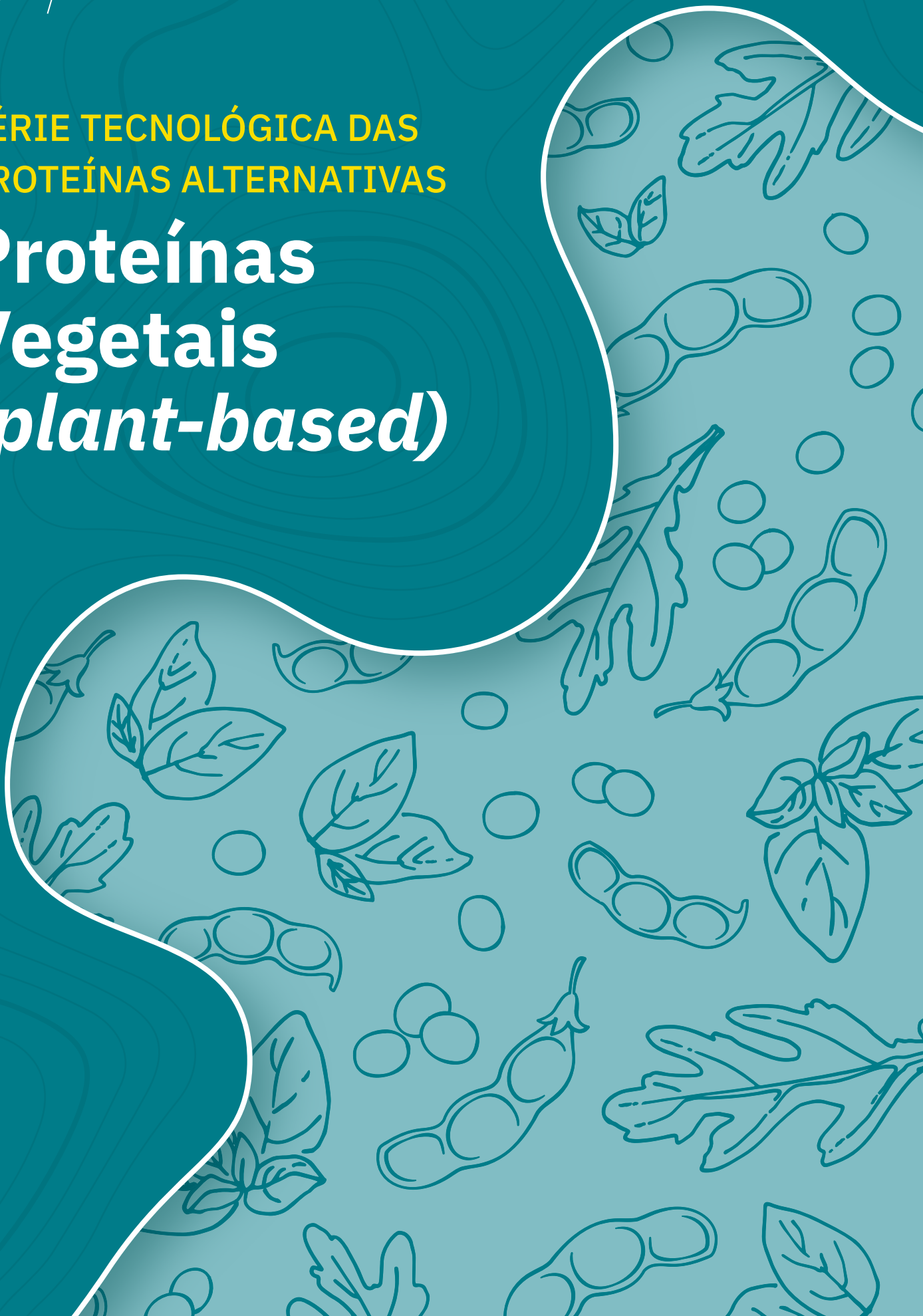
gfi Brasil

SÉRIE TECNOLÓGICA DAS
PROTEÍNAS ALTERNATIVAS

Proteínas Vegetais *(plant-based)*



Apresentação

O The Good Food Institute (GFI) é uma organização internacional sem fins lucrativos que trabalha para transformar o sistema de produção de alimentos. Nós atuamos no Brasil, Estados Unidos, Índia, Israel, em países da Europa e da região Ásia-Pacífico para construir um mundo onde proteínas alternativas não sejam mais alternativas. Somos financiados por filantropia, e todo nosso trabalho é prestado gratuitamente à sociedade. Nós existimos para tornar os sistemas alimentares melhores para o planeta, para as pessoas e para os animais. Para isso, identificamos as soluções mais efetivas, buscamos recursos e talentos e empoderamos parceiros em todo o sistema de alimentos, a fim de tornar as proteínas alternativas mais acessíveis.

Reimaginar a forma como obtemos proteína para consumo humano é urgente e fundamental. Produtos análogos aos de origem animal obtidos a partir de plantas são uma das alternativas concretas para ajudarmos o Brasil na sua transição para uma agricultura segura, justa e sustentável. Lado a lado com as proteínas sustentáveis de origem animal, podemos formar uma resposta consistente do nosso país e da nossa economia agrícola ao novo cenário, no qual diferentes fontes de obtenção de proteína para consumo humano conviverão. Esse é um mercado “e” e não um mercado “ou”: há espaço e demanda para atuação de todos.

A importância de uma compilação robusta de dados sobre o estado-da-técnica no desenvolvimento deste segmento motivou o GFI Brasil, em parceria com o Instituto de Tecnologia de Alimentos (Ital), a lançar este fascículo da Série Tecnológica em Proteínas Alternativas, abordando uma revisão bibliográfica abrangente sobre as diversas fontes de proteínas vegetais, suas características e os processos mais utilizados para extração, concentração e isolamento. Ainda, são destacados os aspectos nutricionais, a presença de compostos antinutricionais e as propriedades funcionais das proteínas vegetais.

Esperamos que este fascículo da Série Tecnológica em Proteínas Alternativas seja uma fonte de conhecimento sobre a tecnologia de produção de alimentos feitos de plantas análogos aos produtos de origem animal, partindo desse conjunto único de informações científicas aqui apresentado.

Ficha de Créditos

Autores

Maria Teresa Bertoldo Pacheco
Mitie Sônia Sadahira

Revisão

Katherine Helena Oliveira de Matos
Mariana Demarco
Cristiana Ambiel
Lorena Silva Pinho
Isabela de Oliveira Pereira

Projeto Gráfico

Fabio Cardoso

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação – CIP

P116

Pacheco, Maria Teresa Bertoldo; Sadahira, Mitie Sônia
Proteínas vegetais (plant-based) / Maria Teresa Bertoldo Pacheco e Mitie Sônia Sadahira – São Paulo: Tiki Books: The Good Food Institute Brasil, 2022. (Série Tecnológica das Proteínas Alternativas)
E-Book: PDF, 51 p.; IL.

ISBN 978-65-87080-41-3

1. Alimentos. 2. Cadeia Produtiva Alimentar. 3. Tecnologia de Alimentos. 4. Inovação. 5. Proteínas Alternativas. 6. Proteína Vegetal. 7. Plant Based. I. Título. II. Série. III. Características e processos de produção das proteínas vegetais. IV. Aspectos nutricionais das proteínas vegetais. V. Pacheco, Maria Teresa Bertoldo. VI. Sadahira, Mitie Sônia VII. Série Tecnológica das Proteínas Alternativas. VIII. IFC/Brasil.

CDU 664 **CDD 664**

Catalogação elaborada por Regina Simão Paulino – CRB 6/1154

Índice

1. Introdução 5

2. Características e processos de produção das proteínas vegetais 8

2.1. Proteínas e fontes proteicas 9

2.2. Técnicas de extração de proteínas vegetais 10

2.2.1. Extração convencional 10

2.2.2 Extração não-convencional 15

2.3. Estrutura e funcionalidade das proteínas 19

2.3.1 Funcionalização das proteínas 20

3. Aspectos nutricionais das proteínas vegetais 28

3.1. Importância da composição aminoacídica 29

3.2. Digestibilidade 31

3.3. Biodisponibilidade de aminoácidos 31

3.4. Fatores antinutricionais/antinutrientes (FANs) ou tóxicos 32

3.4.1. Classificação de alguns antinutrientes e efeitos adversos 32

3.4.2. Redução/eliminação de fatores antinutricionais 35

Saiba mais 36

Referências 37

1. Introdução

Asinha de frango vegetal. Crédito: Kerry.

Kibe vegetal. Crédito: Plant Plus Foods.

O conceito adquirido pelos consumidores de que uma alimentação à base de vegetais é mais saudável e sustentável ambientalmente do que as de uma dieta baseada em proteínas de origem animal tem impulsionado o mercado na procura de novas fontes proteicas de origem vegetal (Pimentel & Pimentel, 2003).

Os alimentos ***plant-based*** (ou vegetais) são aqueles produzidos a partir de plantas e que mimetizam as características de cor, sabor, textura e aparência dos produtos de origem animal os quais visam substituir, como carnes, frutos do mar, leite, ovos e laticínios. Não são incluídos nessa definição os alimentos tradicionais feitos de plantas, como leguminosas, tofu e *tempeh*.

O mercado de *plant-based* é extremamente promissor, já que existe um aumento na procura de substitutos de carne, com diversas oportunidades de crescimento. Contudo, para substituir a proteína de origem animal são necessárias matérias-primas de origem vegetal que atendam às propriedades nutricionais, funcionais e sensoriais dos produtos similares e tradicionalmente consumidos (Hoek et al., 2011). A maior diferença entre as matrizes de origem animal e vegetal consiste na composição, sendo que as animais basicamente são formadas por água, proteína e gordura. Embora as fontes proteicas de origem vegetal também contenham esses componentes, em geral apresentam outros constituintes que diluem a fração proteica na matriz alimentar. Além da água, possuem carboidratos simples e complexos, como fibra alimentar, amido e óleo. Portanto, o desenvolvimento de novos ingredientes proteicos requer sua caracterização funcional e nutricional, de maneira a possibilitar uma aplicação adequada como proteína análoga.

Para que as proteínas vegetais sejam utilizadas em substituição às animais, ou como ingredientes em alimentos proteicos, precisam apresentar funcionalidades tecnológicas. Essas propriedades são determinantes para definir o leque de aplicação da proteína e sua aceitação pelo consumidor. Portanto, para melhoria dessas funcionalidades, tais como solubilidade, capacidade de retenção de óleo/água, geleificação ou emulsificação, são realizadas modificações químicas, enzimáticas e mecânicas para sua funcionalização e aplicação.

Diante da possibilidade de introduzir novas proteínas vegetais, é importante conhecer sua qualidade nutricional. São destacados os critérios e métodos disponíveis para avaliação de seu valor biológico, em especial a importância da presença e teor dos aminoácidos essenciais. Não menos relevante é a digestibilidade proteica e a ausência de fatores considerados antinutritivos e tóxicos na proteína vegetal. Muitas vezes são aplicados tratamentos físico-químicos para o controle desses fatores.

Apesar de muitas fontes proteicas vegetais já serem parte da dieta da população, muitas vezes é necessário reavaliar sua segurança, dada a possibilidade de introdução de novas formas de apresentação e de maior incidência no cardápio médio do consumidor.

Bacon Crispy vegetal. Crédito: Verdali.

2. Características e processos de produção das proteínas vegetais

Fábrica da Vida Veg. Crédito: Vida Veg.

Bolinhos de bacalhau produzidos com ingredientes vegetais. Crédito: Kerry

2.1. Proteínas e fontes proteicas

Proteínas são componentes essenciais a todas as células vivas e estão relacionadas praticamente a todas as funções fisiológicas, atuando como reguladores bioquímicos para a manutenção das condições biológicas. Quimicamente, as proteínas são polímeros de elevado peso molecular (acima de 10.000 kDa), cujas unidades básicas são os aminoácidos, ligados entre si por ligações peptídicas. As propriedades de uma proteína são determinadas pelo número e espécie dos resíduos de aminoácidos, bem como pela sequência desses compostos na molécula.

A proteína é um macronutriente essencial para o organismo, presente em maior ou menor quantidade em diversos tipos de alimentos, sendo os grãos, cereais e leguminosas os principais alimentos vegetais fonte de proteína na alimentação humana (Quadro 1) (Sgarbieri, 1996). Vegetais que

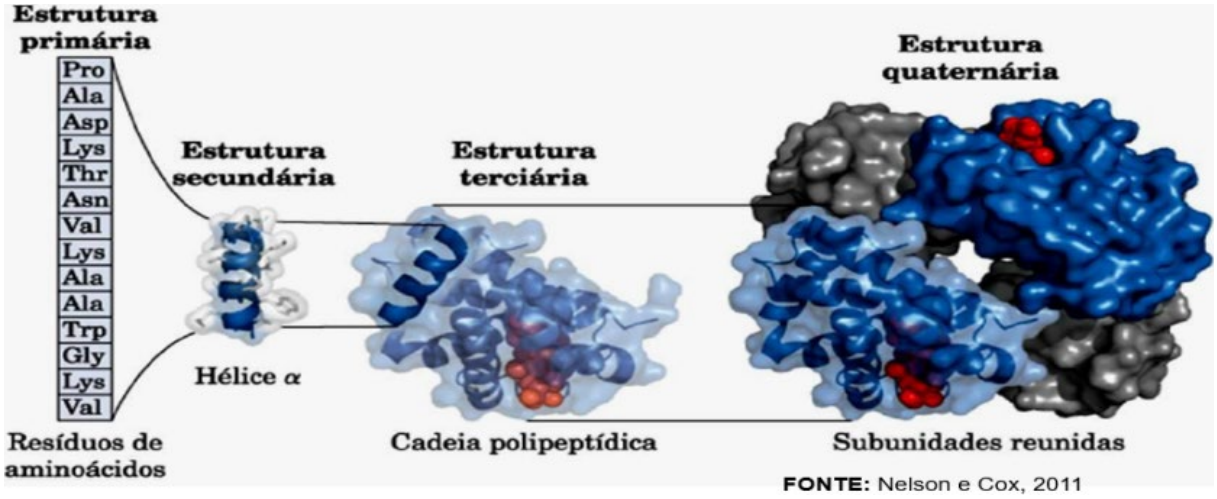


Figura 1. Representação da organização estrutural das proteínas.
Fonte: Nelson e Cox (2011).

apresentam teores de proteína entre 20 a 40% são considerados economicamente viáveis para extração da proteína na forma de farinhas, concentrados e isolados proteicos.

