



BEATRIZ LOURDES DE SOUZA

**DESENVOLVIMENTO DE FARINHA DE ARARUTA
FERMENTADA POR GRÃOS DE KEFIR**

LAVRAS – MG

2020

BEATRIZ LOURDES DE SOUZA

**DESENVOLVIMENTO DE FARINHA DE ARARUTA FERMENTADA
POR GRÃOS DE KEFIR**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Prof^a. Dr^a. Rosane Freitas Schwan

Co-orientadora

Prof^a. Dr^a. Karina Teixeira Magalhães-Guedes

LAVRAS – MG

2020

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da
Biblioteca Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a)
autor(a).

Souza, Beatriz Lourdes de.

Desenvolvimento de Farinha de Araruta Fermentada
por Grãos de Kefir / Beatriz Lourdes de Souza. - 2020.
62 p. : il.

Orientador(a): Rosane Freitas Schwan.

Coorientador(a): Karina Teixeira Magalhães-Guedes.

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade
Federal de Lavras, 2020.

Bibliografia.

1. Maranta Arundinacea L. 2. Fermentação. 3. Ácidos
Orgânicos. I. Schwan, Rosane Freitas. II. Magalhães-
Guedes, Karina Teixeira. III. Título.

BEATRIZ LOURDES DE SOUZA

**DESENVOLVIMENTO DE FARINHA DE ARARUTA FERMENTADA POR GRÃOS
DE KEFIR**

DEVELOPMENT OF ARROWROOT FLOUR FERMENTED BY KEFIR GRAINS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA: 05 de fevereiro de 2020

Dr. Dirceu de Sousa Melo UFPA

Dra. Cíntia Lacerda Ramos UFVJM

Dra. Karina Teixeira Magalhães Guedes UFBA

Dra. Marciane Magnani UFRN

Profa Dra Rosane Freitas Schwan

Orientadora

Profa Dra Karina Teixeira Magalhães-Guedes

Co-Orientadora

LAVRAS – MG

2020

AGRADEÇO E DEDICO À DEUS

Meus queridos e amados pais, Dinamara e Antonio, pelo amor e carinho.

Ao meu irmão, Vinícius Ricardo, por ser meu exemplo de vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por me conceder saúde e sabedoria para sempre seguir em frente. Por confortar meu coração, me dar forças e me guiar nas horas mais difíceis que passei longe dos meus familiares, por me fazer refletir nos dias em que eu só queria desistir, por nunca ter me abandonado e por colocar pessoas incríveis em meu caminho, que me ajudaram a chegar até aqui.

Aos meus queridos pais, Dinamara e Antonio, por terem me dado todo o apoio e incentivo em todos os momentos da minha vida. Por todos os ensinamentos e por sempre acreditarem em mim e nos meus sonhos. Sem vocês, nada teria sido possível. Amo vocês incondicionalmente!

Ao meu irmão, Vinícius, pela atenção e por sempre estar comigo, em tudo que precisei. Você é meu exemplo de vida!

À professora Rosane Schwan, pela oportunidade de realizar esse trabalho. Obrigada pela confiança, por ter me ajudado em tudo o que precisei do início ao fim do curso e por todos os ensinamentos compartilhados.

À professora Karina Magalhães, pelo entusiasmo, ideias e toda a ajuda e motivação em todas as horas que precisei. Obrigada por ter me recebido em Salvador tão bem. Sua contribuição foi essencial para a concretização desse trabalho!

Agradeço imensamente a professora Janice Druzian, ao Paulo Lemos e Leonardo Maciel, por todo apoio na pesquisa e por terem me acolhido tão bem em seus laboratórios na Universidade Federal da Bahia (UFBA).

Aos membros do laboratório LAPESCA – UFBA, Renata, Larissa, Lucas e todos os outros, por terem me acolhido tão bem e deixarem minha estadia na Bahia mais divertida!

À Universidade Federal de Lavras e aos professores, funcionários e colegas dos Departamentos de Ciência dos Alimentos e Biologia, pelas contribuições e todos os ensinamentos transmitidos.

A CNPq, por ter custeado minhas despesas durante os dois anos de curso.

Aos meus amigos que fiz nesse período de curso, Mateus, Thayanna e Juliana, pelas descontrações nos momentos de folga, almoços, passeios, conversas, e por terem compartilhado as frustrações decorrentes da distância que enfrentamos dos nossos familiares.

Aos amigos da graduação, Johnathan, Lidiane, Isabella, Daniel e Jefferson, que sempre se fizeram presentes nesses dois anos de pós-graduação, os meus sinceros agradecimentos por todo apoio e carinho compartilhados.

Aos colegas de mestrado, que muitas vezes foram meu suporte para sempre seguir em frente, agradeço por tudo o que fizeram e ainda fazem, por todo o incentivo e trabalhos em equipe.

Ao meu namorado Hugo Júnior, que acima de tudo, é um grande amigo, estando sempre presente em minha reta final, me estimulando e ajudando a superar os obstáculos que enfrentei nesse período.

Aos meus dois grandes amigos Giuliano Spagnoli e Iana Bicalho, pelo companheirismo e toda amizade, que mesmo à distância, foram imprescindíveis para o meu crescimento pessoal durante o mestrado.

Meu muito obrigada a todos!

RESUMO

Fermentações de matérias-primas por ação microbiana são essenciais para a produção de metabólitos com propriedades funcionais e são explorados para o desenvolvimento de novos alimentos fermentados, a fim de melhorar seu valor nutricional. A Araruta (*Maranta arundinaceaea* L.) é uma planta herbácea perene originária de regiões tropicais da América do Sul, incluindo o Brasil Central, utilizada comumente como ingrediente na produção de pães e biscoitos, pois confere leveza e melhora a textura dos produtos. Além dessas características, a araruta apresenta aproximadamente 45% de inulina, indicando ser uma fonte natural com potencial prebiótico. O kefir é uma cultura simbiótica de microrganismos como leveduras, bactérias lácticas e acéticas que agregam valor nutricional ao produto fermentado. Atualmente, tem sido realizado várias pesquisas com grãos de kefir utilizando matérias-primas não lácteas, afim de melhorar o valor nutricional dos alimentos. O presente estudo objetivou verificar o efeito da fermentação do substrato de araruta utilizando grãos de kefir, avaliando as possíveis características físico-químicas e nutricionais acrescidas à farinha de araruta convencional. Foram produzidas farinhas controle (FC) e fermentadas (farinha fermentada por 24 horas (FAK1) e 48 horas (FAK2) a temperatura ambiente (~25-28°C)). A fermentação foi conduzida em batelada submersa (aproximadamente seis quilos de substrato adicionado de 10% de grãos de kefir, com homogeneização a cada 3 horas), onde os parâmetros de controle foram: potencial hidrogeniônico (pH), temperatura e acidez total titulável. As farinhas FC, FAK1 e FAK2 foram avaliadas quanto a caracterização físico-química nutricional e qualidade microbiológicas, utilizando-se delineamento inteiramente casualizado, com três repetições utilizando-se teste de média Tukey ao nível de significância de 5%. Verificou-se aumento na acidez total titulável de 0,63 a 1,2 e 1,55 meq NaOH.100g⁻¹ (FC, FAK1 e FAK2, respectivamente). Compostos fenólicos apresentaram aumento significativo de 226,19 a 246 e 256,02 mgGAE.100g⁻¹, e redução de IC50 de 18,9 a 15,36 e 13,84, ambos em FC, FAK1 e FAK2, nesta ordem. Verificou-se aumento nos teores de proteínas (3,08 a 4,87 e 6%) e redução de carboidratos (81,3 a 79,39 e 78,04%), para FC, FAK1 e FAK2, respectivamente. Amilose apresentou redução de 36,67% (FC) a 28,5% (FAK1), não sendo identificada presença em FAK2. Glicose e frutose foram identificadas em FC (9 e 14mg/g, respectivamente), com redução significativa em FAK1 (de 0,29 e 0,32mg/g para 0,05 e 0,14 mg/g, respectivamente) e ausência dos mesmos em FAK2. Os ácidos láctico, acético e propiônico foram identificados nas farinhas FKA1 e FKA2, atingindo valores de 0,051, 0,065, 0,074 g/g (FAK1) e 0,038, 0,076, 0,07 g/g (FAK2), respectivamente. As farinhas (FC, FAK1 e FAK2) apresentaram qualidade microbiológica satisfatória, indicando segurança para os consumidores. As farinhas (FAK1 e FAK2) produzidas neste estudo abrem perspectivas para a introdução no mercado de novo produto, podendo ser utilizado como alimento *in natura* e/ou ingrediente alimentício para elaboração de pães, biscoitos, massas e outros, apresentando segurança microbiológica e propriedades funcionais.

Palavras-chave: *Maranta arundinacea* L; Fermentação; ácidos orgânicos.

ABSTRACT

Fermentations of raw materials by microbial action are essential for the production of metabolites with functional properties and are exploited for the development of new fermented foods to improve their nutritional value. Arrowroot (*Maranta arundinaceaea* L.) is a perennial herbaceous plant originating from tropical regions of South America, including Central Brazil, commonly used as an ingredient in the production of bread and biscuits, because gives lightness and improves the texture of products. Besides these characteristics, the araruta presents approximately 45% of inulin, indicating to be a natural font with prebiotic potential. Kefir is a symbiotic culture of microorganisms such as yeasts, lactic and acetic bacteria that aggregate nutrition value to a fermented product. Currently, several researchers have been conducted with kefir grains using non-dairy raw materials, to improve the nutritional value of food. The present study aimed to evaluate the fermented effect of kefir grains in the substrate of arrowroot evaluating the possible physicochemical and nutritional characteristics added to conventional araruta flour. The control flour (CF) and fermented (fermented flour for 24 hours (AKF1) and 48 hours (AKF2) at room temperature (~25-28°C)) were produced. Fermentation was conducted in underwent batch (approximately six liters of substrate added of 10% of kefir grains, with homogenization every 3 hours), where the parameters for control were: hydrogenic potential (pH), temperature and total titratable acidity. Samples were evaluated every 12 hours in both fermentation processes (24 and 48 hours). The flour CF, AKF1, and AKF2 were evaluated for features physicochemical nutritional and microbiological quality, using a randomized design, with three repetitions and using the Tukey test with a 5% of the significance level. Has been verified increase in total titratable acidity of 0,63 to 1,2 and 1,55meq NaOH.100g⁻¹ (CF, AKF1 and AKF2, respectively). Phenolic compounds showed a significant increase in 226,19 to 246 and 256,02 mgGAE.100g⁻¹, and a decrease of IC50 of 18,9 to 15,36 and 13,84, both in CF, AKF1, and AKF2, in this order. Has been verified increase in protein contents (3,08 to 4,87 and 6%) and decrease in carbohydrates (81,3 to 79,39 and 78,04%), for CF, AKF1, and AKF2, respectively. Amylose showed a decrease of 36,37% (CF) to 28,5% (AKF1), unable to verify the presence of this compound in AKF2. Glucose and fructose has been verified in CF (9 and 14mg/g, respectively), with significant decrease in AKF1 (of 0,29 and 0,32mg/g for 0,05 and 0,14 mg/g, respectively) and absence of same in AKF2. It was identified lactic, malic, acetic and propionic acids in flours AKF1 and AKF2, reaching values of 0,051, 0,065, 0,074 g/g (AKF1) and 0,038, 0,076, 0,07 g/g (AKF2), respectively. The flours (CF, AKF1, and AKF2) showed satisfactory microbiological quality, indicative of safety for consumers. The flours (AKF 1 and AKF2) produced in this study open a new perspective for an introduce in the market as a new product, being able use as food *in natura* and/or food ingredient for the elaboration of breads, biscuits, pasta, and others, showing microbiological safety and functions properties.

Keywords: *Maranta arundinacea* L; Fermentation; organic acids.

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA	1
1	INTRODUÇÃO.....	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1	Processos fermentativos.....	2
2.2	Alimentos funcionais.....	4
2.2.1	Probióticos.....	6
2.2.1.1	Kefir.....	8
2.2.2	Prebióticos.....	12
2.2.2.1	Araruta (<i>Maranta Arundinaceae</i> L.).....	15
3	CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	17
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	18
	CAPÍTULO 2 – ARTIGO.....	26
1	INTRODUCTION.....	28
2	MATERIAL AND METHODS.....	29
2.1	RESULTS.....	34
3.3	DISCUSSION.....	37
4	CONCLUSION.....	40
	REFERENCES.....	41

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

1 INTRODUÇÃO

Entre os diversos grupos de alimentos que apresentam características funcionais os que recebem grande destaque são os prebióticos e probióticos, sendo que os probióticos têm apresentado relativo aumento de seu consumo entre os consumidores que estão preocupados com a saúde. A utilização de microrganismos benéficos, na promoção da saúde, não é nova e seu consumo por humanos está especialmente na forma de leites fermentados, apresentando potencial para aplicação em outras fontes alimentícias, pois, os efeitos promotores da saúde dos produtos lácteos fermentados podem ser relacionados com a atividade biológica dos microrganismos empregados na produção desses alimentos e os metabólitos gerados durante o processo de fermentação (RANADHEERA, BAINES, ADAMS, 2010).

O conceito prebiótico é baseado no fato de que estes ingredientes não são digeríveis e podem ser utilizados para promover a manutenção de bactérias como *Lactobacillus* ssp. As fibras inulina e frutooligosacarídeos (FOS) são consideradas prebióticas, contribuem para o equilíbrio intestinal e visto que são fibras solúveis, não são aproveitadas pelo organismo, não alteram o valor calórico dos alimentos, nem aumentam o nível de açúcar no sangue e podem aumentar a absorção de cálcio (GALLINA, 2009).

A Araruta (*Maranta arundinaceaea* L.) é uma planta herbácea perene originária de regiões tropicais da América do Sul, incluindo o Brasil Central, utilizada comumente como ingrediente na produção de pães e biscoitos, pois confere leveza e melhora a textura dos produtos. Além dessas características, a araruta apresenta aproximadamente 45% de inulina, indicando ser uma fonte natural de potencial prebiótico (ROSSI et al., 2011).

A farinha de araruta apresenta características desejáveis para uso na indústria de alimentos, sendo eles: elevado teor de fibras, capaz de promover melhorias na qualidade sensorial no quesito textura e elevada capacidade de geleificação e quantidades significativas de amido resistente. Apesar do potencial uso da araruta como ingrediente no preparo de alimentos fermentados ou não (auxiliando o desenvolvimento dos probióticos), ainda são poucos os estudos realizados e disponíveis na literatura (FIDELES et al., 2019).

Neste cenário, o presente trabalho objetivou avaliar o efeito da fermentação dos grãos de kefir no mosto de araruta avaliando as possíveis características físico-químicas e nutricionais acrescidas à farinha de araruta convencional. O processo fermentativo visa melhorar as características físico-químicas da farinha de araruta convencional, aumentando a visibilidade

da araruta e obtendo um produto alternativo com características nutricionais enriquecidas: “farinha kefir de araruta”.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Processos fermentativos

A fermentação, de modo geral, implica na transformação da matéria orgânica catalisada por enzimas através da utilização de microrganismos. Os processos fermentativos estão presentes na humanidade desde 5.000 a.C. com a produção de vinhos, queijos e derivados do leite. Os egípcios fermentavam a cevada para fabricação de uma espécie de cerveja e, em 4.000 a.C, a levedura da cerveja já estava sendo empregada em processos de panificação (WHITAKER, 1991).

Atualmente, diversos produtos são obtidos por processos fermentativos, utilizados em indústrias farmacêuticas, químicas e alimentícias. Esses produtos podem ser produzidos pelo metabolismo primário ou secundário do microrganismo cultivado e, alinhado com a produção de biomassa, enzimas e proteínas de modo geral, são responsáveis pela progressão tecnológica e desenvolvimento de pesquisas nas mais variadas áreas (SILVA, 2018; MACHADO et al., 2019; NEVES, 2003).

As fermentações podem ser conduzidas por processos descontínuo-alimentados ou contínuos, descontínuos, além das variações destes mesmos processos. Segundo Neves (2003), os cultivos descontínuos podem ser vistos como um sistema fechado, exceto pela aeração sofrida e controle de pH, no qual o inóculo passa por várias fases que podem ser observadas pela curva de crescimento celular. Em processos descontínuos e descontínuo-alimentado, todo o substrato é adicionado no início do processo fermentativo, ao passo que no processo contínuo o mesmo é fornecido ao longo do cultivo.

O cultivo descontínuo-alimentado vem sendo utilizado para regular o desenvolvimento de *Saccharomyces cerevisiae*, porém os primeiros a utilizarem esse termo foram Yoshida et al., (1973). De maneira geral, esse processo é definido como um processo microbiano onde nutrientes são adicionados ao fermentador durante o cultivo e os produtos permanecem até o final da fermentação. A vazão da alimentação pode ser contínua ou variar conforme o tempo, sendo que esta pode ser regulada em função da concentração de substrato desejada (SENE et al., 2000).

