

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

**Avaliação física, química e técnico-funcional de extrato proteico de sementes
do fruto da pupunheira (*Bactris gasipaes*)**

Marquejon dos Santos Oliveira
Magister Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

MARQUEJON DOS SANTOS OLIVEIRA

Avaliação física, química e técnico-funcional de extrato proteico de sementes do fruto da pupunheira (*Bactris gasipaes*)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

Orientador: Eduardo B. de Oliveira

Coorientadores: Bruno R. de C. L. Junior
Cesar A. Sodre da Silva
Jane S. dos R. Coimbra

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Campus Viçosa**

T

O48o
2025

Oliveira, Marquejon dos Santos, 1997-
Avaliação física, química e técnico-funcional de extrato
proteico de sementes do fruto da pupunheira (*Bactris gasiapaes*)
/ Marquejon dos Santos Oliveira. – Viçosa, MG, 2025.
1 dissertação eletrônica (88 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Eduardo Basílio de Oliveira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa,
Departamento de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos, 2025.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2025.101>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Pupunha - Teor proteico. 2. Proteínas de vegetais
comestíveis. 3. Farinha de pupunha. I. Oliveira, Eduardo Basílio
de, 1980-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de
Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos.
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de
Alimentos. III. Título.

CDD 22. ed. 664.72272

MARQUEJON DOS SANTOS OLIVEIRA

Avaliação física, química e técnico-funcional de extrato proteico de sementes do fruto da pupunheira (*Bactris gasipaes*)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 21 de março de 2025.

Assentimento:

Marquejon dos Santos Oliveira
Autor

Eduardo Basilio de Oliveira
Orientador

Essa dissertação foi assinada digitalmente pelo autor em 09/05/2025 às 00:41:01 e pelo orientador em 09/05/2025 às 11:39:52. As assinaturas têm validade legal, conforme o disposto na Medida Provisória 2.200-2/2001 e na Resolução nº 37/2012 do CONARQ. Para conferir a autenticidade, acesse <https://siadoc.ufv.br/validar-documento>. No campo 'Código de registro', informe o código **MBHT.LUCC.ALM7** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com o apoio das seguintes agências de pesquisa brasileiras: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

“Alice, não pode viver sua vida para agradar os outros, a escolha deve ser sua, porque quando você for enfrentar aquela criatura, terá que ir sozinha”.
(Rainha Branca, Alice no País das Maravilhas).

RESUMO

OLIVEIRA, Marquejon dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2025. **Avaliação física, química e técnico-funcional de extrato proteico de sementes do fruto da pupunheira (*Bactris gasipaes*)**. Orientador: Eduardo Basilio de Oliveira. Coorientadores: Bruno Ricardo de Castro Leite Junior, Cesar Augusto Sodre da Silva e Jane Selia dos Reis Coimbra.

As proteínas desempenham diversas funções essenciais no organismo humano e exercem um papel fundamental na alimentação, não apenas como nutrientes, mas também por suas propriedades físicas e químicas, que podem contribuir significativamente para as características técnico-funcionais das matrizes alimentares, influenciando positivamente a textura, a estabilidade e a qualidade sensorial dos produtos. Nos últimos anos, o uso de proteínas de origem vegetal tem ganhado destaque, impulsionado pela crescente demanda por alimentos mais saudáveis e sustentáveis. Nesse cenário, cresce o interesse por novas fontes vegetais, como a pupunha (*Bactris gasipaes*), uma palmeira tropical nativa do Brasil, cujos frutos são ricos em óleo, carboidratos e fibras alimentares. Este estudo teve como objetivo obter e caracterizar as propriedades físicas e químicas e técnico-funcionais do extrato proteico da semente da pupunha (PEPPS). Para isso, foi produzida uma farinha desengordurada das sementes, submetida a diferentes métodos de extração proteica: precipitação isoelétrica, extração assistida por ultrassom e por enzimas. Dentre esses, o método por precipitação isoelétrica apresentou a melhor pureza proteica (53,4%), sendo o escolhido para a obtenção do PEPPS. O extrato obtido foi avaliado quanto à composição centesimal, propriedades físicas, químicas e técnico-funcionais. O PEPPS apresentou teores expressivos de proteínas (53,4%), carboidratos (36,1%) e fibras (17,4%). Seu ponto isoelétrico médio foi pH 3,4, e, entre os pHs avaliados, o PEPPS demonstrou maior hidrofobicidade e quantidade de grupos sulfidríla livres em pH 7,0. Nas análises técnico-funcionais, o PEPPS apresentou maior capacidade de retenção de óleo (239,66%) em comparação à de água (121,3%). As emulsões formuladas com o PEPPS apresentaram cremeação contínua até a desestabilização total. A concentração mínima para formação de gel foi de 16% de PEPPS, enquanto as melhores características de formação (128,9%) e estabilidade (81,4%) de espuma foram observadas em pH 7,0. Os resultados obtidos indicam que o PEPPS apresenta propriedades técnico-funcionais promissoras, demonstrando potencial para aplicação em diferentes produtos da indústria alimentícia.

Palavras-chave: extração proteica; subproduto industrial; potencial

nutricional; propiedades funcionais

ABSTRACT

OLIVEIRA, Marquejon dos Santos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, March, 2025. **Obtention, physicochemical characterization and techno-functional assessment of protein-rich extracts from Amazonian peach palm (*Bactris gasipaes*) almonds.** Adviser: Eduardo Basilio de Oliveira. Co-advisers: Bruno Ricardo de Castro Leite Junior, Cesar Augusto Sodre da Silva and Jane Selia dos Reis Coimbra.

Proteins perform several essential functions in the human body and play a key role in nutrition, not only as nutrients but also due to their physical and chemical properties, which can significantly contribute to the techno-functional characteristics of food matrices, positively influencing texture, stability, and sensory quality of products. In recent years, the use of plant-based proteins has gained prominence, driven by the growing demand for healthier and more sustainable foods. In this context, there is increasing interest in exploring new plant sources, such as peach palm (*Bactris gasipaes*), a promising tropical palm native to Brazil, whose fruits are rich in oil, carbohydrates, and dietary fiber. This study aimed to obtain and characterize the physical, chemical, and techno-functional properties of the protein extract from peach palm seeds (PEPPS). For this purpose, a defatted flour was produced from the seeds and subjected to different protein extraction methods: isoelectric precipitation, ultrasound-assisted extraction, and enzyme-assisted extraction. Among these, the isoelectric precipitation method yielded the highest protein purity (53.4%) and was therefore selected for PEPPS production. The obtained extract was evaluated in terms of centesimal composition, physical and chemical characteristics, and techno-functional properties. PEPPS showed significant levels of protein (53.4%), carbohydrates (36.1%), and fiber (17.4%). Its average isoelectric point was pH 3.4. Among the tested pH levels, PEPPS exhibited higher hydrophobicity and a greater amount of free sulfhydryl groups at pH 7.0. Regarding techno-functional analyses, PEPPS showed a higher oil-holding capacity (239.66%) compared to water-holding capacity (121.3%). Emulsions formulated with PEPPS displayed continuous creaming throughout storage until complete destabilization. The minimum gelation concentration was 16%, while the best foam formation (128.9%) and foam stability (81.4%) were observed at pH 7.0. The results indicate that PEPPS possesses promising techno-functional properties, demonstrating potential for application in various food industry products.

Keywords: Protein extraction; industrial by-product; nutritional potential; functional properties

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representatividade da influência das cargas em diferentes pHs na solubilidade das proteínas	18
Figura 2 - Representação micro e microscópica da capacidade de retenção de óleo e água.....	20
Figura 3 - Representação da propriedade espumante e seu mecanismo de formação.....	21
Figura 4 - Representatividade do mecanismo de formação da rede tridimensional do gel.....	23
Figura 5 - Esquemática da ação na proteína na redução da tensão superficial entre líquidos emissíveis e formação da emulsão.	25
Figura 6 - Representação morfológica da pupunheira	31
Figura 7 - Aplicações alimentícias para as partes da pupunheira	32
Figura 8 - Flowchart of extraction by isoelectric precipitation, enzyme-assisted extraction, and ultrasound-assisted extraction. Source: Author's own elaboration.	51
Figure 9 – A) Average ζ potential (mV) of PEPPS dispersed over a pH range of 2.0 to 11.0, in B) Magnified view of the pH range between 2.6 and 3.7 from Figure 9A, highlighting the point where the ζ potential was approximately zero (marked by the red dot), corresponding to the average isoelectric point of the protein extract. Source: Author's own elaboration.	60
Figure 10 - SDS-PAGE pattern of PEPPS under reducing conditions. Source: Author's own elaboration.....	62
Figure 11 - (A) Dispersibility profile of PEPPS ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ BSA equivalent in the supernatant of centrifuged dispersions) from pH 2.0 to 11.0, in B) turbidity profile of PEPPS in an aqueous medium over the same pH range, and in C) visual appearance of 0.5% (w/v) PEPPS dispersions (25 ± 0.5 °C) from pH 2.0 to 11.0. Results are expressed as mean, and error bars indicate standard deviation ($n = 3$). Source: Author's own elaboration.....	64
Figure 12 - A) hydrophobic surface (h_0 index), in B) Free sulfhydryl groups. Results are expressed as means, with error bars indicating the standard deviation ($n = 3$). A t-test was conducted with a significance level of 5%. Lowercase letters indicate comparisons between pH 3.5 and 7.0. Source: Author's own elaboration.....	65
Figure 13 - Water-holding capacity (WHC) and oil-holding capacity (OHC) of PEPPS (pH 5.9, temperature of 25°C, and osmotic pressure) and the Y-axis represents the mass of water absorbed per gram of PEPPS. Results are expressed as means, with error bars indicating the standard deviation ($n = 3$). A t-test was conducted with a significance level of 5%. The letters represent the comparison of the effects of solvents on retention. Source: Author's own elaboration.	68
Figure 14 - A) Foaming capacity, and in B) Foam stability over time at 30 min, 60 min, and 1440 min. Results are expressed as means, with error bars indicating the standard deviation ($n = 3$). A t-test was conducted with a significance level of 5%. Lowercase letters indicate comparisons between pH 3.5 and 7.0. Source: Author's own elaboration.....	69
Figure 15 - EAI values are expressed as means, with error bars indicating standard deviation ($n = 3$). Lowercase letters indicate comparisons between treatment means at the same pH level using Tukey's test (5% probability). Source: Author's own elaboration.	71
Figure 16 - Visual appearance of emulsions on days 0, 5, 10, 15, and 20 of storage, with creaming index values indicated alongside. Source: Author's own elaboration.	72
Figure 17 - Minimum gelation concentration and gel strength for PEPPS in pH 7,0. Source: Author's own elaboration.....	74

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Composição centesimal da farinha de sementes de pupunha em base seca.....	34
Tabela 2 - Partes da pupunheira usadas para fazer farinhas e avaliação das suas propriedades técnico-funcionais	35

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

Abs – Absorbance

ANS – 8-anilino-1-naphthalenesulfonic acid

APP –  reas de Preservao Permanente

CPF – Farinha de polpa crua

DPPSF – Defatted peach palm seeds flour

DTNB – Reagente de Ellman

EAI – Emulsifying Activity Index

EPP – Emerging plant proteins

ESI –  ndice de estabilidade da emulso

FA – Foam Activity

FC – Foam Capacity

FS – Foam Stability

FSP – Farinha de sementes de pupunha

H₀ – Hydrophobic surface

H_s – Serum Height

H_t – Total Height

OHC – Oil Holding Capacity

PB – Polpa cozida

PEPPS – Protein extracts from peach palm seed

pH_i – Isoelectric point

PVE – Proteínas vegetais emergentes

PVT – Proteínas vegetais tradicionais

RP – Polpa crua

RPF – Farinha de polpa cozida

Rpm – Rotation per minute

SDS-PAGE – Sodium dodecyl sulfate - polyacrylamide gel electrophoresis

UV – Ultravioleta

WAC – Capacidade de absoro de  gua

WHC – Water Holding Capacity

WSI –  ndice de solubilidade em água

 -potential – Zeta potential

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	OBJETIVOS	13
2.1.	Objetivo geral	13
2.2.	Objetivos específicos	13
CAPÍTULO I		13
1.	PROTEINA: CONCEITO E APLICAÇÃO	15
2.	PROTEINAS VEGETAIS	16
3.	PROPRIEDADES TÉCNICO-FUNCIONAIS	17
3.1.	Solubilidade	18
3.2.	Capacidade de retenção de água e óleo	20
3.3.	Propriedades espumantes	21
3.4.	Propriedades gelificantes	22
3.5.	Propriedades emulsificantes	24
4.	EXTRAÇÃO DE PROTEINAS	26
4.1.	Extração por precipitação isoelétrica	27
4.2.	Extração assistida por ultrassom	28
4.3.	Extração assistida por enzimas	29
5.	PUPUNHEIRA (<i>Bactris gasipaes</i>)	30
5.1.	Caracterização botânica	30
5.2.	Importância econômica e ambiental	31
5.3.	Composição centesimal da semente de pupunha	34
5.4.	Estudos relacionados as propriedades técnico-funcionais da pupunheira	35
6.	REFERÊNCIAS	39
CAPÍTULO II		47
1.	INTRODUCTION	49
2.	MATERIALS AND METHODS	50
2.1.	Reagents	50
2.2.	Raw material	51
2.3.	Obtaining defatted peach palm seed flour (DPPSF)	51
2.4.	Comparison of methods to obtain protein extracts from peach palm seeds (PEPPS)	51
2.4.1.	Average isoelectric point (pH_i)	52
2.4.2.	Isoelectric Precipitation Extraction	52
2.4.3.	Ultrasound-Assisted Extraction	52
2.4.4.	Enzyme-Assisted Extraction	53
2.5.	Proximate composition of DPPSF and PEPPS	53
2.6.	Physical and chemical characterization of PEPPS	53
2.6.1.	Molecular Mass Distribution (SDS-PAGE)	54
2.6.2.	Turbidity and dispersibility profile	54