As sementes oleaginosas, tais como soja, castanhas, amêndoas, amendoim, gergelim e girassol, são consideradas uma boa fonte para extração proteica, pois, uma vez extraído o óleo, a fração proteica é concentrada (Day, 2013). As sementes de leguminosas, como ervilha, grão-de-bico e tremoço, também apresentam uma fração proteica apreciável, assim como um teor de carboidratos bastante elevado. Grande parte dos produtos à base de plantas encontrados no Brasil atualmente são produzidos a partir de soja nacional ou de ervilha importada.

Quadro 1. Fontes para extração de proteínas vegetais.

Classificação	Fontes de proteína vegetal
Cereais e pseudocereais	Arroz, aveia, cevada, quinoa, tefe, centeio, colza
Leguminosas	Soja, feijão, fava, ervilha, lentilha, tremoço, grão de bico
Sementes, grãos e nozes	Girassol, gergelim, canola, cânhamo, linhaça, amêndoas, castanhas, nozes, sementes de abóbora, chia, baru, amendoim, trigo, painço, aveia
Folhas	Beterraba, ora-pro-nóbis, espinafre
Fontes não convencionais	Algas e fungos

Fonte: Elaboração própria.

Para que a proteína vegetal possa ser utilizada na elaboração de alimentos vegetais similares aos produtos cárneos, ou mesmo oferecer um percentual equivalente de proteína dos produtos de origem animal, ela precisa ser concentrada, com a redução do conteúdo de carboidratos e/ou outros componentes majoritários (óleo, por exemplo). Nos produtos derivados da soja esse refinamento já é usado e conhecido, oferecendo um amplo leque de produtos para o mercado, tais como *tempeh*, tofu, proteína de soja texturizada, extrato de soja e outros (Alcorta, Porta, Tárrega, Alvarez, & Vaquero, 2021).

2.2. Técnicas de extração de proteínas vegetais

2.2.1. Extração convencional

Nesse tópico são abordados estudos recentes relacionados a técnicas de extração de proteína, convencionais e não convencionais, ressaltando que muitas indústrias preferem os métodos convencionais devido à sua sustentabilidade econômica. Embora o método de extração esteja diretamente relacionado com as características da matéria-prima, em geral o convencional mais utilizado ocorre por meio do fracionamento úmido, visando à separação completa dos componentes e à obtenção de uma proteína de pureza mais elevada. A Figura 2 mostra um esquema geral das técnicas convencionais de extração de proteínas vegetais por via úmida e seca.

Em geral, tanto a extração via seca ou úmida envolvem três etapas iniciais de preparação da matéria prima, prévias ao processo de extração proteica: secagem; desengorduramento; e moagem. Essas etapas, por si só, já colaboram para a concentração da fração proteica.

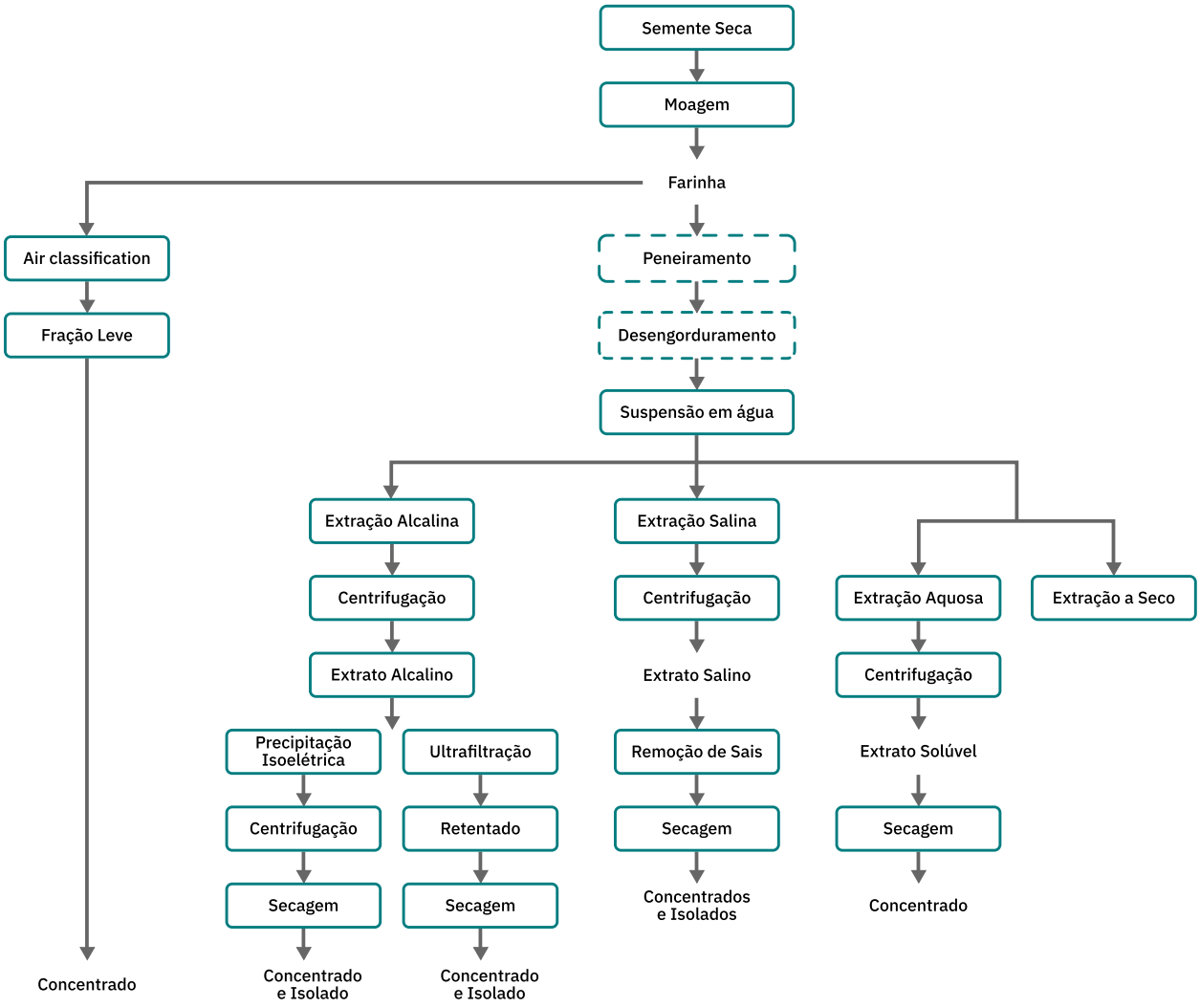


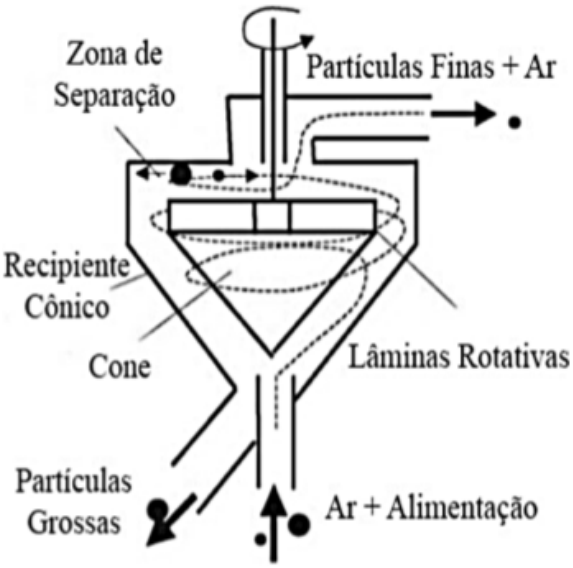
Figura 2. Fluxograma geral dos processos de extração de proteínas vegetais.
Fonte: Elaboração própria.

Fracionamento a seco

O fracionamento a seco tem sido aplicado para cereais e grãos com elevado conteúdo de amido (pulses) e tem o rendimento proteico limitado. A configuração entrelaçada entre a matriz proteica com os glóbulos de amido, para as diferentes matrizes, exige um estudo preliminar sobre as propriedades estruturais e as características do grão após a moagem (granulometria) para dimensionar o fluxo do ar de arraste com maior precisão e otimizar a separação das frações, com base na diferença de peso entre as partículas da farinha (Pelgrom, Schutyser, & Boom, 2012). Cabe ressaltar que os teores de proteína por essa técnica alcançam apenas a concentração, sendo necessária a aplicação de métodos adicionais para a obtenção de um isolado proteico.

Imagem ilustrativa de feijão e pulses. Fonte: Adobe Stock.

A técnica usa como princípio a diferença em densidade e tamanho das frações da farinha, permitindo a separação das partes proteicas (leve) e amiláceas (pesada), quando uma farinha muito fina é submetida a um fluxo espiral de ar (Boye, Zare, & Pletch, 2010). A moagem por impacto é preferida por romper as paredes celulares e produzir farinhas com partículas de dimensões pequenas o suficiente para preservar o conteúdo dos grânulos de amido sem ocasionar danos, e ao mesmo tempo permitir a separação da matriz proteica entrelaçada ao amido (Vose, 1978). O processo inicia-se com a dispersão da farinha fina em um grande fluxo de ar; em seguida, o fluxo entra em uma câmara cônica na qual encontra um disco classificador com lâminas que criam um contrafluxo centrífugo, separando as partículas grandes das pequenas (Figura 3). As unidades em que a força de arraste supera a força centrífuga passam entre as lâminas do disco classificador e são separadas da fração pesada, que descende (Schutyser, Pelgrom, van der goot, & Boom, 2015).



Fonte: Adaptado de SHAPIRO & GALPERIN (2005).

Figura 3. Esquema do classificador rotativo para separação dos principais componentes das farinhas: amido e proteínas.
Fonte: Adaptado de Shapiro e Galperin (2005).

Como alternativa aos processos de concentração realizados em meios úmidos, o método de classificação pelo ar apresenta menor custo e trabalho, não utiliza reagentes e, portanto, dispensa o tratamento de efluentes, possuindo as cascas dos grãos como único subproduto (Sosulski & Youngs, 1979). Esta tecnologia apresenta-se muito promissora como um processo limpo para obter produtos e ingredientes saudáveis, em que os concentrados proteicos mantêm as propriedades funcionais nativas. O Quadro 2 mostra o rendimento obtido para algumas leguminosas (Schutyser et al., 2015).

Quadro 2. Concentração das proteínas de leguminosas por classificação pelo ar.

Leguminosa	Proteína inicial da farinha	Proteína da fração fina da farinha	Concentração da proteína
	g/100 g de massa seca		%
Tremoço *(Lupinus albus L.)*	40,4	59,4	1,47
Lentilha	23,7	57,6	2,43
Ervilha	23,8	58,5	2,46
Fava	31,0	69,9	2,25
Feijão mungu	27,2	62,3	2,29
Feijão comum	26,3	54,7	2,08
Feijão branco *(Phaseolus vulgaris)*	27,2	56,7	2,08
Feijão-de-corda	27,2	50,9	1,87
Feijão-de-lima *(Phaseolus lunatus)*	23,7	48,9	2,06

Fonte: Schutyser et al. (2015).

Extração úmida

Os princípios e etapas envolvidos nas técnicas úmidas são descritos em vários trabalhos (Quadro 3) e podem ser agrupados em métodos:

- químicos, baseados na aplicação de álcalis ou solventes orgânicos, tais como soluções etanólicas ou salinas;
- bioquímicos, através da aplicação de enzimas; e
- físicos, considerados tecnologias emergentes, pois são utilizados equipamentos não convencionais para melhorar a recuperação das proteínas sem fazer uso de reagentes com impacto ambiental.

Métodos químicos ou bioquímicos também são usados em combinação com outras estratégias para melhorar a recuperação de proteínas. O Quadro 3 exemplifica algumas técnicas usadas para extração úmida de proteína.

Quadro 3. Extração úmida de proteína de várias amostras vegetais, com água, solvente orgânico ou solução alcalina.

