

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

LAURA LUISI ANTUNES

**ATIVIDADE PREBIÓTICA DOS CARBOIDRATOS EXTRAÍDOS DO FARELO DE
ARROZ DESENGORDURADO**

MEDIANEIRA

2022

LAURA LUISI ANTUNES

**ATIVIDADE PREBIÓTICA DOS CARBOIDRATOS EXTRAÍDOS DO FARELO DE
ARROZ DESENGORDURADO**

Prebiotic activity of carbohydrates extracted from defatted rice bran

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Deisy Alessandra Drunkler.

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Eliane Colla.

MEDIANEIRA

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do seu trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Medianeira



LAURA LUISI ANTUNES

ATIVIDADE PREBIÓTICA DOS CARBOIDRATOS EXTRAÍDOS DO FARELO DE ARROZ DESENGORDURADO

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestra Em Tecnologia De Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologia De Alimentos.

Data de aprovação: 21 de Dezembro de 2021

Prof.a Deisy Alessandra Drunkler, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof Flavio Dias Ferreira, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Luciane Maria Colla, Doutorado - Universidade de Passo Fundo (Upf)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 21/12/2021.

AGRADECIMENTOS

À minha família, principalmente meus pais Silvia e Evando, e minha irmã Mariany, por estarem sempre do meu lado, pelo apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida. Sem vocês nada seria possível!

À minha orientadora Dr^a. Deisy A. Drunkler e coorientadora Dr^a. Eliane Colla pela disponibilidade, paciência, ensinamentos, dedicação e contribuições para desenvolvimento desse trabalho.

Aos meus colegas de turma e/ou laboratório por todos conhecimentos compartilhados durante este período, assim como as contribuições para a realização dessa pesquisa, em especial as alunas de iniciação científica Maria Luiza e Ana Leticia.

Ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos (PPGTA – UTFPR), pela oportunidade e ao corpo docente por todo conhecimento passado, que puderam enriquecer os meus estudos e a minha vida de acadêmica, assim como a Central Analítica Multiusuária de Medianeira (CEANMED – UTFPR), por toda estrutura física disponibilizada para realização deste projeto.

À empresa IRGOVEL, em nome de Adreano, pela doação do farelo de arroz desengordurado.

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná pela bolsa de mestrado (UTFPR – Recursos Próprios 2020).

RESUMO

O farelo de arroz, subproduto do processamento do arroz, representa cerca de 6 – 12% do grão *in natura*, com uma composição rica nutrientes, em especial elevadas concentrações de carboidratos com potencial efeito prebiótico. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade prebiótica dos carboidratos (CHO) extraídos do farelo de arroz desengordurado (FAD) por extração assistida por ultrassom (CFSU) e tratamento hidrotérmico (CFTH), por meio da avaliação da digestibilidade *in vitro* dos açúcares, do seu potencial de utilização como fonte de açúcar para o crescimento de microrganismos probióticos (*L. acidophilus* LA-05, *L. casei*-01, *L. plantarum* BG 112 e *L. rhamnosus* ATCC 53103), escore de atividade prebiótica e atividade metabólica bacteriana (valores de pH, consumo de açúcares e produção de ácidos). Os extratos (CFSU e CFTH) também foram caracterizados quanto seu conteúdo total de carboidratos, rendimento de extração, perfil de carboidratos e grupos funcionais. O método ultrassônico mostrou-se mais eficiente na extração dos carboidratos ($0,590 \pm 0,001$ g CHO g⁻¹ extrato e 96,72% de rendimento) em comparação com o tratamento hidrotérmico ($0,507 \pm 0,004$ g CHO g⁻¹ extrato e 83,11% de rendimento). Os dois extratos mostraram-se semelhantes em relação ao espectro FTIR e ao perfil de carboidratos, com a presença dos açúcares glicose, estaquiose e arabinose em sua composição. CFSU e CFTH demonstraram um baixo grau de hidrólise sob as condições de digestibilidade *in vitro*, principalmente a uma concentração inicial de 15 g L⁻¹ de amostra ($4,44 \pm 0,48\%$ e $5,72 \pm 1,50\%$, respectivamente), aumentando na concentração de 30 g L⁻¹ ($11,74 \pm 0,18\%$ e $17,99 \pm 2,44\%$, respectivamente). Os ensaios com CFTH e CFSU proporcionaram contagens semelhantes ($p > 0,05$) de células viáveis probióticas ($> 8,0$ e $8,8$ log UFC mL⁻¹, na concentração de 15 e 30 g L⁻¹, respectivamente) após 48 h de cultivo, assim como escores de atividade prebiótica positivos ($0,38 - 0,83$ e $0,36 - 0,64$, na concentração de 15 e 30 g L⁻¹, respectivamente); foi ainda verificado nos meios, a diminuição do pH, a produção de ácido láctico, acético, propiônico e o consumo de glicose, frutose e estaquiose ao longo do tempo. Esses resultados demonstram que os carboidratos do farelo de arroz desengordurado podem ser considerados como uma potencial fonte de prebióticos.

Palavras-chave: *Oryza sativa* L.; subprodutos agroindustriais; farelo de arroz; carboidratos; prebiótico.

ABSTRACT

Rice bran, a by-product of rice processing, represents about 6 – 12% of the grain in natura, with a rich nutrient composition, especially high concentrations of carbohydrates with potential prebiotic effect. The aim of this study was to evaluate the prebiotic activity of carbohydrates (CHO) extracted from defatted rice bran (DRB) by ultrasound-assisted extraction (CRBU) and hydrothermal treatment (CRBH), by evaluating the in vitro digestibility of sugars, its potential for use as a sugar source for the growth of probiotic microorganisms (*L. acidophilus* LA-05, *L. casei*-01, *L. plantarum* BG 112 e *L. rhamnosus* ATCC 53103), prebiotic activity score and bacterial metabolic activity (pH values, sugar consumption and acid production). The extracts (CRBU and CRBH) were also characterized for their total carbohydrate content, extraction yield, carbohydrate profile and functional groups. The ultrasonic method was more efficient in the extraction of carbohydrates (0.590 ± 0.001 g CHO g⁻¹ extract and 96.72% yield) compared to the hydrothermal treatment (0.507 ± 0.004 g CHO g⁻¹ extract and 83.11% yield). The two extracts were similar regarding the FTIR spectrum and the carbohydrate profile, with the presence of the glucose, stachyose and arabinose in its composition. CRBU and CRBH demonstrated a low degree of hydrolysis under in vitro digestibility conditions, mainly at an initial concentration of 15 g L⁻¹ of sample ($4.44 \pm 0.48\%$ and $5.72 \pm 1.50\%$, respectively), increasing at a concentration of 30 g L⁻¹ ($11.74 \pm 0.18\%$ and $17.99 \pm 2.44\%$, respectively). Assays with CRBU and CRBH provided similar counts ($p > 0.05$) of viable probiotic cells (> 8.0 and 8.8 log CFU mL⁻¹ at the concentration of 15 and 30 g L⁻¹, respectively) after 48 h of cultivation, as well as positive prebiotic activity scores ($0.38 - 0.83$ and $0.36 - 0.64$, at the concentration of 15 and 30 g L⁻¹, respectively); it was also verified in the media, a decrease in pH, production of lactic acid, acetic acid and propionic acid, and consumption of glucose, fructose and stachyose over time. These results demonstrate that defatted rice bran carbohydrates can be considered as a potential source of prebiotics.

Keywords: *Oryza sativa* L; agro-industrial by-products; rice bran; carbohydrates; prebiotic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura do grão de arroz	14
Figura 2 – Formação e colapso de bolhas.....	18
Figura 3 – Processo de obtenção dos extratos CFSU e CFTH.....	25
Figura 4 – Representação esquemática do modelo de digestibilidade <i>in vitro</i>	29
Figura 5 – Cromatograma dos hidrolisados obtido a partir do CFSU (A) e CFTH (B) ..	36
Figura 6 – Espectros FTIR dos extratos.....	37
Figura 7 – Contagens viáveis de <i>L. acidophilus</i> LA-5 (A), <i>L. casei</i> -01 (B), <i>L. plantarum</i> BG 112 (C) e <i>L. rhamnosus</i> ATCC 53103 (D) em meio sem ou com fonte de açúcares (glicose, inulina, oligofrutose, CFTH e CFSU)	41
Figura 8 – Evolução do pH em meio sem ou com fonte de açúcares (glicose, inulina, oligofrutose, CFTH e CFSU) inoculados com <i>L. acidophilus</i> (A), <i>L. casei</i> (B), <i>L. plantarum</i> (C) e <i>L. rhamnosus</i> (D)	46
Figura 9 – Concentração de glicose nos meios inoculados com <i>L. acidophilus</i> (A), <i>L. casei</i> (B), <i>L. plantarum</i> (C) e <i>L. rhamnosus</i> (D)	49
Figura 10 – Concentração de frutose nos meios inoculados com <i>L. acidophilus</i> (A), <i>L. casei</i> (B), <i>L. plantarum</i> (C) e <i>L. rhamnosus</i> (D)	50
Figura 11 – Concentração de estaquiose nos meios inoculados com <i>L. acidophilus</i> (A), <i>L. casei</i> (B), <i>L. plantarum</i> (C) e <i>L. rhamnosus</i> (D).....	51
Figura 12 – Concentração de ácido láctico nos meios inoculados com <i>L. acidophilus</i> (A), <i>L. casei</i> (B), <i>L. plantarum</i> (C) e <i>L. rhamnosus</i> (D).....	55
Figura 13 – Concentração de ácido acético nos meios inoculados com <i>L. acidophilus</i> (A), <i>L. casei</i> (B), <i>L. plantarum</i> (C) e <i>L. rhamnosus</i> (D).....	56
Figura 14 – Concentração de ácido propiônico nos meios inoculados com <i>L. acidophilus</i> (A), <i>L. casei</i> (B), <i>L. plantarum</i> (C) e <i>L. rhamnosus</i> (D).....	57
Figura 15 – Concentração de ácido butírico nos meios inoculados com <i>L. acidophilus</i> (A), <i>L. casei</i> (B), <i>L. plantarum</i> (C) e <i>L. rhamnosus</i> (D).....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição centesimal do farelo de arroz desengordurado	33
Tabela 2 – Teor de carboidratos dos extratos e rendimento de extração.....	34
Tabela 3 – Parâmetros de validação do método cromatográfico para quantificação de açúcares	35
Tabela 4 – Composição de açúcares do hidrolisado, obtida por CLAE	35
Tabela 5 – Percentual de hidrólise dos carboidratos após a digestibilidade <i>in vitro</i>	38
Tabela 6 – Escores de atividade prebiótica de inulina, oligofrutose, CFTH e CFSU em <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> e <i>L. rhamnosus</i>	44
Tabela 7 – Parâmetros de validação do método cromatográfico para quantificação de açúcares	47
Tabela 8 – Parâmetros de validação do método cromatográfico para quantificação de ácidos	52

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo geral.....	12
2.2 Objetivos específicos.....	12
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3.1 Produção de arroz	13
3.2 Estrutura e composição do grão de arroz	14
3.3 Farelo de arroz.....	15
3.4 Carboidratos do farelo de arroz.....	16
3.4.1 Extração de carboidratos	17
3.4.1.1 <u>Extração assistida por ultrassom</u>	18
3.4.1.2 <u>Tratamento hidrotérmico</u>	19
3.5 Prebióticos	20
4 MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1 Materiais.....	23
4.2 Composição centesimal do FAD.....	23
4.3 Extração dos carboidratos do FAD.....	23
4.3.1 Extração assistida por ultrassom.....	23
4.3.2 Tratamento hidrotérmico	24
4.3.3 Precipitação dos carboidratos	24
4.4 Caracterização dos extratos.....	26
4.4.1 Determinação de carboidratos totais.....	26
4.4.2 Identificação e quantificação de carboidratos	26
4.4.2.1 <u>Parâmetros de validação do método cromatográfico</u>	26
4.4.2.1.1 <i>Linearidade</i>	27
4.4.2.1.2 <i>Limite de detecção</i>	27
4.4.2.1.3 <i>Limite de quantificação</i>	27
4.4.3 Determinação dos grupos funcionais.....	28
4.5 Atividade prebiótica	28
4.5.1 Digestibilidade <i>in vitro</i> dos carboidratos.....	28
4.5.2 Avaliação do efeito dos carboidratos no crescimento de microrganismos probióticos e patogênico.....	29
4.5.2.1 <u>Ativação das cepas</u>	30

4.5.2.2 <u>Preparação dos meios de cultura</u>	30
4.5.2.3 <u>Avaliação da viabilidade celular bacteriana</u>	30
4.5.3 Parâmetros da atividade metabólica dos probióticos.....	31
4.5.4 Escore da atividade prebiótica.....	31
4.6 Análise estatística	32
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1 Composição centesimal do FAD	33
5.2 Caracterização dos extratos	34
5.2.1 Quantificação de carboidratos totais.....	34
5.2.2 Identificação e quantificação de carboidratos por CLAE.....	35
5.2.3 Grupos funcionais por espectroscopia FTIR	37
5.3 Atividade prebiótica	38
5.3.1 Digestibilidade <i>in vitro</i> dos carboidratos.....	38
5.3.2 Efeito dos carboidratos no crescimento de microrganismos	40
5.3.3 Escore de atividade prebiótica.....	44
5.3.4 Parâmetros da atividade metabólica dos probióticos.....	45
5.3.4.1 <u>Acompanhamento de pH</u>	45
5.3.4.2 <u>Consumo de açúcares</u>	47
5.3.4.3 <u>Produção de ácidos</u>	52
6 CONCLUSÕES	59
REFERÊNCIAS	60

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) está entre os cereais mais produzidos e consumidos no mundo, desempenhando um papel importante como componente da dieta básica para uma grande parcela da população mundial (FIDRIYANTO *et al.*, 2020). Decorrente do processamento do arroz, uma quantidade elevada de subprodutos e/ou resíduos são gerados, incluindo casca, grãos quebrados e farelo, que apesar de possuírem valor comercial, são pouco reaproveitados na indústria de alimentos (BODIE *et al.*, 2019; FIDRIYANTO *et al.*, 2020).

O farelo de arroz representa cerca de 6 – 12% (m/m) do grão de arroz *in natura*, e é considerado um subproduto valioso do processamento de arroz, uma vez que apresenta em sua composição teores significativos de carboidratos, lipídios, proteínas, minerais, fibras, vitaminas e compostos bioativos benéficos à saúde, como γ -orizanol, ácido ferúlico, tocoferóis, tocotrienóis e ácidos graxos poliinsaturados, que atribuem a este, propriedades únicas que tornam adequada sua aplicação na indústria de alimentos, de nutracêuticos e fármacos (BODIE *et al.*, 2019; GUL *et al.*, 2015; SAMAN *et al.*, 2019; SPAGGIARI *et al.*, 2021).

A crescente conscientização do consumidor sobre a importância da aptidão física e o aumento da adoção de hábitos alimentares saudáveis proporcionou um impulso no desenvolvimento de produtos funcionais, por parte das indústrias (PUTNIK; KOVAČEVIĆ, 2021). O mercado de alimentos funcionais, em especial de prebióticos, vem apresentando um crescimento e estimativas futuras promissoras, uma vez que deve permanecer em ascensão nos próximos anos, com um aumento estimado superior a 10,2% entre 2021 e 2027 (AHUJA; MAMTANI, 2021; CUNNINGHAM *et al.*, 2021).

O desenvolvimento do setor de prebióticos vem ocasionando aumento de pesquisas relacionadas a descoberta de novas fontes (CUNNINGHAM *et al.*, 2021). No entanto, para que um ingrediente alimentar seja classificado como prebiótico, alguns critérios devem ser seguidos, são eles: resistir à acidez gástrica, não sofrer hidrólise enzimática e absorção gastrointestinal; ser passível de fermentação pela microbiota intestinal; estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade das bactérias intestinais capazes de proporcionar melhora da saúde e bem-estar do hospedeiro (GIBSON *et al.*, 2017).

Estudos anteriores relataram que os carboidratos do farelo de arroz parecem exercer efeitos modulatórios positivos na microbiota intestinal, sugerindo um efeito prebiótico (GHIMIRE *et al.*, 2020; SAMAN *et al.*, 2019; ZAMBRANA *et al.*, 2019); e assim indicando uma possível nova fonte prebiótica a ser investigada.

Dentre as técnicas viáveis para a recuperação de carboidratos, destacam-se a extração assistida por ultrassom (FLÓREZ-FERNANDÉZ *et al.*, 2017; MACHADO *et al.*, 2015; XUE *et al.*, 2017) e o tratamento hidrotérmico (GULLÓN *et al.*, 2018; KURDI; HANSAWASDI, 2015; SWART *et al.*, 2021), normalmente utilizadas em substituição a extração tradicional, com o intuito de aumentar o rendimento do processo e a pureza do produto, reduzir o tempo de extração, o consumo de solventes orgânicos e de energia, os custos e a poluição ambiental (MENA-GARCÍA *et al.*, 2019).

No entanto, os diferentes processos de extração podem ter um impacto significativo na composição físico-química e nas características estruturais dos carboidratos, e consequentemente afetar a atividade prebiótica desses compostos, fato que não pode ser negligenciado, apesar de permanecer ainda hoje pouco estudado (CHEN *et al.*, 2019; HUANG *et al.*, 2018).

Diante deste contexto, considerando as elevadas taxas de produção de subprodutos agroindustriais gerados a partir do beneficiamento do arroz e a consequente necessidade da realização de estudos que possibilitem a agregação de valor ao farelo de arroz, assim como a necessidade de investigação de novas fontes prebióticas, este trabalho tem como objetivo avaliar a atividade prebiótica dos carboidratos extraídos do farelo de arroz desengordurado obtidos por meio da extração assistida por ultrassom e do tratamento hidrotérmico, uma vez que é uma demanda de interesse econômico e ambiental, necessitando de investigação científica e tecnológica, para que possibilite futuramente uma maior utilização deste na indústria alimentícia.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a atividade prebiótica dos carboidratos presentes no farelo de arroz desengordurado.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar a composição centesimal do farelo de arroz desengordurado;
- Realizar a extração de carboidratos do farelo de arroz desengordurado, por dois métodos distintos, a citar a extração assistida por ultrassom (CFSU) e o tratamento hidrotérmico (CFTH);
- Caracterizar os extratos (CFSU e CFTH) quanto seu conteúdo total de carboidratos, perfil de carboidratos e grupos funcionais;
- Avaliar a digestibilidade *in vitro* dos carboidratos extraídos do farelo de arroz desengordurado;
- Analisar o efeito dos carboidratos do farelo de arroz desengordurado no crescimento celular de microrganismos probióticos e patogênico;
- Determinar os efeitos dos carboidratos do farelo de arroz desengordurado sobre a atividade metabólica bacteriana relacionada a diminuição dos valores de pH, o consumo de açúcares e produção de ácidos orgânicos;
- Determinar o escore da atividade prebiótica dos carboidratos presentes no farelo de arroz desengordurado;
- Comparar os métodos de extração, determinando se os mesmos alteraram a atividade prebióticas dos carboidratos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Produção de arroz

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais mais cultivados e consumidos do mundo, ficando apenas atrás do milho e do trigo em produção e extensão de área cultivada (FIDRIYANTO *et al.*, 2020; OECD-FAO, 2021). Representa ainda, a base da alimentação para mais de 50% da população mundial, sendo consumido em todos os continentes, principalmente na forma de grãos inteiros, como arroz integral, branco e parboilizado, os quais são oriundos de diferentes processamentos do arroz (OLIVEIRA *et al.*, 2020; SAMAN *et al.*, 2019).

Estima-se que em 2021 a produção mundial de arroz seja de 525 milhões de toneladas, representando cerca de 18,4% do cultivo dentre as culturas de cereais, abrangendo uma área superior a 164,6 milhões de hectares, com uma produtividade média de 3,19 toneladas por hectares e um consumo médio de 55,15 kg per capita (522,7 milhões de toneladas) (OECD-FAO, 2021).

O continente asiático destaca-se como o maior produtor deste cereal representando 89,6% de toda produção mundial, seguido pelo africano (5,0%), americano (4,8%), europeu (0,5%) e oceânico (0,1%) (OECD-FAO, 2021). Nas Américas, o país que mais se destaca é o Brasil, com uma produção anual de 7,6 milhões de toneladas, representando 30,1% dessa produção e 1,4% da mundial, sendo considerado o único país não asiático entre os 10 maiores produtores (10º) e consumidores (10º), com um consumo médio anual de 33,96 kg per capita (7,3 milhões de toneladas) (COÊLHO, 2021; OECD-FAO, 2021).

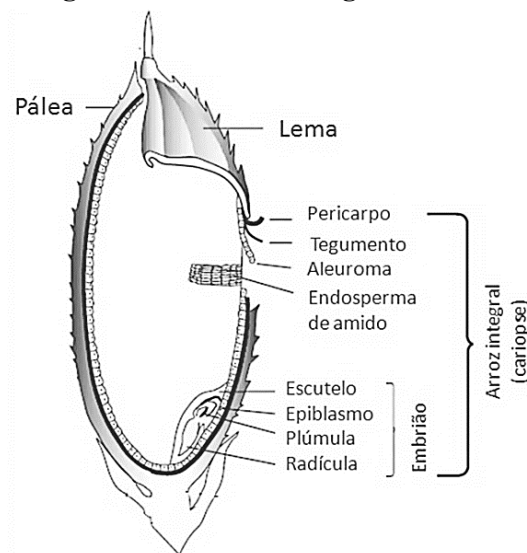
O Paraná, estado que teve produção significativa do arroz até meados do século passado, atualmente está com volume reduzido, com uma produção de 148 mil toneladas em uma área de 21,1 mil hectares e com uma produtividade média 7,01 mil kg ha⁻¹ na safra 2020/21; apesar disso, ainda hoje, o Paraná se encontra entre os 10 maiores estados brasileiros produtores (7º) deste grão, apenas atrás do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Tocantins, Mato Grosso, Maranhão e Pará (DCA/DERAL, 2021).

No Brasil e em outros países em desenvolvimento a produção de arroz apresenta grande importância, desempenhando papel estratégico tanto a nível econômico como social (LUFT *et al.*, 2017).

3.2 Estrutura e composição do grão de arroz

O grão de arroz (Figura 1) consiste da cariopse e de uma camada protetora, conhecida como casca, a qual corresponde a 20% do peso médio do grão e é composta por duas folhas modificadas, a pálea e o lema (JULIANO; TUAÑO, 2019; OLIVEIRA *et al.*, 2020). A cariopse é formada por diferentes camadas, sendo o pericarpo, o tegumento e a camada de aleurona, as mais externas, que representam 5 – 8% do arroz integral e envolvem o endosperma (89 – 94%) e o embrião (2 – 3%) (JULIANO; TUAÑO, 2019; KORDROSTAMI *et al.*, 2021).

Figura 1 – Estrutura do grão de arroz



Fonte: Katsurayama e Taniwaki (2017)

O arroz *in natura* contém em média teores significativos, em base seca, de carboidratos (70,5 – 84,2%), proteínas (6,7 – 8,3%), minerais (3,4 – 6,0%) e lipídios (2,1 – 2,7%), além da presença de vitaminas e fibras em sua composição (OLIVEIRA *et al.*, 2020; VERMA *et al.*, 2019).

A partir da separação da casca da cariopse do grão obtém-se o arroz integral, o qual pode passar por um processo de polimento, onde ocorre a remoção das camadas do pericarpo, tegumento, aleurona e gérmen, resultando no arroz polido ou branco, composto apenas pelo endosperma, constituído essencialmente de amido e com teores de nutrientes reduzidos. Estes dois tipos de arroz podem ainda, ser submetidos a um processo hidrotérmico, do qual se obtém o arroz parboilizado (KORDROSTAMI *et al.*, 2021; OLIVEIRA *et al.*, 2020).

