

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

WILLIAN VIEIRA BORGES

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO CONGELAMENTO EM
PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DE PROTEÍNAS**

CAMPO MOURÃO

2023

WILLIAN VIEIRA BORGES

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO CONGELAMENTO EM
PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DE PROTEÍNAS**

Evaluation of the influence of freezing on technological properties of proteins

Qualificação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Henrique Março.

Coorientador: Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo.

CAMPO MOURÃO

2023



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

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



**Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Campus Medianeira**



WILLIAN VIEIRA BORGES

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DO CONGELAMENTO EM PROPRIEDADES TECNOLÓGICAS DE
PROTEÍNAS**

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

Data de aprovação: 18 de Dezembro de 2023

Paulo Henrique Marco, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Dr. Fernando Schimidt, Doutorado - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás (Ifg)

Flavia Aparecida Reitz Cardoso, - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 18/12/2023.

Dedico este trabalho à minha família, pelos
momentos de ausência, com muito amor!

AGRADECIMENTOS

Certamente estes parágrafos não irão atender a todas as pessoas que fizeram parte dessa importante fase de minha vida. Portanto, desde já peço desculpas àquelas que não estão presentes entre estas palavras, mas elas podem estar certas de que fazem parte do meu pensamento e de minha gratidão.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Henrique Março, e ao meu coorientador Prof. Dr. Manuel Salvador Vicente Plata Oviedo pela sabedoria com que me guiaram nesta trajetória.

Aos meus colegas de aula e laboratório.

Aos professores pelo compartilhamento de conhecimento.

À UTFPR (Universidade Tecnológica Federal do Paraná) e ao PPGTA (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos) pela oportunidade, estrutura e todo o conhecimento e aprendizado passado aos discentes.

Gostaria de deixar registrado também o meu reconhecimento à minha família, pois acredito que sem o apoio dela seria muito difícil vencer este desafio.

Enfim, a todos os que por algum motivo contribuíram para a realização desta pesquisa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

RESUMO

De acordo com as demandas para a alimentação sustentável, considerando as perspectivas de aumento populacional, acredita-se que seja conveniente investigar características de alimentos que possam servir como alternativa nutricional e ao mesmo tempo diminuir impactos ambientais relacionados aos alimentos tradicionais. Uma das possibilidades é o estudo de propriedades das proteínas de origem vegetal em substituição e ou complementação de proteínas de origem animal. Portanto, este estudo visa avaliar o efeito do congelamento em propriedades tecnológicas e espectrais, na região do infravermelho próximo, de proteínas de origem vegetal e de origem animal. Foram coletados espectros na região do infravermelho próximo (900 – 1700 nm) e em seguida, utilizaram-se métodos clássicos para análise de propriedades tecnológicas de capacidade de formação de espuma, estabilidade da espuma para 30 minutos de repouso, pH, capacidade de retenção de água, capacidade de retenção de óleo e solubilidade. Foi avaliado o efeito do congelamento em temperatura de aproximadamente -18°C no dia da abertura das embalagens e em períodos de após 7, 14, 21, 30, 45 e 60 dias. Foram avaliadas 6 proteínas de origem vegetal (arroz, ervilha, sementes de abóbora, girassol, e linhaça e soja), e uma de origem animal (whey isolado), todas isentas de substâncias flavorizantes, estabilizantes e emulsificantes. Os resultados das medidas das propriedades tecnológicas e espectrais foram submetidos a Análise de Componentes Principais (PCA) para avaliar as diferenças existentes entre as amostras e o efeito do tempo de congelamento. A PCA indicou comportamento diferente principalmente para a proteína de ervilha, além de diferenciar as proteínas de origem vegetal da proteína tipo whey, principalmente com relação à solubilidade, formação de espuma e capacidade de retenção de óleo. A formação e a estabilidade da espuma foram as propriedades tecnológicas mais afetadas, enquanto pH se manteve estável durante todo o período avaliado. A aplicação da PCA nos dados espectrais indicou que as variações podem estar associadas a conformação das proteínas, uma vez que as regiões mais importantes (com maiores *loadings*) estavam relacionadas com ligações N-H. Além disso, sugere-se uma possibilidade de relação entre as propriedades tecnológicas e a região infravermelha do espectro. Porém, a relação não foi explorada neste estudo. De forma geral, o estudo indica que o congelamento não influencia de forma importante as propriedades tecnológicas das proteínas avaliadas.

Palavras-chave: propriedades tecnológicas; infravermelho; análise de componentes principais.

ABSTRACT

According to the demands for sustainable food considering the perspectives of population growth, it is believed to be convenient to investigate characteristics of foods that can serve as a nutritional alternative while simultaneously reducing environmental impacts related to traditional foods. One possibility is the study of properties of plant-based proteins as a substitute or complement to animal-based proteins. Therefore, this study aims to assess the effect of freezing on technological and spectral properties in the near-infrared region of plant-based and animal-based proteins. Spectra were collected in the near-infrared region (900 – 1700 nm), and classical methods were then used to analyze technological properties such as foam formation capacity, foam stability for 30 minutes of rest, pH, water retention capacity, oil retention capacity, and solubility. The freezing effect was evaluated at a temperature of approximately -18°C on the day of packaging opening and at intervals after 7, 14, 21, 30, 45, and 60 days. Six plant-based proteins (rice, pea, pumpkin seeds, sunflower, flaxseed, and soy) and one animal-based protein (isolated whey), all free of flavoring, stabilizing, and emulsifying substances, were evaluated. The results of technological and spectral measurements were subjected to Principal Component Analysis (PCA) to assess differences between samples and the freezing time effect. PCA indicated different behavior mainly for pea protein, distinguishing plant-based proteins from whey protein, especially regarding solubility, foam formation, and oil retention capacity. Foam formation and stability were the most affected technological properties, while pH remained stable throughout the evaluated period. The application of PCA to spectral data indicated that variations may be associated with the conformation of proteins, as the most important regions (with higher loadings) were related to N-H bonds. Additionally, there is a suggested possibility of a relationship between technological properties and the infrared region of the spectrum. However, this relationship was not explored in this study. Overall, the study indicates that freezing does not significantly influence the technological properties of the evaluated proteins.

Keywords: technological properties; infra-red; principal component analysis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-Desmatamento na Amazônia Legal – Estados	12
Figura 2-Desmatamento acumulado – Estados.....	13
Fotografia 1 - Amostras das proteínas em frascos com tampa.....	25
Quadro 1 - Amostras utilizadas.....	26
Figura 3 - Variância explicada pelas propriedades tecnológicas nos diferentes períodos de congelamento para avaliação das diferenças entre amostras.....	29
Figura 4 - Scores para (A) PC1, (B) PC2 e (C) PC3, e <i>loadings</i> (D) PC1, (E) PC2 e (F) PC3.....	30
Figura 5 - Variância capturada por variável centrando-se os espectros na média	34
Figura 6 - Scores em (A) PC1, (B) PC2 e (C) PC3, e <i>loadings</i> para (D) PC1, (E) PC2 e (E) PC3.....	36
Figura 7 - Variância capturada por variável após EPO e centrando-se os espectros na média.....	37
Figura 8 - Scores espectrais para (A) PC1, (B) PC2 e (C) PC3, e <i>loadings</i> para (D) PC1, (E) PC2 e (E) PC3 após aplicação de EPO.....	39
Gráfico 1 - Capacidade de Formação de Espuma (FE).....	51
Gráfico 2 - Estabilidade de Espuma (EE).....	52
Gráfico 3 - pH.....	53
Gráfico 4 - Solubilidade (SS).....	54
Gráfico 5 - Capacidade de Retenção de Óleo (CRO).....	55
Gráfico 6 - Capacidade de Retenção de Água (CRA).....	56
Gráfico 7 – Espectros na região NIR.....	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INPE	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
PPGTA	Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos
NBR	Normas Brasileiras
UTFPR	Universidade Tecnológica Federal do Paraná

LISTA DE SÍMBOLOS

CRA	Capacidade de retenção de água
CRO	Capacidade de retenção de óleo
EE	Estabilidade da espuma
FE	Capacidade de formação de espuma
g	Gramas
g 100 g ⁻¹	Grama em 100 gramas
min	Minuto
mL	Mililitro
pH	Potencial hidrogeniônico
pHi	pH equivalente ao ponto isoelétrico
NIR	Infravermelho próximo
SS	Solubilidade
T	Temperatura
V	Volume
p	Pressão
rpm	Rotação por minuto
° C	Graus celsius
%	Por cento
±	Mais ou menos

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVOS	15
2.1	Objetivo geral.....	15
2.2	Objetivos específicos.....	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	Proteínas	16
3.2	Efeito do congelamento em proteínas.....	16
3.3	Influência do pH nas propriedades funcionais das proteínas.....	19
3.4	Capacidade de formação de espuma e estabilidade da espuma	20
3.5	Capacidade de retenção de água.....	20
3.6	Capacidade de retenção de óleo.....	21
3.7	Solubilidade	22
3.8	Análise de Componentes Principais (PCA).....	22
3.9	Espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR)	23
4	MATERIAL E MÉTODOS	25
4.1	Amostras	25
4.2	Determinação do pH.....	26
4.3	Determinação da capacidade de formação de espuma (FE) e estabilidade da espuma (EE).....	26
4.4	Capacidade de retenção de água (CRA).....	27
4.5	Capacidade de retenção de óleo (CRO)	27
4.6	Solubilidade	28
4.7	Aquisição dos espectros de infravermelho próximo (NIR).....	28
5	RESULTADOS.....	29
5.1	Propriedades tecnológicas.....	29
5.2	Avaliação espectral na região do infravermelho próximo (NIR).....	34
6	CONCLUSÃO	42
6.1	Próximas etapas	43
	REFERÊNCIAS.....	44
	APÊNDICE A – Gráficos referentes ao efeito do congelamento em cada propriedade tecnológica das amostras de proteínas	50

1 INTRODUÇÃO

As proteínas são fundamentais para a dieta humana, e os aminoácidos que as compõem ajudam na formação de fibras musculares, no sistema imunológico e na manutenção de várias funções vitais. A principal forma de suprir as necessidades humanas de proteína é a partir da ingestão alimentar (GÓRSKA-WARSEWICZ *et al.*, 2018). Como a proteína é um nutriente essencial, a necessidade mundial de proteína é determinada pelo tamanho da população humana. Pela facilidade de acesso, a principal fonte de proteína é daquelas advindas de fontes de origem animal (HENCHION *et al.*, 2017).

Todas as células vivas contêm proteínas, que funcionam como catalisadores de reações químicas nos organismos que incluem enzimas ou hormônios, auxiliam na regeneração de tecidos, ajudam nas reações imunológicas com os ácidos nucleicos e desempenham um papel importante nos fenômenos de crescimento e reprodução. Os aminoácidos, que são conectados por ligações peptídicas, são a principal estrutura das proteínas e suas propriedades são determinadas pelo número e sequenciamento dos aminoácidos (FANI, 2016).

Além de serem altamente digestíveis pelo intestino delgado, as proteínas de origem animal podem atender às necessidades de aminoácidos do corpo humano (BAILEY *et al.*, 2020). Por outro lado, o consumo de proteínas extraídas de plantas deve ser feito de forma a garantir uma variedade suficientemente capaz de fornecer uma quantidade adequada de aminoácidos essenciais (HEVER, 2016).

Considerando que as características sensoriais e funcionais dos alimentos (capacidade de absorção de água e óleo, gelificante, solubilidade, emulsificante, espumante, entre outras) são afetadas pelas proteínas, ressalta-se que suas propriedades podem sofrer alterações dependendo do método de extração, processamento, armazenamento, preparo e consumo destes alimentos (DAMODARAN, 2010).

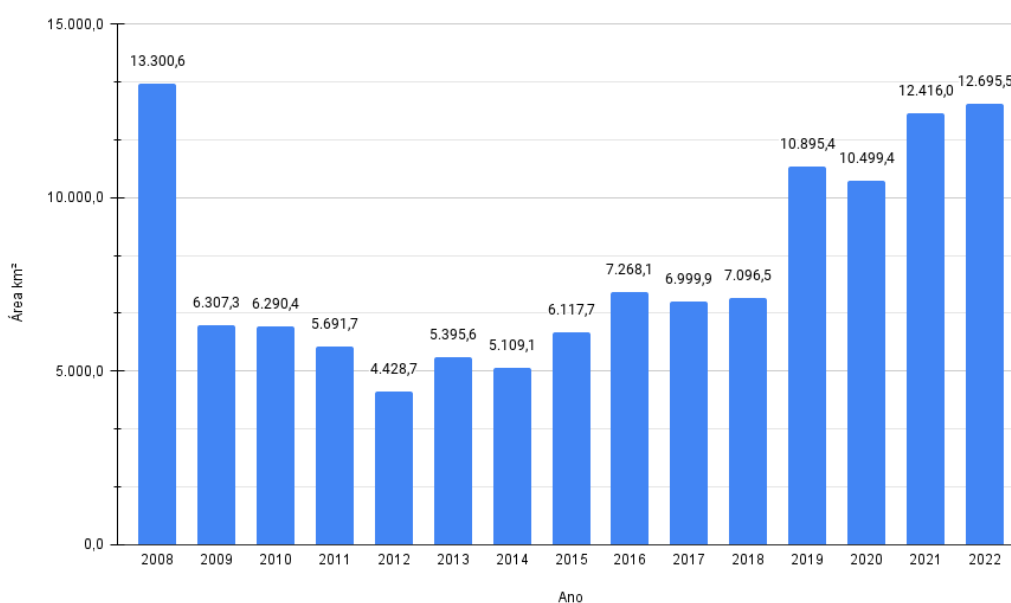
Um exemplo prático de alteração pode ser visto na água que compõe os alimentos, a qual é transformada em cristais de gelo durante o processo de congelamento, impedindo o desenvolvimento de microrganismos e retardando as atividades enzimáticas que degradam proteínas ou gorduras, o que ajuda a prolongar a vida útil (SUN *et al.*, 2019). No entanto, a formação de cristais de gelo tem o potencial

de prejudicar significativamente a integridade das células e fibras musculares, o que pode resultar em uma alteração da qualidade (SHI *et al.*, 2018). Acredita-se geralmente que a taxa de congelamento afeta principalmente o crescimento dos cristais de gelo. Logo, a taxa afeta o tamanho, a forma e a distribuição dos cristais de gelo dentro dos alimentos (LI; ZHU; SUN, 2018).

Atualmente, a principal fonte de proteína animal vem da carne bovina. Porém, a criação de gado vem se tornando motivo de preocupação por estar cada vez mais associada à combinação de motivos de desmatamentos para aumentar a área dedicada à criação destes animais. De acordo com a lógica econômica tradicional, os atores desmatam para obter lucros com a venda de produtos agrícolas e pecuários (FEARNSIDE, 2020).

Dentre as regiões afetadas, tem-se como destaque a região da floresta Amazônica, que é uma das principais florestas do planeta. Os estados que representam a Amazônia Legal abrigam hoje em torno de três vezes mais cabeças de gado (≈ 90 milhões) do que habitantes humanos (29,5 milhões), totalizando 43,5% de toda população bovina do país (234 milhões) (IBGE, 2023). Para exemplificar, a Figura 1 apresenta um gráfico relatando o incremento do desmatamento na área dos estados que incluem a Amazônia Legal, mostrando um decréscimo de 2008 até o ano de 2012, voltando a crescer após 2012.

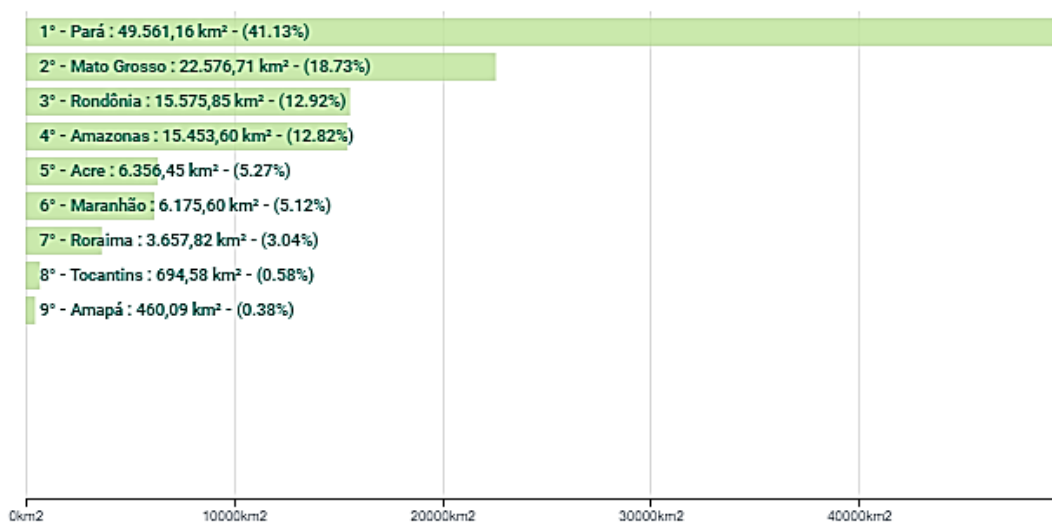
Figura 1-Desmatamento na Amazônia Legal – Estados



Fonte: (INPE, 2023).