Solvente	Fonte vegetal	Condição otimizada	Rendimento*	Referência
2 M NaCl (Extração meio ácido)	Girassol	Proporção amostra / solvente 1:10 Temp. ambiente por 1h	23 – 26% proteína recuperada com cor clara	Pickardt, Eisner, Kammerer e Carle, 2015
1 mol/L NaOH (Extração) precipitação isoelétrica (pH 4,5/1 mol/L HCL)	Girassol	Proporção amostra / solvente 1:10 25 °C por 1 h	43 – 56 % de recuperação	Alexandrino et al., 2017
0,01 M NaOH	Arroz	Proporção amostra / solvente 1:15 35 °C por 2h	15.198,07 mg/kg proteína recuperada	Hou *et al.*, 2017
Várias soluções extratoras 0,2 M KOH/ NaOH/0,2 M NaCl/ $NaHCO_3$	Ervilha	Proporção amostra / solvente 1:20 (m/ v) 40 °C por 60 min pH 9 – 10	85,2% rendimento proteína usando 0,2 M NaOH	Shafiqur, Islam, Rahman, Uddin e Mazumder, 2018
1 M NaOH	Rice bran	Proporção amostra / solvente 6:34 (m/v) 52 °C por 300 min pH 10	34,51% recuperação da proteína	Bernardi, Corso, Baraldi, Colla e Canan, 2018
KOH	Feijão verde	Proporção amostra / solvente 20mL/g 40 °C pH 9,1	77,32% rendimento de proteína com melhores propriedades funcionais	Du *et al.*, 2018
NaOH 1 M	Semente de tremoço	Proporção amostra / solvente 1:15 20 °C por 1h pH 9	28 % rendimento 63 % recuperação da proteína	Berghout *et al.*, 2015
1 M NaOH	*Grass Pea*	Proporção amostra: solvente 1:15(m/v) Temp. ambiente 58 min pH 9,9	14,25% Recuperação da proteína com melhor perfil funcional	Feyzi, Milani e Golimovahhed, 2018
1 N NaOH	Amendoim	Proporção amostra: solvente 1:10 (m/v) Temp. ambiente por 2 h pH 8,5	86% proteína recuperada com melhores propriedades funcionais	Jain, Prakash e Radha, 2015

*Rendimento expresso em recuperação de proteína
Fonte: Elaboração própria.

O processo de obtenção de concentrados e isolados proteicos por via úmida se baseia no comportamento das proteínas diante de um determinado pH. A técnica de solubilização das proteínas em pH alcalino seguida de precipitação isoelétrica é a mais largamente difundida para obtenção de produtos proteicos, podendo ser aplicada para uma grande diversidade de matrizes alimentares (Sgarbieri, 1996; Boye et al., 2010). Esse método se inicia a partir de uma dispersão da farinha de leguminosa em água na proporção de 1:5 até 1:20. O pH é elevado entre pH 8-11, pois a solubilidade das proteínas de leguminosas é máxima em meios alcalinos. A mistura permanece por intervalos de 30 a 180 minutos e a temperatura pode variar de 25 até 65°C para melhorar a solubilização. Compostos não solubilizados na solução são retirados por filtração ou centrifugação e, em seguida, a mistura tem o seu pH ajustado ao ponto isoelétrico das proteínas da leguminosa, em geral entre pH 4 e 5. Após a precipitação isoelétrica das proteínas, o material passa por etapas de purificação, incluindo lavagem, neutralização e secagem (Boye et al., 2010). A neutralização é essencial para dar funcionalidade e evitar a agregação irreversível das proteínas. Como métodos de secagem podem ser utilizados a liofilização e o *spray dryer* (secagem por aspersão).

2.2.2 Extração não-convencional

Novas tecnologias são usadas para auxiliar na extração de proteínas de plantas a fim de aumentar o rendimento, preservando as propriedades funcionais e nutricionais dessas moléculas. Uma série de técnicas modernas consideradas emergentes, tais como micro-ondas, ultrassom, campo elétrico pulsado, alta pressão, ultrafiltração e processos enzimáticos, podem ajudar a melhorar a eficiência da extração de proteínas. Após a aplicação dessas técnicas, ocorre o rompimento de estruturas da parede celular, o que auxilia na extração das proteínas e na sua concentração ou isolamento. As proteínas solúveis em meio alcalino podem ser separadas por ultrafiltração ou precipitação usando solventes como solução salina (NaCl), etanol e ajuste do pH até o ponto isoelétrico de precipitação (HCl). As proteínas do precipitado podem então ser recuperadas por centrifugação e submetidas ao processo de secagem. Podemos considerar nesse tipo de extração as técnicas descritas a seguir:

Extração de proteínas assistida por enzimas

A extração de proteínas pode ser aumentada pelo uso de enzimas que atuam em compostos específicos, contribuindo para a liberação da proteína das paredes celulares dos vegetais. As enzimas agem como catalisadores de alta especificidade que possuem a função de romper por hidrólise a parede celular e seus constituintes, tais como celuloses, hemiceluloses e pectinas. A ação enzimática rompe as células e provoca a liberação dos compostos intracelulares. Nesse caso são utilizadas carboidrases e amilases, com especificidade para quebrar as ligações de cadeias polissacarídicas

(Pojić, Mišan, & Tiwari, 2018). Técnicas de extração assistidas por enzimas aumentam o rendimento de extração proteica de material vegetal, assim como podem ser úteis para separar simultaneamente os elementos indesejados no produto final, como lipídeos e compostos antinutricionais (Hill, 2003; Niu et al., 2012; Pojić et al., 2018).

Essa técnica, em comparação com o método convencional de extração alcalina, tem menor impacto ambiental, sendo que os produtos obtidos também possuem superior qualidade ao serem preservadas suas características nativas, mais adequadas ao consumo humano (Pojić et al., 2018).

Extração salina

A solubilidade das proteínas é afetada pelo número e arranjo de cargas, a qual, por sua vez, depende da composição em aminoácidos, ou seja, da exposição dos resíduos ácidos e básicos. As partes não proteicas das moléculas, como os lipídeos, carboidratos e fosfatos, também afetam a solubilidade. Assim, a concentração salina (força iônica) tem elevada influência na solubilidade das proteínas, sendo uma estratégica para sua extração. A presença de sais em um meio aquoso promove o surgimento de forças iônicas originadas da dissociação do sal e da interação dos íons gerados com as moléculas do meio. As forças de interação desses íons com as cargas superficiais de moléculas proteicas aumentam sua solubilidade pela redução da interação proteína-proteína, pelo aumento da repulsão eletrostática e pela hidratação por pontes de hidrogênio. Esse fenômeno é conhecido como "*salting-in*" (Sgarbieri, 1996).

Contudo, em elevadas concentrações de sal, a dinâmica de forças iônicas entre moléculas é alterada: os íons passam a interagir mais fortemente com a água, promovendo a desidratação das proteínas, e a interação proteína-proteína volta a ser relevante o suficiente para reduzir as suas solubilidades. Esse fenômeno é conhecido como "*salting-out*" (Grande & Cren, 2016). A associação dos fenômenos *salting-in* e *salting-out* em etapas distintas de um procedimento possibilita a extração proteica de uma dispersão aquosa, concentrando os compostos a serem purificados a fim de produzir isolados proteicos (Rodríguez-Ambriz, Martínez-Ayala, Millán, & Davila-Ortíz, 2005). Algumas técnicas combinam o uso de sais com o aumento de pH, como na extração alcalina, com o objetivo de elevar o rendimento de extração (Hadnadjev et al., 2017).

O procedimento de extração salina consiste essencialmente na dispersão da farinha de leguminosa em uma solução salina aquosa sob agitação entre 30 minutos e 2 horas. O extrato obtido é centrifugado para remover impurezas insolúveis, enquanto o sobrenadante proteico é dissociado dos íons salinos por diluição em água gelada deionizada, ultrafiltração ou diálise. A proteína é recuperada por centrifugação e finalmente seca (Pickardt, Eisner, Karammer, & Carle, 2015).

Separação por membranas: ultrafiltração

A ultrafiltração (UF) é um método físico que utiliza tecnologia de membrana para separação das proteínas, após sua solubilização e extração alcalina. Nesse caso, o sobrenadante obtido após a centrifugação é submetido à UF para concentrar as proteínas e eliminar compostos menores. Dessa forma, a UF atua como tecnologia complementar, uma alternativa à precipitação isoelétrica (Boye et al., 2010).

O princípio da técnica de extração de proteínas por UF se baseia na habilidade que as membranas possuem de controlar a taxa de fluxo de espécies químicas pela membrana, de acordo com o tamanho molecular. A aplicação permite a permeação de componentes específicos de uma mistura, enquanto outros elementos têm seu fluxo dificultado (Baker, 2012). A UF é um processo com operações unitárias e fenômenos muito bem conhecidos e estabelecidos e, em razão disso, a tecnologia é bem desenvolvida industrialmente.

Esse método utiliza uma membrana com poros muito pequenos (microporos), de acordo com a finalidade, para separar água e microsolutos de macromoléculas e coloides. O diâmetro médio dos poros varia de 1 a 100 nm (10 a 1000 ångström), que impedem a passagem de corpos maiores ao tamanho do poro (*cut off*). Em geral, uma pressão é aplicada para gerar um fluxo do processo e forçar a passagem da solução alimentada, que será obrigada a permear os poros da membrana. O esquema simplificado do processo de UF é representado na Figura 4.

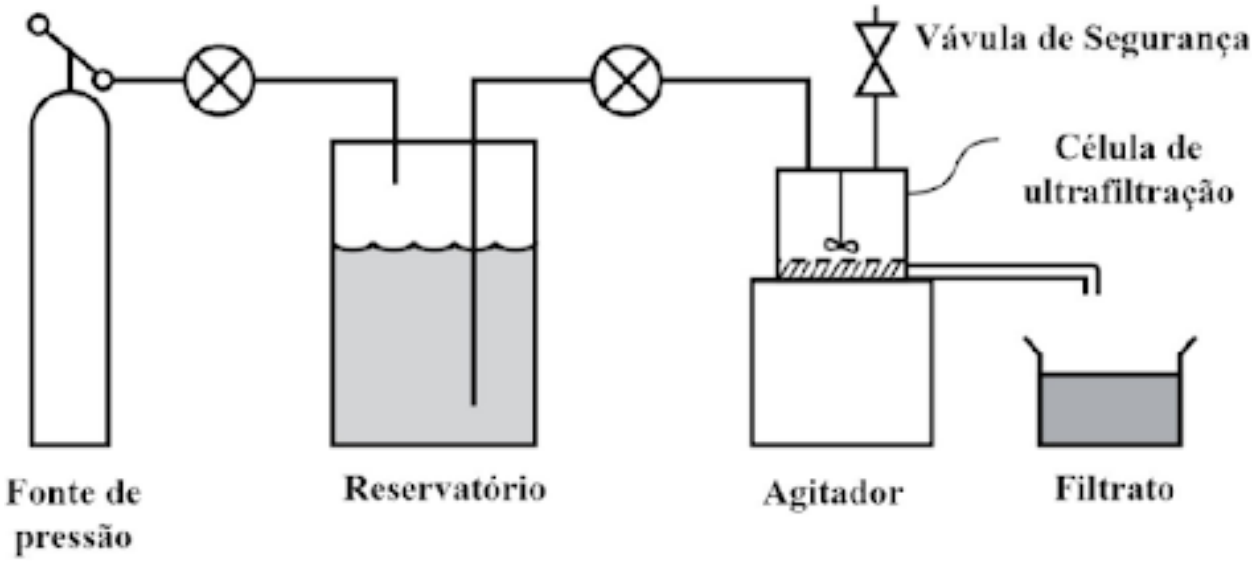


Figura 4. Esquema do processo de fracionamento por membranas, em que as proteínas são retidas pela membrana no interior da célula de ultrafiltração.
Fonte: Baker (2012).

Separação eletrostática de proteínas

A separação eletrostática carrega as partículas, negativa ou positivamente, permitindo a separação dessas sob um campo elétrico externo de acordo com suas diferentes características elétricas. Os princípios da técnica de separação eletrostática já são bem aplicados na separação de plásticos e na indústria de mineração (Tabtabaei, Jafari, Rajabzadeh, Reza, & Raymond, 2016; Pojić et al., 2018).

Para carregar as partículas existem algumas técnicas comerciais disponíveis: indução condutiva; bombardeamento corona; e triboeletrificação. A indução condutiva carrega partículas segundo as propriedades de polaridade e condutividade elétrica. Já o bombardeamento corona baseia-se no bombardeio de íons gerados a partir da passagem de um gás ionizado entre dois eletrodos de alta voltagem, o que pode promover o carregamento de partículas que atravessam o campo corona. O princípio da separação triboelétrica é a exploração do efeito triboelétrico, que promove a eletrificação por contato ou fricção com materiais diferentes. Após o carregamento das partículas, um campo elétrico separa esses materiais (Tabtabaei et al., 2016).

A separação eletrostática já foi aplicada com sucesso em cereais e leguminosas. Utilizando o bombardeamento corona foi possível limpar e promover a qualidade de sementes de colza (Tabtabaei et al., 2016), enquanto a indução condutiva mostrou eficácia na separação de cascas e glúten de farinha de trigo (Tabtabaei et al., 2016). A separação triboelétrica foi superior em 15% de pureza proteica quando comparada ao método de classificação por fluxo de ar (Pojić et al., 2018).

Extração de proteínas assistidas por técnicas de ruptura celular

Algumas técnicas podem utilizar abordagens diferentes com potencial para promover o rendimento de extração das proteínas vegetais, com redução de custos e de impacto ambiental. Como as proteínas estão alojadas no interior das células vegetais, sua extração é maximizada quando essas barreiras físicas são rompidas, liberando para o meio externo esses compostos. Tradicionalmente, a ruptura celular pode ser atingida por meios mecânicos, químicos ou térmicos. (Pojić et al., 2018).