3.3 Farelo de arroz

Decorrente da industrialização do arroz, especialmente nas fases de beneficiamento e classificação, uma alta quantidade de resíduos e/ou subprodutos são gerados, incluindo grãos quebrados, casca e farelo, que podem chegar até a 40% do peso do grão *in natura*, dependendo da linhagem de arroz e da técnica utilizada no processamento (BODIE *et al.*, 2019; FIDRIYANTO *et al.*, 2020). No entanto, apesar da maior parte desses resíduos serem reaproveitados na produção de alimentação animal, de energia e de fertilizantes orgânicos, e utilizados como cama e forragem para animais; suas reutilizações na indústria de alimentos ainda são restritas (BODIE *et al.*, 2019; FIDRIYANTO *et al.*, 2020).

O farelo de arroz representa aproximadamente 6 – 12% (m/m) do grão de arroz *in natura*, e consiste na camada superficial do grão de arroz descascado, abrangendo o pericarpo, tegumento e aleurona do grão (FIDRIYANTO *et al.*, 2020; SAMAN *et al.*, 2019; SPAGGIARI *et al.*, 2021).

O farelo reúne, em sua composição, em base seca, teores significativos de carboidratos (33 – 42%), lipídios (12 – 20%), proteínas (11 – 16%), minerais (8 – 12%), fibras (15 – 30%) e vitaminas, especialmente as do complexo E (tocoferóis e tocotrienóis) e complexo B (niacina, tiamina, ácido pantotênico e piridoxina), quais são influenciados diretamente pela variedade genética da planta, condições ambientais de cultivo e os métodos de processamento do arroz. Além de apresentar compostos bioativos, como γ -orizanol, ácido ferúlico, tocoferol, tocotrienol e ácidos graxos poliinsaturados que possuem atividade antioxidante e propriedades benéficas para a saúde que tornam adequada sua aplicação na indústria de alimentos, nutracêuticos e fármacos (BODIE *et al.*, 2019; GUL *et al.*, 2015; SAMAN *et al.*, 2019; SPAGGIARI *et al.*, 2021; WU *et al.*, 2020).

Apesar de seus benefícios nutricionais e excelentes perspectivas de aplicação, o farelo de arroz é subutilizado, uma vez que sua utilização é severamente restringida a sensibilidade à oxidação lipídica em decorrência da atividade das enzimas hidrolíticas e oxidativas, como lipase e lipoxigenase, que promovem a deterioração da qualidade do farelo, o que significa que geralmente é necessária uma etapa de estabilização (SPAGGIARI *et al.*, 2021; WU *et al.*, 2020).

A maior parte do farelo de arroz tem sido usada para produção de ração animal, fertilizantes ou óleo não comestível, e apenas uma pequena porcentagem do farelo é processada em óleo comestível ou bioprodutos (por exemplo, biocombustíveis, ácidos orgânicos, enzimas, óleo microbiano, compostos fenólicos e oligossacarídeos), o que faz que esse uso não seja considerado economicamente produtivo, sendo necessárias pesquisas que objetivem a

valorização de produtos gerados a partir do farelo de arroz (ALEXANDRI *et al.*, 2020; SAMAN *et al.*, 2019; SPAGGIARI *et al.*, 2021; WU *et al.*, 2020).

Decorrente do processamento para extração de óleo, um novo subproduto é gerado, o farelo de arroz desengordurado, o qual mantém uma concentração considerável de proteínas, fibras, carboidratos, vitaminas, minerais e compostos antioxidantes, aumentando ainda a probabilidade deste composto ser empregado em alimentos para consumo humano (ALEXANDRI *et al.*, 2020; WU *et al.*, 2020).

3.4 Carboidratos do farelo de arroz

Os carboidratos são moléculas compostas por átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio e possuem uma fórmula geral que se aproxima de $(CH_2O)_n$. Eles podem ser classificados em quatro grupos distintos de acordo com o grau de polimerização das moléculas, denominados: monossacarídeos, que são açúcares simples; dissacarídeos, compostos por 2 monossacarídeos; oligossacarídeos, que consistem de 3 a 10 unidades de monossacarídeos; e polissacarídeos, quando há mais de 10 monossacarídeos em sua composição (NAVARRO *et al.*, 2019).

Os carboidratos são os principais constituintes do farelo do arroz, dentre os quais há uma grande concentração de fibras, compostos não digeríveis que compreendem os oligossacarídeos, amido resistente e polissacarídeos não amiláceos; enquanto outros tipos de carboidratos são encontrados em menores quantidades (GUL *et al.*, 2015; NAVARRO *et al.*, 2019; SPAGGIARI *et al.*, 2021).

Os oligossacarídeos funcionais são, atualmente, os carboidratos em maior evidência, caracterizados por não serem digeridos pelas enzimas pancreáticas ou intestinais e, conseqüentemente, fermentados no intestino grosso onde promovem o crescimento de bactérias benéficas presentes no colón, como bifidobactérias e lactobacilos, e reduzem a concentração de enterobactérias colônicas por meio de exclusão competitiva (CATENZA; DONKOR, 2021; IBRAHIM, 2018; RAJAGOPALAN; KRISHNAN, 2019).

Os possíveis benefícios proporcionados à saúde humana pelos compostos funcionais ocasionaram uma impulsão nos estudos sobre os oligossacarídeos, os quais indicaram a promoção de diversas alterações benéficas ao organismo que vão desde a modulação do sistema imune (PLAZA-DÍAZ *et al.*, 2018), regulação no trânsito intestinal (SU *et al.*, 2019), modificação significativa na microbiota colonizadora do cólon (WANG *et al.*, 2021), melhoria na absorção de minerais desejáveis, em especial cálcio, magnésio e ferro (MAAWIA *et al.*,

2016), e estímulo ao metabolismo de carboidratos (LIU *et al.*, 2021) e lipídios (WANG *et al.*, 2020b), até a redução de incidência de doenças, como câncer de cólon (PLONGBUNJONG *et al.*, 2019), diabetes (ZHU *et al.*, 2019), obesidade (NIE *et al.*, 2020) e cardiovasculares (FENG *et al.*, 2021).

Os oligossacarídeos funcionais incluem substâncias com atividade prebiótica comprovada como fruto-oligossacarídeos (FOS), galacto-oligossacarídeos (GOS), transgalacto-oligossacarídeos (TOS); prebióticos emergentes, por ainda estarem em fase de comprovação, como xilo-oligossacarídeos (XOS), oligossacarídeos pécticos (POS), gluco-oligossacarídeos, malto-oligossacarídeos (MOS), isomalto-oligossacarídeos (IMOS), oligossacarídeos de soja, gentio-oligossacarídeos (GnOS), arabino-oligossacarídeos (AOS), chito-oligossacarídeos (COS); dentre outros compostos (CARDOSO *et al.*, 2021; GUARINO *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020a).

3.4.1 Extração de carboidratos

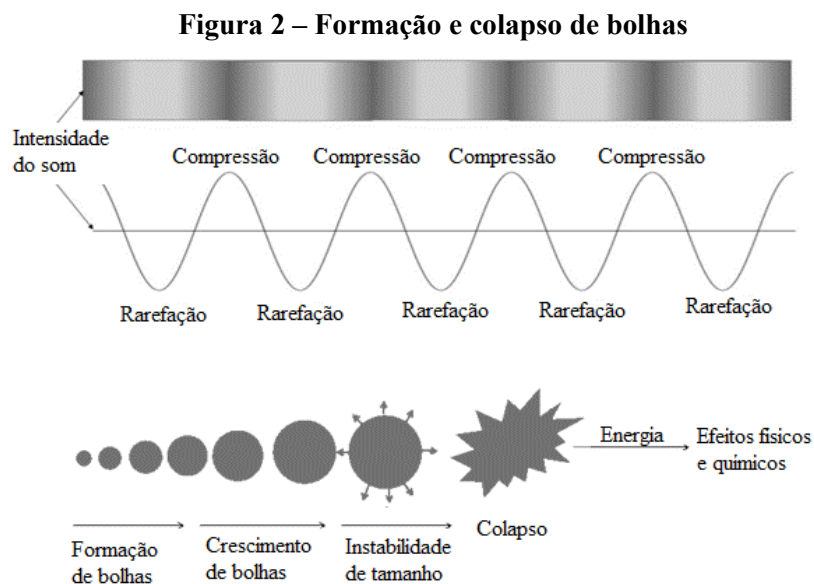
Os métodos tradicionais de extração de carboidratos são baseados principalmente na extração sólido-líquido e extração líquido-líquido; no entanto, a fim de superar as principais deficiências das metodologias convencionais, principalmente associado ao uso de altas temperaturas, tempos de extração prolongados, baixa eficiência e degradação dos carboidratos termolábeis, técnicas de extração avançadas surgiram durante as últimas décadas para melhorar a extração (MACHADO *et al.*, 2015; MENA-GARCÍA *et al.*, 2019).

Dentre essas técnicas, citadas como viáveis para a recuperação de carboidratos como oligossacarídeos e polissacarídeos, pode-se citar a filtração por membranas (WANG; YU, 2021), técnicas cromatográficas (YANG *et al.*, 2020), tratamento hidrotérmico (KURDI; KANSAWASDI, 2015), extração por fluido supercrítico (BARBOSA *et al.*, 2020), extração com líquido pressurizado (HU *et al.*, 2020), extração acelerada por solvente (CHEN *et al.*, 2018), extração assistida por micro-ondas (DAVIS *et al.*, 2021), extração assistida por ultrassom (MACHADO *et al.*, 2015), extração assistida por enzimas (FOURNIÈRE *et al.*, 2019), extração assistida por microfluidização de alta pressão (LIU *et al.*, 2018) e o campo elétrico pulsado (RAMIREZ-GONZALEZ *et al.*, 2021).

3.4.1.1 Extração assistida por ultrassom

A extração assistida por ultrassom (EAU) é uma técnica normalmente utilizada em substituição a extração tradicional, com o intuito de otimizar o processo de extração, já que proporciona aumento no rendimento e na taxa de extração, maior pureza do produto, menor tempo de extração, além de possibilitar menor consumo de solventes e de energia, uma vez que não são necessários refluxos ou refrigeração (JOVANOVIC-MALINOVSKA *et al.*, 2015; MENA-GARCÍA *et al.*, 2019; SOROURIAN *et al.*, 2020).

A tecnologia da EAU é baseada no fenômeno da cavitação. Conforme a onda sonora passa através de um meio elástico, acaba induzindo um deslocamento longitudinal de partículas e resultando em regiões de compressão e rarefação. Quando o ciclo de rarefação excede as forças de atração entre as moléculas, são formadas bolhas de cavitação capazes de aumentar ou diminuir de tamanho durante as fases de rarefação e compressão, respectivamente; entretanto quando o crescimento da bolha é maior que a redução, ocorre um rápido aumento no tamanho da bolha, essas colapsam e liberam grandes quantidades de energia, que podem produzir efeitos químicos e mecânicos no meio (Figura 2) (HURTADO-ROMERO *et al.*, 2020; KHAWLI *et al.*, 2020; MENA-GARCÍA *et al.*, 2019).



Fonte: Adaptado de Leonelli e Mason (2010) e Kumari *et al.* (2017)

Justamente essa perturbação causada pelas ondas de ultrassom de alta frequência (≥ 20 kHz) nas células, que alteram suas propriedades químicas e físicas, conseqüentemente, ocasionam ruptura da parede celular, redução do tamanho das partículas, facilitam a liberação

de componentes da matriz celular para o solvente e os processos de transferência de massa, tornando o método mais eficiente quando comparado com os convencionais (GONZÁLEZ-DE-PEREDO *et al.*, 2020; JOVANOVIĆ-MALINOVSKA *et al.*, 2015; PHAM *et al.*, 2020).

Segundo Sukor *et al.* (2018) o ultrassom pode ser aplicado usando dois tipos de dispositivos, equipamento de ultrassom do tipo sonda ou banho ultrassônico, ambos sistemas baseados em um transdutor como fonte de energia de ultrassom. A sonda ultrassônica é geralmente preferida para aplicação de extração uma vez que é mais potente devido à intensidade ultrassônica ser fornecida através de uma superfície menor (ponta da sonda), e esta, estar imersa no material, resultando em uma entrega direta de ultrassom no meio, e conseqüentemente ocasionando uma cavitação direta, com perda mínima de energia ultrassônica, em comparação com o banho ultrassônico, que promove uma cavitação indireta. Além do reator (tipo sonda ou banho), tempo de processamento, temperatura, potência ou intensidade ultrassônica, frequência ultrassônica e tipo de solvente, sua proporção e características, são fatores determinantes na eficiência do processo de extração (DASH *et al.*, 2021).

Nos últimos anos, a extração assistida por ultrassom vem se destacando na indústria de alimentos, devido as vantagens apresentadas no emprego desta metodologia em comparação aos métodos tradicionais, especialmente na extração de compostos bioativos, como oligossacarídeos (JOVANOVIĆ-MALINOVSKA *et al.*, 2015), óleos (IDERIS *et al.*, 2021), polifenóis (KUMARI *et al.*, 2017), polissacarídeos (SOROURIAN *et al.*, 2020), antocianinas (GONZÁLEZ-DE-PEREDO *et al.*, 2020), flavonoides (PHAM *et al.*, 2020), entre outros.

3.4.1.2 Tratamento hidrotérmico

O tratamento hidrotérmico, também denominado auto-hidrólise, é um método que permite a extração de componentes hemicelulósicos, como oligossacarídeos e outros produtos de degradação do açúcar originados a partir de hemiceluloses, por meio da utilização de água sob elevada pressão e temperatura (KURDI; HANSAWASDI, 2015; RICO *et al.*, 2020). Nessas condições, uma alta concentração de íon hidrônio está presente na água, gerados em um processo denominado autoionização da água, qual proporciona acidificação do meio e atua como um catalisador ácido, promovendo a solubilização e despolimerização do polissacarídeo por hidrólise (CANO *et al.*, 2020; RICO *et al.*, 2020).

A auto-hidrólise é considerada um método viável para a extração de carboidratos, especialmente oligossacarídeos, uma vez que o ajuste das principais variáveis envolvidas no

processo, a citar tempo e temperatura, permite minimizar os monômeros e produtos de degradação (furfural, 5-hidroximetilfurfural - HMF e ácidos carboxílicos), obtendo assim, um produto de alto rendimento (CANO *et al.*, 2020). Segundo Kumar *et al.* (2020), o pH, é outro parâmetro que tem impacto direto no rendimento de extração, e deve ser mantido entre 4 e 7, já que nesse intervalo as hemiceluloses hidrolisam em oligossacarídeos e a formação de monômeros é minimizada.

É uma técnica extremamente interessante sob o ponto de vista econômico e ambiental, uma vez que é uma tecnologia de baixo custo e ecológica, já que utiliza água como reagente principal e não emprega qualquer catalisador ou produto químico durante o processo, evitando problemas de corrosão e necessidade de tratamento de resíduo (CANO *et al.*, 2020; KUMAR *et al.*, 2020).

3.5 Prebióticos

O conceito de prebióticos foi definido pela primeira vez, em 1995, por Glenn Gibson e Marcel Roberfroid como “um ingrediente alimentar não digerível que afeta benéficamente o hospedeiro ao estimular seletivamente o crescimento e/ou a atividade de uma ou um número limitado de bactérias no cólon e, assim, melhora a saúde do hospedeiro”¹ (GIBSON; ROBERFROID, 1995, p. 1405-1406).

Embora a definição original tenha sido revisada várias vezes, uma vez que não havia um consenso na definição de prebiótico, as principais características foram em sua maioria mantidas (CARDOSO *et al.*, 2021).

Recentemente, uma definição de consenso foi proposta pela Associação Científica Internacional de Probióticos e Prebióticos (ISAPP), que definiu o termo prebiótico como “um substrato que é utilizado seletivamente por microrganismos hospedeiros, conferindo um benefício à saúde”² (GIBSON *et al.*, 2017, p. 3). A definição atual expande o conceito anterior para incluir substâncias prebióticas potenciais além dos carboidratos, como os polifenóis e ácidos graxos. Além disso, são consideradas as aplicações em locais extraintestinais, indicando que além da administração oral, os prebióticos podem ser aplicados diretamente em outros

¹ “...a nondigestible food ingredient that beneficially affects the host by selectively stimulating the growth and/or activity of one or a limited number of bacteria in the colon, and thus improves host health.”

² “...a substrate that is selectively utilized by host microorganisms conferring a health benefit.”

locais do corpo colonizados por microrganismos, como o trato vaginal e a pele (CARDOSO *et al.*, 2021; GIBSON *et al.*, 2017).

Para que um ingrediente alimentar possa ser classificado como prebiótico alguns critérios são exigidos, são eles: resistir à acidez gástrica, não sofrer hidrólise enzimática e absorção gastrointestinal; ser passível de fermentação pela microbiota intestinal; estimular seletivamente o crescimento e/ou atividade das bactérias intestinais capazes de proporcionar melhora da saúde e bem-estar do hospedeiro (GIBSON *et al.*, 2017).

Segundo Cardoso *et al.* (2021) por enquanto somente os fruto-oligossacarídeos (FOS), inulina, galacto-oligossacarídeos (GOS), trans-galacto-oligossacarídeos (TOS) e lactulose alcançaram a classificação de prebióticos.

Atualmente, não há recomendações dietéticas oficiais para “ingestão adequada” ou “dose diária recomendada” de prebióticos em indivíduos saudáveis. No entanto, a maioria dos prebióticos para o intestino requer uma dose oral de 3 gramas por dia ou mais para conferir um benefício (ISAPP, 2021).

No Brasil, os requisitos específicos para que inulina e FOS possam utilizar a alegação “contribuem para o equilíbrio da flora intestinal” é que a porção do produto pronto para consumo forneça no mínimo 2,5 g de prebiótico, e ainda que o mesmo forneça uma recomendação de consumo diário de no mínimo 5 g de prebiótico (BRASIL, 2019).

Após o consumo os prebióticos são transportados pelo trato digestório até o local onde serão fermentados seletivamente por bactérias benéficas, proporcionando alteração da microbiota intestinal por meio da estimulação da atividade e/ou do crescimento de bactérias, especialmente *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, adicionalmente podendo diminuir a população de bactérias patogênicas (DAVANI-DAVARI *et al.*, 2019; YU *et al.*, 2020). A fermentação do prebiótico pela microbiota benéfica promove a produção de metabólitos, como os ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) (acetato, propionato e butirato), ácidos orgânicos (lactato, piruvato e succinato), e gases (hidrogênio, sulfeto de hidrogênio, metano e dióxido de carbono), que atuam promovendo a diminuição do pH do trato gastrointestinal e inibindo a proliferação de microrganismos nocivos, como *Escherichia coli*, *Clostridium* spp. e *Salmonella* spp., espécies estas que apresentam alta sensibilidade a ambientes ácidos (CARDOSO *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2020a; YU *et al.*, 2020).

Os efeitos benéficos proporcionados pelos prebióticos não estão associados apenas ao sistema gastrointestinal (alteração da microbiota intestinal, redução do risco de câncer de cólon, da síndrome do intestino irritável, da doença de Crohn), mas também ao sistema cardiovascular (redução dos níveis de triglicérides, colesterol e LDL - lipoproteína de baixa densidade), ao

sistema nervoso central (melhora na função cerebral, cognição, memória, aprendizagem e humor), ossos (aumento da absorção de cálcio), e pele (redução no risco de dermatite tópica, aumento da retenção de água, de queratina e de formação de colágeno), entre outros (CARDOSO *et al.*, 2021; DAVANI-DAVARI *et al.*, 2019; GIBSON *et al.*, 2017).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Materiais

O farelo de arroz desengordurado (FAD) na forma moída com granulometria média de 140 mesh foi cedido pela Indústria Riograndense de Óleos Vegetais (IRGOVEL, Pelotas, RS, Brasil), e posteriormente, embalado em sacos de polietileno e congelado (-12 °C) até a realização das análises. Os microrganismos *Lactobacillus acidophilus* LA-05 (Nu-trish[®], Chr. Hansen, Hørsholm, Dinamarca), *L. casei*-01 (Nu-trish[®], Chr. Hansen, Hørsholm, Dinamarca), *L. plantarum* BG 112 (Sacco[®], Campinas, SP, Brasil), *L. rhamnosus* ATCC[®] 53103[™] (Coleção de Culturas Tropical, Fundação André Tosello, Campinas, SP, Brasil) e *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC[®] 43888[™], Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil), assim como a glicose (Neon, Suzano, SP, Brasil), e os prebióticos inulina (Raftiline GR, Orafti[®], Mannheim, Alemanha) e oligofrutose (Raftilose P95, Orafti[®], Mannheim, Alemanha) foram adquiridos em empresas especializadas no ramo. As enzimas usadas para simular a digestão gastrointestinal, assim como os padrões de açúcares e ácidos foram adquiridos da Sigma-Aldrich[®] (St. Louis, MO, Estados Unidos). Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico e os meios de cultura de padrão microbiológico (Merck[®], Darmstadt, Alemanha).

4.2 Composição centesimal do FAD

O FAD foi caracterizado quanto à umidade (Método 925.45b), cinzas (Método 923.03), proteína bruta (Método 960.52; N x 5,95) e lipídios (Método 920.39) seguindo a metodologia oficial da AOAC (1998); e carboidratos por diferença (Equação 1) (BEMILLER, 2010).

$$\text{Carboidratos (\%)} = 100 - (\%umidade + \%cinzas + \%proteínas + \%lipídios) \quad (1)$$

4.3 Extração dos carboidratos do FAD

4.3.1 Extração assistida por ultrassom

A extração assistida por sonda ultrassônica (diâmetro 25,4mm) (Vibra Cell[™] VC 505, SONICS[®], Newtown, CT, Estados Unidos) foi realizada conforme o descrito por Machado *et*

al. (2015), seguindo as condições otimizadas previamente determinadas por Ferreira (2018): razão FAD água⁻¹ (65 g L⁻¹), potência (350 W), frequência (20 kHz), temperatura (15 °C) e tempo (20 min). Posteriormente, os sobrenadantes foram coletados por centrifugação (Rotina 420 R, Hettich™, Kirchlengern, Alemanha) a 5000 g por 5 min a 25 °C.

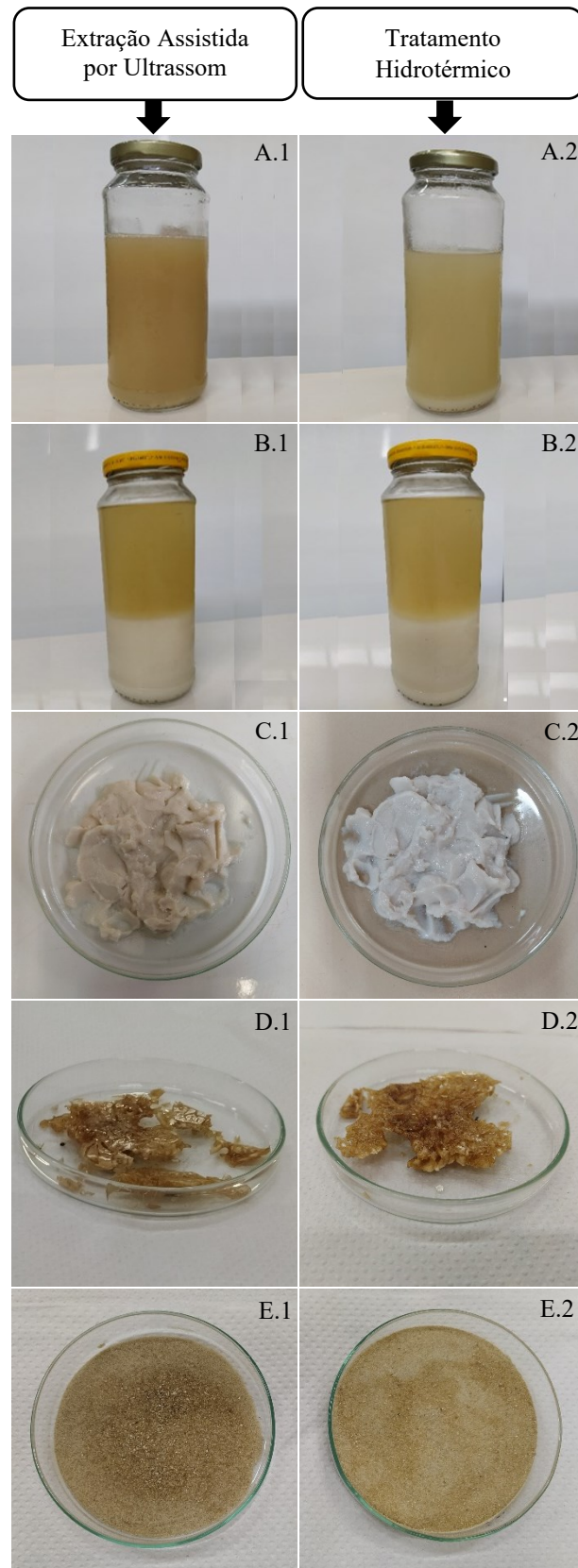
4.3.2 Tratamento hidrotérmico

A extração por meio do tratamento hidrotérmico foi realizada utilizando as condições otimizadas determinadas por Ferreira (2018): razão FAD água⁻¹ (100 g L⁻¹), pH (6,0), temperatura (121 °C), pressão (1,1 kg cm⁻²) e tempo (35 min); e seguindo a metodologia adaptada de Kurdi e Hansawasdi (2015), onde o FAD foi suspenso em água ultrapura, o pH (pH 11, Hanna® Instruments, Barueri, SP, Brasil) ajustado com HCl 1M, e em seguida, a solução foi autoclavada (AV-18, Phoenix®, Araraquara, SP, Brasil). Posteriormente, os sobrenadantes foram coletados por centrifugação (Rotina 420 R, Hettich™, Kirchlengern, Alemanha) a 5000 g por 5 min a 25 °C.