2.6.3.	Exposed hydrophobic surface (h_0 index).....	55
2.6.4.	Free sulfhydryl (–SH) groups.....	55
2.7.	Techo-functionality of PEPPS assessment	55
2.7.1.	Water and oil holding capacities	56
2.7.2.	Foaming Properties.....	56
2.7.3.	Emulsifying Properties	57
2.7.4.	Gelling Properties.....	58
2.8.	Statistical analysis.....	58
3.	RESULTS AND DISCUSSION.....	59
3.1.	Proximate composition of DPPSF and PEPPS	59
3.2.	Comparison of methods to obtain protein extracts from PEPPS.....	59
3.2.1.	Average isoelectric point (pH_i).....	59
3.2.2.	Isoelectric precipitation, ultrasound-assisted extraction, and enzymatic extraction.....	60
3.3.	Physical and chemical characterization of PEPPS	62
3.3.1.	Molar mass distribution (SDS–PAGE).....	62
3.3.2.	Turbidity and dispersibility profile.....	63
3.3.3.	Exposed hydrophobic surface (h_0 index) and free sulfhydryl (–SH) groups.....	65
3.4.	Techo-functionality of PEPPS assessment	67
3.4.1.	Water and oil holding capacities	67
3.4.2.	Foaming properties.....	69
3.4.3.	Emulsifying properties	70
3.4.4.	Gelling Properties.....	74
4.	CONCLUSION.....	76
5.	REFERENCES	77
CAPÍTULO III.....		86
1.	CONCLUSÕES GERAIS	88

1. INTRODUÇÃO

As proteínas são macromoléculas compostas por cadeias de aminoácidos unidos por ligações peptídicas, cuja sequência determina diferentes níveis de organização estrutural: primária (cadeia linear), secundária (dobramentos locais, como hélices α e folhas β), terciária (conformação tridimensional) e quaternária (associação de múltiplas cadeias polipeptídicas). Essas moléculas desempenham diversas funções biológicas essenciais, incluindo transporte de moléculas, regulação de processos celulares, defesa imunológica e suporte estrutural (Huang et al., 2023). A ingestão de proteínas é indispensável para a manutenção das funções vitais, podendo ser obtida de fontes animais ou vegetais (Ismail et al., 2020).

Embora proteínas de origem animal apresentem maior digestibilidade e composição completa de aminoácidos, proteínas vegetais podem apresentar-se menos digeríveis devido à sua estrutura molecular e à menor biodisponibilidade de aminoácidos essenciais, como lisina (Day et al., 2022). Apesar dessas limitações, a busca por proteínas vegetais tem crescido significativamente, impulsionada por fatores como o aumento da população vegetariana e vegana, preocupações éticas com a produção de carne, restrições religiosas, necessidade de mitigar emissões de gases de efeito estufa e a redução de desperdícios na cadeia produtiva (Queiroz et al., 2014; Luana et al., 2020; Frigo et al., 2022; Manzatto et al., 2022; Salehi et al., 2023).

Nesse contexto, a pupunha (*Bactris gasipaes*), um fruto amazônico da família Arecaceae, destaca-se como fonte potencial de ingredientes alimentícios ricos em fibras e carboidratos, além de seu valor econômico expressivo no Brasil, maior produtor e exportador de palmito (IBGE, 2022). Embora a pupunha produza duas matrizes alimentares comerciais – o fruto e o palmito – suas sementes são usualmente descartadas ou usadas como carvão natural e adubo (Flores et al., 2019; Jaramillo-Vivanco et al., 2022). Estudos mais aprofundados sobre as sementes de pupunha como fonte proteica, não encontrados até o momento, podem representar uma importante inovação, contribuindo para a redução do descarte industrial e a agregação de valor na cadeia produtiva. Além disso, novas fontes proteicas de origem vegetal podem mitigar desafios enfrentados por proteínas vegetais tradicionais, como baixa solubilidade e limitada aplicabilidade técnico-funcional.

A partir do exposto, o presente trabalho teve como objetivo investigar o potencial proteico das sementes da pupunha, abordando suas propriedades físicas, químicas e técnico-funcionais. A novidade deste estudo reside na revalorização de um subproduto industrial, transformando-o em um ingrediente alimentar de valor nutricional. Especificamente, o estudo

buscou avaliar a composição centesimal das sementes, determinar métodos eficientes de extração proteica e caracterizar propriedades relevantes, como solubilidade, capacidade emulsificante e formação de espumas. Espera-se que os resultados contribuam para a inovação e a sustentabilidade na indústria de alimentos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

- Obter e caracterizar um extrato proteico a partir da farinha desengordurada das sementes de pupunha (*Bactris gasipaes*), avaliando diferentes métodos de extração e analisando suas propriedades físicas, químicas e técnico-funcionais para possíveis aplicações na indústria alimentícia.

2.2. Objetivos específicos

- Obter a farinha desengordurada das sementes de pupunha;
- Avaliar diferentes métodos de extração de proteínas, como precipitação isoeletrica (pH 3,4), extração alcalina assistida por enzimas e extração alcalina assistida por ultrassom, na obtenção do extrato proteico da farinha desengordurada das sementes de pupunha, bem como sua composição centesimal;
- Caracterizar física e quimicamente o extrato proteico das sementes de pupunha, em pH 2.0 a 11.0 (ponto isoeletrico, perfil de dispersibilidade e turbidez), sem pH definido (perfil de distribuição de massas molares) e em pH 3,5 e 7,0 (superfície hidrofóbica e índice de grupos sulfidrilas livres) à temperatura de 25°C.
- Caracterizar as propriedades técnico-funcionais do extrato proteico das sementes de pupunha em pH 3,5 e 7,0 (propriedades espumantes, emulsificantes e gelificantes) e sem pH definido (capacidade de retenção de óleo e água).

CAPÍTULO 1
REVISÃO DA LITERATURA

1. PROTEINA: CONCEITO E APLICAÇÃO

As proteínas são macromoléculas formadas por cadeias de resíduos de aminoácidos (AA), sendo essenciais para o organismo e representando compostos químicos abundante na matéria viva. Na molécula de proteína, os aminoácidos se ligam por meio de ligações peptídicas, que ocorrem com a eliminação de uma molécula de água entre o grupo carboxila de um aminoácido e o grupo amino de outro. Nos sistemas biológicos, essas cadeias podem variar em tamanho, indo de poucas unidades, como dipeptídeos, tripeptídeos e oligopeptídeos, até milhares de unidades, formando polipeptídeos (Silva et al., 2012; Ritter et al., 2024).

A sequência de aminoácidos ao longo da cadeia polipeptídica define a estrutura primária de uma proteína, sendo codificada pelo genoma que determina sua forma e função. As proteínas são polímeros lineares, sem ramificações, e seu dobramento ocorre devido a pontes de hidrogênio entre os aminoácidos. Esse processo dá origem a estruturas regulares, como alfa-hélice e folha beta, ou não regulares, como dobras e loops. As proteínas se dobram e enovelam de maneira única, influenciadas por interações não covalentes entre as regiões estruturadas ou entre as cadeias laterais dos aminoácidos. Essas interações incluem pontes de hidrogênio, forças eletrostáticas e pontes dissulfeto. Além disso, a associação de duas ou mais cadeias polipeptídicas pode formar a estrutura quaternária (Silva et al., 2012).

As proteínas desempenham diversas funções nos seres vivos como estruturais, imunológicas, hormonais, enzimáticas, metabólicas e transportadoras. A ingestão de proteínas de forma equilibrada diariamente é crucial, pois a deficiência proteica pode causar fadiga, baixa imunidade e perda de massa muscular, e em casos mais graves pode comprometer funções vitais (Nascimento, 2010; Silva et al., 2012).

As fontes proteicas alimentares abrangem tanto a origem animal (carnes e laticínios) quanto a vegetal (leguminosas, cereais e oleaginosas). A seleção das fontes proteicas para consumo pode variar significativamente em função de fatores individuais, como as escolhas dietéticas de indivíduos veganos e vegetarianos, ou restrições religiosas que proíbem o consumo de determinados tipos de carne, direcionando para a ingestão de proteínas vegetais, entre outras motivações (Frigo et al., 2022; Salehi et al., 2023). É fundamental ressaltar que, ao optar por essas fontes proteicas, recomenda-se considerar não apenas o teor proteico, mas também a composição nutricional global, incluindo fibras, vitaminas e minerais, bem como os impactos ambientais inerentes à produção desses alimentos.

2. PROTEÍNAS VEGETAIS

As proteínas vegetais são encontradas em diversas fontes e podem ser classificadas em tradicionais e emergentes. As proteínas vegetais tradicionais (PVT) são amplamente exploradas pela indústria, com diversas pesquisas científicas que respaldam sua aplicação e benefícios. Já as proteínas vegetais emergentes (PVE) possuem uma quantidade menor de estudos e ainda são pouco utilizadas na indústria alimentícia, apesar do seu potencial (Sha e Xiong, 2020; García-Moreno et al., 2021).

As PVT apresentam alto consumo e produção industrial, ampla disponibilidade global e diversas aplicações na indústria de alimentos. Entre os principais exemplos estão a soja (utilizada em isolados proteicos e carnes vegetais), o trigo (fornecedor de glúten), a ervilha (alternativa hipoalergênica ao glúten e soja), o arroz (proteína utilizada na suplementação) e o milho (zeína usada como emulsificante) (Mattice e Marangoni, 2020; Sha et al., 2020; Lee et al., 2022).

As PVE, por sua vez, ainda estão em fase de estudo, possuem uso industrial limitado e demandam mais pesquisas para otimizar sua extração e funcionalidade. No entanto, apresentam potencial nutricional, tecnológico e sustentável. Alguns exemplos incluem a lentilha (rica em aminoácidos essenciais e alternativa ao glúten), a semente de girassol (com boa solubilidade e estabilidade em emulsões), o feijão-mungo (base alternativa ao ovo devido à sua capacidade de gelificação), as microalgas (fontes proteicas altamente sustentáveis) e a semente de cânhamo (rica em proteínas e ômega-3) (Yi-Shen et al., 2018; Caporgno et al., 2020; Zahari et al., 2020; Ebert et al., 2021; Baune et al., 2022). Essas PVE podem ser aplicadas no desenvolvimento de novos ingredientes funcionais, produtos plant-based mais sustentáveis e formulações hipoalergênicas.

Além de fornecerem proteínas, as fontes vegetais apresentam benefícios adicionais, como presença de gorduras insaturadas benéficas, ausência de colesterol, alto teor de fibras e compostos antioxidantes (Shahnaz et al., 2024). Outro ponto positivo é a sustentabilidade: sua produção no campo exige menos recursos naturais e gera menores emissões de gases do efeito estufa em comparação com a produção de proteínas de origem animal (Poore e Nemecek, 2018). No entanto, as proteínas vegetais possuem algumas limitações, como a deficiência de certos aminoácidos essenciais. Algumas leguminosas são pobres em metionina, enquanto cereais podem ser deficientes em lisina, tornando necessária a combinação de diferentes fontes vegetais (exemplo clássico: arroz e feijão) para um perfil de aminoácido mais equilibrado (FAO, 2013). Além disso, sua digestibilidade pode ser reduzida pela presença de compostos como taninos e

fitatos, que podem interferir na absorção de aminoácidos devido a capacidade de interação das ligações de hidrogênio com proteínas, levando à sua coagulação. Esses compostos, por serem polifenóis adstringentes, também podem interagir com enzimas digestivas e afetar a integridade da mucosa gástrica, reduzindo a absorção de nutrientes (Silva e Silva, 1999; Opazo-Navarrete et al., 2025).

3. PROPRIEDADES TÉCNICO-FUNCIONAIS

As proteínas exibem um conjunto de propriedades intrinsecamente ligadas aos seus atributos físicos e químicos. As propriedades físicas, caracterizadas por serem observáveis sem alteração da estrutura química primária da proteína, incluem a solubilidade, o ponto isoelétrico, a densidade, a absorvância na região do ultravioleta (UV), a viscosidade e a temperatura de desnaturação (Fontana et al., 2009; He, 2023). Em contraste, as propriedades químicas concernem à sua composição molecular e à reatividade dos grupos funcionais presentes nos resíduos de aminoácidos. Exemplos destas propriedades englobam a composição aminoacídica, os diversos tipos de ligações químicas estabilizadoras (ligações peptídicas, pontes de hidrogênio, interações eletrostáticas, interações hidrofóbicas e pontes dissulfeto), bem como a reatividade com diferentes reagentes, a desnaturação induzida por agentes químicos e as interações com outras biomoléculas (Zink et al., 2016; He, 2023).

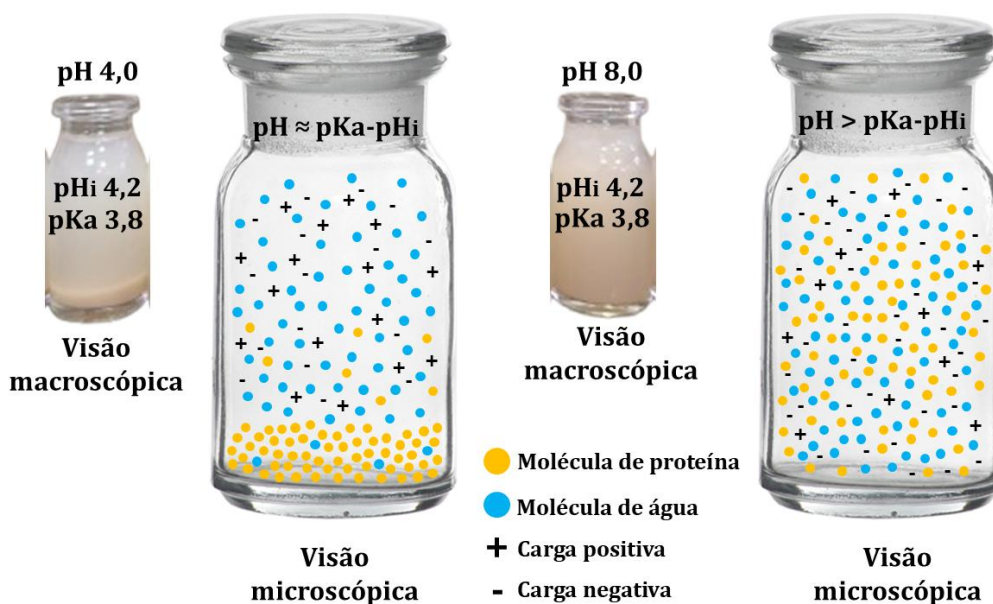
Durante o processamento de alimentos, a aplicação de diversas operações unitárias de natureza física e química — a exemplo de forças mecânicas (cisalhamento, extrusão), variações térmicas (aquecimento, resfriamento), modulações de pressão, ajustes de pH e alterações na força iônica — induz modificações estruturais nas proteínas. Estes fenômenos, sinergicamente com a presença de outros componentes da matriz alimentar, exercem um impacto significativo sobre a funcionalidade e a qualidade sensorial e tecnológica dos produtos alimentícios.

