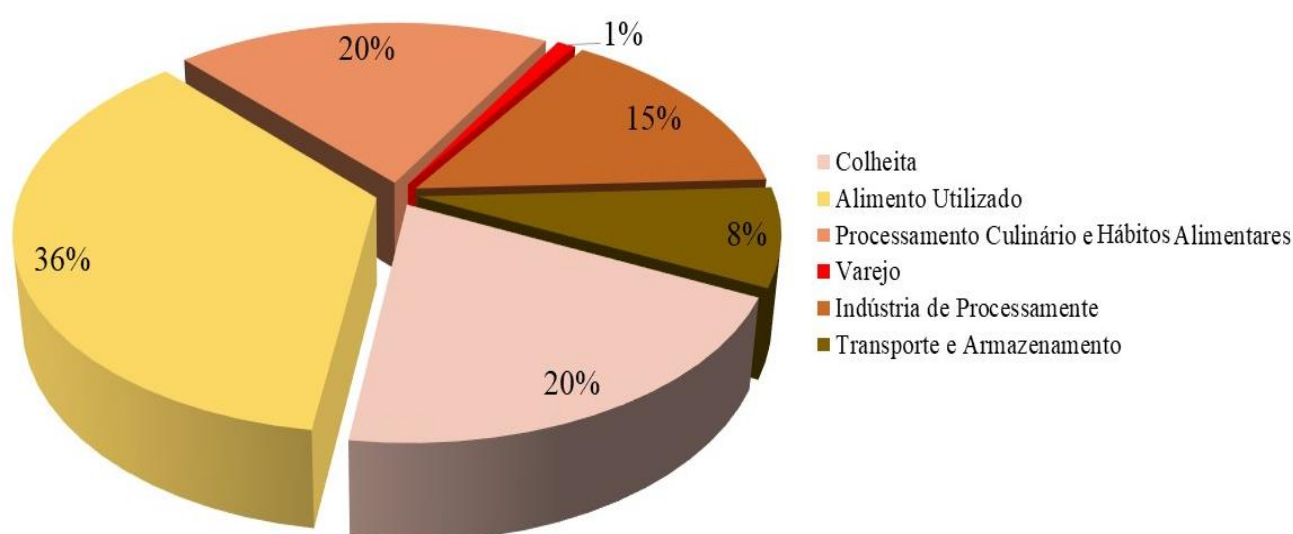
Em conclusão, a valorização de resíduos e subprodutos representa uma questão de extrema importância para o setor agroalimentar. Há diversas oportunidades para o desenvolvimento sustentável de novos produtos em várias áreas industriais, destacando-se o baixo custo de insumos empregados na fermentação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

2 - REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Resíduos agroindustriais

O desperdício de alimentos ao longo da cadeia de abastecimento é um desafio significativo, resultando em impactos ambientais e econômicos consideráveis. Mais de um terço da produção alimentar é perdida antes de chegar aos consumidores, e esse problema está se agravando com o rápido crescimento das indústrias alimentares em escala global (FAO, 2019). Diante desse cenário, é imperativo desenvolver estratégias urgentes para reduzir o desperdício, minimizar a perda e promover o reaproveitamento dos alimentos, que são responsáveis pela geração de toneladas de resíduos industriais (SEBATER et al., 2022).

Figura 1 - Desperdício de alimento no Brasil

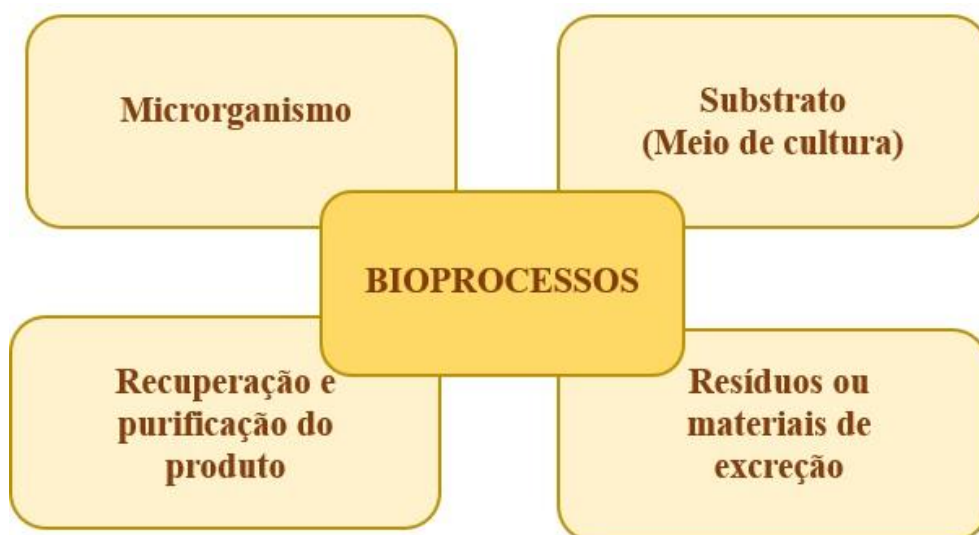


Fonte: elaborado pelo Autor (2023).

A maioria dos resíduos e subprodutos agroalimentares tem recebido pouca aplicação, sendo principalmente utilizados para compostagem ou ração animal. Uma alternativa atraente para alcançar a redução do desperdício é a valorização dos mesmos em novos produtos de valor agregado com aplicações potenciais na indústria cosmética, farmacêutica e principalmente na indústria de alimentos, que podem oferecer oportunidades de geração de renda adicional, ao mesmo tempo em que contribuem para esquemas sustentáveis de produção de alimentos (CALDEIRA *et al.*, 2019). Uma maneira de transformar ou minimizar os efeitos causados pelo descarte incorreto de resíduos, seja eles, urbanos, industriais ou agro, é a tecnologia de bioprocessos, que é um campo vital na indústria biotecnológica e têm desempenhado um papel fundamental na produção de produtos biológicos, como proteínas terapêuticas, enzimas industriais e biocombustíveis. Eles envolvem a utilização de microorganismos, células ou sistemas enzimáticos para realizar reações bioquímicas específicas que resultam na produção de produtos desejados. O processo biotecnológico emprega microorganismos, células ou enzimas para produzir uma variedade de produtos que são utilizados em diferentes setores

da indústria. Isso pode incluir a geração de biomassa microbiana, a produção de metabólitos específicos ou a modificação de substâncias de interesse (MALAJOVICH, 2016).

Figura 2 - Processo fermentativo no cultivo de microrganismo



Fonte: elaborado pelo Autor (2023).

Atualmente, há uma crescente demanda do consumidor por produtos alimentícios que promovam a saúde de maneira geral, refletindo uma conscientização crescente sobre o papel fundamental da nutrição nesse processo. Isso tem levado a uma reavaliação dos resíduos agroindustriais, muitas vezes descartados, que, quando devidamente selecionados, revelam-se fontes ricas em nutrientes capazes de proporcionar benefícios fisiológicos além da simples nutrição. Portanto, esses resíduos possuem um potencial valioso para o desenvolvimento de novos alimentos funcionais (OSORIO; FLÓREZ-LÓPEZ e GRANDE-TOVAR, 2020).

Um exemplo notável são os resíduos de vegetais, que são abundantes em substratos prebióticos, como polifenóis e uma variedade de carboidratos complexos não digeríveis, classificados como fibra alimentar solúvel. O consumo desses componentes tem sido associado a melhorias na saúde humana, estimulando seletivamente a população microbiana intestinal (GIBSON et al., 2017; FAUSTINO et al., 2019). Processos biotecnológicos desempenham um papel fundamental na produção de diversos produtos de grande relevância econômica para a indústria alimentícia, tais como ácidos orgânicos, enzimas, aromas, pigmentos, peptídeos bioativos, biopolímeros, entre outros (WOICIECHOWSKI *et al.*, 2013; AHMAD *et al.*, 2024). Pode-se também denominar como bioprocessos, cultivos celulares, processos fermentativos, dependendo do tipo de organismo e do processo envolvido.

A biotecnologia de forma geral abrange uma ampla variedade de técnicas e processos que utilizam organismos vivos, sistemas biológicos ou seus derivados para desenvolver ou criar produtos.

O termo "bioprocesso" refere-se especificamente aos processos industriais dentro da biotecnologia, nos quais organismos vivos são manipulados para produzir substâncias desejadas (YAFETTO, 2022; MONDAL *et al.*, 2023).

No Brasil, diferentes formas de produção agroindustrial operam em paralelo com a agricultura, gerando subprodutos diretamente ligados ao processamento de couro, fibras, alimentos, madeira e à produção sucroalcooleira. Esses subprodutos são frequentemente sazonais e dependem da cultura ou da disponibilidade da matéria-prima. Ao longo do tempo, a característica e a quantidade desses subprodutos podem variar (SAKARIKA *et al.*, 2019). Portanto, submeter esses resíduos a processos que permitam a geração de matéria prima para outras indústrias é de grande interesse econômico, científico e tecnológico (SOUZA *et al.*, 2021).

Figura 3 – Resíduos agroindustriais e geração de produtos



Fonte: elaborado pelo Autor (2023).

Estudos recentes têm explorado a obtenção de diversos ingredientes a partir de resíduos, com destaque para cereais como trigo, milho e arroz, que lideram a lista dos grãos mais demandados globalmente, representando mais de 70% da demanda total. Em seguida, encontram-se o sorgo, o centeio e a cevada, com uma demanda relativamente menor (SHARMA e WARDHAN, 2017; GUERRIERI e CVALETTTO, 2018).

Os subprodutos agroindustriais e os resíduos alimentares causam impactos sociais, econômicos e ambientais significativos a nível global. A geração de resíduos agroindustriais e alimentares aumenta com o aumento da população humana e ocorre como resultado de práticas

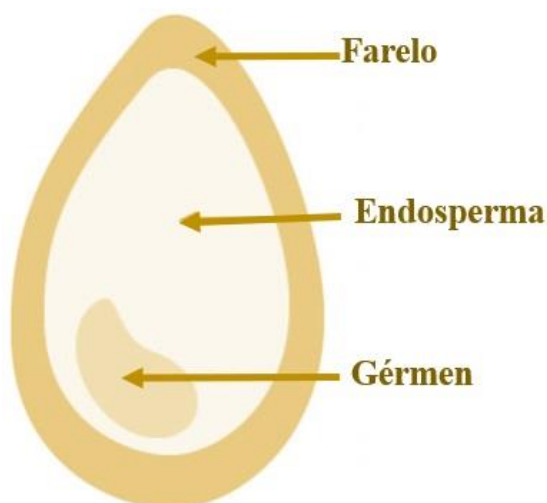
subótimas de retalhistas e fornecedores de alimentos e do comportamento dos consumidores (DOU *et al.*, 2016; DOU *et al.*, 2021). Os subprodutos agroindustriais são gerados durante o processamento de commodities agrícolas, como milho, soja e canola, e não se destinam ao uso e consumo humano direto. Esses subprodutos incluem talos de milho, farelo de arroz e trigo, casca de soja, bagaço de cana-de-açúcar, grãos de destilaria, farinhas de sementes oleaginosas e resíduos de madeira, mas também podem incluir perdas de frutas e vegetais por podas, quedas e descartes (CAPANOGLU *et al.*, 2022). A perda/desperdício de alimentos ocorre ao longo de toda a cadeia alimentar, desde terras agrícolas (por exemplo, partes não comestíveis de culturas) até a cadeia de abastecimento alimentar, que inclui processamento, transporte, armazenamento, distribuição, varejo e consumo (SHURSON *et al.*, 2023). A perda/desperdício total de alimentos gerados em todo o mundo é de cerca de 1,3 milhões de toneladas anualmente, correspondendo a um terço da produção global de alimentos, que inclui cereais, frutas e vegetais, raízes, tubérculos, culturas oleaginosas e produtos de origem animal (SANTOS *et al.*, 2020; CAPANOGLU *et al.*, 2022). A maioria destes subprodutos agroindustriais e resíduos alimentares contém enormes quantidades de energia e nutrientes que podem ser reaproveitados em matérias-primas para alimentação animal e reentrar na cadeia de abastecimento alimentar humano (SUN *et al.*, 2024).

Portanto, é crucial adotar abordagens que maximizem o aproveitamento dos diversos resíduos gerados, transformando um desafio em uma oportunidade para impulsionar a sustentabilidade e a inovação na indústria agroindustrial (CAPANOGLU *et al.*, 2022). Bioprocessos como um todo pode ser de grande valia para indústrias em geral, principalmente envolvendo resíduos alimentares. O bioprocessamento de subprodutos agroindustriais e resíduos alimentares também tem sido amplamente utilizado devido aos seus muitos benefícios (SUN *et al.*, 2024).

Em resumo, os bioprocessos desempenham um papel essencial na biotecnologia, permitindo a produção eficiente e sustentável de uma variedade de produtos úteis. A constante inovação e avanços nessa área têm o potencial de impactar positivamente setores que vão desde a saúde até a produção de alimentos e a preservação ambiental.

2.2 Farelo de Trigo

Dentre os bioprocessos que geram grandes quantidades de resíduos está o trigo, o qual foi utilizado neste estudo o farelo de trigo, que representa cerca de 30% da massa total de trigo (YE *et al.*, 2021) e compreende 56% de carboidratos, incluindo amido, 13-18% de proteínas e 3,5% de gordura.

Figura 4- Estrutura do grão de trigo

Fonte: elaborado pelo Autor (2023).

O trigo, pertencente à família Poaceae e ao gênero *Triticum*, abriga uma notável diversidade com cerca de 21 espécies. De acordo com a legislação brasileira, entende-se por trigo os grãos provenientes das espécies *Triticum aestivum* L e *Triticum durum* L. É uma das principais culturas cerealíferas, classificando-se como a segunda mais produtiva do mundo. Sua colheita é predominantemente destinada à produção de farinha, a qual desempenha um papel essencial na fabricação de uma ampla variedade de alimentos, incluindo pães, bolos, biscoitos e outros produtos. Para obter farinha branca, o trigo passa por um processo de beneficiamento no qual o farelo e o germe são removidos do endosperma antes da moagem. Durante esse processo de moagem, o endosperma é dividido em diversas frações, sendo uma delas denominada de "resíduo" (LIU *et al.*, 2024).

Figura 5 – Tipos de farinha de trigo

Fonte: elaborado pelo Autor (2023).

A estimativa global de produção de trigo para a safra 2019/2020 foi de aproximadamente 770 milhões de toneladas, conforme relatório da FAO em 2019. No cenário brasileiro, a expectativa de colheita é de cerca de 5 milhões de toneladas, o que demanda a importação de aproximadamente 7 milhões de toneladas para suprir a demanda interna, conforme dados da ABITRIGO em 2019.

Do ponto de vista estrutural, o amido é um homopolissacarídeo composto por cadeias de amilose e amilopectina. A amilose consiste em unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas α -1,4, formando uma cadeia linear. Por outro lado, a amilopectina é constituída por unidades de glicose ligadas em α -1,4 e α -1,6, resultando em uma estrutura ramificada. As proporções relativas dessas estruturas variam de acordo com as fontes botânicas, as variedades de uma mesma espécie e, até mesmo, dentro de uma mesma variedade, dependendo do grau de maturação da planta (ELIASSON, 2004; TESTER *et al.*, 2004).

O farelo de trigo, uma vez obtido, é reconhecido por sua riqueza em fibras, vitaminas e minerais, tornando-se um componente valioso tanto na alimentação animal quanto humana. Seu processo de obtenção é cuidadosamente projetado para extrair a farinha de trigo desejada, mantendo ao tempo a sua qualidade e propriedades nutritivas. Esse ciclo de produção destaca a importância não apenas da farinha, mas também dos subprodutos valiosos que derivam do processamento do trigo. Além da fibra alimentar, o amido do farelo é um dos componentes mais importantes do farelo de trigo, representando aproximadamente 15–20% do peso do farelo (COSTA, 2017).

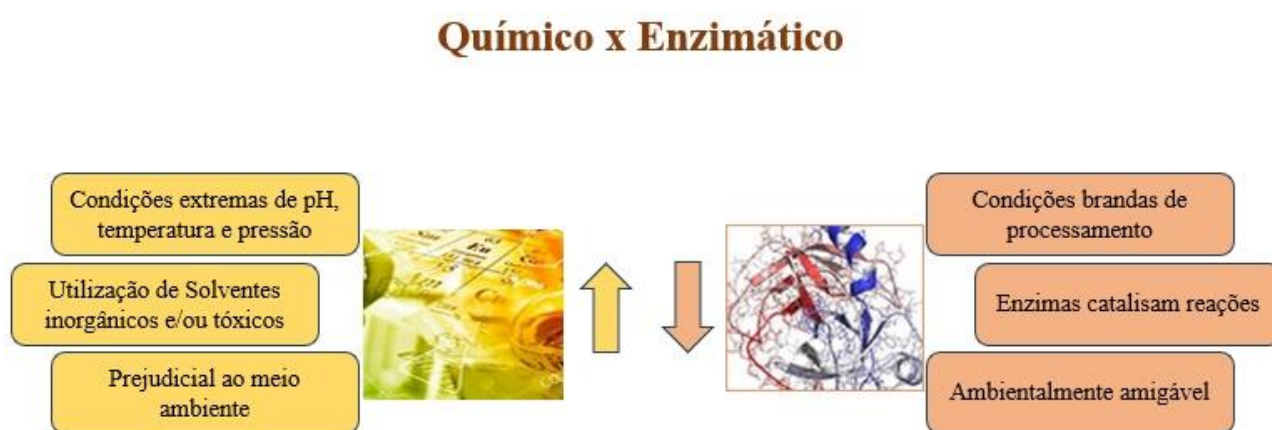
Durante o processo de moagem, o farelo, o germe e a camada de aleurona do tecido endospermico são removidos dos grãos de cereal e constituem os subprodutos da moagem seca. Essas frações de grãos são uma rica fonte de moléculas biofuncionais, fibras, minerais, vitaminas, lignanas, fitoestrógenos e compostos fenólicos (LOPES; LIGABUE-BRAUN, 2021). Dependendo do processo de moagem que pode ser a moagem a seco ou úmido, o valor nutricional final dos subprodutos varia bastante. Portanto, as frações obtidas durante a moagem a seco ou a úmido podem encontrar muitas aplicações em produtos alimentícios e não alimentícios, além do uso apenas como ração. A maltagem, a fabricação de cerveja e a destilação de cereais são processos que resultam em diversos subprodutos que estão se tornando matérias-primas muito atrativas para diversas áreas da indústria (BARBAR *et al.*, 2023).