Como o próprio nome diz, o processo contínuo caracteriza-se por apresentar uma alimentação contínua do meio fermentativo, sendo o volume da reação mantido constante através da retirada contínua do caldo de fermentação, tendo como objetivo estabelecer o regime estacionário, ou seja, manter as propriedades do meio constante com o tempo (SOUSA, 2016).

Reator bioquímico ou biorreator é onde ocorrem reações denominadas químicas catalisadas por “biocatalizadores”, podendo ser enzimas ou células íntegras. A principal função de um fermentador (biorreator) é proporcionar ambiente controlado que permita o crescimento e desenvolvimento eficiente das células e, conseqüentemente, obter o produto de interesse (FOGLER, 2012; SOUSA, 2016). Desse modo, a escolha do fermentador adequado deve levar em consideração a aplicação de escala que resulta em fermentadores cujos custos e objetivos são considerados (NEVES, 2003).

Lima (2001) relata como deve ser realizado o controle dos processos fermentativos, descritos a seguir:

- a) Tempo de fermentação: Nos processos descontínuos, a duração média varia de acordo com a maneira que se conta o tempo, se ao entrar o mosto em contato com o inóculo ou após encher as dornas;
- b) Odor de fermentação: As fermentações apresentam aromas penetrantes, ativos e tendem para odor de frutas maduras. A irregularidade pode ser indicada por cheiro ácido, ou ranço;
- c) Aspecto de espuma: A natureza do mosto, bem como a temperatura e o tipo de microrganismo variam o aspecto da espuma. Porém, de maneira geral, deve apresentar aspecto típico e característico. Assim, alterações nessas características indicam irregularidade;
- d) Temperatura: Durante as fases de fermentação, a temperatura apresenta variações. Percebe-se que a temperatura de um mosto aumenta no decorrer do processo fermentativo, necessitando assim de dispositivos de refrigeração para mantê-la dentro dos níveis adequados até o final do processo fermentativo. Alterações relevantes na curva de temperatura (do início ao fim da fermentação) são indícios de possíveis defeitos no processo;
- e) Acidez no substrato durante a fermentação: Durante todo o processo fermentativo, nota-se um acréscimo na acidez titulável. Não deve haver grande diferença entre a acidez final e a inicial. Assim, se a acidez final for maior que o dobro da inicial, a fermentação não ocorreu de forma adequada;

- f) Açúcares no mosto: Os açúcares são consumidos de acordo com a curva da densidade. Se houver irregularidade no consumo, o mesmo é indicativo de alterações indesejáveis no processo fermentativo;
- g) Densidade do mosto: Durante o processo fermentativo, a densidade do mosto decresce segundo uma curva condizente com as fases da fermentação. Através da observação do mesmo, é possível observar alterações.

2.2 Alimentos funcionais

Alimentos nutracêuticos e funcionais vem sendo intensivamente estudados nos últimos anos, especialmente em conciliação com o avanço da química/bioquímica de alimentos, métodos e abordagens analíticas subjacentes e sua importância clínica (ATANASOV et al., 2018; BELWAL et al. 2018). Atualmente, os consumidores têm apresentado maior consciência e preocupação com seu estilo de vida, o que tem aumentado a demanda por alimentos que promovam a saúde e o bem-estar, como exemplo aqueles que apresentam propriedades funcionais, os quais têm atraído a atenção dos consumidores e, assim, da indústria alimentícia (OLIVEIRA, 2014; ATANASOV et al., 2018).

A diferenciação entre os alimentos funcionais e nutracêuticos se deve à direta relação entre dieta e saúde. A história dos alimentos nutracêuticos/funcionais pode ser datada no final dos anos 60, tendo como exemplo os achados de que ácidos graxos poli-insaturados poderiam controlar o nível de colesterol presente no sangue (KEYS et al., 1965; WESTSTRATE et al., 2002). Os alimentos funcionais se caracterizam por oferecerem vários benefícios à saúde, além do valor nutritivo relacionado à sua composição química (TAIPINA et al., 2002). Assim, um alimento pode ser considerado funcional se for demonstrado que o mesmo pode apresentar uma ou mais funções benéficas no corpo, além de possuir os efeitos nutricionais básicos, de modo que seja tanto relevante para o bem-estar e a saúde quanto para a redução de um risco de uma doença (MORAES, COLLA, 2006). Criado por Stephen Defelice, fundador e presidente da Fundação para Inovação em Medicina, o termo “nutracêutico”, por sua vez, é definido como um alimento ou parte de um alimento que proporciona benefícios médicos ou de saúde, incluindo assim a prevenção e tratamento de doenças (ANDLAUER, FÜRST, 2002; YEUNG, MOCAN, ATANASOV, 2018). Tais produtos podem abranger desde os nutrientes isolados, suplementos dietéticos na forma de cápsulas e dietas até os produtos beneficentemente projetados, produtos herbais e alimentos processados, como cereais, bebidas, sopas (MORAES, COLLA, 2006).

De maneira geral, a diferenciação entre os alimentos funcionais e nutracêuticos se deve ao fato de que, enquanto que a prevenção e o tratamento de doenças (apelo médico) são relevantes aos nutracêuticos, apenas a redução do risco de doença, e não tratamento e prevenção, está envolvida com os alimentos funcionais; os alimentos nutracêuticos envolvem suplementos dietéticos e outros tipos, enquanto que os alimentos funcionais devem estar na forma de alimento a ser consumido (KWAK, JUKES, 2001b). Nessa perspectiva, o alimento funcional deve primordialmente apresentar as funções nutricionais e sensoriais, sendo a funcionalidade a função terciária do alimento (KWAK, JUKES, 2001a).

A microbiota intestinal saudável e equilibrada (microbiologicamente) desempenha normalmente as funções fisiológicas do hospedeiro, o que irá garantir melhoria na qualidade de vida (SAAD, 2006; STEFE et al., 2008). Se acaso essa microbiota diminua drasticamente, tornará o hospedeiro vulnerável à colonização por patógenos exógenos. Essa redução pode ser causada de forma dramática, sob antibioticoterapia, ou através de tratamentos que provocam a eliminação ou decréscimo de certos grupos bacterianos benéficos, o que favorecerá a proliferação de patógenos em potencial (TESHIMA, 2003; MIMS et al., 2005).

O equilíbrio do habitat intestinal e a estabilidade da microbiota é um processo mantido ativamente através das relações entre bactérias e dessas com o hospedeiro (BRANDT et al., 2006). Grupos específicos de microrganismos, presentes em porções diferentes do trato intestinal, são capazes de produzir uma variedade de compostos que têm diversos efeitos na fisiologia intestinal, além de outras influências sistêmicas, como produção de enzimas que podem atuar no intestino, convertendo substâncias em compostos benéficos ou nocivos ao hospedeiro (TESHIMA, 2003). Assim, os alimentos funcionais (alimentos fermentados, prebióticos e os que possuem microrganismos probióticos também) podem influenciar de maneira positiva a microbiota intestinal, através dos metabólitos produzidos pela fermentação e até mesmo no fornecimento de substrato para a fermentação de bactérias benéficas presentes no trato intestinal. As bactérias reforçam as diferentes linhas de defesa do intestino através de mecanismos como eliminação de caráter imune, exclusão imunológica, que concedem o estabelecimento da convivência dinâmica entre os microrganismos e os humanos (MAJAMAA; ISOLAURI, 1997; NOVAK et al., 2001).

No Brasil, o Ministério da Saúde, por meio da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), regulamentou os Alimentos Funcionais através de resoluções: ANVISA/MS 16/99; ANVISA/MS 17/99; ANVISA/MS 18/99; ANVISA/MS 19/99, cujas essências são:

- a) Resolução da ANVISA/MS 16/99: Trata de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes, cuja característica é de não necessitar de um

Padrão de Identidade e Qualidade (PIQ) para registrar um alimento, além de permitir o registro de novos produtos sem histórico de consumo no país e novas formas de comercialização para produtos já consumidos (BRASIL, 1999^a).

- b) Resolução da ANVISA/MS 17/99: Aprova o Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes básicas para Avaliação de Risco de Segurança de Alimentos que prova se o produto é seguro sob o ponto de risco à saúde ou não, sendo baseado em pesquisas e evidências científicas (BRASIL, 1999b);
- c) Resolução ANVISA/MS 18/99: Aprova o Regulamento Técnico que as Diretrizes Básicas para a Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e/ou Saúde, alegadas em rotulagem de alimentos (BRASIL, 1999c).
- d) Resolução ANVISA/MS 19/99: Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos com Alegação de Propriedades Funcionais e ou Saúde em sua Rotulagem (BRASIL, 1999d).

Diante das informações expostas, os consumidores estão cada vez mais conferindo maior aceitação dos alimentos funcionais, diferenciando-os dos nutracêuticos, direcionando assim uma nova era com o foco em alimentos com características funcionais que possam elevar a saúde da população. Assim, o foco das indústrias é cada vez mais produzir alimentos funcionais com qualidade, satisfazendo a demanda populacional.

2.2.1 Probióticos

De origem grega, o termo “probiótico” possui significado de “para vida”, sendo inicialmente definido como “compostos ou extratos de tecidos capazes de estimular o crescimento microbiano” (CHEN, WALKER, 2005). A nomenclatura foi originalmente proposta por Lilley e Stillwell, em 1965, como antônimo da palavra “antibiótico”, de modo que pretendia designar os agentes microbianos que promovem o desenvolvimento de outros microrganismos (SANTOS, 2010). Segundo Hill et al. (2014), probióticos são “microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem um benefício à saúde do hospedeiro”.

Considerando alimento funcional como aquele que, além de fornecer a nutrição básica, promove a saúde, os probióticos são enquadrados nesta categoria (JUIZ, RIBEIRO, PASSOS, 2017). De maneira geral e abrangente, de acordo com Szajewska et al (2006), alguns critérios utilizados e aceitos na literatura são avaliados para possível classificar o microrganismo como probiótico, sendo eles:

- a) Não apresentar patogênese;
- b) Apresentar resistência ao processamento;
- c) Ser estável e permanecer viável após exposição aos sucos digestivos;
- d) Aderir-se à célula epitelial;
- e) Apresentar capacidade de persistência por todo o trato gastrointestinal;
- f) Apresentar capacidade de influenciar a atividade metabólica local.

Entretanto, além dessas alegações abrangentes, para classificar e reconhecer o microrganismo como probiótico, o mesmo deve apresentar padrões de identidade, segurança e alegações de propriedades funcionais, de acordo com legislações específicas da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2014).

Para a comprovação da identidade, são determinados vários parâmetros, como a nomenclatura oficial do microrganismo, qual origem de sua linhagem, bem como identificação fenotípica e genotípica. A comprovação dos padrões de segurança é determinada pela verificação de aspectos mais relevantes: propriedades intrínsecas da linhagem (sobrevivência ao trato gastrointestinal; adesão e translocação; atividade metabólica deletérica; resistência a antimicrobianos); interações entre a linhagem e o hospedeiro (efeitos da homeostase intestinal; estudos clínicos em humanos); requisitos adicionais para novas linhagens (estudos de genotoxicidade/mutagenicidade; estudos de toxicidade aguda e sub-crônica, estudo de toxicidade de longo prazo, reprodutiva/desenvolvimento; alergenicidade, testes de agregação plaquetária) (ANVISA, 2014).

Para a comprovação de uma alegação de propriedade funcional, devem ser apresentados estudos que demonstrem: sobrevivência do microrganismo às condições do trato gastrointestinal; propriedades e os mecanismos de ação da espécie do microrganismo; fortes evidências dos benefícios do microrganismo nos desfechos relacionados à saúde gastrointestinal; potencial benefício da linhagem. Os estudos devem ser clínicos randomizados, duplo-cegos e placebo-controlados (ANVISA, 2017).

Os microrganismos considerados probióticos não apresenta rápida multiplicação e, devido a isso, não permanecem colonizadores perenes. Dentre os probióticos, destacam-se o *Bifidobacterium* sp. e o *Lactobacillus* sp. (NOGUEIRA, GONÇALVES, 2011).

Diversas funções foram atribuídas aos probióticos. Do ponto de vista nutricional, eles são vinculados à síntese de vitaminas do complexo B que auxiliam o organismo a utilizar ácidos graxos, glicose e aminoácidos com maior eficiência, além de apresentarem relevante papel no que diz respeito a regulação do trânsito intestinal, pois sintetizam enzimas digestivas que possibilita a tolerância a determinados alimentos em seres humanos (SANTOS, 2010).

Os mecanismos de ação dos probióticos ainda não foram esclarecidos completamente, apesar de que vários processos tenham sido sugeridos, principalmente a atividade imunomoduladora e antimicrobiana (JUIZ, RIBEIRO, PASSOS, 2017). Desse modo, para que o probiótico promova seu benefício, o mesmo deve apresentar viabilidade quando consumido, além de permanecer assim durante todo o trato gastrointestinal, aderindo então à mucosa intestinal e competindo com microrganismos patogênicos, o que promove sua ação de modo satisfatório na modulação de inflamação e imunidade (NOGUEIRA, GONÇALVES, 2011).

Os probióticos promovem, de maneira geral, várias funções benéficas no intestino, tais como, efeito imunomodulador; produção de nutrientes, a partir dos alimentos ingeridos, que serão utilizados pelo organismo (vitaminas, por exemplo); proteção contra proliferação de microrganismos patogênicos; restauração da permeabilidade intestinal (NOGUEIRA; GONÇALVES, 2011).

Estudos mostram que dentre os efeitos antimicrobianos que apresentam, vale destacar o antagonismo direto a microrganismos patogênicos devido a produção de bacteriocinas que promovem a lise celular, competição por nutrientes alimentares utilizados como substratos por bactérias indesejáveis, que oferecem risco ao organismo. Com relação a atividade imunomoduladora, destaca-se a redução da inflamação pela produção de citosinas com características anti-inflamatórias (JUIZ; RIBEIRO; PASSOS; 2017).

2.2.1.1 Kefir

Os microrganismos que compõe os grãos de kefir (bactérias e leveduras), originários das montanhas do Cáucaso e da Europa Oriental, estão contidos em um exopolissacarídeo denominado “kefirano ou kefirano” e uma matriz proteica (LEITE et al., 2013). Os grãos de kefir são constituídos por uma associação de leveduras e bactérias lácticas e acéticas. Segundo o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade de Leites Fermentados, definido pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA, os grãos de kefir são constituídos por *Lactobacillus kefir* e espécies do gênero *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Acetobacter*, além de leveduras fermentadoras de lactose (*Kluyveromyces marxianus*) e leveduras não fermentadoras de lactose (*Saccharomyces omnisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Saccharomyces exiguus*), *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* sp. e *Streptococcus salivarius* subsp. *termophilus* (BRASIL, 2007).

A composição microbiana do kefir é definida dependendo do método de produção e da origem dos grãos (WITTHUHN et al., 2004a, 2004b; MIGUEL et al., 2010). Estes fatores

contribuem para a variação da população microbiana da bebida. A microbiota dominante do kefir isolada em diferentes localidades encontra-se relacionada na Tabela 1.

Tabela 1 – Microbiota pertencente ao kefir cultivado em leite, em diferentes locais.

Microorganismos	Localidade	Referências
<i>Lactobacillus brevis</i> , <i>Saccharomyces unisporus</i>	Portugal	PINTADO et al., 1996
<i>Lactobacillus kéfir</i> , <i>Lactococcus lactis</i> sp. <i>lactis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus parakefir</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i>	Argentina	GARROTE et al., 2001
<i>Lactococcus lactis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>	Turquia	YÜKSEKDAG et al., 2004
<i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus delbruekii</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	Espanha	SANTOS et al., 2003
<i>Lactobacillus delbruekii</i> ssp. <i>delbruekii</i> , <i>Leuconostoc lactis</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Zygosaccharomyces</i> sp., <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	África do Sul	WITTHUHN et al., 2004c
<i>Lactobacillus delbruekii</i> ssp. <i>delbruekii</i> , <i>Lactococcus lactis</i> sp. <i>lactis</i> 1, <i>Candida krusei</i> , <i>Candida kefir</i>	África do Sul	WITTHUHN et al., 2004b
<i>Lactobacillus casei</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Rússia	PLESSAS et al., 2007
<i>Lactococcus</i> sp., <i>Kluyveromyces marxianus</i>	Espanha	FONTÁN et al., 2006
<i>Gluconobacter japonicas</i> , <i>Lactobacillus kefir</i> , <i>Lactobacillus uvarum</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus satsumensis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i>	Brasil	MIGUEL et al., 2010
<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> , <i>Lactobacillus kefir</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus paracasei</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Kazachstania exigua</i> , <i>Kazachstania unispora</i>	Tibete - China	GAO AND ZHANG, 2018

Continua...