As propriedades técnico-funcionais referem-se ao conjunto de características que determinam como proteínas, polissacarídeos, lipídeos e outros compostos se comportam em sistemas alimentares ou industriais. Essas propriedades influenciam o desempenho tecnológico durante o processamento, armazenamento, preparação e consumo dos alimentos, sem estarem necessariamente ligadas à função nutricional ou biológica dos componentes. Elas são fundamentais para o desenvolvimento de novos produtos, substituição estratégica de ingredientes e aprimoramento de atributos sensoriais, como textura, aparência e estabilidade (Gravel e Doyen, 2020).

Diversos fatores podem afetar as características técnico-funcionais das proteínas, incluindo a fonte proteica, os métodos de desengorduramento, o processo de extração e a técnica de secagem utilizada (Feyzi et al., 2018). No contexto do processamento de alimentos, destacam-se como propriedades técnico-funcionais desejáveis: a solubilidade em água, a capacidade de retenção de água e gordura, a formação de emulsões, espumas e géis, o espessamento e a interação com compostos responsáveis pelo sabor (Klupšaitė e Juodeikienė, 2015; Rahmati, 2018).

3.1. Solubilidade

A solubilidade das proteínas é um atributo multifatorial, dependente da carga superficial molecular, balanços hidrofóbicos e hidrofílicos, tipo de solvente, pH, força iônica e a temperatura da matriz alimentar (Lafarga, 2018). O pH, em particular, desempenha um papel crucial, pois influencia diretamente as cargas presentes tanto no meio quanto nas proteínas. Quando o pH do sistema se aproxima do ponto isoelétrico das proteínas, a solubilidade é reduzida significativamente, uma vez que a soma das cargas líquidas parciais na superfície das moléculas proteicas se aproxima de zero, favorecendo interações intermoleculares que resultam em agregação devido à diminuição da repulsão eletrostática entre as moléculas. Em contrapartida, quando o pH do sistema se afasta do ponto isoelétrico, observa-se um aumento na solubilidade das proteínas, atribuído à maior repulsão eletrostática e, conseqüentemente, à maior dispersão das moléculas no meio (Figura 1) (Bessada et al. 2019; Shevkani et al., 2019).
 Figura 1 - Representatividade da influência das cargas em diferentes pHs na solubilidade das proteínas



Fonte: Autor

O pKa de uma proteína refere-se ao valor de pH no qual um grupo funcional presente nos aminoácidos que compõem essa proteína encontra-se 50% ionizado (ou dissociado). Em outras palavras, é o ponto de equilíbrio entre as formas protonada e desprotonada desse grupo funcional. As proteínas são formadas por cadeias de aminoácidos, muitos dos quais possuem grupos ionizáveis (carboxila e amino), além de cadeias laterais específicas presentes em aminoácidos como histidina, ácido aspártico, ácido glutâmico e lisina (Wilson et al., 2024).

Cada um desses grupos apresenta um pKa específico, que influencia diretamente a carga elétrica total da proteína em diferentes faixas de pH. O conhecimento dos valores de pKa é fundamental por diversas razões. Eles afetam a solubilidade da proteína e influenciam sua estrutura e estabilidade, como o dobramento da cadeia polipeptídica. Além disso, os pKa interferem nas interações com outras moléculas, como ligantes, substratos ou outras proteínas. Também são essenciais para a compreensão do ponto isoelétrico (pH_i) — o pH em que a proteína apresenta carga líquida próxima de zero —, diretamente relacionado aos pKa dos grupos ionizáveis presentes na molécula. No contexto dos estudos de funcionalidade de proteínas aplicadas a alimentos, conhecer os pKa permite prever como uma proteína se comportará em diferentes faixas de pH. Isso é crucial para aplicações tecnológicas, como emulsificação, formação de géis e estabilização de espumas (Pace et al., 2009).

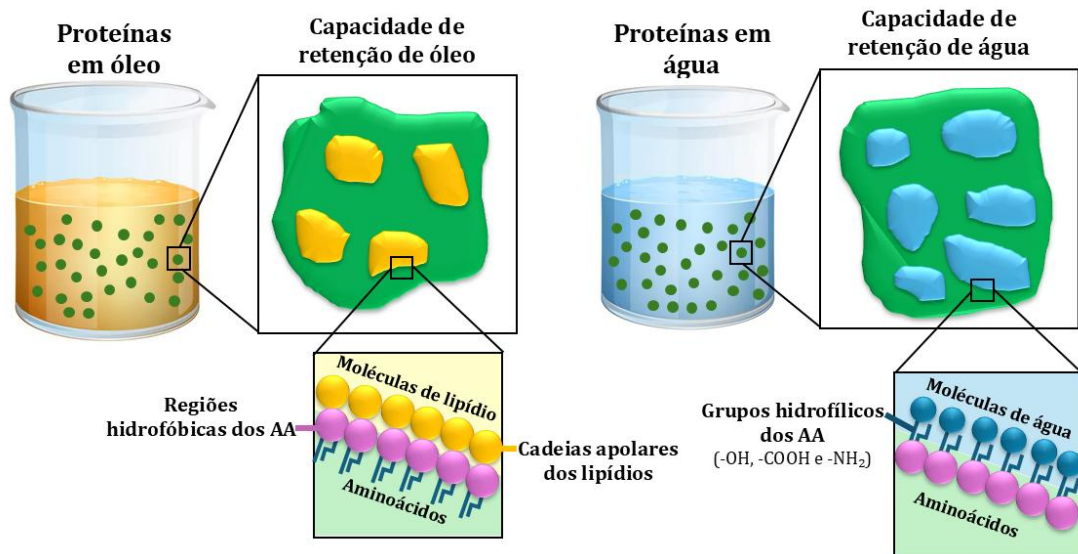
Um estudo conduzido por Zhao et al. (2020) investigou a associação entre a solubilidade de proteínas vegetais e o pH do meio, utilizando proteínas de soja, ervilha e trigo. Essas proteínas apresentam pontos isoelétricos em torno de pH 4–5, 4–6 e 6–7, respectivamente, faixas nas quais foi observada uma precipitação proteica quase completa. Entre as amostras analisadas, as proteínas do trigo demonstraram maior solubilidade em pH mais extremos, tanto em meios ácidos quanto alcalinos, indicando que a solubilização proteica é mais eficiente em faixas de pH distantes do ponto isoelétrico. Por outro lado, as proteínas de ervilha e soja apresentaram maior solubilidade em meio alcalino. Esse estudo destaca a importância de compreender os mecanismos e fatores que influenciam a solubilidade proteica. Esse entendimento é essencial tanto para explorar suas propriedades técnico-funcionais, como emulsificação, formação de espuma e gelificação, quanto para identificar e mitigar fatores que possam comprometer a funcionalidade durante o processamento de alimentos (Bessada et al., 2019).

3.2. Capacidade de retenção de água e óleo

A capacidade de retenção de água (WHC) e a capacidade de retenção de óleo (OHC) são propriedades técnico-funcionais importantes das proteínas no desenvolvimento de alimentos processados. Ambas influenciam diretamente atributos como textura, suculência, estabilidade e palatabilidade dos produtos alimentícios (Ma et al., 2022; Wittmüss et al., 2024).

A WHC refere-se à habilidade da proteína de absorver e reter água em sua estrutura, mesmo após a aplicação de forças externas como calor ou pressão. Essa funcionalidade ocorre devido à presença de grupos hidrofílicos (como $-OH$, $-COOH$ e $-NH_2$) nos aminoácidos, que interagem com as moléculas de água por meio de ligações de hidrogênio. Quando as proteínas são desnaturadas — por exemplo, durante o aquecimento —, esses grupos se tornam mais expostos, aumentando a capacidade de retenção de água. Além disso, a estrutura tridimensional da proteína pode formar uma espécie de rede que aprisiona a água, funcionando como uma esponja (Figura 2) (Wittmüss et al., 2024).

Figura 2 - Representação micro e microscópica da capacidade de retenção de óleo e água



Fonte: Autor

Já a OHC está relacionada à interação entre regiões hidrofóbicas dos aminoácidos e as cadeias apolares dos lipídios. Proteínas com maior teor de aminoácidos apolares apresentam maior afinidade por óleo. A capacidade de reter óleo também depende de características físicas da proteína, como porosidade, superfície específica e capacidade de formar matriz tridimensional (Figura 2) (Wittmüss et al., 2024).

Na indústria alimentícia, essas propriedades desempenham papéis cruciais. A WHC contribui para a suculência de produtos como hambúrgueres, embutidos e pães, enquanto a OHC melhora a retenção de aroma, sabor e maciez, especialmente em produtos ricos em

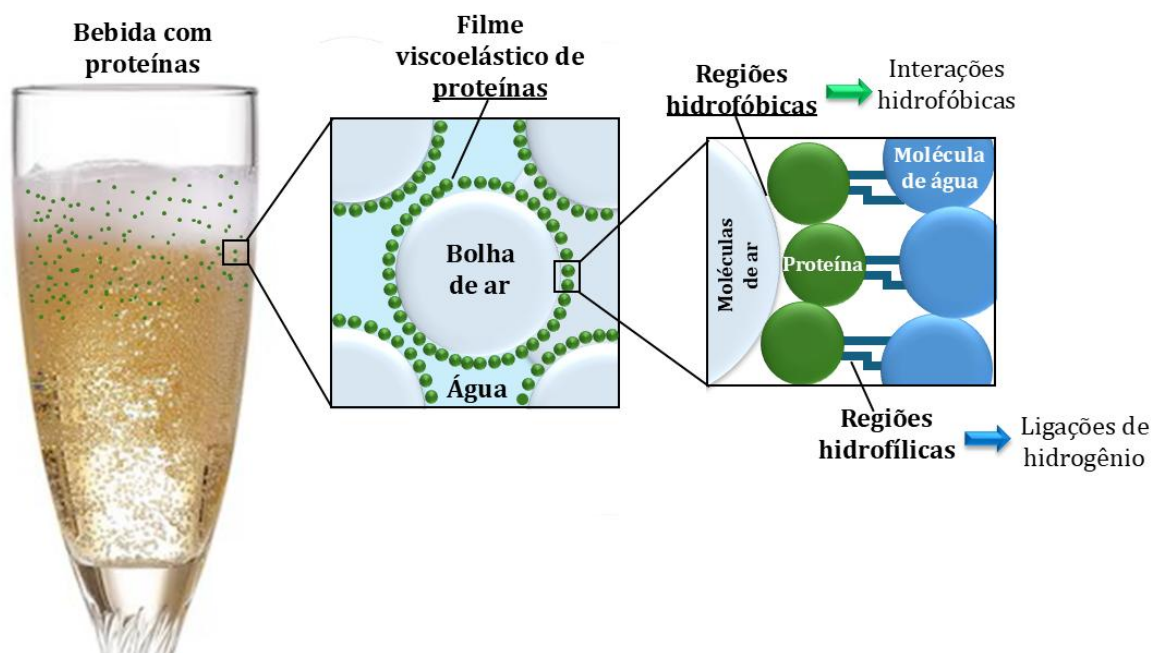
gordura. Além disso, ambas as propriedades auxiliam na estabilidade dos alimentos durante o aquecimento e o armazenamento, impactando positivamente a qualidade final do produto (Ma et al., 2022; Wittmüss et al., 2024).

3.3. Propriedades espumantes

As propriedades espumantes das proteínas podem ser divididas em capacidade de formação de espuma (*foaming capacity* – FC) e estabilidade da espuma (*foam stability* – FS). A FC refere-se à habilidade da proteína de incorporar e reter ar na forma de bolhas, formando uma espuma. Essa propriedade é fundamental em alimentos como mousses, merengues, sobremesas aeradas e alguns tipos de pães. Já a FS diz respeito à capacidade da espuma formada resistir ao longo do tempo, mantendo sua estrutura com o mínimo de ruptura das bolhas (Murray e Ettelaie, 2004).

No nível microscópico, o mecanismo de formação da espuma ocorre em etapas. Primeiramente, as proteínas sofrem adsorção na interface ar-água: quando agitada com água, a proteína migra até essa interface (superfície entre o ar e a água) e sofre desnaturação parcial, ou seja, ocorre conformação estrutural. Isso expõe regiões hidrofóbicas, que interagem com o ar, e regiões hidrofílicas, que se ligam à água. Em seguida, as proteínas formam um filme viscoelástico ao redor das bolhas de ar, funcionando como uma “parede protetora” que impede o colapso rápido da espuma (Figura 3) (Shevkani et al., 2015; Bessada et al., 2019; Cermeño et al., 2024).

Figura 3 - Representação da propriedade espumante e seu mecanismo de formação.



Fonte: Autor

Dentro desse filme, as proteínas estabelecem ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e pontes dissulfeto, que conferem força, elasticidade e estabilidade à estrutura (Figura 3). A rede proteica tridimensional formada em torno das bolhas é essencial para conter o ar e manter a espuma estável por mais tempo, garantindo estabilidade cinética (Shevkani et al., 2015; Bessada et al., 2019; Cermeño et al., 2024). Segundo Bessada (2019), as espumas proteicas são formadas por camadas finas e resistentes de proteína que envolvem as bolhas de ar na interface gás-líquido, facilitando a incorporação e estabilização de um número maior de bolhas.