Dos estados relacionados, o que demonstra maior área de desmatamento é o estado do Pará, representando 41,13% do total, seguido do Mato Grosso que representa 18,73%, Rondônia com 12,92% e Amazonas com 12,82% do total de desmatamento nos estados da Amazônia Legal como mostrado na Figura 2 (INPE, 2023). Deve-se destacar que as áreas desmatadas durante os anos são somadas, causando durante os anos uma área degradação muito mais expressiva que aquela relatada no ano anterior.

Figura 2-Desmatamento acumulado – Estados



Fonte: (INPE, 2023).

O desmatamento enfrentado na Amazônia legal se deve a atividades como a expansão da pecuária, agricultura de larga escala e a agricultura de corte e queima serem desenvolvidas de forma predatória e desenfreada (LIMA *et al.*, 2020).

Considerando os impactos ambientais atrelados à produção de proteínas de origem animal, uma possibilidade é o consumo de proteínas alternativas, tais como as de origem vegetal, a fim de se oferecer uma opção nutricionalmente viável e ambientalmente amigável para substituir ou diminuir o consumo das proteínas de origem animal. Porém, uma substituição ou complementação proteica depende da aceitação do produto, o qual precisa oferecer propriedades que sejam igualmente aceitas pelos consumidores.

Devido à importância das proteínas nas propriedades tecnológicas dos alimentos é importante avaliar formas de conservação e ou manutenção da qualidade deste alimento. Um dos fatores que pode influenciar a qualidade das proteínas é o

efeito de períodos de congelamento, afetando propriedades tecnológicas. Neste sentido, a comparação entre as possíveis alternativas de proteínas e a estabilidade comparativa dos produtos deve ser avaliada.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito do congelamento em propriedades tecnológicas de proteínas de origem vegetal (semente de abóbora, soja, arroz, ervilha, semente de linhaça e de semente de girassol) e de origem animal (whey isolado).

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos do trabalho são:

- Congelar as amostras por 60 dias e avaliá-las no momento da abertura da embalagem após 7 dias, 14 dias, 21 dias, 30 dias, 45 dias e 60 dias de congelamento.
- Adquirir espectros na região do infravermelho próximo para cada amostragem coletada.
- Medir o pH, capacidade de formação de espuma, estabilidade da espuma para 30 minutos de repouso, capacidade de retenção de água, capacidade de retenção de óleo e a solubilidade de cada uma das amostras em cada período estabelecido.
- Aplicar Análise de Componentes Principais (PCA) para verificar semelhanças e diferenças entre as amostras em relação às variações nas propriedades tecnológicas das amostras em razão do tempo de congelamento.
- Utilizar a Análise de Componentes Principais (PCA) para verificar semelhanças e diferenças entre as amostras em relação às variações espectrais.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Proteínas

Um componente essencial da são as proteínas. As proteínas e os aminoácidos que as compõem ajudam na formação de fibras musculares, no sistema imunológico e na manutenção de várias funções vitais. A ingestão alimentar é a principal forma de suprir as necessidades de proteína dos humanos (GÓRSKA-WARSEWICZ *et al.*, 2018) Como a proteína é um nutriente essencial, a necessidade mundial de proteína é determinada pelo tamanho da população humana. Até agora, a principal fonte de proteína tem sido a proteína de origem animal (HENCHION *et al.*, 2017).

As células contêm proteínas, que funcionam como catalisadores de reações químicas nos organismos vivos, incluem enzimas ou hormônios; auxiliam na regeneração de tecidos; ajudam nas reações imunológicas com os ácidos nucleicos; e desempenham um papel significativo nos fenômenos de crescimento e reprodução. Os aminoácidos, que são conectados por ligações peptídicas, são a principal estrutura das proteínas e suas propriedades são determinadas pelo número e sequenciamento dos aminoácidos (FANI, 2016).

Além de serem altamente digestíveis pelo intestino delgado, as proteínas de origem animal podem atender às necessidades de aminoácidos do corpo humano. Portanto, tanto alimentos de origem animal quanto vegetal podem conter proteínas (BAILEY *et al.*, 2020). Por outro lado, o consumo de proteínas extraídas de plantas deve ser feito de forma a garantir uma variedade suficiente de diferentes vegetais capazes de fornecer uma quantidade adequada de aminoácidos essenciais (HEVER, 2016).

Segundo Li, Zhu e Sun (2018), para alimentos frescos de fontes vegetais e animais, como frutas e vegetais, carnes, frutos do mar etc., utiliza-se muitas técnicas para preservar a qualidade e a segurança, como embalagens, secagem, resfriamento e congelamento etc.

3.2 Efeito do congelamento em proteínas

A textura e a qualidade sensorial dos alimentos congelados são uma das preocupações mais importantes quando se trata de congelamento de alimentos.

Devido ao fato de que a estrutura celular dos alimentos congelados pode sofrer alterações durante o congelamento, sua qualidade pode ser comprometida (ME et al., 2010). Além disto, entender como os componentes da estrutura celular mudam durante o congelamento é fundamental para criar melhores métodos de congelamento e gerenciar os processos, o que resulta em produtos congelados de qualidade superior.

A água dos alimentos celulares (de fontes vivas, como fungos, plantas e animais) é congelada em cristais de gelo. O congelamento lento geralmente forma grandes cristais de gelo nos alimentos congelados. Isto prejudica a microestrutura dos alimentos e pode causar mudanças em cores, sabores, nutrição e textura após o descongelamento; além de que também pode causar amolecimento dos tecidos, aumento na exsudação, redução na capacidade de retenção de água e maciez, escurecimento dos tecidos, entre outros (LI; ZHU; SUN, 2018).

Li, Zhu e Sun (2018) relatam sobre a complexidade dos danos causados pelo congelamento nas estruturas celulares que incluem a despolimerização da parede celular, a ruptura da membrana celular, as mudanças na pressão osmótica e outros aspectos. Devido à composição complexa dos alimentos e às dinâmicas e termodinâmicas associadas ao congelamento, é difícil entender completamente os danos causados aos tecidos ou estruturas celulares de alimentos celulares frescos.

Os alimentos frescos têm maior quantidade de água; sendo mais de 90% na maioria das frutas e vegetais e entre 60 e 80% na carne ou peixe fresco (WILLIAM; SUZANNE, 2021). A distribuição da água está diretamente ligada ao tamanho, forma e localização dos cristais de gelo que serão formados durante o processo de congelamento. Além disto, o dano à estrutura celular causado pela desidratação e o efeito de congelamento podem alterar a composição dos alimentos durante o congelamento, alterando sua textura, cor, sabor e nutrientes.

A água em alimentos derivados de plantas pode ser dividida em três categorias de acordo com os coeficientes de autodifusão da água (D_w) (SANTAGAPITA *et al.*, 2013), nomeadamente água de vacúolo com o maior D_w , seguida pelo citoplasma e água extracelular, e depois água da parede celular. A água do vacúolo é proeminente no centro da célula vegetal, como solvente de alguns compostos de baixo peso. A quantidade de água de vacúolo em alimentos vegetais varia de 50% a 95% em diferentes frutas e vegetais (LI; ZHU; SUN, 2018). Esta água é retida apenas pelo tonoplasto e migra para o citoplasma ou parede celular quando

o tonoplasto é danificado ou o conteúdo de água do ambiente diminui (MUSSE; CAMBERT; MARIETTE, 2010).

A água do vacúolo ajuda a manter a pressão do turgor celular para manter o tecido firme. A água do citoplasma está localizada entre a membrana celular e o tonoplasto e está fracamente ligada às proteínas do citoesqueleto e às enzimas e outros componentes do citoplasma. A função e a forma do citoesqueleto e da membrana celular podem ser afetadas por mudanças na água do citoplasma. Isto pode resultar em uma redução da rigidez celular e uma diminuição de algumas funções celulares, o que leva ao encolhimento celular e alterações nas propriedades mecânicas dos alimentos (RAGOONANAN; LESS; AKSAN, 2013). A água da parede celular é fortemente ligada aos polissacarídeos e ajuda a manter a sua forma intacta, a água extracelular está presente nas lacunas entre as células e é mais suscetível ao congelamento (LI; ZHU; SUN, 2018).

A água nos sistemas celulares é classificada em três categorias: água ligada, água imobilizada e água livre. Esta classificação é baseada no grau de imobilização dos alimentos de origem animal. A água ligada representa entre 1 e 2% do total e se liga firmemente às proteínas, o que é quase impossível de ser removida e não pode ser congelada mesmo abaixo de -40 °C (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005). A água imobilizada chega a 85% e está localizada dentro das miofibrilas, tem interação fraca com moléculas de proteínas e outras macromoléculas (PEARCE *et al.*, 2011) e é sensível à temperatura e pressão. A desnaturação das proteínas miofibrilares e a deformação ou ruptura das células musculares devido ao congelamento convertem a água imobilizada em água livre ou a liberam da célula (HUFF-LONERGAN; LONERGAN, 2005).

A água imobilizada tem influência direta na capacidade de retenção de água (CRA) dos alimentos de origem animal, que está fortemente correlacionada com características de qualidade da carne, como firmeza, cor, exsudação, suculência e maciez. Existe água livre entre as miofibrilas dentro da célula muscular. A principal restrição para a água livre vem principalmente das membranas celulares e dos capilares entre as células. É importante manter a integridade da estrutura celular e reduzir a desnaturação da proteína miofibrilar durante o congelamento, levando à manutenção da água no compartimento imobilizado e minimizando a perda por exsudação (LI; ZHU; SUN, 2018).

3.3 Influência do pH nas propriedades funcionais das proteínas

Estrutura e capacidade de interagir com outros ingredientes alimentícios são a base molecular que são relacionados com funcionalidade das proteínas. As proteínas têm a capacidade de reter água em suas estruturas, formar espumas, géis e se ligar à gordura devido à presença de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos na mesma molécula. Isto confere às proteínas suas excelentes características interfaciais e emulsificantes (LAM; NICKERSON, 2013). Porém, é importante destacar que a disposição destes grupos é bastante variável e depende de vários fatores, incluindo o tipo de proteína ou fatores intrínsecos da molécula (pontes de hidrogênio, forças de Van der Waals, entre outros), bem como fatores ambientais, como o pH do meio e o tratamento térmico, entre outros (DA SILVA, 2019).

A fonte de proteína (animal ou vegetal), tipo de extração e interação com fatores ambientais afetam as propriedades funcionais das proteínas. O pH do meio, a temperatura de tratamento, a força iônica, o teor de umidade, o potencial de oxidação/redução, a tensão de cisalhamento e outros fatores ambientais têm um impacto significativo nas propriedades funcionais das proteínas (DA SILVA, 2019).

O pH do meio é um fator determinante para a solubilidade proteica. O grau de solubilidade da proteína em meio aquoso é o resultado de interações eletrostáticas e hidrofóbicas entre as moléculas de proteínas (DAMODARAN, 2018; ZAYAS, 1997).

As chances de que a molécula de proteína interaja com o solvente é baixa quando houver igualdade do balanço de cargas positivas e negativas (DAMODARAN, 2018; ZAYAS, 1997). probabilidade de ocorrência de interações proteína-meio aumenta com o módulo da carga líquida da molécula de proteína. Como resultado, a solubilidade e a capacidade de interação com outros polímeros melhoram, entre outras vantagens (DAMODARAN, 2018; WANG et al., 2016).

De acordo com (FERREYRA, 2003), o pH afeta as propriedades funcionais de várias maneiras. Algumas proteínas apresentam baixa capacidade de formação de emulsões por serem pouco solúveis em seu ponto isoelétrico. As proteínas formam estruturas compactas no pH equivalente ao ponto isoelétrico (pH_i). Isto pode impedir a adsorção e o desdobramento na interfase. No pH_i , algumas proteínas são excelentes para emulsionar, como a gelatina e as proteínas da clara do ovo; outras proteínas funcionam melhor a um pH distante do pH_i , como as proteínas de amendoim, soja, caseínas, proteínas do soro de leite, albumina de soro bovina e proteínas miofibrilares.

3.4 Capacidade de formação de espuma e estabilidade da espuma

As propriedades de formação de espuma, incluindo capacidade de espuma (FE) e estabilidade de espuma (EE), são funcionalidades importantes utilizadas para fins de aeração e batimento na indústria alimentícia. A formação de espuma depende do filme interfacial formado pelas proteínas e de sua capacidade de manter a bolha de ar na suspensão e diminuir a taxa de coalescência (GHRIBI et al., 2015; MA et al., 2011).

É a capacidade de uma proteína de aumentar o volume de sua dispersão com a incorporação de ar por meio de batimento, agitação ou aeração. É uma propriedade funcional de interfase que depende de vários fatores, incluindo a natureza proteica, a solubilidade e o estado de desnaturação da proteína, bem como a presença de sais e outros aditivos usados no processamento de alimentos. Para evitar o colapso da espuma, as moléculas de proteína devem ter flexibilidade o suficiente para entrar na interface água - ar e estabilizar novas células de ar (FERREYRA, 2003).

Várias capas de proteínas parcialmente desdobradas devem se conectar na interfase por meio de interações hidrofóbicas, que podem ser tanto de hidrogênio quanto eletrostáticas, para formar películas estáveis. Para evitar a perda de líquido, a proteína deve ser fortemente adsorvida na interfase ar/água por meio de interações hidrofóbicas (FERREYRA, 2003)

3.5 Capacidade de retenção de água

A capacidade de retenção de água (CRA) é um termo que descreve a quantidade de água que um material de teste tem a capacidade de se ligar fisicamente e quimicamente. A maciez e a suculência de alimentos com umidade intermediária e alta, como alguns produtos (salsichas, salames etc.), análogos de carne e refeições prontas, podem ser mantidos com um alto CRA (DAY; CAKEBREAD; LOVEDAY, 2022).

A CRA é um atributo crítico na determinação da funcionalidade de retenção de água, inchaço, solubilidade e propriedades de gelificação das proteínas, os quais afetam a textura dos alimentos e qualidade (FOEGEDING; DAVIS, 2011). A CRA é normalmente determinada adicionando água a uma amostra seca em um tubo de

ensaio, homogeneizando e aguarda-se um período, antes de centrifugar e retira-se o sobrenadante (DAY; CAKEBREAD; LOVEDAY, 2022).

Para materiais que podem se dissolver parcialmente, uma correção da CRA pode ser feita para a massa de material dissolvido no sobrenadante. Infelizmente, esta correção raramente é incluída e, por essa razão, valores de CRA não corrigidos de materiais parcialmente solúveis medidos utilizando excesso de água devem ser vistos com cautela. A CRA não é adequada para materiais altamente solúveis, como caseinato, clara de ovo e proteína de soro de leite (DAY; CAKEBREAD; LOVEDAY, 2022).

3.6 Capacidade de retenção de óleo

A capacidade de retenção de óleo (CRO) mede a afinidade de um material por lipídios (FOEGEDING; DAVIS, 2011), geralmente um óleo vegetal. Um alto CRO é importante para proteínas usadas em massas e como aglutinantes em produtos de carne triturada à base de emulsão ou alternativas à base de plantas. O óleo retido contribui para a suculência e o sabor do produto e contém compostos de sabor solúveis em gordura. CRO é medido de forma similar ao CRA, o excesso de óleo é misturado em uma amostra, o óleo livre é removido por centrifugação em baixa velocidade e drenagem, e a massa de óleo retida na amostra é calculada por diferença e depois padronizada para uma base “por grama” (DAY; CAKEBREAD; LOVEDAY, 2022).