4.3.3 Precipitação dos carboidratos

Os carboidratos extraídos presentes nos sobrenadantes coletados, conforme os itens 4.3.1 e 4.3.2, foram precipitados em etanol a 80% (1:1 v v⁻¹) e armazenados a 4 °C durante a noite, seguido de centrifugação (Rotina 420 R, Hettich™, Kirchlengern, Alemanha) a 6000 g por 15 min a 4 °C (ZEAITER *et al.*, 2019). Posteriormente, o precipitado das amostras foi seco em estufa a vácuo (SL 104/21 R, Solab®, Piracicaba, SP, Brasil), sob pressão relativa de -600 mmHg, a 50 °C por 24 horas, e moídos em moinho de facas (SL 31, Solab®, Piracicaba, SP, Brasil) com granulometria média de 70 mesh. Obteve-se ao final dois extratos (Figura 3): CFSU (carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica) e CFTH (carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico).

Figura 3 – Processo de obtenção dos extratos CFSU e CFTH



Nota: A (1 – 2): sobrenadantes contendo carboidratos; B (1 – 2): carboidratos precipitados em etanol; C (1 – 2): precipitados contendo carboidratos; D (1 – 2): extratos secos; E (1 – 2): extratos moídos; E.1: CFSU (carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica); E.2: CFTH (carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico).

Fonte: Autoria Própria (2021)

4.4 Caracterização dos extratos

4.4.1 Determinação de carboidratos totais

Os carboidratos totais dos extratos foram determinados pelo método de Antrona (OSBORNE; VOOGT, 1986), utilizando a solução padrão de glicose de 0,1 g L⁻¹ e espectrofotometria (IL-226-NM, Kasuaki[®], Japão) a um comprimento de onda de 620 nm. Posteriormente foi calculado o rendimento dos carboidratos extraídos por meio da Equação 2:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\% \text{ CHO extraídos}}{\% \text{ CHO do FAD}} \times 100\% \quad (2)$$

4.4.2 Identificação e quantificação de carboidratos

Os carboidratos extraídos foram hidrolisados de acordo com a metodologia de ASTM E1758-1 (2020), e por seguinte, analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando o cromatógrafo à líquido Ultimate 3000 (Thermo Scientific[™] Dionex[™], Sunnyvale, CA, Estados Unidos) equipado com detector de índice de refração (IR) e os dados processados no software Chromeleon[™] 7.2 (Thermo Scientific[™] Dionex[™], Sunnyvale, CA, Estados Unidos). As amostras foram injetadas em coluna Bio-Rad Aminex[®] HPX-87H (300 x 7,8 mm, 9 μm) (Hercules, CA, Estados Unidos), operada a temperatura de 50 °C, usando H₂SO₄ 5,0 mM como fase móvel a uma taxa de fluxo de 0,6 mL min⁻¹ e tempo de corrida de 15 minutos. Os padrões utilizados foram glicose, arabinose, manose, estaquiase e galactose da Sigma-Aldrich[®] (St. Louis, MO, Estados Unidos).

4.4.2.1 Parâmetros de validação do método cromatográfico

Com o intuito de garantir a confiabilidade dos resultados analíticos foram determinados os principais parâmetros de validação do método, a citar o limite de detecção (LD), o limite de quantificação (LQ) e a linearidade. Foram seguidas as recomendações da legislação vigente para validação de métodos analíticos (BRASIL, 2017).

4.4.2.1.1 Linearidade

Foram construídas curvas de calibração para cada um dos analitos estudados por meio da injeção da substância de interesse em diferentes concentrações (0,5; 1,0; 5,0; 10; 15; 20; 25; 30 g L⁻¹). Os dados gerados foram analisados por regressão múltipla para a obtenção de uma curva analítica ($y = ax + b$) para cada analito estudado, na qual a concentração do analito foi plotada no eixo das abscissas (x) e a área respectiva obtida foi plotada no eixo das ordenadas (y). Dessa forma, obteve-se o coeficiente de determinação (R^2), o coeficiente angular (a) e o coeficiente linear (b), bem como a equação da reta para cada analito (BRASIL, 2017).

4.4.2.1.2 Limite de detecção

A estimativa do limite de detecção (LD) foi feita por meio de injeções das soluções de referência em ordem decrescente de concentração até que o sinal do pico atingisse uma altura três vezes superior ao sinal ruído da linha de base (BRASIL, 2017), e por seguinte calculado LD pela Equação 3:

$$LD = \frac{DPa \times 3}{IC} \quad (3)$$

Onde:

DPa = desvio padrão do ruído;

IC = inclinação da curva de calibração.

4.4.2.1.3 Limite de quantificação

O limite de quantificação (LQ) foi determinado por meio de injeções das soluções de referência em ordem decrescente de concentração até que o sinal do pico atingisse uma altura dez vezes superior ao sinal ruído da linha de base (BRASIL, 2017), e por seguinte calculado LQ pela Equação 4:

$$LQ = \frac{DPa \times 10}{IC} \quad (4)$$

Onde:

DPa = desvio padrão do ruído;

IC = inclinação da curva de calibração.

4.4.3 Determinação dos grupos funcionais

A determinação dos grupos funcionais dos extratos foi realizada por meio da análise de espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) através da refletância total atenuada (ATR) (FT-IR Spectrum 100S, PerkinElmer[®], Waltham, MA, Estados Unidos), na região entre 600 e 4000 cm⁻¹ com resolução de 4 cm⁻¹. As amostras secas foram inseridas sobre o leitor do equipamento para caracterização por meio do espectro gerado em computador. Os espectros e dados experimentais foram processados por meio do programa OriginPro 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, Estados Unidos).

4.5 Atividade prebiótica

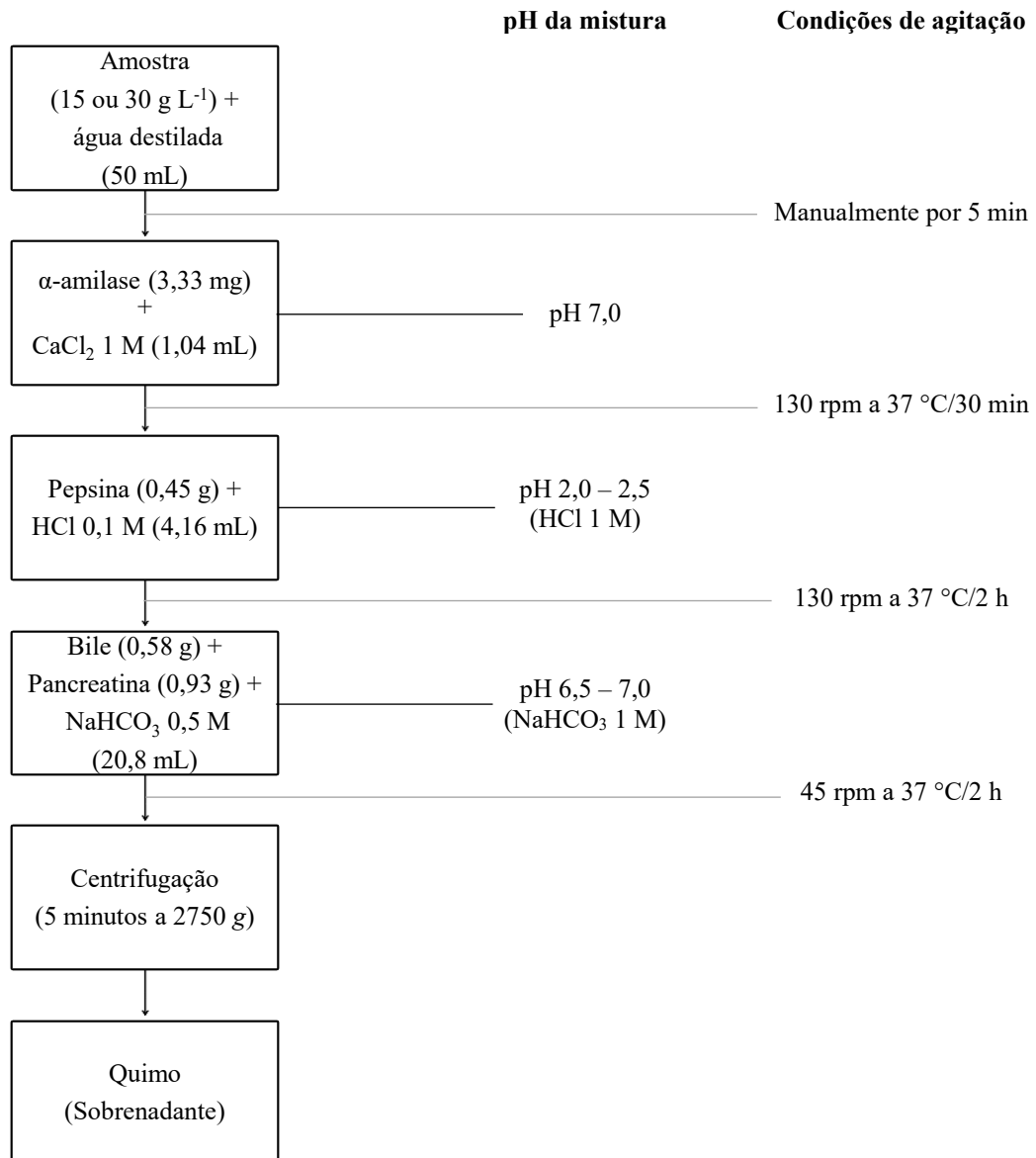
4.5.1 Digestibilidade *in vitro* dos carboidratos

Os extratos CFSU e CFTH foram submetidos a simulação *in vitro* das condições do trato digestório (Figura 4), em diferentes concentrações (15 e 30 g L⁻¹), seguindo a metodologia adaptada de Albuquerque *et al.* (2020), por fim, foi calculado o grau de hidrólise (%) das amostras (Equação 5) conforme Nor *et al.* (2017). Para fins comparativos, os prebióticos inulina e oligofrutose foram utilizados como controles positivos.

$$\text{Grau de hidrólise(\%)} = \frac{\text{Açúcar redutor liberado}}{\text{Teor total de açúcar} - \text{Conteúdo de açúcar redutor inicial}} \times 100\% \quad (5)$$

O conteúdo total de carboidratos das amostras foi determinado pelo método de Antrona (OSBORNE; VOOGT, 1986), utilizando a solução padrão de glicose de 0,1 g L⁻¹ e espectrofotometria (IL-226-NM, Kasuaki[®], Japão) a um comprimento de onda de 620 nm. Os açúcares redutores das amostras pré e pós digeridas foram quantificadas pelo método de Somogyi-Nelson (MALDONADE *et al.*, 2013), utilizando espectrofotometria (IL-226-NM, Kasuaki[®], Japão) a um comprimento de onda de 540 nm e uma solução padrão de glicose de 0,5 g L⁻¹.

Figura 4 – Representação esquemática do modelo de digestibilidade *in vitro*



Fonte: Adaptado de Albuquerque *et al.* (2020)

4.5.2 Avaliação do efeito dos carboidratos no crescimento de microrganismos probióticos e patogênico

As cepas probióticas (*L. acidophilus* LA-05, *L. casei*-01, *L. plantarum* BG 112 e *L. rhamnosus* ATCC 53103) e entérica (*E. coli* O157:H7 ATCC 43888) foram usadas para investigar o efeito proliferativo de CFSU e CFTH. Para fins comparativos, o crescimento em glicose e em prebióticos (inulina e oligofrutose) nos meios apropriados também foram testados.

4.5.2.1 Ativação das cepas

A ativação das cepas de *Lactobacillus* spp. e *Escherichia coli* ocorreu pela inoculação das mesmas em caldo De Man, Rogosa e Sharpe (MRS) (37 °C, 20 – 24 h) e caldo Brain Heart Infusion (BHI; Infusão Cérebro e Coração) (37 °C, 18 – 20 h), respectivamente, por seguinte centrifugação (4500 g, 15 min, 4 °C), lavagem e ressuspensão em solução salina estéril para obtenção de uma suspensão com contagens de aproximadamente 7 log UFC mL⁻¹ (MASSA *et al.*, 2020).

4.5.2.2 Preparação dos meios de cultura

A viabilidade dos microrganismos foi determinada utilizando caldos MRS e LB (Luria Bertani) com composição modificada em relação à fonte de açúcar como meio basal, conforme o descrito por Duarte *et al.* (2017) e Albuquerque *et al.* (2020) com adaptações. Para tanto, foram preparados caldos com diferentes fontes e concentrações de açúcares, a citar: sem açúcar, contendo glicose (15 e 30 g L⁻¹), inulina (15 e 30 g L⁻¹), oligofrutose (15 e 30 g L⁻¹), CFSU (15 e 30 g L⁻¹) e CFTH (15 e 30 g L⁻¹).

A composição do caldo MRS modificado foi a seguinte: triptona (10 g L⁻¹), extrato de carne (8 g L⁻¹), extrato de levedura (4 g L⁻¹), fosfato de di-potássio de hidrogênio (2 g L⁻¹), Tween 80 (1 g L⁻¹), acetato de sódio (5 g L⁻¹), citrato de amônio tribásico (2 g L⁻¹), sulfato de magnésio (0,2 g L⁻¹), sulfato de manganês (0,04 g L⁻¹) e a respectiva fonte de açúcar (0, 15 ou 30 g L⁻¹). Já em relação ao caldo LB, foi utilizado a formulação original (10 g L⁻¹ de hidrolisado enzimática de caseína, 5 g L⁻¹ de extrato de levedura, 10 g L⁻¹ de cloreto de sódio) adicionado da respectiva fonte de açúcar (0, 15 ou 30 g L⁻¹).

4.5.2.3 Avaliação da viabilidade celular bacteriana

A viabilidade dos microrganismos nos diferentes meios de cultura foi determinada por meio da contagem de células viáveis, conforme o descrito por Albuquerque *et al.* (2020) com modificações. Para tanto, alíquotas das suspensões das cepas ativadas (2% v v⁻¹) de *Lactobacillus* spp. e *E. coli* foram inoculadas nos caldos MRS (37 °C, anaerobiose) e LB (37 °C, aerobiose), respectivamente, apresentando uma contagem final de células viáveis de, aproximadamente, 7 log UFC mL⁻¹. Em diferentes intervalos de tempo (0, 24 e 48 h), alíquotas de 1 mL de cada mistura foram diluídas de forma seriada em solução peptonada estéril, e

subsequentemente, feito o plaqueamento em profundidade (SÜLE *et al.*, 2014) em ágar MRS (37 °C, 72 h, anaerobiose), e em superfície (MHONE *et al.*, 2011) em ágar MacConkey (44 °C, 72 h, aerobiose), para contagem de células viáveis (log UFC mL⁻¹) das cepas probióticas e entérica, respectivamente. As condições de anaerobiose foram obtidas em jarra de anaerobiose (Permutation[®], Curitiba, PR, Brasil) contendo gerador de anaerobiose (Anaerobac, Probac[®], Santa Cecília, SP, Brasil).

4.5.3 Parâmetros da atividade metabólica dos probióticos

A atividade metabólica das cepas probióticas foi avaliada por meio da determinação do pH, teores de açúcares e ácidos orgânicos nos distintos meios de cultivo e em diferentes tempos de incubação (0, 24 e 48 h). Os valores de pH foram medidos com um potenciômetro digital (pH 21, Hanna[®] Instruments, Barueri, SP, Brasil) (Método 981.12; AOAC, 1998); e os açúcares e os ácidos orgânicos foram determinados por CLAE (Ultimate 3000, Thermo Scientific[™] Dionex[™], Sunnyvale, CA, Estados Unidos) conforme o item 4.4.2. Os parâmetros de validação do método analítico foram obtidos de acordo com o item 4.4.2.1. Os padrões utilizados para a determinação de açúcares foram glicose, frutose e estaquiose; e para ácidos foram os ácidos lático, acético, butírico e propiônico, da Sigma-Aldrich[®] (St. Louis, MO, Estados Unidos).

4.5.4 Escore da atividade prebiótica

A atividade prebiótica indica a capacidade de um determinado substrato de promover o crescimento de um microrganismo probiótico em detrimento a outro entérico em comparação ao crescimento quando utilizado um substrato não prebiótico (MASSA *et al.*, 2020). O escore de atividade prebiótica (Equação 6) foi determinado para cada probiótico de acordo com Massa *et al.* (2020).

$$PAS = \left(\frac{P48 - P0}{G48 - G0} \right) p - \left(\frac{P48 - P0}{G48 - G0} \right) e \quad (6)$$

Onde:

p = indica a bactéria probiótica;

e = indica a bactéria entérica;

P = taxa de crescimento do microrganismo avaliado ($\log \text{ UFC mL}^{-1}$) quando o substrato prebiótico é utilizado como fonte de açúcar, nos tempos 48 h e 0;

G = taxa de crescimento do microrganismo avaliado ($\log \text{ UFC mL}^{-1}$) quando o substrato não prebiótico é utilizado como fonte de açúcar, nos tempos 48 h e 0.

4.6 Análise estatística

As análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos como médias \pm desvio-padrão. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando o software Minitab[®] 20.0 (Minitab Inc., State College, PA, Estados Unidos).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Composição centesimal do FAD

A composição centesimal do FAD está apresentada na Tabela 1, juntamente com os valores encontrados na literatura, para título de comparação.

Tabela 1 – Composição centesimal do farelo de arroz desengordurado

Composição Centesimal (g 100 g ⁻¹)					Autores
Umidade	Cinzas	Lipídios	Proteínas	Carboidratos	
8,21 ± 0,08	12,14 ± 0,03	1,37 ± 0,19	17,28 ± 0,45	61,00	Autoria própria (2021)
11,40 ± 0,09	7,90 ± 0,41	1,40 ± 0,09	14,40 ± 0,49	64,90	Leal <i>et al.</i> (2021)
10,11 ± 0,19	12,99 ± 0,15	1,36 ± 0,07	20,78 ± 0,25	54,76	Akter <i>et al.</i> (2020)
11,09 ± 0,12	11,31 ± 0,64	1,67 ± 0,04	14,89 ± 0,29	61,03	Bernardi <i>et al.</i> (2020)
9,89 ± 0,11	12,31 ± 0,03	1,10 ± 0,05	15,34 ± 0,30	61,30	Ferreira (2018)
8,50 ± 0,10	11,50 ± 0,70	2,50 ± 0,60	13,60 ± 0,30	64,30	Ly <i>et al.</i> (2018)

Nota: Média ± desvio padrão (n=3). Base úmida.

Fonte: Autoria própria (2021)

Observa-se na Tabela 1, que o FAD apresentou um teor de umidade inferior aos relatados por outros autores (AKTER *et al.*, 2020; FERREIRA, 2018; BERNARDI *et al.*, 2020; LEAL *et al.*, 2021; LY *et al.*, 2021); uma concentração de cinzas dentro da faixa citada na literatura (11,31 – 12,99%), com exceção de Leal *et al.* (2021), que relataram um valor cinzas inferior; e uma porcentagem de lipídios inferior ao informado por Ly *et al.* (2018), mas semelhante ao dos outros estudos (1,10 – 1,67%). Todos os trabalhos analisados apresentaram teores significativos, no entanto, bastante variáveis de proteínas (13,60 – 20,78%) e carboidratos (54,76 – 64,90%), sendo este último o componente presente em maior concentração nos farelos.

A variação nos valores dos parâmetros analisados (umidade, cinzas, lipídios, proteínas e carboidratos) descritas por cada autor pode ser explicado pela influência das diferentes variedades genéticas de arroz e/ou condições ambientais nas quais a planta foi cultivada, ou ainda, processo de beneficiamento, constituição, distribuição da composição química, anatomia e geometria dos grãos, resistência dos grãos à quebra, abrasão e ao processo de moagem (KALPANADEVI *et al.*, 2018; SPAGGIARI *et al.*, 2021).

5.2 Caracterização dos extratos

5.2.1 Quantificação de carboidratos totais

Os extratos CFSU e CFTH tem suas concentrações de carboidratos, juntamente com os rendimentos de extração apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Teor de carboidratos dos extratos e rendimento de extração

Amostra	Carboidratos totais (g CHO g ⁻¹ extrato)	Rendimento de extração (%)
CFSU	0,590 ± 0,001 ^a	96,72
CFTH	0,507 ± 0,004 ^b	83,11

Nota: CFSU – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica; CFTH – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico; Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria própria (2021)

De acordo com a Tabela 2, a extração assistida por ultrassom se mostrou mais eficiente em comparação ao tratamento hidrotérmico, apresentando um percentual de carboidratos extraídos e conseqüentemente um rendimento superior, assim como relatado por Ferreira (2018) (0,60 g CHO g⁻¹ extrato e 97,88% de rendimento para o método ultrassônico; 0,46 g CHO g⁻¹ extrato e 78,30% de rendimento para o tratamento hidrotérmico), sob as mesmas condições de trabalho.

Neste estudo, foi possível obter extratos com teor de carboidratos e rendimentos superiores aos encontrados na literatura para o método assistido por ultrassom e para o tratamento hidrotérmico. De acordo com Sfalcin *et al.* (2015) a obtenção de um extrato com 0,38 g CHO g⁻¹ extrato e 74,4% de rendimento foi observada após tratamento com ultrassom (40 kHz, 132 W, 60 °C, 4 h, 3% α-amilase, 65% umidade). Por sua vez, Surin *et al.* (2020) indicaram um rendimento de extração de apenas 4,04% usando um banho ultrassônico (150 W, 70 °C, 20 min). Para o tratamento hidrotérmico, foi obtido um extrato com teor de carboidratos de 45,47%, em extração a pH 7, 135 °C (0,22 MPa) por 30 min (KURDI; HANSAWASDI, 2015) e outro com 0,400 g CHO g⁻¹ extrato e 56,49% de rendimento, após tratamento a 200 °C a 7 Mpa por 79 min (SUNPHORKA *et al.*, 2012).

Dessa forma, torna-se interessante reforçar a ideia de Surin *et al.* (2020), de que além do método de extração, os fatores como temperatura, tempo, solvente e material extraído são parâmetros chave da eficiência do processo de extração.

5.2.2 Identificação e quantificação de carboidratos por CLAE

Os parâmetros de validação do método cromatográfico para quantificação de açúcares são apresentados na Tabela 3. A gama de trabalho linear ficou estabelecida com uma faixa de concentrações de 0,5 a 30,0 g L⁻¹ para os padrões de arabinose, estaquiose, galactose, glicose e manose, no qual o limite de quantificação foi inferior ao valor da menor concentração (0,5 g L⁻¹), o que está em conformidade com os requisitos no estabelecimento deste mesmo limite (BRASIL, 2017). Observou-se ainda, que os dados se ajustaram de forma adequada as equações geradas, uma vez que os valores dos coeficientes de determinação (R²) foram superiores a 0,99 para todos os analitos, respeitando o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação de acordo com a legislação (BRASIL, 2017).