Os subprodutos da moagem de trigo, de acordo com a AAFCO (1996), envolvem farelo de trigo, trigo red dog e farinha de trigo para ração, representando quase 25% a 30% do trigo total (HUANG *et al.*, 2014). Os subprodutos da moagem do trigo são utilizados como ração animal porque fornecem fonte de energia, aminoácidos e fósforo (ERICKSON *et al.*, 1985; HUANG *et al.*, 2014; NELSON, 1985; ROSENFELDER *et al.*, 2013). A composição química dos subprodutos do trigo varia devido a diferenças na variedade do trigo que está sendo processado, fatores ambientais e diferenças nas técnicas de processamento (SILVA ALENCAR *et al.*, 2020). Visto como uma fonte

fundamental de energia na alimentação humana, o amido se destaca como um polímero natural que é abundante, acessível, renovável e biodegradável. Suas aplicações estão consolidadas em diversos setores, incluindo a indústria alimentar, de papel, química, farmacêutica e têxtil, é uma fonte rica em amido e outros carboidratos complexos. Além disso, o amido que é o principal composto do trigo, não é diretamente fermentável, necessitando de hidrólise prévia de suas cadeias para a obtenção de glucose. Esses carboidratos têm a capacidade de passar por hidrólise, resultando na produção de açúcares fermentáveis. Para alcançar esse processo, é necessário realizar um tratamento hidrolítico térmico, utilizando ácido ou enzimas (WOICIECHOWSKI *et al.* 2002).

Por meio de hidrólise enzimática, é possível quebrar esses carboidratos complexos em açúcares mais simples, como a glicose. A enzima amilase, por exemplo, desempenha um papel essencial nesse processo, pois é capaz de quebrar as ligações do amido, transformando-o em xarope de trigo, composto principalmente por açúcares. O xarope de trigo obtido por hidrólise enzimática possui aplicação em diversas indústrias, como na produção de alimentos, bebidas, adoçantes e outros produtos, aproveitando de forma eficiente o farelo de trigo e agregando valor a esse subproduto. É um substrato que fornece um importante aporte nutricional ao microrganismo de interesse, fornecendo nitrogênio na forma de proteína em proporções superiores a outros substratos (WESENDONCK *et al.*, 2013). No entanto, seus benefícios para o consumo humano são de valores notáveis após processamento adequado (AKTAŞ; AKIN, 2020).

Figura 6 - Processos Químicos versus Processos Enzimáticos



Fonte: elaborado pelo Autor (2023).

É relevante destacar que a reutilização dos resíduos provenientes da moagem da farinha representa uma estratégia valiosa para a redução do desperdício associado à produção de trigo. Surpreendentemente, até 25% do peso total do grão pode ser desperdiçado durante o processo (CLÉMENT *et al.*, 2018; PAPAGEORGIOU e SKEND, 2018). Portanto, a pesquisa e o

desenvolvimento de métodos eficazes para a utilização dos resíduos da farinha têm o potencial não apenas de reduzir o desperdício, mas também de criar oportunidades na indústria alimentícia e na produção de ingredientes de valor agregado a partir desses subprodutos do trigo.

2. 3 Biotecnologia aplicada em resíduos agroindustriais

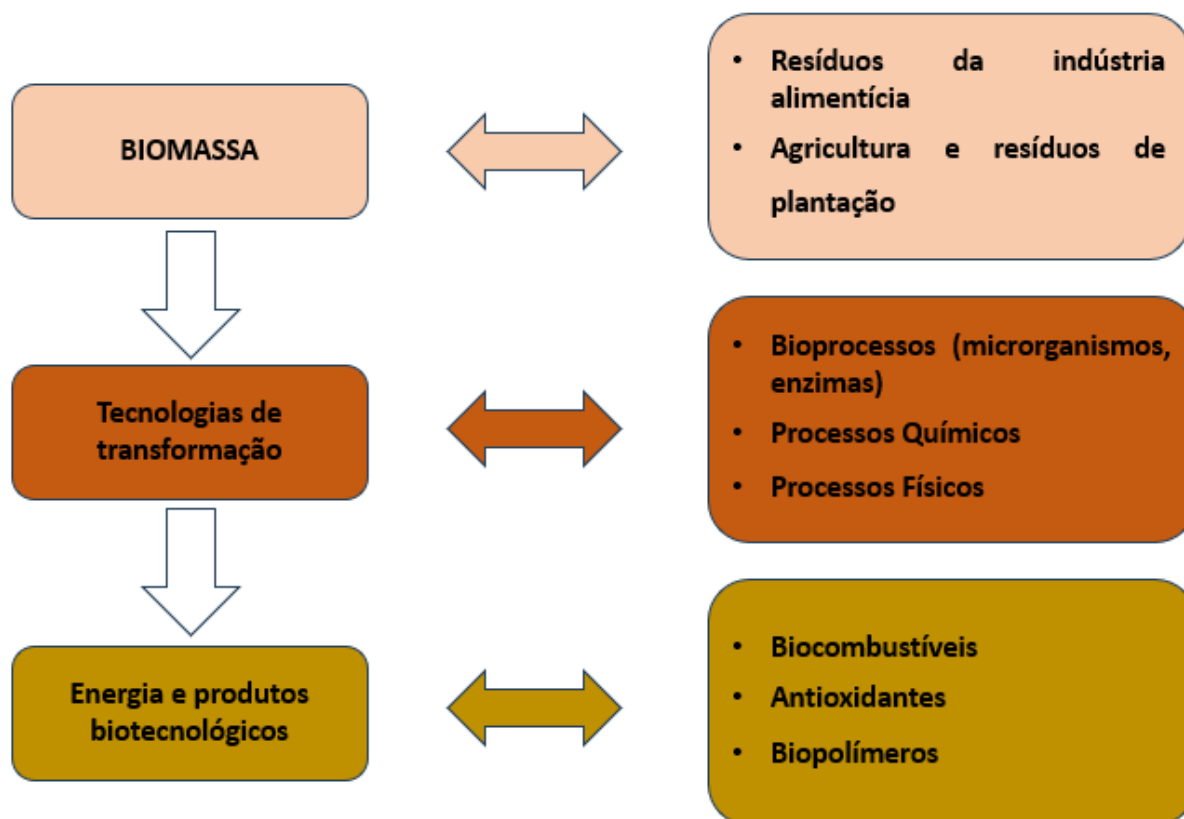
O Brasil, com sua vasta extensão territorial e clima favorável, destaca-se como um dos principais produtores mundiais de recursos renováveis. A produção de produtos agrícolas, florestais e resíduos provenientes dessas atividades oferece um grande potencial para a geração de energia, além de possibilitar a produção de materiais e insumos para diversas indústrias. O estudo menciona alguns resíduos agroindustriais significativos, como o bagaço de cana-de-açúcar, a palha de arroz, a palha de trigo, a casca de aveia e as aparas de madeira (ROCKSTRÖM *et al.*, 2016).

A utilização adequada desses resíduos é crucial não apenas para minimizar problemas ambientais, mas também para aproveitar o potencial energético desses materiais. Além disso, a transformação e a valorização desses resíduos podem resultar na produção de produtos com aplicações valiosas nas indústrias farmacêutica, cosmética e de alimentos (ENGELBERTH, 2020).

A utilização de subprodutos provenientes da gestão eficiente de resíduos pode oferecer uma vantagem econômica significativa, uma vez que esses materiais muitas vezes podem ser adquiridos a preços reduzidos (MONTESDEOCA-CALDERON *et al.*, 2024). Esses subprodutos, por sua vez, podem ser fontes ricas em compostos bioativos, que são substâncias importantes para a promoção da saúde. Esse enfoque na valorização de subprodutos é particularmente relevante em setores econômicos significativos (CHAMORRO *et al.*, 2022).

Em processos fermentativos, uma variedade de matérias-primas pode ser empregada, cada uma com sua composição química distinta. Estas incluem, por exemplo, bagaço de cana-de-açúcar, polpa de beterraba, resíduo de uva, soro de queijo, água de maceração de milho, casca de arroz, entre outras. A utilização desses resíduos em diversos processos fermentativos tem sido explorada para a produção de uma gama diversificada de produtos, tais como etanol, cogumelos, enzimas, ácidos orgânicos, aminoácidos e metabólitos secundários ativos. Essa abordagem demonstra uma significativa versatilidade e potencial para a valorização de subprodutos agrícolas e industriais, contribuindo para a sustentabilidade e a eficiência econômica dos processos industriais (SINGH, NIGAM, PANDEY, 2009).

Figura 7 - Fluxograma da utilização de resíduos na produção de produtos biotecnológicos.



Fonte: elaborado pelo Autor (2023).

Vários estudos atuais têm contemplado a obtenção de inúmeros ingredientes a partir de subprodutos, incluindo subprodutos de cereais (trigo e arroz) com obtenção principal de fibras, hemiceluloses, beta-glucanas e oligossacarídeos prébióticos, a partir de raízes e tubérculos (resíduos de cana, mandioca), com obtenção principal de polifenóis e ácidos orgânicos, a partir de culturas oleaginosas (soja, bagaço de azeitona) com obtenção de fitoesteróis, polifenóis e pectinas, a partir de frutos e vegetais (cascas e bagaços de vários frutos) com obtenção principal de pectinas, fibras, carotenoides e polifenóis, a partir de carnes (ossos, sangue, vísceras de bovinos, aves e suínos) com principal obtenção de proteínas, peptídeos ou aminoácidos, a partir de peixe e crustáceos (espinhas, peles, cascas) com principal obtenção de proteínas, peptídeos ou aminoácidos, quitina e quitosana, e finalmente a partir de subprodutos de leite principalmente o soro, com obtenção de várias proteínas e peptídeos ou lactose (ROCKSTRÖM *et al.*, 2016; SILVA ALENCAR *et al.*, 2020).

A atenção voltada para a bioconversão de resíduos agrícolas e da indústria alimentícia destaca o papel essencial da fermentação na utilização eficiente de resíduos sólidos para a síntese de uma variedade de compostos de alto valor agregado e de grande relevância industrial (OSORIO, 2020).

A crescente ênfase na bioconversão de resíduos agrícolas e da indústria alimentícia ressalta a importância crucial da fermentação na otimização do aproveitamento de resíduos sólidos. Esse processo não apenas contribui para a gestão ambiental sustentável, mas também se destaca como uma

ferramenta versátil na síntese de diversos compostos de alto valor agregado, apresentando potenciais benefícios econômicos e industriais significativos. Essa abordagem inovadora não só aborda questões ambientais, mas também abre caminhos promissores para a produção de substâncias valiosas em setores diversos (SAKARIKA *et al.*, 2019).

2.4 Fermentação em estado sólido

Entre os métodos de aproveitamento de resíduos para geração de novos produtos está a fermentação em estado sólido (FES). Para que a FES tenha sucesso no processamento de subprodutos agroindustriais e resíduos alimentares, vários fatores devem ser considerados e otimizados para alcançar produtos de boa qualidade nutricional (GUPTA *et al.*, 2003).

A FES destaca-se pela sua relevância na biotecnologia, sendo aplicável em diversas escalas, desde laboratórios até ambientes industriais. Amplamente empregada na síntese de biomoléculas por fungos, essa técnica visa não apenas aumentar a produtividade da fermentação, mas também elevar a concentração do produto. Trata-se de um processo de grande importância e ampla utilização nesse contexto (FREITAS *et al.*, 2014).

As fermentações têm uma longa história, remontando aos tempos antigos, como evidenciado pela produção de bebidas fermentadas, como cerveja e vinho. No Egito e México, embora as técnicas de fermentação tenham sido refinadas, os processos fermentativos ocorriam em substratos naturais de uvas e grãos, alguns dos quais eram adicionados de água ou submetidos a pré-tratamentos específicos. A fermentação não apenas desempenhou um papel crucial na produção de bebidas, mas também foi reconhecida e utilizada como método de conservação de alimentos. Um exemplo notável é a fermentação com fungos *Rhizopus*, que é conhecida há mais de 3000 anos na produção de molho de soja, composto por soja, trigo, farelo de trigo, água e sal (STARZYNSKA-JANISZEWSKA *et al.*, 2021).

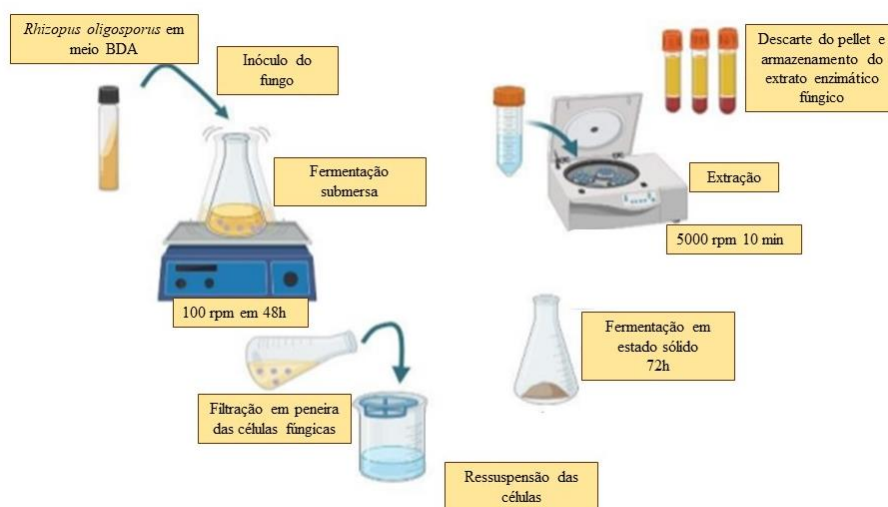
As fermentações conduzidas com soja, farelo de arroz e farelo de trigo têm o potencial de aumentar o teor de substâncias com atividade antioxidante, proporcionando efeitos benéficos para a saúde humana. Essas substâncias incluem a vitamina E (tocoferol, tocotrienol), vitamina C, antocianina, isoflavonas e polifenóis. Durante esse processo, várias proteínas são hidrolisadas, liberando aminoácidos essenciais como tirosina, metionina, histidina, triptofano e prolina (SAIGA *et al.*, 2003). A inclusão do farelo de trigo enriquece ainda mais o espectro de compostos bioativos, ampliando os potenciais benefícios à saúde associados a essas fermentações.

A FES é definida como o processo no qual os microrganismos crescem em substratos sólidos na ausência de água livre (PANDEY *et al.*, 2000; 2008). A matriz sólida deve apresentar alguns nutrientes necessários para o desenvolvimento dos microrganismos durante a fermentação. Os substratos sólidos são comumente encontrados na natureza, e este processo é considerado para o

crescimento de microrganismos, devido ao seu desenvolvimento em ambientes naturais (RODRÍGUEZ-LEÓN *et al*, 2008). A inclusão do farelo de trigo na matriz sólida pode enriquecer ainda mais os nutrientes disponíveis, ampliando as possibilidades para o desenvolvimento e crescimento dos microrganismos durante o processo fermentativo.

Atualmente, a fermentação submersa (FSm) e a fermentação em estado sólido (FES) representam as principais técnicas utilizadas para a produção de enzimas. A abordagem convencional da FSm envolve uma fase com alta presença de água, na qual os microrganismos e nutrientes ficam imersos. Esta abordagem é amplamente adotada pelas empresas de enzimas devido à sua facilidade de controle em parâmetros como escala de produção, pH, temperatura, aeração, oxigenação e umidade (PRÉVOT *et al.*, 2013). Em contrapartida, a tecnologia FES se caracteriza por uma predominância de fase não aquosa. Nesse processo, uma cultura microbiana se desenvolve na superfície e entre as partículas de uma matriz sólida, com pouca ou nenhuma presença de água livre. No entanto, é essencial que o substrato forneça um teor de umidade adequado para sustentar o crescimento e a atividade metabólica do microrganismo (THOMAS; LARROCHE; PANDEY, 2013).

Figura 8 – Modelo de fermentação submersa e fermentação em estado sólido



Fonte: elaborado pelo Autor (2023).

A FES tem recebido crescente atenção nos últimos 20 anos na pesquisa e na indústria, emergindo como uma alternativa intrigante e ainda pouco explorada para a produção de enzimas, oferecendo vantagens sobre o processo submerso convencional (BARRIOS-GONZÁLEZ, 2012; PRÉVOT *et al.*, 2013). Esta técnica é reconhecida por exigir menor investimento de capital, menor consumo de água e energia, proporcionar elevados rendimentos e eficiência na recuperação de produtos, sendo considerada o método mais apropriado para países em desenvolvimento (SOUZA; MAGALHÃES, 2010). Isso inclui a fisiologia específica apresentada pelos fungos nesse modo de

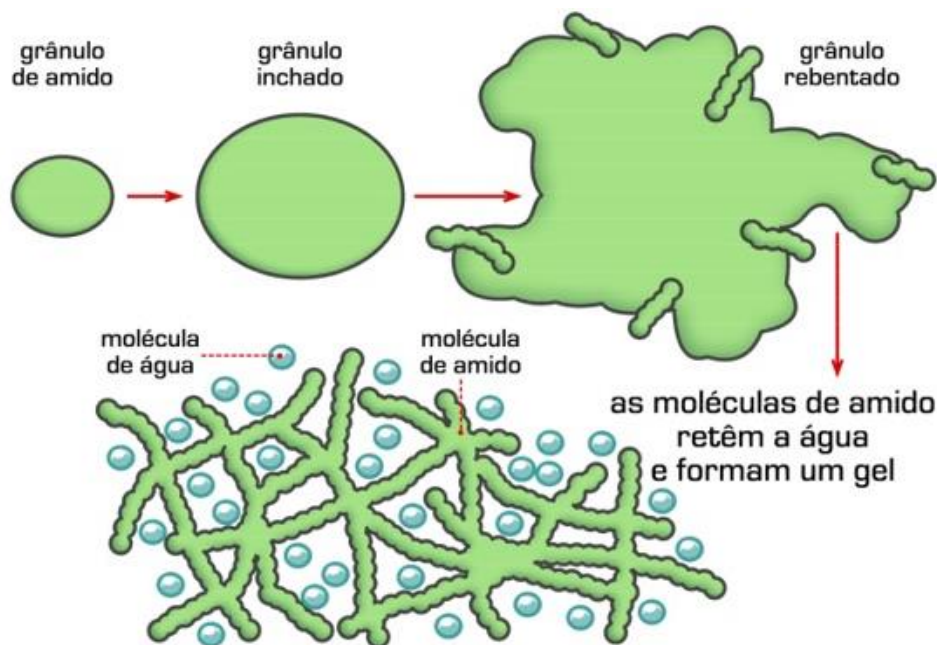
cultivo, juntamente com a menor demanda de energia, maior eficiência na produção de produtos e redução na geração de efluentes, minimizando o risco de contaminação (BARRIOS-GONZÁLEZ, 2012; THOMAS; LARROCHE; PANDEY, 2013).

A fermentação em estado sólido do amido de trigo é um processo fascinante no qual microrganismos, como fungos ou bactérias, são cultivados em um substrato sólido contendo amido proveniente do trigo. Esse método oferece uma abordagem única, pois os microrganismos crescem e se desenvolvem em uma matriz sólida, na ausência de água livre. O amido de trigo, rico em carboidratos complexos, serve como fonte nutricional para os microrganismos, que, por sua vez, realizam processos metabólicos complexos, como a hidrólise enzimática do amido em produtos fermentados. Esse tipo de fermentação em estado sólido é conhecido por resultar em produtos com características sensoriais distintas e propriedades nutricionais melhoradas. Além disso, a escolha do amido de trigo como substrato pode influenciar significativamente a composição e as propriedades do produto, tornando-o uma alternativa interessante e versátil na produção de alimentos fermentados (ESCARAMBONI *et al.*, 2018; FERNÁNDEZ NUÑEZ *et al.*, 2016; CORNEJO *et al.*, 2019).