A CRO das proteínas está parcialmente relacionada à sua hidrofobicidade intrínseca. Proteínas contendo maior proporção de aminoácidos hidrofóbicos, como leucina, isoleucina, valina e fenilalanina, podem interagir com lipídios apolares por meio de forças de van der Waals (DAY; CAKEBREAD; LOVEDAY, 2022).

A distribuição em todo o bloco de aminoácidos hidrofóbicos, como nas caseínas (HORNE, 2009), dá origem a regiões peptídicas que podem entrar nas fases lipídicas. A estrutura terciária determina a hidrofobicidade da superfície, que está relacionada à distribuição de aminoácidos hidrofóbicos entre o interior e o exterior de uma cadeia peptídica dobrada. Acredita-se também que a retenção física de lipídios contribua para a retenção de óleo, na medida em que pós com baixa densidade aparente (forma altamente porosa ou enrolada) absorvem mais óleo (MA, 2016).

3.7 Solubilidade

A solubilidade (SS) da proteína depende do seu equilíbrio hidrofílico-lipofílico e da termodinâmica da sua interação com a água (GHRIBI *et al.*, 2015).

A maioria dos ingredientes proteicos alimentares são fornecidos na forma de pós secos, e a capacidade de dissolução em soluções à base de água é um precursor chave de várias outras funcionalidades. As definições de 'solúvel' e 'insolúvel' não são claras, porque o contínuo entre partículas de pó seco e uma solução molecular de proteína inclui cenários cineticamente estáveis, como partículas suspensas (mas sedimentáveis) e estados termodinamicamente estáveis, como micelas coloidais. As proteínas tornam-se solúveis quando a sua afinidade pela água é maior do que a afinidade entre si, e ambas são afetadas pelo ambiente iônico – pH e concentração de sal. Muitas proteínas mostram uma curva de solubilidade em forma de U versus pH com baixa força iônica ente estáveis (DAY; CAKEBREAD; LOVEDAY, 2022).

A solubilidade das proteínas é importante como ingrediente funcional em uma variedade de alimentos, como cremes, molhos, bebidas, coberturas, chantilis e outros (CHANDI; SOGI,2007). Isso se deve ao fato de que proteínas com alta solubilidade apresentam características como absorção de água e óleo, formação e estabilidade de espumas, formação e estabilidade de emulsões e formação de géis (CARMO, 2019).

As proteínas tornam-se solúveis quando a sua afinidade pela água é maior do que a afinidade entre si, e ambas são afetadas pelo ambiente iônico – pH e concentração de sal. Muitas proteínas mostram uma curva de solubilidade em forma de U versus pH com baixa força iônica, devido à baixa solubilidade em torno do ponto isoelétrico, onde a repulsão eletrostática é mínima e a agregação proteína-proteína ocorre prontamente. Os valores mínimos de solubilidade com baixa força iônica dependem da fonte da proteína e da concentração. O método de extração também afeta a solubilidade (DAY; CAKEBREAD; LOVEDAY, 2022).

3.8 Análise de Componentes Principais (PCA)

A Análise de Componentes Principais é um método quimiométrico exploratório não supervisionado que não fornece informações prévias sobre as amostras. O objetivo é determinar a melhor maneira de organizar um conjunto de dados complexos

em um conjunto menor chamado componentes principais (PC, do inglês Principal Component). Inicialmente, os dados são organizados em uma matriz **X** com linhas e colunas que representam as amostras e variáveis.

A matriz **X** é decomposta em duas matrizes menores, uma relativa aos *scores* (**T**, *scores*) e outra aos pesos (**L**, *loadings*), mais uma matriz de resíduos (**E**). Os *scores* fornecem informações sobre a projeção das amostras nos novos eixos, permitindo assim a avaliação de similaridades e diferenças entre as amostras. Por outro lado, os *loadings* fornecem informações sobre as variáveis que afetaram a projeção observada (BECKER-ALGERI et al., 2020).

Matematicamente, a decomposição da matriz **X** pode ser representada pela Equação (1):

$$\mathbf{X} = \mathbf{TL}^T + \mathbf{E} \quad (1)$$

A primeira componente principal (PC1) é traçada no sentido da descrição da maior variação do conjunto de dados. A PC2 é traçada ortogonalmente a primeira, descrevendo a maior porcentagem da variação não explicada por PC1, e assim por diante (BECKER-ALGERI ET AL., 2020; FERREIRA, 2015). Idealmente, o número de PCs deve ser igual ao número de espécies químicas presentes na amostra. Assim, é possível retratar alterações que influenciem o sinal que está sendo medido.

3.9 Espectroscopia na região do infravermelho próximo (NIR)

A espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) tem sido uma alternativa viável aos métodos tradicionais, na ciência de alimentos, para a previsão de diferentes composições químicas e parâmetros de qualidade (MARQUES *et al.*, 2016; YAN *et al.*, 2023). Previsões robustas também foram obtidas usando equipamento NIR portátil para diferentes materiais (BORGHI *et al.*, 2020; KANG *et al.*, 2022).

O NIR é usado como uma importante ferramenta analítica para avaliar diversos materiais para diversas aplicações, incluindo alimentos, produtos farmacêuticos, têxteis, polímeros etc. (CEN; HE, 2007). Métodos de espectroscopia NIR foram desenvolvidos para análise quantitativa de inúmeras características em grãos de cereais intactos (DE ALENCAR FIGUEIREDO *et al.*, 2006; SUKUMARAN *et al.*, 2012).

O desenvolvimento de métodos espectroscópicos NIR se estende a análises rápidas de composição de grãos como proteínas (PEIRIS *et al.*, 2019), amido e amilose (LI, JUNHUI *et al.*, 2015; PEIRIS *et al.*, 2021) e compostos fenólicos (DYKES *et al.*, 2014).

Dentre as vantagens do método pode ser citada a rapidez das análises e por ser um método não destrutivo, mantendo as amostras intactas, além de ter uma ampla gama de aplicações (ZAHIR *et al.*, 2022).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Amostras

As amostras das proteínas foram adquiridas em forma de farinha em diferentes lojas virtuais de forma *online*. Para avaliação, as amostras foram então divididas em frascos com tampa para evitar exposição à atmosfera do congelador, tais como variações de umidade.

A Fotografia 1 mostra as amostras nos frascos aos quais seguiram para o congelamento, elas são representadas na seguinte ordem: soja, semente de abóbora, arroz ervilha, whey, semente de linhaça e semente de girassol.

Fotografia 1 - Amostras das proteínas em frascos com tampa



Fonte: Autoria própria (2023).

Das amostras de proteínas isoladas, a proporção total de proteínas fornecida pelos fabricantes está apresentada no Quadro 1. As amostras foram então levadas ao congelador onde ficaram por 7, 14, 21, 30, 45 e 60 dias. Destas amostras foram feitas as análises, incluindo amostras que não passaram pelo processo de congelamento (0 dias de congelamento).

Como equipamentos, foram utilizados um pHmetro (PG 2000, Gehaka); Balança analítica (Bioscale); centrífuga (Nova Técnica, NT815, Piracicaba - SP -

Brasil); freezer (Consul); agitador mecânico (modelo 713D, Fisatom, São Paulo, Brasil) com hélice tipo centrífuga (Dissolutora; 5 x 28 cm), espectrômetro para região do infravermelho entre 908 e 1700 nm (JDSU MicroNIR®, USA), com padrão de reflectância tipo Spectralon TM, com coeficiente de reflexão difusa de 99%.

Quadro 1 - Amostras utilizadas

Amostras de proteínas	Porcentagem de proteínas
soja	90,00%
semente de abóbora	58,82%
arroz	83,33%
ervilha	78,13%
whey	80,00%
semente de linhaça	35,29%
semente de girassol	52,94%

Fonte: Autoria própria (2023).

4.2 Determinação do pH

O pH foi determinado pelo método descrito por Lutz, (2008), com o emprego de um potenciômetro previamente calibrado com soluções tampão de pH 4 e 7. As amostras foram agitadas e diluídas com o auxílio de um agitador magnético em béqueres de 50 mL na proporção de 1 g de amostra para 10 mL de água destilada até que as partículas ficassem uniformemente suspensas, então foram feitas as aferições.

4.3 Determinação da capacidade de formação de espuma (FE) e estabilidade da espuma (EE)

A capacidade de formação de espuma foi determinada de acordo com o método de Liu *et al.*, (2010) com adaptações. Para isto, foi preparada uma solução aquosa com 3% de proteína. Desta solução foi retirada alíquotas de 30 mL. As alíquotas foram homogeneizadas utilizando um agitador mecânico com hélice tipo centrífuga, em velocidade de aproximadamente 5000 rpm, durante 5 minutos. Após a homogeneização, a espuma foi transferida imediatamente para uma proveta de 100

mL. Registrou-se o volume total (mL), o volume de líquido (mL) e o volume de espuma (mL) o volume foi medido no tempo 0 e após 30 min para a determinação de FE e EE.

A capacidade de formação de espuma foi calculada como o volume de espuma formado após agitação (mL) por grama de proteína de acordo com a Equação (2)

$$FE = \frac{\text{volume total} - \text{volume de líquido (mL)}}{\text{concentração de proteína na amostra (g)}} * 100 \quad (2)$$

A EE foi calculada como % de espuma mantida após 30 minutos, conforme a Equação (3).

$$\%EE = \frac{\text{volume total 30'} - \text{volume de líquido (mL) 30'}}{\text{volume total} - \text{volume de líquido (mL)}} * 100 \quad (3)$$

4.4 Capacidade de retenção de água (CRA)

A capacidade de retenção de água foi determinada segundo o método descrito por Diniz & Martin, (1997) e Zhao et al., (2016) com algumas modificações. Ao qual foram hidratadas 0,5 g de amostra em 20 mL de água em tubos falcon, seguido de homogeneização em vórtex durante 30 segundos. O conteúdo foi então deixado em repouso sob temperatura ambiente, seguindo então para centrifugação a 2.003 g (gravidades) por 30 minutos. Com papel filtro Whatman n. 1, o sobrenadante foi filtrado e o volume recuperado foi medido com precisão. A diferença entre o volume inicial de água destilada adicionado à amostra de proteína e o volume do sobrenadante foi determinada, e os resultados foram relatados como mL de água absorvida por g de amostra de proteína.

4.5 Capacidade de retenção de óleo (CRO)

A capacidade de retenção de óleo foi determinada pelo método descrito por Diniz & Martin (1997) e Zhao et al., (2016) com algumas modificações. Foram dissolvidas 50 mg de amostra em 1 mL de óleo de soja comercial em tubo de vidro de 15 mL agitando-se por 30 s em vórtex. Seguindo então a centrifugação do óleo a 2.003 g (gravidades) por 30 min em temperatura ambiente. O volume de óleo separado da

amostra foi medido e calculado em relação à quantidade de óleo absorvida por 50 mg de amostra.

4.6 Solubilidade

A solubilidade proteica seguiu conforme o método de (CHALAMAIAH *et al.*, 2010) com algumas adaptações. 300 mg de amostra foram diluídas em 30 mL de água destilada. A solução foi agitada à temperatura ambiente por 30 minutos e centrifugada a 6000 rpm durante 30 min. O conteúdo de proteína no sobrenadante foi determinado usando o método de Biureto e a proteína total foi determinada pelo método de MicroKjeldahl (LUTZ, 2008). A solubilidade da proteína foi calculada pela Equação (4).

$$\text{Solubilidade (\%)} = \frac{\text{Proteína no sobrenadante}}{\text{Proteína total na amostra}} * 100 \quad (4)$$

4.7 Aquisição dos espectros de infravermelho próximo (NIR)

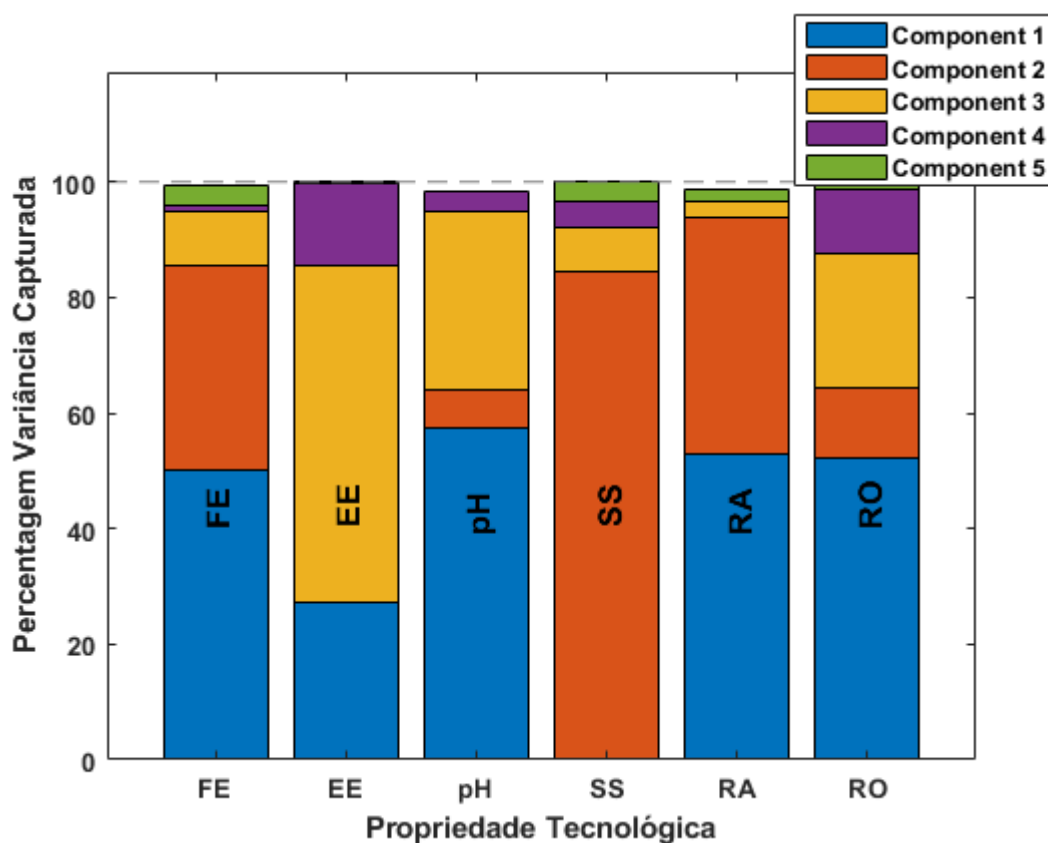
Os espectros foram coletados em uma faixa de 900 a 1700 nm. O padrão de reflectância (utilizado como branco) foi embalado em uma embalagem plástica idêntica à das amostras para remover o efeito da embalagem. A referência escura, que representa a simulação da não-reflexão, foi obtida desligando-se a lâmpada do equipamento. As amostras foram alocadas em embalagens plásticas transparentes e cada amostragem foi medida quatro vezes. Desta forma, considerando que em cada período estudado (0, 7, 14, 21, 30, 45 e 60 dias) foram medidas 3 subamostras (3 porções do mesmo tipo de amostra), cada dia é a representação da média de 4 espectros.

5 RESULTADOS

5.1 Propriedades tecnológicas

Os dados obtidos foram pré-processados por auto-escalamento e em seguida submetidos à Análise de Componentes Principais (PCA), e a Figura 3 apresenta o percentual de variância explicada em cada componente principal (PC) para as propriedades tecnológicas, avaliadas durante o período de congelamento de 0, 7, 14, 21, 30, 45 e 60 dias.