Tabela 3 – Parâmetros de validação do método cromatográfico para quantificação de açúcares

Analito padrão	Curva padrão	R ²	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)
Arabinose	$y = 4,4573x - 0,8087$	0,999	0,101	0,336
Estaquiose	$y = 5,8252x + 0,1655$	0,997	0,103	0,343
Galactose	$y = 4,7553x - 1,6328$	0,995	0,126	0,420
Glicose	$y = 4,6096x + 2,798$	0,999	0,130	0,434
Manose	$y = 4,3666x + 0,3924$	0,998	0,137	0,458

Nota: LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação. R² – coeficiente de determinação.
Fonte: Autoria Própria (2021)

Por meio da análise cromatográfica dos extratos hidrolisados (Tabela 4 e Figura 5) foi possível identificar que o principal açúcar presente era a glicose, seguido da estaquiose e arabinose; resultados estes parcialmente de acordo com os dados encontrados na literatura, uma vez que em outros estudos sobre os carboidratos do farelo de arroz, foram verificados a presença dos açúcares glicose, manose e galactose (KURDI; HANSAWASDI, 2015); glicose e arabinose (HANSAWASDI; KURDI, 2017); glicose e estaquiose (FERREIRA, 2018).

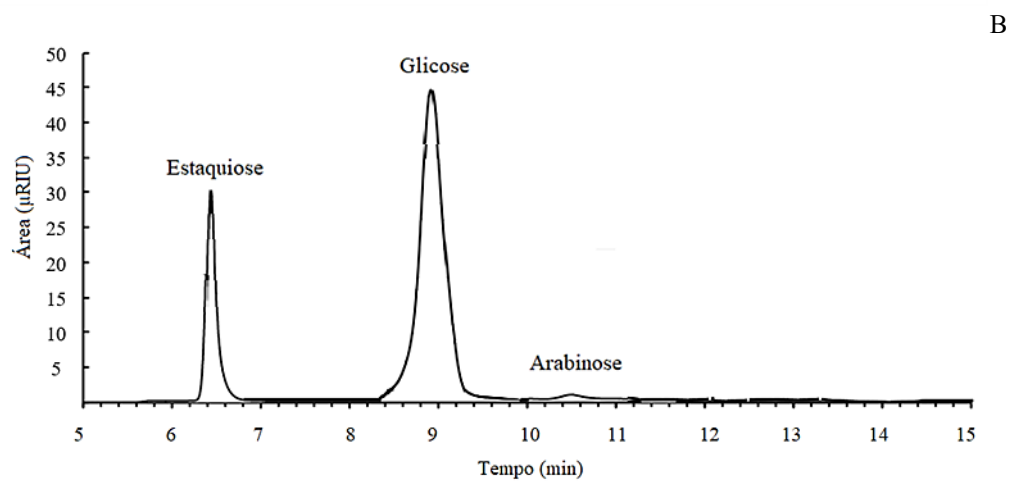
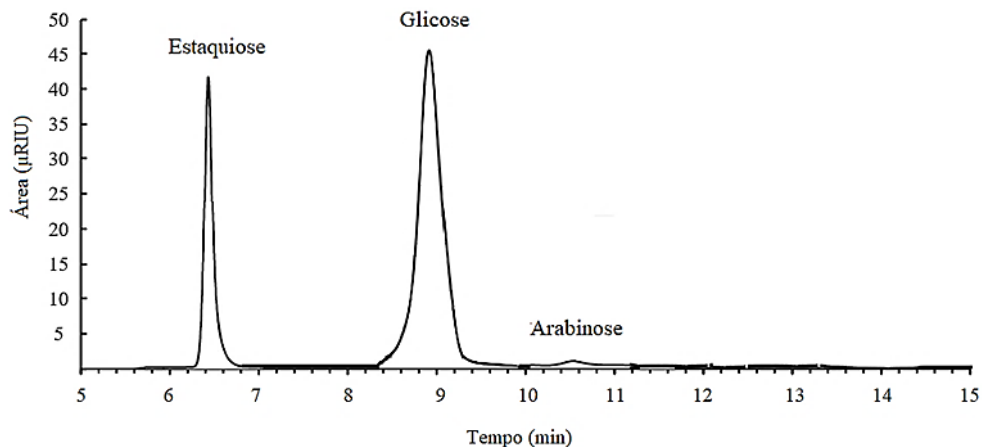
Tabela 4 – Composição de açúcares do hidrolisado, obtida por CLAE

Açúcares	Tempo de retenção (min)	CFSU (g g ⁻¹ extrato)	CFTH (g g ⁻¹ extrato)
Glicose	8,9	0,312 ± 0,014 ^a	0,306 ± 0,013 ^a
Estaquiose	6,51	0,245 ± 0,005 ^a	0,164 ± 0,004 ^b
Arabinose	10,5	*	*

Nota: * Não quantificável (< LQ: limite de quantificação); CFTH – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico; CFSU – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica. Médias seguidas pelas mesmas letras na mesma linha não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria própria (2021)

Figura 5 – Cromatograma dos hidrolisados obtido a partir do CFSU (A) e CFTH (B)



Nota: CFSU – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica; CFTH – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico.

Fonte: Autoria própria (2021)

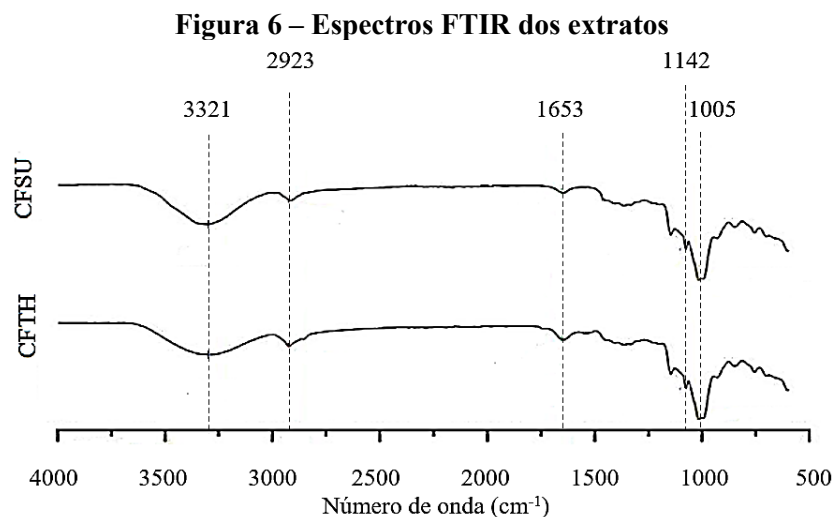
De acordo com a Tabela 4, os extratos CFTH e CFSU não apresentaram diferença significativa na concentração de glicose; no entanto, o mesmo não foi verificado em relação ao teor de estaquiiose, uma vez que o método ultrassônico promoveu extração de uma concentração superior ($p \leq 0,05$) de estaquiiose que tratamento hidrotérmico, diferença essa justificada, uma vez que a extração assistida por ultrassom apresentou um rendimento de extração superior, ou seja, promoveu uma maior extração de carboidratos totais ($0,590 \pm 0,001 \text{ g CHO g}^{-1}$ extrato) do que o tratamento hidrotérmico ($0,507 \pm 0,004 \text{ g CHO g}^{-1}$ extrato); essa diferença não foi observada para as concentrações de açúcares redutores dos extratos CFSU ($0,334 \pm 0,014 \text{ g CHO g}^{-1}$ extrato) e CFTH ($0,330 \pm 0,015 \text{ g CHO g}^{-1}$ extrato), sendo possível inferir que a diferença na concentração de carboidratos totais é resultante do teor de açúcares não redutores.

Em relação a arabinose, apesar do açúcar ter sido identificado nos dois extratos, a concentração do mesmo não foi quantificável nas amostras, uma vez que os valores destes ficaram acima do limite de detecção, mas abaixo do limite de quantificação.

A presença de estaquiiose nos carboidratos do FAD é justificado por Zhao *et al.* (2021), uma vez que de acordo com o autor a estaquiiose é um dos mais abundantes tetrassacarídeos em plantas e leguminosas, sendo metabolizada durante a germinação em sementes, podendo ainda, ser armazenada ou transformada em outros α -galactosil oligossacarídeos. Segundo Zhao *et al.* (2021) e Zhong *et al.* (2018), a estaquiiose é um carboidrato de extremo interesse, uma vez que é considerado um oligossacarídeo funcional, atuando como um potencial prebiótico capaz de promover a modulação da microbiota intestinal de animais e humanos.

5.2.3 Grupos funcionais por espectroscopia FTIR

Os espectros FTIR dos extratos CFSU e CFTH apresentaram um perfil semelhante, e são mostrados na Figura 6 com as principais bandas de absorção destacadas.



Nota: CFSU – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica; CFTH – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico.

Fonte: Autoria própria (2021)

De acordo com os espectros apresentados na Figura 6, foram identificadas absorções características na região de 3321 cm^{-1} de banda atribuída ao estiramento largo O–H, indicando a presença de grupos hidroxilas, e juntamente com estiramento de carbonila C=O em 1653 cm^{-1} indicam a presença de ácido carboxílico, além de outros grupos contendo oxigênio (COATES, 2016; NANDIYANTO *et al.*, 2019; WONG *et al.*, 2020). Segundo Piotrowicz e Salas-Mellado (2017), os polissacarídeos normalmente apresentam uma grande quantidade de grupos OH, quais têm bandas amplas e intensas próximas a 3300 cm^{-1} pelo alongamento da ligação O–H, enquanto as bandas entre $3000\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$ estão relacionadas à presença de hidroxilas correspondentes a polifenóis e álcoois.

Ao mesmo tempo, as bandas localizadas em 2923, 1142 e 1005 cm^{-1} , correspondem respectivamente ao estiramento C–H associado ao grupo metileno, estiramento C–C, e deformação C–O relacionada a presença de álcoois primários (COATES, 2016; NANDIYANTO *et al.*, 2019), e representam grupos funcionais típicos nos sacarídeos (FRANÇA *et al.*, 2017); enquanto as bandas 3321, 2923 e 1653 cm^{-1} são características de um anel de carboidrato (WANG *et al.*, 2008).

Esses resultados mostram a pureza dos processos de extração, já que os carboidratos eram os únicos componentes presentes em CFSU e CFTH, não sendo identificado a presença de picos que indiquem outros materiais orgânicos, como lipídios e proteínas, uma vez que estes poderiam interferir na atividade prebiótica dos carboidratos do FAD (NANDIYANTO *et al.*, 2019; NOR *et al.*, 2017).

5.3 Atividade prebiótica

5.3.1 Digestibilidade *in vitro* dos carboidratos

O grau de hidrólise dos extratos CFSU e CFTH e das amostras prebióticas (inulina e oligofrutose) determinados após a digestibilidade *in vitro*, em diferentes concentrações (15 e 30 g L^{-1}) estão demonstrados na Tabela 5. O grau de hidrólise apresentou relação direta com a concentração, onde o aumento da concentração inicial de carboidratos de 15 g L^{-1} para 30 g L^{-1} promoveu o aumento da hidrólise em todas as amostras analisadas.

Tabela 5 – Percentual de hidrólise dos carboidratos após a digestibilidade *in vitro*

Amostra	Concentração (g L^{-1})	Grau de hidrólise (%)
Inulina	15	0,45 ± 0,39 ^c
	30	4,29 ± 1,11 ^c
Oligofrutose	15	2,64 ± 0,02 ^d
	30	5,53 ± 0,03 ^c
CFSU	15	4,44 ± 0,48 ^c
	30	11,74 ± 0,18 ^b
CFTH	15	5,72 ± 1,50 ^c
	30	17,99 ± 2,44 ^a

Nota: CFSU – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica; CFTH – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico; Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pelas mesmas letras na mesma coluna não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria própria (2021)

Embora os extratos tenham apresentado um grau de hidrólise superior ($p \leq 0,05$) aos prebióticos (Tabela 5), CFSU e CFTH foram resistentes às condições simuladas do trato digestivo, assim como a inulina e a oligofrutose, uma vez que apresentaram um percentual hidrolisado relativamente baixo; dessa forma, respeitando uma das exigências requeridas para a classificação de um ingrediente como prebiótico, uma vez que o composto não deve ser hidrolisado por enzimas e pelo ácido gástrico para permitir assim, que o produto chegue ao intestino e facilite a proliferação de probióticos (GIBSON *et al.*, 2017; NOR *et al.*, 2017).

Com base nos resultados do estudo de digestibilidade, pode-se deduzir que, quando os carboidratos do farelo de arroz são consumidos a uma concentração de 15 g L^{-1} , cerca de 94,28% (tratamento hidrotérmico) a 95,56% (método ultrassônico) do produto permanecem inalterados após exposição as condições gastrointestinais simuladas *in vitro*, porcentagem esta inferior em comparação com a inulina (99,55%) e a oligofrutose (97,36%). Já quando a concentração inicial é aumentada para 30 g L^{-1} , a porcentagem de produto inalterada ao final do processo digestivo simulado diminui para aproximadamente 82,01%, 88,26%, 95,71% e 94,47%, para os carboidratos extraídos do FAD (CFTH e CFSU), inulina e oligofrutose, respectivamente.

Estes resultados são superiores aos encontrados por Kurdi e Hansawsadi (2015), para os oligossacarídeos extraídos do farelo de arroz pelo tratamento hidrotérmico, o qual demonstrou um grau de hidrólise inferior a 1,1%. Os mesmos autores, em um novo estudo, verificaram novamente a resistência deste produto, no entanto, obtido por hidrólise ácida, e relataram que o mesmo foi apenas ligeiramente hidrolisado ($< 12\%$), percentual esse superior ao encontrado nesse estudo, para extratos CFSU e CFTH, com exceção do último a uma concentração de 30 g L^{-1} (HANSAWSADI; KURDI, 2017). Por sua vez, Patindol *et al.* (2007), ao estudar resistência a digestibilidade de oligossacarídeos de farelo de arroz desengordurado obtidos por extração assistida por celulase, indicaram um percentual de hidrólise superior a 22%, sugerindo assim que o método e as características de extração têm influência na hidrólise do material, possivelmente decorrente da alteração na composição de carboidratos do extrato.

Sendo assim, foi possível determinar que a maior parte dos carboidratos do FAD não são hidrolisados nas condições gastrointestinais simuladas *in vitro*, o que pode sugerir que estes poderiam ser utilizados pelos probióticos residentes, especialmente *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, reafirmando a ideia anteriormente relatada por Kurdi e Hansawsadi ao propor a utilização dos oligossacarídeos extraídos do farelo de arroz como aditivos alimentares prebióticos (KURDI; HANSAWSADI, 2015; HANSAWSADI; KURDI, 2017).

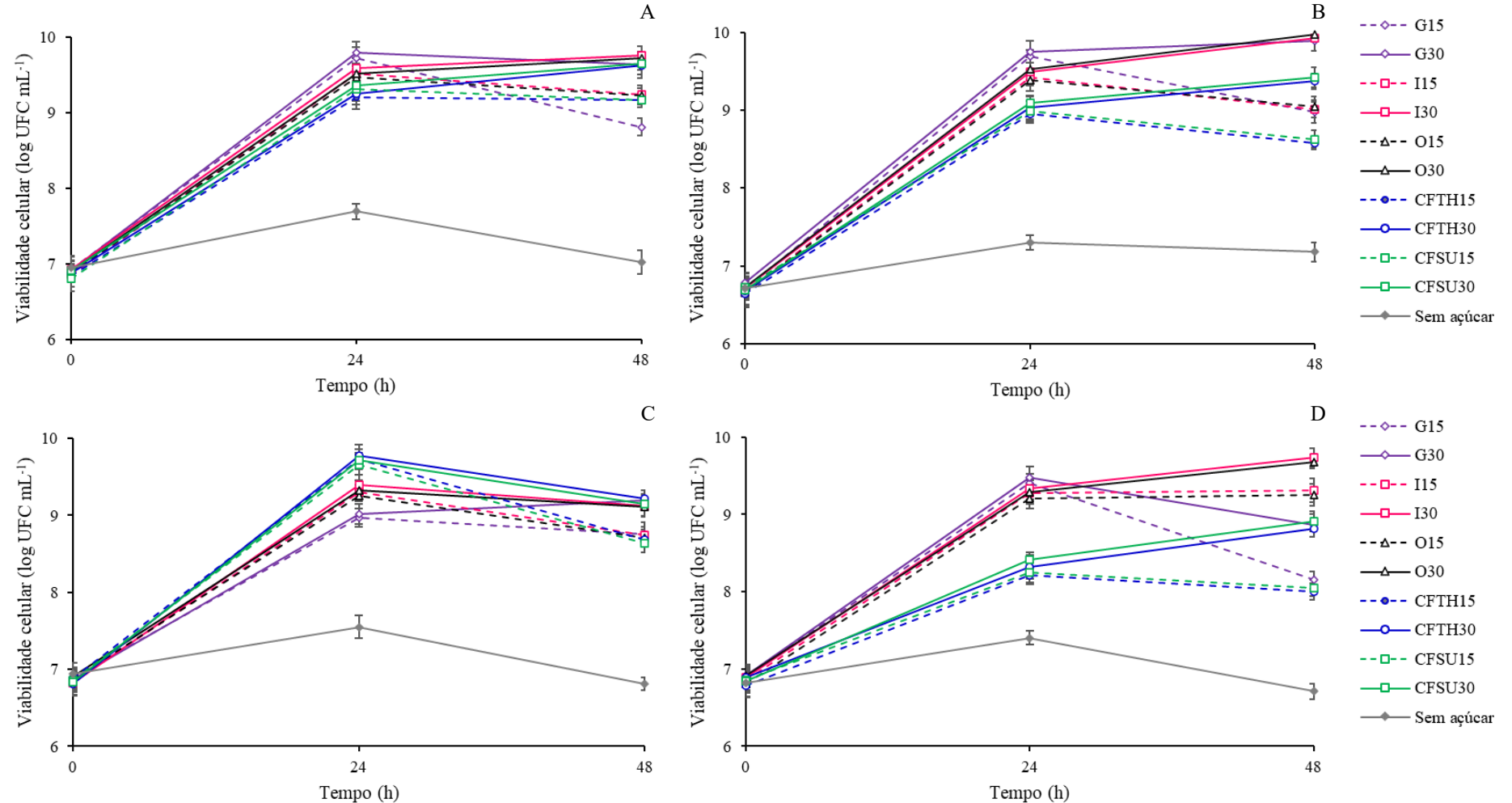
5.3.2 Efeito dos carboidratos no crescimento de microrganismos

A viabilidade dos microrganismos *L. acidophilus* LA-05, *L. casei*-01, *L. plantarum* BG 112 e *L. rhamnosus* ATCC 53103 em caldo basal contendo ou não as diferentes fontes de açúcares durante um período de 48 h são apresentadas na Figura 7 (A – D).

As contagens dos probióticos em diferentes meios durante o período de cultivo foram $\geq 6,6 \log \text{UFC mL}^{-1}$. Os probióticos testados apresentaram contagens superiores a $8 \log \text{UFC mL}^{-1}$ após 48 h de cultivo em meio com glicose, inulina, oligofrutose, CFTH ou CFSU; enquanto os meios sem açúcares, não sustentaram contagens aumentadas de probióticos ao longo do tempo, apresentando uma viabilidade final entre $6,7$ e $7,2 \log \text{UFC mL}^{-1}$, e uma promoção de crescimento apenas para *L. casei* no final do tempo de incubação ($\leq 0,5 \log \text{UFC mL}^{-1}$), demonstrando que qualquer aumento do crescimento bacteriano verificado nos meios contendo cada uma das fontes de açúcares adicionadas está estritamente relacionado ao seu potencial de melhorar o crescimento e sobrevivência bacteriana (DUARTE *et al.*, 2017).

De modo geral, uma maior concentração de carboidratos (30 g L^{-1}) proporcionou um maior ($p \leq 0,05$) crescimento das cepas de *Lactobacillus* ($\geq 2,0 \log \text{UFC mL}^{-1}$), quando comparadas ao meio contendo 15 g L^{-1} de açúcares ($\geq 1,2 \log \text{UFC mL}^{-1}$) ao final do tempo de cultivo (0 – 48 h), qual não foi totalmente refletido no tempo 24 h, uma vez que neste período as fontes de açúcares ocasionaram um crescimento semelhante ($p > 0,05$), para cada carboidrato. Resultados que contradizem parcialmente o relatado por Duarte *et al.* (2017), onde apesar de terem sido verificados uma promoção de crescimento semelhante ($p > 0,05$) de *L. acidophilus* LA-5, *L. paracasei* L-10 e *L. casei* L-26 em um tempo de 24 h, independentemente da concentração de carboidrato incorporado ao meio (20 ou 30 g L^{-1}); após 48 h de incubação, o mesmo foi observado para o último microrganismo, no entanto, para os demais microrganismos, a menor concentração de açúcar ocasionou maiores efeitos na promoção de crescimento.

Figura 7 – Contagens viáveis de *L. acidophilus* LA-5 (A), *L. casei*-01 (B), *L. plantarum* BG 112 (C) e *L. rhamnosus* ATCC 53103 (D) em meio sem ou com fonte de açúcares (glicose, inulina, oligofrutose, CFTH e CFSU)



Nota: G15 – glicose (15 g L⁻¹); G30 – glicose (30 g L⁻¹); I15 – inulina (15 g L⁻¹); I30 – inulina (30 g L⁻¹); O15 – oligofrutose (15 g L⁻¹); O30 – oligofrutose (30 g L⁻¹); CFTH15 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (15 g L⁻¹); CFTH30 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (30 g L⁻¹); CFSU15 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (15 g L⁻¹); CFSU30 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (30 g L⁻¹). Média ± desvio padrão (n = 3).

Fonte: Autoria própria (2021)

Segundo Teberga (2017) devido a glicose ser um monossacarídeo, a mesma é mais facilmente fermentescível, quando comparada com os carboidratos complexos, não necessitando ser hidrolisada, além de ser metabolizada por uma gama de espécies de microrganismos, justificando um melhor ($p \leq 0,05$) desempenho do *L. acidophilus* ($\geq 2,8 \log \text{ UFC mL}^{-1}$), *L. casei* ($\geq 3,0 \log \text{ UFC mL}^{-1}$) e *L. rhamnosus* ($\geq 2,5 \log \text{ UFC mL}^{-1}$) em meio contendo glicose no tempo de 24 h; no entanto, no tempo de 48 h, a situação encontrada foi invertida, uma vez que nos meios contendo glicose foram verificadas maiores reduções ou menores aumentos na população das cepas de *Lactobacillus* testadas, com exceção do *L. plantarum*, quando comparadas ao tempo de 24 h. Comportamento semelhante foi reportado por estudos anteriores para *L. casei* (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020; MASSA *et al.*, 2020) e *L. acidophilus* (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020), os quais também verificaram uma maior redução de viabilidade dos microrganismos em meio contendo glicose quando comparado ao composto por fruto-oligossacarídeos entre 12 e 48 h.

Os extratos contendo os carboidratos do farelo de arroz (CFTH e CFSU) não apresentaram diferença ($p > 0,05$) entre si na promoção de crescimento de *L. acidophilus* ($\approx 2,4 \log \text{ UFC mL}^{-1}$), *L. casei* ($\approx 2,3 \log \text{ UFC mL}^{-1}$), *L. plantarum* ($\approx 2,9 \log \text{ UFC mL}^{-1}$) e *L. rhamnosus* ($\approx 1,4 \log \text{ UFC mL}^{-1}$), independentemente da concentração de carboidrato utilizado, no tempo de 24 h; assim como verificado após 48 h de incubação no meio inoculado com *L. acidophilus* ($\approx 2,3$ e $2,7 \log \text{ UFC mL}^{-1}$), *L. casei* ($\approx 1,9$ e $2,7 \log \text{ UFC mL}^{-1}$), *L. plantarum* ($\approx 1,8$ e $2,4 \log \text{ UFC mL}^{-1}$) e *L. rhamnosus* ($\approx 1,2$ e $2,0 \log \text{ UFC mL}^{-1}$), nas concentrações de 15 e 30 g L⁻¹, respectivamente; indicando que o tratamento utilizado na extração dos carboidratos não teve influência no crescimento do probiótico, dentro da mesma concentração.