Antecedendo a hidrólise enzimática, ocorre a gelatinização do farelo de trigo que é um processo crucial que prepara o substrato para a ação enzimática subsequente. A gelatinização refere-se à transformação física e química do amido quando submetido a calor e umidade. Nesse contexto, a aplicação de calor causa a ruptura das ligações entre as moléculas de amido, permitindo a absorção de água e resultando na formação de uma matriz gelatinizada (FREITAS *et al.*, 2014).

Ao gelatinizar o farelo de trigo, aumentamos a acessibilidade do amido às enzimas, tornando-o mais suscetível à hidrólise. Esse processo é fundamental para liberar os açúcares simples, como glicose e maltose, a partir do amido complexo presente no farelo. A gelatinização também influencia a textura, viscosidade e outras propriedades físicas do substrato, afetando diretamente as características do produto obtido após a hidrólise enzimática (DE BONDY *et al.*, 2020).

Portanto, a etapa de gelatinização desempenha um papel crucial na otimização do processo global de hidrólise enzimática, contribuindo para a eficiência da produção e a obtenção de produtos desejados em termos de sabor, textura e composição nutricional (CHEN *et al.*, 2015).

Figura 9 – Gelatinização do amido

Fonte: Ford *et al.* (2002).

Entre os tipos de hidrólise, a ácida, embora seja um método tradicional, apresenta desvantagens significativas, como a geração de resíduos ácidos perigosos e dificuldades na recuperação de açúcar. Em contrapartida, o método enzimático é mais eficiente e ocorre em condições ambientais, eliminando a produção de resíduos tóxicos. Esse enfoque detém um enorme potencial para aprimorar tanto a eficiência quanto os custos envolvidos (SUKUMARAN *et al.* 2009).

A otimização da hidrólise enzimática é mais bem alcançada por meio de coquetéis enzimáticos. Em proporções adequadas para diferentes substratos, esses coquetéis demonstram a capacidade de aprimorar a sacarificação da biomassa em diversas aplicações (BUSSAMRA, FREITAS; COSTA, 2015). Isso inclui a hidrólise de carboidratos presentes no farelo de trigo, especialmente considerando que esse substrato contém uma combinação de lignocelulose, pectina e betaglucana.

A hidrólise enzimática do amido se baseia na realização de duas etapas: a liquefação e a sacarificação. No processo de liquefação, os grânulos de amido são dispersos em solução aquosa, aquecidos (causando a gomificação) e hidrolisados parcial e irreversivelmente, com auxílio de uma amilase. A presença adequada de enzimas desempenha um papel crucial na hidrólise de derivados amiláceos, exercendo uma influência significativa no processo. Determinar a concentração ótima para essa etapa é essencial para assegurar uma hidrólise eficaz (ESCARAMBONI *et al.*, 2018).

Assim sendo, diversas enzimas são utilizadas comercialmente, das quais metade é de origem fúngica. Uma grande parte destas enzimas atualmente vem sendo aplicadas industrialmente, como é o caso das amilases e proteases principalmente (MCKELVEY; MURPHY, 2018).

Na esfera industrial, focando na produção de enzimas, o farelo de trigo tem sido valorizado de diversas maneiras, isso inclui a extração e utilização das enzimas presentes no farelo para aplicações industriais. Além disso, pode servir como uma fonte rica de biomassa para a produção de enzimas por meio de processos específicos. Essas enzimas extraídas do trigo são valiosas na indústria devido às suas propriedades catalíticas, sendo aplicadas em uma variedade de processos, como na produção de biocombustíveis e na indústria alimentícia para melhorar a eficiência dos processos de produção (MADHAVAN *et al.*, 2022).

Por outra vertente comercial se encontram também várias outras enzimas passíveis de aplicação industrial, incluindo além das já comentadas amilases e proteases, também as celulases, xilanase, lipase, e fitase, e elas podem ser produzidas por muitos gêneros diferentes de microorganismos, incluindo cepas fúngicas de *Aspergillus*, *Rhizopus* e *Penicilium* (SCHMIDT *et al.*, 2014; GUSMÃO *et al.*, 2014).

Neste estudo o microrganismo utilizado foi o *Rhizopus oligosporus*, é um Zygomyceto geralmente considerado seguro com a capacidade de assimilar diversas fontes de carbono para seu crescimento e tem sido utilizado há muito tempo como cultura inicial para a produção de *Tempeh* na Indonésia para consumo humano (POLANOWSKA *et al.*, 2020). Além disso, a biomassa fúngica rica em proteínas de fungos filamentosos como *R. oligosporus* pode ser prontamente aplicada e possuem um amplo valor de mercado (NITAYAVARDHANA e KHANAL, 2010). Vários relatos na literatura têm estudado o potencial de produção de biomassa de *R. oligosporus* utilizando fluxos de resíduos de agro processamento (WAINAINA *et al.*, 2020).

Figura 10 – Imagem do fungo *R. oligosporus* por microscópico eletrônico



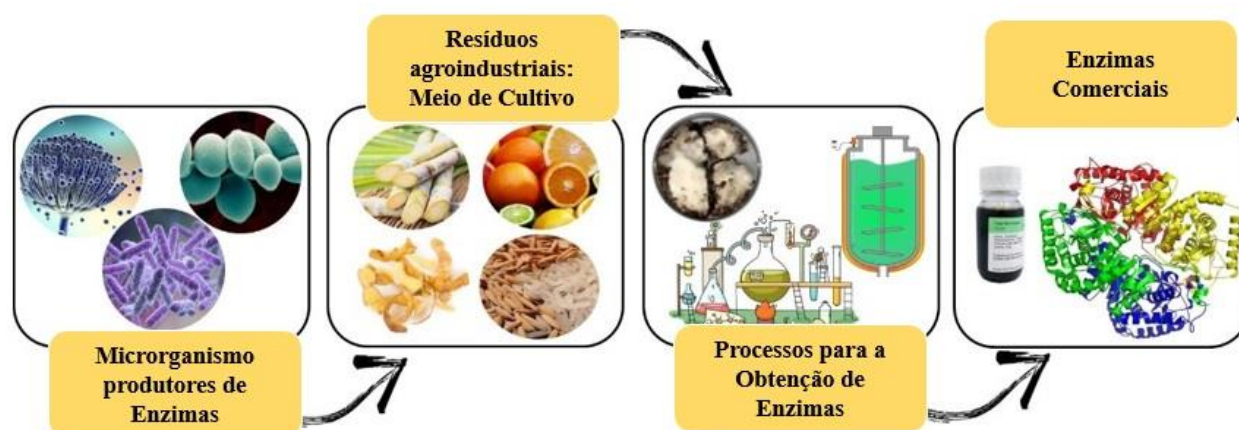
Fonte: elaborado pelo Autor (2023).

Diversos processos industriais utilizam produtos que contaminam o meio ambiente. A substituição de produtos químicos por enzimas está permitindo tornar os processos mais ecológicos e com isso minimizando os danos ao ambiente. No entanto, quando as enzimas atuam em seus

respectivos substratos, elas se decompõem em aminoácidos que são naturalmente reciclados no ambiente. Permitem também aumentar a eficiência da produção nas indústrias, além disso, sua utilização prevê processos mais ecológicos, reduzindo os gastos com energia, água e matérias-primas (RAO *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2017).

As enzimas podem ser produzidas por meio da fermentação, variando de microrganismo para microrganismo (MÉSZARÓS *et al.*, 2019). A aplicação industrial de enzimas tornou-se possível devido à habilidade dos fungos, leveduras e algumas bactérias podendo ser cultivado em escala industrial onde podem se destacar fontes de substratos ideais para a fermentação microbiana, devido à sua riqueza orgânica, baixo custo e ampla disponibilidade (GONÇALVES, FONSECA, 2018; LANGE *et al.*, 2019). A fermentação pode melhorar a digestibilidade e consequente aproveitamento dos compostos contidos no farelo de trigo, pois o amido contido neste grão não é diretamente fermentável, necessitando de hidrólise prévia de suas cadeias para a obtenção de glucose.

Figura 11 – Obtenção de enzimas de origem microbiana.



Fonte: elaborado pelo Autor (2023).

2.5 Xarope de glucose

O termo "xarope de glucose" refere-se a todas as soluções aquosas purificadas e concentradas de polímeros de D-glicose, adquiridas por meio da hidrólise do amido. Quando mencionamos glicose, estamos nos referindo a hidrolisados que contêm moléculas de glicose em uma proporção entre 5% e 95%, com a condição de que predominem em relação aos outros polissacarídeos (SURMELY *et al.*, 2003).

O xarope de glucose é um produto amplamente utilizado na indústria alimentícia devido à sua versatilidade e características funcionais. Trata-se de um líquido doce, viscoso e transparente, composto principalmente por glicose e outros açúcares simples. Sua produção envolve a transformação de materiais ricos em amido, como cereais ou tubérculos, por meio de processos como

a hidrólise enzimática (GUPTA *et al.*, 2013). Essa conversão resulta em um xarope que serve como ingrediente essencial em diversas aplicações culinárias e na fabricação de uma variedade de produtos alimentícios, desde confeitos e bebidas até produtos de panificação e molhos. A utilidade do xarope de glicose reside não apenas em sua doçura, mas também em suas propriedades que melhoram a textura, prolongam a vida útil e contribuem para a estabilidade de muitos produtos alimentares (KOGNOU *et al.*, 2022). Neste contexto, o xarope de glicose desempenha um papel central na indústria alimentícia moderna, sendo essencial para a formulação e produção de uma ampla gama de alimentos consumidos diariamente.

Atualmente, transformar resíduos em xaropes de açúcar é feito utilizando a hidrólise enzimática. Antes disso, os resíduos passam por uma etapa chamada pré-tratamento, onde sua estrutura é modificada. Essa estrutura naturalmente resistente é ajustada para ficar mais acessível a enzimas. O objetivo é expor ao máximo a amilase presente, permitindo que um conjunto de enzimas a transforme em moléculas de glicose, o tipo de açúcar desejado. Esse processo torna a produção de xaropes de açúcar mais eficiente (PIHLAJANIEMI *et al.*, 2020).

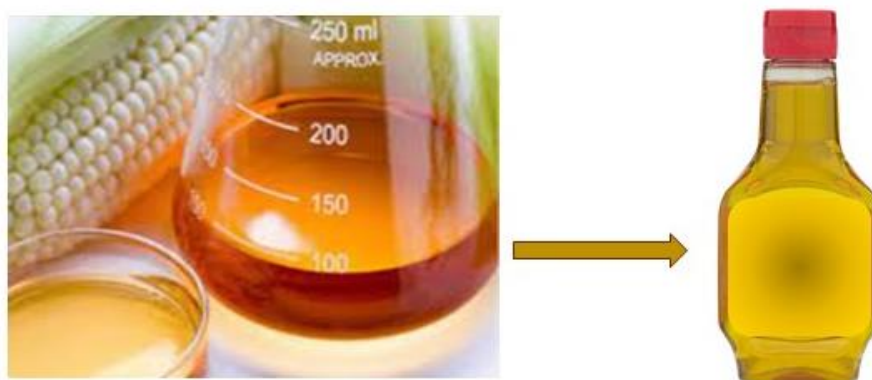
Algumas enzimas hidrolíticas que compreende α -amilases, β -amilases, glicoamilases, isopululanases, pululases, isoamilases e exopululanases, podem ser obtidas de fontes vegetais e animais, mas as amilases microbianas possuem maior aplicação. As amilases são extremamente importantes para a indústria de alimentos e bebidas, e são empregadas em diversos processos como hidrólise do amido, obtenção de xarope de milho com alto teor de frutose, maltodextrinas e na produção de cerveja (FREIRES, 2019).

O xarope de glicose de milho é um líquido doce e viscoso derivado do amido de milho por meio de um processo de hidrólise enzimática ou ácida. Durante esse processo, o amido complexo do milho é quebrado em açúcares simples, predominantemente glicose. É um adoçante comum em muitos produtos alimentícios, incluindo doces, refrigerantes, molhos e produtos de panificação. Além disso, o xarope de glicose de milho é escolhido por sua resistência à cristalização, adoçante e edulcorante, aumento da viscosidade, estabilizador e emulsificante e por fim é responsável pelo fornecimento de energia em produtos como sorvetes e confeitos, entre outros (MCKELVEY; MURPHY, 2018; BARROS *et al.*, 2019).

Sua composição varia, mas geralmente é composta principalmente por glicose, maltose e outros oligossacarídeos. O xarope de glicose de milho desempenha um papel significativo na indústria alimentícia, oferecendo uma alternativa prática e econômica para adoçantes naturais. É importante notar que, embora seja um ingrediente comum, o consumo excessivo de xarope de glicose, como de qualquer açúcar, deve ser monitorado devido às implicações para a saúde associadas ao consumo excessivo de açúcares refinados (GLENDINNING; WILLIAMS, 2022).

O xarope de glicose de milho e o xarope de glicose de trigo são ambos produtos utilizados na indústria alimentícia, cada um derivado de sua respectiva fonte principal através de processos de hidrólise enzimática ou ácida. Ambos os xaropes têm composição semelhante, sendo amplamente empregados para melhorar a textura, sabor e estabilidade de uma variedade de produtos alimentícios processados, como confeitos, refrigerantes, molhos e produtos de panificação. Contudo, as variações na composição podem ocorrer, dependendo dos processos de produção específicos e das fontes utilizadas, seja milho ou trigo. A escolha entre xarope de glicose de milho e xarope de glicose de trigo muitas vezes depende das características desejadas para um produto alimentício específico e das considerações econômicas relacionadas à disponibilidade regional das matérias-primas (HARNI *et al.*, 2020).

Figura 12 – Xarope de glicose de milho



Fonte: Nóbrega et al. (2018).

Figura 13 – Xarope de glicose trigo



Fonte: elaborado pelo Autor (2023).

O xarope de glicose é frequentemente utilizado como um dos ingredientes principais na fabricação de barras de cereais e alimentos de conveniência, principalmente como um ingrediente adoçante e para melhorar a textura dos produtos (VINHAL *et al.*, 2022).

2.6 Alimentos de conveniência

Alimentos de conveniência referem-se a produtos alimentícios que são projetados para serem convenientes e de fácil preparo, geralmente exigindo pouco ou nenhum tempo de cozimento ou preparação. Esses alimentos são destinados a atender à necessidade de refeições rápidas e práticas, especialmente para pessoas com um estilo de vida acelerado. Esses alimentos são projetados para oferecer conveniência, economizando tempo e esforço no preparo de refeições. No entanto, é importante equilibrar o consumo desses alimentos com opções mais nutritivas para garantir uma dieta saudável e equilibrada (DEVELOPMENT INITIATIVES, 2021).

A prática de se alimentar de forma solitária e em horários variados torna-se cada vez mais prevalente, resultante de mudanças nos padrões alimentares, na percepção do ato de cozinhar e em estilos de vida agitados. Padrões de consumo moldam as mentalidades dos consumidores ao longo do tempo, gerando transformações duradouras nos hábitos alimentares. A preferência por praticidade surge da busca dos consumidores contemporâneos por soluções que otimizem seu tempo e orçamento, representando uma das principais correntes na indústria agroalimentar atualmente (BRUNNER; VAN DER HORST; SIEGRIST, 2010; MUTLU; GRACIA, 2004). Devido às alterações no modo de vida, como o prolongamento da jornada de trabalho, os consumidores dispõem de menos tempo para planejar e confeccionar suas refeições. Conforme mencionado por AHLGREN *et al.* (2005), cozinhar em casa é encarado como uma tarefa, e todo o processo de preparo da refeição, desde a sua elaboração até o consumo e a subsequente limpeza é considerado demorado.

É crucial direcionar nossa atenção para todos os fatores que podem impactar a qualidade e a segurança alimentar desse tipo de produto, visando a minimização de riscos e assegurando que os alimentos de conveniência disponíveis para o consumidor final sejam seguros e de alta qualidade (YOUSUF *et al.*, 2020; LEHEL *et al.*, 2020).

Na figura 14, são destacados os principais fatores que devem ser considerados:



Fonte: Yousuf et al. (2020).

No Brasil, mesmo com o amplo consumo de alimentos frescos, observa-se um crescimento na demanda por produtos de conveniência. As mudanças nos hábitos alimentares decorrentes do estilo de vida moderno impulsionam a popularidade dos alimentos convenientes, que variam desde saladas prontas e embaladas com tempero, até baguetes congeladas para assar e sobremesas como pudim com calda congelado e sopas em lata ou congeladas (IMTIYAZ; SONI; YUKONGDI, 2022).

Vários estudos destacaram que 11 das 20 principais empresas agroalimentares no país oferecem produtos classificáveis como alimentos de conveniência. O aumento do impulso comercial nessa área pode ser atribuído ao crescimento da tendência de conveniência no país. Das cinco tendências observadas para o consumo de alimentos em nível nacional: conveniência e praticidade, confiabilidade e qualidade, sensorialidade e prazer, saudabilidade e bem-estar, a última se destaca como o segmento atitudinal mais representativo, correspondendo a 34% do total (FIESP; ITAL, 2020). Com o fortalecimento da busca por conveniência, diversos estudos ao redor do mundo têm se dedicado a explicar o comportamento do consumidor de alimentos convenientes.

2.7 Barra de cereais

A barra de cereais é um produto composto por diversos ingredientes secos e agentes ligantes, desenvolvido como uma alternativa rápida e prática para atender às necessidades nutricionais e/ou energéticas de diferentes consumidores (FREITAS; MORETTI, 2006). Esses alimentos integram a categoria dos conhecidos "snacks" ou "snack foods", caracterizados por seu tamanho reduzido,

facilidade de consumo e requisitos mínimos ou nulos de preparação, tornando-os ideais para serem consumidos entre as refeições principais (MATSUURA, 2005).

A fabricação de barras tem se voltado para segmentos de mercado específicos (MATSUURA, 2005), categorizando-se em quatro tipos distintos: 1) as fibrosas, caracterizadas por elevados teores de glicose e fibras, sendo recomendado o consumo após atividades físicas devido ao fornecimento considerável de energia; 2) as diet, que apresentam menor quantidade de calorias e gorduras, ausência de açúcar, sendo apropriadas para diabéticos e aqueles em dietas com restrição calórica; 3) as barras energéticas, mais calóricas e de fácil absorção, indicadas para consumo durante ou após exercícios físicos; e 4) as barras proteicas, com menor teor lipídico e alta concentração de proteínas, destinadas a indivíduos que buscam ganho de massa muscular (DEGÁSPARI *et al.*, 2008).