Figura 3 - Variância explicada pelas propriedades tecnológicas nos diferentes períodos de congelamento para avaliação das diferenças entre amostras

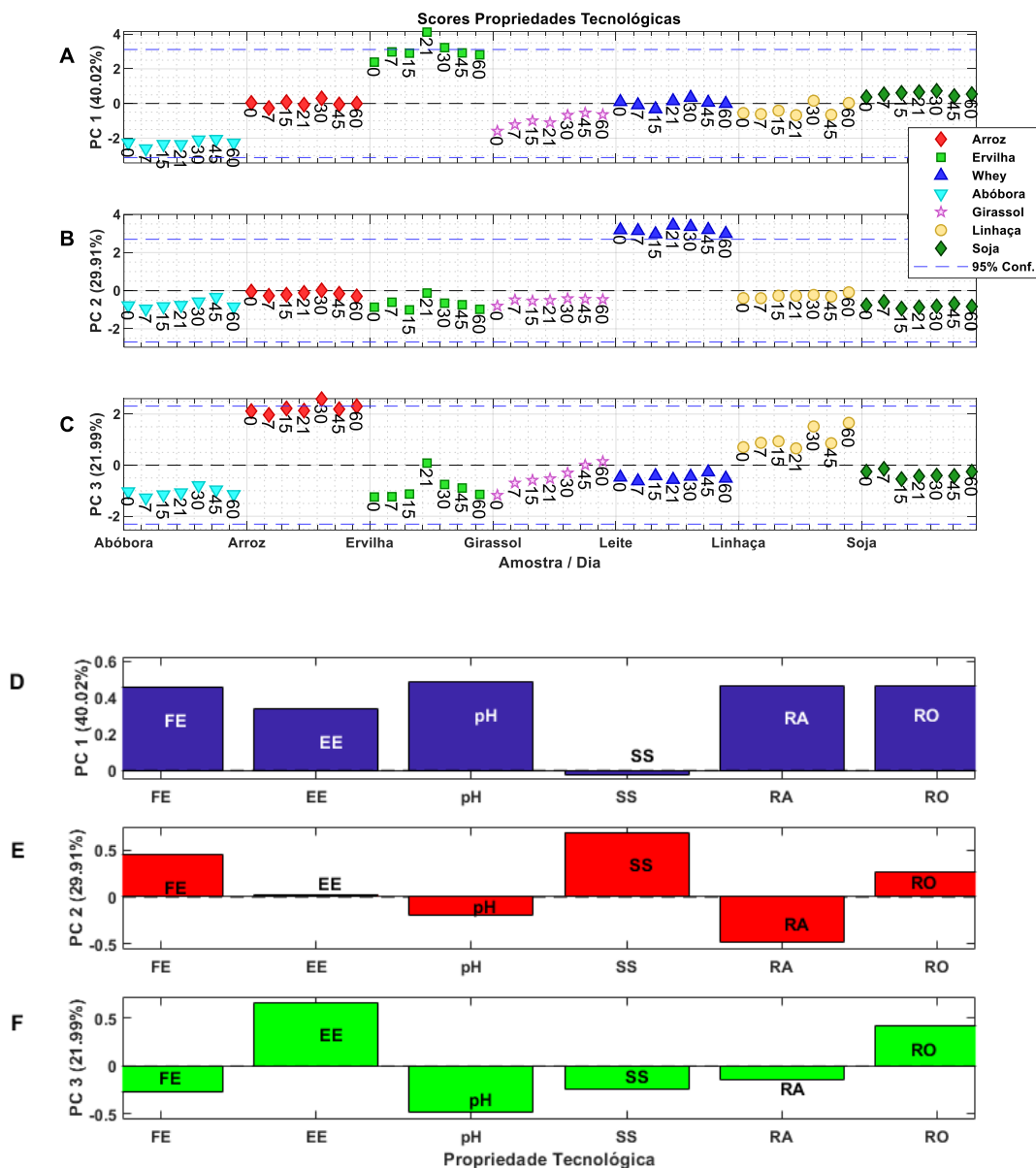


Fonte: Autoria própria (2023).

Ainda que a PC1 explique a maior parte da variância (40,02%), observa-se que a PC2 se mostra importante para avaliação do efeito do congelamento na solubilidade (SS), na formação de espuma (FE) e na capacidade de retenção de água, explicando 29,91% da variância dos dados, enquanto a PC3 é a projeção que melhor explica o efeito do congelamento com relação a estabilidade de espuma (EE),

explicando 21,99% da variância. Portanto, a PCA sugere que sejam avaliadas as PCs 1, 2 e 3 para melhor entendimento do efeito do congelamento nas propriedades avaliadas. A Figura 4 apresenta os *scores* para (A) PC1, (B) PC2 e (C) PC3, e seus respectivos *loadings* em (D) PC1, (E) PC2 e (F) PC3.

Figura 4 - Scores para (A) PC1, (B) PC2 e (C) PC3, e loadings (D) PC1, (E) PC2 e (F) PC3



Fonte: Autoria própria (2023).

Avaliando-se os *scores* da PC1 (Figura 4 – A), observa-se que a maior variação influenciada pelo congelamento ocorreu entre as amostras de proteína de

ervilha, com valores de *scores* positivos, e as de semente de abóbora, com valores de *scores* mais negativos. Além destas, as amostras de proteína de soja se apresentam levemente deslocadas para valores positivos de *scores*, indicando que o congelamento influenciou esta amostra de forma semelhante às aquelas de proteína de ervilha. Já as amostras de proteína de semente de girassol e proteína de semente de linhaça se apresentaram as proteínas de semente de abóbora. Os *loadings* da PC1 (Figura 4 – D) indicam que as amostras que apresentam *scores* positivos (proteína de ervilha e proteína de soja) foram influenciadas pelo congelamento de forma semelhante com relação à formação de espuma (FE), estabilidade de espuma (EE), pH, capacidade de retenção de água (RA) e capacidade de retenção de óleo (RO). O comportamento semelhante em relação ao efeito de congelamento sugere que uma proteína poderia ser usada para substituir a outra, caso passem por processo de congelamento, permanecendo similares com relação a FE, EE, pH, RA e RO.

Seguindo-se o mesmo critério avaliativo, as proteínas de semente de abóbora e de semente de girassol apresentaram efeito de congelamento semelhante com relação à solubilidade (SS). Pode-se considerar que a maioria das amostras de proteína de semente de linhaça também apresentaram comportamento semelhante com relação a SS. É importante ressaltar que quanto mais próximo de zero estejam os *scores*, menor a influência dos parâmetros avaliados para explicar a projeção das referidas amostras.

Os *scores* da PC2, Figura 4 – B, indicam efeito do congelamento diferente nas proteínas de origem vegetal, com valores de *scores* negativos, em comparação com o observado para a proteína de origem animal (*whey*), com valores positivos de *scores*. Neste caso, os *loadings* da PC2, Figura 4 – E, indicam que a proteína do tipo *whey* se diferenciou das demais principalmente com relação à solubilidade (SS), formação de espuma (FE) e capacidade de retenção de óleo (RO). Assim, PC2 sugere que os parâmetros de FE, SS e RO devem ser assistidos para que se possa controlar a qualidade de produtos derivados de proteínas do tipo *whey* quando existir necessidade de congelamento. Para as amostras de proteína de origem vegetal, o congelamento influenciou de forma semelhante a capacidade de retenção de água (RA), além da não terem apresentado alteração nos valores de pH durante todo o período avaliado.

Os *scores* da PC3, Figura 4 – C, explicam principalmente as semelhanças do efeito do congelamento nas proteínas de arroz e semente de linhaça, com valores de

scores positivos, sendo estes efeitos diferentes para os observados para as proteínas de semente de abóbora, ervilha, semente de girassol e whey, com valores de scores negativos. A proteína de soja apresentou valores de scores próximos de zero, indicando pouca influência das variáveis importantes na PC3 para esta amostra. De acordo com os *loadings* da PC3, Figura 4 – F, o congelamento influenciou as amostras de proteínas de arroz e semente de linhaça de forma semelhante no que diz respeito aos parâmetros EE e CRO. Logo, as amostras de proteína de semente de abóbora, ervilha, semente de girassol e whey sofreram efeito de congelamento similar nas propriedades tecnológicas referentes a FE, pH, SS e CRA.

A amostra de whey se destacou quanto à capacidade de formação de espuma (médias entre 3333,27 e 4501,5 mL de espuma por grama de amostra) e solubilidade (médias entre 79,225 % e 90,525 %), sendo os maiores valores dentre as amostras. Estes valores de solubilidade são próximos aos descritos por (DAY; CAKEBREAD; LOVEDAY, 2022), que ficaram acima de 80%, sendo que a solubilidade pode ser diretamente afetada pelo pH, além de serem influenciadas pelo processo de produção das amostras, comparativamente, a solubilidade das proteínas de origem vegetal foi mais baixa, tendo a solubilidade da proteína de ervilha variado entre 16,17% e 18,6 %, de 10,1% a 14,1% para a soja e de 1,3% a 3% arroz. De acordo com Day et. al. (2022), foram encontradas solubilidades entre 3 e 13% para proteína comercial de ervilha, entre 14 e 63% para proteína de soja, sendo a proteína derivada do arroz praticamente insolúvel.

Proteínas com alta solubilidade dificultam a avaliação da capacidade de retenção de água, e por isto alguns autores geralmente fazem correção dos valores desta propriedade tecnológica, o que sugere que a CRA não é adequada para materiais altamente solúveis, como o caseinato, a clara de ovo e a proteína de soro de leite (DAY; CAKEBREAD; LOVEDAY, 2022). Por este motivo a amostra de whey não apresentou CRA satisfatória, sendo praticamente solubilizada, o que impossibilitou a separação de forma eficaz das fases líquida e sólida mesmo por centrifugação.

De modo geral as amostras apresentaram características distintas entre elas, sendo a proteína isolada de semente de abóbora incapaz de produzir espuma e, conseqüentemente, não foi possível avaliar a estabilidade dela. A capacidade de formação de espuma mais baixa foi para a proteína de semente de linhaça (59 a 78,9 mL de espuma por grama de amostra) e de girassol (272,1 a 382,7 mL de espuma por

grama de amostra). As maiores formadoras de espuma foram a proteína tipo whey isolada (médias entre 3333,27 e 4501,5 mL de espuma por grama de amostra) e proteína isolada de ervilha (3471,37 a 4253,27 mL de espuma por grama de amostra). A proteína isolada de ervilha apresentou maior (CRA) (entre 8,7 e 10,6 mL por grama de proteína), sendo estes valores acima dos obtidos por (DAY; CAKEBREAD; LOVEDAY, 2022), que foram de aproximadamente 4 mL por grama de proteína.

A proteína com maior estabilidade de espuma após 30 minutos foi a de arroz (entre 75,8% e 92,5%) e a com menor estabilidade foi a proteína isolada de soja (entre 23,5% e 41,7%). As propriedades de capacidade de formação de espuma e de estabilidade de espuma apresentaram maiores variações. Uma das possibilidades pode estar no fato de estas propriedades sofrem grandes interferências experimentais como, por exemplo, a passagem da amostra para a proveta, que provoca perdas em parte da espuma.

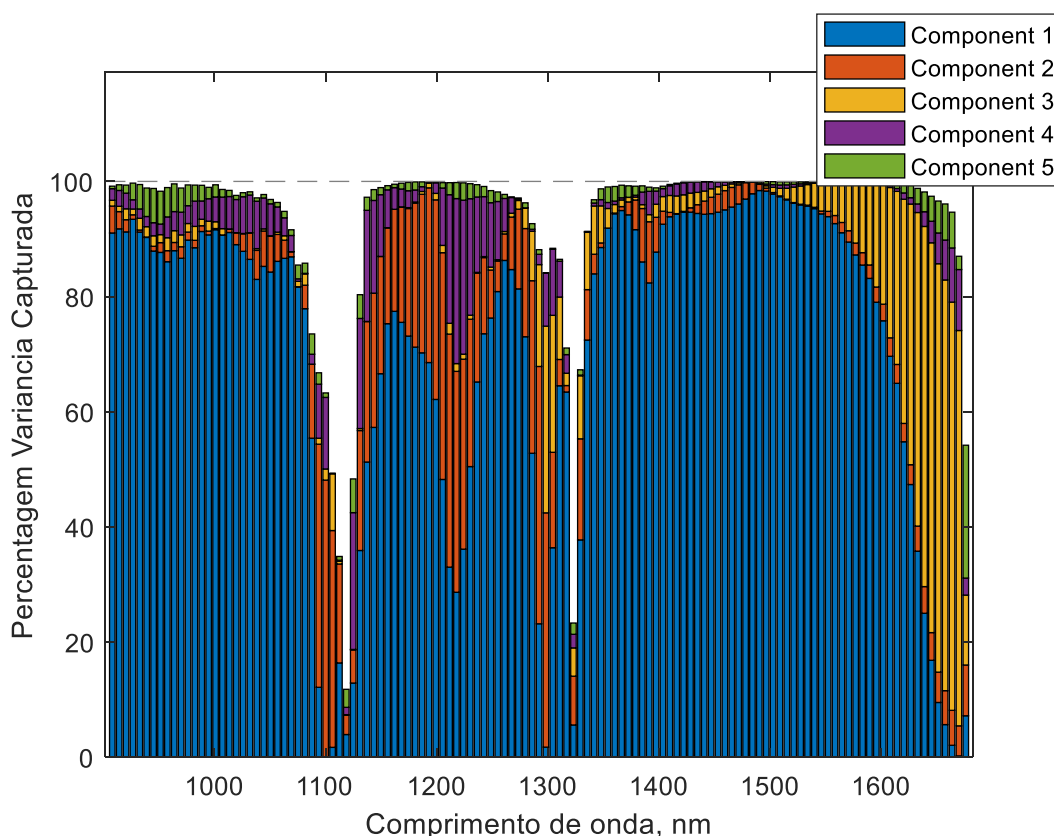
Todas as amostras apresentaram valores próximos para a capacidade de retenção de óleo, sendo os menores valores encontrados para a proteína isolada de semente de abóbora (1,15 - 1,43 mL por grama de proteína) e os maiores valores para a proteína isolada de ervilha (1665 - 2,29 mL por grama de proteína). Estes valores estão próximos aos encontrados por (DAY; CAKEBREAD; LOVEDAY, 2022), que oscilaram entre 1,3 e 2,5 mL por grama de proteína para as proteínas isoladas de arroz, soja, ervilha e whey.

A água é o componente mais abundante nos alimentos frescos, com mais de 90% na maioria das frutas e vegetais e 60 - 80% na carne ou peixe fresco ('WILLIAM; 'SUZANNE, 2021). O tamanho, forma e distribuição dos cristais de gelo formados durante o congelamento está intimamente relacionado à distribuição de água. Também, durante o congelamento, a troca de água em diferentes compartimentos devido ao dano à estrutura celular combinada com o efeito de desidratação pode modificar a composição dos alimentos e resultar em alterações na textura, cor, sabor e nutrientes. (LI; ZHU; SUN, 2018). Por se tratar de amostras secas e em pó, a umidade delas é baixa, reduzindo a cristalização da água e, consequentemente, reduz possíveis alterações. Desta forma, o que se pode observar foi que as propriedades tecnológicas avaliadas não apresentaram grandes variações durante o período de armazenamento sob congelamento.

5.2 Avaliação espectral na região do infravermelho próximo (NIR)

Antes de se performarem os ensaios para os parâmetros tecnológicos foram avaliados os espectros na região do infravermelho de cada porção de amostra. As amostras foram organizadas de modo a se retirarem 3 porções a cada análise, sendo que foram medidos 3 espectros para cada porção. Desta forma, foram obtidos 9 espectros por análise, sendo estes representados por um espectro médio, referente a cada dia avaliado. Este espectro médio foi utilizado para a análise de componentes principais, executada a princípio centrando-se os espectros na média. A Figura 5 apresenta a variância capturada por cada variável avaliada.

Figura 5 - Variância capturada por variável centrando-se os espectros na média



Fonte: Autoria própria (2023).