CFTH/CFSU promoveram o crescimento de duas das quatro espécies de *Lactobacillus*, a citar *L. acidophilus* ($\approx 2,3$ e $2,7 \log \text{ UFC mL}^{-1}$) e *L. plantarum* ($\approx 1,8$ e $2,4 \log \text{ UFC mL}^{-1}$), ao final do tempo de incubação (48 h), de forma semelhante ou superior ao da inulina/oligofrutose ($\approx 2,4$ e $2,8 \log \text{ UFC mL}^{-1}$ de *L. acidophilus*; $\approx 1,9$ e $2,3 \log \text{ UFC mL}^{-1}$ de *L. plantarum*), nas concentrações de 15 e 30 g L⁻¹, respectivamente; assim como relatado por Kurdi e Hansawasdi (2015, 2017), que verificaram o crescimento de *L. reuteri* JCM 1112 e *L. gasseri* JCM 1131 em meio com os oligossacarídeos do farelo de arroz extraídos por tratamento térmico e hidrólise ácida de forma semelhante ou melhor ao do prebiótico controle (inulina).

CFTH/CFSU foram capazes de promover o crescimento das espécies de *Lactobacillus* no tempo de 48h ($\approx 2,3$ e $2,7 \log \text{ UFC mL}^{-1}$ de *L. acidophilus*; $\approx 1,8$ e $2,4 \log \text{ UFC mL}^{-1}$ de

L. plantarum; $\approx 1,2$ e $2,0$ log UFC mL⁻¹ de *L. rhamnosus*), com exceção do *L. casei* ($\approx 1,9$ e $2,7$ log UFC mL⁻¹), de forma semelhante ou melhor ao da glicose ($\approx 1,9$ e $2,7$ log UFC mL⁻¹ de *L. acidophilus*; $\approx 2,3$ e $3,1$ log UFC mL⁻¹ de *L. casei*; $\approx 1,8$ e $2,3$ log UFC mL⁻¹ de *L. plantarum*; $\approx 1,2$ e $1,9$ log UFC mL⁻¹ de *L. rhamnosus*) nas concentrações de 15 e 30 g L⁻¹ de carboidratos, respectivamente; resultados esses que corroboram com a teoria de que componentes com potenciais efeitos prebióticos promovem o crescimento de probióticos com contagens de células viáveis comparáveis àquelas verificadas quando os probióticos são cultivados na presença de glicose (DUARTE *et al.*, 2017; HANSAWASDI; KURDI, 2017).

As altas contagens de probióticos (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* e *L. rhamnosus*) durante o cultivo em meio com CFTH e CFSU indicam a capacidade dos microrganismos inoculados em usar os carboidratos de farelo de arroz como substratos de crescimento (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020; MASSA *et al.*, 2020); assim como relatado anteriormente para as cepas de *L. acidophilus* (FERRONATTO *et al.*, 2021; HANSAWASDI; KURDI, 2017; KURDI; HANSAWASDI, 2015; SAWANGWAN; SAMAN *et al.*, 2016), *L. casei* (DEMIRCI *et al.*, 2017), *L. gasseri* (HANSAWASDI; KURDI, 2017; KURDI; HANSAWASDI, 2015), *L. plantarum* (FERRONATTO *et al.*, 2021; SAMAN *et al.*, 2011; SAWANGWAN; SAMAN, 2016; SAMAN *et al.*, 2019), e *L. reuteri* (HANSAWASDI; KURDI, 2017; KURDI; HANSAWASDI, 2015; SAWANGWAN; SAMAN *et al.*, 2019), sugerindo o potencial prebiótico do farelo de arroz.

No entanto, diferentemente do que ocorre com os probióticos, outra propriedade característica de um substrato prebiótico é que ele não deve ser fermentado por organismos comensais (ZHANG *et al.*, 2018), conforme observado pelo crescimento significativamente maior ($p \leq 0,05$) da bactéria entérica *E. coli* O157:H7 em meios contendo glicose ($\approx 1,3$ e $1,7$ log UFC mL⁻¹, na concentração de 15 e 30 g L⁻¹, respectivamente) ao final do tempo de incubação (48 h), quando comparado as formulações sem açúcar ou contendo 15 g L⁻¹ de carboidratos (inulina, oligofrutose, CFTH ou CFSU), as quais não apresentaram diferença significativa ($p > 0,05$) entre si ($\approx 0,6$ log UFC mL⁻¹), e ainda, quando comparado com os caldos contendo 30 g L⁻¹ de inulina/oligofrutose ($\approx 0,9$ log UFC mL⁻¹) ou CFTH/CFSU ($\approx 0,7$ log UFC mL⁻¹), apoiando o potencial dos carboidratos do farelo de arroz desengordurado como prebióticos, uma vez que apesar de CFTH e CFSU serem capazes de suportar o crescimento da bactéria entérica, seu número foi inferior ao de bactérias benéficas.

5.3.3 Escore de atividade prebiótica

Os escores de atividade prebiótica dos carboidratos do farelo de arroz desengordurado (CFTH e CFSU) e dos prebióticos reconhecidos (inulina e oligofrutose – controles positivos), para nível de comparação, em *L. acidophilus* LA-05, *L. casei*-01, *L. plantarum* BG 112 e *L. rhamnosus* ATCC 53103 são mostrados na Tabela 6.

Tabela 6 – Escores de atividade prebiótica de inulina, oligofrutose, CFTH e CFSU em *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* e *L. rhamnosus*

Fontes de açúcares		Microrganismos			
	Concentração	<i>L. acidophilus</i>	<i>L. casei</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. rhamnosus</i>
Inulina	15 g L ⁻¹	0,77 ± 0,08 ^{Ab}	0,52 ± 0,04 ^{Ac}	0,52 ± 0,05 ^{BCc}	1,17 ± 0,07 ^{Aa}
Oligofrutose		0,76 ± 0,05 ^{Ab}	0,56 ± 0,01 ^{Ac}	0,51 ± 0,03 ^{BCc}	1,18 ± 0,09 ^{Aa}
CFTH		0,83 ± 0,09 ^{Aa}	0,54 ± 0,03 ^{Abc}	0,57 ± 0,01 ^{ABb}	0,42 ± 0,02 ^{Dec}
CFSU		0,83 ± 0,03 ^{Aa}	0,52 ± 0,02 ^{Ab}	0,53 ± 0,04 ^{BCb}	0,38 ± 0,03 ^{Ec}
Inulina	30 g L ⁻¹	0,53 ± 0,03 ^{Bb}	0,53 ± 0,02 ^{Ab}	0,48 ± 0,04 ^{BCb}	0,96 ± 0,05 ^{Ba}
Oligofrutose		0,55 ± 0,03 ^{Bb}	0,53 ± 0,01 ^{Ab}	0,46 ± 0,03 ^{Cb}	0,95 ± 0,10 ^{Ba}
CFTH		0,60 ± 0,02 ^{Ba}	0,37 ± 0,04 ^{Bb}	0,63 ± 0,01 ^{Aa}	0,58 ± 0,02 ^{Cda}
CFSU		0,57 ± 0,05 ^{Ba}	0,36 ± 0,03 ^{Bb}	0,56 ± 0,04 ^{ABa}	0,64 ± 0,03 ^{Ca}

Nota: CFTH – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico; CFSU – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica. Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas na coluna não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas na mesma linha não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Aatoria Própria (2021)

CFTH e CFSU mostraram escores de atividade prebiótica positivos nas quatro cepas testadas, embora esses valores variaram com a concentração e a cepa probiótica; os mesmos não apresentaram diferença ($p > 0,05$) entre si para o mesmo probiótico e concentração analisada, indicando que assim como evidenciado pelo crescimento semelhante dos probióticos analisados em CFTH e CFSU, o tratamento utilizado na extração dos carboidratos não teve influência no escore da atividade prebiótica.

Os diferentes valores positivos de escores de atividade prebiótica encontrados para as fontes de açúcares em diferentes probióticos, segundo Zhang *et al.* (2018) podem estar associados a um efeito dependente da cepa, uma vez que as diferentes características metabólicas dos microrganismos podem impactar nas habilidades para usar os nutrientes disponíveis nos meios de cultivo.

Os escores de atividade prebiótica positivos encontrados para todas as amostras indicam que os carboidratos do farelo de arroz tem a capacidade de estimular seletivamente o

crescimento de microrganismos benéficos em vez de entéricos, o que é uma característica desejada para um ingrediente prebiótico, principalmente levando em conta a vantagem competitiva dos probióticos sobre os patógenos entéricos quando os mesmos coexistem no mesmo ambiente (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020; DUARTE *et al.*, 2017; MASSA *et al.*, 2020). Dessa forma, reafirmando o potencial prebiótico desses carboidratos, especialmente uma vez que os escores de atividade prebiótica de CFTH e CFSU foram semelhantes ou superiores aos dos prebióticos reconhecidos (inulina e oligofrutose) em *L. acidophilus* (15 e 30g L⁻¹ CHO), *L. casei* (15 g L⁻¹ CHO) e *L. plantarum* (15 e 30 g L⁻¹ CHO).

5.3.4 Parâmetros da atividade metabólica dos probióticos

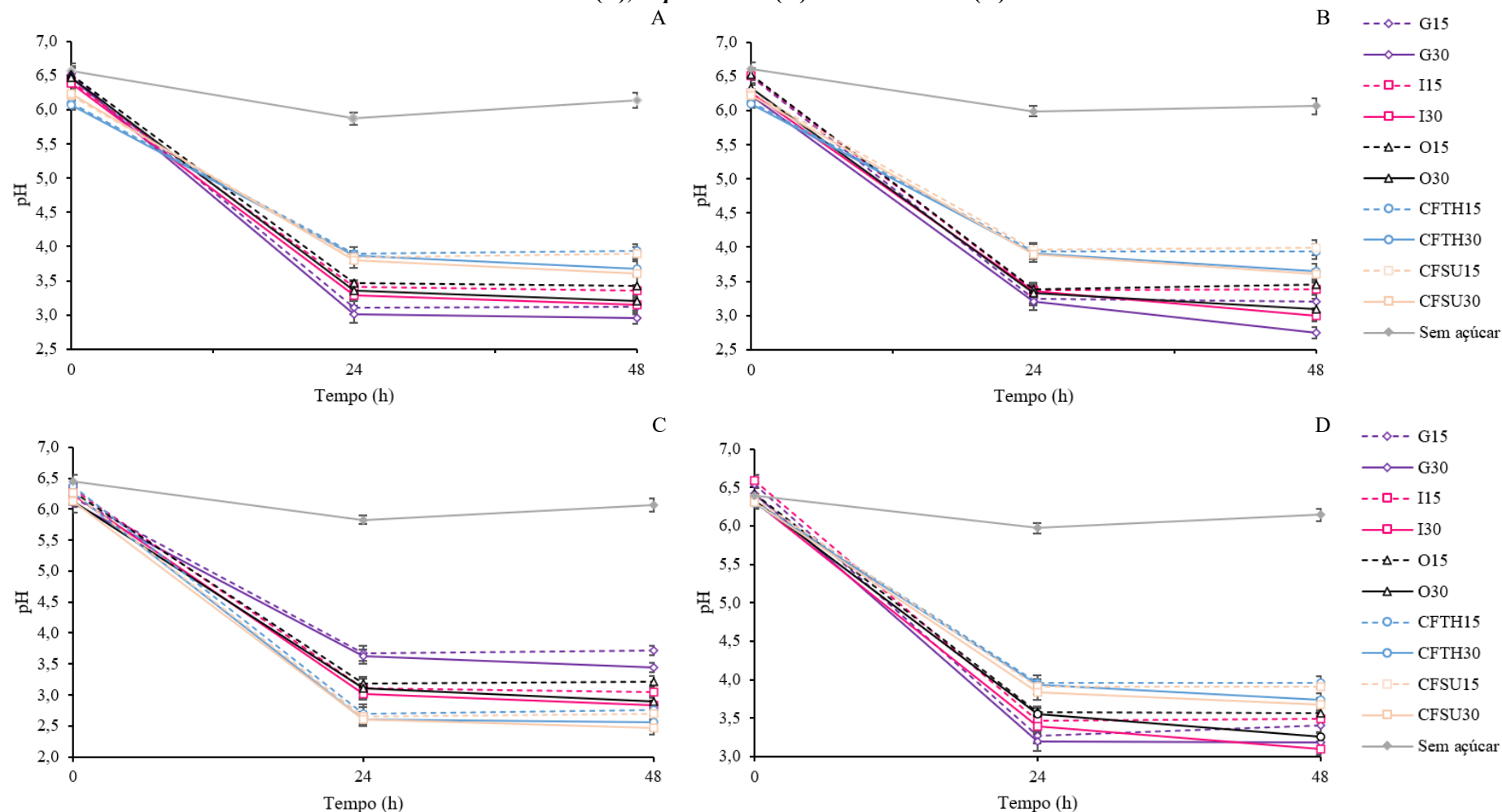
5.3.4.1 Acompanhamento de pH

O cultivo dos quatro probióticos em meio com as diferentes fontes de açúcares causou diminuições nos valores de pH ao longo do tempo (Figura 8A – D). A atividade acidificante das cepas probióticas aumentou com o aumento da concentração de açúcares. O pH mais alto (> pH 6,0) foi encontrado entre 24 e 48 h em meios sem açúcar, independentemente da cepa probiótica. As cepas de *L. acidophilus*, *L. casei* e *L. rhamnosus* promoveram uma menor redução ($p \leq 0,05$) do pH em meios com CFSU e CFTH ($\Delta\text{pH} \leq 2,6$) quando comparados a meios com os demais açúcares analisados ($\Delta\text{pH} > 2,8$) após 48 h de cultivo. Por outro lado, *L. plantarum* causou uma maior diminuição ($p \leq 0,05$) no pH dos meios com CFSU e CFTH ($\Delta\text{pH} > 3,5$) quando comparado a outras fontes de açúcar ($\Delta\text{pH} \leq 3,4$) no final do tempo de cultivo.

O aumento nas contagens de células viáveis de probióticos, verificado mais explicitamente em 24 h de cultivo, em paralelo a diminuições nos valores de pH ao longo do tempo em meios com CFTH e CFSU, indicam os efeitos estimuladores dos carboidratos do farelo de arroz desengordurado no crescimento dos probióticos e a intensa atividade metabólica desses microrganismos (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020; MASSA *et al.*, 2020), assim como verificado nos caldos contendo as demais fontes de açúcares adicionadas.

A intensa atividade metabólica bacteriana verificada nos caldos contendo carboidratos do farelo de arroz é um achado interessante, uma vez que a sobrevivência e o crescimento dos probióticos e os efeitos benéficos relacionados ao hospedeiro foram diretamente associados à diminuição do pH e ao aumento da produção de ácidos orgânicos, já que nessas condições, o crescimento de certas bactérias patogênicas são inibidas, enquanto o crescimento de bactérias benéficas é estimulado (DUARTE *et al.*, 2017; GIBSON *et al.*, 2018).

Figura 8 – Evolução do pH em meio sem ou com fonte de açúcares (glicose, inulina, oligofrutose, CFTH e CFSU) inoculados com *L. acidophilus* (A), *L. casei* (B), *L. plantarum* (C) e *L. rhamnosus* (D)



Nota: G15 – glicose (15 g L⁻¹), G30 – glicose (30 g L⁻¹), I15 – inulina (15 g L⁻¹), I30 – inulina (30 g L⁻¹), O15 – oligofrutose (15 g L⁻¹), O30 – oligofrutose (30 g L⁻¹), CFTH15 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (15 g L⁻¹), CFTH30 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (30 g L⁻¹), CFSU15 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (15 g L⁻¹), CFSU30 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (30 g L⁻¹). Média ± desvio padrão (n = 3).

Fonte: Autoria Própria (2021)

5.3.4.2 Consumo de açúcares

Os parâmetros de validação do método cromatográfico para quantificação de açúcares são mostrados na Tabela 7. A gama de trabalho linear ficou estabelecida com uma faixa de concentrações de 0,5 a 30,0 g L⁻¹ para os padrões de estaquiase, frutose e glicose, no qual o limite de quantificação foi inferior ao valor da menor concentração (0,5 g L⁻¹), o que está em conformidade com os requisitos no estabelecimento deste mesmo limite (BRASIL, 2017). Observou-se ainda, que os dados se ajustaram de forma adequada as equações geradas, uma vez que os valores dos coeficientes de determinação (R²) foram superiores a 0,99 para todos os analitos, respeitando o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação de acordo com a legislação (BRASIL, 2017).

Tabela 7 – Parâmetros de validação do método cromatográfico para quantificação de açúcares

Analito padrão	Curva padrão	R ²	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)
Glicose	y = 4,6096x + 2,798	0,999	0,130	0,434
Frutose	y = 6,1239x - 3,142	0,996	0,101	0,339
Estaquiase	y = 5,8252x + 0,1655	0,997	0,103	0,343

Nota: LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação. R² – coeficiente de determinação.

Fonte: Aatoria Própria (2021)

Os conteúdos de glicose, frutose e estaquiase durante o cultivo das cepas probióticas de *Lactobacillus* em meio de cultivo contendo glicose, inulina, oligofrutose, CFTH ou CFSU são apresentados nas Figuras 9 – 11 (A – D); de forma geral, os conteúdos de frutose, glicose e estaquiase diminuíram durante o período de incubação em meio com qualquer uma das fontes de açúcares e cepas probióticas inoculadas.

A glicose (Figura 9A – D) foi detectada em todos os meios, no tempo 0 h, independentemente da fonte de açúcar utilizada, sendo mais evidenciada nas formulações contendo glicose, seguido das com CFTH/CFSU e inulina/oligofrutose. As concentrações de glicose diminuíram ao longo do tempo, independente dos meios de cultivo e da cepa inoculada. Para todos os tempos de incubação avaliados, os conteúdos de glicose foram semelhantes ($p > 0,05$) em caldo contendo CFTH ou CFSU, em uma mesma concentração (15 ou 30 g L⁻¹), inoculado com qualquer uma das cepas testadas, assim como verificado com a inulina e a oligofrutose.

A frutose (Figura 10A – D) não foi detectada em caldo contendo glicose, independentemente do tempo de cultivo (0, 24 ou 48 h), assim como nos caldos com CFTH e CFSU, no tempo 0 h. Nos demais meios, as quantidades de frutose diminuíram acentuadamente

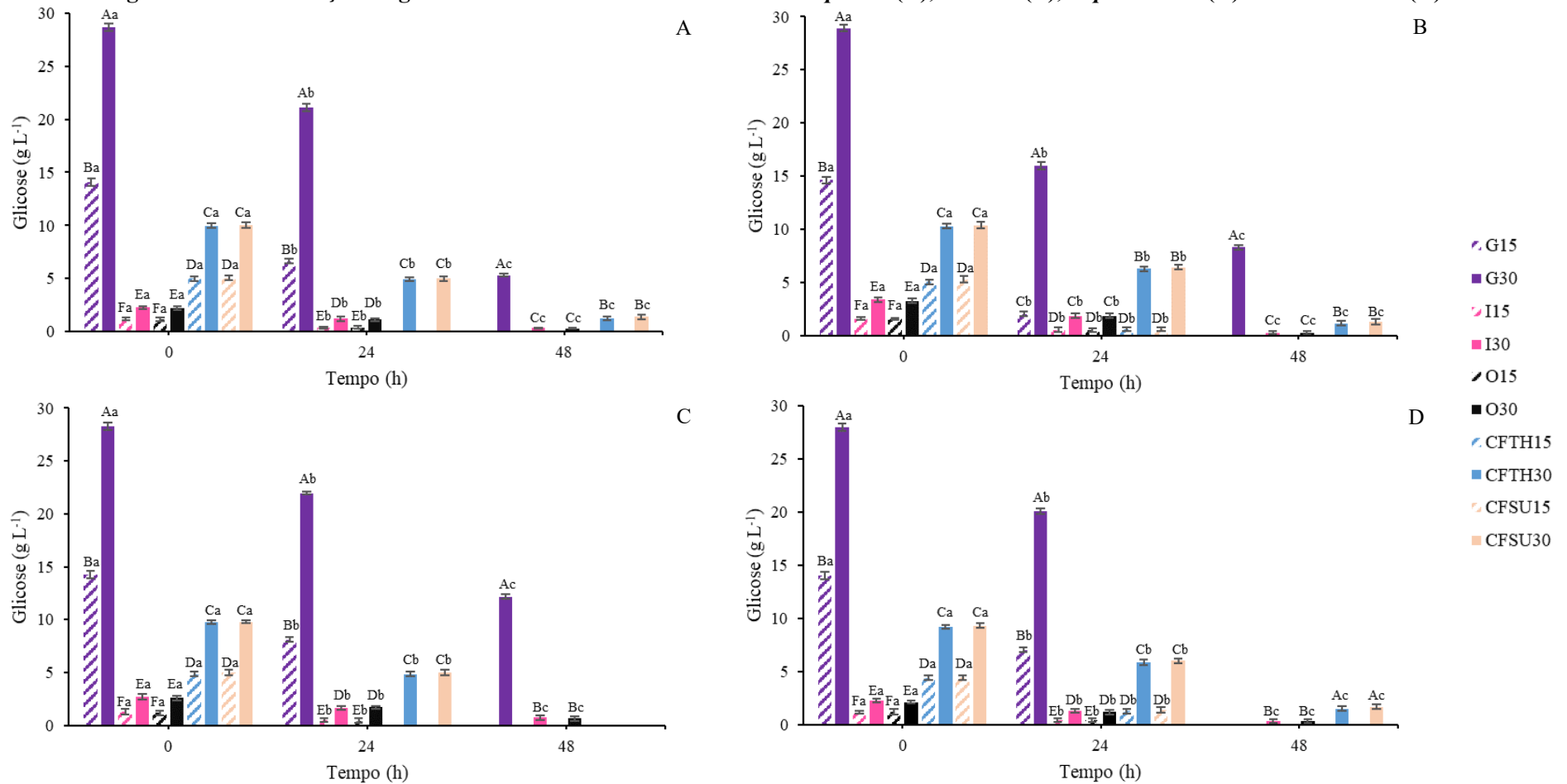
ou foram totalmente consumidos no final do período de incubação avaliado, nos meios com concentração de 30 e 15 g L⁻¹ de açúcares, respectivamente.

A estaquiase (Figura 11A – D) foi identificada apenas nos meios com os carboidratos do farelo de arroz desengordurado (CFTH e CFSU), sendo consumida ao longo do tempo por todos os probióticos. Os caldos com CFSU apresentaram uma quantidade superior de estaquiase quando comparado ao conteúdo presente nos meios com CFTH, em uma mesma concentração (15 ou 30 g L⁻¹), independentemente do tempo (0, 24 ou 48 h).

As concentrações de açúcares que foram observadas nos caldos contendo CFTH e CFSU podem estar associadas à composição da fonte de açúcar que foi adicionada a este meio, tendo glicose e estaquiase como açúcares majoritários inicialmente. No entanto, a capacidade das bactérias lácticas de fermentar carboidratos complexos, com a liberação de sacarídeos menores (DUARTE *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2021; ZÚÑIGA *et al.*, 2021) como glicose e frutose, pode ocasionar aumento nas quantidades desses açúcares, qual possivelmente é causa dos teores de frutose (Figura 10A – D) nos meios com CFTH e CFSU no tempo de 24 h, uma vez que não estavam presentes no tempo de 0 h.

A diminuição do conteúdo de glicose, frutose e estaquiase nos meios com CFTH e CFSU indica seu uso para promover o aumento da população de *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* e *L. rhamnosus* ao longo do tempo (MASSA *et al.*, 2020), reafirmando a ideia de que os carboidratos de farelo de arroz desengordurado podem ser utilizados como substratos de crescimento de cepas probióticas.