A desestabilização da espuma pode ocorrer por diferentes mecanismos, como a drenagem do fluido entre as bolhas, que permite sua aproximação e posterior coalescência (fusão), levando ao colapso da estrutura, perda de gás e alterações na textura. Além disso, mesmo na ausência desses efeitos, pode haver migração de gás entre bolhas com diferentes pressões internas — um fenômeno conhecido como difusão de gás. Em geral, o gás migra das bolhas menores para as maiores, devido à maior pressão de Laplace nas primeiras. Esse processo é influenciado pela elasticidade interfacial do filme proteico ao redor das bolhas. Quanto maior a elasticidade dilatacional da interface, mais eficiente é a manutenção da integridade da espuma, mesmo diante do encolhimento das bolhas (Murray e Ettelaie, 2004).

Diversos fatores influenciam a FC e a FS. O tipo de proteína é um dos principais, já que algumas apresentam propriedades espumantes superiores a outras. Outro fator é o pH, que próximo ao ponto isoelétrico da proteína, onde a solubilidade é menor e, conseqüentemente, a estabilidade da espuma é reduzida (Ivanova et al., 2018). A presença de lipídios também pode prejudicar a estabilidade, pois as gorduras interferem na formação dos filmes proteicos. Por fim, a desnaturação térmica, quando controlada, pode aumentar a estabilidade da espuma, ao promover a exposição de regiões hidrofóbicas da proteína (Narsimhan e Xiang, 2018).

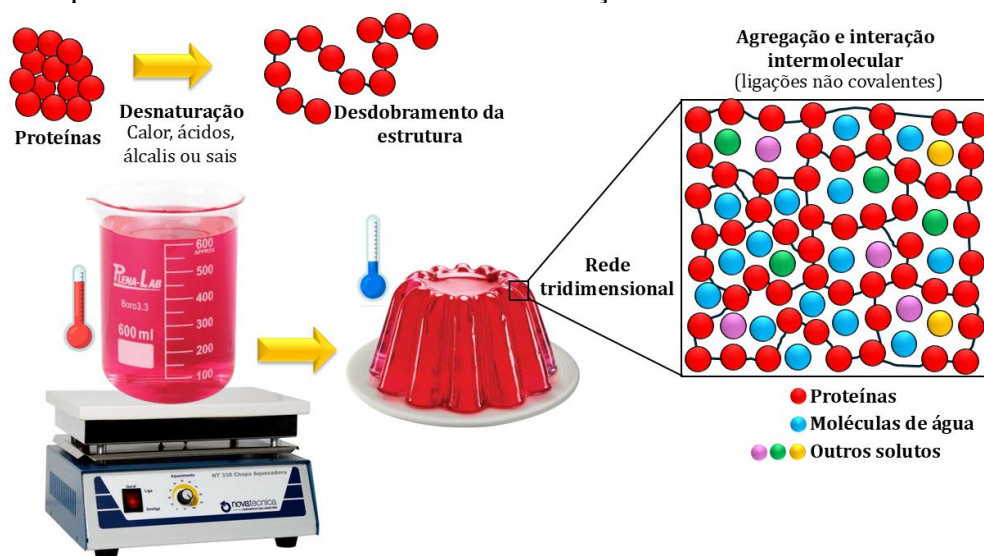
3.4. Propriedades gelificantes

A propriedade gelificante das proteínas refere-se à sua capacidade de formar géis tridimensionais capazes de reter água e outros componentes em sua estrutura. Essa característica é essencial para a textura e a estrutura de diversos alimentos, como iogurtes, queijos, sobremesas, embutidos, produtos cárneos e análogos vegetais de carne (Khalesi et al., 2024).

A formação de géis proteicos ocorre em etapas. Inicialmente, ocorre a desnaturação proteica, desencadeada pela exposição a fatores como o calor ou agentes desnaturantes,

incluindo ácidos, álcalis ou sais. Este processo induz o desdobramento da conformação tridimensional nativa da proteína, resultando na exposição de regiões reativas, tais como domínios hidrofóbicos e grupos funcionais específicos ($-\text{COOH}$, $-\text{NH}_2$, entre outros). Subsequentemente, desencadeia-se a fase de agregação e interação intermolecular, na qual as proteínas desnaturadas estabelecem interconexões por meio de ligações não covalentes (interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio, forças de Van der Waals) e, em certos casos, ligações covalentes (como as pontes dissulfeto, particularmente relevantes em proteínas com elevado teor de cisteína). A progressiva formação dessas interações culmina no estabelecimento de uma rede tridimensional contínua, a qual confere a estrutura macroscópica característica do gel (Figura 4) (Ramos et al., 2017).

Figura 4 - Representatividade do mecanismo de formação da rede tridimensional do gel.



Fonte: Autor

Na etapa final, ocorre a formação da matriz do gel, em que a rede proteica aprisiona moléculas de água e outros solutos, originando uma estrutura semelhante, em nível microscópico, a uma esponja molecular — com canais e poros que retêm os líquidos (Figura 4). A estrutura final apresenta viscoelasticidade, ou seja, combina características de sólidos (firmeza) e líquidos (capacidade de deformação), conferindo ao alimento uma textura que pode variar entre firme, cremosa ou elástica, dependendo de diversos fatores (Ramos et al., 2017).

Diversos fatores influenciam a gelificação proteica. O tipo de proteína é um dos principais determinantes, já que cada proteína possui um potencial gelificante distinto, condicionado por sua estrutura e composição de aminoácidos. Por exemplo, enquanto a ovalbumina tende a formar géis mais firmes, proteínas vegetais como as de soja e ervilha geralmente originam géis mais frágeis ou elásticos (Khalesi et al., 2024). A concentração proteica também desempenha um papel importante: concentrações mais elevadas favorecem as

interações entre proteínas, fortalecendo a rede tridimensional do gel, ao passo que concentrações muito baixas podem resultar em géis fracos ou até mesmo inviabilizar sua formação (Zhao et al., 2020; Khalesi et al., 2024).

O pH do meio influencia diretamente a solubilidade e a carga elétrica das proteínas. Quando o pH se aproxima do ponto isoelétrico da proteína, ocorre uma redução na solubilidade e maior tendência à precipitação, o que pode comprometer a formação de uma rede gelificada eficiente. A temperatura e o tempo de aquecimento também são críticos, pois o calor é necessário para desnaturar as proteínas e permitir que formem novas interações. Temperaturas muito baixas podem ser insuficientes para desnaturação, enquanto temperaturas muito elevadas podem degradar a estrutura proteica (Nicolai e Chassenieux, 2019). O tempo de aquecimento, por sua vez, deve ser suficiente para promover as transformações estruturais necessárias, mas sem comprometer a estabilidade da rede formada (Aryee et al., 2018; Bessada et al., 2019; Khalesi et al., 2024).

A presença de íons e sais, como cálcio (Ca^{2+}) e sódio (Na^+), pode tanto estabilizar quanto desestabilizar a rede do gel. Em certos sistemas, como na gelificação de caseína ou pectina, o cálcio atua como uma ponte entre moléculas, favorecendo a agregação e a formação da rede tridimensional (Lin et al., 2017). Outros componentes presentes na formulação também exercem influência. Açúcares, por exemplo, aumentam a viscosidade do sistema e favorecem a retenção de água, enquanto lipídios em excesso podem dificultar a formação da rede proteica, enfraquecendo o gel. Polissacarídeos, por outro lado, podem atuar sinergicamente com as proteínas, contribuindo para géis mais firmes ou elásticos (Yang et al., 2009; Ghosh e Bandyopadhyay, 2012; Bi et al., 2024).

Por fim, a velocidade de resfriamento após a formação do gel influencia diretamente a organização da rede. O resfriamento muito rápido pode limitar a reorganização das interações intermoleculares, prejudicando a estruturação completa da matriz tridimensional do gel (Sun e Arntfield, 2011). Assim, o controle preciso desses fatores é essencial para obter a textura e funcionalidade desejadas em sistemas alimentares.

3.5. Propriedades emulsificantes

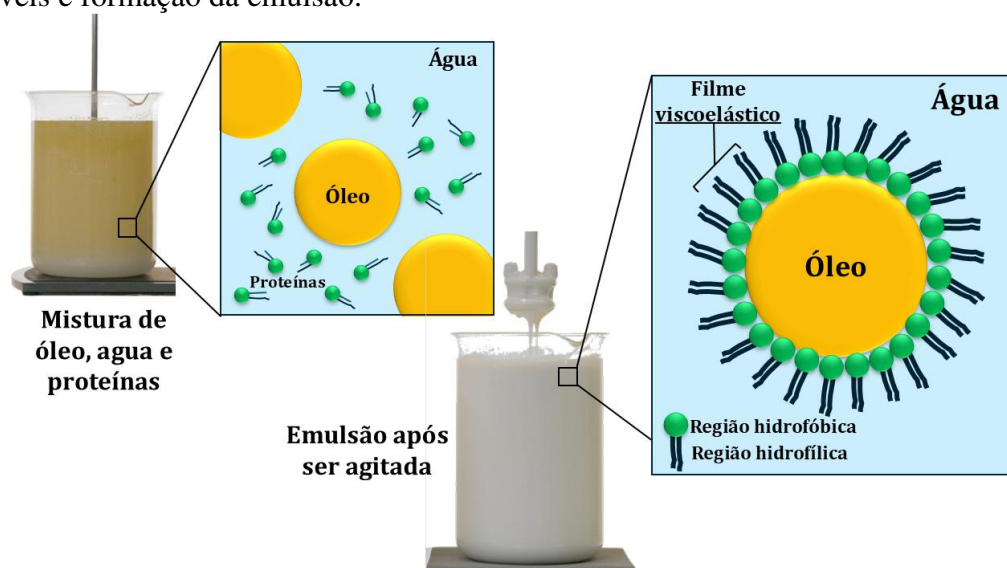
As propriedades emulsificantes referem-se à capacidade que algumas proteínas possuem de atuar como emulsificantes, portanto, relacionada a dois fatores principais: a atividade emulsificante, que é a habilidade de se adsorver rapidamente na interface durante a formação da emulsão; e a estabilidade emulsificante, que corresponde à capacidade de manter

a emulsão coesa ao longo do tempo, evitando a separação de fases (Burger e Zhang, 2019; Zhang et al., 2022).

Sob a ótica da termodinâmica, essa capacidade está relacionada à habilidade das proteínas de reduzir a energia livre do sistema ao se adsorverem na interface entre duas fases imiscíveis – geralmente óleo e água – promovendo a estabilização da emulsão. Termodinamicamente, uma emulsão é considerada instável. Quando óleo e água são misturados, ocorre um aumento da energia livre do sistema devido à ampliação da área interfacial entre as fases. Para manter a emulsão estável por mais tempo, é necessário reduzir essa energia, papel desempenhado pelas proteínas emulsificantes. Inicialmente, durante a agitação, as proteínas migram e se adsorvem espontaneamente na interface óleo-água, processo favorecido quando há redução da energia livre de Gibbs ($\Delta G < 0$) (Lam e Nickerson, 2013).

As proteínas são moléculas anfifílicas, ou seja, possuem regiões hidrofóbicas e hidrofílicas, uma vez adsorvidas, as proteínas reorganizam-se na interface, diminuindo a tensão interfacial ao expor regiões hidrofóbicas ao óleo e regiões hidrofílicas à água. Essa reorganização estabiliza a interface, retardando a coalescência das gotículas. As proteínas também formam filmes viscoelásticos coesos ao redor das gotículas, funcionando como barreiras físicas que impedem a fusão entre elas (Figura 5). Sua estabilidade é reforçada por interações como pontes de hidrogênio, forças de Van der Waals, interações hidrofóbicas e, em alguns casos, ligações dissulfeto. Ainda que a emulsão permaneça termodinamicamente instável, esses filmes proporcionam uma estabilidade cinética significativa, dificultando a separação de fases (Figura 5) (Lam e Nickerson, 2013; Bessada et al., 2019; Zhang et al., 2022).

Figura 5 - Esquemática da ação da proteína na redução da tensão superficial entre líquidos imiscíveis e formação da emulsão.



A tensão superficial está diretamente relacionada a esse processo. Essa força mantém as moléculas de um líquido unidas em sua superfície. Quando óleo e água entram em contato, há uma alta tensão interfacial entre elas, devido à diferença de polaridade e estrutura molecular. Para viabilizar a formação de uma emulsão estável, é necessário reduzir essa tensão, o que é feito por agentes emulsificantes como proteínas ou surfactantes. Esses compostos se adsorvem na interface, formando uma camada protetora que facilita a dispersão das gotículas e diminui a energia necessária para formar partículas menores (Lam e Nickerson, 2013; Costa et al., 2019).

Em emulsões do tipo óleo em água (O/A), as gotículas de óleo, por terem menor densidade, tendem a subir com o tempo. Esse movimento é descrito pela lei de Stokes, segundo a qual gotículas maiores sobem mais rapidamente que as menores (Zhang et al., 2024). As quatro principais formas de instabilidade em emulsões são: cremação, caracterizada pela separação das fases devido à diferença de densidade, com as gotículas se acumulando na superfície ou no fundo; floculação, o agrupamento de gotículas sem fusão, mantendo suas interfaces intactas; coalescência, a fusão irreversível das gotas com rompimento do filme interfacial; e por fim, a ruptura ou breaking, que representa o colapso total da emulsão, com separação completa das fases contínua e dispersa (Robins, 2000; Lam e Nickerson, 2013; Zhang et al., 2022).