Tabela 1 - Continuação

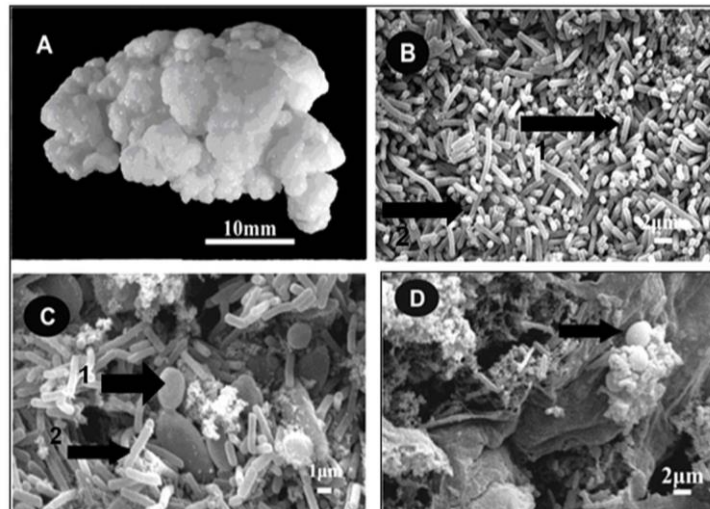
Microrganismos	Localidade	Referências
<i>Bacillus amyloliquefacien</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Grécia	SYROKOU et al., 2019
<i>Enterococcus durans</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i> , <i>Lactococcus garvieae.</i> , <i>Micrococcus ssp.</i> , <i>Candida kefir</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Chipre	HECER, ULUSOY e KAYNARCA, 2019

Em estudo utilizando a microscopia de luz e a microscopia eletrônica de varredura, com grãos de kefir cultivados em leite, foi observado que a superfície dos grãos de kefir é rugosa (MAGALHÃES et al., 2010). Nas amostras fatiadas, a superfície interna dos grãos também se mostrou rugosa e com porções semelhantes a uma coleção de pequenas crateras. Foram observadas células de leveduras nas superfícies externa e interna dos grãos. Foram notados dois tipos de bacilos (curto e longo). Os grãos de kefir foram caracterizados como irregulares e variaram de tamanho entre 3 e 35mm. Eles atuam como uma matriz polissacarídica, nas quais bactérias ácido lácticas e leveduras vivem simbioticamente (GUZEL-SEYDIM et al., 2005; MAGALHÃES et al., 2010). A Figura 1 demonstra os grãos de kefir vistos a olho nu e com auxílio de um microscópio eletrônico de varredura.

Os microrganismos presentes nos grãos de kefir são considerados probiótico por apresentar características e propriedades funcionais que beneficiam a saúde do consumidor. Devido a isso, tem havido crescente interesse na produção industrial de kefir, levando a maior conhecimento de suas propriedades e produtos que possam ser oferecidos a população (KIM et al., 2018). O estudo dos grãos de kefir apresenta certa dificuldade devido a complexa relação simbiótica existente entre os microrganismos que fazem parte da composição desses grãos, porém, essa mesma complexidade simbiótica promove relativa estabilidade e especificidade da comunidade microbiana ali existente (FARNWORTH, 2005).

De maneira geral, alguns fatores podem influenciar as características químicas e microbiológicas do produto final de kefir, como condições de incubação, relação entre a concentração de leite e os grãos de kefir, agitação e armazenamento, dentre outras (LEITE, 2013). A composição populacional dos grãos de kefir varia de acordo com a origem dos mesmos, bem como o método de cultivo e substrato empregados, porém a organização dos microrganismos no grão não é completamente conhecida (ALMEIDA, 2018).

Figura 1. Estrutura de grãos de kefir.



A – Grãos de kefir vistos a olho nu. **B** – Superfície externa dos grãos de kefir, seta 1 – bacilo curto, seta 2 – bacilo longo. **C** – Superfície externa dos grãos de kefir, seta 1 – levedura, seta 2 – bacilo. **D** – Superfície interna dos grãos de kefir, seta – levedura.

Fonte: (MAGALHÃES et al., 2010).

Nos grãos de kefir em geral, as bactérias ácido-láticas são mais numerosas do que leveduras e bactérias ácido-acéticas, sendo aproximadamente 10^8 - 10^9 UFC/g, 10^5 - 10^6 UFC/g e 10^5 - 10^6 UFC/g, respectivamente (GARROTE et al., 2001; FARNWORTH, 2005). De acordo com os pesquisadores Otles e Cagindi (2003), a matriz do grão é composta por um complexo de 13% de proteína (massa seca), 24% de polissacarídeos, detritos celulares e outros componentes não conhecidos, sendo que o principal polissacarídeo é uma substância de característica hidrossolúvel chamada de “kefirano ou kefirano”. Segundo Liut Kevicius e Sarkinas (2004), os grãos de kefir apresentam 86,3% de umidade, 1,2% de cinzas, 4,5% de proteína e 0,03% de gordura.

Estudos mostram que os produtos fermentados pelos grãos de kefir podem apresentar atividade antimicrobiana. Essa atividade pode ser atribuída à produção de metabólitos tais como ácidos orgânicos (ácidos lático e acético), etanol, peptídeos (bacteriocinas), peróxido de hidrogênio, diacetil e dióxido de carbono produzidos pelas bactérias do ácido lático, bactérias do ácido acético e leveduras durante o processo de fermentação (FARNWORTH, 2005; SARKAR, 2007; ALMEIDA, 2018). Segundo Almeida (2018), as leveduras presentes nos grãos de kefir apresentam papel importante no fornecimento de nutrientes essenciais de crescimento, tais como vitaminas e aminoácidos, além de alterarem o pH, e liberarem CO_2 e etanol. Atualmente, o kefir tem despertado grande interesse na comunidade científica na

produção de novos alimentos fermentados devido às suas propriedades promotoras da saúde, incluindo efeitos antioxidantes (ROSA et al., 2017; SANTANNA et al., 2017; FRIQUES et al., 2015; KLIPPEL et al., 2016).

2.2.2 Prebióticos

De maneira geral, os prebióticos são atualmente erroneamente denominados como fibra alimentar, exemplificando, os oligossacarídeos e polissacarídeos considerados prebióticos são comumente chamados por esse termo (ANJO, 2004).

O termo fibra alimentar engloba polissacarídeos, lignina, oligossacarídeos e substâncias que promovem benefícios fisiológicos, podendo ser classificadas em fibras solúveis (pectinas, gomas, algumas hemiceluloses e mucilagens, comumente encontradas em legumes, aveia, frutas e leguminosas) e insolúveis (algumas pectinas, celulose, lignina e a maioria das hemiceluloses, geralmente encontradas nos vegetais folhosos, derivados de grãos inteiros e farelos) (MIRA et al., 2009).

Dentre os benefícios promovidos pelos prebióticos, destaca-se a prevenção e redução do risco de acidente vascular cerebral, diabetes mellitus, obesidade e algumas desordens gastrointestinais (MORAES, COLLA, 2006). As fibras solúveis são responsáveis pelo aumento da viscosidade do conteúdo do cólon, apresentando efeitos sobre a absorção de lipídeos e glicose no intestino delgado, pois estes são fermentados pelas bactérias do cólon acarretando em uma eliminação fecal mais rápida e fácil. Por outro lado, as fibras insolúveis apresentam como ação a retenção de água, aumentando assim o seu volume, facilitando a eliminação fecal por distender a parede do cólon, isso devido ao fato que sofrem fermentação de modo mais lento e incompleto (MACAGNAN et al., 2016).

Por volta de 1959, surgiram os primeiros estudos acerca dos prebióticos, quando a lactulose foi utilizada para estimular o crescimento das *Bifidobacterium bifidum*. Inicialmente, os prebióticos foram definidos como um ingrediente alimentício não digerível que afeta beneficemente o consumidor através da estimulação seletiva do crescimento e/ou da atividade de uma bactéria (ou um número limitado delas) no cólon, fornecendo assim saúde para o consumidor (OLIVEIRA, PENNA, 2009).

A partir dessa denominação, o conceito de prebióticos atraiu atenção e estimulou o interesse tanto industrial quanto científico. Atualmente, o conceito de prebióticos são substratos alimentares pertencentes ao grupo das fibras que não apresentam digestão completa, afetando beneficemente o consumidor por via da fermentação ocorrida por bactérias intestinais,

proporcionando assim proteção ao cólon (ZENE et al., 2018). De maneira geral, as bactérias responsáveis por fermentar os prebióticos são chamadas de probióticos. Esses por sua vez, além de ajudarem na fermentação dos prebióticos, inibem a colonização do intestino por bactérias patogênicas (NASPOLINI, 2012).

Muitos ingredientes alimentícios, principalmente oligossacarídeos e polissacarídeos, incluindo fibra alimentar, têm sido denominados como prebióticos ou que apresentam atividade prebiótica, porém, sem considerar algumas características de extrema importância. Nem todos os carboidratos que fazem parte da dieta podem ser considerados prebióticos. Desse modo, de acordo com Roberfroid (2004), é necessário definir alguns critérios para considerar determinado tipo de alimento como prebiótico:

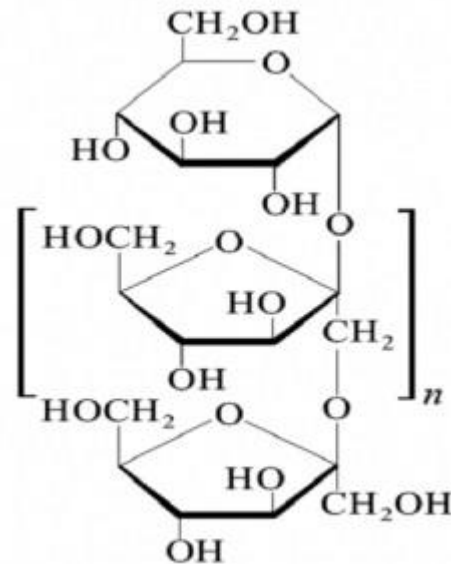
- a) Não ser absorvido nem hidrolisado na parte superior do trato gastrointestinal;
- b) Ser fermentado pelos microrganismos do intestino;
- c) Apresentar estimulação seletiva ao crescimento e/ou atividade das bactérias intestinais, contribuindo assim para com a saúde do hospedeiro.

A funcionalidade dos prebióticos, de maneira geral, está relacionada à sua atuação direta no aumento do tempo de esvaziamento do estômago, na modulação do trânsito do trato gastrointestinal, diminuição do colesterol via adsorção de ácidos biliares e à sua atuação indireta na modulação da fermentação microbiana através do estímulo das bifidobactérias (FERREIRA, 2001; BERTERRECHE, 2002).

Várias são as substâncias empregadas como prebióticas. Atualmente, as mais estudadas são: frutanos (frutooligossacarídeos – FOS e inulina), glucossacarídeos (dextrinas resistentes, β -glucanos, amidos resistentes, dentre outros), mono-oligossacarídeos, polissacarídeos (pectina, goma guar) (SANIEZ, 2004).

A inulina é um frutano, ou seja, mistura de polímeros de frutose com grau de polimerização 2 a 60. Quimicamente, consiste em moléculas de sacarose, nas quais uma, duas ou três moléculas de frutose são adicionadas por ligações β -(2-1), representada na Figura 2. Ocorre naturalmente em muitas frutas e vegetais – incluindo banana, cevada, alho poro, alho, cebola, centeio, tomate, aspargos, tubérculos, trigo, alcachofra e chicória -, fazendo parte de uma dieta normal. Porém, a quantidade encontrada em cada alimento é pequena, ou seja, deve-se ter um consumo elevado para se obter o efeito funcional desejado (OLIVEIRA, PENNA, 2009).

Figura 2. Fórmula estrutural da inulina composta por uma cadeia de resíduos de frutose (mais precisamente fructofuranose) e um resíduo de glicose (mais precisamente glucopirranose) terminal, sendo n entre 10 a 60. O grau de polimerização total da inulina é de $n + 2$.



Fonte: ESTEVES, 2017.

Acredita-se que tanto os probióticos quanto os prebióticos atuem principalmente com base em efeitos diretos ou indiretos sobre a microbiota e o ambiente intestinal e/ou sobre as funções do hospedeiro. De maneira geral, os prebióticos melhoram o crescimento da microbiota endógena ou, possivelmente, estimulam o crescimento dos probióticos quando administrados simultaneamente (BINNS, 2014).

De acordo com o International Life Sciences Institute (ILSI), as bifidobactérias e os *lactobacillus* no cólon (ambos probióticos), fermentam preferencialmente os carboidratos que escapam da digestão no trato gastrointestinal superior, o que resulta em um pH reduzido no cólon. Segundo o ILSI, as bifidobactérias podem fermentar frutanos por possuírem uma enzima chamada β -fructofuranosidase (não existente ou apresenta baixa atividade em outras bactérias), conferindo vantagens competitivas a esses microrganismos quando expostos a frutanos no organismo humano. Essa metabolização de frutanos por bifidobactérias produz principalmente componentes ácidos acetato e lactato. O cruzamento desses produtos de fermentação com outras espécies da origem ao butirato e ao propianato (BINNS, 2014).

2.2.2.1 Araruta (*Maranta Arundinaceae* L.)

A araruta (*Maranta Arundinaceae* L.) pertencente à família *Marantaceae*, é uma planta herbácea, de ciclo perene, ereta, com caule articulado e sua altura pode variar entre 0,60 e 1,20 metros. Seus rizomas são fusiformes, com casca escamosas, brilhantes e formam em sua estrutura reserva amilácea para desenvolvimento de nova planta (MONTEIRO e PERESSIN, 2002).

Provavelmente, seu centro de origem é a América do Sul. Sua forma nativa é encontrada nas matas venezuelanas e foi posteriormente exportada às Ilhas Barbados, Jamaica e outras regiões do Caribe. No Brasil é historicamente encontrada na região Sudeste do país, sendo recorrente nas matas do Rio de Janeiro (FELTRAN, 2014).

Entre as variedades estudadas estão as mais comuns que se caracterizam por pouco ou nenhum florescimento nas condições tropicais, e a variedade tamoatarana (tamatarana), planta caule, também conhecida como araruta-raiz-redonda (ovo de pata), com folhas semelhantes às da araruta industrial (comum), apresenta inflorescência do tipo espiga, com flores esbranquiçadas e ovário glabro, vistas na Figura 3 (RODRIGUES, 2014).

Figura 3. Rizomas de araruta das variedades comum (1) e ovo de pata (2).



Fonte: Deskgram, 2018.

O cultivo da araruta é indicado, preferencialmente, para a agricultura familiar, pois a maioria dos casos opta por sistema produtivo agroecológico e diversificado, com reduzido uso de insumos extremos. Isso porque a araruta é uma espécie rústica que demanda poucos tratamentos culturais e baixo custo de implantação (FONSECA, 2014).

O escasso plantio e a certa dificuldade para obtenção do amido puro e/ou farinha acarretaram no abandono da comercialização do produto pela indústria alimentícia, fazendo com que a araruta praticamente desaparecesse do mercado, sendo substituída gradualmente

pelos produtos oriundos da mandioca, que por sua vez apresenta maior facilidade de ser industrializada. Além de ser difícil encontrar no mercado a araruta e seus produtos, como farinha e amido, é raro até mesmo quem cultive a planta, o que se torna um bom negócio para quem está produzindo (RODRIGUES, 2014).

O resgate do cultivo da araruta é uma das linhas de pesquisa da Embrapa Agrobiologia, Embrapa Solos, Universidade Federal do Rio de Janeiro e a Pesagro-Rio realizadas, através de um convênio, na Fazendinha Agroecológica Km 47. Devido ao fato de ser propagada por rizomas e tubérculos, essa espécie pode desaparecer facilmente, pois depende do constante replantio do material propagativo (NEVES et al., 2005).

Os rizomas de araruta são uma fonte não convencional de amido (>85%), entretanto, não apresenta grande importância socioeconômica em muitos países. Isso se deve ao fato de que seu amido não é considerado matéria-prima de alta prioridade (GORDILLO et al., 2014). Mesmo assim, tanto o amido quanto a farinha de araruta são utilizados na produção de alimentos (SHINTU; RADHAKRISHNAN; MOHANAN, 2015). São normalmente empregados como espessante em variadas preparações culinárias, como mingaus, bolos, biscoitos, pudins e geleias, conferindo leveza e alta digestibilidade, o que lhe oferece valor como ingrediente em produtos especialmente para bebês e convalescentes (KUMALASARI et al., 2012; LIM, 2016; LESTARI; HURIYATI; MARSONO, 2017; ODEKU, 2013). Nas culinárias coreanas e vietnamitas são utilizados em preparações de macarrões, caldos e para espessar alimentos ácidos, como o molho agri-doce de origem asiática (LIM, 2016).