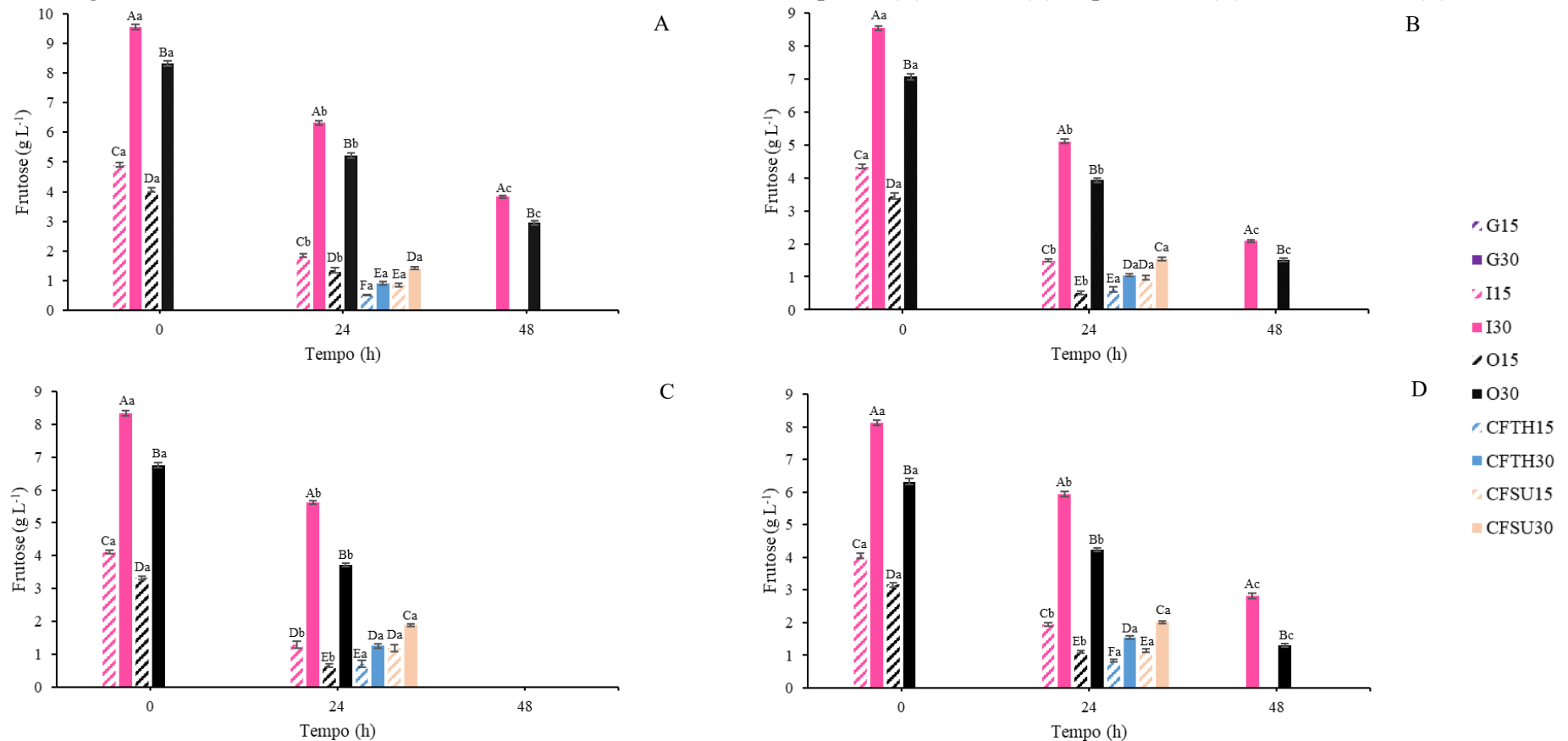
Figura 9 – Concentração de glicose nos meios inoculados com *L. acidophilus* (A), *L. casei* (B), *L. plantarum* (C) e *L. rhamnosus* (D)



Nota: G15 – glicose (15 g L⁻¹), G30 – glicose (30 g L⁻¹), I15 – inulina (15 g L⁻¹), I30 – inulina (30 g L⁻¹), O15 – oligofrutose (15 g L⁻¹), O30 – oligofrutose (30 g L⁻¹), CFTH15 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (15 g L⁻¹), CFTH30 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (30 g L⁻¹), CFSU15 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (15 g L⁻¹), CFSU30 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (30 g L⁻¹). Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas no mesmo tempo não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas no mesmo meio não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. A: T24 (CFTH15 e CFSU15) < LQ e T48 (G15, I15, O15, CFTH15 e CFSU15) < LD; B: T48 (G15, I15, O15, CFTH15 e CFSU15) < LD; C: T24 (CFTH15 e CFSU15) < LQ e T48 (G15, I15, O15, CFTH15, CFTH30, CFSU15 e CFSU30) < LD; D: T48 (G15, G30, I15, O15, CFTH15 e CFSU15) < LD.

Fonte: Autorial Própria (2021)

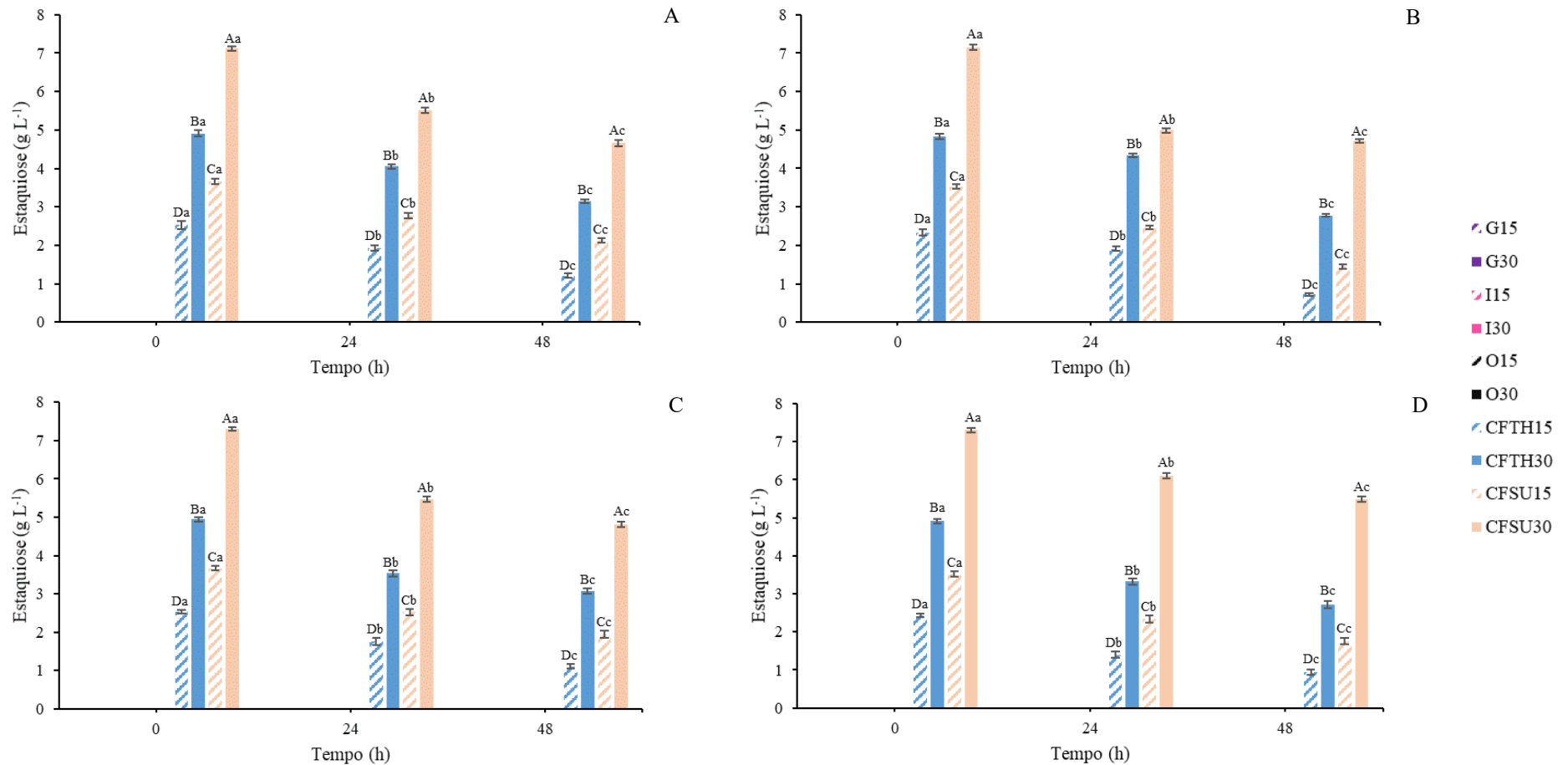
Figura 10 – Concentração de frutose nos meios inoculados com *L. acidophilus* (A), *L. casei* (B), *L. plantarum* (C) e *L. rhamnosus* (D)



Nota: G15 – glicose (15 g L⁻¹), G30 – glicose (30 g L⁻¹), I15 – inulina (15 g L⁻¹), I30 – inulina (30 g L⁻¹), O15 – oligofrutose (15 g L⁻¹), O30 – oligofrutose (30 g L⁻¹), CFTH15 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (15 g L⁻¹), CFTH30 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (30 g L⁻¹), CFSU15 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (15 g L⁻¹), CFSU30 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (30 g L⁻¹). Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas no mesmo tempo não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas no mesmo meio não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. A: T0 (G15, G30, CFTH15, CFTH30, CFSU15 e CFSU30) < LD, T24 (G15 e G30) < LD, T48 (G15, G30, I15, O15, CFTH15, CFTH30, CFSU15 e CFSU30) < LD; B: T0 (G15, G30, CFTH15, CFTH30, CFSU15 e CFSU30) < LD, T24 (G15 e G30) < LD, T48 (G15, G30, I15, O15, CFTH15, CFTH30, CFSU15 e CFSU30) < LD; C: T0 (G15, G30, CFTH15, CFTH30, CFSU15 e CFSU30) < LD, T24 (G15 e G30) < LD, T48 (G15, G30, I15, I30, O15, O30, CFTH15, CFTH30, CFSU15 e CFSU30) < LD; D: T0 (G15, G30, CFTH15, CFTH30, CFSU15 e CFSU30) < LD, T24 (G15 e G30) < LD, T48 (G15, G30, I15, O15, CFTH15, CFTH30, CFSU15 e CFSU30) < LD.

Fonte: Autoria Própria (2021)

Figura 11 – Concentração de estaquiose nos meios inoculados com *L. acidophilus* (A), *L. casei* (B), *L. plantarum* (C) e *L. rhamnosus* (D)



Nota: G15 – glicose (15 g L⁻¹), G30 – glicose (30 g L⁻¹), I15 – inulina (15 g L⁻¹), I30 – inulina (30 g L⁻¹), O15 – oligofrutose (15 g L⁻¹), O30 – oligofrutose (30 g L⁻¹), CFTH15 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (15 g L⁻¹), CFTH30 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (30 g L⁻¹), CFSU15 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (15 g L⁻¹), CFSU30 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (30 g L⁻¹). Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas no mesmo tempo não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas no mesmo meio não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. A: T0, T24 e T48 (G15, G30, I15, I30, O15 e O30) < LD; B: T0, T24 e T48 (G15, G30, I15, I30, O15 e O30) < LD; C: T0, T24 e T48 (G15, G30, I15, I30, O15 e O30) < LD; D: T0, T24 e T48 (G15, G30, I15, I30, O15 e O30) < LD.

Fonte: Autoria Própria (2021)

5.3.4.3 Produção de ácidos

Os parâmetros de validação do método cromatográfico para quantificação de ácidos são mostrados na Tabela 8. A gama de trabalho linear ficou estabelecida com uma faixa de concentrações de 0,5 a 30,0 g L⁻¹ para os padrões de ácido láctico, acético, propiônico e butírico, no qual o limite de quantificação foi inferior ao valor da menor concentração (0,5 g L⁻¹), o que está em conformidade com os requisitos no estabelecimento deste mesmo limite (BRASIL, 2017). Observou-se ainda, que os dados se ajustaram de forma adequada as equações geradas, uma vez que os valores dos coeficientes de determinação (R²) foram superiores a 0,99 para todos os analitos, respeitando o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação de acordo com a legislação (BRASIL, 2017).

Tabela 8 – Parâmetros de validação do método cromatográfico para quantificação de ácidos

Analito padrão	Curva padrão	R ²	LD (mg L ⁻¹)	LQ (mg L ⁻¹)
Ácido láctico	y = 9,099x + 1,8436	0,999	0,115	0,384
Ácido acético	y = 6,4044x + 4,8327	0,997	0,126	0,421
Ácido propiônico	y = 6,7434x + 5,2808	0,996	0,120	0,400
Ácido butírico	y = 3,3477x + 0,9793	0,999	0,107	0,358

Nota: LD – limite de detecção; LQ – limite de quantificação. R² – coeficiente de determinação.

Fonte: Autoria Própria (2021)

Os conteúdos de ácidos acético, butírico, láctico e propiônico durante o cultivo são mostrados nas Figuras 12 – 15 (A – D). O ácido láctico foi o ácido orgânico mais altamente produzido ($p \leq 0,05$) por todas as cepas de *Lactobacillus* testadas, independentemente da fonte de açúcar, qual teve suas maiores quantidades ($p \leq 0,05$) detectadas em caldo contendo glicose, seguido de inulina e oligofrutose, e por último CFTH e CFSU, após 24 e 48 h de incubação.

Os conteúdos de ácido láctico (Figura 12A – D) aumentaram ($p \leq 0,05$) durante o período de incubação de 24 h em meio com qualquer uma das fontes de açúcares e cepas probióticas inoculadas; no entanto, após 48 h foi verificado uma redução ($p \leq 0,05$) desse ácido em meio com 15 g L⁻¹ de glicose inoculado com *L. acidophilus*, 15 g L⁻¹ de glicose, inulina, oligofrutose, CFTH e CFSU inoculado com *L. casei*, 15 g L⁻¹ de inulina e oligofrutose, e 15 e 30 g L⁻¹ de CFTH e CFSU inoculado com *L. plantarum* e 15 e 30 g L⁻¹ de glicose inoculado com *L. rhamnosus*. Em contrapartida, foi observado um aumento ($p \leq 0,05$) do ácido em caldos contendo 30 g L⁻¹ de inulina, oligofrutose, CFTH e CFSU inoculado com *L. acidophilus*, 30 g L⁻¹ de glicose, inulina, oligofrutose, CFTH e CFSU inoculado com *L. casei*, 30 g L⁻¹ de

glicose inoculado com *L. plantarum*, e 30 g L⁻¹ de inulina, oligofrutose, CFTH e CFSU inoculado com *L. rhamnosus*.

A presença do ácido láctico em maior quantidade ao final do tempo de incubação condiz com os resultados de trabalhos anteriores (ALBUQUERQUE *et al.*, 2020; DUARTE *et al.*, 2017; MASSA *et al.*, 2020), uma vez que segundo os mesmos autores, este ácido é um dos produtos finais mais importantes da fermentação de glicose e frutose por bactérias lácticas, quais estavam mais disponíveis em meios com glicose e inulina/oligofrutose, respectivamente. Além disso, de acordo com Markowiak-Kopec e Ślizewska (2020) o ácido láctico é o ácido orgânico predominante produzido durante o metabolismo de carboidratos por esses microrganismos, sendo comumente convertido em outros ácidos orgânicos, como ácidos graxos de cadeia curta (acético, butírico e propiônico) por bactérias intestinais.

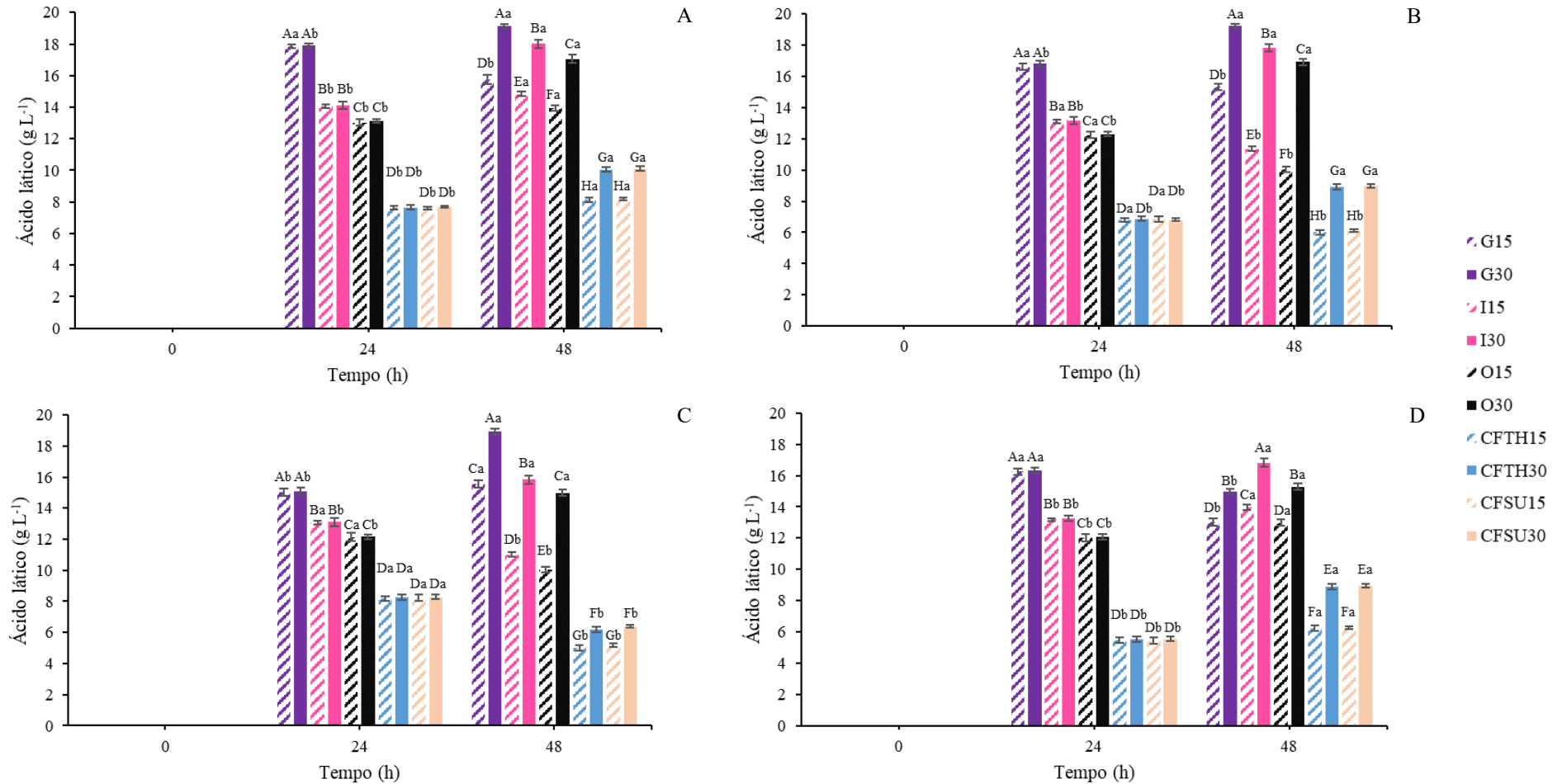
Segundo Markowiak-Kopec e Ślizewska (2020) o ácido acético e ácido propiônico são ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) produzidos por *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* no colón durante a fermentação de carboidratos, justificando o aumento ($p \leq 0,05$) dos teores desses ácidos (Figura 13A – D e Figura 14A – D) em todos meios com o decorrer do tempo, independente do probiótico inoculado. Albuquerque *et al.* (2020) também relatou o aumento no conteúdo de ácido acético após 24 h em meio com glicose e fruto-oligossacarídeos para *L. casei* L-26 e *B. animalis* subsp. lactis BB-12, apesar do mesmo não ter sido observado em *L. acidophilus* LA-05; resultados semelhantes foram verificados por Massa *et al.* (2020) para *L. acidophilus* LA-05 e *L. casei* L-26 inoculados em caldos com glicose ou fruto-oligossacarídeos; entretanto, os últimos autores, observaram um efeito contrário o deste estudo na produção de ácido propiônico, uma vez que foi verificado uma redução do ácido em 24 h e por seguinte, um aumento após 48 h, nos meios contendo glicose e fruto-oligossacarídeos inoculados com *L. acidophilus* LA-05, *L. casei* L-26 e *B. animalis* subsp. lactis BB-12.

O conteúdo de ácido butírico (Figura 15A – D) não foi alterado ($p > 0,05$) durante o período de incubação, independentemente da fonte de açúcar e cepa inoculada; resultado já esperado uma vez que o ácido butírico não é um produto final comum do metabolismo de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (SANDERS *et al.*, 2019). A diminuição ou não alteração do conteúdo de ácido butírico durante o cultivo de *L. acidophilus* LA-05, *L. casei* L-26 e *B. lactis* BB-12 em meio com glicose e fruto-oligossacarídeos também foi relatada por Massa *et al.* (2020).

A produção de ácido láctico e AGCC ao longo do tempo corrobora com a diminuição do conteúdo de açúcares encontrado na glicose, nos prebióticos (inulina, e oligofrutose), assim como nos carboidratos do farelo de arroz (CFTH e CFSU), indicando o uso desses carboidratos

na promoção de crescimento de probióticos. As altas contagens de probióticos e produção aumentada ou sustentada de ácidos orgânicos são resultados desejados em investigações de novos prebióticos, uma vez que a presença desses ácidos no cólon tem sido relacionada a efeitos benéficos à saúde, como inibição de patógenos entéricos, melhora nas respostas imunológicas e inflamatórias e maior biodisponibilidade de nutrientes (GIBSON *et al.*, 2017; SANDERS *et al.*, 2019).

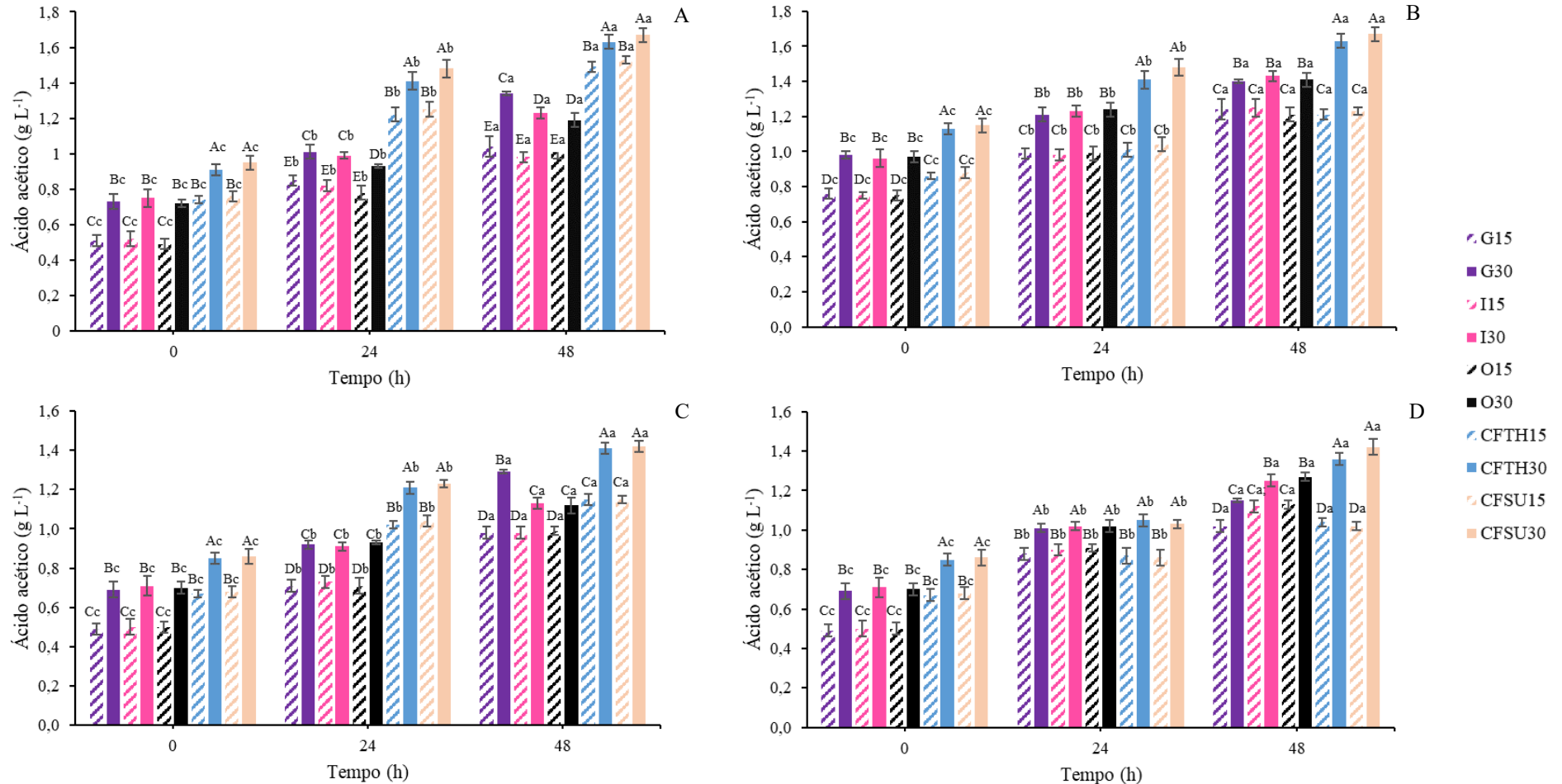
Figura 12 – Concentração de ácido láctico nos meios inoculados com *L. acidophilus* (A), *L. casei* (B), *L. plantarum* (C) e *L. rhamnosus* (D)



Nota: G15 – glicose (15 g L⁻¹), G30 – glicose (30 g L⁻¹), I15 – inulina (15 g L⁻¹), I30 – inulina (30 g L⁻¹), O15 – oligofrutose (15 g L⁻¹), O30 – oligofrutose (30 g L⁻¹), CFTH15 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (15 g L⁻¹), CFTH30 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (30 g L⁻¹), CFSU15 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (15 g L⁻¹), CFSU30 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (30 g L⁻¹). Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas no mesmo tempo não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas no mesmo meio não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. A, B, C, D: T0 (G15, G30, I15, I30, O15, O30, CFTH15, CFTH30, CFSU15 e CFSU30) < LQ.