4. EXTRAÇÃO DE PROTEINAS

A extração de proteínas é uma etapa fundamental para a obtenção de ingredientes proteicos purificados ou concentrados, visando aplicações em diversas áreas, incluindo a indústria alimentícia, farmacêutica e de materiais. A pureza das proteínas influencia diretamente suas propriedades técnico-funcionais. Como mencionado anteriormente, a copresença de outras biomacromoléculas — como açúcares, polissacarídeos, lipídios, cinzas e compostos antinutricionais — pode interferir negativamente nessas propriedades (Yang et al., 2009; Ghosh e Bandyopadhyay, 2012; Bi et al., 2024). Diversos métodos de extração proteica estão disponíveis e a escolha do mais adequado depende das características do material de origem. Essa decisão impacta diretamente no rendimento, na pureza final e no mínimo de desnaturação possível da proteína obtida.

Entre os métodos mais utilizados na indústria destacam-se: a precipitação isoeletrica, a precipitação salina (*salting in/out*), a extração assistida por ultrassom, os campos elétricos pulsados, a extração enzimática e o uso de solventes orgânicos (Hewage et al., 2022; Nafav et al., 2023). Cada técnica apresenta vantagens e limitações específicas, sendo fundamental

considerar os objetivos do processo e as características da matriz proteica ao selecionar o método de extração mais eficiente.

4.1. Extração por precipitação isoelétrica

A extração por precipitação isoelétrica é um dos métodos mais utilizados na indústria alimentícia e em pesquisas laboratoriais. Esse processo baseia-se na variação da solubilidade das proteínas em diferentes valores de pH e forças iônicas (Chandran et al., 2024).

O procedimento inicia-se com a extração alcalina. A farinha desengordurada do material vegetal é misturada com água Milli-Q — livre de íons que possam interferir no processo — na proporção de 1:10 a 1:20 (m/v). Em seguida, o pH da solução é ajustado entre 8,0 e 11,0, geralmente com NaOH ou KOH, para promover a solubilização das proteínas. Essa mistura é agitada por 30 a 60 minutos, permitindo a hidratação da farinha. Em ambiente alcalino, as proteínas tornam-se mais solúveis devido à repulsão entre cargas negativas presentes nas cadeias polipeptídicas (Verfaillie et al., 2023; Chandran et al., 2024).

Após essa etapa, realiza-se a separação da fração solúvel por centrifugação ou filtração, removendo os resíduos insolúveis, como fibras, amido e celulose. O sobrenadante, rico em proteínas solúveis, é então submetido à etapa de precipitação isoelétrica. Nessa fase, o pH é gradualmente ajustado até o ponto isoelétrico da proteína-alvo (geralmente entre pH 2,0 e 6,0, conforme o tipo de proteína), utilizando-se ácidos como HCl ou ácido cítrico. Nesse pH, as proteínas perdem a carga elétrica líquida, reduzindo a repulsão eletrostática e favorecendo interações hidrofóbicas, o que leva à precipitação proteica (Verfaillie et al., 2023; Chandran et al., 2024).

A etapa final consiste na recuperação das proteínas precipitada. A separação é realizada por centrifugação ou filtração, e o sedimento resultante pode ser lavado com água destilada para remover sais residuais ou impurezas. Em seguida, o material pode ser seco por atomização (spray drying) ou liofilização (freeze-drying), gerando três possíveis produtos: extrato proteico (com menos de 65% de proteínas), concentrado proteico (entre 65 e 90%) ou isolado proteico (acima de 90%) (Rodrigues et al., 2012; Fatima et al., 2024).

Entre as principais vantagens da precipitação isoelétrica, destaca-se a sua seletividade, que permite a separação com maiores quantidades de proteínas extraídas em relação a outros componentes presentes na matriz vegetal, como polissacarídeos, lipídios e fibras. Além disso, trata-se de um método de baixo custo e simples operacionalmente, não exigindo equipamentos sofisticados, o que facilita sua aplicação tanto em escala laboratorial quanto industrial. A

eficiência de recuperação também é um ponto positivo, podendo ultrapassar 80% quando o processo é bem controlado. Outra vantagem importante é a preservação das propriedades técnico-funcionais das proteínas, como a solubilidade, a capacidade emulsificante e gelificante, especialmente quando o processo é realizado sob condições suaves de pH e temperatura. Por fim, destaca-se sua ampla aplicabilidade, sendo eficaz na extração de proteínas a partir de diversas fontes vegetais, como soja, ervilha, arroz, feijão, lentilha, tremoço, entre outras (Hewage et al., 2022; Nafav et al., 2023; Ha et al., 2025).

Entretanto, é necessário adotar cuidados específicos para garantir a qualidade das proteínas extraídas. A sensibilidade ao pH exige controle rigoroso, para que se atinja a máxima precipitação sem desnaturar excessivamente as proteínas. O tempo de exposição ao pH ácido também deve ser limitado, pois exposições prolongadas podem causar desnaturação irreversível (Pickardt et al., 2011; Vilg e Undeland, 2016). Além disso, há o risco de contaminação por compostos antinutricionais, já que algumas proteínas vegetais podem precipitar junto com substâncias indesejadas como saponinas, inibidores de enzimas, lectinas, ácidos orgânicos (como o oxálico e o fítico), gossipol, rafinose, taninos, alcaloides e cianeto de hidrogênio (Duraismamy et al., 2023).

4.2. Extração assistida por ultrassom

A extração assistida por ultrassom é uma técnica eficiente e amplamente utilizada para a obtenção de proteínas a partir de fontes vegetais. Baseia-se na aplicação de ondas ultrassônicas de alta frequência (geralmente entre 20–100 kHz) em um meio líquido contendo a matriz vegetal. O principal fenômeno envolvido é a cavitação acústica, que consiste na formação, crescimento e colapso de microbolhas no líquido, gerando intensa turbulência, cisalhamento mecânico e aumento localizado de temperatura e pressão. Esses efeitos físicos promovem a ruptura das paredes celulares e facilitam a liberação dos compostos intracelulares, como as proteínas (Bernardi et al., 2021; Das et al., 2022).

O procedimento da extração assistida por ultrassom inicia-se com a preparação da matéria-prima vegetal, geralmente desengordurada, seca e moída até obter-se uma farinha fina. Essa farinha é então misturada com um solvente adequado (como água Milli-Q ou solução tampão), em proporções que variam de 1:10 a 1:30 (m/v), conforme o tipo de material e a eficiência desejada. O pH da suspensão é ajustado para a faixa alcalina (entre pH 8 e 11), condição que favorece a solubilização das proteínas vegetais (Bernardi et al., 2021; Das et al., 2022).

Na etapa seguinte, aplica-se o ultrassom. A amostra é submetida à irradiação ultrassônica por um período de 5 a 30 minutos, com intensidade ajustável (entre 20% e 100% da potência do equipamento), mantendo o controle da temperatura para evitar superaquecimento. Podem ser utilizados banhos ultrassônicos ou sondas ultrassônicas, sendo estas últimas mais precisas. Após o tratamento, a suspensão é centrifugada ou filtrada para separar a fase líquida (rica em proteínas solubilizadas) do resíduo sólido. O extrato proteico obtido pode ser posteriormente submetido a técnicas complementares, como precipitação isoelétrica, ultrafiltração ou liofilização, visando maior pureza proteica (Bernardi et al., 2021; Das et al., 2022).

Entre as principais vantagens dessa técnica, destacam-se: a alta eficiência de extração, com maior rendimento proteico em comparação aos métodos convencionais; a redução significativa no tempo de processamento, permitindo extrações que normalmente levariam horas em apenas alguns minutos; a preservação das propriedades técnico-funcionais das proteínas, como solubilidade, capacidade emulsificante e gelificante, desde que o tempo e a temperatura sejam bem controlados; a diminuição no uso de solventes, o que torna o processo mais sustentável e econômico; e a melhoria na qualidade do extrato, uma vez que a técnica pode reduzir a coextração de compostos antinutricionais, como taninos e saponinas (Chemat et al., 2017; Das et al., 2022).

4.3. Extração assistida por enzimas

A extração assistida por enzimas é uma técnica cada vez mais utilizada para a recuperação eficiente de proteínas a partir de fontes vegetais. Essa abordagem utiliza enzimas específicas capazes de hidrolisar componentes estruturais da parede celular, como celulose, hemicelulose e pectinas, promovendo a liberação das proteínas presentes no interior das células vegetais (Das et al., 2021; Gouseti et al., 2023).

O processo inicia-se com a preparação da matéria-prima, que consiste na desgordura, secagem e moagem da fonte vegetal (como soja, ervilha, feijão ou lentilha), a fim de aumentar sua área de contato com o solvente e as enzimas. Em seguida, a farinha vegetal é dispersa em um solvente aquoso – geralmente água Milli-Q ou tampão fosfato – em proporções que variam de 1:10 a 1:20 (m/v). O pH e a temperatura da suspensão são ajustados conforme as condições ótimas da(s) enzima(s) utilizadas, geralmente entre pH 4,5 e 7,0 e temperaturas de 30°C a 55°C, dependendo da enzima selecionada. Entre as enzimas mais

utilizadas destacam-se celulase, pectinase, xilanase e, em alguns casos, protease para modificação das proteínas (Rosset et al., 2012; Das et al., 2021; Gouseti et al., 2023).

Após a adição das enzimas, a mistura é incubada por um período que pode variar de 30 minutos a várias horas, com agitação leve para manter a homogeneidade. Ao final do tempo de reação, a atividade enzimática é interrompida por meio de aquecimento (por exemplo, 80°C por 10 minutos) ou por ajuste do pH para fora da faixa de atuação da enzima. A seguir, a suspensão é centrifugada ou filtrada para separar a fase líquida, rica em proteínas solubilizadas, dos resíduos sólidos (Rosset et al., 2012). Técnicas complementares, como precipitação isoelétrica, ultrafiltração ou liofilização, podem ser aplicadas para aumentar a pureza do extrato proteico (Das et al., 2021; Gouseti et al., 2023).

A extração enzimática apresenta diversas vantagens. Entre elas, destaca-se a alta eficiência na liberação de proteínas, uma vez que a degradação da parede celular facilita o acesso ao conteúdo intracelular, aumentando o rendimento de proteínas. Além disso, as condições brandas de operação – com temperatura e pH moderados – contribuem para a preservação das propriedades técnico-funcionais das proteínas, como solubilidade, capacidade emulsificante e gelificante. A especificidade das enzimas garante a atuação seletiva sobre substratos-alvo, reduzindo a degradação indesejada das proteínas. Outro benefício importante é a melhoria na qualidade do extrato, pois a hidrólise seletiva minimiza a coextração de compostos antinutricionais, como taninos e fitatos, e reduz a viscosidade do produto extraído. Por fim, a técnica apresenta grande versatilidade, podendo ser aplicada a uma ampla variedade de matérias-primas vegetais, incluindo grãos, leguminosas e resíduos agroindustriais, além de ser compatível com outras tecnologias, como ultrassom e precipitação isoelétrica (Das et al., 2021; Streimikyte et al., 2022; Chandran et al., 2024).

5. PUPUNHEIRA (*Bactris gasipaes*)

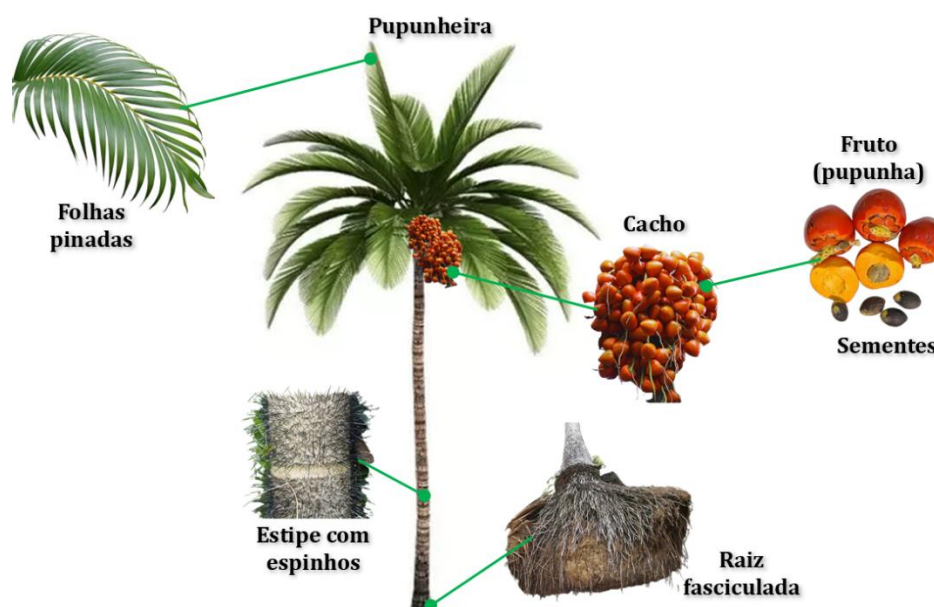
5.1. Caracterização botânica

A pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth), também conhecida como pêssego-do-Pará ou *peach palm* (em inglês), é uma palmeira tropical pertencente à família Arecaceae, um grupo amplamente diversificado de monocotiledôneas lenhosas com distribuição pantropical, sendo abundantes na bacia amazônica, onde ocorrem mais de 150 espécies, sendo cultivada tanto para produção de frutos quanto para o palmito (Henderson et al., 1995; Clement et al., 2021).

A pupunheira é uma planta perene, monocotiledônea e cespitosa, podendo se desenvolver de forma solitária ou em touceiras, conforme o cultivar ou variedade. O caule (ou

estipe) é reto, cilíndrico e anelado, apresentando espinhos em sua forma silvestre. No entanto, muitas cultivares domesticadas foram selecionadas para terem menos espinhos ou até mesmo serem completamente desprovidas deles, facilitando o manejo (Borchsenius et al., 1998). A altura da planta varia entre 10 e 20 metros, embora cultivares destinadas à produção de palmito geralmente sejam selecionadas por apresentarem menor porte. As folhas são pinadas, alternas, com bainha foliar longa e pecíolo geralmente espinhoso. A inflorescência é interfoliar, ramificada e do tipo espádice, sendo protegida por uma espata. A pupunheira é uma espécie monóica, ou seja, apresenta flores masculinas e femininas na mesma planta, e seu sistema radicular é do tipo fasciculado, favorecendo sua adaptação a diferentes tipos de solo (Figura 6) (Clement e Bovi, 2000).