Segundo a Resolução RDC nº263, de 22 de setembro de 2005, amido e farinha apresentam definições diferentes, visto que “amidos são os produtos amiláceos extraídos de partes comestíveis de cereais, tubérculos, raízes ou rizomas” (BRASIL, 2005). Já “farinhas são os produtos obtidos de partes comestíveis de uma ou mais espécies de cereais, leguminosas, frutos, sementes, tubérculos e rizomas por moagem e outros processos tecnológicos considerados seguros para produção de alimentos (BRASIL, 2005). A composição proximal da farinha de araruta encontra-se descrita na tabela 2. Normalmente, as farinhas apresentam quase os mesmos componentes que as matérias-primas de origem, exceto teor de umidade, compreendendo amido, polissacarídeo não amiláceo, açúcar, proteína, lipídeos e materiais inorgânicos, desconsiderando perdas (PUNCHA-ARNON; UTTAPAP, 2013).

Tabela 2 – Composição proximal da farinha de araruta.

Característica	Composição	
Umidade (%)	7,12	6,53
Proteínas (%)	6,14	6,14
Lipídeos (%)	0,63	0,57
Cinzas (%)	4,14	4,87
Carboidratos (%)	81,97	81,89
Valor Energético (Cal/100g)	358,11	357,25
Referências	WAHJUNINGSIH et al. (2018)	FIDELES et al. (2019)

Além de ser utilizada como ingrediente na produção de pães e biscoitos, devido às características do amido presente, conferindo leveza e melhorando a textura dos produtos (SANTOS, 2017), a araruta apresenta aproximadamente 45% de inulina, indicando ser uma fonte natural com potencial prebiótico (ROSSI et al, 2011). Outra característica importante, que incentiva o uso de subprodutos da araruta, é a ausência da proteína do glúten, podendo ser utilizada como substituinte da farinha de trigo, sendo adequada para dieta de indivíduos com intolerância alimentar ao glúten (LIM, 2016).

3. CONSIDERAÇÕES GERAIS

A utilização da tecnologia de fermentação em alimentos é tradicionalmente conhecida por trazer vantagens nutricionais aos alimentos, pois visa a melhoria da qualidade físico-química e nutricional dos mesmos. Proporciona ainda segurança microbiológica através da produção de substâncias oriundas do metabolismo microbiano eliminando patógenos, além de agregar valores singulares a cada tipo de alimento produzido, o que afeta na escolha do consumidor. O estudo das características físico-químicas e nutricionais da araruta, bem como a alteração das mesmas proveniente do processo fermentativo pelos grãos de kefir, apresenta potencial no cenário industrial brasileiro, visando maior conhecimento e visibilidade dos subprodutos da araruta por parte da população, agregando valor comercial aos mesmos. A produção de farinhas fermentadas de araruta por grãos de kefir visa a agregação de valor a farinha de araruta convencional através da utilização de um inóculo já comumente utilizado pela população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A. P. A. S. **A utilização do Kefir e seus benefícios para a saúde: Revisão integrativa**. 2018. 65 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel e Licenciatura em Enfermagem)-Faculdade de Medicina (FAMED), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2018.
- ANDLAUER, W.; FÜRST, P. Nutraceuticals: Um pedaço de história, status atual e perspectivas. **Food Research International**, Washington, v. 35, n. 2, p. 171-176, jun. 2002.
- ANDRADE, R. R. **Procedimento para o desenvolvimento de um modelo matemático robusto para o processo de fermentação alcoólica**. 2007. 110 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)-Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas 2007.
- ANGULO, L.; LOPEZ, E.; LEMA, C. Microflora present in kefir grains of the Galician Region (North-West of Spain). **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 60, n. 2, p. 263-267, Feb. 1993.
- ANJO, D. F. C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **Jornal Vascular Brasileiro**, São Paulo, v. 3, n. 2, p. 145-54, jun. 2004.
- ANVISA. **Guia para instrução processual de petição de avaliação de probióticos para uso em alimentos**. Consulta Pública n.º 459/2017. Gerência-Geral de Alimentos, jun. 2018. Disponível em:
<http://portal.anvisa.gov.br/documents/3845226/0/An%C3%A1lise+das+contribui%C3%A7%C3%B5es_Probi%C3%B3ticos_11062018_Final.pdf/0fd54394-1b59-4472-b6bc-93881de115ad>. Acesso em: 15. set. 2018.
- ANVISA. **Minuta de guia para instrução processual de petição de avaliação de probióticos para uso em alimentos**. 2014. Disponível em:
<http://portal.anvisa.gov.br/documents/3845226/0/Guia+Probioticos_Portal.pdf/e1bbf33e-719e-4f3e-84a0-7846bbe17972>. Acesso em: 15. set. 2018.
- ATANASOV, A. G. et al. Pecan nuts: Uma revisão de bioatividades relatados e efeitos na saúde. **Trends in Food Science & Technology**, England, v. 71, p. 246-257. Jan. 2018.
- BELWAL, T. et al. Phytopharmacology of Acerola (*Malpighia* spp.) and its potential as functional food. **Trends in Food Science & Technology**, England, v. 74, p. 99-106. Apr. 2018.
- BERTERRECHE, J. Prebióticos e probióticos em produtos lácteos. In: SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA DE PRODUTOS LÁCTEOS - GERMINAL, 2.; 2002. **Anais...** 2002. p. 1-6.
- BINNS, N. **Probióticos, prebióticos e a microbiota intestinal**. International Life Sciences Institute Europe – ILSI. ILSI Europe Concise Monograph Series. 2014. Disponível em: <<http://www.ilsi.org>>. Acesso em: 15. set. 2018.

BRANDT, K. G.; SAMPAIO, M. M. S. C.; MIUKI, C. J. Importância da microflora intestinal. **Pediatria (São Paulo)**, São Paulo, v. 28, n. 2, p. 117-127, ago./set. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.º 263, de 22 de setembro de 2005. Regulamento Técnico sobre Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 23 set. 2005.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Resolução n.º 46, de 23 de outubro de 2007. Padrões de Identidade e Qualidade (PIQ) de Leites Fermentados. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.º 16, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimentos e ou Novos Ingredientes. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 1999a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.º 17, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 1999b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.º 18, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico que Estabelece as Diretrizes Básicas para Análise e Comprovação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde Alegadas em Rotulagem de Alimentos. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 1999c.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução n.º 19, de 30 de abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico de Procedimentos para Registro de Alimento com Alegação de Propriedades Funcionais e ou de Saúde em sua Rotulagem. **Diário Oficial [da] União**, Brasília, DF, 1999d.

CHEN, C. C.; WALKER, W. A. Probiotics and prebiotics: role in clinical disease states. **Advances in Pediatrics**, Canadá, v. 52, n. 1, p. 77-113, Feb. 2005.

ESTEVEZ, C. **Inulina**. Know.net: Enciclopédia temática. 2017, Disponível em: <know.net/ciencterravida/biologia/inulina/>. Acesso em: 24 ago. 2018.

FARNWORTH, E. R. Kefir – a complex probiotic. **Food Science and Technology Bulletin: Functional Foods**, Reino Unido, v. 2, n. 1, p. 1–17, Apr. 2005.

FELTRAN J. C.; PERESSIN, A. Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas. In: **Instruções agrícolas para as principais culturas econômicas**. Campinas: Instituto Agrônomo, 2014, n. 6, 396p.

FERREIRA, C. L. L. F. **Tecnologia para produtos lácteos funcionais: probióticos**. Juiz de Fora: EPAMIG 2001, 204p.

FIDELES, M. C. et al. Physicochemical and technological characteristics of arrowroot flour modified by ultrasound and low-temperature heat treatment. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 49, n. 10, Jan. 2019.

FOGLER, H. S. **Elementos de engenharia das reações químicas**. 4. ed., In: CALADO, V.; EVARISTO, C; BISCAIA, J. R. (Eds.) Rio de Janeiro, 2012, 334p.

FONSECA, M. A. J. Recursos genéticos e melhoramento de hortaliças para e com a agricultura familiar. **Horticultura Brasileira**, Vitória da Conquista, v. 32, n. 4, p. 508, Dec. 2014.

FONTÁN, M. C. G. et al. Microbiological and chemical changes during the manufacture of kefir made cows' milk, using a comercial starter culture. **International Dairy Journal**, Cambridge, v. 16, n. 7, p. 762-767, Apr. 2006.

FRIQUES, A. G. F. et al. Chronic administration of the probiotic kefir improves the endothelial function in spontaneously hypertensive rats. **Journal of translational medicine**, Canadá, v. 13, n. 1, p. 390, Dec. 2015.

GALLINA, D. A. Leites fluídos disponíveis no mercado brasileiro: algumas considerações. **Revista Indústria de Laticínios**, São Paulo, v. 79, p. 38-44, mar./abr. 2009.

GAO, W.; ZHANG, L. Genotypic diversity of bacteria and yeasts isolated from Tibetan kefir. **International Journal of Food Science & Technology**, United Kingdom, v. 53, n. 6, p. 1535-1540, Jan. 2018.

GARROTE, G. L.; ABRAHAM, A. G.; ANTONI, G. L. de. Chemical and microbiological characterisation of kefir grains. **Journal of Dairy Research**, Cambridge, v. 68, p. 639-652, Feb. 2001.

GORDILLO, S. A. S. et al. Physicochemical Characterization of Arrowroot Starch (*Maranta Arundinacea* Linn) and Glycerol/Arrowroot Starch Membranes. **International Journal of Food Engineering**, London, v. 10, n. 4, p. 727-735, Dec. 2014.

GUZEL-SEYDIM, Z. et al. Turkish kefir and kefir grains: microbial enumeration and electron microscobic observation. **International Journal of Dairy Technology**, Cambridge, v. 58, n. 1, p. 25-29, Feb. 2005.

HECER, C.; ULUSOY, B.; KAYNARCA, D. Effect of different fermentation conditions on composition of kefir microbiota. **International Food Research Journal**, Malaysia, v. 26, n. 2, p. 401-409, Apr. 2019.

HILL, C. et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, United States, v. 11, n. 8, p. 506-514, June. 2014.

JUIZ, P. J. L.; RIBEIRO, B. K. A.; PASSOS, R. A. O estado da arte sobre a atividade antimicrobiana e imunomoduladora de probióticos. **Brazilian Journal of Food Research**, Campo Mourão, v. 8, n. 3, p. 141-155, jul./set. 2017.

KEYS, A.; ANDERSON, J. T.; GRANDE, F. Resposta sérica do colesterol a mudanças na dieta: IV. Ácidos graxos saturados específicos na dieta. **Metabolismo-Clinico e Experimental**, 14. ed., p. 776-787, 1965.

KIM, D. H. et al. Comparison of traditional and backslopping methods for kefir fermentation based on physicochemical and microbiological characteristics. **LWT - Food Science and Technology**, London, v. 97, p. 503-507, Nov. 2018.

KLIPPEL, B. F. et al. Effects of kefir on the cardiac autonomic tones and baroreflex sensitivity in spontaneously hypertensive rats. **Frontiers in physiology**, Lausanne, v. 7, p. 1-12, June 2016.

KUMALASARI, I. D. et al. Evaluation of immunostimulatory effect of the arrowroot (*Maranta arundinacea*. L) in vitro and in vivo. **Cytotechnology**, Dordrecht, v. 64, n. 2, p. 131–137, Mar. 2012.

KWAK, N.; JUKES, D. J. Functional foods. Part 1: the development of a regulatory concept. **Food Control**, Guildford, v. 12, n. 2, p. 99-107, Mar. 2001a.

KWAK, N.; JUKES, D. J. Functional foods. Part 2: the impact on current regulatory terminology. **Food Control**, Guildford, v. 12, n. 2, p. 109-117, Mar. 2001b.

LEITE, A. M. O. et al. Microbiological and chemical characteristics of Brazilian kefir during fermentation and storage processes. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 96, n. 7, p. 4149-4159, Apr. 2013.

LESTARI, L. A.; HURIYATI, E.; MARSONO, Y. The development of low glycemic index cookie bars from foxtail millet (*Setaria italica*), arrowroot (*Maranta arundinacea*) flour, and kidney beans (*Phaseolus vulgaris*). **Journal of Food Science and Technology**, Amritsar, v. 54, n. 6, p. 1406-1413, May 2017.

LIM, T. K. **Edible medicinal and non-medicinal plants**. Modified Stems, Roots, Bulbs. v. 12. London: Springer. 2016, 701p.

LIMA, U. A. Aguardentes. In: AQUARONE, E.; BORZANI, W.; SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A. (Eds.). **Biotecnologia na Produção de Alimentos**. São Paulo: Ed. Edgard Blücher LTDA, 2001. p. 145-182.

LIUT KEVICIUS, A.; SARKINAS, A. Studies on the growth conditions and composition of kefir grains – as a food and forage biomass. **Dairy Science Abstracts**, Wallingford, v. 66, p. 903, Apr. 2004.

MACAGNAN, F. T.; DA SILVA, L. P.; HECKTHEUER, L. H. Dietary fibre: The scientific search for an ideal definition and methodology of analysis, and its physiological importance as a carrier of bioactive compounds. **Food Research International**, Washington, v. 85, p. 144-154, July 2016.

MACHADO, A. R. et al. Produção de fermentado acético pelo método submerso. **Global Science And Technology**, Rio Verde, v. 12, n. 1, p. 1-13, jan/abr. 2019.

- MAGALHÃES, K. T. et al. Brazilian kefir: structure microbial communities and chemical composition. **Brazilian Journal of Microbiology**, São Paulo, v. 42, n. 2, p. 693-702, Apr. 2010.
- MAJAMAA, H.; ISOLAURI, E. Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, Canadá, v. 99, n. 2, p. 179-185, Feb. 1997.
- MIGUEL, M. G. C. P. et al. Diversity of bacteria present in milk kefir grains using culture-dependent and culture-independent methods. **Food Research International**, Washington, v. 43, n. 5, p. 1523-1528, June 2010.
- MIMS, C. et al. **Microbiologia Médica**, 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005.
- MIRA, G. S.; GRAF, H.; CÂNDIDO, L. M. B. Visão retrospectiva em fibras alimentares com ênfase em beta-glucanas no tratamento do diabetes. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, São Paulo, v. 45, n. 1, p. 11-20, jan./mar. 2009.
- MONTEIRO, D. A.; PERESSIN, V. A. Cultura da araruta. In: CEREDA, M. P. (Ed.). **Agricultura: tuberosas amiláceas latino-americanas**. São Paulo: Fundação Cargill, 2002. p. 440-447.
- MORAES, F. P.; COLLA, L. M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia**, Goiânia, v. 3, n. 2, p. 109-122, out. 2006.
- NASPOLINI A. M. **Probióticos e prebióticos e sua relação com câncer colorretal**. 2012. 35 p. Monografia (Especialista em Nutrição Clínica)-Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, 2012.
- NEVES, L. C. M. **Obtenção da enzima glicose 6-fosfato desidrogenase utilizando 'Saccharomyces cerevisiae' W303-181**. 2003. 260 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Fermentações)-Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.
- NEVES, M. C. P.; COELHO, I. S.; ALMEIDA, D. L. Araruta: Resgate de um cultivo tradicional. **Comunicado Técnico 79**. Seropédica- RJ: EMBRAPA, p. 4, 2005.
- NOGUEIRA, J. C. R.; GONÇALVES, M. C. R. Probióticos-Revisão da Literatura. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, João Pessoa, v. 15, n. 4, p. 487-492, dez. 2011.
- NOVAK, F. R. et al. Colostro humano: fonte natural de probióticos? **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre, v. 77, n. 4, p. 265-270, jul./ago. 2001.
- ODEKU, O. A. Potentials of tropical starches as pharmaceutical excipients: A review. **Starch/Stärke**, Weinheim, v. 65, n. 1-2, p. 89-106, Jan. 2013.
- OLIVEIRA, L. **Probióticos, prebióticos e simbióticos: definição, benefícios e aplicabilidade indústria**. Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais/CETEC. 2014. Disponível em: < <http://www.respostatecnica.org.br>>. Acesso em: 14 set. 2018.