Diversos ingredientes podem ser incorporados às barras de cereais, como cereais integrais, frutas desidratadas ou cristalizadas, sementes, castanhas, nozes, amêndoas, açúcares, entre outros (FERREIRA, 2018).

A elaboração desse produto envolve considerações essenciais, como a escolha do cereal (aveia, trigo, arroz, cevada, milho), a seleção cuidadosa do carboidrato para equilibrar sabor e vida de prateleira, o enriquecimento com diversos nutrientes, a estabilidade durante o processamento e a incorporação de fibra alimentar (SRIKAEAO, 2020).

Entre os diversos ingredientes que podem ser adicionados, a aveia se destaca. Rica em fibra solúvel, a aveia desempenha um papel crucial na redução do risco de doenças cardiovasculares quando parte de uma dieta equilibrada. Os flocos de arroz, milho ou trigo são utilizados na composição da barra para conferir textura agradável e menor densidade ao produto final (SAAD *et al.*, 2011). A combinação precisa desses ingredientes é fundamental para garantir que o produto apresente crocância, textura e sabor adequados, atendendo às preferências de diversos consumidores (FREITAS; MORETTI, 2006).

A introdução das barras de cereais no Brasil ocorreu em 1992, pela empresa Nutrimental. Inicialmente, não foram amplamente aceitas pelos consumidores, mas alguns anos depois conquistaram espaço, experimentando um crescimento anual de 25% no mercado. Esse sucesso atraiu importantes empresas do setor alimentício (BARBOSA, 2003).

Essa categoria está experimentando um notável crescimento em comparação a outros tipos de alimentos (PAIVA, 2008). No Brasil, o consumo está em ascensão diária, conquistando indivíduos de diversas idades e classes sociais (BUENO, 2005). Nos Estados Unidos, o impulsionador desse crescimento na última década foram produtos inovadores, com foco em praticidade e saúde (PALAZZOLO, 2003). A conexão entre barras de cereais e uma alimentação saudável representa uma tendência no setor alimentício, proporcionando benefícios ao mercado desses produtos (SOUITY *et al.*, 2022).

As barras de cereais possuem uma configuração retangular e são de tamanho reduzido, evoluindo ao longo dos anos de um produto "duro" e crocante para uma opção "macia" e mastigável. Hoje em dia, algumas variantes são até mesmo cobertas com chocolate. Os consumidores vinculam essas barras a produtos saudáveis, e o sabor permanece a principal motivação de compra (FREITAS e MORETTI, 2006).

As barras de cereais têm potencial para se alinhar a essa tendência, sendo produzidas através da extrusão de uma massa de cereais com sabor adocicado e agradável. Elas constituem uma fonte de fibras, vitaminas, sais minerais, proteínas e carboidratos digestíveis (SANTOS *et al.*, 2019). O mercado dessas barras está em expansão, impulsionado pela busca por produtos saudáveis, o que tem levado a indústria alimentícia a diversificar sabores e atributos. O crescimento nas vendas desse produto está relacionado ao resgate de hábitos alimentares saudáveis e à recomendação de consumo regular de fibras por parte de nutricionistas e órgãos oficiais. Essa promoção é embasada na constatação de que as fibras, embora não forneçam energia, desempenham um papel crucial em melhorias nas funções gastrointestinais, regulando os níveis plasmáticos de glicose, colesterol e triacilgliceróis, contribuindo assim para o controle e/ou redução do risco de certas doenças crônicas e degenerativas. Em uma dieta equilibrada, o consumo de fibras pode diminuir o risco de doenças como as coronarianas e alguns tipos de câncer (PINTO *et al.*, 2017; BOUKID *et al.*, 2022).

Considerando atributos sensoriais e vantagens para a saúde, é relevante destacar a importância de investigar novos ingredientes alimentícios que possam aprimorar a qualidade nutricional de maneira econômica e com ampla aplicabilidade industrial. Nesse cenário, as agroindústrias geram volumes substanciais de resíduos, os quais apresentam potencial para beneficiar a saúde humana, pois contêm elevados teores de proteínas, fibras, minerais e vitaminas. Além disso, o uso eficiente desses resíduos não apenas contribuirá para reduzir sua inadequada eliminação, mas também minimizará os efeitos poluentes no meio ambiente (SANTOS *et al.*, 2019; MELO *et al.*, 2020; MUNIZ *et al.*, 2020).

O farelo de trigo pode ser considerado uma alternativa viável para a transformação de seus resíduos agroindustriais em produtos comercializáveis como o xarope de glucose de trigo, devido ao seu alto valor nutritivo em relação aos flocos de arroz, gergelim, aveia e xarope de glucose de milho, constituintes normalmente utilizados em barras de cereais, à sua excelente aceitação do consumo *in natura*, às suas características de sabor apreciadas para o consumo e, sobretudo, pela facilidade de manipulação de seus resíduos.

Os flocos de arroz são um ingrediente alimentar versátil e amplamente utilizado na produção de uma variedade de produtos. Obtidos a partir do arroz, esses flocos passam por um processo de pré-cozimento e prensagem, resultando em finas lâminas crocantes. Sua textura leve e sabor suave fazem deles uma escolha popular para a criação de cereais matinais, barras de cereais, snacks e outras iguarias (DIAS, 2020; VINHAL *et al.*, 2022).

Compostos por carboidratos, gorduras e fibras, os flocos de arroz não apenas contribuem para a textura crocante dos produtos em que são utilizados, mas também oferecem uma base versátil para a adição de sabores complementares (DIAS, 2020).

Além de sua característica crocante, os flocos de arroz são apreciados por sua capacidade de absorver sabores e aromas, tornando-os uma base ideal para criações culinárias diversas. Sua neutralidade permite a combinação com uma variedade de ingredientes, desde frutas e mel até chocolates e frutos secos, resultando em produtos alimentares com diferentes perfis de sabor. A praticidade e a versatilidade dos flocos de arroz os tornam uma opção conveniente para incorporar em receitas caseiras ou como base para produtos alimentícios industrializados. Seu papel vai além de simplesmente adicionar crocância; os flocos de arroz frequentemente atuam como uma tela em branco, permitindo a criação de alimentos equilibrados em termos de sabor e textura (SOUYI *et al.*, 2022; FRIEDRICHSEN *et al.*, 2022).

Figura 15 - Barra de flocos de arroz e Barra de cereal com glicose de trigo

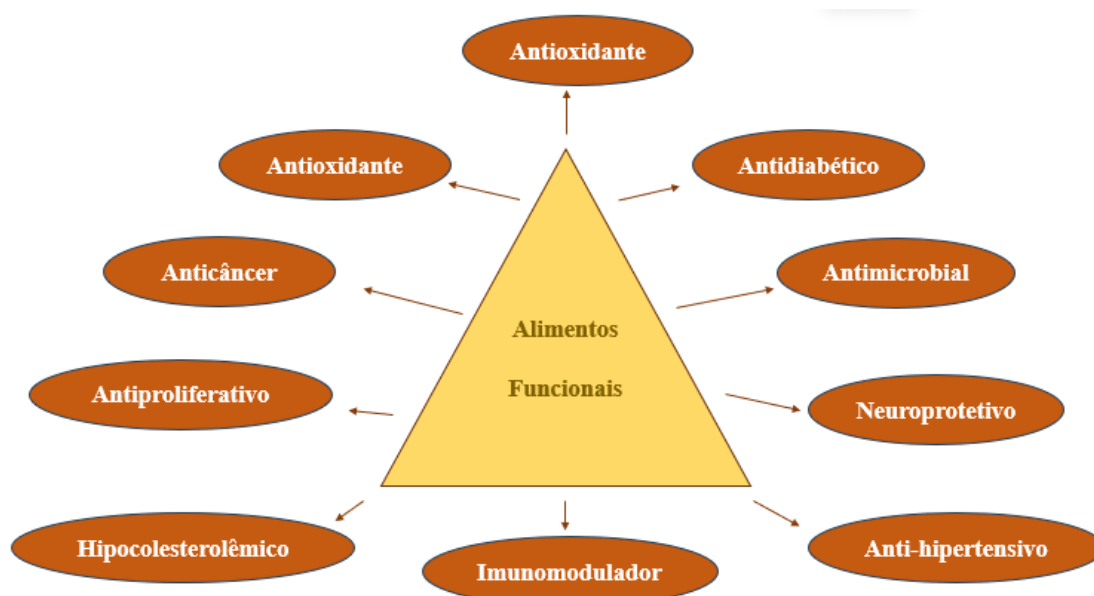


Fonte: elaborado pelo Autor (2023).

2.8 Alimento funcional

Conforme estabelecido pela resolução Anvisa nº 18 de 30 de abril de 1999, os alimentos denominados funcionais devem aderir às seguintes diretrizes: "Alegação de propriedade funcional refere-se ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente desempenha no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano." Por sua vez, "Alegação de propriedade de saúde é aquela que declara, sugere ou implica uma conexão entre o alimento ou ingrediente e doença ou condição relacionada à saúde."

Figura 16 - Propriedades biológicas de componentes/compostos bioativos dos alimentos funcionais.



Fonte: elaborado pelo Autor (2023).

Um alimento é considerado funcional quando vai além de sua função básica de fornecer nutrientes essenciais para o corpo. Os alimentos funcionais são formulados para proporcionar benefícios específicos à saúde, além das necessidades nutricionais básicas. Geralmente, eles contêm ingredientes ativos que podem ter efeitos positivos no organismo, promovendo funções metabólicas ou fisiológicas específicas. Deve atender a certos critérios como por exemplo, deve conter substâncias que ofereçam benefícios comprovados à saúde. Isso pode incluir vitaminas, minerais, antioxidantes, fibras, probióticos, ácidos graxos ômega-3 e outros compostos bioativos (CHANDIMALI *et al.*, 2024).

As barras de cereais podem ser categorizadas como alimentos funcionais, desde que apresentem em sua composição uma concentração adequada de substâncias com esse propósito. Uma abordagem abrangente para definir alimentos funcionais engloba qualquer alimento, seja natural ou preparado pelo homem, que contenha uma ou mais substâncias classificadas como nutrientes ou não nutrientes. Essas substâncias são capazes de influenciar o metabolismo e a fisiologia humanos, promovendo efeitos benéficos à saúde. Além disso, tais alimentos têm o potencial de retardar processos patológicos associados a doenças crônicas e/ou degenerativas, contribuindo assim para a melhoria da qualidade de vida e expectativa de vida das pessoas (PÉREZ-RODRÍGUEZ *et al.*, 2023).

As barras de flocos de arroz vêm ocupando espaço e se destacando por aliar inovação, praticidade e saudabilidade em um único alimento. São elaboradas a partir de uma base sólida nutritiva podendo acrescentar posteriormente uma mistura de cereais integrais de sabor agradável, fonte de vitaminas, sais minerais, fibras, proteínas, carboidratos complexos, compostos bioativos e

xarope de glucose, que aumentam a aceitabilidade pelos consumidores que associam as barras a produtos saudáveis (AHMAD *et al.*, 2017; MELO *et al.*, 2020).

No entanto, estudos com foco na sustentabilidade ambiental dos açúcares fermentáveis como plataforma intermediária para a produção de bioprodutos ou biocombustíveis são escassos. Desta forma, não só se torna um elemento valioso na formulação de alimentos e rações, mas também para uma ampla gama de aplicações industriais (por exemplo, biopolímeros, bioquímicos etc.) (SOUSA *et al.*, 2019). A disponibilidade de informações sobre o assunto resultou em uma nova demanda por tais alimentos e acelerou o desenvolvimento deste grupo de produtos. Como resultado, há uma busca constante por novos produtos que tenham uma influência positiva adicional no corpo humano. Com efeito, existem novos termos diferentes utilizados para descrever novos tipos de tais produtos, por exemplo, alimentos saudáveis, alimentos ecológicos, alimentos concebidos, alimentos adaptados, alimentos funcionais e nutracêuticos (PINTO *et al.*, 2017; VINHAL *et al.*, 2022).

A indústria alimentar, particularmente no processamento de alimentos e na produção de novos produtos alimentares, está sempre à procura de formas mais económicas e que poupem tempo para manter intactos o valor nutricional, as características funcionais e o prazo de validade dos seus produtos (VERMA *et al.*, 2018; SRIVASTAV *et al.*, 2020). Recentemente, tem havido um aumento na procura entre os consumidores por produtos alimentares que proporcionem vantagens para a saúde. Isto se deve à crescente conscientização dos consumidores sobre a influência que um alimento adequado pode ter na saúde. Por causa disso, os alimentos funcionais que incluem componentes biofuncionais que são benéficos para a saúde, como antioxidantes, óleos essenciais, minerais, vitaminas e flavonoides, estão experimentando um aumento na popularidade (ÇAKMAKÇI, ÇAKMAKÇI, 2023; VERMA, THAKUR, 2021). De acordo com LIU *et al.* (2022), a instabilidade destes nutrientes é causada pela oxidação que é desencadeada por uma série de factores externos, incluindo luz, temperatura, oxigénio, pH etc.

A preocupação com a alimentação vem mudando nas últimas décadas, uma vez que há um aumento crescente do interesse dos consumidores por alimentos que assegurem não só o bem-estar e a saúde, mas que possam, também, reduzir o risco de doenças ao longo da vida, como evidenciado por um aumento significativo da demanda por alimentos funcionais (SINHA; PARMAR, 2023).

Os resultados das pesquisas realizadas neste estudo evidenciaram que os alimentos funcionais representam uma promissora opção na alimentação humana e os advindos de resíduos na produção de novos produtos se destacam por sua tecnologia. Quando integrados a uma dieta adequada, esses alimentos têm o potencial de proporcionar diversos benefícios à saúde, apresentando também elevado valor nutricional associado à sua composição química (AMORIN *et al.*, 2023).

Em resumo, esta pesquisa destacou especificamente vários produtos à base de cereais como exemplos promissores de alimentos funcionais. Além disso, os estudos revisados demonstraram que

esses alimentos oferecem não apenas proteínas, vitaminas e minerais, mas também propriedades funcionais que contribuem para a prevenção de doenças. Assim, fortalecer a compreensão e a eficácia da inclusão de alimentos à base de cereais na dieta, como pães, bolos, barras de cereais, biscoitos, leites à base de cereais e bebidas fermentadas de produtos não lácteos, torna-se crucial.

Nos últimos anos, muito tem-se falado e buscado sobre uma alimentação saudável e maneiras de alcançá-la. Os alimentos funcionais à base de cereais, por exemplo, vem sendo uma estratégia interessante para que este objetivo seja alcançado, pois, os diversos produtos fornecidos pelo mercado atualmente são descritos como benéficos ao consumidor quando inseridos em uma alimentação balanceada. Até o momento atual, muitas empresas já investiram na ideia, visto que, ao se pensar neste tipo de proposta ela tende a dominar cada vez mais o mercado, pois, a busca por uma alimentação mais saudável cresce acentuadamente em diversos países do mundo. Diante disso, as barras de cereais apresentam propriedades sensoriais agradáveis, similares às industrializadas e mais bem aceitas quando elaboradas com média concentração de açúcar na calda, altos teores de fibra alimentar e redução de sódio. As barras de cereais apresentam baixa atividade de água e atendem às especificações sanitárias, sendo estáveis durante 60 dias de armazenamento (ADEFEGHA, 2018; DAMIÁN *et al.*, 2022).

Diante do exposto, as barras de flocos de arroz produzidas com xarope de glicose de trigo mantiveram características organolépticas comparadas àquelas produzidas com produto industrializado (xarope de glicose de milho) e apresentaram diminuição do valor calórico e do teor de sódio. Portanto, barras de cereais produzidas com xarope de glicose de trigo podem ser de grande interesse para a indústria alimentícia, agregando valor nutricional e funcional a um produto bem estabelecido.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

A presente tese teve por objetivo o aumento da eficiência da extração de amido na indústria de farinha de trigo e desenvolvimento de novos produtos a partir de técnicas físicas e biotecnológicas. Assim, a obtenção adicional de amido solúvel e um composto rico em glucose, aminoácidos, proteínas e fibras, sendo como base para produção de uma barra de flocos de arroz.

3.2 Objetivos específicos

Caracterização centesimal do farelo de trigo;

Avaliar parâmetros técnicos de gelatinização do farelo de trigo para otimizar a extração adicional de amido;

Avaliação da produção enzimática utilizando farelo de trigo em cultivo com *Rhizopus oligosporus* através de técnica de cultivo em estado sólido;

Determinação dos parâmetros de hidrólise enzimática de amido e proteínas da fração fibrosa extraída da etapa de gelatinização do farelo de trigo;

Atividade antioxidante da glucose de trigo obtida e determinação do teor de polifenóis e flavonoides totais.