Figura 6 - Representação morfológica da pupunheira



Fonte: Autor

O fruto da pupunheira é uma drupa elipsoide ou globosa, com polpa farinácea a oleaginosa, de cor variando entre amarelo, laranja ou vermelho quando maduro. O fruto contém uma única semente envolta por um endocarpo duro e pode apresentar tamanhos e formas variáveis, dependendo da variedade. Os frutos são ricos em amido, carotenoides e lipídios, sendo amplamente consumidos após cocção (Graefe et al., 2012; Felisberto et al., 2020).

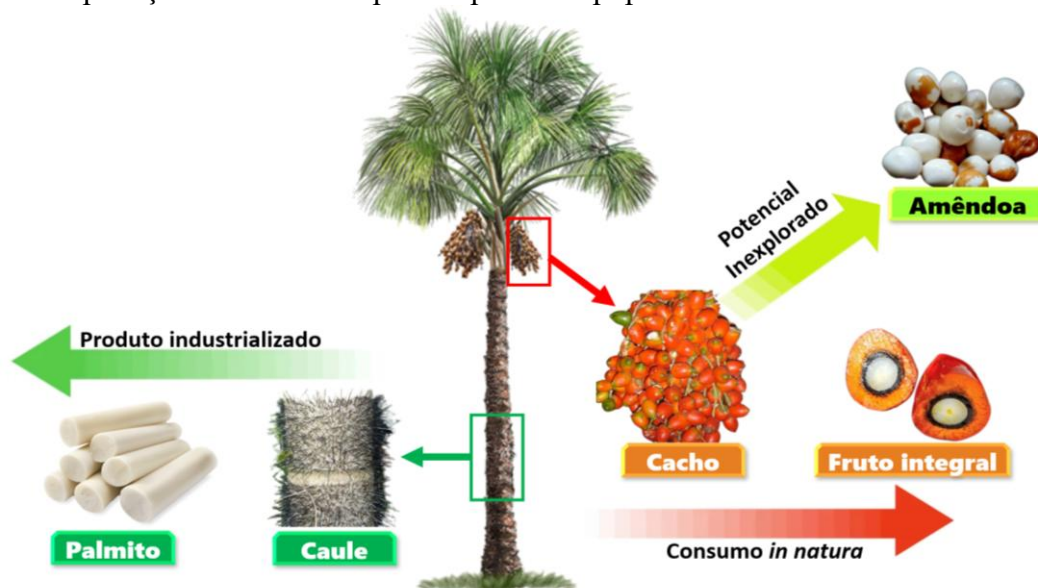
5.2. Importância econômica e ambiental

A pupunheira possui uma importância econômica crescente e multifacetada, especialmente em regiões tropicais da América Latina, com destaque para o Brasil, Peru, Colômbia, Equador e Costa Rica. Sua importância está associada principalmente a duas frentes

produtivas: a extração do palmito, proveniente do caule, e a produção de frutos para consumo in natura (Santos et al., 2015).

Além desses usos tradicionais, outras partes da planta ainda pouco exploradas apresentam potencial para aplicação na indústria alimentícia, podendo ser aproveitadas como ingredientes funcionais ou matérias-primas para novos produtos alimentares (Figura 7). Essa versatilidade evidencia o valor econômico da pupunheira e reforça seu potencial como cultura estratégica para o desenvolvimento sustentável de regiões tropicais.

Figura 7 - Aplicações alimentícias para as partes da pupunheira



Fonte: Autor

Em 2022, a produção nacional de palmito atingiu 109.144 toneladas, cultivadas em uma área de 27.249 hectares, gerando um valor de R\$ 472,3 milhões. O estado de São Paulo liderou essa produção com 38.853 toneladas em 11.168 hectares, seguido por Santa Catarina, com 26.244 toneladas em 5.556 hectares (IBGE, 2022). Já a produção de frutos de pupunha, segundo dados de 2017, ocorreu em uma área de 2.753 hectares, resultando em 8.873 toneladas e gerando um valor de R\$ 27,7 milhões. A Bahia foi o maior produtor, com 2.069 toneladas em 915 hectares, seguida pelo Pará, com 2.053 toneladas em 556 hectares (IBGE, 2017).

Além do palmito e dos frutos, há potencial para a comercialização de outros produtos, como os óleos extraídos dos frutos, considerados entre os principais óleos vegetais produzidos e comercializados mundialmente (Cárdenas, 2017). O óleo da pupunha é rico em ácidos graxos saturados e insaturados, carotenoides — precursores da vitamina A — e vitamina E (Costa et al., 2010).

Os frutos são cultivados, em sua maioria, por pequenos produtores e têm alto valor nutricional, sendo amplamente consumidos localmente. Podem ser preparados de diversas

formas, como cozidos, em conserva, transformados em farinha ou geleia (Graefe et al., 2012). Em comunidades indígenas sul-americanas, os frutos são utilizados para produção de bebidas alcoólicas, não alcoólicas e fermentadas. Resíduos não comercializados são aproveitados como ração animal. Além disso, o meristema apical — de onde se extrai o palmito — destaca-se como um dos poucos produtos de palmeiras nativas com inserção no mercado internacional (Jaramillo-Vivanco et al., 2022).

Do ponto de vista ecológico, as palmeiras desempenham papel fundamental nos ecossistemas tropicais, servindo de habitat e alimento para diversas espécies da fauna, além de contribuírem para a conservação da biodiversidade e a saúde das florestas (Embrapa, 2013; Guimarães et al., 2018).

A produção de palmito no Brasil vem deixando de ser uma atividade extrativista, irregular e predatória, para se tornar uma prática agrícola planejada. O cultivo de espécies como a pupunheira e a palmeira-real tem reduzido significativamente a exploração de palmeiras nativas da Amazônia, contribuindo para a preservação ambiental. Devido à sua precocidade, rendimento e facilidade de cultivo, a pupunheira tem se consolidado como a principal espécie de *Arecaceae* voltada à produção de palmito no país, representando uma alternativa viável e sustentável para produtores e agroindústrias (Embrapa, 2013; Guimarães et al., 2018; Santos et al., 2008; Santos et al., 2021).

Historicamente, o palmito no Brasil era obtido da extração da juçara (*Euterpe edulis*), especialmente nas regiões Sul e Sudeste. A partir da década de 1970, a intensa exploração levou ao esgotamento das reservas naturais, levando o IBAMA a classificar a juçara como espécie ameaçada de extinção. A planta não forma perfilhos, o que impede sua regeneração natural, agravando ainda mais sua situação. A introdução da pupunheira, originalmente nativa da região amazônica, desempenhou um papel fundamental na redução da exploração da juçara (*Euterpe edulis*) nas regiões de Sul e Sudeste. Essa substituição contribuiu para preservar as populações nativas da juçara. Além disso, a pupunheira adaptou-se bem a essas novas regiões, tornando-se uma alternativa sustentável e economicamente viável para a produção de palmito. (Embrapa, 2013; Guimarães et al., 2018; Santos et al., 2021).

Atualmente, novas possibilidades estão sendo exploradas, como o aproveitamento da semente da pupunheira, que pode gerar valor industrial e ampliar o uso da planta. A valorização desse resíduo representa uma alternativa sustentável, com potencial de gerar novos ingredientes alimentares e promover o reaproveitamento de biomassa, contribuindo para a economia e a conservação ambiental (Miranda et al., 2022).

5.3. Composição centesimal da semente de pupunha

A composição centesimal é essencial para avaliar o potencial nutricional e funcional de determinados alimentos. Esses dados possibilitam a exploração de ingredientes na produção de óleos, farinhas, concentrados proteicos e suplementos minerais em diferentes formulações. A Tabela 1 reúne os principais valores da composição centesimal analisados em estudos sobre a farinha de sementes de pupunha (FSP).

Tabela 1 - Composição centesimal da farinha de sementes de pupunha em base seca.

Valores (%)	REFERÊNCIAS	
	Pinheiro et al. (2022)	Duarte (2018)
Valor energético (kcal)	556,53	461,85
Umidade	3,12	4,00
Carboidratos	50,00	71,51
Proteínas	9,19	7,12
Lipídios	35,53	16,37
Cinzas	2,16	1,00

Fonte: Duarte (2018), Pinheiro et al. (2022).

Conforme apresentado na Tabela 1, os principais componentes da FSP são os carboidratos, seguidos pelos lipídios e proteínas, além de um elevado valor calórico. Segundo Pinheiro et al. (2022), esse teor energético indica que se trata de um alimento calórico. Duarte et al. (2018) também ressaltam que a FSP é uma excelente fonte de energia para o organismo, com potencial aplicação em diversas formulações alimentícias, como massas de bolos, panetones, pães e biscoitos.

Em relação aos carboidratos, as sementes apresentam alta concentração desse nutriente, essencial para a alimentação humana. Teores elevados de carboidratos tornam as sementes aptas para enriquecer produtos panificados, além de serem promissoras na produção de etanol de segunda geração (Gualberto, 2022).

No que diz respeito às proteínas, a concentração encontrada na FSP ainda é inferior à observada em farinhas tradicionais como a de trigo integral (11 a 15%) (Pinheiro et al., 2022). No entanto, segundo os critérios da legislação brasileira (Brasil, 2012), para que um alimento seja considerado fonte de proteína, é necessário conter no mínimo 6 g/100 g. A FSP apresenta cerca de 7,12 g/100 g, superando alimentos como mandioca d'água e batata inglesa, o que indica seu potencial para enriquecer produtos com proteína (Duarte, 2018). As variações nos teores de proteína observadas nos estudos podem estar associadas a fatores ambientais, climáticos, regionais e aos sistemas de cultivo dos frutos (Flores et al., 2019).

Os teores de lípidios variaram significativamente entre os estudos analisados. A composição lipídica da semente é relevante para a nutrição, pois os ácidos graxos presentes podem impactar diretamente a saúde. O óleo de pupunha, por exemplo, possui valor comercial significativo, sendo utilizado tanto na produção de biodiesel quanto no enriquecimento nutricional e funcional de alimentos (Duarte, 2018).

A análise de cinzas permite estimar a quantidade de minerais presentes no alimento. A FSP é rica em potássio, fósforo, magnésio e cálcio, tornando-se uma importante fonte mineral na dieta. Estudos de Pinheiro et al. (2022) demonstraram que os subprodutos da pupunha, como cascas, bagaço e sementes, apresentam maior concentração de minerais do que a polpa. As sementes contêm ainda microelementos como cobre, ferro, manganês, sódio e zinco, que são essenciais para o bom funcionamento do organismo (Gualberto, 2022). Do ponto de vista nutricional, as FSP analisadas apresentam uma composição com possibilidade para uso na indústria de alimentos, comparado a outros ingredientes como quinoa e amaranto, reconhecidos por suas propriedades nutricionais (Alvarez-Jubete et al., 2010).

5.4. Estudos relacionados as propriedades técnico-funcionais da pupunheira

Estudos recentes têm ampliado o foco para outras partes da pupunheira além do palmito — tradicionalmente a principal matéria-prima utilizada pela indústria. As investigações sobre as propriedades técnico-funcionais vêm sendo aplicadas à farinha obtida da polpa do fruto (com ou sem casca), exclusivamente da casca, e em variedades alternativas, como a pupunheira albina, conforme apresentado na Tabela 2.

Tabela 2 - Partes da pupunheira usadas para fazer farinhas e avaliação das suas propriedades técnico-funcionais

Partes da Pupunheira e Teor de Proteína	Objetivo do estudo	Propriedades técnico-funcionais avaliadas	Referências
Farinha da casca Proteína (6,87%)	Avaliar o efeito da temperatura e do tamanho da partícula sobre as propriedades técnico-funcionais	<ul style="list-style-type: none"> • Capacidade de retenção de água (713%). • Capacidade de retenção de óleo (624%). • Índice de absorção de água (531%). • Atividade emulsificante (56,84%). • Estabilidade do emulsificante (50,33%). • Solubilidade em água (59,58%) a 60 °C e 0,25 mm. 	Martínez-Girón et al. (2021)
Farinha do fruto (casca + polpa) Proteína (4,92%)	Avaliar o efeito da presença de casca, do pré-tratamento térmico e o efeito nas propriedades tecnológicas	<ul style="list-style-type: none"> • Índice de absorção de água 312%. • Índice de solubilidade em água 7,98%. 	Prado et al. (2022)

Farinha do fruto albino (Polpa) Polpa crua (CPF): 16,96% Polpa cozida (FPR): 19,99%	Avaliar as propriedades técnico-funcionais da farinha cozida e farinha crua do fruto albino da pupunheira	<ul style="list-style-type: none"> • Índice de solubilidade em água CPF (26,57%) e FPR (18,05%). • Capacidade de absorção de óleo CPF (104%) e FPR (89%). • Capacidade de absorção de água CPF (146%) e FPR (207%). • Capacidade de formação de espuma CPF (111,1%) e FPR (0,0%). Soares et al. (2023)
Farinha do fruto (Polpa) Proteína (4,92%)	Caracterizar a farinha do fruto da pupunha e incorporar em formulações de biscoitos crocantes.	<ul style="list-style-type: none"> • Capacidade de absorção de água (333%) • Capacidade de absorção de óleo (333%) • Índice de solubilidade em água (14,78%) • Atividade emulsificante (54,59%) • Estabilidade da emulsão (55,33%) • Capacidade espumante (0,0%) • Estabilidade da espuma (0,0%) • Capacidade gelificante (0,0%) Pereira et al. (2024)

Fonte: Martínez-Girón et al. (2021), Prado et al. (2022), Soares et al. (2023), Pereira et al. (2024).