- OLIVEIRA, M. N.; PENNA, A. L. B. Prebióticos. In: Oliveira, M. N. (Org.). **Tecnologia de Produtos Lácteos Funcionais**. São Paulo: Artheneu, 2009. p. 235-250.
- OTLES, S.; CAGINDI, O. Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects. **Pakistan Journal of Nutrition**, Deira, v. 2, n. 2, p. 54-59, Jan. 2003.
- PINTADO, M. E. et al. Microbiological and rheological studies on Portuguese kefir grains. **International Journal of Food science and Technology**, Washington, v. 31, p. 15-26, Jan. 1996.
- PLESSAS, S. et al. Immobilization of kefir and *Lactobacillus casei* on brewery spent grains for use in sourdough wheat bread making. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 105, n. 1, p. 187-194, Dec. 2007.
- PUNCHA-ARNON, S.; UTTAPAP, D. Rice starch vs. rice flour: Differences in their properties when modified by heat–moisture treatment. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 91, n. 1, p. 85-91, Jan. 2013.
- RANADHEERA, R. D. C. S.; BAINES, S. K.; ADAMS, M. C. Importância dos alimentos na eficácia probiótica. **Food Research International**, Washington, v. 43, n. 1, p. 1-7, jan. 2010.
- ROBERFROID, M. Defining prebiotic and probiotic. In: CORTHER, G. (Ed.). **Prébiotiques et Probiotiques**. Des concepts aux produits. Paris: IFN, 2004. p. 4-13.
- RODRIGUES, L. B. O. **Estudos reológicos e de textura dos géis de amido de araruta (*Maranta arundinaceae* L.) e dos géis adicionados de sacarose e concentrado protéico de soro**. 2014. 69 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Alimentos)- Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Bahia, 2014.
- ROSA, D. D. et al. Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits. **Nutrition Research Reviews**, United Kingdom, v. 30, n. 1, p. 82-96, Feb. 2017.
- ROSSI, D. M. et al. Triagem preliminar da presença de inulina em plantas alimentícias. **Brazilian Journal of Food & Nutrition/Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 22, n. 2, p. 247-250, abr./jun. 2011.
- SAAD, S. M. I. Probióticos e prebióticos: o estado da arte. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n.1, p. 1-16, mar. 2006.
- SANIEZ, M. H. Enjeux économiques em nutrition humaine et animale. In: CORTHER, G. (Ed.). **Prébiotiques et Probiotiques**. Des concepts aux produits. Paris: IFN, 2004. p. 8-17.
- SANTANNA, A. F. et al. Chronic administration of the soluble, nonbacterial fraction of kefir attenuates lipid deposition in LDLr^{-/-} mice. **Nutrition**, United States, v. 35, p. 100-105, nov. 2017.

SANTOS, A. C. A. L. **Uso de Probióticos na recuperação da flora intestinal**. 2010. 39 p. Monografia (Especialização em Terapia Nutricional)-Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

SANTOS, A. et al. The antimicrobial properties of different strains of *Lactobacillus* spp. Isolated from kefir. [Systematic and Applied Microbiology](#), Washington, v. 26, n. 3, p. 434-437, Apr. 2003.

SANTOS, R. O. **Efeito da adição de farinha de araruta (*Maranta arundinacea* L.), nas propriedades físico-químicas, reológicas e funcionais de sobremesa láctea sabor baunilha**. 2017. 75 p. Dissertação (Mestrado em Ciências)-Instituto de Tecnologia, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

SARKAR, S. Potencial of kefir as a dietetic beverage – a review. **British Food Journal**, England, v. 109, n. 4, p. 280-290, Apr. 2007.

SENE, L. et al. Effects of environmental conditions on xylose reductase and xilitol dehydrogenase production by *Candida quilliermondi*. **Applied Biochemistry and Biotechnolog**, Totowa, v. 84, p. 371-380, Mar. 2000.

SHINTU, P. V.; RADHAKRISHNAN, V. V.; MOHANAN, K. V. Pharmacognostic Standardisation of *Maranta Arundinacea* L. – An importante ethnomedicine. **Jounal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, New Delhi, v. 4, n. 3, p. 242-246, Oct. 2015.

SILVA, J. F. **Caracterização microbiológica e pós-acidificação de leites fermentados comercializados em Barra do Garças-MT**. 2019. 35 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Engenharia de Alimentos)-Universidade Federal de Mato Grosso, Mato Grosso, 2019.

SOUSA, G. S. **Estudo da fermentação alcoólica em um biorreator de leito fixo em sistema contínuo com células de *Saccharomyces cerevisiae* imobilizadas em alginato cálcio revestido com quitosana**. 2016. 142 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2016.

STEFE, C. A.; ALVES, M. A. R.; RIBEIRO, R. L. Probióticos, prebióticos e simbióticos – Artigo de revisão. **Saúde & Ambiente em Revista**, Duque de Caxias, v. 3, n. 1, p. 16-33, out. 2008.

SYROKOU, M. K. et al. Sugary Kefir: Microbial Identification and Biotechnological Properties. **Beverages**, Switzerland, v. 5, n. 4, p. 61, Oct. 2019.

SZAJEWSKA, H. et al. Probiotics in gastrointestinal diseases in children: hard and not-so-hard evidence of efficacy. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Geneva, v. 42, n. 5, p. 454-75, May 2006.

TAIPINA, M. S.; FONTS, M. A. S.; COHEN, V. H. Alimentos funcionais – nutracêuticos. **Higiene Alimentar**, São Paulo, v. 16, n. 100, p 28-29, set. 2002.

TESHIMA, E. Aspectos terapêuticos de probióticos, prebióticos e simbióticos. In: FERREIRA, C. L. L. F. (Ed.). **Prebióticos e probióticos - Atualização e prospecção**. Viçosa: Ed. Rubio, 2003.

WAHJUNINGSIH, S. B.; SUSANTI, S. Chemical, physical, and sensory characteristics of analog rice developed from the mocaf, arrowroot, and red bean flour. **International Symposium on Food and Agro-biodiversity**, v. 102, p. 1-11, 2018.

WESCHENFELDER, S. et al. Caracterização físico-química e sensorial de kefir tradicional e derivados. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 63, n. 2, p. 473-480, 2011.

WESTSTRATE, J.; VAN POPPEL, G.; VERSCHUREN, P. Alimentos funcionais, tendências e futuro. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, n. 88, p. S233-235, 2002.

WHITAKER, J. R. Enzymes in analytical chemistry. In: FOX, P. F. (Ed.). **Food Enzymology**. London: Elsevier Applied Science, 1991. p. 219-269.

WITTHUHN, R. C. et al. Impact of preservation and different packaging conditions on the microbial community and activity of kefir grains. **Food Microbiology**, Washington, v. 22, n. 4, p. 337-344, Aug. 2004a.

WITTHUHN, R. C.; SCHOEMAN, T.; BRITZ, T. J. Characterisation of the microbial population at different stages of kefir production and kefir grain mass cultivation. **International Dairy Journal**, Cambridge, v. 15, n. 4, p. 383-389, Dec. 2004b.

YEUNG, A. W. K.; MOCAN, A.; ATANASOV, A. G. Let food be thy medicine and medicine be thy food: A bibliometric analysis of the most cited papers focusing on nutraceuticals and functional foods. **Food chemistry**, Amsterdam, v. 269, p. 455-465, June 2018.

YOSHIDA, F.; YAMANE, T.; NAKAMOTO, K. I. Fed-batch hydrocarbon fermentation or with colloidal emulsion feed. **Biotechnology and Bioengineering**, Hoboken, v. 15, n. 2, p. 257-270, Mar. 1973.

YÜKSEKDAG, Z. N.; BEYATLI, Y.; ASLIM, B. Determination of some characteristics coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefir with natural probiotic. **Wiss University – Technology, Lebensm**, v. 37, n. 6, p. 663-667, Nov. 2004.

ZENE, K. L. et al. Prebiotics and probiotics action in subjects with colorectal cancer: Integrative review. **Revista Uningá Review**, Maringá, v. 29, n. 3, mar. 2018.

CAPÍTULO 2 - ARTIGO

Development of arrowroot flour fermented by kefir grains

Artigo redigido conforme a norma do periódico Food and Bioproducts Processing
“Versão Preliminar”

ABSTRACT

The present study aims to evaluate the fermented effect of kefir grains in the substrate of arrowroot, assess the physicochemical and nutritional characteristics added to conventional arrowroot flour. Arrowroot fermented flour was produced at room temperature (~25–28°C). Fermentation was conducted in batch (approximately 6 kg of substrate added of 10% of kefir grains, with homogenization every 3 hours). Samples were evaluated every 12 hours for both fermentation processes (24 and 48 hours). The flours were evaluated for physicochemical, nutritional, and microbiological quality, using a randomized design. The fermentation process positively modified the physicochemical, nutritional, and microbial characteristics of the flours. An increase in antioxidant activity (IC_{50} 15.36±0.14 and 13.84±0.15 for AKF1 and AKF2, respectively), protein percentage (AKF1 – 4.87±0.33 and AKF2 – 6.00±0.07) and organic acid (lactic, acetic and propionic acids) production were observed, as well as modification in color (browning), the conformation of starch structures and carbohydrate reduction. These results suggested that the “arrowroot kefir flours” open a new perspective for introduction in the market as a new product that can be used as food in nature or food ingredient for making bread, biscuits, pasta, and others, showing microbiological safety and functions properties.

Keywords: *Maranta arundinacea* L; fermentation; organic acids; phenolics compounds.

1 INTRODUCTION

Functional food is essentially a marketing term with different definitions and regulations, depending on the country (Bucalossi et al., 2020). Fermentation is an ancient method of food production and preservation in which microbial growth is used to transform significant and minor food components (Ni and Raikos, 2019). The use of beneficial microorganisms in health promotion is not new, especially as their consumption by humans is in the form of fermented milk (Ranadheera et al., 2010). Among the most various fermented dairy products, kefir fermented milk (produced by the action of kefir grains) has been the focus of many studies in terms of its functional physiological claims (Vimercati et al., 2020). The health-promoting potential of fermented foods is attributed to the biological activity of the microorganisms used in the production of these foods and the metabolites (bioactive compounds) generated during the fermentation process such as vitamins, organic acids, and peptides (Derrien and van Hylckama Vlieg, 2015). Thus, fermented foods might provide health benefits to consumers, which go well beyond those of essential nutrition (Ni and Raikos, 2019).

Kefir grains, fermented both in water and in milk, are formed through a symbiotic relationship of bacteria (lactic and acetic) and yeasts bound within a matrix of polysaccharides (Bourrie et al., 2016). Although the composition of kefir grains with water or milk varies, it primarily contains lactic acid bacteria and *Bifidobacterium* spp. (Marsh et al., 2014). Currently, several research studies have been conducted with kefir-type products using non-dairy raw materials such as cocoa pulp juice (Puerari et al., 2012), Mediterranean fruit juices (Randazzo et al., 2016), soya milk (Abdolmaleki et al., 2015), apple juice (Sabokbar et al., 2015), and walnut milk (Cui et al., 2013). Kefir was used to optimize the formulation of fermented soybean products through the use of oat and wheat fibers (Baú et al., 2013). However, there is still little research related to the use of kefir to ferment roots, cereals, and tubers.

The arrowroot (*Maranta arundinaceaea* L.) is a perennial herbaceous plant belonging to the Marantaceae family. It is grown in the West Indies, Australia, Southeast Asia, and East and South Africa (Charles et al., 2016) as well as in Latin America, including Central Brazil (Nogueira et al., 2018; Wu and Liao, 2017). It is commonly used as an ingredient in the production of bread and biscuits. Arrowroot flour has desirable characteristics for use in the food industry: high fiber content, high glazing capacity, and significant amounts of resistant starch (Fideles et al., 2019). Besides, arrowroot flour is gluten-free, which is beneficial, given the growing demand for these types of products (Alonso-Gómez et al., 2020). Hence, this product can be a substitute for gluten-free matrices with a low glycemic index (Thiranusornkij

et al., 2019). These properties lead to increased interest in arrowroot flour among consumers who suffer from chronic diseases (Shobana et al., 2018) or desire gluten-free food (Kharat et al., 2019).

The fermentation of raw materials by microbial action is essential for the production of metabolites with functional properties. It is exploited for the development of new fermented foods to improve their nutritional value. The biosynthetic and metabolic versatility of microbial strains found in kefir grains promotes the production and increase of beneficial metabolic compounds in the product (Juarez del Valle et al., 2014). Therefore, the application of kefir grains in the fermentation of different food matrices, such as arrowroot, can be considered a food quality approach to yield products with improved nutritional value. Possible changes caused by the fermentation of kefir in the fermentation substrate of arrowroot might influence the physicochemical and nutritional characteristics of the flour produced.

The microbiota present in the kefir grains used in this study was identified by Magalhães et al. (2010). The authors reported the presence of *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus parabuchneri*, *Lactobacillus kefiri*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Leuconostoc citreum*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, *Lactobacillus buchneri*, *Acetobacter lovaniensis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis*, *Lachancea meyersii*, and *Kazachstania aerobia*. This study aims to evaluate the effect of kefir grain fermentation on the arrowroot substrate by evaluating possible physicochemical and nutritional characteristics added to conventional arrowroot flour.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Production control arrowroot flour

Arrowroot rhizomes were sanitized (200 mg.100g⁻¹ sodium hypochlorite solution), peeled manually, cut into transversal slices (5 cm thick), and placed in sodium metabisulfite solution (0.2g.100g⁻¹). Subsequently, they were crushed in an industrial blender and dried in an oven with air circulation (Tecnal, TE-394/1-MP) at 55°C for 36 hours, ground, sieved and packed in low-density polyethylene (LDPE) bags, and stored at 4°C for microbiological and physical-chemical analyses. Thus, control flour (CF) was produced.

2.2 The fermentation process of arrowroot flours

The fermentative substrate was prepared, as previously described (item 2.1). After the first crushing process, 20% sterile distilled water (pH 6) was added. The substrate produced underwent batch fermentation using a stainless-steel bioreactor containing 6 kg of the substrate and the addition of 10% kefir grains (inoculum). Two fermentation processes were carried out and evaluated every 12 hours. Temperature, total titratable acidity, and pH value were assayed with homogenization every 3 hours of fermentation.

The fermented arrowroot substrate was filtered, followed by drying in an oven with air circulation at 55°C for 36 hours. Subsequently, the fermented and dried arrowroot substrates were crushed in an industrial blender to produce the flours. Finally, the fermented flour was packed in low-density polyethylene bags for further analysis. Arrowroot kefir flour (AKF1 – 24 hours of fermentation) and arrowroot kefir flour (AKF2 – 48 hours of fermentation) were produced.

2.3 Physicochemical and technological characterization of arrowroot flours

2.3.1 Yield and particle size

The CF, AKF1 and AKF2 yield was the ratio between the initial weight of the rhizome and the final product. Particle size was determined using a sieve vibrator (Bertel, 4819, Caieiras, Brazil) according to the methodology proposed by the Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2012).

2.3.2 Determination of sugars and organic acids

HPLC quantified sugars (glucose and fructose) and organic acids. A Perkin Elmer Series 200 chromatograph equipped with an autosampler and Perkin Elmer Polypore CA column (220 x 4.6 mm x 10 µm) with a flow rate of 0.2 ml min⁻¹ and a sample volume of 10 µL was used for sugars, and a flow rate of 0.8 ml min⁻¹ and a sample volume of 20 µL for organic acids (Pellegrini et al., 2018).

2.3.3 Total phenolics compounds and antioxidant activity

The Folin-Ciocalteu reagent determined the total phenolic content. The reaction mixture was prepared with 0.1mL of phenolic extract, 2.5mL of 10% Folin-Ciocalteu aqueous

solution, and 2.0mL of 7.5% sodium carbonate. The mixture was stored for 2 hours, and then the Shimadzu UV-Vis Spectrophotometer model 1650 PC was read at 760nm. For the quantification of total phenolic, a standard curve with gallic acid solutions (GAE) ($R^2=0.9901$) was used, and the results were expressed in mg GAE/100g.

The antioxidant activity of the extracts was determined by the DPPH test based on the methodology described by Maciel et al. (2011) with minor modifications. Briefly, 100 μ l was added to 3.9 mL de DPPH (0.004%) and stored in the dark for 2 hours at room temperature. The free radicals scavenging capacity was evaluated by measuring absorbance at 517 nm. The antioxidant values were calculated and expressed as a percentage of inhibition and IC_{50} . The analyses were performed in triplicate.

2.3.4 Determination of ascorbic acid, instrumental parameters of color, water activity, titratable total acidity, hydrogen ion potential, water absorption index, and water solubility index

The detection of the presence of ascorbic acid, hydrogen ion potential (pH), and total titratable acidity were performed according to the methodology proposed by the AOAC (2012). The color parameters were determined in a colorimeter (Konica Minolta CR 5, Tokyo – Japan): luminosity (L^*) and chromaticity coordinate a^* , b^* , C^* , and hue angles (H°). The water activity used a digital electronic hygrometer (Aqua-Lab Lite, 3TE model, Decagon Devices, Sao Jose dos Campos, SP, Brazil) at a constant temperature of 25 °C. Water absorption index (WAI) and water solubility index (WSI) were determined according to the methodology proposed by Fideles et al. (2019). The WAI value was calculated by the ratio between the weight of the precipitate (WP) and the weight of the sample (WS) on a dry basis (Equation 1). The result was expressed in g of precipitate per g of dry matter. The WSI was calculated by the ratio between the dry residue (MDR) and the WS on a dry basis (Equation 2). The result was expressed as a percentage.

$$WAI = \frac{WP}{WS} \text{ (Equation 1)}$$

$$WSI = \left\{ \left[\frac{MRD}{WS} \right] 3 \right\} 100 \text{ (Equation 2)}$$

2.3.5 Amylose content determination by absorption spectroscopy

The amylose content was determined, in triplicate, using the iodine binding reaction by spectrophotometry. Two analytical curves were constructed using amylose and amylopectin from potato (Sigma-Aldrich; $r^2 = 0.9998$) and from cassava (obtained the starch separation method; $r^2 = 0.9999$). The potato, banana, corn, and cassava starches were prepared and carried to the Shimadzu spectrophotometer UV-Vis model 1650 PC, in quartz cuvettes (1 cm). The absorbance values were obtained at 630 nm following the ISO 6647-1/2 procedure (Lemos et al., 2018).