Extração assistida por micro-ondas, extração assistida por ultrassom, extração com fluido supercrítico, extração com líquido pressurizado e energia elétrica pulsada são técnicas promissoras para promover a ruptura celular de materiais vegetais, ao mesmo tempo em que evitam interações com reagentes. Em geral, a extração assistida por micro-ondas utiliza a energia de radiação induzida por ondas eletromagnéticas entre frequências de 300 MHz a 300 GHz, as quais aumentam o rendimento de extração por facilitar a penetração do solvente na matriz. A energia proveniente da radiação favorece a extração proteica, devido ao rompimento

das ligações de hidrogênio, o que facilita a migração de íons dissolvidos e aumenta a porosidade do material (Pojić et al., 2018).

A extração assistida por ultrassom explora o fenômeno de cavitação produzido por ondas sonoras, que gera pontos de baixa pressão no solvente (geralmente água), ocasionando uma bolha gasosa que, ao se colapsar, libera uma energia capaz de criar fissuras na matriz vegetal. As fissuras produzidas facilitam a penetração do solvente e consequentemente promovem a extração de proteínas (Ochoa et al., 2016). A potência e o tempo aplicados variam de acordo com a matriz e podem resultar no aquecimento e desnaturação da proteína, causando alteração de sua estrutura e das propriedades funcionais, assim como influenciar na modificação de demais compostos no material (Pojić et al., 2018).

Extração assistida por alta pressão (EAAP)

Extração assistida por alta pressão (EAAP) é uma técnica emergente não térmica que tem grande potencial no campo da segurança alimentar, pois o tratamento térmico convencional pode reduzir o valor nutritivo dos alimentos. A EAAP depende de vários fatores, tais como, pressão de extração, tempo de operação, natureza e concentração do solvente de extração e proporção sólido-líquido (Mustafa & Turner, 2011). A pressão do fluido geralmente varia de 100 a 1000 MPa. Inicialmente, o produto é misturado ao meio de extração (água ou solução salina) e colocado dentro do vaso de pressão.

A pressão é aumentada para o nível necessário em um curto período de tempo, sendo que a pressão diferencial entre o interior da célula vegetal e o ambiente aumenta à medida que a pressão se eleva, causando deformação e rupturas na parede celular. O solvente penetra com mais facilidade através da parede celular danificada para dentro da célula, aumentando a transferência de massa de compostos solúveis. A aplicação do método de extração EAAP está recebendo mais atenção em relação aos métodos convencionais de extração à base de solvente, por ser mais sustentável. A utilização de EAAP em associação com o tratamento enzimático, de micro-ondas ou ultrassom pode melhorar ainda mais a recuperação de proteínas vegetais.

2.3. Estrutura e funcionalidade das proteínas

Além da função como macronutrientes, as proteínas apresentam propriedades funcionais tecnológicas tais como solubilidade, capacidade de retenção de água e óleo, formação e estabilização de géis, espumas e emulsões, contribuindo dessa forma na textura, aparência e estabilidade dessas estruturas. Essas propriedades funcionais são influenciadas por características estruturais da proteína (composição e sequência de aminoácidos, massa molecular, carga da superfície, hidrofobicidade, ponto isoelétrico, estruturas secundárias e terciárias, entre outras). A composição dos aminoácidos afeta a

hidrofobicidade e as cargas da proteína, enquanto a sequência desses compostos pode interferir na configuração molecular e, consequentemente, nas propriedades interfaciais, de solubilidade, estabilidade térmica, emulsificantes e espumantes.

As proteínas do soro de leite, por exemplo, apresentam baixa hidrofobicidade, portanto são solúveis e adequadas para o preparo de bebidas prontas para consumo. As proteínas da soja, por sua vez, apresentam alta massa molecular e uma superfície hidrofóbica, sendo mais adequadas à texturização para aplicação em produtos análogos de carne. Além disso, mudanças estruturais nas proteínas podem ser afetadas por condições de purificação e/ou processamento, tais como pH, temperatura e força iônica, que levam a alterações na funcionalidade dessas moléculas (Akharume, Aluko, & Adedeji, 2020; Ismail, Senaratne-Lenagala, Stube, & Brackenridge, 2020).

2.3.1 Funcionalização das proteínas

A maioria das proteínas vegetais apresentam propriedades funcionais tecnológicas e biodisponibilidade inferiores quando comparadas às de origem animal. Portanto, a modificação das propriedades físico-químicas das proteínas vegetais pode melhorar e diversificar suas características funcionais tecnológicas, nutricionais e sensoriais para aplicação na indústria de alimentos.

Os principais desafios para aplicação das proteínas vegetais são relacionadas à deficiência em algum dos aminoácidos essenciais, presença de fatores antinutricionais, baixa digestibilidade, sabor indesejável, sensibilidade às condições do ambiente (temperatura, pH e sais), menor solubilidade e propriedades emulsificante, espumante, gelificante e de retenção de água e óleo. Portanto, a modificação ou a funcionalização das proteínas visando o melhoramento das propriedades funcionais, nutricionais e sensoriais por métodos específicos pode levar ao desenvolvimento de ingredientes multifuncionais. A modificação ou a funcionalização das proteínas pode ser física, biológica e química (Nasrabadi, Doost, & Mezzenga, 2021).

Funcionalização física (tratamento térmico, aquecimento ôhmico, micro-ondas, alta pressão, ultrassom, extrusão, moinho de esferas e plasma)

O tratamento térmico moderado convencional leva ao desdobramento da proteína, melhorando suas funcionalidades. Essas funcionalidades dependem da temperatura e taxa de aquecimento, concentração iônica e pH das dispersões de proteínas (Zink, Wyrobnik, Prinz, & Schmid, 2016; Aryee, Agyei, & Udenigwe, 2018).

Alguns estudos sobre modificação de proteínas vegetais por tratamento-térmico são apresentados no Quadro 4.

Quadro 4. Modificações das propriedades funcionais de proteínas por diferentes tratamentos térmicos.

Tipo de proteína	Propriedade modificada	Condições do tratamento térmico	Referência
Proteína isolada e concentrada de soja	Prop. espumante	55 ou 85 °C/ 10, 20 ou 30 min Dispersão de proteína	Shao, Lin, Kao, 2016
Isolado proteico de albumina	Gelificação	100 °C / 30 min	Mir et al., 2020
Feijão fava	Capacidade de retenção de água	75 a 175 °C / 60 min Aquecimento seco	Bühler, Dekkers, Bruins, van der Goot, 2020
Farinhas de pulses	Capacidade de retenção de água e gordura Prop. emulsificante	90 °C/20 min	Ma et al., 2011
Proteína isolada de soja e ervilha	Prop. emulsificante	95 °C por 15 min e 30 min, respectivamente	Peng et al., 2016; Shao, Tang, 2014

Fonte: Elaboração própria.

Estudos demonstram que o tratamento térmico convencional reduz ou elimina os efeitos de fatores antinutricionais de proteínas vegetais, tais como grão-de-bico e soja, assim como melhora a digestibilidade e a disponibilidade de aminoácidos essenciais pelo aquecimento a 100°C durante 30 minutos (Avilés-Gaxiola et al., 2018; Mir et al., 2020).

O aquecimento ôhmico é um processamento térmico via aplicação de correntes elétricas alternadas diretamente em um meio semicondutor. O alimento atua como uma resistência em um circuito elétrico no qual calor é gerado pela passagem de uma corrente elétrica alternada e moderada. Esse método resulta em um aquecimento rápido e uniforme com desdobramento, desnaturação e formação de proteínas agregadas de tamanhos homogêneos, proporcionando diversas propriedades funcionais. Há vários estudos com proteínas de origem animal, porém poucos envolvem proteínas vegetais, a exemplo do estudo de Nasrabadi et al. (2021) sobre o efeito do tratamento ôhmico nas estruturas e propriedades funcionais da proteína de soja. Foi observada diminuição no tempo de aquecimento e melhoria das propriedades emulsificantes das proteínas da soja em comparação ao tratamento térmico convencional (Li, Ye, Tian, Pan, & Wang, 2018). Portanto, há uma área de estudo aberta para o maior conhecimento dos efeitos do tratamento ôhmico na estrutura e nas propriedades funcionais de outras proteínas vegetais (Avelar Vicente, Saraiva, & Rodrigues, 2021).

O tratamento térmico por micro-ondas consiste na aplicação de ondas eletromagnéticas com comprimento e frequência na faixa de 1 mm a 1 m e 300 MHz a 300 GHz, respectivamente. Esse método apresenta aquecimento uniforme, alta taxa de aquecimento, segurança e rapidez, além de menor efeito nas propriedades nutricionais e de sabor em comparação com o aquecimento tradicional (Han, Cai, Cheng, & Sun, 2018).

O tratamento não-térmico com alta pressão aplica pressões na faixa de 100 a 800 MPa, cujos mecanismos de modificação de proteínas são baseados na mudança de volume das moléculas de proteínas em solução, levando à ruptura, desnaturação e agregação das proteínas. Fatores como nível de pressão aplicada, duração da pressão, temperatura, pH e força iônica da solução de proteínas têm efeito nas modificações e funcionalidades da proteína (Farkas, 2016; Messens, Van Camp, & Huyghebaert, 1997). Alguns estudos de tratamento de proteínas vegetais com alta pressão são apresentados no Quadro 5.

O tratamento de alta pressão também pode ser utilizado para melhorar as propriedades nutricionais das proteínas vegetais. Estudos mostraram que o tratamento de alta pressão (100 a 600 MPa) reduz os fatores antinutricionais e o tempo de molho de grão-de-bico, ervilha e feijão branco, além de aumentar a digestibilidade das proteínas (Alsalman & Ramaswamy, 2020; Linsberger-Martin, Weiglhofer, Phuong, & Berghofer, 2013).

Quadro 5. Modificações das propriedades funcionais de proteínas por aplicação de alta pressão

Tipo de proteína	Propriedade modificada	Condições do tratamento	Referência
Pinhão	Solubilidade Capacidade de retenção de água e óleo	200 e 400 MPa	Cao et al., 2017
Feijão vermelho	Capacidade de retenção de água e óleo Prop. espumante e emulsificante	600 MPa	Ahmed, Al-Ruwaih, Mulla, Rahman, 2018
Batata	Prop. emulsificante	200 a 600 MPa	Khan et a., 2015

Fonte: Elaboração própria.

O tratamento de ultrassom utiliza ondas sonoras com frequência acima de 16 kHz, que não são detectadas pela audição humana. É considerada uma tecnologia verde, inovadora e sustentável. Além disso, apresenta algumas vantagens quando comparada ao processo térmico convencional, como maior eficiência e facilidade, além de menor custo na aplicação e operação, e maior qualidade e funcionalidade dos alimentos processados (O'Sullivan, Park, Beevers, Greenwood, & Norton, 2017; Gharibzahedi & Smith, 2020; Wen et al., 2019).

Para a modificação física e química das proteínas é utilizado o tratamento de ultrassom em baixa frequência (16 a 100 kHz, potência de 10 a 1.000 W/cm^2) (Jiang et al., 2014; Nazari, Mohammadifar, Shojaee-Aliabadi, Feizollahi, & Mirmoghtadaie, 2018; O'Sullivan et al., 2017). O Quadro 6 apresenta alguns estudos acerca de modificação de proteínas vegetais por tratamento de ultrassom.

Quadro 6. Modificações das propriedades funcionais de proteínas por aplicação de ultrassom.

Tipo de proteína	Condições do tratamento	Propriedades modificadas	Referência
Proteína isolada de quinoa (dispersão)	20 kHz (500 W e 25% amplitude) por 5, 15, 25 e 35 min	Capacidade de retenção de água e óleo Prop. emulsificante e de gelificação	Mir et.al, 2019
Proteína isolada de ervilha (dispersão)	20 kHz (amplitude 30%, 60%, 90% por 30 min)	Prop. espumante	Xiong et al., 2018
Proteína isolada de ervilha (dispersão)	20 kHz (34 W/cm2, 95% amplitude) por 2 min	Solubilidade Prop. emulsificante	O'sullivan et al., 2016
Proteína isolada de feijão preto (dispersão)	20 kHz (0, 150, 300, 450 W) por 12 e 24 min	Solubilidade	Jiang et al., 2014
Proteína isolada de feijão fava (dispersão)	20 kHz (amplitude de 72,6%) por 17,29 min	Prop. espumante	Velasco et al., 2018

Fonte: Elaboração própria.

A tecnologia de ultrassom tem sido estudada também em combinação com outras técnicas para modificação das proteínas vegetais, porém ainda não é utilizada comercialmente, apenas em escala laboratorial. O uso do tratamento de ultrassom em escala industrial enfrenta alguns desafios, como aumento da temperatura em condições extremas de sonificação, resultando em geração de radicais livres e efeitos adversos na estrutura e qualidade da proteína. Dessa forma, estudos de otimização de parâmetros de processo (tempo, temperatura, intensidade de potência, frequência e amplitude) e análise econômica são necessários para uma aplicação em escala industrial (Gharibzahedi & Smith, 2020; Yang et al., 2018; Nasrabadi et al., 2021).

A extrusão é um processo térmico mecânico com uma combinação de alta temperatura (90-200°C), alto cisalhamento e alta pressão (1,5-30,0 MPa), resultando em cozimento e texturização, assim como na inativação de microrganismos, enzimas e substâncias tóxicas, gelatinização de amido e formatação de alimentos (Berk, 2013; Nasrabadi et al., 2021). Esse processo leva ao desdobramento, desnaturação e realinhamento das proteínas vegetais, melhorando suas propriedades funcionais e sendo também aplicado para texturização de proteínas vegetais (TVP), visando mimetizar a textura da carne animal (Chiang, Loveday, Hardacre, & Parker, 2019; Pietsch, Emin, & Schuchmann, 2017; Zahari et al., 2020; Zhang et al., 2019). Além disso, a extrusão pode ser utilizada como um pré-tratamento de modificações enzimáticas e químicas (Zhou, Liu, & Feng, 2017; Chen, Chen, Yu, Wu, & Zhao, 2018; Ma et al., 2018; Doost, Nasrabadi, Wu, A'Yun, & Van der Meeren, 2019).