Fonte: Autoria Própria (2021)

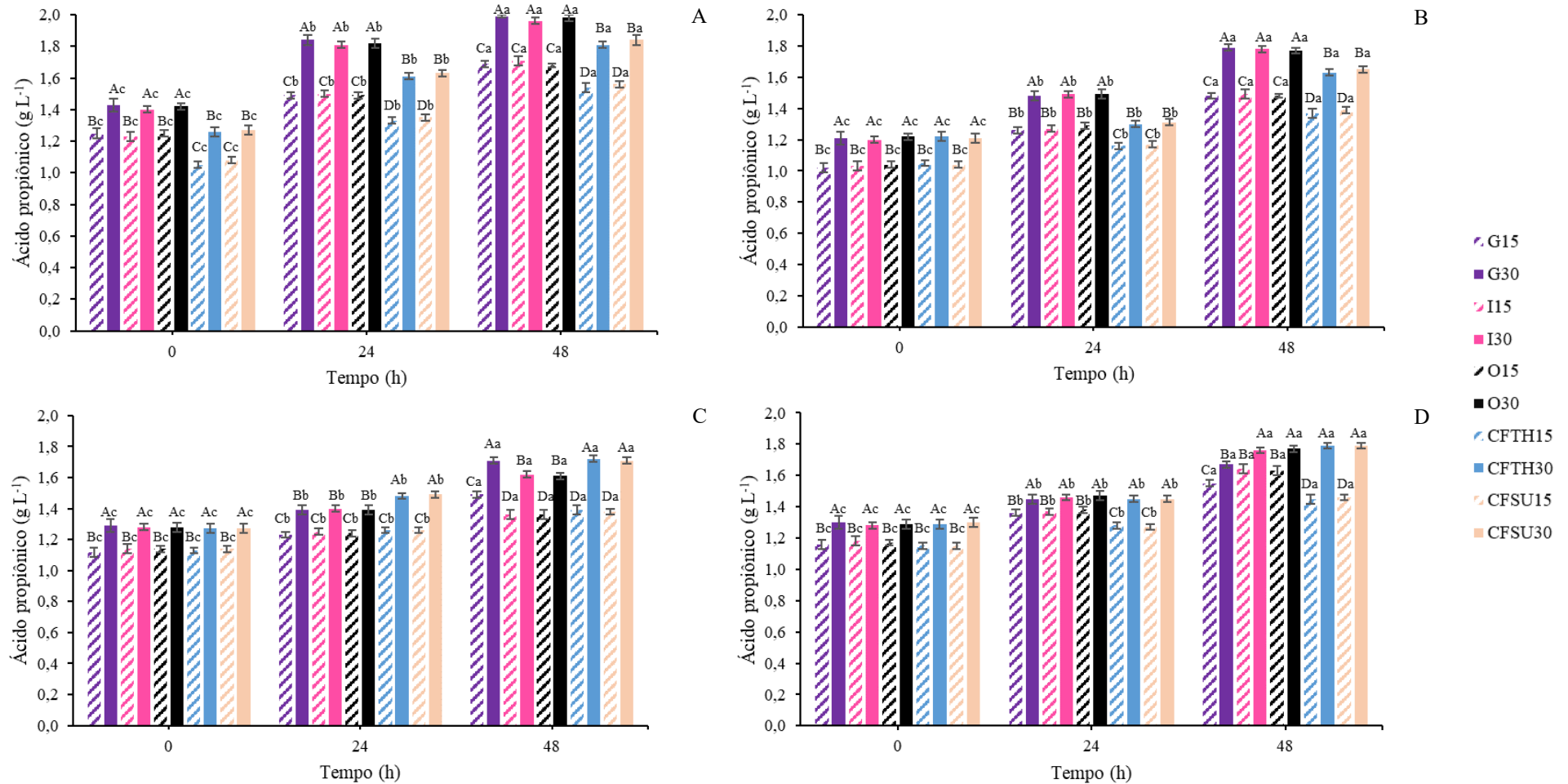
Figura 13 – Concentração de ácido acético nos meios inoculados com *L. acidophilus* (A), *L. casei* (B), *L. plantarum* (C) e *L. rhamnosus* (D)



Nota: G15 – glicose (15 g L⁻¹), G30 – glicose (30 g L⁻¹), I15 – inulina (15 g L⁻¹), I30 – inulina (30 g L⁻¹), O15 – oligofrutose (15 g L⁻¹), O30 – oligofrutose (30 g L⁻¹), CFTH15 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (15 g L⁻¹), CFTH30 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (30 g L⁻¹), CFSU15 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (15 g L⁻¹), CFSU30 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (30 g L⁻¹). Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas no mesmo tempo não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas no mesmo meio não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria Própria (2021)

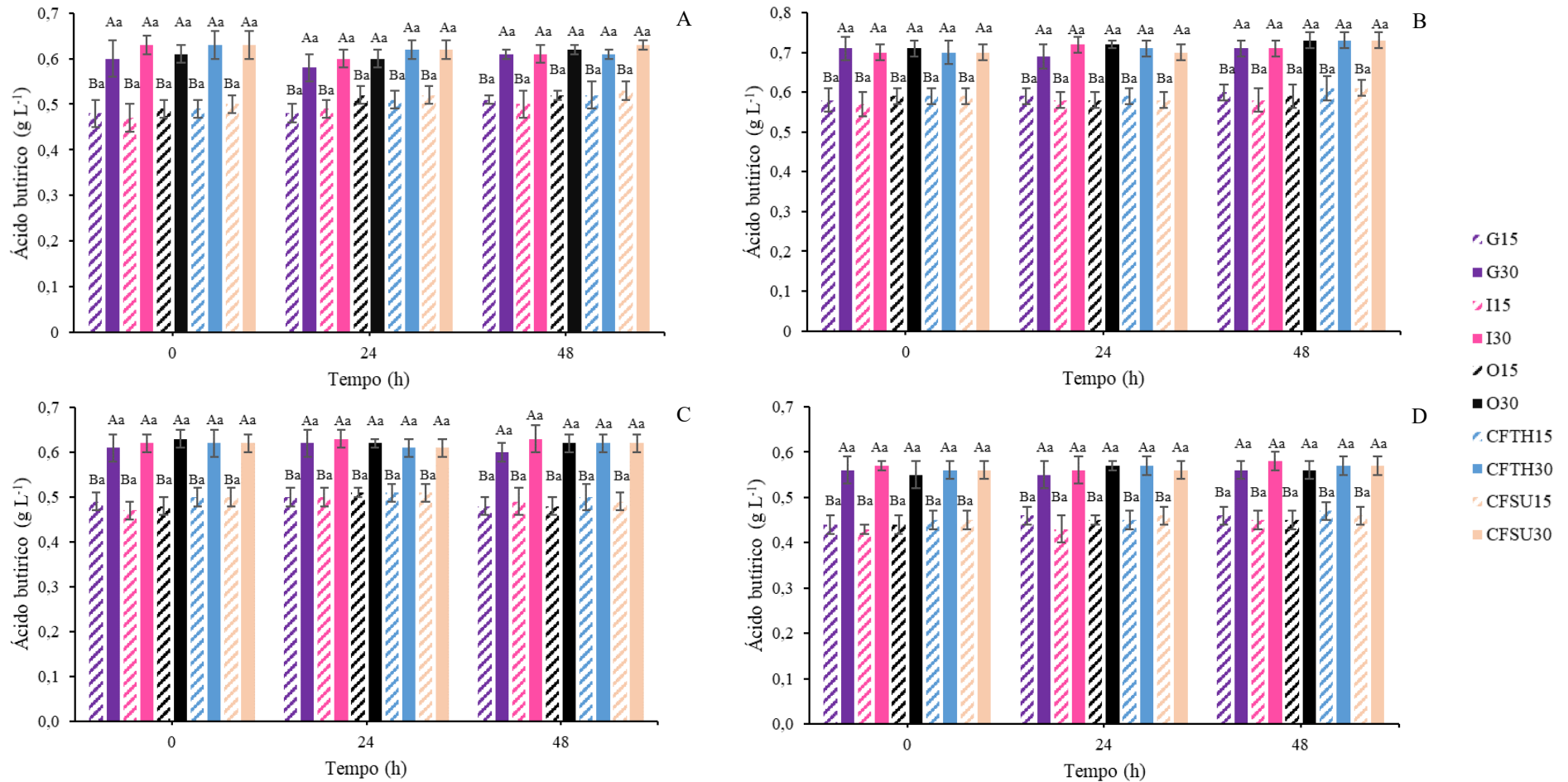
Figura 14 – Concentração de ácido propiônico nos meios inoculados com *L. acidophilus* (A), *L. casei* (B), *L. plantarum* (C) e *L. rhamnosus* (D)



Nota: G15 – glicose (15 g L⁻¹), G30 – glicose (30 g L⁻¹), I15 – inulina (15 g L⁻¹), I30 – inulina (30 g L⁻¹), O15 – oligofrutose (15 g L⁻¹), O30 – oligofrutose (30 g L⁻¹), CFTH15 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (15 g L⁻¹), CFTH30 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (30 g L⁻¹), CFSU15 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (15 g L⁻¹), CFSU30 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (30 g L⁻¹). Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas no mesmo tempo não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas no mesmo meio não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria Própria (2021)

Figura 15 – Concentração de ácido butírico nos meios inoculados com *L. acidophilus* (A), *L. casei* (B), *L. plantarum* (C) e *L. rhamnosus* (D)



Nota: G15 – glicose (15 g L⁻¹), G30 – glicose (30 g L⁻¹), I15 – inulina (15 g L⁻¹), I30 – inulina (30 g L⁻¹), O15 – oligofrutose (15 g L⁻¹), O30 – oligofrutose (30 g L⁻¹), CFTH15 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (15 g L⁻¹), CFTH30 – carboidratos extraídos do FAD pelo tratamento hidrotérmico (30 g L⁻¹), CFSU15 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (15 g L⁻¹), CFSU30 – carboidratos extraídos do FAD pela sonda ultrassônica (30 g L⁻¹). Média ± desvio padrão (n = 3). Médias seguidas pelas mesmas letras maiúsculas no mesmo tempo não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey. Médias seguidas pelas mesmas letras minúsculas no mesmo meio não diferem ao nível de 5% pelo teste de Tukey.

Fonte: Autoria Própria (2021)

6 CONCLUSÕES

A extração assistida por ultrassom mostrou-se um método mais eficiente na extração dos carboidratos do farelo de arroz desengordurado em comparação com o tratamento hidrotérmico, com um rendimento de 96,72% e 83,11%, respectivamente.

O método de extração de carboidratos não afetou significativamente a estrutura dos grupos funcionais presentes nos dois extratos; além disso, foi constatado um perfil de carboidratos semelhante nos extratos, com a identificação dos açúcares glicose, estaquiase e arabinose, onde apenas a concentração de estaquiase apresentou uma diferença entre os mesmos (CFSU > CFTH).

Foi demonstrado que os carboidratos do farelo de arroz desengordurado foram resistentes as condições gastrointestinais simuladas e foram utilizados pelas cepas prebióticas de *L. acidophilus* LA-05, *L. casei*-01, *L. plantarum* BG 112 e *L. rhamnosus* ATCC 53103 como fonte de açúcares, conforme observado pelas altas contagens de células viáveis, diminuição dos valores de pH, consumo de açúcares (glicose, frutose e estaquisose) e produção de ácidos (lático, acético e propiônico) ao longo do tempo de cultivo, indicando atividades metabólicas bacterianas intensas e conseqüentemente demonstrando o efeito prebiótico dos carboidratos do FAD.

Por fim, os carboidratos do farelo de arroz podem ser considerados como um potencial ingrediente prebiótico; fator esse que pode estimular o setor agroindustrial a valorizar os subprodutos do processamento do arroz, principalmente o farelo, processando-os como ingredientes de valor agregado para a indústria de alimentos.

REFERÊNCIAS

- AHUJA, K.; MAMTANI, K. Prebiotics market size by ingredients, by application industry analysis report, country outlook application development, price trends, competitive market share & forecast, 2021 – 2027. **Global Market Insights**, 2021. Disponível em: <https://www.gminsights.com/industry-analysis/prebiotics-market>. Acesso em: 09 nov. 2021.
- AKTER, D.; BEGUM, R.; RAHMAN, N.; TALUKDER, N.; ALAM, J. Optimization of extraction process parameter for rice bran protein concentrate and its utilization in high protein biscuit formulation. **Current Research in Nutrition and Food Science**, v. 8, n. 2, p. 596-608, 2020.
- ALBUQUERQUE, T. M. R.; BORGES, C. W. P.; CAVALCANTI, M. T.; LIMA, M. S.; MAGNANI, M.; SOUZA, E. L. Potential prebiotic properties of flours from different varieties of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) roots cultivated in Northeastern Brazil. **Food Bioscience**, v. 36, p.1-13, 2020.
- ALEXANDRI, M.; LÓPES-GÓMES, J. P.; OLSZEWSKA-WIDDRAT, A.; VENUS, J. Valorising agro-industrial wastes within the circular bioeconomy concept: the case of defatted rice bran with emphasis on bioconversion strategies. **Fermentation**, v. 6, n. 2, p. 1-18, 2020.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemists. **Official methods of analysis of AOAC International**. 16. ed. Gaithersburg: AOAC International, 1998.
- ASTM - American Society for Testing Materials. ASTM E1758-01 - Standard test method for determination of carbohydrates in biomass by high performance liquid chromatography. *In: Annual book of ASTM*. West Conshohocken: ASTM International, 2020.
- BARBOSA, J. R.; FREITAS, M. M. S.; OLIVEIRA, L. C.; MARTINS, L. H. S.; ALMADA-VILHENA, A. O.; OLIVEIRA, R. M.; PIECZARKA, J. C.; BRASIL, D. S. B.; CARVALHO JUNIOR, R. N. Obtaining extracts rich in antioxidant polysaccharides from the edible mushroom *Pleurotus ostreatus* using binary system with hot water and supercritical CO₂. **Food Chemistry**, v. 330, p. 1-9, 2020.
- BEMILLER, J. N. Carbohydrate analysis. *In: NILSEN, S. S. (ed.) Food Analysis*. 4 ed. Cham: Springer, 2010. cap. 10, p. 147-178.
- BERNARDI, S.; KALSCHNE, D. L.; MENEGOTTO, A. L. L.; FLORES, E. L. M.; BARIN, J. S.; FUCHS, R. H. B.; COLLA, E.; CANAN, C. Feasibility of ultrasound-assisted optimized process of high purity rice bran protein extraction. **Ciencia Rural**, v. 50, n. 12, p. 1-13, 2020.
- BODIE, A. R.; MICCICHE, A. C.; ATUNGULU, G. G.; ROTHROCK JR., M. J.; RICKE, S. C. Current trends of rice milling byproducts for agricultural applications and alternative food production systems. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, v. 3, n. 47, p. 1-14, 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Comissões e Grupos de Trabalho. Comissão Tecnocientífica de Assessoramento em Alimentos Funcionais e Novos Alimentos. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. **Alegações de propriedades funcionais aprovadas**. Atualizado em 11 de janeiro de 2019. Disponível em:

https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/alegacoes-de-propriedade-funcional-aprovadas_.pdf. Acesso em: 06 dez. 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC N° 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. Brasília, 11 de julho de 2017. Disponível em: https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/19194581/do1-2017-07-25-resolucao-rdc-n-166-de-24-de-julho-de-2017-19194412. Acesso em: 2 nov. 2020.

CANO, M. E.; GARCÍA-MARTIN, A.; COMENDADOR MORALES, P.; WOJTUSIK, M.; SANTOS, V. E.; KOVENSKY, J.; LADERO, M. Production of oligosaccharides from agrofood wastes. **Fermentation**, v. 6, n. 1, p. 1-27, 2020.

CATENZA, K. F.; DONKOR, K. K. Recent approaches for the quantitative analysis of functional oligosaccharides used in the food industry: a review. **Food Chemistry**, v. 355, 2021.

CARDOSO, B. B.; AMORIM, C.; SILVÉRIO, S. C.; RODRIGUES, L. R. Novel and emerging prebiotics: advances and opportunities. In: TOLDRÁ, F. (ed.). **Advances in Food and Nutrition Research**. 1. ed. Cambridge: Academic Press, 2021. cap. 2, p. 41-95.

CHEN, G.; CHEN, K.; ZHANG, R.; CHEN, X.; HU, P.; KAN, J. Polysaccharides from bamboo shoots processing by-products: new insight into extraction and characterization. **Food Chemistry**, v. 245, p. 1113-1123, 2018.

CHEN, G.; CHEN, X.; YANG, B.; YU, Q.; WEI, X.; DING, Y.; KAN, J. New insight into bamboo shoot (*Chimonobambusa quadrangularis*) polysaccharides: Impact of extraction processes on its prebiotic activity. **Food Hydrocolloids**, v. 95, p. 367-377, 2019.

COATES, J. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. In: MEYERS, R. A. (ed.) **Encyclopedia of analytical chemistry**. Hoboken: Wiley, 2021. p. 1-23.

COÊLHO, J. D. Arroz: produção e mercado. **Caderno Setorial ETENE**, v. 6, n. 156, p. 1-7, 2021.

CUNNINGHAM, M.; AZCARATE-PERIL, M.; BARNARD, A.; BENOIT, V.; GRIMALDI, R.; GUYONNET, D.; HOLSCHER, H. D.; HUNTER, K.; MANURUNG, S.; OBIS, D.; PETROVA, M. I.; STEINERT, R.E.; SWANSON, K. S.; VAN SINDEREN, D.; VULEVIC, J.; GIBSON, G. R. Shaping the future of probiotics and prebiotics. **Trends in Microbiology**, v. 29, 667-685, 2021.

DASH, D. R.; PATHAK, S. S.; PRADHAN, R. C. Improvement in novel ultrasound-assisted extraction technology of high value-added components from fruit and vegetable peels. **Journal of Food Process Engineering**, v. 44, p. 1-11, 2021.

DAVANI-DAVARI, D.; NEGAHDARIPOUR, M.; KARIMZADEH, I.; SEIFAN, M.; MOHKAM, M.; MASOUMI, S. J.; BERENJIAN, A.; GHASEMI, Y. Prebiotics: definition, types, sources, mechanisms, and clinical applications. **Foods**, v. 8, n. 3, p. 1-27, 2019.

DAVIS, E. J.; SPADONI ANDREANI, E.; KARBOUNE, S. Production of extracts composed of pectic oligo/polysaccharides and polyphenolic compounds from cranberry pomace by microwave-assisted extraction process. **Food and Bioprocess Technology**, v. 14, p. 634-649, 2021.

DCA/DERAL - Divisão de Conjuntura Agropecuária/Departamento de Economia Rural. Secretária da agricultura e do abastecimento do Paraná. **Boletim Semanal – 12/2021**.

Curitiba, 26 de março de 2021. Disponível em:

<https://www.agricultura.pr.gov.br/Pagina/Conjuntura-Boletim-Semanal-122021>. Acesso em: 2 nov. 2021.

DEMIRCI, T.; AKTAŞ, K.; SÖZERI, D.; ÖZTÜRK, H. İ.; AKIN, N. Rice bran improve probiotic viability in yoghurt and provide added antioxidative benefits. **Journal of Functional Foods**, v. 36, p. 396-403, 2017.

DUARTE, F. N. D.; RODRIGUES, J. B.; LIMA M. C.; LIMA, M. D. S.; PACHECO, M. T. B.; PINTADO, M. M. E.; AQUINO J. S.; SOUZA, E. L. Potential prebiotic properties of cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) agro-industrial byproduct on *Lactobacillus* species. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 97, n. 11, p. 3712-3719. 2017.

FENG, W.; LIU, J.; WANG, S.; HU, Y.; PAN, H.; HU, T.; GUAN, H.; ZHANG, D.; MAO, Y. Alginate oligosaccharide alleviates D-galactose-induced cardiac ageing via regulating myocardial mitochondria function and integrity in mice. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 25, p. 7157-7168, 2021.

FERREIRA, A. L. **Comparação de métodos físico químicos de extração de carboidratos do farelo de arroz**. 2018. 58 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia de Alimentos). Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2018. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/12667>. Acesso em: 2 nov. 2021.

FERRONATTO, A. N.; ROSSI, R.; PINTO, L. M. N.; GARAVAGLIA, J. Development of a freeze-dried symbiotic obtained from rice bran. **Biotechnology Reports**, v. 30, p. 1-7, 2021.

FIDRIYANTO, R.; RIDWAN, R.; ASTUTI, W. D.; ROHMATUSSOLIHAT, R.; SARI, N. F.; WATMAN, M.; WIDYASTUTI, Y. In vitro ruminal fermentation and degradability of rice husk on rice bran substitution. **Annales Bogorienses**, v. 24, n. 1, p. 50-58, 2020.

FLÓREZ-FERNÁNDEZ, N.; LÓPEZ-GARCÍA, M.; GONZÁLEZ-MUÑOZ, M.; VILARIÑO, J. M.; DOMÍNGUEZ, H. Ultrasound-assisted extraction of fucoidan from *Sargassum muticum*. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, p. 1553-1561, 2017.

FOURNIÈRE, M.; LATIRE, T.; LANG, M.; TERME, N.; BOURGOUGNON, N.; BEDOUX, G. Production of active poly- and oligosaccharidic fractions from *ulva* sp. by combining enzyme-assisted extraction (EAE) and depolymerization. **Metabolites**, v. 9, n. 182, p. 1-23, 2019.

FRANÇA, F. C. F.; MOREIRA, D. R.; RIBEIRO, M. E. N. P.; CUNHA, A. P.; RICARDO, N. M. P. S. Extração e caracterização de polissacarídeos das sementes de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) e de jucá (*Caesalpinia férrea* Mar.). In: ENCONTRO

INTERNACIONAL DE JOVENS INVESTIGADORES, 3., 2017, Fortaleza. **Anais...**
Campina Grande: Realize Editora, 2017.