2.3.6 High-performance size-exclusion chromatography coupled to differential refractive index (HPSEC-DRI)

The method proposed by Charles et al. (2005) HPSEC was used for the analysis of CF and fermented flour (FFK1 and FFK2) samples with some adaptations. The 10 mg samples were dispersed in 10 mL of DMSO. The suspension was stirred and heated to boiling in a water bath for one h and then stirred for 24 h at about 25 °C. After stirring, the solution was heated again, filtered through a nylon membrane (0.22 µm), and 100 µL was injected into the liquid chromatography. The HPSEC-DRI system consisted of Perkin Elmer Series 200 with GPC columns Shodex SB-OH 803, 804, 805, 806 connected in series at 55 °C. Ten dextran's standards (American Polymer Standards with the following molecular weights: $1,02 \times 10^5$; $2,07 \times 10^5$; $4,31 \times 10^5$; $6,55 \times 10^5$; $7,9 \times 10^5$; $1,36 \times 10^6$; $2,02 \times 10^6$; $2,80 \times 10^6$; $3, \times 10^6$; $5,9 \times 10^6$ (Da)) were prepared in the same way as the starch fractions and injected to HPSEC-DRI. The analytical curve was successfully obtained, and the logarithm of the standards' molecular weight and the average retention time of each triplicate ($SD < 0.05$) were highly correlated by a linear fit ($r^2 = 0.9904$).

2.3.7 Proximal composition

The proximal composition was performed according to the methodologies proposed by the AOAC (2012). The results were expressed in $\text{g} \cdot 100\text{g}^{-1}$. The total energy value of the flours was obtained through the equation $\text{TEV} = (\text{carbohydrates} \times 4) + (\text{proteins} \times 4) + (\text{lipids} \times 9)$ and expressed in $\text{kcal} \cdot \text{g}^{-1}$. All analyses were performed in triplicate.

2.4 Microbiological quality

Bacillus cereus, *Salmonella* sp., and Coliforms were used to determine the stability of the product in terms of microbiological quality. Analyses were performed according to the RDC n°12, of 02 January of 2001, from 60 days of manufacture (ANVISA, 2001). The microbiota present after the fermentation process was analyzed using the PCR-DGGE (Magalhães et al. , 2010).

Approximately 1.5g of each sample was subjected to DNA extraction using a NucleoSpin Tissue kit (Macherey–Nagel, Düren, Germany), according to the manufacturer's instructions. The extracted DNA was stored at -20°C. Genomic DNA was used as a template for PCR amplification of bacterial and yeasts ribosomal target regions for denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) analyses. Two primer sets were used for the analysis of each microbial community. Table 1 presents information about the primers and conditions of PCR and PCR-DGGE. All PCRs were performed in mix (50 µl) containing: 0.625 U Taq DNA polymerase (Invitrogen, Barcelona, Spain), 2.5 µl buffer 10, 0.1 mM dNTP, 0.2 IM of each primer, 1.5 mM MgCl₂ and 1 µl of extracted DNA. Aliquots (2 µl) of the amplification products were analyzed by electrophoresis on 1% agarose gels and ethidium bromide staining. The size of the products was estimated using a 100-bp DNA ladder (MBI Fermentas, Vilnius, Lithuania).

The PCR products were analyzed by PCR-DGGE using a Bio-Rad DCode Universal Mutation Detection System (Bio-Rad, Richmond, CA, USA). Samples were applied to 8% (w/v) polyacrylamide gels in 0.5 TAE. The optimal separation was achieved with a 30–55% urea-formamide denaturing gradient for bacteria community and 12–60% for the yeast community (100% correspondent to 7 M urea and 40% [v/v] formamide). Gels were run according to the conditions displayed in Table 1. PCR-DGGE gels were stained with AgNO₃ as described by Magalhães et al. (2010) and scanned in an Epson Perfection V750 PRO (Epson, USA).

2.5 Statistical analysis

The experiment was carried out in a randomized design with two treatments (24h- and 48h-fermented arrowroot flour by kefir grains (10%)) and control (arrowroot flour without fermentation) with three repetitions. The analysis of variance (ANOVA) of the results obtained was performed with the SISVAR software, version 5.6, and application of the Tukey test using a 95% significance level.

3 RESULTS

3.1 Yield, particle size, and fermentation process

The three arrowroot flours (CF, AKF1, and AKF2) presented a yield of 34.09%, 37.94%, and 36.71%, respectively. The CF, AKF1, and AKF2, retained 84.59, 84.28, and 84.15% in the 32-mesh sieve.

Flour fermented for 48 hours (AKF2) was produced and evaluated at 0, 12, 24, 36, and 48 hours (Figure 1). The pH value showed a significant reduction in the fermentation times analyzed, ranging from 6.52 to 5.47 and from 6.51 to 5.05 for AKF1 and AKF2, respectively (Figure 1). In the fermentation process for the production of AKF1, the acidity content showed a significant increase in times of 0 and 24 hours varying from 0.61 to 1.13 meqNaOH throughout the process (Figure 1a). There was a substantial increase in the times of 0, 24, and 48 hours of fermentation for the production of AKF2 with a variation of 0.62 to 1.54 meqNaOH throughout the process (Figure 1b). In both the fermentation processes, the temperature did not show a significant difference over the analyzed times (Figure 1).

3.2 Physicochemical analysis

CF showed 9 and 21 mg.g⁻¹ glucose and fructose content, respectively (Figure 2). The presence of monosaccharides facilitated the microbial activity during fermentation. A reduction in sugar levels was observed in AKF1 flour, which showed 5 and 14 mg.g⁻¹ glucose and fructose content, respectively. It was not possible to quantify the monosaccharide levels in the AKF2 meal. The presence of lactic acid and acetic acid was observed in the fermented flours, reaching values of 0.051 and 0.065 g/g and AKF1 and 0.038 and 0.076 g/g in AKF2, respectively (Figure 2).

Malic acid was observed in CF with its concentration constant in AKF1 and AKF2 flours (Figure 2). This finding indicated that malic acid is a compound naturally present in flour derived from the rhizome. The presence of propionic acid in AKF1 and AKF2, 0.074g/g, and 0.07g/g, respectively, were also verified. (Figure 2). Neither pyruvic nor butyric acid was identified.

The total content of phenolic compounds in the three arrowroot flours (CF, AKF1, and AKF2) has been described as the index of total phenolic compounds and presented in Table 2. The activity of the different arrowroot meal extracts (CF, AKF1, and AKF2) in free radical

capture was expressed as a percentage of maximum radical inhibition and in the final extract concentration necessary for the oxidation of the DPPH radical at 50% – IC₅₀ (Table 2). The antioxidant activity of the extracts can be attributed to their ability to capture free radicals through the donation of hydrogen because these extracts present a reasonable content of phenolics compounds.

Fermented meal samples (AKF1 and AKF2) showed significantly higher phenolic compound content (246 ± 0.18 and 256.02 ± 0.12 mgGAE.100g⁻¹ for AKF1 and AKF2, respectively) and antioxidant capacity (IC₅₀ 15.36 ± 0.14 and 13.84 ± 0.15 for AKF1 and AKF2, respectively). The control (CF) presented 226.19 ± 0.15 mgGAE.100g⁻¹ and IC₅₀ 18.9 ± 0.13 , indicating the flour to be a natural source of phenolic compounds. The vitamin C (ascorbic acid) levels found in the flours analyzed (CF, AKF1, and AKF2) were low and did not show significant variation among them ($p < 0.05$) (Table 2).

The brightness (L^*) is a color parameter that can range from zero (black) to 100 (white), while the chromaticity coordinate a^* varies from green (-) to red (+) and b^* to yellow (+). The chroma (C^*) measures the intensity or brightness of the color, the higher the chroma, the more the colors are alive, and the angle hue (H°) refers to the tone of the color. According to this parameter, red is in the area close to 0° and yellow at 90° , green at 180° , and blue at 270° . The CF sample was stained closer to white with L^* of 65.16 ± 0.16 . The AKF1 and AKF2 samples were darker colored with L^* of 62.33 ± 0.31 and 52.73 ± 0.23 , respectively. AKF1 e AKF2 presented higher values of the chromaticity coordinate a^* than CF; therefore, they had more reddish tones. All flours showed positive values of b^* with the tendency toward yellowish coloration. The C^* values of all the flours were relatively low, characterizing flours with low brightness or low color intensity while those of H° varied between 73.82 ± 0.28 a $69.79\pm 0.11^\circ$ and were thus close to yellow (Table 3).

The 48-hour fermentation process (AKF2) resulted in a significant reduction in the WAI (5.1 ± 0.02 gel.100g⁻¹), while the 24-hour fermentation (AKF1) had no significant influence on this parameter (5.26 ± 0.04 gel.100g⁻¹). Regarding the WSI parameter, a significant increase was found among all analyzed flours (12.24 ± 0.09 , 15.71 ± 0.31 , and 22.03 ± 0.23 g.100g⁻¹ for CF, AKF1, and AKF2, respectively).

There was a significant reduction of amylose between CF and AKF1 (36.67 and 28.5%, respectively) (Figure 3). The amylose content was below the detection limit of the method used for the sample AKF2. The amylopectin and amylose have molecular sizes of 10^8 and 10^5 Da, respectively. Molecules that have sizes between these two bands (10^7 and 10^6) are called chains of intermediate sizes (Lemos et al., 2019). CF presented molecules ranging from 10^8 to 10^5 ,

indicating the presence of amylopectin, amylose, and chains of intermediate sizes. However, in fermented flours (AKF1 and AKF2), only chains with intermediate molecular sizes of 10^6 and 10^7 Da were found.

Therefore, it was found that fermentation by kefir grains promoted changes in the physicochemical and nutritional composition of fermented arrowroot flour (AKF1 and AKF2) compared to the CF. In general, there was no significant change in the levels of ash, fibers, energy value, lipids, and moisture. Still, there was a substantial increase in protein levels in addition to a reduction in carbohydrate levels compared to the values obtained for CF (Table 4). The results showed that fermentation time (24 and 48 hours) promoted a significant increase in the protein percentage (AKF1 – 4.87 ± 0.33 in 24 hours and AKF2 – 6.00 ± 0.07 in 48 hours).

3.3 Composition and microbiological quality

Microbiological quality of flours (AKF1 and AKF2) were analyzed. It is necessary to check the microbial quality of food since vegetable contamination by pathogens can occur through the water used to irrigate gardens or soil contamination by the use of contaminated organic fertilizer. The current Brazilian legislation establishes limits for Coliforms at 45°C, *Salmonella* sp. and *Bacillus cereus*, for flours. According to this regulation (ANVISA, 2001), flour, in general, can have up to 10^2 CFU/g of Coliforms at 45°C, 3×10^3 CFU/g of *Bacillus cereus*, and absence of *Salmonella* in 25g of product. According to the reference values, the flours analyzed (CF, AKF1, and AKF2) comply with the legislation and do not present microbiological risks to potential consumers (Table 5).

To verify the microbial composition of fermented flours (AKF1 and AKF2), a comparative analysis of the PCR-DGGE band profile of the kefir grains (previously identified at the species level by Magalhães et al. (2010)) with the PCR-DGGE band profile of the flours (AKF1 and AKF2) was performed. Both flours (AKF1 and AKF2) presented the same microbiological profile as the kefir grains used in this study and as previously identified by Magalhães et al. (2010) (Figure 4). The prokaryotic genera were *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, and *Acetobacter*. The eukaryote genera were *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Kazachstania*, and *Lachancea*, according to Magalhães et al. (2010), confirming the microbial stability of kefir grains.

4 DISCUSSION

Flours AKF1 and AKF2 presented similar microbiological profiles as the kefir grains used in the fermentation process (Figure 4). This microbiota produced microbial metabolites that added nutritional value to the flours produced in addition to maintaining the microbiological safety of the flour through the fermentation process by kefir grains.

Differences reported for the yield (34.09%, 37.94%, and 36.71%, for CF, AKF1, and AKF2, respectively) can be explained due to differences between edaphoclimatic, plant age, cultural management, and flour processing methods (Teixeira et al., 2016). From the granulometric analysis, there was a homogeneous distribution of all analyzed flours. The particles should be uniform in size and density because this parameter can significantly affect the water absorption, texture, and uniformity of the final product.

Organic acids can naturally occur in flours (from the rhizome) because of the hydrolysis of the molecules present in the substrate through biochemical metabolic processes or microbial metabolism (Fideles et al., 2019). The quantitative determination of organic acids is essential to monitor the activity and microbial growth of the inoculum (kefir grains) in addition to contributing to the nutritional aspects of the food because it imparts flavor and aroma to fermented foods. The determination of organic acids in the arrowroot flour produced was of high importance: the microorganisms present in the kefir grains were able to develop in the arrowroot substrate. The species of the genera *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, and *Acetobacter* present in kefir grains used as inoculum in the fermentation process of this study were responsible for the production of the organic acids found: lactic, acetic, and propionic acids. This production caused a decrease in pH with a consequent increase in acidity (Magalhães et al., 2010; Puerari et al., 2012; Randazzo et al., 2016). All the flours analyzed presented malic acid levels (150, 151, and 151 mg.g⁻¹ for CF, AKF1, and AKF2, respectively), indicating that it is a compost naturally present in arrowroot rhizomes.

The presence of lactic and acetic acid can provide a pleasant taste, in addition to inhibiting the development of undesirable or pathogenic microorganisms due to the increased acidity of the substrate (Puerari et al., 2012; Magalhães et al., 2011). Propionic acid is effective against filamentous fungi and is widely used in the bakery industry for product preservation and does not affect the development of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* used in the preparation of bakery products (Simova et al., 2002) also present in the kefir grains used. De Gonzalez Llano (1996) found propionic acid when evaluating the activity of *Lactococcus* spp. and *Leuconostoc* spp. cultures in milk fermentation and attributed the increase in propionic acid

concentrations to nonspecific esterase activities by *Lactococcus* strains. Therefore, the production of propionic acid in fermented flours (AKF1 and AKF2) can be attributed to the presence of the species *Lactococcus lactis* and *Leuconostoc citreum*.

The reduction in the lactic acid content observed between AKF1, and AKF2 meals can be explained by the presence of *Saccharomyces cerevisiae* present in the kefir grains. This yeast has energetic fermentative metabolism and ethanol production. It promotes strong aroma, spicy flavor, and the reduction of lactic acid and hydrogen peroxide levels (Simova et al., 2002). Its metabolic activity leads to the production of compounds that stimulate the growth of other lactic bacteria and cooperation with critical technological consequences such as the better formation of organoleptic characteristics and nutritional compounds (Puerari et al., 2012; Randazzo et al., 2016).

The technological quality of arrowroot flour is the most crucial parameter for the raw material industries and the potential and current consumers of this product. In addition to color, water activity, pH, total titratable acidity, water absorption and solubility (hydration potential), phenolic compounds, antioxidant activity, and vitamins can be included in these parameters (Thiranusornkij et al., 2019). The process of fermentation and production of organic acids (lactic, acetic, and propionic acids) modified the technological properties of the flours evaluated (CF, AKF1, and AKF2).

The method of Folin-Ciocalteu was adopted to quantify phenolics compounds. It consists of the reduction of the reagent for the compounds composed with the formation of a blue compound for the mixture of the phosphowolyframic ($H_3PW_{12}O_{40}$) and phosphomolybdic ($H_3PMo_{12}O_{40}$) acids that are reduced when rusting the phenolics compounds in half basic, originating blue oxides of wolframio (W_8O_{23}) and molybdenum (Mo_8O_{23}) (Acosta-Estrada et al., 2014). The IC_{50} demonstrated this potential in a measure ($mg \cdot mL^{-1}$) of bioactive compounds, which could scavenge 50 percent of free radicals. The antioxidant substances present in the extracts react with DPPH that is a stable radical and turns into 2,2-difenil-1-picril hydrazine. The discoloration degree indicates the antioxidant activity of the extract (Maciel et al., 2011). An extract that presents a high capacity for capturing free radicals possesses a low value of IC_{50} . Therefore, a small amount of extract is capable of reducing the initial concentration of the radical DPPH by 50 percent.