O processo de extrusão trabalha com altas taxas de temperatura e pressão, eliminando os fatores antinutricionais e melhorando a digestibilidade das proteínas vegetais devido ao aumento da biodisponibilidade de aminoácidos (Nasrabadi et al., 2021).

O tratamento com moinho de esferas é um método físico que combina a colisão, fricção, cisalhamento e calor gerado durante o processo e é utilizado para a redução do tamanho da partícula. A diminuição do tamanho das moléculas de proteínas de origem vegetal aumenta sua solubilidade. Esse processo tem efeito mecânico e químico, o que leva a mudanças nas estruturas secundária e terciária da proteína, expondo partes hidrofóbicas de modo a influenciar propriedades emulsificantes, espumantes e de gelificação. O moinho de esferas é amplamente utilizado na indústria de alimentos para modificar as proteínas de origem animal e vegetal, amidos, farinhas de cereais, proteína concentrada de soro de leite e proteína isolada de soja (Takahashi, Miura, Ohisa, Mori, & Kobayashi, 2005; Dhital, Shrestha, & Gidley, 2010; Thanatuksorn, Kawai, Kajiwara, & Suzuki, 2009; Liu, Ma, Yu, Shi, & Xue, 2011; Loubes & Tolaba, 2014; Moakes, Sullo, & Norton, 2015; Sun et al., 2016; Liu et al., 2017; Ramadhan & Foster, 2018).

A tecnologia de plasma é baseada na aplicação de plasma, quarto estado da matéria, que pode conter espécies reativas, por exemplo, elétrons, íons positivos e negativos, oxigênio e nitrogênio reativos (Ikawa, Kitano, & Hamaguchi, 2010). É considerado um processo não térmico, barato e eficiente energeticamente. Porém, estudos são necessários para uma melhor compreensão do processo, a fim de desenvolver métodos para melhorar a funcionalidade da proteína nas aplicações desejadas. Além disso, essa tecnologia apresenta algumas limitações: complexidade, medida da intensidade do tratamento e escalonamento e segurança para o uso na industrialização de alimentos (Sarangapani, Patange, Bourke, Keener, & Cullen, 2018; Ismail et al., 2020). O Quadro 7 traz alguns estudos recentes relacionados à aplicação da tecnologia de plasma em proteínas vegetais.

Quadro 7. Modificações das propriedades funcionais de proteínas pela aplicação da tecnologia de plasma.

Tipo de proteína	Propriedade modificada	Referência
De amendoim	Solubilidade Capacidade de emulsificação Capacidade de retenção de água	Ji et al., 2018
De farinha proteica de ervilha	Solubilidade Capacidade de retenção de água e gordura	Bubler et al., 2015

Fonte: Elaboração própria.

Modificação biológica (enzimática e fermentação)

As modificações biológicas que utilizam métodos enzimáticos e de fermentação são consideradas sustentáveis, pois não produzem subprodutos tóxicos e consomem menos energia. Esses processos melhoram as funcionalidades das proteínas e também sua qualidade nutricional (aumento da digestibilidade, biodisponibilidade e propriedades antioxidantes e antimicrobianas). Porém, para processamento em escala industrial, os custos de enzimas e culturas microbianas são elevados (Nasrabadi et al., 2021).

As vantagens do processo de modificação enzimática são as condições brandas, subprodutos não tóxicos, reação rápida e especificidade das enzimas. De acordo com a funcionalidade de interesse, pode ser utilizada a hidrólise ou a reticulação enzimática (Buchert et al., 2010; Nasrabadi et al., 2021).

Estudos mostraram que proteína isolada de grão-de-bico e proteína concentrada de quinoa modificadas por hidrólise enzimática com alcalase apresentaram aumento da solubilidade (Yust, Pedroche, Millán-Linares, Alcaide-Hidalgo, & Millán, 2010; Aluko & Monu, 2003). Com relação à modificação de proteínas por reticulação enzimática, proteínas isoladas de soja e ervilha tratadas com a enzima transglutaminase aumentaram a força de gel, enquanto proteínas de batata e de milho tratadas com tirosinase

aumentaram a estabilidade de emulsões (Sun & Arntfield, 2011; Glusac, Davidesko-Vardi, Isaschar-Ovdat, Kukavica, & Fishman, 2018).

A fermentação é um método que utiliza diferentes culturas, como bactérias lácticas, leveduras, fungos e cepas de *Bacilus*, para melhorar o perfil nutricional e sensorial (diminuição de sabor amargo, por exemplo), estender a vida-de-prateleira, aumentar a biodisponibilidade e bioacessibilidade de composto bioativos, reduzir fatores antinutricionais e também modificar proteínas vegetais. Duas são as técnicas utilizadas: fermentação em estado sólido e líquida submersa, sendo que a primeira ocorre na ausência ou em baixa quantidade de água, disponibilizando o substrato concentrado para os microrganismos, enquanto a líquida submersa necessita de um alto volume de água. Para alimentos e proteínas, a fermentação em estado sólido apresenta rendimento mais elevado, menor custo de gerenciamento de resíduos e produtos com características melhores em comparação com a do tipo líquida submersa. (Granito et al., 2002; Frias, Miranda, Doblado, & Vidal-Valverde, 2005; Couto & Sanromán, 2006; Singhania Patel, Soccol, & Pandey, 2009; Schindler et al., 2011; Schlegel, Leidigkeit, Eisner, & Schweiggert-Weisz, 2019; Xing et al., 2020).

Geralmente, o processo de fermentação é utilizado para otimizar as proteínas vegetais e transformá-las em farinhas proteicas, que serão utilizadas para obtenção de concentrados e isolado proteicos, além do desenvolvimento de produtos, tais como queijo e iogurte vegano, e bebidas à base de proteínas vegetais (Akharume et al., 2020).

Queijo de castanha de caju tipo minas frescal.
Crédito: Vida Veg.

Modificação química

A reação entre proteínas e agentes químicos pode acarretar a quebra (eliminação de componentes da proteína nativa) ou a formação de novas ligações químicas (adição de novos grupos funcionais) para modular as propriedades funcionais. Alguns desses métodos não são adequados para aplicação em alimentos, e a aplicação comercial dessas técnicas é limitada devido à produção de compostos e subprodutos químicos tóxicos, com implicações regulatórias e tendência do consumidor preferir alimentos *clean label* (Sun-Waterhouse, Zhao, & Waterhouse, 2014; Zhang et al., 2019a; Nasrabadi et al., 2021).

Glicosilação

A glicosilação é uma técnica utilizada para melhorar as propriedades funcionais que envolvem a ligação covalente entre um açúcar redutor (mono ou dissacarídeos) e a cadeia lateral de aminoácidos (lisina, arginina, cisteina, histidina e triptofano) ou o terminal-N das moléculas de proteínas. Ela ocorre quimicamente, por meio da reação de Maillard, comum no processamento de alimentos durante o aquecimento seco e úmido convencional ou por micro-ondas e assamento. Portanto, é considerada uma técnica com processo brando, seguro e sem uso de reagentes químicos (Doost et al., 2019; Zhang et al., 2019b; Akıllıoğlu & Gokmen, 2016; Oliver, Melton, & Stanley, 2006; Zhang et al., 2019a).

Estudos de modificação de proteínas de ervilha e feijão preto utilizando o método de glicosilação apresentaram funcionalidades tais como solubilidade e propriedades emulsificantes melhoradas (Jin et al., 2019; Zha, Dong, Rao, & Chen, 2019).

Hambúrguer bovino vegetal. Crédito: The New.

3. Aspectos nutricionais das proteínas vegetais

Kibe vegetal. Crédito: Incrível.

Tiras de frango vegetal. Crédito: Fazenda Futuro.

Atualmente já há conhecimento e tecnologia para fabricação de produtos à base de plantas de forma eficiente e sustentável, de modo a atender às demandas de crescimento da população sem que se apresentem os efeitos negativos atribuídos à produção animal tradicional. Provavelmente, as farinhas vegetais precisarão ser aprimoradas (como ocorreu com a farinha de soja ao longo das últimas décadas) para atingir as propriedades nutricionais desejadas para as proteínas vegetais quando a intenção é a substituição das proteínas de origem animal.

Sendo um nutriente essencial ao organismo humano, as proteínas devem fazer parte da alimentação diária em quantidades adequadas. Contudo, além do aspecto quantitativo, faz-se de grande importância o caráter qualitativo, expresso pelo valor nutricional proteico. Vários aspectos contribuem para o valor nutritivo da proteína, entre eles a composição em aminoácidos, sua digestibilidade, a biodisponibilidade dos aminoácidos essenciais e, não menos importante, a ausência de fatores antinutricionais e/ou de toxicidade.

3.1. Importância da composição aminoacídica

Proteínas simples são compostas por 20 aminoácidos, dos quais nove são considerados essenciais, ou seja, aqueles que o organismo humano não consegue sintetizar e precisam ser fornecidos pela dieta.

Os **aminoácidos essenciais** são lisina, metionina, valina, triptofano, treonina, histidina, leucina, isoleucina e fenilalanina. A quantidade necessária de ingestão para atender as necessidades depende do estágio de vida e é preconizada pela World Health Organization (2007). Para os estágios iniciais de vida, o requerimento de aminoácidos essenciais é maior, refletindo a importância da proteína para o crescimento nos primeiros anos de vida.

São considerados **limitantes** aqueles aminoácidos que não atingem a quantidade requerida pelo organismo. Portanto, o aminoácido limitante define o valor nutritivo da proteína, pois compromete a capacidade do organismo de sintetizar suas próprias proteínas a nível de tecidos e células. A falta de aminoácidos essenciais em vegetais é uma característica conhecida. O grão-de-bico, ervilha, feijão, quinoa, linhaça, cânhamo e tremoço, por exemplo, têm como limitante o aminoácido essencial triptofano (Sánchez-Vioque, Clemente, Vioque, Bautista, & Millán, 1999; Mattila et al., 2018), enquanto, em geral, as proteínas de leguminosas são limitantes em aminoácidos sulfurados (metionina e cisteína) e muitas vezes ainda triptofano. As proteínas de cereais, na sua maioria, são deficientes em lisina e treonina. Outras fontes também não possuem alguns dos aminoácidos não essenciais, como a cisteína e a tirosina em soja, prolina em grão-de-bico e cisteína em ervilha (Vasconcelos et al., 2006; Vioque et al., 1999).

Por esse motivo, uma dieta baseada em vegetais bem planejada e balanceada utiliza combinação e complementação de diferentes fontes, evitando o *déficit* de proteína e, por conseguinte, de aminoácidos essenciais (García-Maldonato et al 2019; Chardigny & Walrand, 2016).

O **escore químico** é um quociente usado para determinar os aminoácidos limitantes da proteína. Essa determinação consiste em comparar cada um dos aminoácidos do perfil aminoacídico da proteína teste, definidos laboratorialmente, em relação ao padrão estabelecido pela World Health Organization (2007).

$$\text{escore químico} = \frac{\text{mg/g de aminoácido essencial da proteína teste}}{\text{mg/g de aminoácido da proteína referência}}$$

Esse quociente classifica a ordem dos aminoácidos limitantes, sendo que o mais limitante servirá como indicador do valor biológico da proteína.

Sorvete produzido com proteína vegetal. Crédito: Kerry.

3.2. Digestibilidade

A digestibilidade é igualmente importante na determinação do valor biológico da proteína. Ela é compreendida como a quantidade de proteína que pode ser hidrolisada pelas enzimas digestivas humana e chegar até aos aminoácidos para que esses sejam biodisponíveis ao organismo.

A digestibilidade verdadeira é determinada *in vivo*, pelos quocientes de nitrogênio absorvido e ingerido na dieta. Algumas proteínas de milho, feijão ou submetidas a tratamentos térmicos excessivos apresentam digestibilidade abaixo de 80-60%. Em geral, a desnaturação moderada tende a melhorar a digestibilidade.

A digestibilidade *in vitro* é amplamente utilizada e bem estabelecida por protocolos (Brodkorb et al., 2019). Esse método utiliza enzimas proteolíticas (pepsina e pancreatina) e ácidos biliares que agem na digestão animal em condições de pH, tempo e temperaturas simulando as características do estômago e intestino, locais nos quais ocorre a digestão proteica.

$$\text{digestibilidade (\%)} = \frac{\text{NH (N Hidrolisado após separação da fração insolúvel)}\ 100}{\text{NT (N total da proteína Teste)}}$$

Nas proteínas de origem vegetal vários fatores podem contribuir para a redução da digestibilidade, pois a presença de alguns compostos na matriz (fibras, compostos fenólicos, taninos, pigmentos, açúcares redutores e inibidores de protease) podem reagir com a proteína formando derivados proteicos de menor digestibilidade. Em amostras que contêm nitrogênio não proteico (NNP), esse valor deve ser determinado nas diferentes frações e descontado do nitrogênio total.

3.3. Biodisponibilidade de aminoácidos

Os aminoácidos são considerados biodisponíveis quando absorvidos na sua forma ativa para desempenhar funções biológicas específicas nos órgãos e tecidos. Em geral, os fatores que afetam a digestão da proteína também comprometem a biodisponibilidade dos aminoácidos.