GHIMIRE, S.; WONGKUNA, S.; SANKARANARAYANAN, R.; RYAN, E. P.; BHAT, G. J.; SCARIA, J. Rice bran and quercetin produce a positive synergistic effect on human gut microbiota, elevate the level of propionate, and reduce the population of enterobacteriaceae family when determined using a bioreactor. **BioRxiv**, 2020.

GIBSON, G. R.; HUTKINS, R.; SANDERS, M. E.; PRESCOTT, S. L.; REIMER, R. A.; SALMINEN, S. J.; SCOTT, K.; STANTON, C.; SWANSON, K. S.; CANI, P. D.; VERBEKE, K. 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. 1-12, 2017.

GIBSON, G. R.; ROBERFROID, M. B. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. **The Journal of Nutrition**, v. 125, n. 6, p. 1401-1412, 1995.

GONZÁLEZ-DE-PEREDO, A. V.; VÁZQUEZ-ESPINOSA, M.; ESPADA-BELLIDO, E.; FERREIRO-GONZÁLEZ, M.; CARRERA, C.; PALMA, M.; ÁLVAREZ, J. A.; BARBERO, G. F.; AYUSO, J. Optimization of analytical ultrasound-assisted methods for the extraction of total phenolic compounds and anthocyanins from sloes (*Prunus spinosa* L.). **Agronomy**, v. 10, n. 7, p. 1-22, 2020.

GUARINO, M. P. L.; ALTOMARE, A.; EMERENZIANI, S.; DI ROSA, C.; RIBOLSI, M.; BALESTRIERI, P.; IOVINO, P.; ROCCHI, G.; CICALA, M. Mechanisms of action of prebiotics and their effects on gastro-intestinal disorders in adults. **Nutrients**, v. 12, n. 4, p. 1-24, 2020.

GUL, K.; YOUSUF, B.; SINGH, A. K.; SINGH, P.; WANI, A. A. Rice bran: nutritional values and its emerging potential for development of functional food - A review. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 6, n. 1, p. 24-30, 2015.

GULLÓN, B.; EIBES, G.; DÁVILA, I.; MOREIRA, M. T.; LABIDI, J.; GULLÓN, P. Hydrothermal treatment of chestnut shells (*Castanea sativa*) to produce oligosaccharides and antioxidant compounds. **Carbohydrate Polymers**, v. 192, p. 75-83, 2018.

HANSAWASDI, C.; KURDI, P. Potential prebiotic oligosaccharide mixtures from acidic hydrolysis of rice bran and cassava pulp. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 72, p. 396-403, 2017.

HU, D.; HAN, B.; CHEN, C.; CHEN, N.; ZHU, B.; ZHAO, J.; LI, S. Determination of seven oligosaccharides and sucrose in *Pseudostellaria heterophylla* by pressurized liquid extraction and ultra-high performance liquid chromatography with charged aerosol detector and tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1604, p. 1-8, 2019.

HUANG, F.; LIU, H.; ZHANG, R.; DONG, L.; LIU, L.; MA, Y.; JIA, Z.; WANG, G.; ZHANG, M. Physicochemical properties and prebiotic activities of polysaccharides from longan pulp based on different extraction techniques. **Carbohydrate Polymers**, v. 206, p. 344-351, 2018.

HURTADO-ROMERO, A.; DEL TORO-BARBOSA, M.; GARCIA-AMEZQUITA, L.; GARCÍA-CAYUELA, T. Innovative technologies for the production of food ingredients with prebiotic potential: modifications, applications, and validation methods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 104, p. 117-131, 2020.

IBRAHIM, O. O. Functional oligosaccharides: chemicals structure, manufacturing, health benefits, applications and regulations. **Journal of Food Chemistry & Nanotechnology**, v. 4, n. 4 p. 65-76, 2018.

IDERIS, F.; SHAMSUDDIN, A. H.; NOMANBHAY, S.; KUSUMO, F.; SILITONGA, A. S.; ONG, M. Y.; ONG, H. C.; MAHLIA, T. M. I. Optimization of ultrasound-assisted oil extraction from *Canarium odontophyllum* kernel as a novel biodiesel feedstock. **Journal of Cleaner Production**, v. 288, 2021.

ISAPP - The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics. **Prebiotics**. c2021. Disponível em: <https://isappscience.org/for-scientists/resources/prebiotics/>. Acesso em: 20 jul. 2021.

JOVANOVIC-MALINOVSKA, R.; KUZMANOVA, S.; WINKELHAUSEN, E. Application of ultrasound for enhanced extraction of prebiotic oligosaccharides from selected fruits and vegetables. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 22, p. 446-453, 2015.

JULIANO, B. O.; TUAÑO, A. P. P. Gross structure and composition of the rice grain. *In*: BAO, J. (ed.). **Rice: chemistry and technology**. 4. ed. Amsterdã: AACC International Press, 2019. cap. 2, p. 31-53.

KALPANADEV, C.; SINGH, V.; SUBRAMANIAN, R. Influence of milling on the nutritional composition of bran from different rice varieties. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 6, p. 2259-2269, 2018.

KATSURAYAMA, A. M.; TANIWAKI, M. H. Fungos e aflatoxinas no arroz: ocorrência e significado na saúde do consumidor. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, p. 1-13, 2017.

KHAWLI, F. A.; ZHOU, J.; WANG, M.; LORENZO, J. M.; MUNEKATA, P. E. S.; FERRER, E.; BARBA, F. J. Mind the gap in the knowledge of the potential food applications of ultrasound based on its mechanism of action. *In*: BARBA, F. J.; CRAVOTTO, G.; CHEMAT, F.; RODRIGUEZ, J. M. L.; MUNEKATA, P. E. S. (ed.) **Design and optimization of innovative food processing techniques assisted by ultrasound**. 1. ed. Cambridge: Academic Press. 2020. cap. 1, p. 1-9.

KORDROOSTAMI, M.; MAFAKHERI, M.; CHALESHTORI, M. H. Characteristics of grain quality in rice: physiological and molecular aspects. *In*: PESSARAKLI, M. (ed.). **Handbook of plant and crop physiology**. 4. ed. Boca Raton: CRC Press, 2021. cap. 11, p. 147-157.

KUMAR, B.; BHARDWAJ, N.; AGRAWAL, K.; CHATURVEDI, V.; VERMA, P. Current perspective on pretreatment technologies using lignocellulosic biomass: an emerging biorefinery concept. **Fuel Processing Technology**, v. 199, p. 1-24, 2020.

KUMARI, B.; TIWARI, B. K.; HOSSAIN, M. B.; RAI, D.K.; BRUNTON, N. P. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from potato peels: profiling and kinetic modelling. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 52, n. 6, p. 1432-1439, 2017.

KURDI, P.; HANSAWASDI, C. Assessment of the prebiotic potential of oligosaccharide mixtures from rice bran and cassava pulp. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 1288-1293, 2015.

LEAL, F. H. P. N.; SENNA, C. D. A.; KUPSKI, L.; MENDES, G. D. R. L.; BADIALE-FURLONG, E. Enzymatic and extrusion pretreatments of defatted rice bran to improve functional properties of protein concentrates. **International Journal of Food Science and Technology**, p. 1-7, 2021.

LEONELLI, C.; MASON, T. J. Microwave and ultrasonic processing: now a realistic option for industry. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 49, n. 9, p. 885-900, 2010.

LIU, M.; TIE, S.; ZONG, W.; LIU, Q.; ZHAO, G. Microfluidization-assisted extraction of polysaccharide from *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves and evaluation of its antioxidant activity. **Bangladesh Journal of Botany**, v. 47, p. 71-77, 2018.

LIU, S. H.; CHEN, F. W.; CHIANG, M. T. Chitosan oligosaccharide alleviates abnormal glucose metabolism without inhibition of hepatic lipid accumulation in a high-fat diet/streptozotocin-induced diabetic rat model. **Marine Drugs**, v. 19, n. 7, p. 1-14, 2021.

LUFT, L.; SILVA, J. R. F.; KUHN, R. C.; MAZUTTI, M. A. Second generation bioethanol production from residual biomass of the rice processing industry. *In*: KUILA, A.; SHARMA, V. **Lignocellulosic biomass production and industrial applications**. 1. ed. Beverly: Wiley-Scrivener, 2017. cap. 6, p. 111-133.

LY, H. L.; TRAN, T. M.C.; TRAN, T. T. T.; TON, N. M. N.; LE, V. V. M. Application of ultrasound to protein extraction from defatted rice bran. **International Food Research Journal**, v. 25, n. 2, p. 695-701, 2018.

MAAWIA, K.; IQBAL, S.; QAMAR, T. R.; RAFIQ, P.; ULLAH, A.; AHMAD, M. D. Production of impure prebiotic galacto-oligosaccharides and their effect on calcium, magnesium, iron and zinc absorption in Sprague-Dawley rats. **PharmaNutrition**, v. 4, n. 4, p. 154-160, 2016.

MACHADO, M. T. C.; EÇA, K. S.; VIEIRA, G. S.; MENEGALLI, F. C.; MARTÍNEZ, J.; HUBINGER, M. D. Prebiotic oligosaccharides from artichoke industrial waste: evaluation of different extraction methods. **Industrial Crops and Products**, v. 76, p. 141-148, 2015.

MALDONADE, I. R.; CARVALHO, P. G. B.; FERREIRA, N. A.; MOULIN, B. S. F. **Protocolo para determinação de açúcares redutores pelo método de Somogyi-Nelson**. Brasília: Embrapa, 2013.

MARKOWIAK-KOPEĆ, P., ŚLIŻEWSKA, K. The effect of probiotics on the production of short-chain fatty acids by human intestinal microbiome. **Nutrients**, v. 12, p. 1-23, 2020.

MASSA, N. M. L.; MENEZES, F. N. D. D.; ALBUQUERQUE, T. M. R.; OLIVEIRA, S. P. A.; LIMA, M. S.; MAGNANI, M.; SOUZA, E. L. Effects of digested jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) by-product on growth and metabolism of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* indicate prebiotic properties. **LWT – Food Science and Technology**, v. 131, p. 1-8, 2020.

MENA-GARCÍA, A.; RUIZ-MATUTE, A. I.; SORIA, A. C.; SANZ, M. L. Green techniques for extraction of bioactive carbohydrates. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 119, p. 1-10, 2019.

MHONE, T. A.; MATOPE, G.; SAIDI, P. T. Aerobic bacterial, coliform, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* counts of raw and processed milk from selected smallholder dairy farms of Zimbabwe. **International Journal of Food Microbiology**, v. 151, n. 2, p. 223-228, 2011.

NAVARRO, D. M. D. L.; ABELILLA, J. J.; STEIN, H. H. Structures and characteristics of carbohydrates in diets fed to pigs: a review. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, v. 10, n. 39, p. 1-17, 2019.

NANDIYANTO, A. B. D.; OKTIANI, R.; RAGADHITA, R. How to read and interpret ftir spectroscopy of organic material. **Indonesian Journal of Science and Technology** v. 4, n. 1, p. 97-118, 2019.

NIE, Q.; CHEN, H.; HU, J.; TAN, H.; NIE, S.; XIE, M. Effects of nondigestible oligosaccharides on obesity. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 11, n. 1, p. 205-233, 2020.

NOR, N.; ABBASILIASI, S.; MARIKKAR, M.; ARIFF, A.; AMID, M.; LAMASUDIN, D.; MANAP, M.; MUSTAFA, S. Defatted coconut residue crude polysaccharides as potential prebiotics: study of their effects on proliferation and acidifying activity of probiotics in vitro. **Journal of Food Science and Technology**, v. 54, p. 164-173, 2017.

OECD-FAO. **OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030**. 2021. Disponível em: <https://stats.oecd.org/>. Acesso em: 12 jul. 2021.

OLIVEIRA, M.; FERREIRA, C. D.; LANG, G. H.; ROMBALDI, C. V. Brown, white and parboiled rice. In: COSTA DE OLIVEIRA, A.; PEGORARO, C.; EBELING VIANA, V. (ed.) **The future of rice demand: quality beyond productivity**. 1. ed. Cham: Springer, 2020. cap. 2, p. 25-45.

OSBORNE, D. R.; VOOG, P. **Análisis de nutrientes de los alimentos**. 1. ed. Zaragoza: Acribia, 1986.

PATINDOL, J.; WANG, L.; WANG, Y. J. Cellulase-assisted extraction of oligosaccharides from defatted rice bran. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 9, 516-521, 2007.

PHAM, D. C.; NGUYEN, H. C.; NGUYEN, T. H. L.; HO, H. L.; TRINH, T. K.; RIYAPHAN, J.; WENG, C. F. Optimization of ultrasound-assisted extraction of flavonoids from *Celastrus hindsii* leaves using response surface methodology and evaluation of their antioxidant and antitumor activities. **BioMed Research International**, p. 1-9, 2020.

PIOTROWICZ, I. B. B.; SALAS-MELLADO, M. M. Protein concentrates from defatted rice bran: preparation and characterization. **Food Science and Technology**, v. 37, p. 165-172, 2017.

PLAZA-DÍAZ, J.; FONTANA, L.; GIL, A. Human milk oligosaccharides and immune system development. **Nutrients**, v. 10, p. 1-17, 2018.

PLONGBUNJONG, V.; WICHICHOT, S.; MADLA, S.; BUNYAPIPAT, P.; KNUDSEN, K.; GRAIDIST, P. Isomalto-oligosaccharides from rice and their potential use as pharmaceuticals in prevention of colon cancer. **Functional Foods in Health and Disease**, v. 9, p. 371-383, 2019.

PUTNIK, P.; KOVAČEVIĆ, D. B. Sustainable functional food processing. **Foods**, v. 10, p. 1-4, 2021.

RAJAGOPALAN, G.; KRISHNAN, C. Functional oligosaccharides: production and action. *In*: RATHINAM, N. K.; SANI, R. K. (ed.). **Next generation biomanufacturing technologies**. 1. ed. Washington: ACS Symposium Serie, 2019. cap, 8, p. 155-180.

RAMIREZ-GONZALEZ, B. C.; CASTILLO-SANCHEZ, M. I.; MACIAS-GARBET, R.; BOLAINA-LORENZO, E. D.; RAMOS-DE-LA-PEÑA, A. M.; RIOS-LICEA, M. M.; GUILLERMO-BALDERAS, V. C.; PARGA-HERNANDEZ, P. V.; VÁZQUEZ-VUELVAS, O. F.; MONTAÑEZ, J. C.; MENDEZ-MERINO, E.; CONTRERAS-ESQUIVEL, J. C. Non-starch polysaccharides extraction from cereal by-products applying pulsed electric fields (PEF) as pretreatment: an overview. *In*: CARVAJAL-MILLAN, E.; YASER, A. Z.; HAGHI, A. K. **Natural food products and waste recovery**. 1. ed. Boca Raton: Academic Press, 2021. cap. 5, p. 71-82.

RICO, X.; GULLÓN, B.; YÁÑEZ, R. Environmentally friendly hydrothermal processing of melon by-products for the recovery of bioactive pectic-oligosaccharides. **Foods**, v. 9, p. 1-21, 2020.

SAMAN, P.; FUCIÑOS, P.; VÁZQUEZ, J. A.; PANDIELLA, S. S. By-products of the rice processing obtained by controlled debranning as substrates for the production of probiotic bacteria. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 51, p. 167-176, 2019.

SAMAN, P.; FUCIÑOS, P.; VÁZQUEZ, J. A.; PANDIELLA, S. S. Fermentability of brown rice and rice bran for growth of human *Lactobacillus plantarum* NCIMB 8826. **Food Technology and Biotechnology**, v. 49, n. 1, 2011.

SANDERS, M. E.; MERENSTEIN, D. J.; REID, G.; GIBSON, G. R.; RASTALL, R.A. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic. **Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology**, v. 16, p. 605-616, 2019.

SAWANGWAN, T.; SAMAN, P. Prebiotic synthesis from rice using *Aspergillus oryzae* with solid state fermentation. **Agriculture and Natural Resources**, v. 50, n. 4, p. 227-231, 2016.

SFALCIN, P.; LUNELLI, F. C.; MALESKI, T. P. S.; FOLETTTO, V. S.; SOUZA, M.; ZIMMERMANN, E.; DAL PRÁ, V.; FOLETTTO, E. L.; KUHN, R. C.; MAZUTTI, M. A.

Glucose obtained from rice bran by ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis. **Ingeniería e Investigación**, v. 35, n. 2, p. 61-66, 2015.

SOROURIAN, R.; KHAJEHRAHIMI, A. E.; TADAYONI, M.; AZIZI, M. H.; HOJJATI, M. Ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Typha domingensis*: structural characterization and functional properties. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 160, p. 758-768, 2020.

SPAGGIARI, M.; DALL'ASTA, C.; GALAVERNA, G.; DEL CASTILLO BILBAO, M. D. Rice bran by-product: from valorization strategies to nutritional perspectives. **Foods**, v. 10, n. 85, p. 1-16, 2021.

SU, H.; CHEN, J.; MIAO, S.; DENG, K.; LIU, J.; ZENG, S.; ZHENG, B.; LU, X. Lotus seed oligosaccharides at various dosages with prebiotic activity regulate gut microbiota and relieve constipation in mice. **Food and Chemical Toxicology**, v. 134, p. 1-12, 2019.

SUKOR, N; JUSOH, R.; R; RAHIM, S. A; KAMARUDIS, N. Ultrasound assisted methods for enhanced extraction of phenolic acids from *Quercus infectoria* galls. **Materials Today: Proceedings**, v. 5, n. 10, p. 21990-21999, 2018.

SÜLE, J.; KÖRÖSI, T.; HUCKER, A.; VARGA, L. Evaluation of culture media for selective enumeration of bifidobacteria and lactic acid bacteria. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 45, n. 3, p. 1023-1030, 2014.

SUNPHORKA, S.; CHAVASIRI, W.; OSHIMA, Y.; NGAMPRASERTSITH, S. Protein and sugar extraction from rice bran and de-oiled rice bran using subcritical water in a semi-continuous reactor: optimization by response surface methodology. **International Journal of Food Engineering**, v. 8, n. 3, p. 1-22, 2012.

SURIN, S.; YOU, S.; SEESURIYACHAN, P.; MUANGRAT, R.; WANGTUEAI, S.; JAMBRAK, A. R.; PHONGTHAI, S.; JANTANASAKULWONG, K.; CHAIYASO, T.; PHIMOLSIRIPOL, Y. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from purple glutinous rice bran (*Oryza sativa* L.) and their antioxidant activities. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 1-10, 2020.

SWART, L. J.; BEDZO, O. K. K.; VAN RENSBURG, E.; GÖRGENS, J. F. Intensification of xylo-oligosaccharides production by hydrothermal treatment of brewer's spent grains: the use of extremely low acid catalyst for reduction of degradation products associated with high solid loading. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 193, p. 1979-2003, 2021.

TEBERGA, P. M. F. **Avaliação do efeito de diferentes prebióticos sobre o desenvolvimento de cepas de *Lactobacillus***. 2017. 81 f. Dissertação (Mestre em Ciências - Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Industrial). Escola de Engenharia de Lorena – Universidade de São Paulo, Lorena 2017. Disponível em: https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/97/97132/tde-08062018183427/publico/BID17010_C.pdf. Acesso em: 2 nov. 2021.

VERMA, D. K.; SRIVASTAV, P. P.; MOHAN, M. Nutritional quality evaluation of different rice cultivars. In: VERMA, D. K.; SRIVASTAV, P. P.; NADAF, A. B. (ed.). **Agronomic rice**

practices and post-harvest processing for production and quality improvement of rice. 1. ed. Waretown: Apple Academic Press, 2019. cap.10, p. 299-362.

WANG, L.; CHENG, R.; SUN, X.; ZHAO, Y.; GE, W.; YANG, Y.; GAO, Y.; DING, Z.; LIU, J.; ZHANG, J. Preparation and gut microbiota modulatory property of the oligosaccharide riclinoctase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 69, p. 3667-3676, 2021.

WANG, L.; ZHANG, H.; ZHANG, X.; CHEN, Z. Purification and identification of a novel heteropolysaccharide RBPS2a with anti-complementary activity from defatted rice bran. **Food Chemistry**, v. 110, n. 1, p. 150-155, 2008.

WANG, S.; XIAO, Y.; TIAN, F.; ZHAO, J.; ZHANG, H.; ZHAI, Q.; CHEN, W. Rational use of prebiotics for gut microbiota alterations: specific bacterial phylotypes and related mechanisms. **Journal of Functional Foods**, v. 66, p. 1-13, 2020a.

WANG, Y.; LI, L.; YE, C.; YUAN, J.; QIN, S. Alginate oligosaccharide improves lipid metabolism and inflammation by modulating gut microbiota in high-fat diet fed mice. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 104, n. 11, p. 3541-3554, 2020b.

WANG, Y.; YU, J. Membrane separation processes for enrichment of bovine and caprine milk oligosaccharides from dairy byproducts. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 20, p. 3667-3689, 2021.

WONG, S.; GHAFAR, N. A.; NGADI, N.; RAZMI, F. A.; INUWA, I. M.; MAT, R.; AMIN, N. A. S. Effective removal of anionic textile dyes using adsorbent synthesized from coffee waste. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, 2928, 2020.

WU, X.; LI, F.; WU, W. Effects of rice bran rancidity on the oxidation and structural characteristics of rice bran protein. **LWT-Food Science and Technology**, v. 120, 2020.

XUE, Y.; CAO, R.; LU, X.; ZHANG, Y. Response surface model optimization of oligosaccharide extraction from coix seed by ultrasonic-assisted technology. **Chinese Journal of Tropical Crops**, v. 38, n. 3, p. 565-571, 2017.

YANG, X.; CHEN, F.; HUANG, G. Extraction and analysis of polysaccharide from *Momordica charantia*. **Industrial Crops and Products**, v. 153, p. 1-4, 2020.

YU, X.; GURRY, T.; NGUYEN, L. T. T.; RICHARDSON, H. S.; ALM, E. J. Prebiotics and community composition influence gas production of the human gut microbiota. **mBio**, v. 11, n. 5, p. 1-13, 2020.

ZAMBRANA, L. E.; MCKEEN, S.; IBRAHIM, H.; ZAREI, I.; BORRESEN, E. C.; DOUMBIA, L.; BORÉ, A.; CISSOKO, A.; DOUYON, S.; KONÉ, K.; PEREZ, J.; PEREZ, C.; HESS, A.; ABDO, Z.; SANGARÉ, L.; MAIGA, A.; BECKER-DREPS, S.; YUAN, L.; KOITA, O.; VILCHEZ, S.; RYAN, E. P. Rice bran supplementation modulates growth, microbiota and metabolome in weaning infants: a clinical trial in Nicaragua and Mali. **Scientific Reports**, v. 9, p. 1-18, 2019.

ZEAITER, Z.; REGONESI, M. E.; CAVINI, S.; LABRA, M.; SELLO, G.; DI GENNARO, P. Extraction and characterization of inulin-type fructans from artichoke wastes and their effect on the growth of intestinal bacteria associated with health. **BioMed Research International**, p. 1-8, 2019.

ZHANG, S.; HU, H.; WANG, L.; LIU, F.; PAN, S. Preparation and prebiotic potential of pectin oligosaccharides obtained from citrus peel pectin. **Food Chemistry**, v. 244, p. 232-237, 2018.

ZHAO, Z.; LIU, W.; PI, X. In vitro effects of stachyose on the human gut microbiota. **Starch: biosynthesis, nutrition, biomedical**, v. 73, n. 7-8, 2021.

ZHONG, X.; ZHANG, Y.; HUANG, G.; OUYANG, Y.; LIAO, D.; PENG, J.; HUANG, W. Proteomic analysis of stachyose contribution to the growth of *Lactobacillus acidophilus* CICC22162. **Food & Function**, v. 9, n. 5, 2979-2988, 2018.

ZHU, D.; YAN, Q.; LIU, J.; WU, X.; JIANG, Z. Can functional oligosaccharides reduce the risk of diabetes mellitus? **The FASEB Journal**, v. 33, n. 11, p. 11655-11667, 2019.