4. REFERÊNCIAS

- AAFCO. Official Publication of Association of American Feed Control Officials. Oxford, 1996.
- ABITRIGO. Associação Brasileira da Indústria do Trigo. Produção mundial de trigo. 2019. Disponível em: http://abitrito.com.br/associados/arquivos/05.prod_trigo.pdf. Acesso em: 18 dez. 2019.
- ADEFEGHA, S.A. 2018. Functional Foods and Nutraceuticals as Dietary Intervention in Chronic Diseases; Novel Perspectives for Health Promotion and Disease Prevention. *Journal of Dietary Supplements*. 11-49. <https://doi.org/10.1080/19390211.2017>.
- AHLGREN, M.K., GUSTAFSSON, I., HALL, G. 2005. The Impact of the Meal Situation on the Consumption of Ready Meals. *International Journal of Consumer Studies*. 29(6), 485–492.
- AHMAD, A., IRFAN, U., AMIR, R.M., ABBASI, K.S., 2017. Development of High Energy Cereal and Nut Granola Bar. *International Journal of Agriculture and Biological Sciences*. p. 13-20
- AHMAD, M.I., LI, Y., PAN, J., LIU, F., DAI, H., FU, YU., HUANG, T., FAROOQ, S., ZHANG, H. 2024. Collagen and gelatin: Structure, properties, and applications in food industry. *International Journal of Biological Macromolecules*. 254; 128037. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.128037>
- AKTAS, K. AND AKIN, N. 2020. Influence of rice bran and corn bran addition on the selected properties of tarhana, a fermented cereal-based food product. *LWT - Food Science and Technology*, 129, 109574. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109574>
- AMORIM, M., DEVITTE, R., SILVA, M., SANTOS, P. 2023. Alimentos Funcionais E Saúde: Uma Revisão. *Publica-IFRS Boletim de Pesquisa e Inovação*. <http://doi:10.35819/publicaifrs.v1.n1.a6378>
- BARBAR, R., MAYER-LAIGLE, C., BEAUGRAND, J., CUQ, B., BARRON, C. 2023. Comparison of hydration water properties of common and durum wheat brans upon grinding with different loading modes. *Journal of Cereal Science*. 114; 103786. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2023.103786>
- BARBOSA, M. Na onda da barra. Com uma gestão alternativa e um produto campeão de vendas, Nutrimental afasta a crise e volta a ser uma empresa saudável. Disponível em: <http://www.terra.com.br/istoedinheiro>. Acesso em: 16 set. 2003.
- BARRIOS-GONZÁLEZ, J. 2012. Solid-state fermentation: Physiology of solid medium, its molecular basis and applications. *Process Biochemistry*, v. 47, p. 175–185.
- BARROS, R.R.O., BECARELLI, P., OLIVEIRA, R.A., TOGNOTI, L., BON, E.P.S. 2019. *Triticum spelta* straw hydrothermal pretreatment for the production of glucose syrups via enzymatic hydrolysis. *Biochemical Engineering Journal*. 151; 107340. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107340>
- BOUKID, F., KLERKS, M., PELLEGRIN, N., FOGLIANO, V., SANCHEZ-SILES, L., ROMAN, S., VITTADINI, E. 2022. Current and emerging trends in cereal *snack* bars: Implications for new product development. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 73 (5); 610-629. <https://doi.org/10.1080/09637486.2022.2042211>

- BUSSAMRA, B., FREITAS, S., CARVALHO, A. 2015. Bioresource Technology Improvement on sugar cane bagasse hydrolysis using enzymatic mixture designed cocktail. *Bioresource Technology*. 187; 173-181.
- BUENO, R.O.G. 2005. Características de qualidade de biscoitos e barras de cereais ricos em fibra alimentar a partir de farinha de semente e polpa de nêspera. Dissertação de mestrado, UFPR, Curitiba, PR, Brasil, 2005.
- BRUNNER, T.A., VAN DER HORST, K., SIEGRIST, M. 2010. Convenience food products. Drivers for consumption. *Appetite*. 55: 498-506. doi:10.1016/j.appet.2010.08.017.
- ÇAKMAKÇI, S., ÇAKMAKÇI, R. 2023. Quality and Nutritional Parameters of Food in Agri-Food Production Systems. *Foods*. 12(2), 351; <https://doi.org/10.3390/foods12020351>
- CALDEIRA, C., DE LAURENTIIS, V., CORRADO, S., VAN HOLSTEIJN, F., SALA, S. 2019. Quantification of food waste per product group along the food supply chain in the European Union: a mass flow analysis. *Resources, Conservation and Recycling*. v.149, p. 479-488.
- CANDEL, M. 2001. Consumers' convenience orientation towards meal preparation: conceptualization and measurement. *Appetite*. 36(1); 15–28.
- CAPANOGLU, E., NEMLI, E., TOMAS-BARBERAN, F. 2022. Novel approaches in the valorization of agricultural wastes and their applications. *J. Agric. Food Chem.*, 70 (23); 6787-6804. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c07104>
- CHAMORRO, F., CARPENA, M., FRAGA-CORRAL, M., ECHAVE, J., RAJOKA, M.S.R., BARBA, F.J., CAO, H., XIAO, J., PRIETO, M.A., SIMAL-GANDARA, J. 2022. Valorization of kiwi agricultural waste and industry by-products by recovering bioactive compounds and applications as food additives: A circular economy model. *Food Chemistry*. 370; 131315. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131315>
- CLÉMENT, H., PROST, C., CHIRON, C., DUCASSE, M.B., VALLE, G.D. 2018. The effect of organic wheat flour by-products on sourdough performances assessed by a multi-criteria approach. *Food Research International* 106, p. 974-981. <http://doi: 10.1016/j.foodres.2018.01.053>
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. 1999. Recommended international code of practice general principles of food hygiene: CAC/RCP 1-1969, Rev. 4-2003.
- CORNEJO, A., ALEGRIA-DALLO, I., GARCÍA-YOLDI, I., SAROBE, I., SANCHEZ, D., OTAZU, E., FUNCIA, I., GIL, M.J., MARÍNEZ-MERINO, V. 2019. Pretreatment and enzymatic hydrolysis for the efficient production of glucose and furfural from wheat straw, pine and poplar chips. *Bioresource Technology*. 288, 121583. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121583>
- COSTA, M.S. 2017. Extração de fibras insolúveis do resíduo farelo de trigo. Maria Silveira Costa. – 2017. 77f:il. Dissertação de mestrado (Pós-graduação) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Minas Gerais – Campus Bambuí, MG, 2017.

- CHANDIMALI, N., BAK, S.G., PARK, E.H., LIM, H.J., WON, Y.S., KIM, B., LEE, S.J. 2024. Bioactive peptides derived from duck products and by-products as functional food ingredients. *Journal of Functional Foods*. 113; 105953. Lee). <https://doi.org/10.1016/j.jff.2023.105953>
- CHEN, J. et al. 2015. High yields of fatty acid and neutral lipid production from cassava bagasse hydrolysate (CBH) by heterotrophic *Chlorella protothecoides*. *Bioresource Technology*. 191; 281–290.
- DAMIÁN, M.R., CORTES-PEREZ, N.G., QUINTANA, E.T., ORTIZ-MORENO, A., NOGUEZ, C.G., CRUCEÑO-CASARRUBIAS, C.E., PARDO, M.E.S., BERMÚDEZ-HUMARÁN, L.G. Functional Foods, Nutraceuticals and Probiotics: A Focus on Human Health. *Microorganisms*. 10; 1065. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10051065>
- DEGÁSPARI, C.H., BLINDER, E.W., MOTTIN, F. 2008. Perfil nutricional do consumidor de barras de cereais. *Visão Acadêmica*. 9(1); 49-61.
- DE BONDT, Y., LIBERLOO, I., ROYE, C., GOOS, P., MOURTIN, C.M. 2020. The impact of wheat (*Triticum aestivum* L.) bran on wheat starch gelatinization: A differential scanning calorimetry study. *Carbohydrate Polymers*. 241; 116262. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116262>
- DEVELOPMENT INITIATIVES. 2021 Global Nutrition Report: The state of global 485 nutrition. In. Bristol, UK: Development Initiatives.
- DIAS, J.S.R., MENDES, F.Z.C., NOLASCO, M.V.F.M., BOGO, D. 2020. Obtaining yam flour for the preparation of cereal bar as a food and functional supplement. *Brazilian Journal of Development*. 6(3); 15716-15735. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n3-446>
- DOU, Z., FERGUSON, J.D., GALLIGAN, D.T., KELLY, A.M., FINN, S.M., GIEGENGACK, R. 2016. Assessing U.S. food wastage and opportunities for reduction. *Global Food Security*. 8; 19-26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gfs.2016.02.001>
- DOU, Z., TOTH, J.D. 2020. Global primary data on consumer food waste: Rate and Characteristics - A review. *Resource, Conservation & Recycling*. 168; 105332. <http://doi/10.1016/j.resconrec.2020.105332>
- ELIASSON, A.C. 2004. Starch in food - Structure, function, and applications New York: Boca Raton, CRC. 605p
- ENGELBERTH, A.S. 2020. Evaluating economic potential of food waste valorization: Onward to a diverse feedstock biorefinery. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 26; 100385. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2020.100385>
- ERICKSON, J.P., MILLER, E.R., KU, P.K., COLLINGS, G.F., BLACK, J.R. 1985. Wheat Middlings as a Source of Energy, Amino Acids, Phosphorus and Pellet Binding Quality for Swine Diets. *Journal of Animal Science*. 60(4); 1012–1020. <https://doi.org/10.2527/jas1985.6041012x>

ESCARAMBONI, B. NÚÑEZ, E.G.F., CARVALHO, A.F.A., NETO, P.O. 2018. Ethanol biosynthesis by fast hydrolysis of *cassava bagasse* using fungal amylases produced in optimized conditions. *Industrial Crops and Products*, v. 112, n. November 2017, p. 368–377.

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponível em: <http://www.fao.org/save-food/resources/keyfindings/en/>>. Acesso em: 4 jan. 2019.

FAO. GIEWS Crop Prospects and Food Situation - Quarterly Global Report no. 4, Rome, Italy: FAO, 2019, 43 p. Disponível em: <<http://www.fao.org/3/ca7236en/ca7236en.pdf>>. Acesso em: 18 dez. 2019.

FAUSTINO, M., VEIGA, M., SOUSA, P., COSTA, E.M., SILVA, S., PINTADO, M. 2019. Agro-Food Byproducts as a New Source of Natural Food Additives. *Molecules*. 24(6): 1056. [https:// doi: 10.3390/molecules24061056](https://doi.org/10.3390/molecules24061056)

FERNÁNDEZ NUÑEZ, E.G. et al. Artificial intelligence approach for high level production of amylase using *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* and different agroindustrial wastes. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, v. 92, n. July, p. 684–692, 2016.

FIESP; ITAL. Brasil Food Trends 2020. [s.l: s.n.].

FREIRES, A.S.S. 2019. Avaliação da Produção de Amilase e Protease por Fungos Filamentosos. 57f.:il. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Ciências Biológicas, Serra Talhada, 2020.

FREITAS, D.G.C., MORETTI, R.H., 2006. Caracterização e Avaliação Sensorial de barra de cereais Funcional de Alto Teor Protéico e Vitaminico. *Ciênc. Tecnol. Aliment*. 26(2): 318-324

FREITAS, A.C. et al. 2014. Production and application of amylases of *Rhizopus oryzae* and *Rhizopus microsporus* var. *oligosporus* from industrial waste in acquisition of glucose. *Chemical Papers*. 68(4).

FRIEDRICHSEN, J.S.A., SAQUETI, B.H.F., BRUNI, A.R.S., GOMES, E.S., SILVA, J.F., LENTZ, G.A.S., BAETA, F.S., PIACQUADIO, N.M., BULLA, M.K., SANTOS, O.O. 2022. Development of a cereal bar with the addition of sweet potato flour, collagen and betaine: review of the ingredients used and feasibility. *Research, Society and Development*. 11(13), e449111335665. <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i13.35665>

FERREIRA, P.M., ROBERTO, B.S., CAMISA, J. 2018. Caracterização e Aceitabilidade de Barras de Cereais Enriquecidas com Colágeno Hidrolisado. *Rev. Virtual Quim.*, 2018, 10 (1), 155-171. [http://doi: 10.21577/1984-6835.20180014](http://doi.org/10.21577/1984-6835.20180014)

GIBSON, G.R., HUTKINS, R., SANDERS, M.E., PRESCOTT, S.L., REIMER, R.A., SALMINEN, S.J. et al. 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. v.14, p. 491–502. [https://doi:10.1038/nrgastro.2017.75](https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75)

GONÇALVES, C.C.S, FONSECA, F.S.A. 2018. Reações de Oxidação Catalisadas por Enzimas. *Rev. Virtual Quim*, 10 (4), 778-797. [https://doi:10.21577/1984-6835.20180057](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20180057)

GUERRIERI, N., CAVALETTO, M. 2018. Cereals proteins. *Proteins in Food Processing*. Institute of Ecosystem Study, CNR-ISE, Verbania, Italy, †University of Piemonte Orientale, Vercelli, Italy. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00009-7>

GUSMÃO, R.O., FERRAZ, L.M., RÊGO, A.P.B., ASSIS, F.G.V., LEAL, P.L. 2014. Produção de enzimas por *Aspergillus* spp. sob fermentação em estado sólido em casca de café. *Scientia Plena* 10, 116202

GUPTA, R. et al. Microbial α -amylases: A biotechnological perspective. *Process Biochemistry*, v. 38, n. 11, p. 1599–1616, 2003.

GLENDINNING, J.I., WILLIAMS, N. 2022. Consumption of glucose syrup enhances glucose tolerance in mice. *Physiology & Behavior*. 256; 113954. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2022.113954>

HARNI, M., PUTRI, S.K., GUSMALINI., HANDAYANI, T.D. 2020. Characteristics Of Glucose Syrup From Various Sources of Starch. *International Conference on Sustainable Agriculture and Biosystem*. 757, 012064. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/757/1/012064>

HUANG, Q., SHI, C.X., SU, Y.B., LIU, Z.Y., LI, D.F., LIU, L., HUANG, C.F., PIAO, X.S., LAI, C.H. 2014. Prediction of the digestible and metabolizable energy content of wheat milling by-products for growing pigs from Chemical composition. *Animal Feed Science and Technology*. 196; 107-116. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.06.009>

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. *Journal of Agriculture and Food Research*. 10; 100399. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100399>

KOGNOU, A.L.M., SHRESTHA, S., JIANG, Z., XU, C.C., SUN, F., QIN, W. 2022. High-fructose corn syrup production and its new applications for 5-hydroxymethylfurfural and value-added furan derivatives: Promises and challenges. *Journal of Bioresources and Bioproducts*. 7; 148-160). <https://doi.org/10.1016/j.jobab.2022.03.004>

LANGE, L., PILGAARD, B., HERBST, F.A., BUSK, P.K., GLEASON, F., PEDERSON, A.G. 2019. Origin of fungal biomass degrading enzymes: Evolution, diversity, and function of enzymes of early lineage fungi. *fungal biology reviews*. 33, 82-97. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2018.09.001>

LEHEL, J., YAUCAT-GUENDI, R., DARNAY, L., PALOTÁS, P., LACZAY, P. 2020. Possible food safety hazards of ready-to-eat raw fish containing product. *Critical review in Food Science and Nutrition*, 1-22.

LIU, W., ZHENG, W., CHENG, L., LI, M., HUANG, J., BAO, S., et al. 2022. *Citrus fruits* are rich in flavonoids for immunoregulation and potential targeting ACE2. *Nat. Prod. Bioprospecting*. 12:4. doi: 10.1007/s13659-022-00325-4

- LIU, X., QIAO, L., KONG, Y., WANG, H., YANG, B. 2024. Characterization of the starch molecular structure of wheat varying in the content of resistant starch. *Food chemistry*. X 21; 101103. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.101103>
- LOPES, F.C., LIGABUE-BRAUN, R. 2021. Agro-Industrial Residues: Eco-Friendly and Inexpensive Substrates for Microbial Pigments Production. *Agro-Industrial Residues: Eco-Friendly and Inexpensive Substrates for Microbial Pigments Production*. *Frontier in Sustainable Food Systems*. <http://doi:10.3389/fsufs.2021.589414>
- MADHAVAN, A., ARUN, K.B., SINDHU, R., JOSE, A.A., PUGAZHENDHI, A., BINOD, P., SIROHI, RESHMY, R., AWASTHI, M.K. 2022. Engineering interventions in industrial filamentous fungal cell factories for biomass valorization. *Bioresource Technology*. 344; 126209.
- MAESTRI, B., FERREIRA, C.S.P., PASQUALLI, D. 2012. Anteprojeto de indústria de barras de cereais. Projeto da Indústria de Alimentos (Engenharia química e engenharia de alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, 2012.
- MALAJOVICH, M.A. *Biotecnologia*. 2 ed. Rio de Janeiro: Biotecnologia: ensino e divulgação, 2016.
- MATSUURA, F.C.A.U. Estudo do albedo de maracujá e de seu aproveitamento em barra de cereais. 2005. 87 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2005.
- MCKELVEY, S.M., MURPHY, R.A. 2018. *Biotechnological Use of Fungal Enzymes. Fungi: Biology and Applications*, Third Edition. Edited by Kevin Kavanagh. ISBN: 978-1-119-37432-9
- MELO, P.F., KALSCHNE, D.L., DA SILVA-BUZANELLO, R.A., AMARAL, J.S., TORQUATO, A.S., CORSO, M.P., CANAN, C. 2020. Cereal bars functionalized with tempeh: nutritional composition, isoflavones content and consumers acceptance. *International Journal of Food Science & Technology*. 55, 397–405. <http://doi:10.1111/ijfs.14384>
- MÉSZÁROS, B., DOBSON, L., FICHÓ, E., TUSNÁDY, G.E., DOSZTÁNYI, Z., SIMON, I. 2019. Sequential, structural and functional properties of protein complexes are defined by how folding and binding intertwine. *Journal of Molecular Biology*. p. 21. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.07.034>
- MONDAL, P.P., GALODHA, A., VERMA, V.K., SINGH, V., PAU, L.S., AWASTHI, M.K., LALL, B., ANEES, S., POLLMANN, K., JAIN, R. 2023. Review on machine learning-based bioprocess optimization, monitoring, and control systems. *Bioresource Technology*. 370; 128523. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.128523>
- MONTESDEOCA-CALDERON, M.G., GIL-SAURA, I., RUIZ-MOLINA, M.E., MARTIN-RIOS, C. 2024. Tackling food waste management: Professional training in the public interest. *International Journal of Gastronomy and Food Science*. 35; 100863. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2023.100863>
- MUTLU, S., GRACIA, A. Food Consumption Away from Home in Spain. *Journal of Food Products Marketing*, 10(2); 1–16.
- MUNIZ, C.E.S., SANTIAGO, A.M., GUSMÃO, T.A.S., OLIVEIRA, H.M.L., CONRADO, L. DE S., & GUSMÃO, R.P. 2020. Solid-state fermentation for single-cell protein enrichment of *guava* and

cashew by-products and inclusion on cereal bars. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 25, 101576. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101576>

NELSON, J.H. 1985. Wheat: its processing and utilization. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 41(5); 1070-1076. <https://doi.org/10.1093/ajcn/41.5.1070>

NITAYAVARDHANA, S., KHANAL, S.K. 2010. Innovative biorefinery concept for sugar-based ethanol industries: production of protein-rich fungal biomass on vinasse as an aquaculture feed ingredient. *Bioresour Technol*. 101(23):9078-85. <http://doi: 10.1016/j.biortech.2010.07.048>

OSORIO, L.L.D.R., FLÓREZ-LÓPEZ, E., GRANDE-TOVAR, C.D. 2020. The Potential of Selected Agri-Food Loss and Waste to Contribute to a Circular Economy: Applications in the Food, Cosmetic and Pharmaceutical Industries. *Molecules*, v.26, p. 515. <https://doi.org/10.3390/molecules26020515>

PAIVA, A.P. 2008. Estudos tecnológico, químico, físico-químico e sensorial de barras alimentícias elaboradas com subprodutos e resíduos agroindustriais (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Lavras, Lavras.

PALAZZOLO, G. 2003. Cereal bars: they're not just for breakfast anymore. *Cereal Foods World*, 48(2), 70-72.

PAPAGEORGIOU, M., SKENDI, A. 2018. Introduction to cereal processing and by-products. Alexander Technological Educational Institute of Thessaloniki (ATEIth), Thessaloniki, Greece. Sustainable Recovery and Reutilization of Cereal Processing By-Products. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102162-0.00001-0>

PANDEY, A. et al. Advances in microbial amylases. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, v. 31, n. July 2016, p. 135–52, 2000.

PANDEY, A., SOCCOL, C.R., LARROCHE, C. 2008. Current Developments in Solid-state Fermentation. *Current Developments in Solid-state Fermentation* pp 13–25.