Observa-se que a PC1 é a responsável por explicar a maior parte da variância, exceto para comprimentos de onda acima de 1650 nm, região na qual a PC3 se mostra mais importante. Para que se pudesse explorar a informação obtida, a Figura 6 traz os *scores* para (A) PC1, (B) PC2 e (C) PC3. De acordo com os *scores* da PC1 (Figura 6 – A), a maior diferença espectral obtida está entre as amostras de proteína de

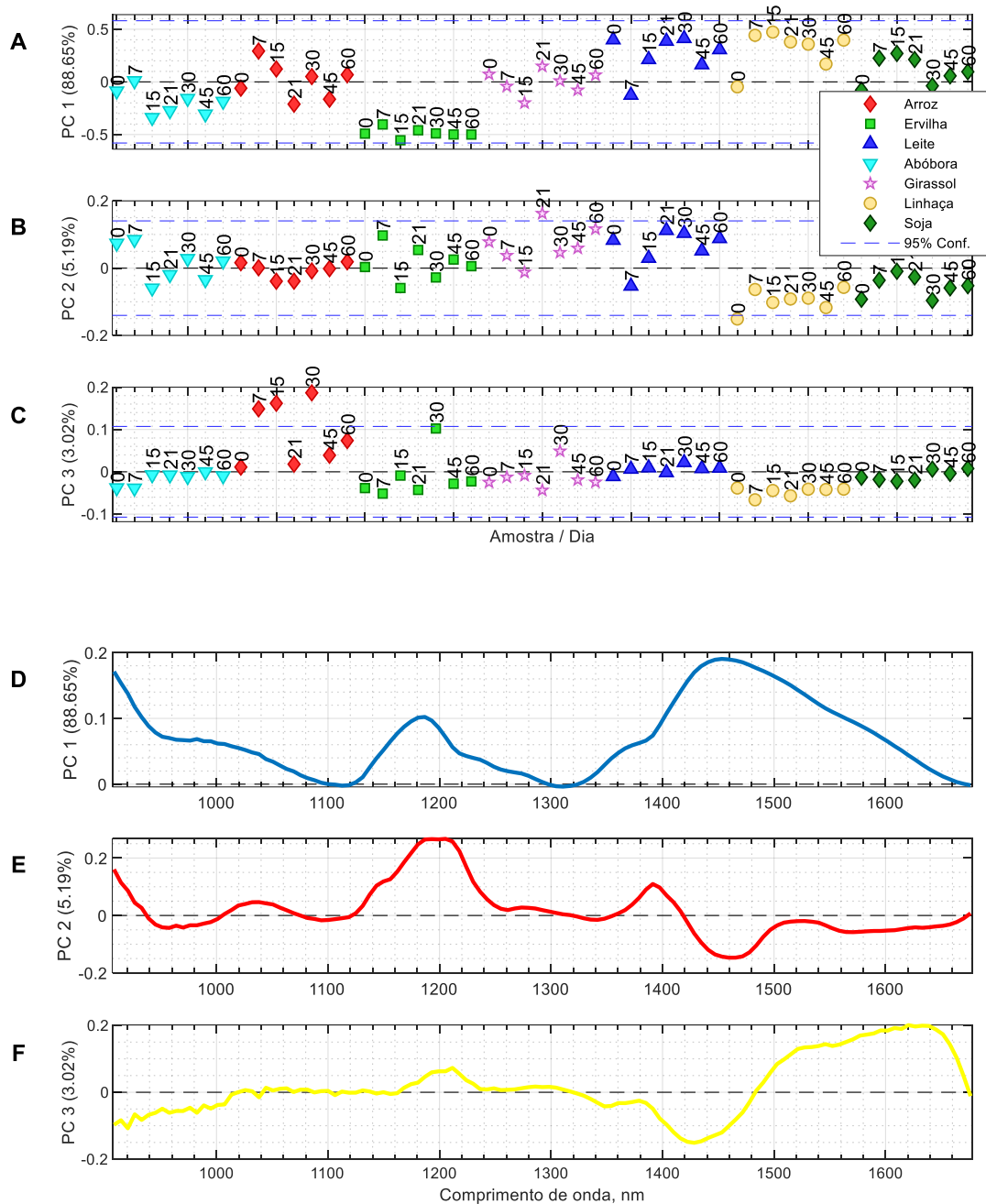
ervilha, deslocadas a valores mais negativos de PC1, e as demais amostras avaliadas, sendo as amostras de proteína de semente de abóbora aquelas que apresentam comportamento espectral mais próximo ao observado para as proteínas de ervilha.

A região espectral que apresenta valores negativos de *loadings* (Figura 6 – D) estão situadas em aproximadamente 1110 nm e 1310 nm. A região de 1110 nm é atribuída ao quarto sobretom de vibrações da ligação C=O, principalmente de aldeídos, e ao segundo sobretom de vibração de ligações N-H primárias e secundárias. Já as vibrações em 1300 nm estão associadas ao primeiro sobretom de vibração da ligação O-H, podendo também estar associado ao segundo sobretom das ligações S-H (WORKMAN JR.; JERRY; WEYER, 2012).

Os *scores* em PC2 (Figura 6 – B) indicam uma separação entre as proteínas de linhaça e soja, com valores mais negativos de *scores* que a maioria das demais proteínas estudadas, cujos *loadings* negativos (Figura 6 – E) mais importantes aparecem em 960 e 1460 nm. A região de 960 nm é geralmente atribuída ao terceiro sobretom de vibrações N-H e ao quarto sobretom para S-H. A região de 1460 nm é atribuída ao primeiro sobretom de vibração de ligações O-H (WORKMAN JR., JERRY ; WEYER, 2012). Os *scores* da PC3 não se mostram informativos o suficiente com relação a separação de algum tipo de amostra ou período de aquecimento, de modo que não foram considerados nesta discussão.

Para verificar a possibilidade de influência da umidade na separação das amostras, optou-se por utilizar uma estratégia de processamento dos dados conhecida como ortogonalização de parâmetros externos (EPO, do inglês *External Parameter Orthogonalization*), proposta inicialmente por (WOLD *et al.*, 1998) para correção em espectros NIR para fins de calibração. Porém, o algoritmo EPO pode ser utilizado para aplicações exploratórias (não-supervisionadas), como proposto no estudo de (AMIRVARESI; PARASTAR, 2021). Isso porque o algoritmo encontra regiões nos espectros que são afetadas de formas diferentes, o que pode ser medido pela variância capturada pela região, e projeta os espectros ortogonalmente a essa variação, e as variações indesejadas podem ser minimizadas de forma eficaz.

Figura 6 - Scores em (A) PC1, (B) PC2 e (C) PC3, e loadings para (D) PC1, (E) PC2 e (F) PC3

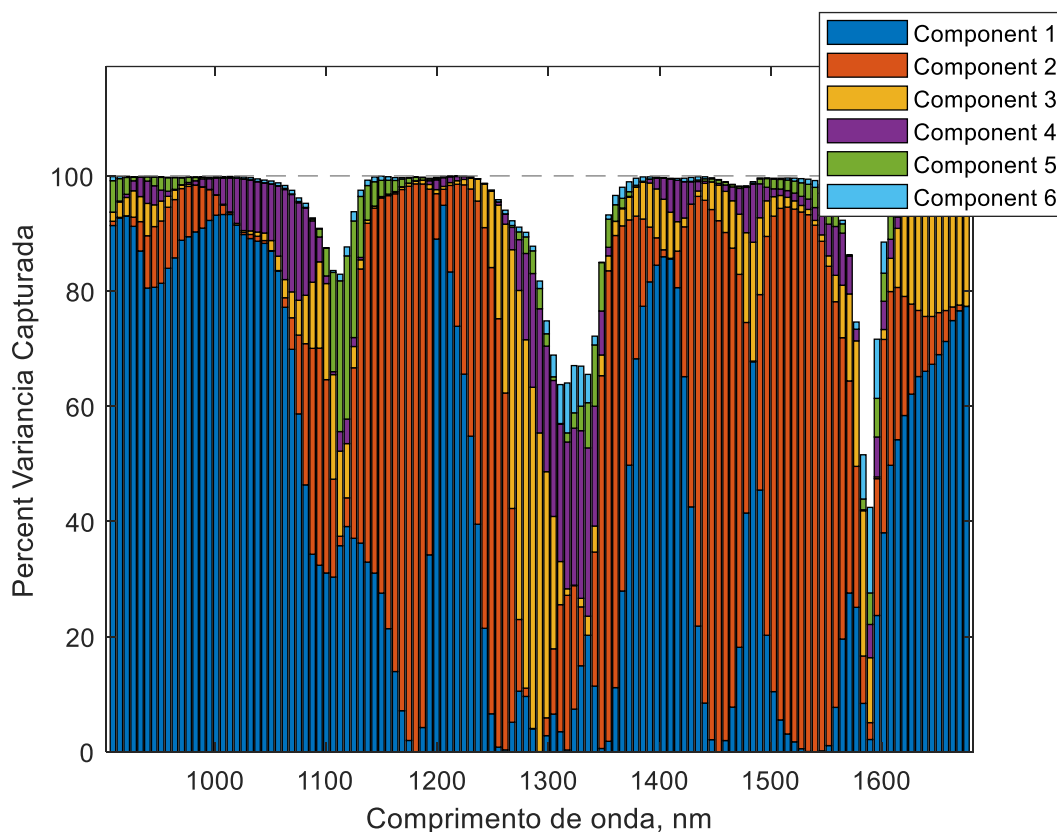


Fonte: Autoria própria (2023).

Estudos anteriores mostraram que a EPO é uma estratégia importante para reduzir o efeito da umidade (KUNZE *et al.*, 2021; ROGER; CHAUCHARD; BELLON-MAUREL, 2003), uma vez que a influência de vibrações das ligações O-H de água podem sobrepor outras vibrações (Workman Jr.; Jerry; Weyer, 2012). Assim, após aplicação da EPO, a PCA resultou em uma separação diferente da anterior. A Figura

7 apresenta a variância capturada por variável utilizando-se pré-processamento EPO e centrado-se os dados na média.

Figura 7 - Variância capturada por variável após EPO e centrando-se os espectros na média



Fonte: Autoria própria (2023).

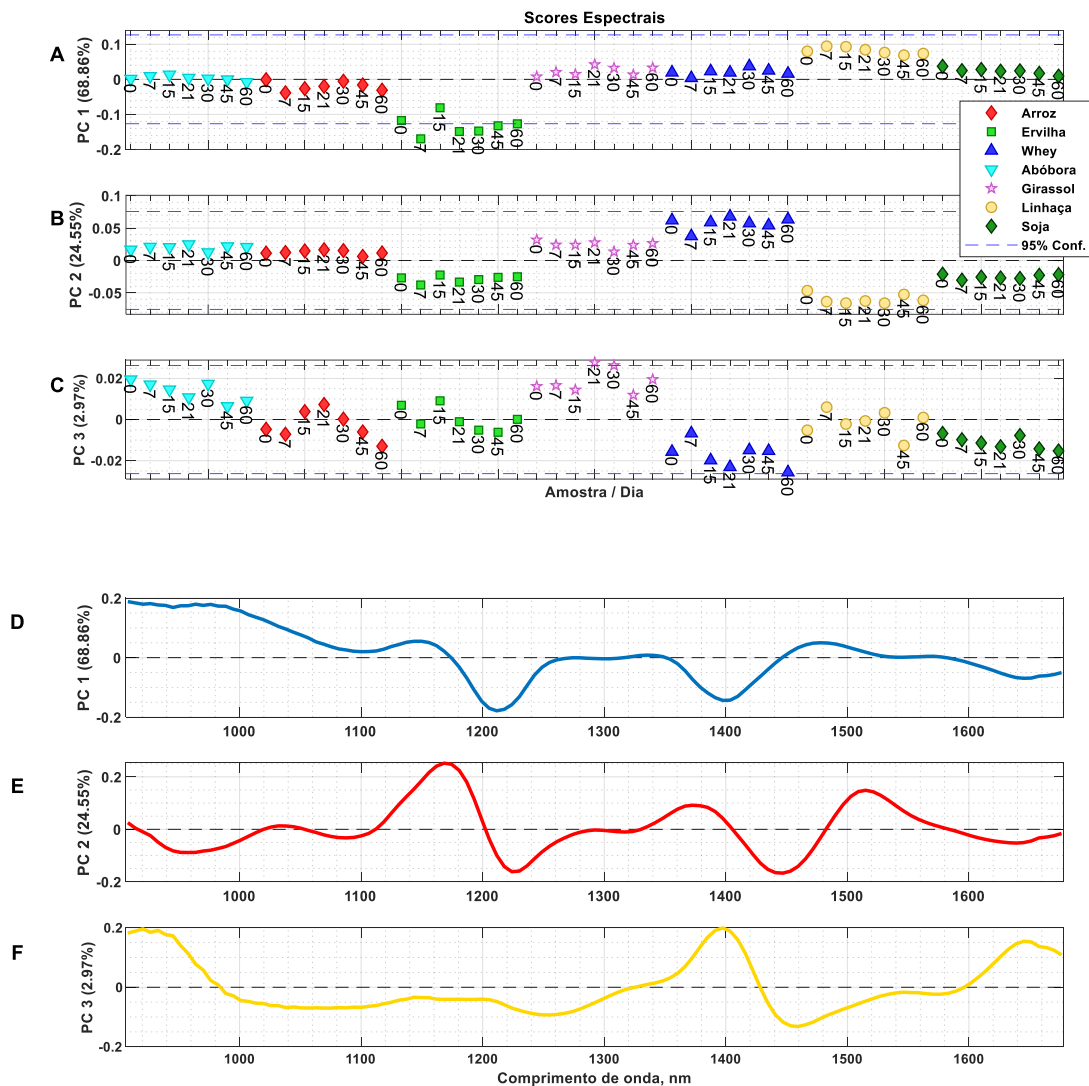
A aplicação de EPO influenciou principalmente a variância explicada nas regiões entre 1160 – 1200 nm, 1260 – 1370 nm, 1430 – 1600 nm, diminuindo a importância destas regiões na PC1 e aumentando na PC2. As vibrações detectadas na região entre 1160 – 1200 nm são geralmente atribuídas ao quarto sobretom da ligação C=O (WORKMAN JR.; JERRY; WEYER, 2012). A região entre 1260 – 1370 nm é geralmente atribuída a vibrações de segundo sobretom de ligações do tipo S-H (WORKMAN JR.; JERRY; WEYER, 2012), que é uma ligação presente na cisteína, que geralmente é mais abundante em alimentos de origem animal e em derivados de cereais comparando-se com proteínas extraídas de leguminosas. Alimentos ricos em cisteína incluem aves, ovos, carne bovina e grãos integrais (LARSSON; HÅKANSSON; WOLK, 2015). Já a região entre 1430 – 1600 nm abrange a região de

vibração atribuída ao primeiro sobretom de ligações O-H (WORKMAN JR.; JERRY; WEYER, 2012).

A Figura 8 – A apresenta os *scores* espectrais para (A) PC1, (B) PC2 e (C) PC3, e os respectivos *loadings* em (D, E e F) após a aplicação de EPO. Os *scores* da PC1 (68,86%) indicam que a maior diferença espectral acontece entre as amostras de proteína de semente de linhaça, com valores mais positivos de *scores*, das amostras de proteína de ervilha (com valores mais negativos de *scores*). Os *loadings* com valores positivos (na PC1) estão localizados entre 908 – 1020 nm, 1140 – 1160 nm, 1460 – 1500 nm. A região de 908 – 1020 nm está relacionada com o quarto, terceiro e segundo sobretom de vibração de ligações N-H, O-H e S-H. Porém, a intensidade e largura da banda entre 908 – 1020 nm dificulta a atribuição das vibrações de forma específica. A região entre 1140 – 1160 nm abrange o segundo sobretom de vibração para ligações N-H e o quarto sobretom de ligações C=O para amidas, enquanto a região entre 1460 – 1500 nm está associada com o primeiro sobretom de vibração de ligações N-H e o terceiro sobretom de vibração para ligações C=O de amidas (WORKMAN JR.; JERRY; WEYER, 2012). As vibrações indicadas são condizentes com ligações existentes na estrutura de proteínas. No entanto, não se pode afirmar a partir destas análises quais são os compostos específicos responsáveis pela diferenciação observada.

Nos *scores* da PC2 (24,55%), Figura 8 – B, as proteínas isoladas de whey estão localizadas em valores mais positivos de *scores*, valores estes seguidos dos observados para as amostras de proteína de semente de girassol, sendo estes menores que os valores observados para a proteína do tipo whey. As proteínas de semente de linhaça apresentaram valores mais negativos, seguidas pelas amostras de proteínas de soja e de ervilha, com valores menores que os observados para a proteína de semente de linhaça. Os *loadings* que aparecem com valores positivos para PC2, de acordo com a Figura 8 – D, estão localizados entre 1140 – 1180 nm, 1340 – 1400 nm, e 1490 – 1540 nm. A região entre 1140 e 1180 nm é atribuída ao 4º sobretom de vibração da ligação C=O, principalmente de amidas secundárias. A região entre 1340 – 1400 nm é atribuída ao primeiro sobretom de vibração de estiramento da ligação O-H, enquanto vibrações entre 1480 – 1540 nm são atribuídas ao primeiro sobretom de ligações N-H (WORKMAN JR.; JERRY; WEYER, 2012), igualmente associadas a estrutura das proteínas.