Nesse sentido, a Food and Agriculture Organization (FAO) propôs um método de referência para avaliar a qualidade da proteína dietética conhecido como *Protein Digestibility Corrected Amino Acid Score* (PDCAAS). Diante de alguns questionamentos, em 2013 a FAO criou um novo índice, o *Digestible Essential Amino Acid Score* (DIAAS), que reflete não apenas a composição de aminoácidos das proteínas, mas também sua biodisponibilidade (digestibilidade no intestino delgado). Os dois métodos são indicados para serem realizados *in vivo* com animais, e baseado neles pesquisadores

têm estabelecido algumas modificações que viabilizam a realização dos métodos apenas *in vitro*, possibilitando resultados muito próximos aos propostos e isentos de sacrifício animal (Nosworthy et al., 2018).

3.4. Fatores antinutricionais/ antinutrientes (FANs) ou tóxicos

Algumas proteínas de ocorrência natural nos alimentos apresentam propriedades antinutricionais ou tóxicas. As tóxicas agem de forma aguda, causando lesões nos órgãos e tecidos e ocasionando alterações fisiológicas que resultam em enfermidades ou morte. Os fatores antinutricionais ou antinutrientes (FANs), por sua vez, atuam reduzindo a eficiência do metabolismo, interferindo na utilização dos nutrientes.

Alguns antinutrientes como fitatos, polifenóis, taninos e saponinas podem afetar a absorção de proteínas. Em dietas vegetarianas foi observada menor absorção de proteínas, especialmente dos aminoácidos lisina e metionina, em comparação com a alimentação onívora (Tangyu, Muller, Bolten, & Wittmann, 2019).

3.4.1. Classificação de alguns antinutrientes e efeitos adversos

Os FANs podem ser divididos em duas grandes categorias. Uma agrupa proteínas (como lectinas e inibidores de protease) que são sensíveis às temperaturas de processamento, e a outra considera substâncias que são estáveis ou resistentes a estas temperaturas e incluem, entre muitos outros compostos, polifenóis (principalmente taninos condensados) e aminoácidos não proteicos.

Dentre os FANs podem ser destacados:

- inibidores de enzimas: inibidores de tripsina e quimotripsina, plasmina, elastase e alfa amilase;
- hemaglutininas (concanavalina A, ricina);
- enzimas vegetais (urease, lipoxigenase);
- glicosídeos cianogênicos (faseolunatina, linamarina, lotaustralina);
- goitrogênios (pró-goitrinas, glucosinolatos);
- estrogênios (flavonas, genisteína);
- saponinas (sapogenina de soja);
- gossipol de espécies de *Gossypium* (algodão);
- taninos (taninos condensados e hidrolisáveis);
- compostos análogos a aminoácidos (mimosina, N-metil-1-alanina);
- alcalóides (solanina, chaconina);
- antimetais (fitatos, oxalatos);
- antivitaminas (antivitaminas A, D, E B12); e
- fatores de favismo.

Em alguns casos, os antinutritentes simplesmente causam efeitos fisiológicos indesejáveis, como flatulência (rafinose e estaquise dos feijões).

Imagem ilustrativa de feijão. Fonte Adobe Stock.

Inibidores de protease: os inibidores de protease são amplamente distribuídos dentro do reino vegetal, incluindo as sementes da maioria das leguminosas cultivadas. Eles têm a capacidade de inibir a atividade de enzimas proteolíticas no trato gastrointestinal dos animais. Os inibidores de tripsina se ligam irreversivelmente à tripsina tornando-a incapaz de desempenhar seu papel na quebra de proteínas. A atividade antinutriente de inibidores de protease está associada à inibição do crescimento e à hipertrofia pancreática. Os inibidores *Bowman-Birk* encontrados em batatas, batata doce e derivados de soja inibem simultaneamente a tripsina e a quimiotripsina, fazendo com que o intestino estimule o pâncreas a liberar mais colecistocinina, podendo ocasionar a hipertrofia do pâncreas. As enzimas proteolíticas digestivas, quando complexadas aos inibidores, perdem sua atividade de digestão de proteínas, e consequentemente os aminoácidos são perdidos.

Lectinas: também chamadas de fito-hemaglutininas, são glicoproteínas amplamente distribuídas em legumes e algumas sementes oleaginosas (incluindo soja) que possuem afinidade com moléculas de açúcar específicas e são caracterizadas por sua capacidade de se combinar com receptores da membrana de carboidratos, evitando a absorção de produtos finais digestivos no intestino delgado. As lectinas têm a capacidade de se ligar diretamente à mucosa intestinal, interagindo com os enterócitos e interferindo na absorção e transporte de nutrientes (particularmente carboidratos) durante a digestão, de modo a causar lise do epitélio do intestino (Santiago et al., 1993). Elas são amplamente distribuídas, tendo sido encontradas em leguminosas (feijões, soja, amendoim), grãos de cereais (centeio, trigo, cevada) e inclusive em tomates. A atividade da lectina foi determinada em mais de 800 variedades da família das leguminosas.

Fatores antivitamínicos: existem em algumas plantas, especialmente leguminosas. Fatores antivitamínicos incluem uma grande variedade de compostos, como o fator antivitamina A presente em soja, que destrói o caroteno e não é facilmente destruído pelo calor; o fator antivitamina D presente em soja, que interfere na absorção de cálcio e o fósforo, mas é destruído por autoclavagem; o fator antivitamina E, presente em feijão, soja, alfafa e ervilha; o fator antitiamina, chamado tiaminase, presente em sementes de algodão, linhaça, feijão mungo e sementes de mostarda; o fator antiniacina presente no

sorgo; o fator antipiridoxina presente em linhaça, que é destruído pela água extração e autoclavagem; e o fator antivitamina B12 presente na soja crua (Hill, 2003).

Fitatos/antimetais: os fitatos são provenientes do ácido fítico, presente em muitos cereais e leguminosas. São descritos como antinutrientes devido à sua capacidade de se ligar a minerais essenciais e oligoelementos (incluindo cálcio, zinco, ferro, magnésio e cobre) para criar complexos insolúveis desses minerais, inibindo sua absorção no intestino.

Oxalatos/antimetais: o oxalato (derivado do ácido oxálico) é considerado um antinutriente tanto porque inibe a absorção de cálcio quanto porque pode aumentar o risco de desenvolvimento de cálculos renais (Holmes, 2001). A presença de elevadas concentrações de oxalato solúvel no organismo impede a absorção de íons de cálcio solúveis, uma vez que o oxalato se liga aos íons de cálcio para formar complexos insolúveis de oxalato de cálcio (Adeniyi, Orjiekwe, & Ehiagbonare, 2009).

Saponinas: são um grupo heterogêneo de triterpenos produtores de espuma de ocorrência natural. Eles estão presentes em uma ampla gama de plantas, incluindo leguminosas e sementes oleaginosas como feijão, lentilha, ervilha, grão-de-bico, alfafa, soja, amendoim, tremoço e girassol. O grão-de-bico e feijão verde contêm saponinas variando de 0,05 a 0,23% (Jain et al., 2009). Saponinas reduzem a absorção de certos nutrientes no intestino (proteínas, glicose e colesterol, por exemplo), por meio interação físico-química intraluminal. Por isso, foi relatado que tais compostos têm efeitos hipocolesterolêmicos positivos (Esenwah & Ikenebomeh, 2008).

Glicosídeos cianogênicos: a mandioca é considerada a espécie cianogênica mais importante no Brasil, mas esses compostos também são amplamente distribuídos entre algumas leguminosas, como feijão vermelho e linhaça. Os glicosídeos cianogênicos, por hidrólise enzimática, podem liberar o ácido cianídrico (HCN), que se consumido pode ocasionar disfunção do sistema nervoso central, insuficiência respiratória e parada cardíaca (Akande, Doma, Agu, & Adamu, 2010).

Goitrogênicos: substâncias goitrogênicas inibem a síntese e secreção do hormônio tireoidiano, o qual desempenha um papel importante no controle do metabolismo corporal, e sua deficiência resulta em redução de crescimento e desempenho reprodutivo (Kiranmayi, 2014). A glândula passa a trabalhar mais, no sentido de repor a produção hormonal, causando hipertrofia da glândula tireóide. Os goitrogênicos foram verificados em leguminosas como soja e amendoim (Akande et al. 2010).

Taninos: o tanino (polifenol) é conhecido por formar complexos com proteínas sob certas condições de pH. Os complexos taninos-proteína são relatados como responsáveis pela redução na digestibilidade da

proteína, diminuição na disponibilidade de aminoácidos e maior perda de nitrogênio fecal. Uma vez formados, eles não podem ser dissociados e estão presentes em grande número de grãos utilizados na alimentação, tais como sementes de girassol, feijões e ervilhas (Jain et al. 2009).

Alcalóides: causam alterações gastrointestinais, podendo ser associados à infertilidade e distúrbios neurológicos (Aletor, 1993). Os glicoalcalóides solanina e chaconina presentes na batata *in natura* (*Solanum spp*) são hemoliticamente ativos e tóxicos em humanos (Kiranmayi, 2014). Alguns dos alcalóides mais conhecidos incluem nicotina (tabaco), cocaína (folhas de planta de coca), quinino (casca de cinchona), morfina (látex seco de papoula do ópio) e solanina (batatas verdes e brotos de batata).

3.4.2. Redução/eliminação de fatores antinutricionais

Alguns fatores antinutricionais podem ser destruídos por técnicas de aquecimento, pois são muito termolábeis. A temperatura de destruição é geralmente atingida nas condições tradicionais de preparo das leguminosas (Benevides, Souza, Souza, & Lopes, 2011). A etapa de repouso em água à baixa temperatura anteriormente ao cozimento também promove lixiviação parcial desses compostos antinutricionais (Pinto et al., 2016).

As técnicas de pré-processamento mecânico e térmico (torrefação, descascamento, escaldamento, imersão, cozimento e germinação) também podem ser aplicadas para reduzir antinutrientes (inibidores de protease, inibidores de urease, inibidores de alfa amilase etc.). Contudo, alguns antinutrientes são muito resistentes e não podem ser destruídos inteiramente, mesmo por aquecimento a 100°C, como é o caso dos fitatos. Para esses compostos, o método mais eficiente é a fermentação com fitases, que hidrolisam fitatos em mio-inositol e fosfato.

Diante do exposto, é recomendável que sejam desenvolvidos produtos alimentícios à base de plantas que contenham todos os aminoácidos essenciais, ou pelo menos a maioria deles, e sejam isentos de antinutrientes que diminuam sua biodisponibilidade. Além disso, utilizando o conceito de complementaridade em termos de composição de aminoácidos entre fontes de proteína vegetal (por exemplo, grãos de cereais e leguminosas ingeridos na mesma refeição ou ao longo do dia), será possível desenvolver novos produtos alimentícios e análogos de carnes com qualidades nutricionais e organolépticas otimizadas.

Saiba mais

Para saber mais sobre *plant-based*, acesse:

State of the industry report: *plant-based* meat, eggs, seafood, and dairy

The science of *plant-based* meat

Plant protein primer

Almôndegas vegetais. Crédito: Plant Plus Foods.

Referências

Adeniyi, S .A., Orjiekwe, C. L., & Ehiagbonare, J. E. (2009). Determination of alkaloids and oxalates in some selected food samples in Nigeria. *African Journal of Biotechnology, 8*(1), 110-112.

Ahmed, J., Al-Ruwaih, N., Mulla, M., & Rahman, M. H. (2018). Effect of high pressure treatment on functional, rheological and structural properties of kidney bean protein isolate. *LWT – Food Science and Technology, 91*, 191-197.

Aletor, V. A. (1993). Allelochemicals in plant foods and feeding stuffs. Part I. Nutritional, biochemical and physiopathological aspects in animal production. Veterinary and Human Toxicology 35(1): 57-67.

Akande, K. E., Doma, U. D., Agu, H. O., & Adamu, H. M. (2010). Major anti-nutrients found in plant protein sources: Their effect on nutrition. *Pakistan Journal of Nutrition, 9*(8), 827-832.

Akharume, F.U., Aluko, R.E., & Adedeji, A. A. (2021). Modification of plant proteins for improved functionality: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 20*(1),198-224. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12688

Akıllıoğlu, H. G.; & Gokmen, V. (2016). Kinetic evaluation of the inhibition of protein glycation during heating. *Food Chemistry, 196*, 1117-1124.

Moakes, R. J. A, Sullo, A., & Norton, I. T. (2015). Preparation and characterisation of whey protein fluid gels: The effects of shear and thermal history. *Food Hydrocolloids, 45*, 227-235.

Alcorta, A., Porta, A., Tárrega, A., Alvarez, M. D., & Vaquero, M. P. (2021). Foods for *plant-based* diets: Challenges and innovations. *Foods, 10*, 293. https://doi.org/10.3390/foods10020293

Alexandrino, T. D., Ferrari, R. A., Oliveira, L. M., Ormenese, R. C. S. C., & Pacheco, M. T. B. (2017). Fractioning of the sunflower flour components: Physical, chemical and nutritional evaluation of the fractions. *LWT – Food Science and Technology, 84*(2017), 426-432.

Alsalman, F. B., & Ramaswamy, H. (2020). Reduction in soaking time and anti-nutritional factors by high pressure processing of chickpeas. *Journal of Food Science and Technology, 57*(7), 2572-2585.

Aluko, R., & Monu, E. (2003). Functional and bioactive properties of quinoa seed protein hydrolysates. *Journal of Food Science, 68(*4), 1254-1258.

Aryee, A. N. A., Agyei, D., & Udenigwe, C. C. (2018). 2 Impact of processing on the chemistry and functionality of food proteins. In R. Y. Yada (Ed.), *Proteins in food processing* (2a ed., pp. 27-45). Woodhead Publishing.