Os trabalhos de Martínez-Girón et al. (2021), Prado et al. (2022), Soares et al. (2023) e Pereira et al. (2024) abordaram distintos aspectos da utilização da pupunha como matéria-prima para a produção de farinha, destacando seus potenciais nutricional e funcional, mostrados na tabela 2. Entre os principais pontos observados nos estudos estão: Alto teor de fibra alimentar e níveis relevantes de proteínas (4,92-19,99%), o que reforça o valor nutricional da farinha de pupunha. Capacidade de absorção de água e óleo, com valores que chegam a 333%, favorecendo seu uso como ingrediente funcional em produtos como biscoitos, panificados e cárneos. Atividade emulsificante significativa, com índices comparáveis aos de farinhas comerciais como linhaça e feijão branco, o que aponta seu potencial como estabilizante em emulsões alimentícias. A Influência marcante dos processos tecnológicos (cozimento, secagem e moagem) nas propriedades finais da farinha, especialmente em parâmetros como índice de solubilidade em água (WSI), absorção de óleo (OHC), absorção de água (WHC) e capacidade de formação de espuma (FC). Além disso, os estudos ressaltam a importância de variáveis como presença de casca, temperatura de secagem, granulometria e tratamentos térmicos sobre as características físicas, químicas e técnico-funcionais da farinha, mostrando que a manipulação dessas variáveis pode otimizar o aproveitamento da pupunha em diferentes aplicações industriais.

Na pesquisa realizada por Martínez-Girón et al. (2021) investigaram o efeito da temperatura e do tamanho de partícula nas propriedades técnico-funcionais da farinha obtida a partir das cascas dos frutos da pupunheira. A farinha, produzida por secagem convectiva natural do epicarpo, foi caracterizada física e quimicamente. Os resultados demonstraram que tanto a temperatura quanto o tamanho das partículas influenciaram significativamente ($p < 0,001$) as

propriedades técnico-funcionais da farinha, com exceção da capacidade de inchamento. Nutricionalmente, a farinha apresentou 6,87% de proteína. Entre suas propriedades técnico-funcionais, destacaram-se: WHC (7,13 g/g), OHC (6,24 g/g), WAC (5,31 g/g), atividade emulsificante (EAI) (56,84%), estabilidade da emulsão (ESI) (50,33%), e WSI (59,58%) a 60 °C com partículas de 0,25 mm. Esses dados indicam que a farinha das cascas do fruto da pupunheira é uma alternativa promissora na atuação das propriedades técnico-funcional na indústria alimentícia.

O estudo conduzido por Prado et al. (2022) avaliaram os parâmetros do processo de produção da farinha de pupunha, com o objetivo de otimizar a formulação para obter um produto com alto teor de carotenoides e avaliar suas propriedades técnico-funcionais. A otimização considerou diferentes variáveis: a composição do fruto (com ou sem casca), o pré-tratamento (com ou sem cozimento) e a temperatura de secagem (50, 60 e 70 °C). De maneira geral, a presença da casca e o uso de temperaturas mais elevadas (70 °C) durante a secagem favoreceram uma maior retenção de carotenoides na farinha. Em relação às propriedades tecnológicas, a farinha de pupunha apresentou WAC 3,12 g/g e WSI de 7,98%. O WAC está relacionado à disponibilidade de grupos hidrofílicos capazes de se ligar às moléculas de água, refletindo a quantidade de água absorvida pela farinha ao inchar ou ser embebida (Carvalho et al., 2010; Rigon et al., 2022). Já o WSI representa a quantidade de moléculas solúveis à temperatura ambiente, sendo um indicativo da intensidade do tratamento térmico e da consequente quebra de estruturas de menor peso molecular (Carvalho et al., 2010; Rigon et al., 2022). Além disso, esses índices também estão associados ao tamanho das partículas da farinha, pois partículas menores tendem a absorver mais água e mais rapidamente do que partículas maiores.

A pesquisa realizada com a pupunheira albina por Soares et al. (2023) avaliou os processos de cozimento e secagem, caracterizando diferentes formas do alimento: a polpa crua (RP), a polpa cozida (PB), a farinha da polpa crua (RPF) e a farinha da polpa cozida (CPF). Foram analisadas a composição química, compostos bioativos e propriedades físicas, químicas e técnico-funcionais. Em relação às propriedades técnico-funcionais, a farinha da polpa cozida (CPF) apresentou menor WSI e menor OHC, mas maior WHC quando comparada à farinha da polpa crua (RPF) ($p \leq 0,05$). Esses resultados indicam que o processo hidrotérmico (cozimento) provocou mudanças significativas nas principais propriedades tecnológicas da farinha de pupunha albina. Zhou et al. (2021) relataram que o WSI em matrizes amiláceas está relacionado à presença de amido e proteínas solúveis resultantes do cozimento em meio aquoso. Segundo

Hatamian et al. (2020), o aquecimento pode causar danos aos grânulos de amido, resultando em maior solubilidade em água.

Além disso, o maior WHC observado para a CPF pode ser atribuído à conversão do amido em moléculas de menor peso molecular (como as dextrinas) durante o processo hidrotérmico, aumentando sua afinidade por moléculas de água. Os resultados também indicaram um aumento proporcionalmente maior dos constituintes hidrofílicos em relação aos hidrofóbicos na polpa após o cozimento, o que explica o menor valor de OHC e o maior WHC observados na CPF. A OHC está diretamente relacionada ao teor de proteínas do alimento; assim, menores teores proteicos resultam em menor capacidade de absorver óleo (Awuchi et al., 2019). Por fim, apenas a RPF apresentou FC, o que indica que o processo de cozimento eliminou os compostos espumantes presentes na polpa. As proteínas também influenciam a formação de espuma devido às suas propriedades anfifílicas e ao comportamento como agentes surfactantes (Kanetro et al., 2021).

O estudo desenvolvido por Pereira et al. (2024) avaliou as propriedades físicas, químicas, tecnológicas em formulações de biscoitos tipo *snack*, elaboradas com diferentes concentrações de farinha de pupunha em substituição aos flocos de milho. A farinha de pupunha apresentou WHC e OHC de 333%, demonstrando um potencial funcional. Esses índices são relevantes na formulação de produtos cárneos e panificados, pois permitem maior adição de água, facilitando o manuseio da massa e ajudando a evitar o ressecamento durante o processamento (Santana et al., 2017).

O índice de solubilidade em água obtido foi de 14,78%, valor superior ao registrado por Prado et al. (2022), de 7,98%, e por Rigon et al. (2022), com 4,48%, que também estudaram farinhas de pupunha, porém de outras variedades. A farinha de pupunha também apresentou EAI, atingindo 54,59%, o que a torna promissora para aplicações na indústria alimentícia. Valores semelhantes foram encontrados em farinhas comerciais, como as de linhaça dourada (55,56%) e feijão branco (52,22%). Quanto à estabilidade da emulsão, o valor observado foi de 55,33%. As propriedades emulsificantes geralmente estão relacionadas à presença de proteínas solúveis, que contribuem para maior estabilidade da emulsão (Santana et al., 2017). Por outro lado, a farinha de pupunha não apresentou FS — resultado semelhante ao observado por Santana et al. (2017) em farinhas de aveia, linhaça dourada, linhaça marrom e uva. Além disso, a farinha não demonstrou capacidade de formar géis nos testes realizados, o que pode limitar sua aplicação em produtos como mingaus e cremes, que requerem gelificação consistente e contínua.

Apesar dos avanços reportados nas discussões dos estudos supracitados, algumas lacunas científicas permanecem evidentes. Consta-se que a totalidade das investigações até o presente momento converge predominantemente para a utilização da polpa e da exocarpa da pupunha. Observa-se uma ausência de investigações voltadas para o aproveitamento da semente — uma parte do fruto muitas vezes descartada, mas com potencial de exploração. A literatura científica ainda carece de investigações sistemáticas acerca da produção de farinha a partir da semente da pupunha, bem como da caracterização detalhada de suas propriedades técnico-funcionais, tais como a capacidade de absorção de água, retenção de óleo e água, atividade emulsificante e espumante, gelificação, solubilidade e estabilidade térmica.

Diante da lacuna identificada, esta dissertação apresenta como diferencial a investigação sistemática das propriedades técnico-funcionais da farinha obtida da semente da pupunha. Esta abordagem inédita visa não apenas expandir o conhecimento científico sobre o potencial desta fração subutilizada, mas também propor uma via inovadora para a valorização de um subproduto agroindustrial, alinhada aos princípios da sustentabilidade e da economia circular.

6. REFERÊNCIAS

Alvarez-Jubete, L., Wijngaard, H., Arendt, E. K., Gallagher, E. (2010). Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking. *Food Chemistry*, 119(2), 770–778. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.032>

Aryee, A. N. A., Agyei, D., Udenigwe, C. C. (2018) Impact of processing on the chemistry and functionality of food proteins. *Proteins in Food Processing*, p. 27–45. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00003-6>

Awuchi, C.G., Igwe, V.S., Echeta, C.K. The functional properties of foods and flours. *Int. J. Adv. Acad. Res. Sci.* 2019, 5, 2488–9849.

Baune, M.-C., Terjung, N., Tülbek, M. Ç., Boukid, F. (2022). Proteínas vegetais texturizadas (TVP): Alimentos futuros que se destacam por seus méritos como alternativas à carne. *Alimentos do Futuro*, 6, 100181. <http://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100181>

Bernardi, S., Lupatini-Menegotto, A. L., Kalschne, D. L., Stival, E. R., Colla, E., Canan, C. (2021). Ultrasound: a suitable technology to improve the extraction and techno-functional properties of vegetable food proteins. *Plant Foods for Human Nutrition*, 76(1), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s11130-021-00884-w>

Bessada, S. M. F., Barreira, J. C. M., Oliveira, M. B. P. P. (2019) Pulses and food security: Dietary protein, digestibility, bioactive and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, v. 93, p. 53–68. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.08.022>

Bi, C., Qie, A., Wang, X., Zhou, T., Chi, S., Liu, Y., Tian, B. (2024). Effects of the addition of edible polysaccharides on the properties of soybean protein isolate gels. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 17(3), 241–248. <https://doi.org/10.25165/j.ijabe.20241703.8030>

Borchsenius, F., Borgtoft, P., Balslev, H. (1998). Manual to the palms of Ecuador (H. Balslev (ed.)). AAU Reports 37, Aarhus Universitetsforlag.

Brasil. (2012). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC Nº 54 de 12 de novembro de 2012. Regulamento Técnico sobre Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial da União. Disponível em: Acesso em 17 de dezembro de 2023

Burger, T. G., Zhang, Y. (2019). Recent progress in the utilization of pea protein as an emulsifier for food applications. *Trends in Food Science & Technology*, v. 86, p. 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.007>

Caporgno, M. P., Böcker, L., Müssner, C., Stirnemann, E., Haberkorn, I., Adelman, H., Handschin, S., Windhab, E. J., Mathys, A. (2020). Análogos de carne extrusada à base de microalgas amarelas de *Auxenochlorella prototecoides* cultivadas heterotroficamente. *Ciência Alimentar Inovadora e Tecnologias Emergentes*, 59, 102275. <http://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102275>

Cárdenas, A. G. (2017). O agronegócio do dendê nas Américas. *Palmas*, v. 37, p. 215-228, 2017. Disponível em: <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/view/11938>. Acesso em: 28 out. 2023.

Carvalho, A. V., Vasconcelos, M. A. M. de, Silva, P. A., Assis, G. T., Ascheri, J. L. R. (2010). Technological characterization of third generation extruded from cassava (*Manihot esculenta* crantz) and pupunha (*Bactris gasipaes* kunth.) flour. *Ciência e Agrotecnologia*, 34(4), 995–1003. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542010000400028>

Cermeño, M., Silva, J. V. C., Arcari, M., Denkel, C. (2024). Foaming properties of plant protein blends prepared using commercial faba bean and hemp protein concentrates at different faba bean/hemp protein ratios. *LWT*, 198, 115948–115948. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115948>

Chandran, A. S., Kashyap, P., Thakur, M. (2024). Effect of extraction methods on functional properties of plant proteins: A review. *EFood*, 5(3). <https://doi.org/10.1002/efd2.151>

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.-G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.-S., Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>

Clement, C. R., Bovi, M. L. A. (2000). Standardization of growth and production measurements in experiments with peach palm for heart-of-palm. *Acta Amazonica*, Manaus, v. 30, n. 3, p. 349-362.

Clement, C. R., Casas, A., Rondinel, F. A. P., Levis, C., Peroni, N., Hanazaki, N., Zárraga, L. C., Landa, S. R., Alves, R. P., Elisa, M., Cassino, M. F., Coelho, S., Soriano, A. C., Olivera, M. P., Blancas, J., Ballesté, A. M., Lemes, G. P., Velásquez, E. L., Bertin, V. M., Mazzochini, G. G. (2021). Disentangling Domestication from Food Production Systems in the Neotropics. 4(1), 4–4. <https://doi.org/10.3390/quat4010004>

Costa, C., Medronho, B., Filipe, A., Mira, I., Lindman, B., Edlund, H., Norgren, M. (2019). Emulsion Formation and Stabilization by Biomolecules: The Leading Role of Cellulose. *Polymers*, 11(10), 1570. <https://doi.org/10.3390/polym11101570>

Costa, P. A., Ballus, C. A., Filho, J. T., Godoy, H. T. (2010). Phytosterols and tocopherols content of pulps and nuts of Brazilian fruits. *Food Research International*, 43(6), 1603–1606. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.04.025>

Das, R. S., Tiwari, B. K., Chemat, F., Garcia-Vaquero, M. (2022). Impact of ultrasound processing on alternative protein systems: Protein extraction, nutritional effects and associated challenges. *Ultrasonics Sonochemistry*, 91, 106234. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106234>

Das, S., Nadar, S. S., Rathod, V. K. (2021). Integrated strategies for enzyme assisted extraction of bioactive molecules: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.09.060>

Day, L., Cakebread, J. A., Loveday, S. M. (2022). Food proteins from animals and plants: Differences in the nutritional and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 119(119), 428–442. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.12.020>

Duarte, S. P. A. (2018). Avaliação da qualidade nutricional, funcional e espectroscopia da farinha da pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth). Orientadora: Orquídea Vasconcelos dos Santos. 2018. 62 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Nutrição) - Faculdade de Nutrição, Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, Belém.