Figura 8 - Scores espectrais para (A) PC1, (B) PC2 e (C) PC3, e loadings para (D) PC1, (E) PC2 e (F) PC3 após aplicação de EPO



Fonte: Autoria própria (2023).

Vale ressaltar que, na PC2, pode ser observada a maior diferença entre proteínas de origem vegetal e a proteína do tipo whey. De modo geral, as proteínas do tipo whey apresentam o maior teor de aminoácidos essenciais quando comparada as proteínas de origem vegetal. Em média, a proteína tipo whey isolada é descrita na literatura como sendo composta principalmente por ácido glutâmico (15,4 mg), leucina (11,8 mg), ácido aspártico (10,7 mg), lisina (9,5 mg), alanina (4,9 mg), isoleucina (4,7 mg), valina (4,7 mg), treonina (4,6 mg), prolina (4,2 mg), serina (3,9 mg), asparagina (3,8 mg), glutamina (3,4 mg), tirosina (3,4 mg), metionina (3,1 mg), fenilalanina (3,0 mg), arginina (2,4 mg), cisteína (1,7 mg), glicina (1,7 mg), histidina (1,7 mg) e triptofano (1,3 mg), sendo estes valores por grama de proteína (ETZEL, 2004; HARAGUCHI;

ABREU; PAULA, 2006). Logo, as vibrações associadas aos *loadings* positivos, Figura 4 – B, poderiam estar relacionadas com os 8 aminoácidos mais abundantes no isolado proteico tipo whey.

As amostras de proteína de semente de linhaça, soja e ervilha apresentam os valores mais negativos de *scores* na PC2 (Figura 8 – B), sendo estes relacionados às regiões entre 940 – 980 nm, 1080 – 1100 nm, 1210 – 1250 nm, e 1420 – 1470 nm. A região entre 940 – 980 nm pode ser atribuída a 3 principais tipos de vibrações que são o segundo e terceiro sobretons de vibração de ligações N-H (primária ou secundária), segundo e terceiro sobretons para vibração de ligações O-H, e terceiro e quarto sobretons de vibração de ligações S-H (WORKMAN JR.; JERRY; WEYER, 2012). As vibrações do tipo S-H podem estar associadas com a presença dos aminoácidos sulfurados metionina e a cisteína. Para proteínas derivadas de plantas, os relatos indicam teores mais baixos destes aminoácidos que os isolados proteicos de whey (GORISSEN *et al.*, 2018). Desta forma, uma possível causa das diferenças espectrais entre as amostras pode estar relacionada com os teores destes aminoácidos.

Na PC3, Figura 8 – C, observa-se que as proteínas de semente de abóbora e semente de girassol apresentam valores mais positivos, enquanto as proteínas de whey isolado e soja apresentam valores mais negativos. As demais amostras apresentaram valores que oscilaram em torno do zero. Os *loadings* que apresentam valores positivos estão localizados principalmente entre 908 – 960 nm, 1360 – 1420 nm, 1620 – 1660 nm. negativos para PC1, PC2 e PC3 simultaneamente estão localizados na região de 1200 – 1240 nm e 1420 – 1440 nm do espectro. A região de 1200 – 1240 nm é atribuída principalmente ao 4º sobreton de vibração da ligação C=O de amidas secundárias. Já as vibrações entre 1420 – 1440 nm são atribuídas ao primeiro sobreton de ligações O-H (WORKMAN JR.; JERRY; WEYER, 2012).

Até onde foi pesquisado até a publicação deste trabalho, não se encontrou estudos sobre o comportamento de proteínas com relação ao congelamento. Porém, em um estudo direcionado ao monitoramento por NIR de alterações na conformação de proteínas no processo de liofilização (PIETERS *et al.*, 2012), observou-se que dentre as regiões afetadas, a região entre 1370 até 1700 nm é uma das mais importantes. Desta forma, considerando as regiões em que se observam as variações espectrais, sugere-se que o congelamento possa estar associado às alterações conformacionais (enovelamento) das proteínas. Portanto, os efeitos do congelamento

podem ser mais bem avaliados a partir da combinação entre as informações obtidas por espectroscopia associadas àquelas advindas das propriedades tecnológicas.

6 CONCLUSÃO

Considerando o objetivo proposto de avaliar o efeito do congelamento em propriedades tecnológicas de proteínas de origem vegetal e de origem animal, pode-se observar que há um comportamento ligeiramente diferente entre as proteínas em função da origem (se vegetal ou animal). Porém, de acordo com a PCA, as amostras de proteína de ervilha apresentaram a maior diferença de comportamento, uma vez que está separada das demais pela PC1 tanto na análise das propriedades tecnológicas quanto na análise espectral.

Tanto as propriedades tecnológicas quanto os espectros apresentaram pouca variação durante os 60 dias de congelamento avaliados. No caso das propriedades tecnológicas, a capacidade de formação de espuma e a estabilidade de espuma foram as propriedades que apresentaram variações mais acentuadas. Por outro lado, há de se ressaltar a hipótese de estas variações poderem estar associadas ao método analítico utilizado. Para os espectros, observaram-se variações relacionadas a regiões vibracionais atribuídas principalmente a ligações N-H, o que sugere possibilidade de variações na conformação das proteínas.

Como a proteína de semente de abóbora não apresentou formação de espuma (FE), considera-se que a proteína isolada de semente de linhaça apresentou a menor FE, seguida da proteína isolada de semente de girassol. A proteína tipo whey, a proteína isolada de ervilha e a proteína isolada de arroz apresentaram os maiores valores de FE, sendo a proteína isolada de arroz a que apresentou o maior EE.

A proteína tipo whey apresentou maior solubilidade e não permitiu análise de CRA, enquanto a proteína isolada de ervilha apresentou maior CRA. Ainda que com pouca variação para o tempo de congelamento avaliado, a proteína isolada de semente de abóbora e a proteína isolada de semente de linhaça apresentaram menor FE. Já as proteínas tipo whey e ervilha apresentaram os maiores FE, enquanto a proteína de arroz apresentou maior EE.

As propriedades tecnológicas que diferenciaram as amostras de proteína de origem vegetal da proteína tipo whey foram a solubilidade, formação de espuma e capacidade de retenção de óleo. Curiosamente, tanto para a avaliação das propriedades tecnológicas quanto na análise espectral, as amostras de proteína tipo whey se diferenciaram das amostras de proteína de origem vegetal na PC2, o que indica uma possível relação entre as técnicas espectroscópicas e os resultados

observados na avaliação das propriedades tecnológicas. Porém, este aspecto não foi explorado e deverá ser avaliado como etapa futura deste estudo.

Os resultados deste estudo sugerem que durante o período de 60 dias, as propriedades tecnológicas das proteínas não são influenciadas de forma importante, o que permite o armazenamento destas amostras em baixas temperaturas com segurança para o uso posterior.

6.1 Próximas etapas

A próxima etapa é avaliar, por análise multitabelas (ComDim), a relação entre as propriedades tecnológicas avaliadas com as diferentes regiões espectrais entre 900 e 1700 nm, a fim de se verificar a relação entre comprimento de onda e propriedades tecnológicas medidas, a fim de se verificar a possibilidade de previsão de alteração em uma determinada propriedade tecnológica a partir de espectroscopia NIR.

REFERÊNCIAS

- AMIRVARESI, A.; PARASTAR, H. External parameter orthogonalization-support vector machine for processing of attenuated total reflectance-mid-infrared spectra: A solution for saffron authenticity problem. **Analytica Chimica Acta**, vol. 1154, p. 338308, abr. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338308>.
- BAILEY, H. M.; MATHAI, J. K.; BERG, E. P.; STEIN, H. H. Most meat products have digestible indispensable amino acid scores that are greater than 100, but processing may increase or reduce protein quality. **British Journal of Nutrition**, vol. 124, nº 1, p. 14–22, 14 jul. 2020. <https://doi.org/10.1017/S0007114520000641>.
- BECKER-ALGERI, T. A.; SOUZA, C.; BORTOLI, K.; CASTAGNARO, D.; SCAGLIONI, P. T.; DRUNKLER, D. A.; DORS, G.; VALDERRAMA, P.; BADIALE-FURLONG, E. Seasonal variation of milk quality: Physicochemical, microbiological, and toxicological. **Journal of Food Safety**, vol. 40, nº 4, 6 ago. 2020. <https://doi.org/10.1111/jfs.12796>.
- BORGHI, F. T.; SANTOS, P. C.; SANTOS, F. D.; NASCIMENTO, M. H. C.; CORRÊA, T.; CESCINETTO, M.; PIRES, A. A.; RIBEIRO, A. V. F. N.; LACERDA, V.; ROMÃO, W.; FILGUEIRAS, P. R. Quantification and classification of vegetable oils in extra virgin olive oil samples using a portable near-infrared spectrometer associated with chemometrics. **Microchemical Journal**, vol. 159, 1 dez. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105544>.
- CARMO, E. U. F. do. Extração da fração proteica do farelo de arroz por tratamento ultrassônico e enzimático e caracterização das propriedades funcionais. Medianeira, 2019. Disponível em: <http://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/handle/1/25745>. Acessado em: 1 mar. 2023.
- CEN, H.; HE, Y. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. **Trends in Food Science and Technology**, vol. 18, nº 2, p. 72–83, fev. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.09.003>.
- CHALAMAIAH, M.; RAO, G. N.; RAO, D. G.; JYOTHIRMAYI, T. Protein hydrolysates from meriga (*Cirrhinus mrigala*) egg and evaluation of their functional properties. **Food Chemistry**, vol. 120, nº 3, p. 652–657, jun. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.057>.
- CHANDI, G. K.; SOGI, D. S. Functional properties of rice bran protein concentrates. **Journal of Food Engineering**, vol. 79, nº 2, p. 592–597, mar. 2007. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.02.018>.
- DA SILVA, A. M. M. **Estudo das propriedades funcionais de proteínas comerciais de origem vegetal: caracterização, estabilização de emulsões e aplicação em complexos coacervados**. [S. l.: s. n.], 2019. Disponível em: www.tcpdf.org. Acessado em: 31 out. 2022.
- DAMODARAN, PARKIN. K. F. **Química de Alimentos de Fennema**. 4º ed. Porto Alegre - RS: Artmed SA, 2010.

DAMODARAN, PARKIN. K. F. **Química de Alimentos de Fennema**. 5º ed. Porto Alegre - RS: Artmed editora, 2018.

DAY, L.; CAKEBREAD, J. A.; LOVEDAY, S. M. Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties. **Trends in Food Science and Technology**, vol. 119, p. 428–442, 1 jan. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.020>.

DE ALENCAR FIGUEIREDO, L. F.; DAVRIEUX, F.; FLIEDEL, G.; RAMI, J. F.; CHANTEREAU, J.; DEU, M.; COURTOIS, B.; MESTRES, C. Development of NIRS Equations for Food Grain Quality Traits through Exploitation of a Core Collection of Cultivated Sorghum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 54, nº 22, p. 8501–8509, 1 nov. 2006. <https://doi.org/10.1021/jf061054g>.

DINIZ, F. M.; MARTIN, A. M. Effects of the Extent of Enzymatic Hydrolysis on Functional Properties of Shark Protein Hydrolysate. **LWT-food Science and Technology**, v. 30, n. 3, p. 266-272, 1997. <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/fstl.1996.0184>.

DYKES, L.; HOFFMANN, L.; PORTILLO-RODRIGUEZ, O.; ROONEY, W. L.; ROONEY, L. W. Prediction of total phenols, condensed tannins, and 3-deoxyanthocyanidins in sorghum grain using near-infrared (NIR) spectroscopy. **Journal of Cereal Science**, vol. 60, nº 1, p. 138–142, jul. 2014. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2014.02.002>.

ETZEL, M. R. Manufacture and Use of Dairy Protein Fractions. **The Journal of Nutrition**, vol. 134, nº 4, p. 996S-1002S, abr. 2004. <https://doi.org/10.1093/jn/134.4.996S>.

FANI, M. **PROTEÍNAS ANIMAIS E VEGETAIS TIPOS E FUNÇÕES**, 2016. Disponível em: <https://aditivosingredientes.com/artigos/todos/proteinas-animais-e-vegetais-tipos-e-funcoes>. Acessado em: 15 ago. 2023.

FEARNSIDE, P. M. O Desmatamento da Amazônia Brasileira: 1-Resumo da série. **Amazônia Real**, 2020. Disponível em: <https://amazoniareal.com.br/o-desmatamento-da-amazonia-brasileira-1-resumo-da-serie-28->.

FERREIRA, M. M. C. **Quimiometria: conceitos, métodos e aplicações**. 1º ed. Editora da Unicamp, 2015. <https://doi.org/10.7476/9788526814714>.

FERREYRA, J. C. Avaliação da funcionalidade e do efeito da lipofilização em proteínas de farinha totalmente desengordurada de amendoim (*Archis hypogaea* Lineau). **Dissertação de mestrado - Universidade Federal de Santa Catarina**, 2003. Disponível em: <http://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/84945>. Acessado em: 21 abr. 2023.

FOEGEDING, E. A.; DAVIS, J. P. Food protein functionality: A comprehensive approach. **Food Hydrocolloids**, vol. 25, nº 8, p. 1853–1864, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.05.008>.

GHRIBI, A. M.; GAFSI, I. M.; BLECKER, C.; DANTHINE, S.; ATTIA, H.; BESBES, S. Effect of drying methods on physico-chemical and functional properties of chickpea

protein concentrates. **Journal of Food Engineering**, vol. 165, p. 179–188, 1 nov. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.06.021>.

GONZALEZ, M. E.; JERNSTEDT, J. A.; SLAUGHTER, D. C.; BARRETT, D. M. Influence of Cell Integrity on Textural Properties of Raw, High Pressure, and Thermally Processed Onions. **Journal of Food Science**, vol. 75, nº 7, p. 409–416, set. 2010. DOI <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01765.x>.

GORISSEN, S. H. M.; CROMBAG, J. J. R.; SENDEN, J. M. G.; WATERVAL, W. A. H.; BIERAU, J.; VERDIJK, L. B.; VAN LOON, L. J. C. Protein content and amino acid composition of commercially available plant-based protein isolates. **Amino Acids**, vol. 50, nº 12, p. 1685–1695, 30 dez. 2018. <https://doi.org/10.1007/s00726-018-2640-5>.

GÓRSKA-WARSEWICZ, H.; LASKOWSKI, W.; KULYKOVETS, O.; KUDLIŃSKA-CHYLAK, A.; CZECZOTKO, M.; REJMAN, K. Food products as sources of protein and amino acids—The case of Poland. **Nutrients**, vol. 10, nº 12, 13 dez. 2018. <https://doi.org/10.3390/nu10121977>.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C. de; PAULA, H. de. Proteínas do soro do leite: composição, propriedades nutricionais, aplicações no esporte e benefícios para a saúde humana. **Revista de Nutrição**, vol. 19, nº 4, p. 479–488, ago. 2006. <https://doi.org/10.1590/S1415-52732006000400007>.

HENCHION, M.; HAYES, M.; MULLEN, A. M.; FENELON, M.; TIWARI, B. Future protein supply and demand: Strategies and factors influencing a sustainable equilibrium. **Foods**, vol. 6, nº 7, p. 1–21, 1 jul. 2017. <https://doi.org/10.3390/foods6070053>.

HEVER, J. Plant-Based Diets: A Physician's Guide. **The permanente journal**, v. 20, n. 3, 2016. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.7812/TPP/15-082>.

HORNE, D. S. **Milk Proteins**. Massey University, New Zealand: Elsevier, 2009. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374039-7.X0001-3>.

HUFF-LONERGAN, E.; LONERGAN, S. M. Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. 71., set. 2005. **Meat Science** v. 71, n. 1, p. 194-204, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.022>. IBGE. Rebanho de Bovinos (Bois e Vacas). 2023.

INPE, T. B. PRODES (Desmatamento), Incrementos de desmatamento na Amazônia legal Terra Brasilis. 2023. Disponível em: http://terrabrasilis.dpi.inpe.br/app/dashboard/deforestation/biomes/legal_amazon/increments. Acesso em: 23 maio 2023.

KANG, R.; WANG, X.; ZHAO, M.; HENIHAN, L. E.; O'DONNELL, C. P. A comparison of benchtop and micro NIR spectrometers for infant milk formula powder storage time discrimination and particle size prediction using chemometrics and denoising methods. **Journal of Food Engineering**, vol. 329, 1 set. 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2022.111087>.