PINTO, V.R.A., FREITAS, T.B. DE O., DANTAS, M.I. DE S., DELLA LUCIA, S.M., MELO, L.F., MINIM, V.P.R., & BRESSAN, J. 2017. Influence of package and health-related claims on perception and sensory acceptability of *snack* bars. *Food Research International*, 101, 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.08.062>

PÉREZ-RODRÍGUEZ, M., HIDALGO, M.J., MENDOZA, A., GONZÁLEZ, L.T., RODRÍGUEZ, F.L., GOICOECHEA, H.C., PELLERANO, R.G. 2023. Measuring trace element fingerprinting for cereal bar authentication based on type and principal ingredient. *X* 18; 100744. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100744>

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. *Journal of Cereal Science*. 95; 103043. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103043>

- POLANOWSKA, K., GRYGIER, A., KULIGOWSKI, M., RUDZIŃSKA, M., NOWAK, J. 2020. Effect of tempeh fermentation by three different strains of *Rhizopus oligosporus* on nutritional characteristics of *faba beans*. LWT - Food Science and Technology 122, 109024. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109024>
- PRÉVOT, V. et al. 2013. Comparative performance of commercial and laboratory enzymatic complexes from submerged or solid-state fermentation in lignocellulosic biomass hydrolysis. Bioresource Technology, 129; 690–693.
- RAO, L.V., GOLI, J.K., GENTELA, J., KOTI, S. 2016. Bioconversion of lignocellulosic biomass to xylitol: An overview. Bioresource Technology. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2016.04.092>
- ROCKSTRÖM, J., WILLIAMS, J., DAILY, G., NOBLE, A., MATTHEWS, N., GORDON L., WETTERSTRAND, H., DECLERCK, F., SHAB, M., STEDUTO, P., FRAITURE, C., HATIBU, N., UNVER, O., BIRD, J., SIBANDA, L., SMITH, J. 2016. Sustainable intensification of agriculture for human prosperity and global Sustainability. Ambio. 5-16. <http://doi.org/10.1007/s13280-016-0793-6>
- RODÍGUEZ-LÉON, A., MINAKATA-ESCALANTE, P., LA ROSA, A.P.BB., BLASCHEK, H.P. 2008. Optimization of fermentation conditions for the production of the mezcal from *Agave salmiana* using response surface methodology. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification. 47(1); 76-82. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2007.08.010>
- ROSENFELDER, P., EKLUND, M., MOSENTHIN, R. 2013. Nutritive value of wheat and wheat by-products in pig nutrition: A review. Animal Feed Science and Technology. 185; 107-125. <http://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.07.011>
- SAAD, S.M.I., CRUZ, A.G., FARIA, J.A.F. 2011. Probióticos e probióticos em alimentos fundamentos e aplicações tecnológicas. São Paulo: Varela, 2011.
- SAIGA, A, TANABE, S, NISHIMURA, T. 2003. Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment. J Agric Food Chem. 51:3661–3667. doi: 10.1021/jf021156g.
- SAKARIKA, M., STAVROPOULOS, K., KOPSAHELISA, A., KOUTRAA, E., ZAFIRIB, C., KORNAOS, M. 2019. 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. Biochemical Engineering Journal. v.153, 15 p. 107404. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107404>
- SANTOS, P.A., CALIARI, M., SOARES JUNIOR, M.S., SILVA, K.S., VIANA, L.F., GARCIA, L.G.C., LIMA, M.S. 2019. Use of agricultural by-products in extruded gluten-free breakfast cereals. Food Chemistry. 297; 124956. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124956>
- SANTOS, K.L., PANIZZON, J., CENCI, M.M., GRABOWSKI, G., JAHNO, V.D. 2020. Food losses and waste: reflections on the current Brazilian scenario. Braz. J. Food Technol. 23; e2019134. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.13419>
- SEBATER, C., VILLAMIEL, M., MONTILLA, A. 2022. Integral use of pectin-rich by-products in a biorefinery context: A holistic approach. Food Hydrocolloids. v. 128, p. 107564.

SILVA ALENCAR, V.N., SILVA BATISTA, J.M., NASCIMENTO, T.P., CUNHA, M.N.C., LEITE, A.C.L. 2020. Agro-industrial waste: a promising and sustainable alternative in the production of enzymes by microorganisms. *Ciência Tecnologia e Inovação: do campo à mesa*. 4-31. <https://doi.org/10.31692/ICIAGRO.2020.0478>.

SINHA, V., PARMAR, H. 2023. Development and validation of multidimensional scale on Indian consumer's acceptance of functional food (FFS) - The sustainable option. *Cleaner and Responsible Consumption*. 10; 100128. <https://doi.org/10.1016/j.clrc.2023.100128>

SCHMIDT, C.G., GONÇALVES, L.M., PRIETTO L., HACKBART, H.S., FURLONG, E.B. 2014. Antioxidant activity and enzyme inhibition of phenolic acids from fermented rice bran with *fungus Rizhopus oryzae*. *Food Chemistry* 146, 371–377. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.09.101>

SHARMA, V., WARDHAN, H. 2017. Overview of Maize Economy: Production, Procurement, and Marketed Surplus. In: *Marketed and Marketable Surplus of Major Food Grains in India*. Springer, New Delhi. <https://doi.org/10.1007/978-81-322-3708-25>

SOUZA, P.M.; MAGALHÃES, P.O.E. 2010. Application of microbial α -amylase in industry – a review. *Brazilian Journal of Microbiology*. 41; 850–861, 2010.

SOUSA, M.F. DE, GUIMARÃES, R.M., ARAÚJO, M. DE O., BARCELOS, K.R., CARNEIRO, N.S., LIMA, D.S., SANTOS, D.C.D., BATISTA, K. DE A., FERNANDES, K.F., LIMA, M.C.P.M., EGEA, M.B. 2019. Characterization of corn (*Zea mays* L.) bran as a new food ingredient for *snack* bars. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie*, 101, 812–818. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.088>

SOUZA, J.R.C.L., VILLANOVA, J.C.O., SOUZA, T.S., MAXIMINO, R.C., MENINI, L. 2021. Vegetable fixed oils obtained from soursop agro-industrial waste: Extraction, characterization, and preliminary evaluation of the functionality as pharmaceutical ingredients. *Environmental Technology & Innovation* 21, 101379. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101379>

SOUYI, Z., ZAKHAMA, N., CHERAIEF, I., HAMMAMI, M. 2022. Nutritional, physical, microbial, and sensory characteristics of gluten-and sugar-free cereal bar enriched with spirulina and flavored with neroli essential oil. *LWT-Food Science and Technology*. 169; 113955. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113955>

SHURSON, G.C. 2020. What a waste - Can we improve sustainability of food animal production systems by recycling food waste streams into animal feed in an era of health, climate, and economic crises? *Sustainability*, 12 (17).

SHURSON, G.C., DIERENFELD, E.S., DOU, Z. 2023. Rules are meant to be broken – Rethinking the regulations on the use of food waste as animals feed. *Resources, Conservation & Recycling*. 199; 107273. <http://doi.org/10.1016/j.resconrec.2023.107273>

SUKUMARAN, R.K., SINGHANIA, R.R., MATHEW, G., PANDEY, A. 2009. Cellulase production using biomass feed stock and its application in lignocellulose saccharification for bio-ethanol production. *Renewable Energy*. 34(2):421-424. <http://doi:10.1016/j.renene.2008.05.008>

- SUN, X., DOU, Z., SHURSON, G.C., HU, BO. 2024. Bioprocessing to upcycle agro-industrial and food wastes into high-nutritional value animal feed for sustainable food and agriculture systems. *Resources, Conservation and Recycling*. 201; 107325. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2023.107325>
- SURMELY, R., ALVAREZ, H., CEREDA, M. P., & VILPOUX, O.F. 2003. Hidrólise do amido. In M.P. Cereda, & O.F. Vilpoux (Eds.), *Tecnologia, usos e potencialidades de tuberosas amiláceas Latino-Americanas* (Vol. 3, pp. 376–449). São Paulo, Brazil: Fundação Cargill. (in Portuguese).
- SRIKAEAO, K. 2020. Biotechnological Tools in the Production of Functional Cereal-Based Beverages. *Biotechnological Progress and Beverage Consumption*. 19; 149-193. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816678-9.00005-9>
- SRIVASTAV P.P., VERMA D.K., PATEL A.R., AL-HILPHY A.R. 2020. Apple Academic Press; USA: 2020. Emerging thermal and nonthermal technologies in food processing.
- STARZYNSKA-JANISZEWSKA, A., STODOLAK, B., MICKOWSKA, B., SOCHA, R. 2021. Fermentation with edible *Rhizopus* strains as a beneficial alternative method in wheat germ cake processing. *Journal of Cereal Science*. 102; 103309. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2021.103309>
- TESTER, R.F. et al. 2004. Starch - composition, fine structure and architecture. *Journal of Cereal Science*. 39: 151-165. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2003.12.001>.
- THOMAS, L., LARROCHE, C., PANDEY, A. 2013. Current developments in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 81; 146–161.
- VERMA, D.K., THAKUR, M. 2021. *Phytochemicals in Food and Health: Perspectives for Research and Technological Development*. Publisher: CRC Press/Apple Academic Press Inc., USA ISBN: 9781771889360
- VERMA, A., SINGH, D., MITRA, A. 2022. Desenvolvimento de barra energética sem glúten e sua análise centesimal. *The Pharma Innovation Journal*, 11 (6); 569-576.
- VINHAL, G.L.R.R.B., SANCHES, M.A.R., BARCIA, M.T., RODRIGUES, D., PERTUZATTI, P.B. 2022. Murici (*Byrsonima verbascifolia*): A high bioactive potential fruit for application in cereal bars. *LWT - Food Science and Technology* 160, 113279. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113279>
- 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; e09173. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09173>
- YE, G., WU, Y., WANG, L., TAN, B., SHEN, W., LI, X., LIU, TIAN, X., ZHANG, D. 2021. Comparison of six modification methods on the chemical composition, functional properties, and antioxidant capacity of wheat bran. *LWT - Food Science and Technology* 149, 111996. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111996>

YOUSUF, B., DESHI, V., OZTURK, B., SIDDIQUI, M.W. 2020. Fresh-cut fruits and vegetables: Quality issues and safety concerns. *Fresh-Cut Fruits and Vegetables*, 1-15.

WAINAINA, S., KISWORINI, A.D., KISWORINI, M., WIKANDARI, R., MILLATI, R., NIKLASSON, C., TAHERZADEH, M.J. 2020. Utilization of food waste-derived volatile fatty acids for production of edible *Rhizopus oligosporus* fungal biomass. *Bioresource Technology* 310, 123444. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123444>

WANG, Y., ZHANG, L., XU, T., DING, K. 2017. Improving lignocellulose enzymatic saccharification in a bioreactor with an applied electric field. *Industrial Crops & Products* 109, 404–409. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.08.061>

WESENDONCK, W.R., et al. 2013. Valor nutricional e energia metabolizável de subprodutos do trigo utilizado para alimentação de suínos em crescimento. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*. Brasília. v. 48(2), p.203-210.

WOICIECHOWSKI, A.L., NITSCHKE, S., PANDEY, A. AND SOCCOL, C.R. 2002. Acid and Enzymatic Hydrolysis to Recover Reducing Sugars from *Cassava Bagasse*: na Economic Study. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 45(3); 393-400. ISSN 1516-8913.

WOICIECHOWSKI, A.L., VANDENBERGHE, L., KARP, S., LETTI, L. 2013. The Pretreatment Step in Lignocellulosic Biomass Conversion: Current Systems and New Biological Systems. In book: *Lignocellulose Conversion* (pp.39-64). Edition: 1. Chapter: 3. Publisher: Springer Editors: Vincenza Faraco. http://dx.doi:10.1007/978-3-642-37861-4_3

CAPÍTULO ÚNICO

Solid-state fermentation using wheat bran to produce glucose syrup and functional cereal bars

Célia Cristina Malaguti Figueiredo¹, Filipe Oliveira Granero¹, Luciana Pereira Silva², Ilca Fabiane Amâncio Nogueira¹, Joyce Faria de Souza³, Bruna Escaramboni³, Pedro de Oliva Neto³, Regildo Márcio Gonçalves da Silva^{1,4}

¹Institute of Chemistry, São Paulo State University (UNESP), Araraquara, São Paulo, Brazil.

²Fundação Educacional do Município de Assis (FEMA), Assis, São Paulo, Brazil.

³School of Sciences, Humanities and Languages, Bioenergy Research Institute, Bioprocess Unit, São Paulo State University (UNESP), Assis, São Paulo, Brazil.

⁴School of Sciences, Humanities and Languages, Department of Biotechnology, Laboratory of Phytotherapeutic and Natural Products, São Paulo State University (UNESP), Assis, São Paulo, Brazil.

*Corresponding author

Regildo Márcio Gonçalves da Silva

São Paulo State University (UNESP), School of Sciences, Humanities and Languages, Department of Biotechnology, Laboratory of Herbal Medicine and Natural Products, Dom Antonio Avenue 2100, 19806-900, Assis, São Paulo, Brazil.
Tel.: +55 18 33025800.

E-mail: regildo.silva@unesp.br

Abstract

Wheat bran is one of the most abundant by-products from grain milling, which can be used as substrate for solid-state fermentation (SSF) to obtain enzymes able to convert this agro-industrial waste into glucose syrup, which in turn can be applied to produce different food products. The present study aimed to determine centesimal composition of wheat bran, obtain enzymatic extract that converts wheat bran into wheat glucose syrup (WGS), produce rice flakes cereal bars (RFCB), and evaluate their nutritional composition and the presence of functional compounds, as well as their antioxidant potential. Determination of centesimal composition of wheat bran demonstrated its nutritional potential. Enzymatic extract was obtained, and it converted wheat bran into WGS, which were applied to rice flakes producing RFCB. These cereal bars proved to be a source of dietary fiber (1.8 g) and soluble protein (7.2 g) while RFCB produced with corn glucose syrup did not present these nutritional components. In addition, RFCB produced with WGS showed polyphenolic compounds, among them flavonoids, which exhibited antioxidant activity by DPPH and ABTS radical scavenging (47.46% and 711.89 μM Trolox Equivalent/g, respectively), and iron ion reduction (71.70 μM Trolox equivalent/g). Final product maintained organoleptic profile characteristic of cereal bars and it showed a decrease in caloric value and sodium content. Therefore, the present study showed that the bioprocess of SSF yields a nutritional, ecological, and functional food product, which might be of great interest for food industry, adding nutritional and functional value to a well-established product.

Keywords: Agro-industrial waste, Bioactive compounds, Cereal bars, Convenience food, Rice flakes.

1. Introduction

Wheat bran is the main and most abundant by-product of grain milling and it consists of a residue that can be considered a renewable food resource [1, 2]. This waste product is produced in large quantities worldwide, although only 10% of wheat bran generated is used to supplement human food in food industry, while the rest is used for animal feed or as soil fertilizer, which are considered low added-value by-products [3]. Wheat bran is composed of the outermost layer of the wheat grain, known as pericarp, which surrounds the endosperm and germ [4]. During conventional milling, the bran is separated from the endosperm by milling, sifting, and purification processes that result in the refined wheat flour, which is used to produce a wide range of food products [5].

Microorganisms have been used to produce several products, including industrially important biomolecules, although, they have been applied to bio-recycle agro-industrial wastes. The low cost of microorganisms allows the development of economically competitive and eco-friendly processes [6]. In recent years, there has been an increase in the number of studies aimed to identify possible applications of agro-industrial wastes to generate high added-value products [7-9]. These studies have been marked by the attempts to find solutions for environmental problems and reduce bioprocesses costs [10]. Solid-state fermentation (SSF) is one of the processes in which agro-industrial wastes can be used since the physico-chemical nature of these substrates facilitates the growth and development of microorganisms [11].

SSF is a bioprocess that uses a moist, solid, non-soluble organic material that acts as a support and nutrient source for the growth of microorganisms [12, 13]. This process is considered an important approach for bioconversion of agro-industrial wastes. Several industries are benefited by SSF such as pharmaceutical, chemical, and food industries, which can apply this bioprocess to produce useful industrial products [12, 14, 15]. Currently, industries have been investing in research and new bioprocess technologies capable of using agro-industrial wastes to obtain high added-value products such as organic acids, antibiotics, bioethanol, enzymes, secondary metabolites, biofuels, and biosurfactants [15-18].

The operation of SSF can be used to produce different enzymes of industrial interest, mainly amylases that are generally used in the degradation and transformation of substrates composed of lignocellulosic biomass into concentrated sugar syrups [19]. The lignocellulosic biomass is a rich and chemically complex material whose structure is represented by the physico-chemical interaction of cellulose, hemicellulose, and lignin [20]. In order to convert lignocellulosic biomass into sugar syrups by enzymatic hydrolysis a pretreatment step must be undergone to alter its complex structure [21, 22]. The pre-treatment is responsible for exposing the chains of cellulose to enzyme to convert polysaccharides into glucose [23, 24].

Convenience foods refer to foods that have been gaining market popularity due to easy preparation and consumption, reducing the need of time, effort, and cooking skills [25, 26]. Cereal bars are bar-shaped convenient food products, usually prepared by pressing whole or flaked cereals with dried fruit, candied fruit, or berries, which are in most cases held together by glucose syrup [27, 28]. They can be produced using several cereals as basis for the other ingredients, among them rice is commonly used in the form of flakes that are prepared with dehusked rice and consequently are easy to digest. Besides, production process of rice flakes involves rice roasting, which increases shelf life of these flakes [29, 30]. Rice flakes can be used in different preparations, and they are rich in carbohydrates, proteins, vitamins, minerals (Ca, K, Na, Mg, and Fe) and fiber; however, their composition varies depending on the rice varieties and processing methods [31].

One of the most important ingredients in the production of cereal bars is a glucose syrup, which can bind, soften, and sweeten the final product. Glucose syrup is obtained from the hydrolysis of starch, and it is a type of sugar widely used as a raw material in several industries including food, confectionery, beverage, jelly, pharmaceutical, and chemical industries [23, 32]. These industries commonly use glucose syrup from corn or cassava, which is mainly composed by sugars (glucose and sucrose) and does not attribute functional value to the products. Considering that, other sources of starch have been considered such as fruits, seeds, roots, and agro-industrial wastes [32, 33]. Among these wastes, wheat bran has demonstrated to be a promising by-product [34]. Glucose syrup produced from agro-industrial wastes may be an alternative as it provides an ecological and sustainable solution for food industry [35]. Furthermore, it may add functional compounds to food products, increasing their nutritional and economical value [36, 37].

Given the above, consumers have been increasingly concerned about their health and consequently they choose food options that might contribute to health benefits and disease prevention. In recent decades, consumers have demanded “clean label” foods, an eco-friendly movement aimed at improving quality of foods [38]. Considering that, the present study aimed to produce enzymes by bioprocess of SSF and subsequently generate wheat glucose syrup (WGS) to incorporate in rice flakes to produce rice flakes cereal bars (RFCB). It also aimed to determine nutritional composition of RFCB and evaluate the presence of functional compounds and their antioxidant potential.

2. Material and Methods

2.1 Obtaining wheat bran

The wheat bran was provided by Moinho Nacional Ltda. (Assis, São Paulo, Brazil) in the form of powder (bran) packaged in vacuum bags. The wheat bran obtained by extrusion process, where 86% of the bran was retained on 14 and 24 mesh sieves, which corresponded to particle sizes that varied from 1.18 and 0.71 mm. Wheat bran presented initial moisture content of 55% and it was stored in a cold chamber at -10°C.