Our results showed an increase in phenolic compounds due to the fermentation process, increasing the nutritional value of arrowroot flour (246 ± 0.18 e 256.02 ± 0.12 mgGAE.100g⁻¹ for AKF1 and AKF2, respectively). Phenolic compounds in natural products might be present

primarily as soluble and insoluble conjugated forms that are covalently bound to sugars or structural components of the cell wall (Acosta-Estrada et al., 2014). Microbial metabolism of kefir grains and hydrolysis of the bonds between phenolic compounds and structural carbohydrates increase the phenolic compounds (Bei et al., 2018). The effect of fermentation on the nutritional properties of wheat flour was a significant increase in the levels of total phenolic compounds, justifying that fermentation can improve the nutritional characteristics of foods (Gabriele et al., 2019).

The colorimetric analysis of arrowroot flour is an essential parameter for its marketing and use as an ingredient in several products. It can be influenced by variations in root processing or pH change, causing the darkening of the flour (Olukomaiya et al., 2020). The presence of natural enzymes (rhizome) and microbes promotes enzymatic browning. The fermentation process made it possible to increase the total phenolic compound content (246 ± 0.18 and 256.02 ± 0.12 mgGAE.100g⁻¹ for AKF1 and AKF2, respectively), which might also be responsible for the darkening of the fermented flours concerning parameters L* and a*. It is worth mentioning that the percentage of maximum inhibition of phenolic compounds did not increase due to the oxidation of these compounds, causing the browning of fermented flours (Bei et al., 2018). The coloring of the ingredients used for the development of food products is significant because they can confer desirable or undesirable characteristics (Thiranusornkij et al., 2019). The coloring of fermented arrowroot flour (L* 62.33 ± 0.31 and 52.73 ± 0.23 , for AKF1 and AKF2, respectively) has its differential as it has darker coloring and desirable nutritional characteristics that can positively influence consumer choice, mainly organic acids, and higher antioxidant activity.

The values found for the water activity of the analyzed flours were low, ranging from 0.372 to 0.435. Water activity (above 0.6) indicates the amount of free water that is available for microbial development (Olukomaiya et al., 2020). Low water activity reduces microbial growth, preventing the occurrence of biochemical reactions that depend on higher water activity, increasing the conservation of flours. The pH values of CF, AKF1, and AKF2 flours obtained, combined with the low water activity, resulted in the adequate parameters for the storage of the product as well as possible use in formulations of food products in a safe way in microbiological terms (Vimercati et al., 2020).

The WAI is a relevant property for flour applications in products such as bread and cakes, as high values help maintain the moisture of these products (Thiranusornkij et al., 2019). The WAI is related to the availability of hydrophilic groups that bind to water molecules. Therefore, lower values are consequences of a reduction in the gelatinization capacity

(Olukomaiya et al., 2020). The WSI is a parameter that allows measuring starch degradation since the increase in this index shows an increase in the number of water-soluble fragmented molecules. The hydration properties of flours are essential because they determine their characteristics and the food products in which they can be used (Fideles et al., 2019).

Amylose levels, identification of molecular sizes, and a proximal composition performed indicated variation in fermented flours (AKF1 and AKF2). We could conclude that the microbial metabolism of kefir grains and organic acid production could modify the conformation of starch structures, showing a trend toward a reduction in amylose levels. The decrease in the amylose content can be considered positive since lower amylose levels are the most suitable for use in food products (Roman et al., 2020). Besides, the carbohydrate reduction and protein increase were significant in both fermented flours. This fact is justified by the fermentation of the kefir grains and their crushed biomass along with the flour (Simova et al., 2002). Longer fermentation time allows higher sugar consumption, higher biomass production (kefir grains), and higher proteins and metabolites (Ramos et al., 2020).

The production of fermented flours is considered a significant prospect for the development of new foods in the future, containing substances with functional and nutritional properties (Zieliński et al., 2019). According to our results, the arrowroot flours fermented by kefir grains present characteristics of functional and nutritional properties with great potential for inclusion in the market.

5 CONCLUSION

The fermentation process carried out in this study allowed the development and implementation of arrowroot flour fermented by kefir, enabling the development of new products to expand the range of products on the market with added nutritional value. The kefir grains were able to develop in the arrowroot substrate, to reduce the concentration of carbohydrates, producing organic acids, and promoting an increase in phenolic compounds. The antioxidant capacity of arrowroot kefir flours was also found to be high, thereby indicating an increase in their nutritional value. Despite the darkening observed in the fermented flour, they have their differential due to their desirable nutritional characteristics that might positively influence the choice of consumers, mainly organic acids and higher antioxidant activity.

The technology of the use of kefir grains as inoculum in the fermentation process offered the possibility of eliminating the use of centrifugal separators, thereby reducing manufacturing costs. This fact is justified by the processing of the kefir flour of arrowroot using the biomass

of kefir (grains) next to the fermented substrate in the drying and grinding process. This study was the first to report the production of arrowroot flour fermented by kefir grains, and future research will be carried out for the functional properties of the “arrowroot kefir flour” produced (AKF1 and AKF2) with *in vitro* and *in vivo* tests.

Acknowledgments

The authors thank CNPq (National Council for Scientific and Technological Development, Brazil) (grant number 133131/2018-1), CAPES and FAPEMIG for the financial support; the Microbiology Sector, Food Science Department (Federal University of Lavras (UFLA)), Brazil, and Pharmacy Faculty of Federal University of Bahia (UFBA), Brazil, for support on the analysis; and the producers of Barbacena, Rio Pomba and Lavras regions, Brazil, for providing the arrowroot rhizomes.

REFERENCES

- Abdolmaleki, F., Mazaheri Assadi, M., Akbarirad, H., 2015. Assessment of beverages made from milk, soya milk and whey using Iranian kefir starter culture. *Int. J. Dairy Technol.* 68, 441–447. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12197>
- Acosta-Estrada, B.A., Gutiérrez-Urbe, J.A., Serna-Saldívar, S.O., 2014. Bound phenolics in foods, a review. *Food Chem.* 152, 46–55. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.11.093>
- Alonso-Gómez, L.A., Solarte-Toro, J.C., Bello-Pérez, L.A., Cardona-Alzate, C.A., 2020. Performance evaluation and economic analysis of the bioethanol and flour production using rejected unripe plantain fruits (*Musa paradisiaca* L.) as raw material. *Food Bioprod. Process.* 121, 29–42. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2020.01.005>
- ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2001. RDC nº12, 02 January of 2001.
- AOAC Official Methods of Analysis (18th ed.), AOAC International, Gaithersburg, USA (2012)
- Baú, T.R., Garcia, S., Ida, E.I., 2013. Optimization of a fermented soy product formulation with a kefir culture and fiber using a simplex-centroid mixture design. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 64, 929–935. <https://doi.org/10.3109/09637486.2013.816935>
- Bei, Q., Chen, G., Lu, F., Wu, S., Wu, Z., 2018. Enzymatic action mechanism of phenolic mobilization in oats (*Avena sativa* L.) during solid-state fermentation with *Monascus anka*.

- Food Chem. 245, 297–304. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.086>
- Bourrie, B.C.T., Willing, B.P., Cotter, P.D., 2016. The microbiota and health promoting characteristics of the fermented beverage kefir. *Front. Microbiol.* 7, 1–17. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00647>
- Bucalossi, G., Fia, G., Dinnella, C., De Toffoli, A., Canuti, V., Zanoni, B., Servili, M., Pagliarini, E., Gallina Toschi, T., Monteleone, E., 2020. Functional and sensory properties of phenolic compounds from unripe grapes in vegetable food prototypes. *Food Chem.* 315, 126291. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126291>
- Charles, A.L., Cato, K., Huang, T.C., Chang, Y.H., Ciou, J.Y., Chang, J.S., Lin, H.H., 2016. Functional properties of arrowroot starch in cassava and sweet potato composite starches. *Food Hydrocoll.* 53, 187–191. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.01.024>
- Charles, A.L., Chang, Y.H., Ko, W.C., Sriroth, K., Huang, T.C., 2005. Influence of amylopectin structure and amylose content on the gelling properties of five cultivars of cassava starches. *J. Agric. Food Chem.* 53, 2717–2725. <https://doi.org/10.1021/jf048376+>
- Cui, X.H., Chen, S.J., Wang, Y., Han, J.R., 2013. Fermentation conditions of walnut milk beverage inoculated with kefir grains. *LWT - Food Sci. Technol.* 50, 349–352. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.043>
- De Gonzalez Llano, D., 1996. Effect of lactic starter cultures on the organic acid composition of milk and cheese during ripening-analysis by HPLC. *J. Appl. Bacteriol.* 80, 570–576. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1996.tb03259.x>
- Derrien, M., van Hylckama Vlieg, J.E.T., 2015. Fate, activity, and impact of ingested bacteria within the human gut microbiota. *Trends Microbiol.* 23, 354–366. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.03.002>
- Fideles, M.C., Bento, J.A.C., Ferreira, K.C., De Oliveira, A.L.M., Caliari, M., Soares, M.S., 2019. Physicochemical and technological characteristics of arrowroot flour modified by ultrasound and low-temperature heat treatment. *Cienc. Rural* 49. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20181037>
- Gabriele, M., Sparvoli, F., Bollini, R., Lubrano, V., Longo, V., Pucci, L., 2019. The Impact of Sourdough Fermentation on Non-Nutritive Compounds and Antioxidant Activities of Flours from Different *Phaseolus Vulgaris* L. Genotypes. *J. Food Sci.* 84, 1929–1936. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14672>
- Haruta, S., Ueno, S., Egawa, I., Hashiguchi, K., Fujii, A., Nagano, M., Ishii, M., Igarashi, Y., 2006. Succession of bacterial and fungal communities during a traditional pot fermentation of rice vinegar assessed by PCR-mediated denaturing gradient gel electrophoresis. *Int. J.*

- Food Microbiol. 109, 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.01.015>
- Juarez del Valle, M., Laiño, J.E., Savoy de Giori, G., LeBlanc, J.G., 2014. Riboflavin producing lactic acid bacteria as a biotechnological strategy to obtain bio-enriched soymilk. *Food Res. Int.* 62, 1015–1019. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.029>
- Kharat, S., Medina-Meza, I.G., Kowalski, R.J., Hosamani, A., Ramachandra, C.T., Hiregoudar, S., Ganjyal, G.M., 2019. Extrusion processing characteristics of whole grain flours of select major millets (foxtail, finger, and pearl). *Food Bioprod. Process.* 114, 60–71. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.07.002>
- Lemos, P.V.F., Barbosa, L.S., Ramos, I.G., Coelho, R.E., Druzian, J.I., 2019. Characterization of amylose and amylopectin fractions separated from potato, banana, corn, and cassava starches. *Int. J. Biol. Macromol.* 132, 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.03.086>
- Lemos, P.V.F., Barbosa, L.S., Ramos, I.G., Coelho, R.E., Druzian, J.I., 2018. The important role of crystallinity and amylose ratio in thermal stability of starches. *J. Therm. Anal. Calorim.* 131, 2555–2567. <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6834-y>
- Maciel, L.F., da Oliveira, C.S., da Bispo, E.S., da Miranda, M.P.S., 2011. Antioxidant activity, total phenolic compounds and flavonoids of mangoes coming from biodynamic, organic and conventional cultivations in three maturation stages. *Br. Food J.* 113, 1103–1113. <https://doi.org/10.1108/00070701111180319>
- Magalhães, K.T., de Melo Pereira, G.V., Campos, C.R., Dragone, G., Schwan, R.F., 2011. Brazilian kefir: Structure, microbial communities and chemical composition. *Brazilian J. Microbiol.* 42, 693–702. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822011000200034>
- Magalhães, K.T., de Pereira, G.V.M., Dias, D.R., Schwan, R.F., 2010. Microbial communities and chemical changes during fermentation of sugary Brazilian kefir. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 26, 1241–1250. <https://doi.org/10.1007/s11274-009-0294-x>
- Marsh, A.J., Hill, C., Ross, R.P., Cotter, P.D., 2014. Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives. *Trends Food Sci. Technol.* 38, 113–124. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.05.002>
- Ni, H., Raikos, V., 2019. Lactic-acid bacteria fermentation-induced effects on microstructure and interfacial properties of oil-in-water emulsions stabilized by goat-milk proteins. *Lwt* 109, 70–76. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.04.002>
- Nogueira, G.F., Fakhouri, F.M., de Oliveira, R.A., 2018. Extraction and characterization of arrowroot (*Maranta arundinaceae* L.) starch and its application in edible films. *Carbohydr. Polym.* 186, 64–72. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.01.024>

- Olukomaiya, O.O., Adiamo, O.Q., Fernando, W.C., Mereddy, R., Li, X., Sultanbawa, Y., 2020. Effect of solid-state fermentation on proximate composition, anti-nutritional factor, microbiological and functional properties of lupin flour. *Food Chem.* 315, 126238. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126238>
- Puerari, C., Magalhães, K.T., Schwan, R.F., 2012. New cocoa pulp-based kefir beverages: Microbiological, chemical composition and sensory analysis. *Food Res. Int.* 48, 634–640. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.06.005>
- Ramos, S., Salazar, M., Nascimento, L., Carazzolle, M., Pereira, G., Delforno, T., Nascimento, M., de Aleluia, T., Celeghini, R., Efraim, P., 2020. Influence of pulp on the microbial diversity during cupuassu fermentation. *Int. J. Food Microbiol.* 318, 108465. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2019.108465>
- Ranadheera, R.D.C.S., Baines, S.K., Adams, M.C., 2010. Importance of food in probiotic efficacy. *Food Res. Int.* 43, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.009>
- Randazzo, W., Corona, O., Guarcello, R., Francesca, N., Germanà, M.A., Erten, H., Moschetti, G., Settanni, L., 2016. Development of new non-dairy beverages from Mediterranean fruit juices fermented with water kefir microorganisms. *Food Microbiol.* 54, 40–51. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.10.018>
- Pellegrini, M., Lucas-Gonzales, R., Ricci, A., Fontecha, J., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J.A., Viuda-Martos, M., 2018. Chemical, fatty acid, polyphenolic profile, techno-functional and antioxidant properties of flours obtained from quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds. *Ind. Crops Prod.* 111, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.006>
- Sabokbar, N., Moosavi-Nasab, M., Khodaiyan, F., 2015. Preparation and characterization of an apple juice and whey based novel beverage fermented using kefir grains. *Food Sci. Biotechnol.* 24, 2095–2104. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0278-6>
- Sandhu, K.S., Singh, N., Malhi, N.S., 2005. Physicochemical and thermal properties of starches separated from corn produced from crosses of two germ pools. *Food Chem.* 89, 541–548. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.03.007>
- Shobana, S., Selvi, R.P., Kavitha, V., Gayathri, N., Geetha, G., Gayathri, R., Vijayalakshmi, P., Balasubramaniam, K.K.G., Ruchi, V., Sudha, V., Anjana, R.M., Unnikrishnan, R., Malleshi, N.G., Henry, C.J.K., Krishnaswamy, K., Mohan, V., 2018. Development and evaluation of nutritional, sensory and glycemic properties of finger millet (*Eleusine coracana* L.) based food products. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 27, 84–91. <https://doi.org/10.6133/apjcn.032017.18>

- Simova, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, T., Frengova, G., Spasov, Z., 2002. Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 28, 1–6. <https://doi.org/10.1038/sj/jim/7000186>
- Teixeira, N.D.C., Queiroz, V.A.V., Rocha, M.C., Amorim, A.C.P., Soares, T.O., Monteiro, M.A.M., De Menezes, C.B., Schaffert, R.E., Garcia, M.A.V.T., Junqueira, R.G., 2016. Resistant starch content among several sorghum (*Sorghum bicolor*) genotypes and the effect of heat treatment on resistant starch retention in two genotypes. *Food Chem.* 197, 291–296. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.099>
- Thiranusornkij, L., Thamnarathip, P., Chandrachai, A., Kuakpetoon, D., Adisakwattana, S., 2019. Comparative studies on physicochemical properties, starch hydrolysis, predicted glycemic index of Hom Mali rice and Riceberry rice flour and their applications in bread. *Food Chem.* 283, 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.048>
- Vimercati, W.C., da Silva Araújo, C., Macedo, L.L., Fonseca, H.C., Guimarães, J.S., de Abreu, L.R., Pinto, S.M., 2020. Physicochemical, rheological, microbiological and sensory properties of newly developed coffee flavored kefir. *LWT - Food Sci. Technol* 123, 109069. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109069>
- Wu, C.S., Liao, H.T., 2017. Interface design and reinforced features of arrowroot (*Maranta arundinacea*) starch/polyester-based membranes: Preparation, antioxidant activity, and cytocompatibility. *Mater. Sci. Eng. C* 70, 54–61. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.08.067>
- Zieliński, H., Honke, J., Bączek, N., Majkowska, A., Wronkowska, M., 2019. Bioaccessibility of D-chiro-inositol from water biscuits formulated from buckwheat flours fermented by lactic acid bacteria and fungi. *Lwt* 106, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.02.065>

1 TABLES

2

3 **Table 1. PCR-DGGE primers used to detect yeasts and bacteria in kefir grains and fermented arrowroot flours (AKF1 and**
4 **AKF2) (Magalhães et al., 2010)**

5

Primers	Sequence (5' – 3')	Community	Target	Conditions (PCR)	Conditions (DGGE)
518r	ATT ACC GCG GCT GCT GG				
NS3fGC	GCA AGT CTG GTG CCA GCA GCC GC clamp connected to the 50 end of NS3gc	Yeasts	18S region of the rDNA	Condition 2	16 h at 85 V (60°C)
ITS2r	GCT GCG TTC TTC ATC GAT GC				
338fGC	AC TCC TAC GGG AGG CAG CAG GC clamp connected to the 50 end of 338fgc	Bacteria	V3 region of the 16S rRNA gene	Condition 1	8 h at 85 V (60°C)
1401r	CGG TGT GTA CAA GAC CC				
ITS1fGC	TCC GTA GGT GAA CCT GCG G GC clamp connected to the 50 end of ITS1gc	Yeasts	ITS region of the rDNA	Condition 1	16 h at 85 V (60°C)
968fGC	AAC GCG AAG AAC CTT AC GC clamp connected to the 50 end of 968f	Bacteria	V6–V8 region of the 16S rRNA gene	Condition 1	16 h at 85 V (60°C)
YM951r	TTG GCA AAT GCT TTC GC				

- 6 GC clamp – CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GG, f – forward primer; r – reverse primer. Condition 1 – Denatured for 5 min
- 7 at 95 C. 30 cycles: denaturing at 92 C for 60 s, annealing at 55 C for 60 s, and extension at 72 C for 60 s. Final extension for 10 min at 72 C.
- 8 Condition 2 – 35 cycles instead of 30.