- KUNZE, D. C. G. C.; PASTORE, T. C. M.; ROCHA, H. S.; LOPES, P. V. D. A.; VIEIRA, R. D.; CORADIN, V. T. R.; BRAGA, J. W. B. Correction of the moisture variation in wood NIR spectra for species identification using EPO and soft PLS2-DA. **Microchemical Journal**, vol. 171, p. 106839, dez. 2021. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106839>.
- LAM, R. S. H.; NICKERSON, M. T. Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure-function approach. **Food Chemistry**, vol. 141, nº 2, p. 975–984, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.038>.
- LARSSON, S. C.; HÅKANSSON, N.; WOLK, A. Dietary Cysteine and Other Amino Acids and Stroke Incidence in Women. **Stroke**, vol. 46, nº 4, p. 922–926, abr. 2015. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.114.008022>.
- LI, D.; ZHU, Z.; SUN, D. W. Effects of freezing on cell structure of fresh cellular food materials: A review. **Trends in Food Science and Technology**, vol. 75, p. 46–55, 1 maio 2018. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.02.019>.
- LI, J.; DANAIO, M.-G. C.; CHEN, S.-F.; LI, S.; SINGH, V.; BROWN, P. J. Prediction of Starch Content and Ethanol Yields of Sorghum Grain Using near Infrared Spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, vol. 23, nº 2, p. 85–92, 1 abr. 2015. <https://doi.org/10.1255/jnirs.1146>.
- LIMA, N. de S.; SILVA E SILVA, A. da; SILVA, J. G. da; BRASIL, M. H. T.; SÁ, R. J. da S. de; SALOMÃO, U. de O.; MOURÃO, F. V.; SILVA, P. S. A. da. Análise multitemporal da área desflorestada no município de Paragominas. **Brazilian Journal of Development**, vol. 6, nº 7, p. 42471–42477, 2020. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n7-021>.
- LIU, S.; ELMER, C.; LOW, N. H.; NICKERSON, M. T. Effect of pH on the functional behaviour of pea protein isolate-gum Arabic complexes. **Food Research International**, vol. 43, nº 2, p. 489–495, mar. 2010. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.022>.
- LUTZ, I. A. L. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. 4º ed. **São Paulo: O Instituto**, 2008. Disponível em: http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf. Acesso em: 13 fev. 2022.
- MA, C.-Y. Soybean: Soy Concentrates and Isolates. **Encyclopedia of Food Grains**, Elsevier, 2016. p. 482–488. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394437-5.00170-4>.
- MA, Z.; BOYE, J. I.; SIMPSON, B. K.; PRASHER, S. O.; MONPETIT, D.; MALCOLMSON, L. Thermal processing effects on the functional properties and microstructure of lentil, chickpea, and pea flours. **Food Research International**, vol. 44, nº 8, p. 2534–2544, out. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.12.017>.
- MARQUES, E. J. N.; DE FREITAS, S. T.; PIMENTEL, M. F.; PASQUINI, C. Rapid and non-destructive determination of quality parameters in the “Tommy Atkins” mango using a novel handheld near infrared spectrometer. **Food Chemistry**, vol. 197, p. 1207–1214, 15 abr. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.080>.

MUSSE, M.; CAMBERT, M.; MARIETTE, F. NMR study of water distribution inside tomato cells: Effects of water stress. **Applied Magnetic Resonance**, vol. 38, n° 4, p. 455–469, 2010. <https://doi.org/10.1007/s00723-010-0139-7>.

PEARCE, K. L.; ROSENVOLD, K.; ANDERSEN, H. J.; HOPKINS, D. L. Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes - A review. **Meat Science**, vol. 89, n° 2, p. 111–124, out. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.007>.

PEIRIS, K. H. S.; BEAN, S. R.; CHILUWAL, A.; PERUMAL, R.; JAGADISH, S. V. K. Moisture effects on robustness of sorghum grain protein near-infrared spectroscopy calibration. **Cereal Chemistry**, vol. 96, n° 4, p. 678–688, 20 jul. 2019. <https://doi.org/10.1002/cche.10164>.

PEIRIS, K. H. S.; WU, X.; BEAN, S. R.; PEREZ-FAJARDO, M.; HAYES, C.; YERKA, M. K.; JAGADISH, S. V. K.; OSTMEYER, T.; ARAMOUNI, F. M.; TESSO, T.; PERUMAL, R.; ROONEY, W. L.; KENT, M. A.; BEAN, B. Near Infrared Spectroscopic Evaluation of Starch Properties of Diverse Sorghum Populations. **Processes**, vol. 9, n° 11, p. 1942, 29 out. 2021. <https://doi.org/10.3390/pr9111942>.

PIETERS, S.; DE BEER, T.; KASPER, J. C.; BOULPAEP, D.; WASZKIEWICZ, O.; GOODARZI, M.; TISTAERT, C.; FRIESS, W.; REMON, J.-P.; VERVAET, C.; VANDER HEYDEN, Y. Near-Infrared Spectroscopy for In-Line Monitoring of Protein Unfolding and Its Interactions with Lyoprotectants during Freeze-Drying. **Analytical Chemistry**, vol. 84, n° 2, p. 947–955, 17 jan. 2012. <https://doi.org/10.1021/ac2022184>.

RAGOONANAN, V.; LESS, R.; AKSAN, A. Response of the cell membrane-cytoskeleton complex to osmotic and freeze/thaw stresses. Part 2: The link between the state of the membrane-cytoskeleton complex and the cellular damage. **Cryobiology**, vol. 66, n° 2, p. 96–104, abr. 2013. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2012.10.008>.

ROGER, J.-M.; CHAUCHARD, F.; BELLON-MAUREL, V. EPO–PLS external parameter orthogonalisation of PLS application to temperature-independent measurement of sugar content of intact fruits. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, vol. 66, n° 2, p. 191–204, jun. 2003. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(03\)00051-0](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(03)00051-0).

SANTAGAPITA, P.; LAGHI, L.; PANARESE, V.; TYLEWICZ, U.; ROCCULI, P.; ROSA, M. D. Modification of Transverse NMR Relaxation Times and Water Diffusion Coefficients of Kiwifruit Pericarp Tissue Subjected to Osmotic Dehydration. **Food and Bioprocess Technology**, vol. 6, n° 6, p. 1434–1443, 10 jun. 2013. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0818-5>.

SHI, J.; ZHANG, L.; LEI, Y.; SHEN, H.; YU, X.; LUO, Y. Differential proteomic analysis to identify proteins associated with quality traits of frozen mud shrimp (*Solenocera melantho*) using an iTRAQ-based strategy. **Food Chemistry**, vol. 251, p. 25–32, 15 jun. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.046>.

SUKUMARAN, S.; XIANG, W.; BEAN, S. R.; PEDERSEN, J. F.; KRESOVICH, S.; TUINSTRA, M. R.; TESSO, T. T.; HAMBLIN, M. T.; YU, J. Association Mapping for Grain Quality in a Diverse Sorghum Collection. **The Plant Genome**, vol. 5, nº 3, nov. 2012. <https://doi.org/10.3835/plantgenome2012.07.0016>.

SUN, Q.; ZHAO, X.; ZHANG, C.; XIA, X.; SUN, F.; KONG, B. Ultrasound-assisted immersion freezing accelerates the freezing process and improves the quality of common carp (*Cyprinus carpio*) at different power levels. **LWT**, vol. 108, p. 106–112, 1 jul. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.03.042>.

WANG, Z.; LIU, Y.; LI, H.; YANG, L. Rice proteins, extracted by alkali and α -amylase, differently affect in vitro antioxidant activity. **Food Chemistry**, vol. 206, p. 137–145, 1 set. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.042>.

WILLIAM, S.; 'SUZANNE, D. The science of freezing foods. 2021. **University of Minnesota Extension**. Disponível em: <http://www.extension.umn.edu/food/food-safety/preserving/freezing/the-science-of-freezing-foods/>. Acesso em: 27 set. 2023.

WOLD, S.; ANTTI, H.; LINDGREN, F.; ÖHMAN, J. Orthogonal signal correction of near-infrared spectra. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, vol. 44, nº 1–2, p. 175–185, dez. 1998. [https://doi.org/10.1016/S0169-7439\(98\)00109-9](https://doi.org/10.1016/S0169-7439(98)00109-9).

WORKMAN JR., JERRY ; WEYER, L. ; **Practical Guide and Spectral Atlas for Interpretive Near-Infrared Spectroscopy**. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2012. <https://doi.org/10.1201/b11894>.

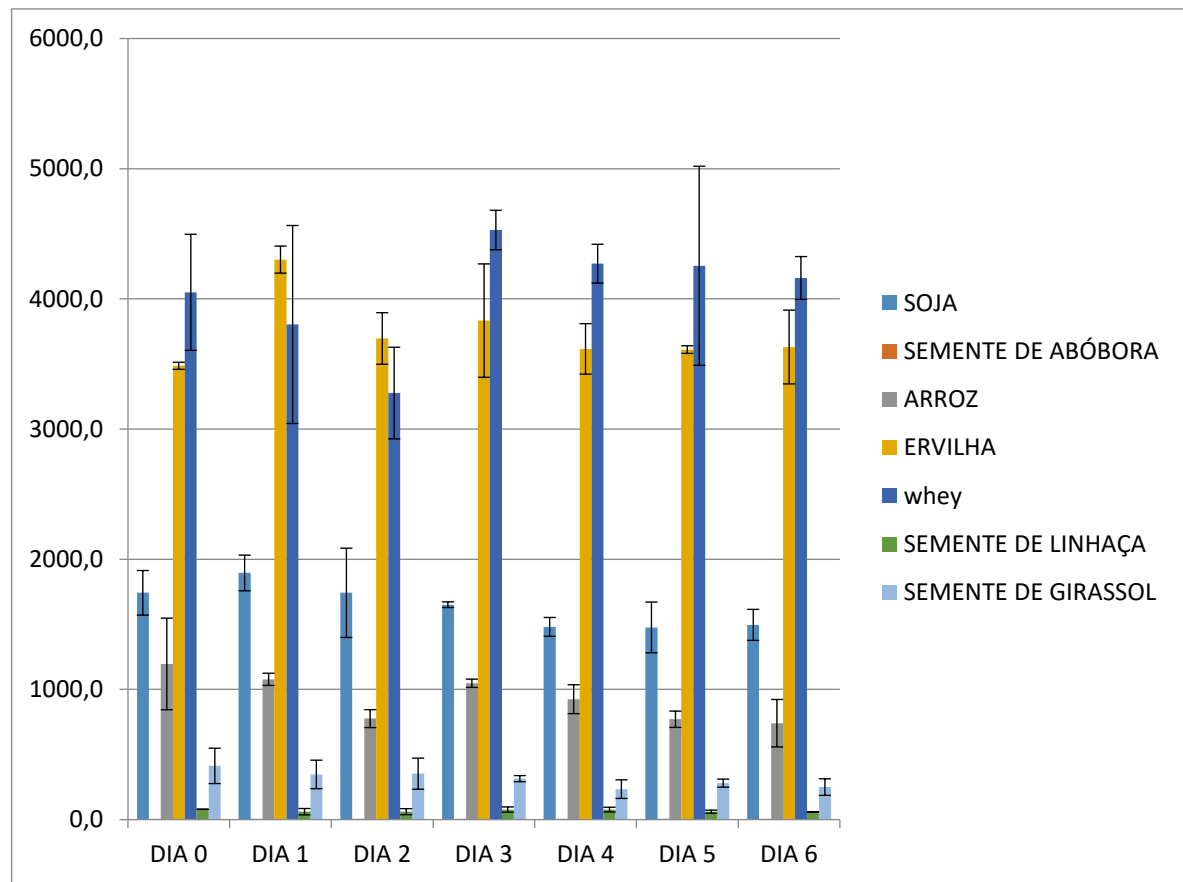
YAN, Z.; LIU, H.; LI, J.; WANG, Y. Qualitative and quantitative analysis of *Lanmaoa asiatica* in different storage years based on FT-NIR combined with chemometrics. **Microchemical Journal**, vol. 189, 1 jun. 2023. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2023.108580>.

ZAHIR, S. A. D. M.; OMAR, A. F.; JAMLOS, M. F.; AZMI, M. A. M.; MUNCAN, J. A review of visible and near-infrared (Vis-NIR) spectroscopy application in plant stress detection. **Sensors and Actuators A: Physical**, vol. 338, p. 113468, maio 2022. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2022.113468>.

ZAYAS, J. F. **Functionality of Proteins in Food**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1997. ISBN 9783642638565. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-642-59116-7>.

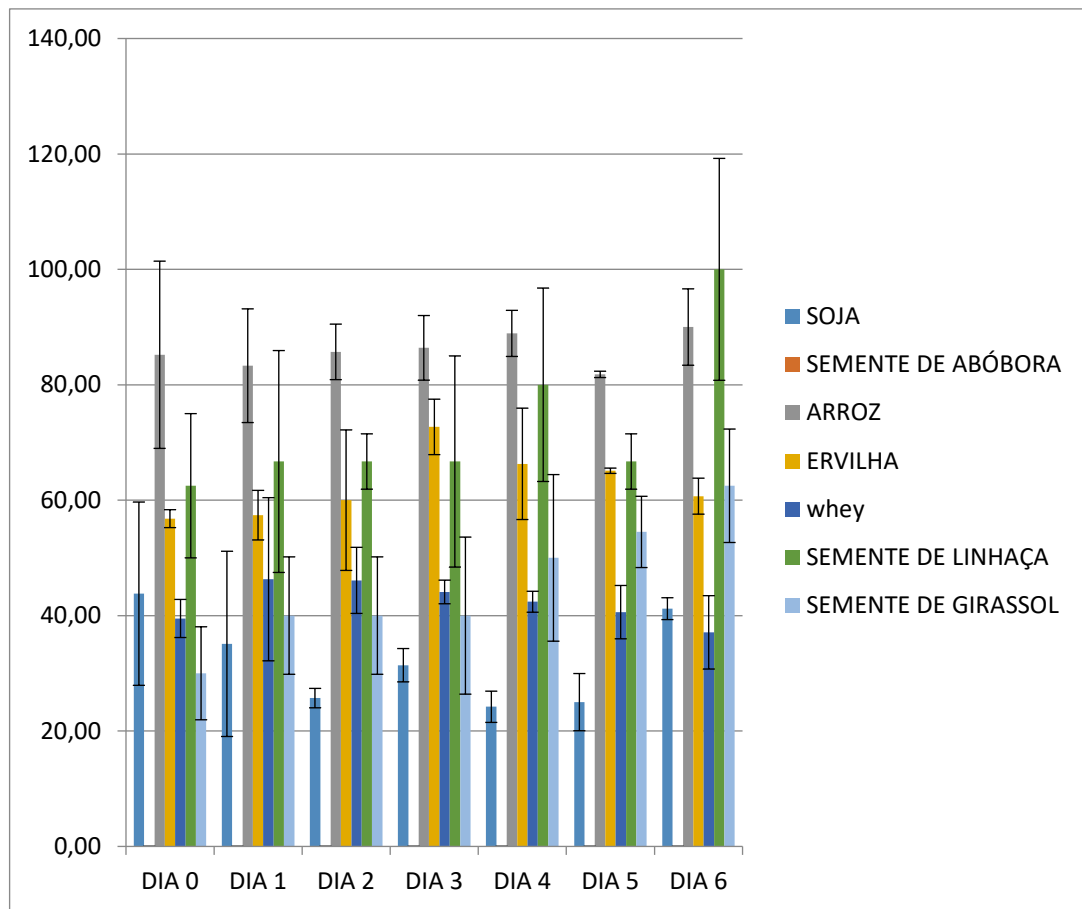
ZHAO, X.; VÁZQUEZ-GUTIÉRREZ, J. L.; JOHANSSON, D. P.; LANDBERG, R.; LANGTON, M. Yellow Mealworm Protein for Food Purposes - Extraction and Functional Properties. **PLOS ONE**, vol. 11, nº 2, p. e0147791, 3 fev. 2016. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147791>.