2.2 Centesimal characterization of wheat bran

2.2.1 Total starch determination

Starch determination was carried out following colorimetric method described by Freitas et al. [39]. Samples were homogenized at 80°C for 20 min before analysis. 4.8 mL HCl (0.1 M) and 0.1 mL of sample were mixed in reaction tubes and 0.15 mL of iodine solution (0.5 g/L of sublimated iodide and 1 g/L KI) were subsequently added. Absorbances were read at 620 nm using a spectrophotometer (BelPhotonics Brazil) and results of starch quantification were determined by means of a standard curve plotted with starch solution (Sigma Aldrich, Brazil) gelatinized from 0 to 8 mg/mL.

2.2.2 Moisture determination

Moisture was determined by gravimetric method. Samples were placed in pre-weighted dishes, which were heated in an oven at 105°C until a constant weight was reached. The difference of weight before and after heating process was used to determine moisture content.

2.2.3 Ash determination

Ash determination was carried out by gravimetric method. Samples were placed in pre-weighted crucibles, which were incinerated in a muffle furnace (Spencer, Iperó, Brazil) at 550°C for 5 h. Then, samples were maintained in a desiccator until room temperature was achieved. The difference of weight before and after heating process was used to determine ash content [40].

2.2.4 Lipid determination

Soxhlet flask was dried at 105°C, weighted on an analytical balance and coupled to the extractor with petroleum ether. Three grams of each sample was transferred into folded filter paper that was then placed in the extractor. The apparatus was cooled to 20°C in a water bath for condensation and the flask was heated using a thermal blanket. Samples were kept for 10 h in ether washes. Afterwards, the flask was dried at 105°C and maintained in a desiccator until room temperature was reached. The difference of weight between empty flask and flask with lipids was used to determine lipids content [41].

2.2.5 Protein determination

Protein determination was performed according to AOAC [41]. 0.1 g of sample was mixed with 1 g of catalyst and 3 mL of sulfuric acid in digestion tubes and then the mixture was heated at 350°C. After cooling, 5 drops of phenolphthalein were added, and tubes were connected to distillation apparatus. NaOH (40%, w/v) was added to the digested sample and the distillate was collected in an Erlenmeyer containing 10 mL of H₃BO₃ solution with 2 drops of methyl red and bromocresol green. The distillate was titrated against 0.02 N HCl solution until a pink color was observed.

2.2.6 Crude fiber determination

The analysis of total crude fiber content was performed according to AOAC [41]. Using acidic and basic solutions for digestion of carbohydrates, lipids, among other compounds for fiber determination.

2.2.7 Carbohydrate content

The carbohydrate content was determined by the calculation of the difference between measured values of moisture, ash, proteins, and lipids subtracted from 100% [42].

2.3 Obtaining amylolytic enzymes

2.3.1 Preparation of microorganism and inoculum

Rhizopus oligosporus (CCT 3762) was acquired from Fundação Tropical de Pesquisas e Tecnologia “André Tosello”, Campinas, São Paulo, Brazil. Fungal strains were cultivated in plates containing potato dextrose agar (PDA) (Difco, USA) for 7 days at 30°C. Viable spores from the culture were harvested under sterile conditions by flooding the plates with Tween 80 in ultrapure water (0.01%, v/v). The spore suspension was used as inoculum for SSF.

2.3.2 Solid-state fermentation (SSF)

SSF was performed in 250 mL erlenmeyer flasks containing 10 g of wheat bran (dry basis), moistened with an aqueous nutritive solution (ammonium sulfate (1.25%, w/w), monobasic potassium phosphate (0.25%, w/w), and urea (1.25%, w/w)) optimized for the microorganism under study [43]. Substrate moisture was adjusted to 55%, followed by sterilization (121°C, 1 atm, 20 min) and aseptic inoculation with 10^6 spores per gram of substrate. After fermentation, the enzymes were extracted using 10 mL distilled water per gram. The mixture was shaken for 30 min at 28°C in an orbital shaker operating at 180 rpm. Then, enzyme extract was filtered and used to measure enzymatic activity [44].

2.3.3 Amylolytic activity

Amylolytic activity was measured using 5-dinitrosalicylic acid (DNS) method described by Miller [45]. 100 μ L of enzyme extract and 650 μ L of substrate (soluble starch (0.5%, w/v) in 0.05 M sodium acetate buffer (pH 5.5)) were incubated for 10 min at 60°C. Then, 500 μ L of DNS solution were added and the mixture was heated in boiling water bath for 5 min and diluted in 3.75 mL distilled water. Absorbances were measured at 540 nm using glucose as standard. One unit of enzyme activity was defined as the amount of enzyme that releases one μ mol of reducing sugars per minute and results were expressed as units per gram of dry substrate (U/g).

2.4 Obtaining WGS

2.4.1 Gelatinization of wheat bran using enzymatic fermentation broth

The gelatinization was carried out with constant agitation and varying time (30, 60, or 90 min), temperature (70, 80, or 90°C), and wheat bran concentration (5, 10, or 15%) to determine the best condition for gelatinization [46].

2.4.2 Enzymatic hydrolysis and production of WGS

For the analysis of enzymatic hydrolysis of wheat bran, the enzymatic extract produced in SSF was used. The substrate (wheat bran (10%, w/v) in 0.05 M sodium acetate buffer (pH 4.5)) was gelatinized at 70°C for 30 min. After that, temperature was reduced to 50°C for the addition of 15 U/g of enzymatic extract and the mixture was incubated at 24 h. After the reaction, hydrolysate was boiled for enzymatic inactivation and centrifuged at 3000g for 15 min. The supernatant was removed, and the reducing sugar was measured by the DNS method and total reducing sugars was evaluated by the method described by Miller [45]. After this process, the resulting WGS was concentrated in an evaporator. Crude WGS was considered as 100%, which was diluted for the analyses.

2.5 Obtaining raw material for the production of RFCB

The ingredients to produce the RFCB were purchased from local specialized stores in Assis, São Paulo, Brazil (-22°39'40" S and -50°23'58" W, at 560 m) except for WGS, which was produced in our laboratory by enzymatic hydrolysis of wheat bran. Rice flakes, white sugar, water, and corn glucose syrup (CGS) or WGS were used to obtain the

RFCB. CGS (commercial product) was used as control. Crude CGS was assumed as 100%, which was diluted for the analyses.

The RFCB were prepared using 100g rice flakes, 100g white sugar, 15 mL water and 30 mL glucose syrup (corn or wheat) (Fig 1). Sugar and water were mixed and heated to an average temperature of 120°C until caramelization. After that, glucose syrup (corn or wheat) was added and when the mixture reached point of candy, rice flakes were added. The ingredients were incorporated to form a homogeneous caramelized mass that was poured evenly onto a stainless-steel surface coated with non-stick baking paper. After cooling, the prepared mixture was cut into bars of 7 cm × 5 cm × 1 cm. RFCB were wrapped in plastic film and stored at room temperature (Fig 2). Rice flakes and RFCB produced with CGS or WGS were grounded, and solutions were prepared at 10 mg/mL (considered as 100%), which were diluted for the analyses.

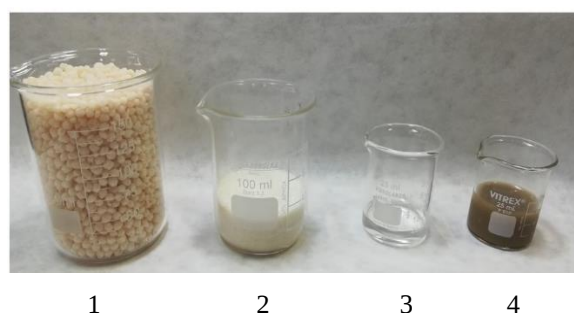


Fig 1. Raw materials used to produce rice flakes cereal bars (RFCB), where 1: 100g rice flakes, 2: 100g white sugar, 3: 15 mL water, and 4: 30 mL glucose syrup (corn or wheat).

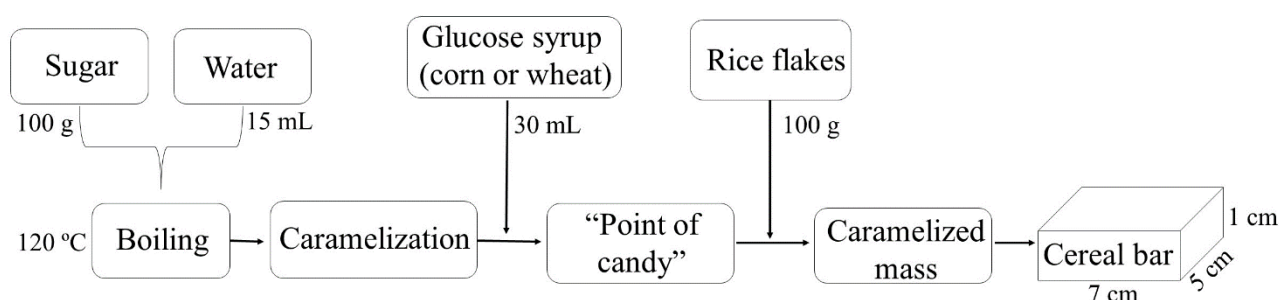


Fig 2. Flowchart of the production of rice flakes cereal bars (RFCB).

2.6 Determination of bioactive compounds of WGS, CGS, RFCB, and rice flakes

2.6.1 Determination of total polyphenols content

Total polyphenols content was evaluated following Folin-Ciocalteu method as reported by Singleton and Rossi [47] and adapted by Silva et al. [48]. 250 μ L samples, 2.5 mL distilled water, and 125 μ L Folin-Ciocalteu reagent were mixed. Then, 500 μ L 10% Na_2CO_3 were added, and the mixture was incubated for 1 h. Absorbance was measured at 765 nm and total polyphenols content was expressed as mg gallic acid equivalent per gram of dry weight (mg GAE/g DW).

2.6.2 Determination of total flavonoids content

Total flavonoids content was evaluated by aluminum chloride method as reported by Christ and Müller [49] and adapted by Silva et al. [48]. 250 μ L samples, 1.25 mL distilled water, 75 μ L 5% NaNO_2 , and 150 μ L AlCl_3 were mixed. Afterwards, 500 μ L 1M NaOH was added, and the volume was completed with 2.5 mL distilled water. Absorbance was

measured at 510 nm and total flavonoids content was expressed as mg rutin equivalent per gram of dry weight (mg RE/g DW).

2.6.3 Determination of total soluble proteins content

Total soluble proteins were determined by Bradford method as described by Bradford [50]. 10 µL samples (0.1 mg/mL), 790 µL distilled water, and 200 µL Bradford reagent were mixed. The mixture was incubated at room temperature for 5 min and absorbance was measured at 595 nm. The total soluble proteins content was calculated using a calibration curve plotted with bovine serum albumin (BSA).

2.6.4 Determination of reducing sugar content

Reducing sugar was quantified by DNS method as described by Miller [45]. 1 mL samples (0.1 mg/mL), and 500 µL DNS solution was added and the mixture was placed in a water bath at 100°C for 5 min. Then, the mixture was diluted in 3.75 mL distilled water and absorbances were read at 540 nm using glucose as standard. An enzymatic unit was defined as the amount of enzyme that releases 1 µmol of glucose per minute of reaction.

2.7 Evaluation of antioxidant activity of WGS, CGS, RFCB, and rice flakes

2.7.1 DPPH free radical scavenging activity

Antioxidant activity was carried out using DPPH method according to Rufino et al. [51]. 1 mL of acetate buffer (100 mM/pH 5.5), 1.25 mL ethanol, 250 µL DPPH (500 µM) and 50 µL of samples were mixed and kept in dark for 30 min. Absorbances of samples were read at 517 nm using a spectrophotometer (BelPhotonics Brazil). Results were calculated following the formula: Antioxidant activity (%) = $[(\text{Control} - \text{Samples}) / \text{Control}] \times 100$, where Control is the absorbance of control, Samples is the absorbance of samples.

2.7.2 Iron ion reducing potential (FRAP)

Antioxidant evaluation by FRAP test was conducted according to Guimarães et al. [52]. 2.7 mL FRAP reagent (acetate buffer (300 mM/pH 3.6) + TPTZ (10 mM/40 mM HCl) + FeCl₃.6H₂O (20 mM) at 10:1:1 (v/v/v)), 270 µL ultrapure water and 90 µL of samples were mixed in a test tube. This solution was heated for 30 min at 37°C and then absorbances were read using a spectrophotometer at 593 nm. Results were calculated and expressed as µM Trolox Equivalent (TE) per gram of sample.

2.7.3 ABTS radical scavenging test

Antioxidant activity was conducted according to Re et al. [53] by the evaluation of ABTS radical scavenging potential. 7 mM ABTS and 2.45 mM potassium persulphate were mixed for the preparation of ABTS solution, which was incubated 12-16h at 23°C in dark. Afterwards, this solution was mixed with 80% ethanol until it reached absorbance of 0.700 at 734 nm obtained with a UV-Vis spectrophotometer. 0.1 mL of samples were added to 3.9 mL of ABTS solution, which was vigorously vortexed and kept at 23°C for 6 min. Absorbances were measured at 734 nm and results were presented as µM Trolox Equivalent (TE) per gram of sample.

2.8 Design of Nutrition Facts label

Nutrition Facts label was designed according to the Brazilian Food Composition Table [54]. The data obtained from the analyses and nutritional information from the raw materials served as basis to calculate and indicate micro- and macronutrients content of RFCB in the Nutrition Facts label including calories (Kcal), carbohydrates, proteins, total fat,

saturated fat, trans fat, dietary fiber, and sodium. Information regarding bioactive compounds with functional properties were included as defined by current Brazilian Health Regulatory Agency (ANVISA) regulation [55].

2.9 Statistical analysis

Statistical analysis was performed with one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey test using BioEstat 5.0 software.

3. Results and Discussion

3.1 Centesimal characterization of wheat bran

Centesimal characterization of wheat bran evaluated in this study demonstrated a starch concentration of 52%, which was lower than values obtained by Shang et al. [56] and Babu et al. [57] that reported starch concentration greater than 80% in wheat bran. However, Onipe et al. [34], Kong et al. [58], and Ye et al. [59] reported lower starch concentration percentage than that observed in the present study. These variations may be attributed to grain processing stage, which could present higher or lower values according to the desired final product.

Wheat bran presented a moisture content of approximately 14%, which differed from study performed by Shang et al. [56] that showed 8.1% moisture content in wheat bran. Moisture content is a parameter directly correlated to storage, packaging, and transportation of grains; thus, the variation of values may be found considering that wheat bran is an agro-industrial waste exposed to several conditions. Wheat bran showed 3.83% ash content and this value is in accordance with that found by Shang et al. [56], which evaluated the presence of mineral components and reported 3.9% ash content. Wheat bran presented 2.15% lipid content, which was lower than values observed by studies conducted by Yadav et al. [60] and Ye et al. [59]. According to Babu et al. [61], lipids in wheat bran, even at low concentrations, can be beneficial to animal and human health due to their quality and specificity. Wheat bran also showed 12.89% crude fiber content and this value indicates that this agro-industrial waste is an important source of fibers due to the presence of cellulose, hemicellulose, and lignin. However, Babu et al. [61] and Ye et al. [59] reported an approximate percentage of 43.24% fiber content in wheat bran, which demonstrates that this waste may present high percentage of fibers under specific conditions, and it reinforces the possible application of the wheat bran in animal and human nutrition.

Wheat bran presented 18.29% protein content, which was higher than that observed by Papageorgiou and Skendi [62] and Kaur et al. [63] that evaluated this waste in different conditions and reported 8.14% protein content. The carbohydrate content was determined by the difference between moisture, ash, lipid, and protein content, and it showed 61.84%. This value is in accordance with that reported by Javed et al. [64] and Babu et al. [61] and it indicates that the wheat bran evaluated in this study is a rich source of carbohydrates. The presence of carbohydrates can favor extraction and gelatinization processes, besides it may present viscosity gain and water binding capacity, highlighting this agro-industrial waste as an important source of nutritional compounds of great interest for food industry.

3.2 Obtaining amylolytic enzymes

3.2.1 Solid-state fermentation (SSF)

The development of an economically viable bioprocess focus on maximizing enzyme production with the lowest cost [65, 66]. The use of agro-industrial waste as substrate and minimal nutrient supplementation leads to a low-cost bioprocess [67]. In this study, enzyme production was significantly influenced by fermentation time, which lasted approximately 120 h at 37°C. The substrate initially presented a brown color before inoculation due to the sterilization process; however, it acquired a darker color during fermentation process due to *R. oligosporus* growth in the solid matrix. The color and aroma changes in the substrate (wheat bran) indicate that the fermentation has occurred. It also demonstrates

that the presence of nutrients dispersed throughout the fermentation process may have contributed to the growth of the microorganisms and consequently to the conversion of the nutrients from agro-industrial waste into added value product. Therefore, it was observed that the parameters for SSF in the present study were ideal for obtaining amylase. Similar studies performed by Andrade [68] and Prado et al. [69] also showed promising results in SSF using 5 strains of *Rhizopus* sp. on different substrates, although, they did not exhibit the same capacity to produce enzyme, which may be related to fermentation parameters such as time and temperature.

3.2.2 Amylolytic activity

Enzyme production in the present study was conducted on a laboratory scale model suitable to produce amylolytic enzymes, resulting in 279.92 U/g. This result is in accordance with Bachi et al. [70] that demonstrated that wheat bran is a good source of nutrients to produce amylase by fermentation process. The result is similar to those obtained by Escaramboni et al. [44] and Yang et al. [71] who used the same microorganism and substrate to obtain amylolytic enzymes. According to Núñez et al. [72] and Melnichuk et al. [73] the production of amylase using agro-industrial waste is a promising approach, indicating that enzymes obtained by SSF in this study provide a possible application for the food industry.

3.3 Obtaining WGS

3.3.1 Gelatinization of wheat bran using enzymatic fermentation broth

The gelatinization of wheat bran was monitored through determination of different parameters, and the best conditions were observed at 70°C for 30 min (Fig 3) using 15 grams of wheat bran. The efficiency of conditions was evaluated by a standard curve of iodine equation: $y = 0.0203x + 0.0985$ ($R^2 = 0.9974$) and the result is in accordance with study conducted by Freitas et al. [39] that used cassava starch and wheat bran as substrate, *R. oligosporus* as microorganism, and obtained the best condition at 60 to 80°C for 5 h.