Avelar, Z., Vicente, A. A., Saraiva, J. A., & Rodrigues, R. M. (2021). The role of emergent processing technologies in tailoring plant protein functionality: New insights. *Trends in Food Science & Technology, 113*(2021), 219-231.

Avilés-Gaxiola, S., Chuck-Hernández, C., Rocha-Pizaña, M. R., García-Lara, S., López- Castillo, L. M., & Serna-Saldívar, S. O. (2018). Effect of thermal processing and reducing agents on trypsin inhibitor activity and functional properties of soybean and chickpea protein concentrates. *LWT – Food Science and Technology, 98*, 629-634.

Baker, R. W. (2012). Membrane Technology and Applications. 3. ed., John Wiley and Sons Ltd, Reino Unido.

Benevides, C. M. J., Souza, M. V., Souza, R. D. B., & Lopes, M. V. (2011). Fatores antinutricionais em alimentos: Revisão. *Segurança Alimentar e Nutricional, 18*(2), 67-79.

Berghout, J. A. M., Pelgrom, P. J. M., Schutyser, M. A. I., Boom, R.M., & van der Goot, A. J. (2015). Sustainability assessment of oilseed fractionation processes: A case study on lupin seeds. *Journal of Food Engineering, 150*, 117-124.

Berk, Z. (2013). Chapter 15 – Extrusion. In Z. Berk (Ed.), *Food process engineering and technology* (2a ed., pp. 373-393). Academic Press.

Bernardi, S.; Corso, M.; Baraldi, I.; Colla, E.; Canan, C. (2018). Obtaining concentrated rice bran protein by alkaline extraction and stirring–Optimization of conditions. *International Food Research Journal, 25*(3), 1133–1139.

Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. *Food Research International, 43*(2), 414-431.

Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Balance, S., Bohn, T., . . . Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols, 14*(4), 991-1014. https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1

Bußler, S.; Steins, V.; Ehlbeck, J.; Schlüter, O. (2015). Impact of thermal treatment versus cold atmospheric plasma processing on the techno-functional protein properties from Pisum sativum 'Salamanca'. Journal of Food Engineering, v. 167, Part B, p. 166-174.

Buchert, J.; Ercili Cura, D.; Ma, H.; Gasparetti, C.; Monogioudi, E.; Faccio, G.; Mattinen, M.; Boer, H.; Partanen, R.; Selinheimo, E.; Lantto, R.; Kruus, K. (2010). Crosslinking food proteins for improved functionality. Annual Review of Food Science and Technology, 1, 113–138.

Bühler, J. M., Dekkers, B. L., Bruins, M. E.; van der Goot, A. J. (2020). Modifying faba bean protein concentrate using dry heat to increase water holding capacity. Foods, 9, 1077,1-16.

Cao, B., Fang, L., Liu, C., Min, W., & Liu, J. (2017). Effects of high hydrostatic pressure on the functional and rheological properties of the protein fraction extracted from pine nuts. *Food Science and Technology International, 24*(1), 53-66.

Chardigny, J. M., & Walrand, S. (2016). Plant protein for food: Opportunities and bottlenecks. *OCL, 23*(4), D404.

Chen, L., Chen, J., Yu, L., Wu, K., & Zhao, M. (2018). Emulsification performance and interfacial properties of enzymically hydrolyzed peanut protein isolate pretreated by extrusion cooking. *Food Hydrocolloids, 77*, 607-616.

Chiang, J. H., Loveday, S. M., Hardacre, A. K., & Parker, M. E. (2019). Effects of soy protein to wheat gluten ratio on the physicochemical properties of extruded meat analogues. *Food Structure, 19*(4), 100102.

Couto, S. R., & Sanromán, M. (2006). Application of solid-state fermentation to food industry—A review. *Journal of Food Engineering, 76*(3), 291-302.

Day, L. (2013). Proteins from land plants – Potential resources for human nutrition and food Security. *Trends in Food Science & Technology, 32*(1), 25-42.

De Vasconcelos, M. C. B. M.; Bennett, R.; Castro, C.; Cardoso, P. (2010). Composition of European chestnut (*Castanea sativa Mill.*) and association with health effects: fresh and processed products. Journal of the Science of Food and Agriculture, 15;90(10):1578-89. doi: 10.1002/jsfa.4016.

Dhital, S., Shrestha, A. K., & Gidley, M. J. (2010). Effect of cryo-milling on starches: Functionality and digestibility. *Food Hydrocoll, 24*(2), 152-163.

Doost, A. S., Nasrabadi, M. N., Wu, J., A'Yun, Q., & Van der Meeren, P. (2019). Maillard conjugation as an approach to improve whey proteins functionality: A review of conventional and novel preparation techniques. *Trends in Food Science & Technology, 91*, 1-11.

Du, M.; Xie, J.; Gong, B.; Xu, X.; Tang, W.; Li, X. et al. (2018). Extraction, physicochemical characteristics and functional properties of Mung bean protein. *Food Hydrocolloids, 76*, 131–140.

Esenwah, C. N., & Ikenebomeh, M. J. (2008). Processing effects on the nutritional and anti-nutritional contents of african locust bean (*Parkia biglobosa Benth.*) seed. *Pakistan Journal of Nutrition, 7*(2), 214-217. https://doi.org/10.3923/pjn.2008.214.217.

World Health Organization. (2007). Protein and amino acid requirements in human nutrition. WHO Technical Report Series nº 935. World Health Organization.

Farkas, D. F. (2016). A short history of research and development efforts leading to the commercialization of high-pressure processing of food. In V. Balasubramaniam, G. Barbosa-Cánovas, H. Lelieveld (Eds.), *High pressure processing of food: Principles, technology and applications* (pp. 19-36). Springer.

Feyzi, S.; Milani, E.; Golimovahhed, Q. A. (2018). Grass pea (Lathyrus sativus L.) protein isolate: The effect of extraction optimization and drying methods on the structure and functional properties. *Food Hydrocolloids, 74*, 187–196.

Frias, J., Miranda, M. L., Doblado, R., & Vidal-Valverde, C. (2005). Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of Lupinus albus L. var. Multolupa. *Food Chemistry, 92*(2), 211-220.

García-Maldonado, E., Gallego-Narbón, A., & Vaquero, M.P. (2019). ¿Son las dietas vegetarianas nutricionalmente adecuadas? Una revisión de la evidencia científica. *Nutrición Hospitalaria, 36*(4), 950-961.

Gharibzahedi, S. M., & Smith, B. M. (2020). The functional modification of legume proteins by ultrasonication: A review. *Trends in Food Science & Technology, 98*, 107-116.

Glusac, J., Davidesko-Vardi, I., Isaschar-Ovdat, S., Kukavica, B., & Fishman, A. (2018). Gel-like emulsions stabilized by tyrosinasecrosslinked potato and zein proteins. *Food Hydrocolloids, 82*, 53-63.

Grande, S. C., & Cren, E. C. (2016). Demanda de proteínas vegetais: Potencialidades e o diferencial dos farelos de macaúba. *The Journal of Engineering and Exact Sciences, 2*(3),190-214. https://doi.org/10.18540/2446941602032016190

Granito, M., Frias, J., Doblado, R., Guerra, M., Champ, M., & Vidal-Valverde, C. (2002). Nutritional improvement of beans (Phaseolus) by natural fermentation. *European Food Research and Technology, 214*(3), 226-231.

Hadnadjev, M. S., Dapčević-Hadnađev, T. R., Pojić, M. M., Šarić, B. M., Mišan, A. C., Jovanov, P. T., & Sakač, M. B. (2017). Progress in vegetable proteins isolation techniques: A review. *Food and Feed Research, 44*(1), 11-21. https://doi.org/10.5937/FFR1701011H

Han, Z., Cai, M. J., Cheng, J. H., & Sun, D. W. (2018). Effects of electric fields and electromagnetic wave on food protein structure and functionality: A review. *Trends in Food Science & Technology, 75*(2), 1-9.

Hill, T. (2003). Plant anti-nutritional factors. Sumarski List 109:325-328.

Hou, F., Ding, W., Qu, W., Oladejo, A. O., Xiong, F.; Zhang, W., . . . Ma, H. (2017). Alkali solution extraction of rice residue protein isolates: Inguence of alkali concentration on protein functional, structural properties and lysinoalanine formation. *Food Chemistry, 218*, 207-215.

Ikawa, S., Kitano, K., & Hamaguchi, S. (2010). Effects of pH on bacterial inactivation in aqueous solutions due to low-temperature atmospheric pressure plasma application. *Plasma Processes and Polymers, 7*(1), 33-42.

Ismail, B. P., Senaratne-Lenagala, L., Stube, A., & Brackenridge, A. (2020). Protein demand: Review of plant and animal proteins used in alternative protein product development and production. *Animal Frontiers, 10*(4), 53-63. https://doi.org/10.1093/af/vfaa040

Jain A. K.; Kumar, S.; Panwar, J. D. S. (2009). Anti-nutritional factors and their detoxification in pulses- a review. *Agricultural Review, 30* (1): 64-70

Jain, A.; Prakash, M.; Radha, C. (2015). Extraction and evaluation of functional properties of groundnut protein concentrate. *Journal of Food Science and Technology, 52*(10), 6655–6662.

Ji, H., Dong, S., Han, F., Li, Y., Ling, L., & Chen, Y. (2018). Effects of Dielectric Barrier Discharge (DBD) cold plasma treatment on physicochemical and functional properties of peanut protein. *Food and Bioprocess Technology, 11*(2), 344-354.

Jin, H., Zhao, Q., Feng, H., Wang, Y., Wang, J., Liu, Y., . . . Xu, J. (2019). Changes on the structural and physicochemical properties of conjugates prepared by the Maillard reaction of black bean protein isolates and glucose with ultrasound pretreatment. *Polymers, 11*(5), 848.

Jiang, L., Wang, J., Li, Y., Wang, Z., Liang, J., Wang, R., . . . Zhang, M. (2014). Effects of ultrasound on the structure and physical properties of black bean protein isolates. *Food Research International, 62*, 595-601.

Khan, N. M., Mu, T. H., Sun, H. N., Zhang, M., & Chen, J. W. (2015). Effects of high hydrostatic pressure on secondary structure and emulsifying behavior of sweet potato protein. *High Pressure Research, 35*(2), 189-202.

Kiranmayi, P. (2014). Is bioactive compounds in plants act as anti-nutritional factors. *International Journal of Current Pharmaceutical Research 6*(2): 36-38.

Li, X., Ye, C., Tian, Y., Pan, S., & Wang, L. (2018). Effect of ohmic heating on fundamental properties of protein in soybean milk. *Journal of Food Process Engineering, 41*, e12660.

Linsberger-Martin, G., Weiglhofer, K., Phuong, T. P. T., & Berghofer, E. (2013). High hydrostatic pressure influences antinutritional factors and in vitro protein digestibility of split peas and whole white beans. *LWT – Food Science and Technology, 51*(1), 331-336.

Liu, B., Wang, H., Hu, T., Zhang, P., Pan, S., & Hu, H. (2017). Ball-milling changed the physicochemical properties of SPI and its cold-set gels. *Journal of Food Engineering, 195*(C), 158-165.

Liu, T. Y., Ma, Y., Yu, S. F., Shi, J., & Xue, S. (2011). The effect of ball milling treatment on structure and porosity of maize starch granule. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 12*(4), 586-593.

Loubes, M. A., & Tolaba, M. P. (2014). Thermo-mechanical rice flour modification by planetary ball milling. *LWT Food Science and Technology, 57*(1), 320-328.

Ma, Z., Boye, J. I., Simpson, B. K., Prasher, S. O., Monpetit, D., & Malcolmson, L. (2011). Thermal processing effects on the functional properties and microstructure of lentil, chickpea, and pea flours. *Food Research International, 44*(8), 2534-2544.

Ma, W., Qi, B., Sami, R., Jiang, L., Li, Y., & Wang, H. (2018). Conformational and functional properties of soybean proteins produced by extrusion-hydrolysis approach. *International Journal of Analytical Chemistry, 2018*(1), 1-1.

Martínez-Velasco, A., Lobato-Calleros, C., Hernández-Rodriguez, B. E., Román-Guerrero, A., Alvarez-Ramirez, J., & Vernon-Carter, E. J. (2018). High intensity ultrasound treatment of faba bean (Vicia faba L.) protein: Effect on surface properties, foaming ability and structural changes. *Ultrasonics Sonochemistry, 44*, 97-105.

Mattila, P., Mäkinen, S., Eurola, M., Jalava, T., Pihlava, J. M., Hellström, J., & Pihlanto, A. (2018a). Nutritional value of commercial protein-rich plant products. *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands), 73*(2), 108-115.

Mattila, P. H. Pihlava, J. H., Hellström, J., Nurmi, M., Eurola, M., Mäkinen, S., . . . Pihlanto, A. (2018b). Contents of phytochemicals and antinutritional factors in commercial protein-rich plant products. *Food Quality and Safety, 2*(4), 213-219.

Messens, W., Van Camp, J., & Huyghebaert, A. (1997). The use of high pressure to modify the functionality of food proteins. *Trends in Food Science & Technology, 8*(4), 107-112.

Mir, N. A., Riar, C. S., & Singh, S. (2019). Structural modification of quinoa seed protein isolates (QPIs) by variable time sonification for improving its physicochemical and functional characteristics. *Ultrasonics Sonochemistry, 58*, 104700.

Mir, N. A., Riar, C. S., & Singh, S. (2020). Structural modification in album (Chenopodium album) protein isolates due to controlled thermal modification and its relationship with protein digestibility and functionality. *Food Hydrocolloids, 103*(12), 105708.