APÊNDICE A – Gráficos referentes ao efeito do congelamento em cada propriedade tecnológica das amostras de proteínas

Gráfico 1 - Capacidade de Formação de Espuma (FE)

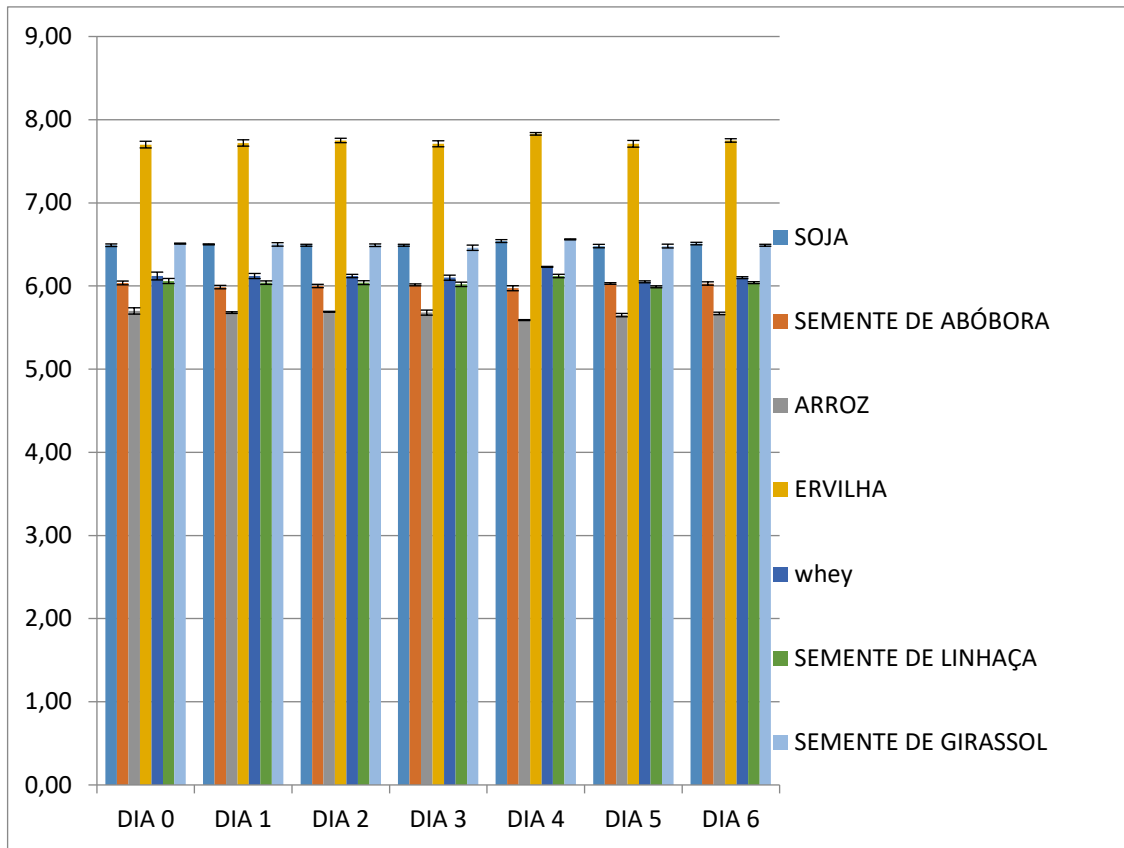
Fonte: Autoria própria (2023).

Gráfico complementar 1, Capacidade de Formação de Espuma (FE) dada em mL de espuma por grama de proteína, demonstrada pelas médias e desvio padrão.

Gráfico 2 - Estabilidade de Espuma (EE)

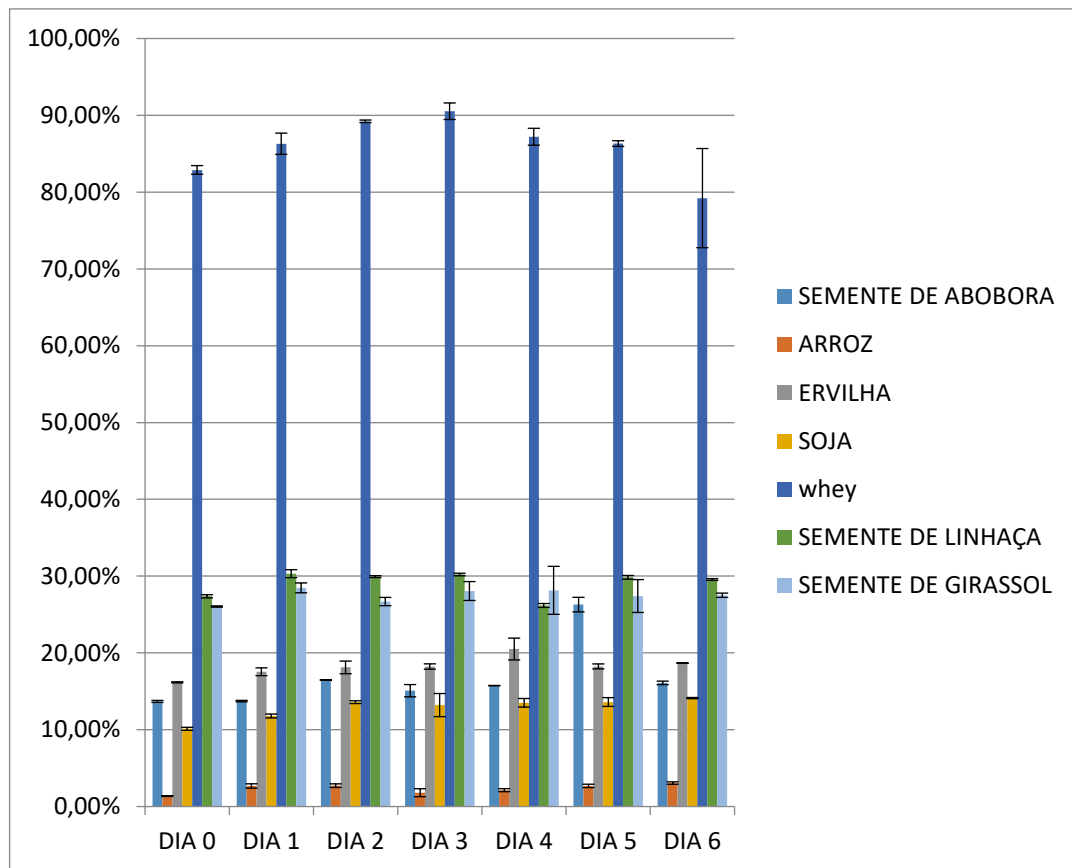
Fonte: Autoria própria (2023).

Gráfico complementar 2, Estabilidade de Espuma (EE) dada em % de espuma que se manteve após 30 minutos, demonstrada pelas médias e desvio padrão.

Gráfico 3 - pH

Fonte: Autoria própria (2023).

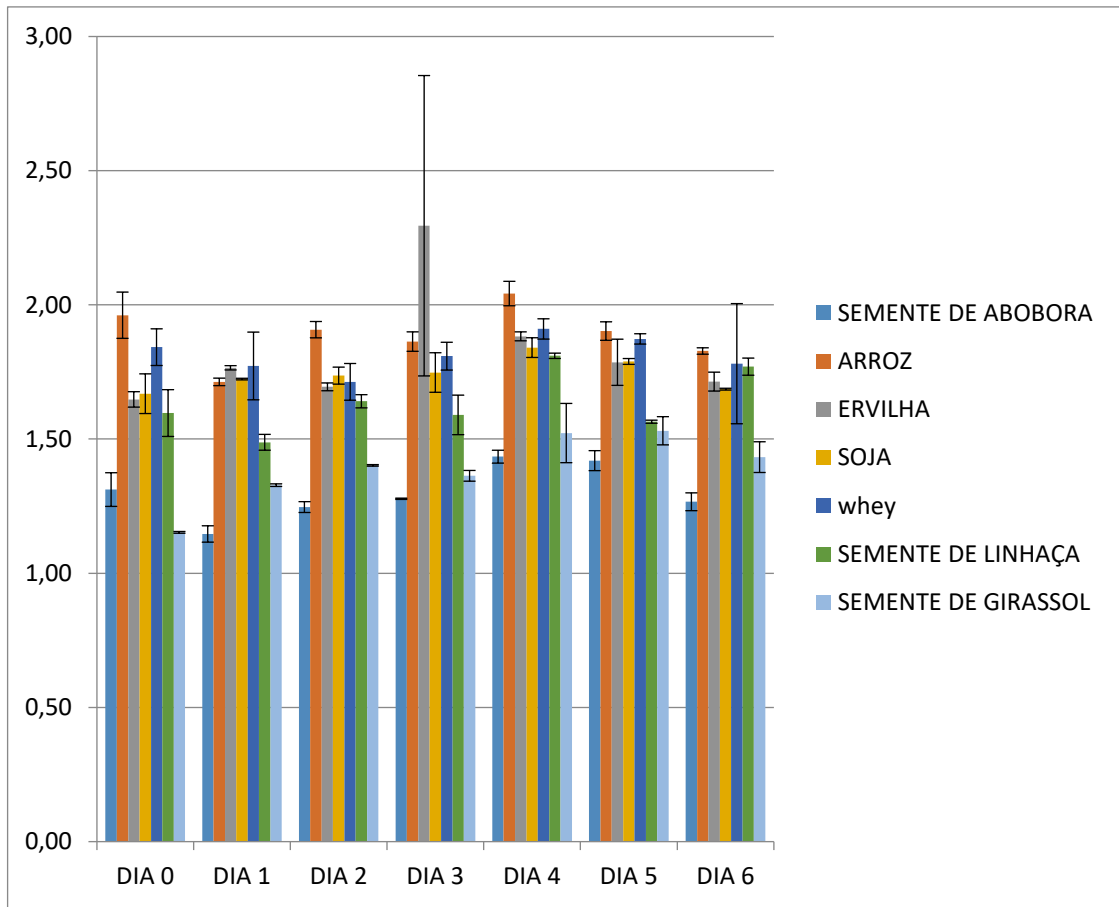
Gráfico complementar 3, pH, demonstrada pelas médias e desvio padrão.

Gráfico 4 - Solubilidade (SS)

Fonte: Autoria própria (2023).

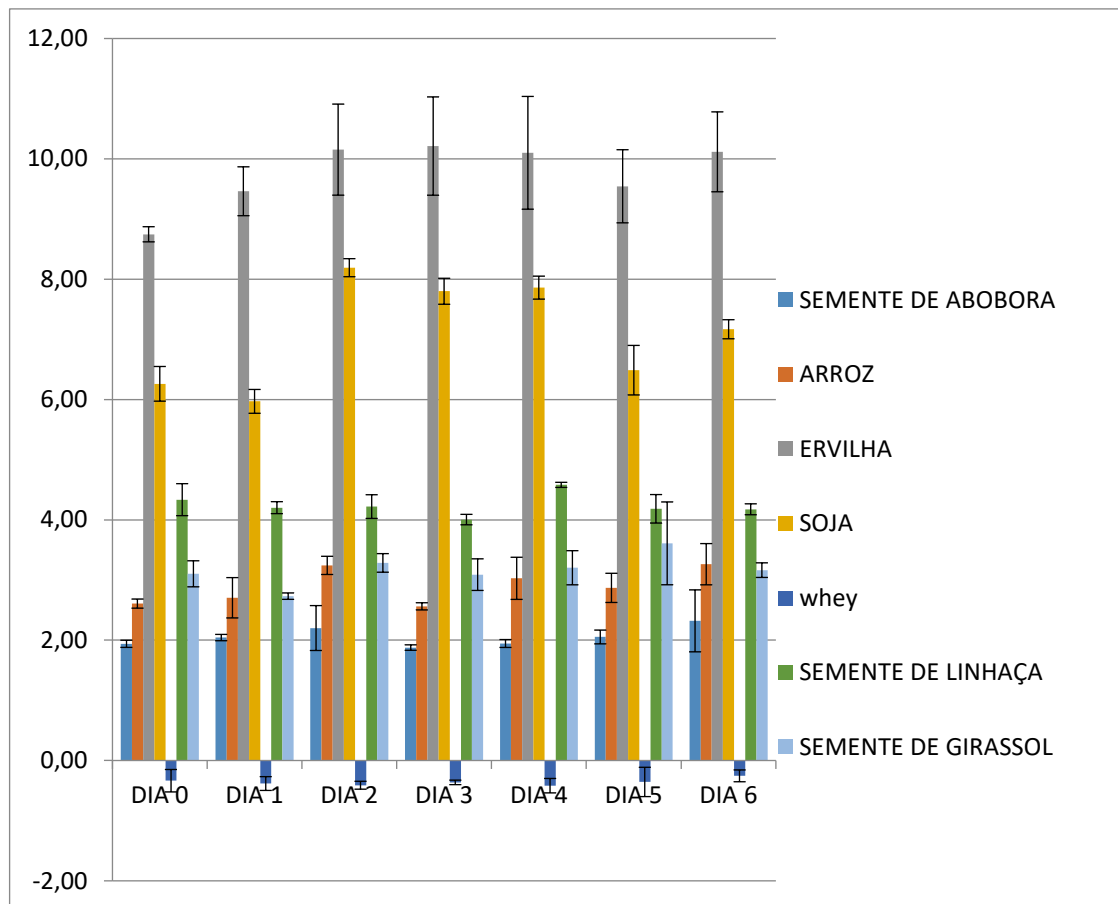
Gráfico complementar 4, Solubilidade (SS) dada em % de proteína solúvel em água, demonstrada pelas médias e desvio padrão.

Gráfico 5 - Capacidade de Retenção de Óleo (CRO)



Fonte: Autoria própria (2023).

Gráfico complementar 5, Capacidade de Retenção de Óleo (CRO), dada em mL de óleo absorvida por g de amostra de proteína, demonstrada pelas médias e desvio padrão.

Gráfico 6 - Capacidade de Retenção de Água (CRA)

Fonte: Autoria própria (2023).

Gráfico complementar 6, Capacidade de Retenção de Água (CRA), dada em mL de água absorvida por g de amostra de proteína, demonstrada pelas médias e desvio padrão.

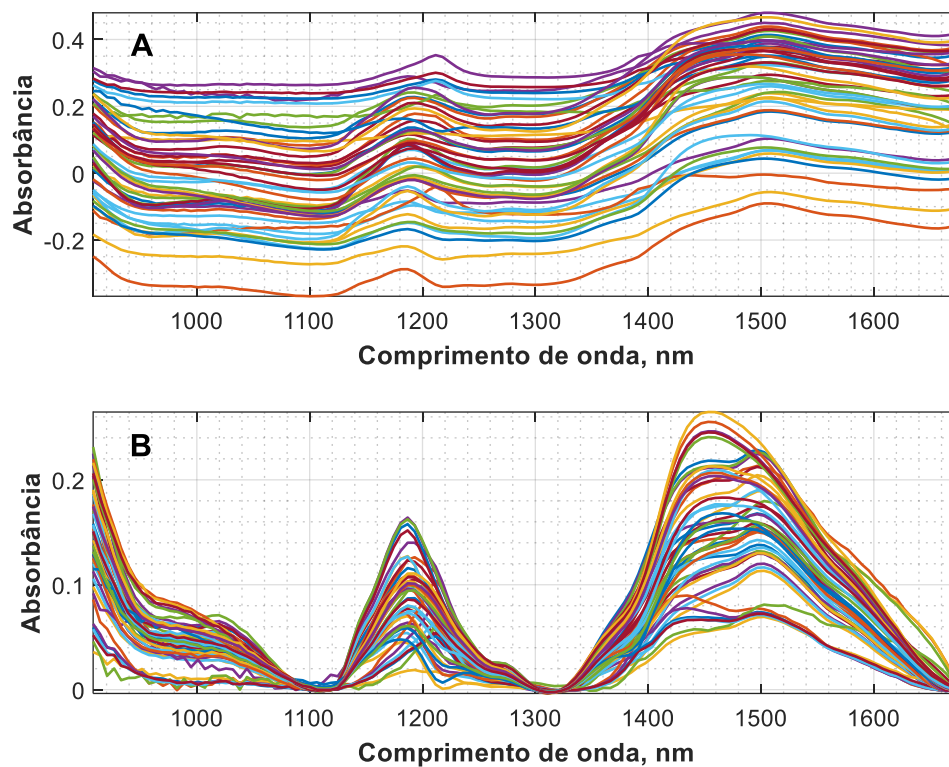
Gráfico 7 – Espectros na região NIR

Gráfico complementar 7, Espectros na região NIR de todas as proteínas avaliadas **(A)** –brutos e **(B)** após processamento por ortogonalização de parâmetros externos.