Table 2. Determination of phenolic compounds, inhibition percentage, IC₅₀, and ascorbic acid of control and fermented arrowroot flour (CF, AKF1, and AKF2).

Característica	CF	AKF1	AKF2
Phenolics compounds*	226.19±0.15 ^b	246±0.18 ^a	256.02±0.12 ^a
Inhibition (%)	91.53±0.10 ^a	93.99±0.17 ^a	94.94±0.13 ^a
IC₅₀¹	18.9±0.13 ^a	15.36±0.14 ^b	13.84±0.15 ^c
Ascorbic acid²	0.81±0.04 ^a	0.82±0.09 ^a	0.82±0.03 ^a

Averages ± standard deviation, followed by different letters in each line differ from each other by the Tukey test (p<0.05). *mgGAE·100g⁻¹. ¹mg·mL⁻¹ ²mg·100g⁻¹.

Table 3. Determination of water activity (Aw), pH, titratable total acidity, water absorption index, water solubility index, and color-instrumental parameters (L*, a*, b*, C* and H°) of control and fermented arrowroot flours (FC, AKF1, and AKF2).

Parameter	CF	AKF1	AKF2
Water activity (Aw)	0.372±0.02 ^c	0.403±0.05 ^b	0.435±0.03 ^a
Ph	6.51±0.01 ^a	5.59±0.01 ^b	5.03±0.02 ^c
Titrable total acidity¹	0.69±0.02 ^c	1.23±0.02 ^b	1.59±0.03 ^a
WAI²	5.33±0.03 ^a	5.26±0.04 ^{ab}	5.1±0.02 ^b
WSI³	12.24±0.09 ^c	15.71±0.31 ^b	22.03±0.09 ^a
L*	65.16±0.16 ^a	62.33±0.31 ^b	52.73±0.23 ^c
a*	5.24±0.12 ^c	6.21±0.07 ^b	7.55±0.18 ^a
b*	18.08±0.11 ^b	21.05±0.14 ^a	20.99±0.07 ^a
Chroma C*	18.81±0.13 ^b	21.89±0.07 ^b	22.31±0.12 ^a
Hue angle H°	73.82±0.28 ^a	73.45±0.06 ^a	69.79±0.11 ^b

Averages ± standard deviation followed by different letters in each line differ from each other by the Tukey test (p<0.05). ¹meq NaOH.100g⁻¹ ²ggel/100g⁻¹. ³g.100g⁻¹.

Table 4. Proximal composition of control and fermented arrowroot flours (CF, AKF1, and AKF2).

Parameter	CF	AKF1	AKF2
Moisture (%)	6.25±0.64 ^a	6.48±0.18 ^a	6.71±0.2 ^a
Proteins (%)	3.08±0.12 ^c	4.87±0.33 ^b	6.00±0.07 ^a
Lipids (%)	0.84±0.04 ^a	0.80±0.04 ^a	0.75±0.05 ^a
Ash (%)	4.88±0.03 ^a	4.87±0.07 ^a	4.82±0.07 ^a
Carbohydrates ¹ (%)	81.3±0.67 ^a	79.39±0.51 ^b	78.04±0.29 ^c
Crude fiber (%)	3.65±0.05 ^a	3.59±0.03 ^a	3.67±0.05 ^a
Energy value *	345.09±2.38 ^a	344.27±0.55 ^a	342.92±0.76 ^a

Averages ± standard deviation followed by different letters in each line differ from each other by the Tukey test (p<0.05). ¹Calculated by difference [100 – (proteins + lipids + ash)] including the crude fiber fraction. *kcal.g⁻¹.

Table 5. Microbiological safety of control arrowroot flour (CF) and fermented flour (AKF1 and AKF2) after 60 days of manufacture.

Sample	Coliforms at 45°C *	<i>Bacillus cereus</i> *	<i>Salmonella sp</i> *
	(CFU·g ⁻¹)	(CFU·g ⁻¹)	(CFU·g ⁻¹)
RV (ANVISA, 2001)	<10 ²	<3x10 ³	Absence
CF	<10	4.8x10 ³	Absence
AKF1	<10	<10	Absence
AKF2	<10	<10	Absence

(*) Results expressed as averages. RV=Reference Value.

FIGURES

Figure 1. Evolution of acidity (meqNaOH.100g⁻¹), pH value, and temperature (°C) during the fermentation processes for the production of fermented flours AKF1 (a) and AKF2 (b). Bars indicate standard deviation. Axis 1: temperature and acidity. Axis 2: pH. Different lower-case letters are significant (p<0.05) in each parameter.

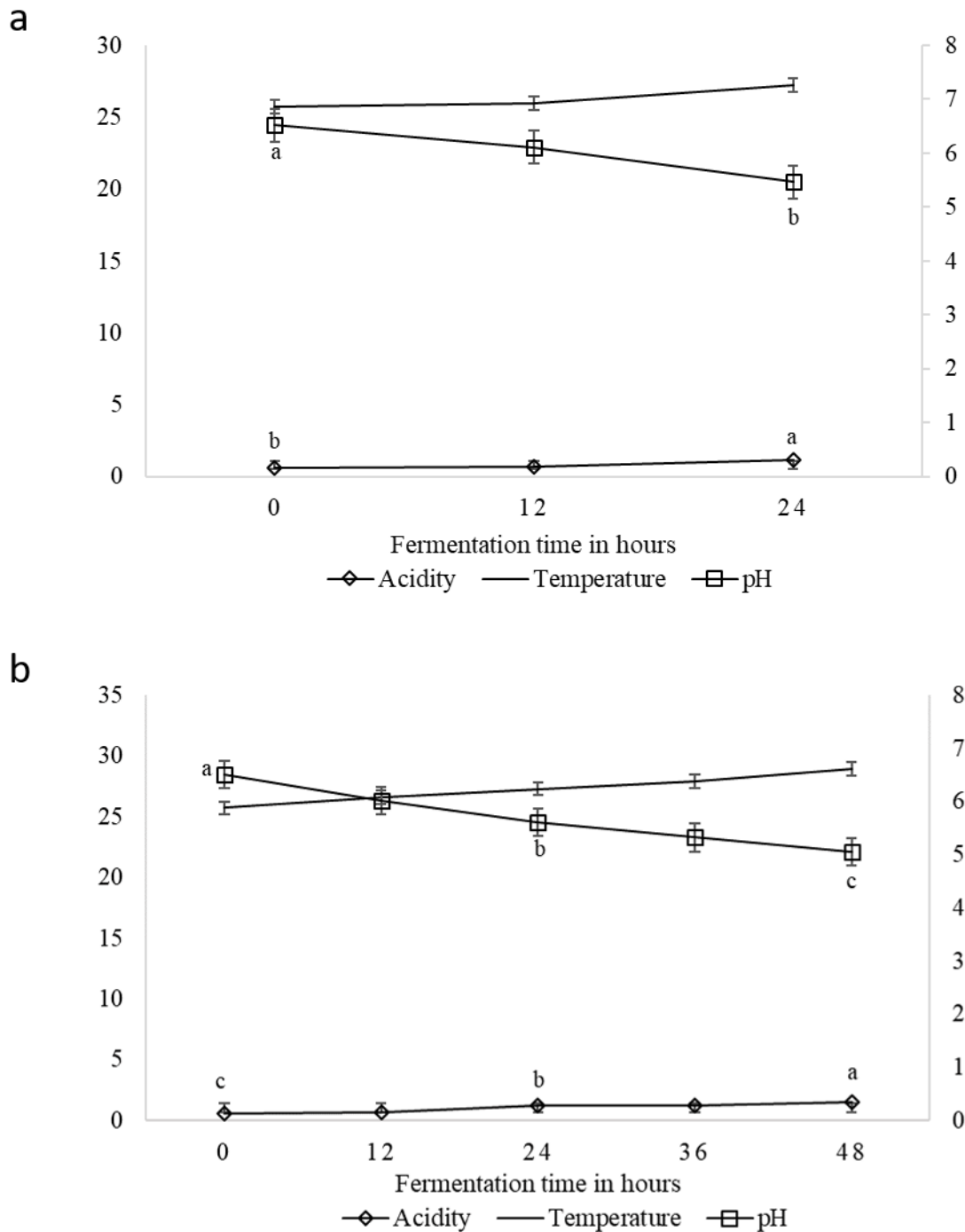


Figure 2. Determination of sugars ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) and organic acids ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) in arrowroot flour FC, AKF1, and AKF2 by HPLC. Bars indicate standard deviation.

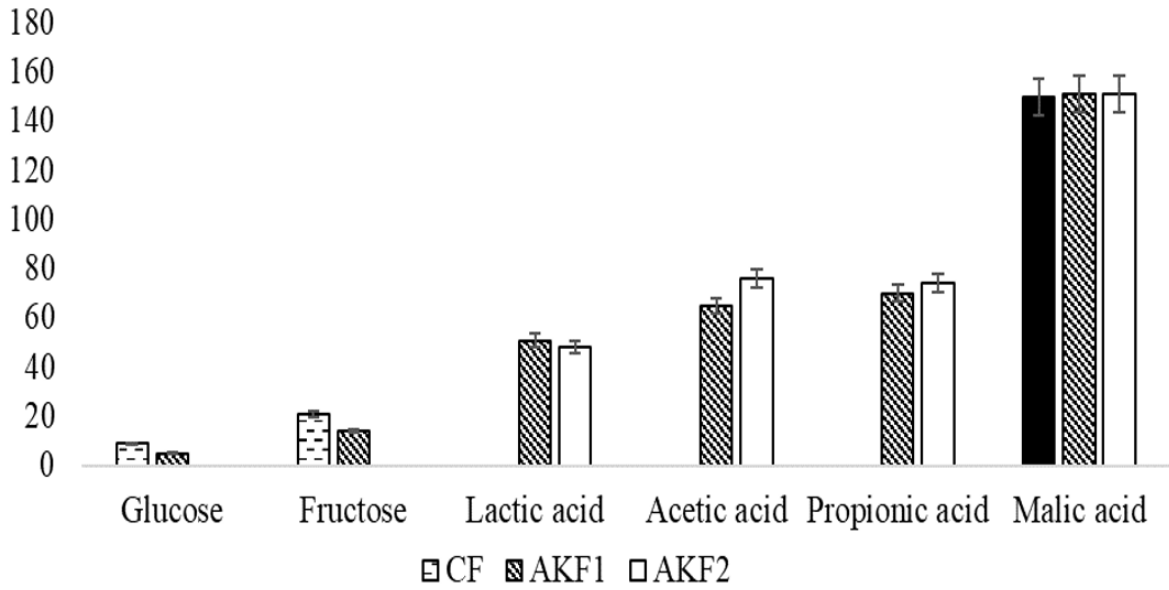


Figure 3. Amylose content (%) in control flour (CF) and fermented (AKF1 and AKF2). Bars indicate standard deviation.

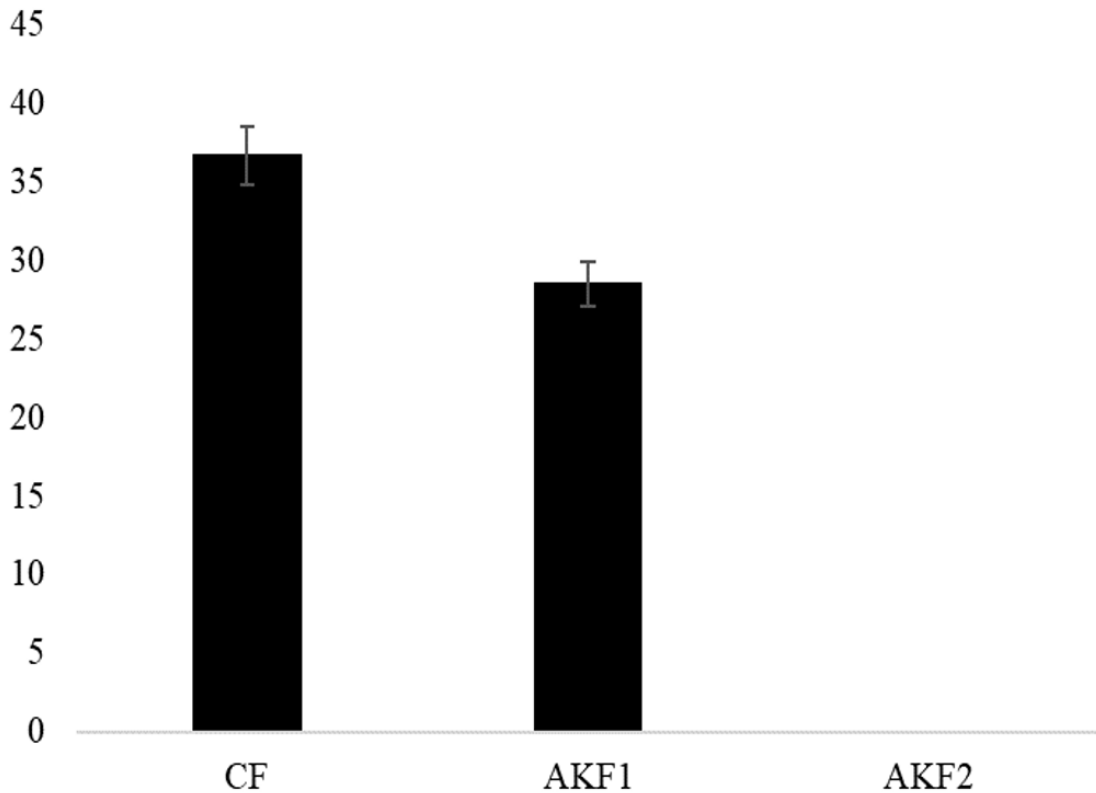


Figure 4. Comparative analysis of the PCR-DGGE band profile of the kefir grains with the PCR-DGGE band profile of the flours (AKF1 and AKF2). KG – Kefir grains; AKF1 – Arrowroot/kefir flour fermented for 24 hours; AKF2 – Arrowroot/kefir flour fermented for 48 hours. Identified prokaryotic groups included Band A: *Lactobacillus paracasei* (Access No. – AB368902.1), Band B: *Lactobacillus kefiri* (Access No. – AB3626680.1), Band C: *Lactobacillus parabuchneri* (Access No. – AB368914.1), Band D: *Lactobacillus casei* (Access No. – EU626005.1), Band E: *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* (Access No. – NR025880.1), Band F: *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* (Access No. – AB181950.1), Band G: *Lactobacillus buchneri* (Access No. – FJ867641.1), Band H: *Lactococcus lactis* (Access No. – EU194346.1), Band I: *Leuconostoc citreum* (Access No. – FJ378896.1), and Band J: *Acetobacter lovaniensis* (Access No. – AB308060.1). Eukaryotic groups were Band K: *Kluyveromyces lactis* (Access No. – AJ229069.1), Band L: *Saccharomyces cerevisiae* (Access No. – EU649673.1), Band M: *Kazachstania aerobia* (Access No. – AY582126.1), and Band N: *Lachancea meyersii* (Access No. – AY645661.1).