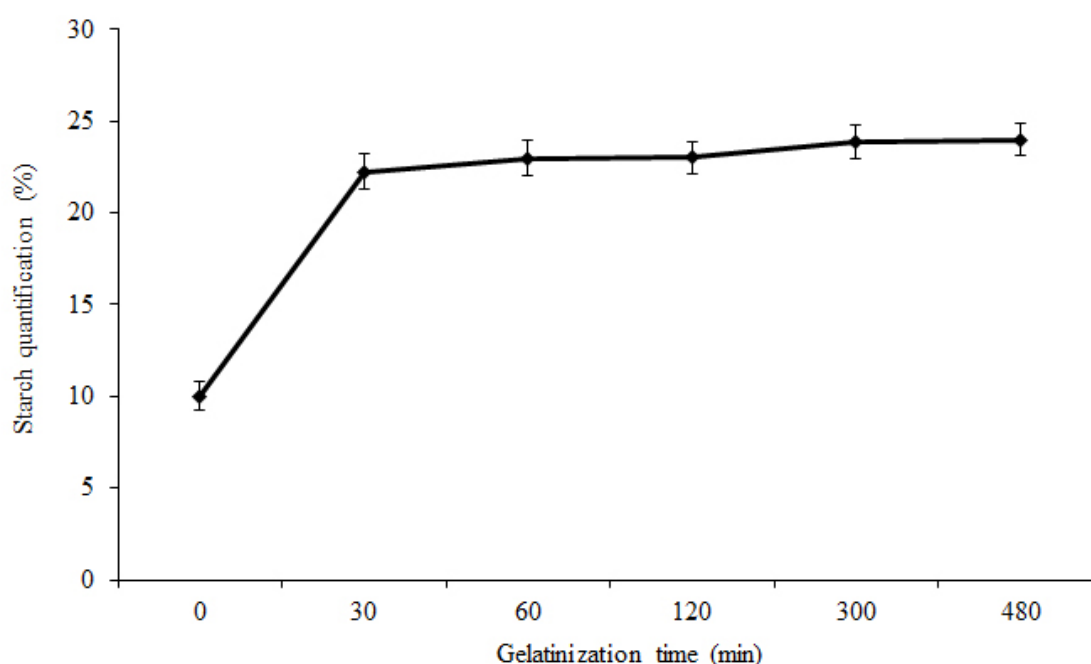


Fig 3. Gelatinization of wheat bran (70°C) over time for starch extraction.

3.3.2 Enzymatic hydrolysis and production of WGS

According to the profiles of enzymatic hydrolysis, a gradual decrease in starch hydrolysis was observed through time (Fig 4). The highest conversion occurred in the 1st hour where it exhibited 2.87 mg/mL reducing sugar (glucose) and 47% starch hydrolysis. The lowest conversion was observed at the 7th hour presenting 0.53 mg/mL reducing sugar and 13% starch hydrolysis. These results corroborate with studies conducted by Escaramboni et al. [74] and Freitas et al. [39] that demonstrated 96% starch hydrolysis and conversion into glucose using amylase obtained by SSF using *R. oligosporus*, although, they required a period of 48h.

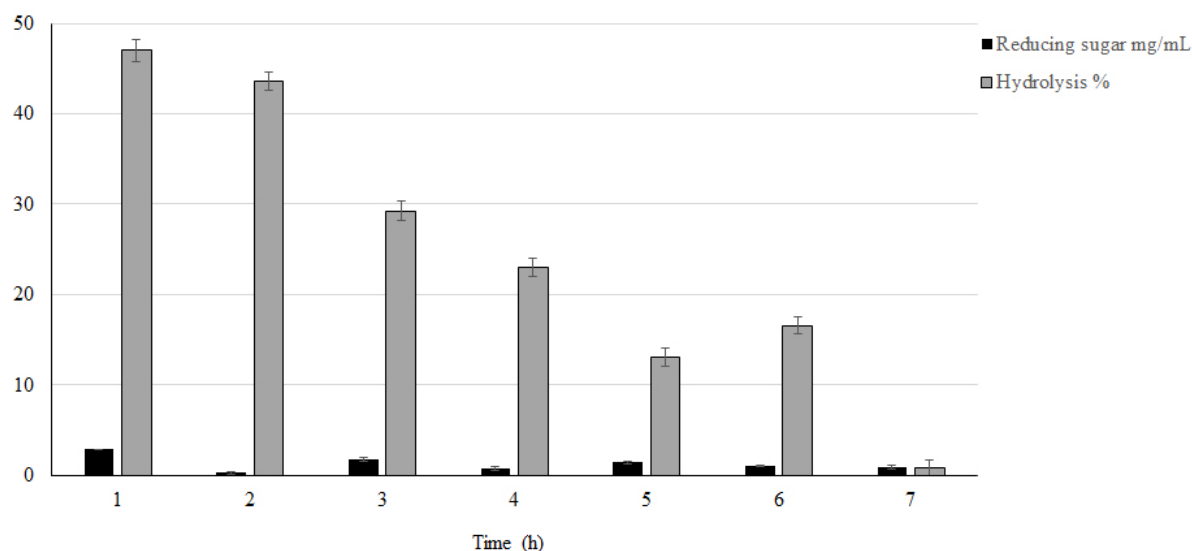


Fig 4. Concentration of reducing sugar and percentage of starch hydrolysis using enzymatic extract at 70°C.

3.4 Production of RFCB

The RFCB produced with either CGS or WGS exhibited similar organoleptic characteristics such as consistency, flavor, and taste, generating a crunchy and sweet product. However, these cereal bars presented different colors (cereal bars with CGS showed a dark caramel color and cereal bars with WGS showed a light caramel color) (Fig 5). Studies performed by Vollmuth [75], Kocadağlı and Gökmen [76] and Aydın et al. [77] demonstrated that the caramel color of food products is directly correlated with the amount and type of sugar. In addition, they demonstrated that antioxidant compounds in the product might result in a light caramel color, which was observed in the present study.

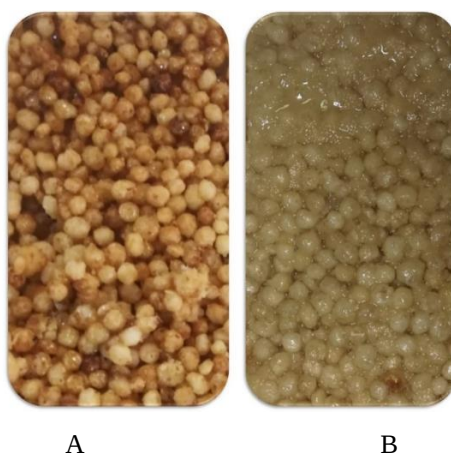


Fig 5. Rice flakes cereal bars (RFCB) produced with corn glucose syrup (CGS) (A) or wheat glucose syrup (WGS) (B).

3.5 Determination of bioactive compounds in WGS, CGS, RFCB, and rice flakes

Table 1 shows total polyphenols and flavonoids content at different concentrations of WGS. The glucose syrup presented the highest content at 25% (589.25 mg GAE/g DW for polyphenols and 152.36 mg RE/g DW for flavonoids) and it showed a dose-dependent behavior. On the other hand, CGS (control) did not show total polyphenol and flavonoids content at the same concentrations evaluated for WGS.

Table 1. Determination of total polyphenols and flavonoids content of wheat glucose syrup (WGS) or corn glucose syrup (CGS).

Concentration (%)	Total polyphenols ¹		Total flavonoids ²	
	WGS	CGS	WGS	CGS
1	181.88±3.24a	ND	50.20±1.12a	ND
5	363.00±1.19b	ND	71.25±1.10b	ND
10	574.00±2.25c	ND	128.20±3.17c	ND
25	589.25±2.20d	ND	152.36±3.10d	ND

Results presented as mean±standard deviation. ¹mg gallic acid equivalent (GAE)/g dry weight (DW), ²mg rutin equivalent (RE)/g DW, ND: not detected. Same letters within the same column indicate no significant differences by Tukey test ($p \leq 0.05$).

Table 2 shows total polyphenols and flavonoids content of rice flakes and RFCB produced with WGS. Rice flakes did not exhibit total polyphenols and flavonoids content at any evaluated concentration, while the RFCB showed a concentration-dependent manner. The highest total flavonoids content (85.5 mg RE/g DW) was observed at 25% and it differed from other concentrations. On the other hand, total polyphenols content (43.96 mg GAE/g DW) was observed at the same concentration, although, it did not differ statistically from RFCB at 10%.

Table 2. Total polyphenols and flavonoids content of rice flakes and rice flakes cereal bars (RFCB) produced with wheat glucose syrup (WGS).

Concentration (%)	Total polyphenols ¹		Total flavonoids ²	
	RFCB/WGS	Rice flakes	RFCB/WGS	Rice flakes
1	39.70±1.10a	ND	53.2±1.20a	ND
5	41.90±1.15ab	ND	58.2±1.24b	ND
10	43.00±1.12b	ND	62.2±1.17c	ND
25	43.96±1.11b	ND	85.5±2.10d	ND

Results presented as mean±standard deviation. ¹mg gallic acid equivalent (GAE)/g dry weight (DW), ²mg rutin equivalent (RE)/g DW, ND: not detected. Same letters within the same column indicate no significant difference by Tukey test ($p \leq 0.05$).

According to total sugars analysis, WGS at 25% presented 41.73% total sugar content of which 29.4% were reducing sugars. CGS at the same concentration exhibited 87.73% total sugar of which 94.35% reducing sugars. In the reducing sugars analysis, RFCB produced with WGS presented 3.43 mg/mL and cereal bars produced with CGS exhibited 5.85 mg/mL. Studies carried out by Srebernich et al. [78] and Klerks et al. [79] showed that RFCB that undergo caramelization have less than 1% reducing sugars and most of these sugars are sucrose, a non-reducing disaccharide. Although, the decrease of reducing sugars content in food products is highly recommended, considering that the consumption of these type of sugars can cause damage to human and animal health, as demonstrated by Stanner and Spiro [80] and Huang et al. [81]. In the present study, it was possible to observe that RFCB produced with WGS maintained its

organoleptic characteristics and exhibited a decrease of 41.36% in reducing sugars content compared to RFCB produced with CGS.

Total soluble protein determination showed that WGS exhibited 172.90 mg BSAE/mL, and CGS did not present total soluble proteins in its composition. In the total soluble protein's determination, RFCB produced with WGS presented 165.9 mg BSAE/mL of total soluble proteins content, while cereal bars produced with CGS did not present total soluble proteins in their composition. Similarly, rice flakes did not exhibit total soluble proteins content. According to Garcia et al. [82] and Shanmugam et al. [83], total proteins content in products derived from rice grains depends on the industrial processes for which they undergo after harvest. Patle et al. [84] demonstrated that species and varieties of rice significantly interfere with protein composition of rice flakes. Thus, it was possible to observe that RFCB produced with WGS exhibit total soluble proteins content, which could be attributed to the presence and incorporation of soluble proteins from WGS.

Recent study performed by Yafetto [17] have shown that different agro-industrial wastes can represent an important source of free bioactive compounds. In the present study, WGS presented polyphenolic compounds, among them flavonoids, and soluble proteins that can result in a more nutritional and functional food product compared to CGS that did not show the presence of these compounds. In addition, WGS showed a lower reducing sugar content compared to CGS, although, this content could be reduced with further studies on industrial production of WGS.

3.6 Evaluation of antioxidant activity of WGS, CGS, RFCB, and rice flakes

Table 3 shows the percentages of antioxidant activities of WGS and CGS determined by DPPH, FRAP and ABTS tests. It is possible to observe that DPPH scavenging capacity increased according to the concentration and the greatest antioxidant activity (52.23%) was observed at the highest concentration (25%). Furthermore, all concentrations differed significantly from each other. In FRAP assay, the highest antioxidant activity (525.58 μ M Trolox equivalent/g of syrup) was observed at 25%, although, this result did not differ statistically from the antioxidant activity at 10%. In ABTS test, WGS exhibited concentration-dependent manner and the greatest scavenging activity (981.88 μ M Trolox equivalent/g of syrup) was observed at the highest concentration (25%). CGS did not show antioxidant activity evaluated by DPPH, FRAP and ABTS tests.

Table 3. Antioxidant activity of wheat glucose syrup (WGS) and corn glucose syrup (CGS) by DPPH and ABTS radical scavenging and iron ion reduction (FRAP) tests.

Concentration (%)	DPPH ¹		FRAP ²		ABTS ³	
	WGS	CGS	WGS	CGS	WGS	CGS
1	15.52±1.12a	ND	ND	ND	84.11±0.01a	ND
5	26.26±1.24b	ND	40.36±2.71a	ND	488.55±0.00b	ND
10	38.80±0.21c	ND	521.30±3.12b	ND	899.66±0.05c	ND
25	52.23±1.21d	ND	525.58±3.01b	ND	981.88±0.01d	ND

Results presented as mean±standard deviation. ¹%Antioxidant activity, ^{2,3} μ M Trolox equivalent/g, ND: not detected. Same letters within the same column indicate no significant differences by Tukey test ($p \leq 0.05$).

The antioxidant activity of rice flakes and RFCB produced with WGS evaluated by DPPH, FRAP and ABTS tests are presented in Table 4. Rice flakes did not present antioxidant activity in DPPH, FRAP and ABTS tests; however, RFCB exhibited antioxidant activity at all concentrations and tests. Nevertheless, the highest antioxidant activity in DPPH test (47.46%) was observed at 25%, although this value did not differ statistically from all concentrations. These RFCB presented 71.70 μ M Trolox equivalent/g at 25% in FRAP test and this value was significant different from all

concentrations. For ABTS test, RFCB produced with WGS exhibited concentration-dependent antioxidant activity and the greatest activity (711.89 μM Trolox equivalent/g) was observed at the highest concentration (25%).

Table 4. Antioxidant activity of rice flakes and rice flakes cereal bars (RFCB) produced with wheat glucose syrup (WGS) by DPPH and ABTS radical scavenging and iron ion reduction (FRAP) tests.

Concentration (%)	DPPH ¹		FRAP ²		ABTS ³	
	RFCB/WGS	Rice flakes	RFCB/WGS	Rice flakes	RFCB/WGS	Rice flakes
1	45.67 $\pm$ 1.11a	ND	51.70 $\pm$ 1.02a	ND	103.00 $\pm$ 0.00a	ND
5	45.78 $\pm$ 1.12a	ND	64.70 $\pm$ 0.25b	ND	441.89 $\pm$ 0.00b	ND
10	46.98 $\pm$ 1.10a	ND	65.00 $\pm$ 1.12b	ND	599.67 $\pm$ 0.00c	ND
25	47.46 $\pm$ 1.16a	ND	71.70 $\pm$ 1.70c	ND	711.89 $\pm$ 0.03d	ND

Results presented as mean $\pm$ standard deviation. ¹% Antioxidant activity, ^{2,3} μM Trolox equivalent/g, ND: not detected. Same letters within the same column indicate no significant difference by Tukey test ($p \leq 0.05$).

In recent decades, the products and by-products of wheat have been widely studied for their nutritional composition and the possible use as a source of functional compounds. Studies conducted by Janiak et al. [85], López-Perea et al. [86], Mao et al. [87], Jimenez-Pulido et al. [88] and Wayenbergh et al. [89] have shown that *in natura* or low processed wheat bran presents compounds with antioxidant activity, which are important for human and animal health, and these findings strongly contribute to studies of application of this agro-industrial waste in food industry. Moreover, the present study shows for the first time that WGS produced by enzymes obtained from SSF of wheat bran with *R. oligosporus*, maintained antioxidant compounds, generating a nutritional and functional final product.

The present study demonstrated that RFCB produced with WGS present polyphenols and flavonoids content. In addition, these cereal bars exhibit antioxidant activity in DPPH and ABTS scavenging, and iron ion reduction, indicating that this RFCB may be identified as a functional food. Besides, this activity may be attributed to the presence of WGS and its functional compounds. Studies carried out by Deepa and Singh [29], Bagchi et al. [90], and Amrinola et al. [91] have shown that the phenolic composition and antioxidant activity of rice bran is only observed when rice is obtained in the form of flakes, and it is enriched with pigmented compounds. This report corroborates with results obtained in the present study, which showed antioxidant results only for RFCB produced with WGS.

3.7 Nutritional Facts label

Fig 6 shows the Nutrition Facts label of RFCB produced with WGS (Fig 6A) or CGS (Fig 6B). For a serving size of 50 g, RFCB produced with WGS presented higher nutritional value, providing 7.2 g of soluble protein and 1.8 g of dietary fiber, and exhibiting less calories (108 kcal), carbohydrate (20 g) and sodium (17 mg). On the other hand, RFCB produced with CGS did not present soluble protein and dietary fiber and it showed high values of calories, carbohydrate and sodium.

A

Nutrition Facts		
Serving Size 50 g (1 unit)		
Amount Per Serving		%DV (*)
Calories	108 kcal = 452 kJ	3.4%
Carbohydrate	20 g	6.6%
Protein	7.2 g	9.6%
Total fat	-	-
Saturated Fat	-	-
Trans Fat	0 g	-
Dietary Fiber	1.8 g	7.2%
Sodium	17 mg	0.7%
(*) % Daily Values are based on a 2,000 calorie diet. Your Daily Values may be higher or lower depending on your calories needs.		
- Daily Value not established.		
This product contains bioactive compounds with functional properties.		

B

Nutrition Facts		
Serving Size 50 g (1 unit)		
Amount Per Serving		%DV (*)
Calories	292 kcal = 1222 kJ	5.4%
Carbohydrate	24 g	8.0%
Protein	0 g	-
Total fat	-	-
Saturated Fat	-	-
Trans Fat	0 g	-
Dietary Fiber	0 g	-
Sodium	29.5 mg	1.2%
(*) % Daily Values are based on a 2,000 calorie diet. Your Daily Values may be higher or lower depending on your calories needs.		
- Daily Value not established.		

Fig 6. Nutrition Facts label of the rice flakes cereal bars (RFCB) produced with wheat glucose syrup (WGS) (A) or corn glucose syrup (CGS) (B).

According to studies conducted by Ryland et al. [92], Machín et al. [93], and Ballco and Garcia [94], the nutritional information provided in Nutrition Facts labels must guarantee the composition, nutritional characteristics, and validity of products. This information can be complemented when bioactive compounds with functional properties such as antioxidants are incorporated in the composition, benefiting products and consumers, and adding economic and nutritional value to the final product. In the present study, it was demonstrated that RFCB produced with WGS showed superior quality compared to those produced with CGS, presenting a high-quality product with higher soluble proteins and dietary fibers, and lower caloric value and sodium content. Moreover, it also presented bioactive compounds including polyphenolic compounds, among them flavonoids, which provides functional properties to the cereal bars.

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.

CRedit authorship contribution statement

CCMF: Conceptualization, Methodology, Investigation, Writing - Original Draft; **FOG:** Investigation, Writing - Review & Editing; **LPS and IFAN:** Formal analysis; **JFS, BE and PON:** Formal analysis and Investigation; **RMGS:** Conceptualization, Methodology, Investigation, Writing - Original Draft, Supervision and Project administration.

Funding

This research did not receive any specific grant from funding agencies.

Data availability

The authors declare that the data supporting the findings of this study are available within the article and there is no hidden or supplementary data.

Acknowledgments

This study was supported by the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) - Process number: 142384/2019-4

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

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>