Mustafa, A., & Turner, C. (2011). Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Analytica Chimica Acta, 703*(1), 8-18.

Nasrabadi, M. N.; Doost, A. S.; Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of *plant-based* proteins to improve their techno-functionality and use in food products. *Food Hydrocolloids, V. 118*, 106789.

Nasrabadi, M. N., Doost, A. S., & Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of *plant-based* proteins to improve their techno-functionality and use in food products, *Food Hydrocolloids, 118*, 106789.

Nazari, B., Mohammadifar, M. A., Shojaee-Aliabadi, S., Feizollahi, E., & Mirmoghtadaie, L. (2018). Effect of ultrasound treatments on functional properties and structure of millet protein concentrate. *Ultrasonics Sonochemistry, 41*, 382-388.

Nelson, D. L.; Cox, M. M. (2011). Princípios de Bioquímica de Lehninger.5. ed. Porto Alegre: Artmed.

Niu, Y. X.; Li, W.; Zhu, J.; Huang, Q.; Jiang, M.; & Huang, F. (2012). Aqueous enzymatic extraction of rapeseed oil and protein from dehulled cold-pressed double-low rapeseed cake. *International Journal of Food Engineering, 8*(3), 2012.

Nosworthy, M. G., Medina, G., Franczyk, A. J., Neufeld, J., Appah, P., Utioh, A., . . . House, J. D. (2018). Effect of processing on the in vitro and in vivo protein quality of beans (Phaseolus vulgaris and Vicia Faba). *Nutrients, 10*(6), 671. https://doi.org/10.3390/nu10060671

Ochoa-Rivas, A.; Nava-Valdez, Y.; Serna-Saldívar, S. O.; Chuckhernández, C. (2017). Microwave and ultrasound to enhance protein extraction from peanut flour under alkaline conditions: Effects in yield and functional properties of protein isolate. Food and Bioprocess Technology, v. 10, n. 3, p. 543 – 555.

Oliver, C. M., Melton, L. D., & Stanley, R. A. (2006). Creating proteins with novel functionality via the maillard reaction: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 46*(4), 337-350.

O'Sullivan, J., Murray, B., Flynn, C., & Norton, I. (2016). The effect of ultrasound treatment on the structural, physical and emulsifying properties of animal and vegetable proteins. *Food Hydrocolloids, 53*, 141-154.

O'Sullivan, J. J., Park, M., Beevers, J., Greenwood, R. W., & Norton, I. T. (2017). Applications of ultrasound for the functional modification of proteins and nanoemulsion formation: A review. *Food Hydrocolloids, 71*, 299-310.

Pelgrom, P. J. M., Schutyser, M. A. I, & Boom, R. M. (2012).Thermomechanical Morphology of Peas and Its Relation to Fracture Behaviour. *Food and Bioprocess Technology, 6*(12), 3317-3325.

Peng, W., Kong, X., Chen, Y., Zhang, C., Yang, Y., & Hua, Y. (2016). Effects of heat treatment on the emulsifying properties of pea proteins. *Food Hydrocolloids, 52*, 301-310.

Pickardt, C., Eisner, P., Karammer, D. R., & Carle, R. (2015). Pilot plant preparation of light-coloured protein isolates from de-oiled sunflower (Helianthus annuus L.) 22 press cake by mild-acid protein extraction and polyphenol adsorption. *Food Hydrocolloids, 44*, 208-219.

Pietsch, V. L., Emin, M. A., & Schuchmann, H. P. (2017). Process conditions influencing wheat gluten polymerization during high moisture extrusion of meat analog products. *Journal of Food Engineering, 198*, 28-35.

Pimentel, D.; Pimentel, M. (2003). Sustainability of meat-based and *plant-based* diets and the environment. American Journal of Clinical Nutrition, Sep;78(3 Suppl): 660S-663S.

Pinto, A. Guerra, M., Carbas, B., Pathania, S., Castanho, A., & Brites, C. (2016). Challenges and opportunities for food processing to promote consumption of pulses. *Revista de Ciências Agrárias, 39*(4), 571-582.

Pojić, M., Mišan, A., & Tiwari, B. (2018). Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin. *Trends in Food Science & Technology, 75*(1), 93-104.

Ramadhan, K., & Foster, T. J. (2018). Effects of ball milling on the structural, thermal, and rheological properties of oat bran protein flour. *Journal of Food Engineering, 229*, 50-56.

Rodríguez-Ambriz, S. L., Martínez-Ayala, A. L., Millán, F., & Davila-Ortíz, G. (2005). Composition and functional properties of lupinus campestris protein isolates. *Plant Foods for Human Nutrition (Dordrecht, Netherlands), 60*(3), 99-107.

Sánchez-Vioque, R., Clemente, A., Vioque, J., Bautista, J., & Millán, F. (1999). Protein isolate from chickpea (Cicer arietinum L.): Chemical composition, functional properties and protein characterization. *Food Chemistry, 64*(2), 237-243.

Sarangapani, C., Patange, A., Bourke, P., Keener, K., & Cullen, P. J. (2018). Recent advances in the application of cold plasma technology in foods. *Annual Review of Food Science and Technology, 9*, 609-629.

Santiago, J. G.; Levy-Benshimol, A.; Carmona, A. (1993). Effect of Phaseolus vulgaris lectins on glucose absorption, transport and metabolism in rat everted intestinal sacs. *Journal of Nutritional Biochemistry, 4*(7): 426-430.

Shafiqur, R.; Islam, M. A.; Rahman, M. M.; Uddin, M. B.; Mazumder, M. A. R. (2018). Isolation of protein from defatted peanut meal and characterize their nutritional profile. *Chemistry Research Journal, 3*(2), 187–196.

Schindler, S., Wittig, M., Zelena, K., Krings, U., Bez, J., Eisner, P. & Berger, R. G. (2011). Lactic fermentation to improve the aroma of protein extracts of sweet lupin (Lupinus angustifolius). *Food Chemistry, 128*(2), 330-337.

Schlegel, K., Leidigkeit, A., Eisner, P., & Schweiggert-Weisz, U. (2019). Technofunctional and sensory properties of fermented lupin protein isolates. *Foods (Basel, Switzerland), 8*(12), 678.

Schutyser, M. A. I., Pelgrom, P. J. M., van der goot, A. J., & Boom, R. M. (2015). Dry fractionation for sustainable production of functional legume protein concentrates. *Trends in Food Science & Technology, 45*(2), 327-335.

Sgarbieri, V. C. (1996). *Proteínas em alimentos proteicos*. Livraria Varela.

Shao, Y. Y., Lin, K. H., & Kao, Y. J. (2016). Modification of foaming properties of commercial soy protein isolates and concentrates by heat treatments. *Journal of Food Quality, 39*, 695-706.

Shao, Y., & Tang, C. H. (2014). Characteristics and oxidative stability of soy protein-stabilized oil-in-water emulsions: Influence of ionic strength and heat pretreatment. *Food Hydrocolloids, 37*, 149-158.

Shapiro, M.; Galperin, V. (2005). Air classification of solid particles: A review. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification. 44. 279-285.

Singhania, R. R., Patel, A. K., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2009). Recent advances in solid-state fermentation. *Biochemical Engineering Journal, 44*(1), 13-18.

Sosulski, F., & Youngs, C. G. (1979). Yield and functional properties of air-classified protein and starch fractions from eight legume flours. *Journal of the American Oil Chemists' Society, 56*, 292-295.

Sun, C., Liu, R., Ni, K., Wu, T., Luo, X., Liang, B., & Zhang, M. (2016). Reduction of particle size based on superfine grinding: effects on structure, rheological and gelling properties of whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering, 186*, 69-76.

Sun, X. D., & Arntfield, S. D. (2011). Gelation properties of saltextracted pea protein isolate catalyzed by microbial transglutaminase cross-linking. *Food Hydrocolloids, 25*(1), 25-31.

Sun-Waterhouse, D., Zhao, M., & Waterhouse, G. I. (2014). Protein modification during ingredient preparation and food processing: Approaches to improve food processability and nutrition. *Food and Bioprocess Technology, 7*(7), 1853-1893.

Takahashi, T., Miura, M., Ohisa, N., Mori, K., & Kobayashi, S. (2005). Heat treatments of milled rice and properties of the flours. *Cereal Chemistry, 82*(2), 228-232.

Tabtabaei, S., Jafari, M., Rajabzadeh, A., Reza; L., & Raymond L. (2016). Solvent-free production of protein-enriched fractions from navy bean flour using a triboelectrification-based approach. *Journal of Food Engineering, 174*, 21-28.

Tangyu, M., Muller, J., Bolten, C.J., & Wittmann, C. (2019). Fermentation of *plant-based* milk alternatives for improved flavour and nutritional value. *Applied Microbiology and Biotechnology, 103*(23-24), 9263-9275.

Thanatuksorn, P., Kawai, K., Kajiwara, K., & Suzuki, T. (2009). Effects of ball-milling on the glass transition of wheat flour constituents. *Journal of the Science of Food & Agriculture, 89*(3), 430-435.

Vioque, J., Sánchez-Vioque, R., Clemente, A., Pedroche, J., Bautista, J., & Millán, F. (1999). Purification and partial characterization of chickpea 2S albumin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47*(4), 1405-1409.

Vose, J. R. (1978). Separating Grain Components by Air Classification. *Separation and Purification Methods, 7*(1), 1-29.

Wen, C., Zhang, J., Yao, H., Zhou, J., Duan, Y., Zhang, H., & Ma, H. (2019). Advances in renewable plant-derived protein source: The structure, physicochemical properties affected by ultrasonication. *Ultrasonics Sonochemistry, 53*, 83-98.

Xing, Q., Dekker, S., Kyriakopoulou, K., Boom, R. M., Smid, E. J., Schutyser, M. A. I. (2020). Enhanced nutritional value of chickpea protein concentrate by dry separation and solid state fermentation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies, 59*, 102269.

Xiong, T., Xiong, W., Ge, M., Xia, J., Li, B., & Chen, Y. (2018). Effect of high intensity ultrasound on structure and foaming properties of pea protein isolate. *Food Research International (Ottawa, Ont.), 109*, 260-267.

Yang, F., Liu, X., Ren, X. E., Huang, Y., Huang, C., & Zhang, K. (2018). Swirling cavitation improves the emulsifying properties of commercial soy protein isolate. *Ultrasonics Sonochemistry, 42*, 471-481.

Yust, M. M., Pedroche, J., Millán-Linares, M. C., Alcaide-Hidalgo, J. M., & Millán, F. (2010). Improvement of functional properties of chickpea proteins by hydrolysis with immobilised alcalase. *Food Chemistry, 122*(4), 1212-1217.

Zahari, I., Ferawati, F., Helstad, A., Ahlström, C., Östbring, K., Rayner, M., & Purhagen, J. K. (2020). Development of high-moisture meat analogues with hemp and soy protein using extrusion cooking. *Foods (Basel, Switzerland), 9*(6), 772.

Zha, F., Dong, S., Rao, J., & Chen, B. (2019). Pea protein isolate gum arabic maillard conjugates improves physical and oxidative stability of oil-in-water emulsions. *Food Chemistry, 285*, 130-138.

Zhang, Q., Li, L., Lan, Q., Li, M., Wu, D., Chen, H., . . . Yang, W. (2019a). Protein glycosylation: A promising way to modify the functional properties and extend the application in food system. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 59*(15), 2506-2533.

Zhang, J., Liu, L., Liu, H., Yoon, A., Rizvi, S., & Wang, Q. (2019b). Changes in conformation and quality of vegetable protein during texturization process by extrusion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 59*(20), 3267-3280.

Zhou, Q. C., Liu, N.; & Feng, C. X. (2017). Research on the effect of papain co-extrusion on pea protein and enzymolysis antioxidant peptides. *Journal of Food Processing and Preservation, 41*(6), e13301.

Zink, J., Wyrobnik, T., Prinz, T., & Schmid, M. (2016). Physical, chemical and biochemical modifications of protein-based films and coatings: An extensive review. *International Journal of Molecular Sciences, 17*(9), 1376.

The Good Food Institute Brasil

Alexandre Cabral	*Vice-presidente de Políticas Públicas*
Alysson Soares	*Especialista de Políticas Públicas*
Amanda Leitolis	*Especialista de Ciência e Tecnologia*
Ana Carolina Rossettini	*Gerente de Desenvolvimento*
Ana Paula Rossettini	*Analista de Recursos Humanos*
Camila Lupetti	*Especialista de Engajamento Corporativo*
Camila do Nascimento	*Analista de Finanças e Operações*
Cristiana Ambiel	*Gerente de Ciência e Tecnologia*
Fabio Cardoso	*Analista de Comunicação*
Guilherme de Oliveira Vilela	*Especialista de Engajamento Corporativo*
Gustavo Guadagnini	*Presidente*
Isabela Pereira	*Analista de Ciência e Tecnologia*
Jaqueline Gusmão	*Assistente Executiva*
Karine Seibel	*Gerente de Operações e Recursos Humanos*
Katherine de Matos	*Vice-presidente de Ciência e Tecnologia*
Lorena Pinho	*Analista de Ciência e Tecnologia*
Luciana Fontinelle	*Especialista de Ciência e Tecnologia*
Mariana Bernal	*Analista de Políticas Públicas*
Mariana Demarco	*Analista de Ciência e Tecnologia*
Raquel Casselli	*Diretora de Engajamento Corporativo*
Vinícius Gallon	*Especialista de Comunicação*

gfi / Brasil℠

WWW.GFI.ORG.BR

GFIBR@GFI.ORG