Duraiswamy, A., Sneha A., N. M., Jebakani K., S., Selvaraj, S., Pramitha J., L., Selvaraj, R., Petchiammal K., I., Kather Sheriff, S., Thinakaran, J., Rathinamoorthy, S., Kumar P., R. (2023). Genetic manipulation of anti-nutritional factors in major crops for a sustainable diet in future. *Frontiers in Plant Science*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1070398>

Ebert, S., Baune, M.-C., Broucke, K., Van Royen, G., Terjung, N., Gibis, M., Weiss, J. (2021). Capacidade tampão de proteínas vegetais texturizadas úmidas em comparação com carne suína. *Pesquisa Alimentar Internacional*, 150 (Pt B), 110803. PMID:34863495. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110803>

Embrapa. (2013). Transferência de tecnologia florestal: pupunheira para produção de palmito. Brasília, DF.

FAO. Dietary protein quality evaluation in human nutrition. Ed. 92. Auckland, New Zealand. Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome. 2013.

Fatima, A., Singh, P., Vinay Kumar Pandey, Singh, R., Sarvesh Rustagi. (2024). Exploring the significance of protein concentrate: A review on sources, extraction methods, and applications. *Food Chemistry Advances*, 5, 100771–100771. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100771>

Felisberto, M. H. F., Costa, M. S., Boas, F. V., Leivas, C. L., Franco, C. M. L., Souza, S. M., Clerici, M. T. P. S., Cordeiro, L. M. C. (2020). Characterization and technological properties of peach palm (*Bactris gasipaes* var. *gasipaes*) fruit starch. *Food Research International*, 136, 109569. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109569>

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. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.07.031>

Flores, W. B. C., Silva, W. D. P., Santos, J. G., Alfaia, S. S. A. (2019). Cultura da Pupunha: Cultivo e Beneficiamento. Manaus. Editora INPA. Ed.; 1^a, p. 16. Disponível em: <https://repositorio.inpa.gov.br/bitstream/1/16239/1/Cultura-da-pupunha.pdf>. Acesso: 29 de outubro de 2023.

Fontana, A., Centenaro, G. S., Palezi, S. C., Prentice-Hernández, C. (2009). Obtenção e avaliação de concentrados proteicos de corvina (*Micropogonias furnieri*) processados por extração química. *Química Nova*, 32(9). <https://doi.org/10.1590/s0100-40422009000900011>

Frigo, G., Vendramini, C. F., Silva, J. F., Felipe, M. P., Oliveira, P. R. S., Campos, T. A. F., Araujo, E. S., Gomes, E. S., Prado, I. N., Visentainer, J. V. (2022). A religião e consumo de alimentos: Revisão. *Research, Society and Development*, 11(10), e551111033121–e551111033121. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i10.33121>

García-Moreno, P. J., Guadix, A., Guadix, E. M. (2021). Emerging plant-based protein sources as food ingredients. *Applied Sciences*, 11(12), 5455.

Ghosh K., A., Bandyopadhyay, P. (2012). Polysaccharide-Protein Interactions and Their Relevance in Food Colloids. *The Complex World of Polysaccharides*. <https://doi.org/10.5772/50561>

Gouseti, O., Larsen, M. E., Amin, A., Bakalís, S., Petersen, I. L., Lametsch, R., Jensen, P. E. (2023). Applications of Enzyme Technology to Enhance Transition to Plant Proteins: A Review. *Foods*, 12(13), 2518. <https://doi.org/10.3390/foods12132518>

Graefe, S., Dufour, D., Van Zonneveld, M., Rodriguez, F., Gonzalez, A. (2012). Peach palm (*Bactris gasipaes*) in tropical Latin America: implications for biodiversity conservation, natural resource management and human nutrition. *Biodiversity and Conservation*, 22(2), 269–300. <https://doi.org/10.1007/s10531-012-0402-3>

Gravel, A., Doyen, A. (2020). The use of edible insect proteins in food: Challenges and issues related to their functional properties. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 59, 102272. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102272>

Gualberto, L. S. (2022). Obtenção e caracterização dos óleos obtidos dos frutos Tucumã (*astrocaryum vulgare*), Pupunha (*Bactris gasipaes*) e Bacupari (*Garcinia gardneriana*). 2022. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Palmas, 2022.

Guimarães, L. B., Muniz, F. R. L., Souza, M. A., Caiafa, T. B. (2018). Pupunha: Versatilidade na gastronomia. *Revista de Gastronomia*. Disponível em: <https://seer.uniacademia.edu.br/index.php/revistade gastronomia/article/view/1881/1221>. Acesso: 28 de out. 2023

Ha, S. M. L., de Bruijn, W. J. C., Vreeke, G. J. C., Bruins, M. E., Nieuwland, M., van der Goot, A. J., Keppeler, J. K. (2025). Protein extraction from oat: Isoelectric precipitation and water-based extraction. *Future Foods*, 11, 100591. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2025.100591>

Hatamian, M., Noshad, M., Abdanan-Mehdizadeh, S., Barzegar, H. (2020). Effect of roasting treatment on functional and antioxidant properties of chia seed flours. *NFS Journal*, 21, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2020.07.004>

He, S. (2023). Study on Physicochemical Properties of Food Protein. *Molecules*, 28(24), 8145–8145. <https://doi.org/10.3390/molecules28248145>

Henderson, A., Galeano, G., Bernal, R. (1995). *Field Guide to the Palms of the Americas*. In Google Books. Princeton University Press.

Hewage, A., Olatunde, O. O., Nimalaratne, C., Malalgoda, M., Aluko, R. E., Bandara, N. (2022). Novel Extraction technologies for developing plant protein ingredients with improved functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 129, 492–511. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.10.016>

Huang, B., Kong, L., Wang, C., Ju, F., Zhang, Q., Zhu, J., Gong, T., Zhang, H., Yu, C., Zheng, W.-M., Bu, D. (2023). Protein Structure Prediction: Challenges, Advances, and the Shift of Research Paradigms. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2022.11.014>

IBGE. (2017). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agropecuária. (PAM - Produção Agrícola Municipal). www.ibge.gov.br. Retrieved October 28, 2023, from <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/pupunha/br>

IBGE. (2022). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Produção Agropecuária. (Censo Agropecuário). www.ibge.gov.br. Retrieved October 28, 2023, from <https://www.ibge.gov.br/explica/producao-agropecuaria/palmito-cultivo/br>

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>

Ivanova, P., Kalaydzhiev, H., Dessev, T. T., Silva, C. L. M., Rustad, T., Chalova, V. I. (2018). Foaming properties of acid-soluble protein-rich ingredient obtained from industrial rapeseed meal. *Journal of Food Science and Technology*, 55(9), 3792–3798. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3311-y>

Jaramillo-Vivanco, T., Balslev, H., Montúfar, R., Cámara, R. M., Giampieri, F., Battino, M., Cámara, M., Alvarez-Suarez, J. M. (2022). Three Amazonian palms as underestimated and little-known sources of nutrients, bioactive compounds and edible insects. *Food Chemistry*, 372, 131273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131273>

Kanetro, B., Riyanto, M., Pujimulyani, D., Huda, N. (2021). Improvement of Functional Properties of Jack Bean (*Canavalia ensiformis*) Flour by Germination and Its Relation to Amino Acids Profile. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 9(3), 812–822. <https://doi.org/10.12944/crnfsj.9.3.09>

Khalesi, M., Glenn-Davi, K., Mohammadi, N., Gerald, R. J. F. (2024). Key Factors Influencing Gelation in Plant vs. Animal Proteins: A Comparative Mini-Review. *Gels*, 10(9), 575–575. <https://doi.org/10.3390/gels10090575>

Klupšaitė, D., Juodeikienė, G. (2015). Legume: composition, protein extraction and functional properties. A review. *Chemical Technology*, 66(1). <https://doi.org/10.5755/j01.ct.66.1.12355>

Lafarga, T. (2018). Potential Applications of Plant-Derived Proteins in the Food Industry. John Wiley & Sons, Ltd eBooks, p. 117–137. <https://doi.org/10.1002/9781119385332.ch6>

Lam, R. S. H., Nickerson, M. T. (2013). Food proteins: A review on their emulsifying properties using a structure–function approach. *Food Chemistry*, 141(2), 975–984. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.038>

Lee, J.-S., Oh, H., Choi, I., Yoon, C. S., Han, J. (2022). Características físico-químicas de novas proteínas vegetais texturizadas à base de proteína de arroz como análogos de carne produzidos por tecnologia de cozimento por extrusão de baixa umidade. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie*, 157, 113056. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.113056>

Lin, D., Lu, W., Kelly, A. L., Zhang, L., Zheng, B., Miao, S. (2017) Interactions of vegetable proteins with other polymers: Structure-function relationships and applications in the food industry. *Trends in Food Science & Technology*, v. 68, p. 130–144. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.006>

- Luana, L. B., Couto, N. G., Toledo, A. C. T., Schimiguel, J. (2020): “Reaproveitamento de resíduos vegetais na indústria de alimentos”, *Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana* (2020). En línea: <https://www.eumed.net/rev/oel/2020/02/reaproveitamento-residuos-vegetais.html>
- Ma, K. K., Grossmann, L., Nolden, A. A., McClements, D. J., Kinchla, A. J. (2022). Functional and physical properties of commercial pulse proteins compared to soy derived protein. *Future Foods*, 6, 100155. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100155>
- Manzatto, C. V., Spinelli-Araujo, L. Assad, E., Sampaio, F. G., Sotta, E. D., Vicente, L. E., Pereira, S. E., Gomes, D., Vicente, A. K. Estudo sobre a sustentabilidade na agricultura. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, Recife, v. 12, n. 3, p. 45-58, 2022. DOI: 10.13140/RG.2.2.19047.68001.
- Martínez-Girón, J., Osorio, C., Ordoñez-Santos, L. E. (2021). Effect of temperature and particle size on physicochemical and techno-functional properties of peach palm peel flour (*Bactris gasipaes*, red and yellow ecotypes). *Food Science and Technology International*, 28(6), 535–544. <https://doi.org/10.1177/10820132211025133>
- Mattice, K. D., Marangoni, A. G. (2020). Comparing methods to produce fibrous material from zein. *Food Research International*, 128, 108804. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108804>
- Miranda, L. V. A., Mochiutti, S., Cunha, A. C., Cunha, H. F. A. (2022). Descarte e destino final de caroços de açaí na Amazônia Oriental - Brasil. *Ambiente & Sociedade*, 25. <https://doi.org/10.1590/1809-4422asoc2020138r2vu202212ao>
- Murray, B. S., Ettelaie, R. (2004). Foam stability: proteins and nanoparticles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 9(5), 314–320. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2004.09.004>
- Narsimhan, G., Xiang, N. (2018). Role of Proteins on Formation, Drainage, and Stability of Liquid Food Foams. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9(1), 45–63. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216-030009>
- Nascimento, T. M. importância das proteínas na nutrição humana – teoria e prática para o ensino médio. Fundação educacional do município de Assis. FEMA, 2010. 65p. Disponível: <https://cepein.femanet.com.br/BDigital/arqTccs/0711290031.pdf>.
- Navaf, M., Sunooj, K. V., Aaliya, B., Sudheesh C., Akhila, P. P., Mir, S. A., Nemțanu, M. R., George, J., Lackner, M., Khaneghah, A. M. (2023). Contemporary insights into the extraction, functional properties, and therapeutic applications of plant proteins. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14, 100861–100861. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100861>
- Nicolai, T., Chassenieux, C. (2019). Heat-induced gelation of plant globulins. *Current Opinion in Food Science*, v. 27, p. 18–22. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.04.005>
- Opazo-Navarrete, M., Burgos-Díaz, C., Bravo-Reyes, C., Ivo Gajardo-Poblete, Chacón-Fuentes, M., Reyes, J. E., Mojica, L. (2025). Comprehensive Review of Plant Protein Digestibility: Challenges, Assessment Methods, and Improvement Strategies. *Applied Sciences*, 15(7), 3538–3538. <https://doi.org/10.3390/app15073538>
- Pace, C. N., Grimsley, G. R., Scholtz, J. M. (2009). Protein Ionizable Groups: pKValues and Their Contribution to Protein Stability and Solubility. *Journal of Biological Chemistry*, 284(20), 13285–13289. <https://doi.org/10.1074/jbc.r800080200>

- Pereira, D., Roberta, C., Martins, D., Melo, L., Silva, Ferreira, A., Pereira, A. S., Silva, B. M. (2024). Evaluation of the nutritional potential of peach palm flour and its application in crunchy snacks. *Scientia Plena*, 20(3). <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2024.031501>
- Pickardt, C., Hager, T., Eisner, P., Carle, R., Kammerer, D. R. (2011). Isoelectric protein precipitation from mild-acidic extracts of de-oiled sunflower (*Helianthus annuus* L.) press cake. *European Food Research and Technology*, 233(1), 31–44. <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1489-6>
- Pinheiro, R. C., Ballesteros, L. F., Cerqueira, M. A., Rodrigues, A. M. C., Teixeira, J. A., Silva, L. H. M. (2022). Peach palm (*Bactris gasipaes*) and mammee apple (*Mammea americana* L.) seeds: Properties and potential of application in industry. *LWT*, 170, 114089. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114089>
- Poore, J., Nemecek, T. (2018). Reducing Food's Environmental Impacts through Producers and Consumers. *Science*, 360(6392), 987–992. <https://doi.org/10.1126/science.aag0216>
- Prado, J. M., Passos, G. R., Santos, T. B., Silva, C. N. S., Lemes, A. C., Batista, K. A., Sora, G. T. S., Polesi, L. F., Paula, L. C. (2022). Production and characterization of a carotenoid-rich peach palm flour. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, 8(8), 14866-01i. <https://doi.org/10.18540/jcecvl8iss8pp14866-01i>
- Queiroz, M. L. V., Barbosa Filho, J. A. D., Albiero, D., Brasil, D. F., Melo, R. P. (2014). Percepção dos consumidores sobre o bem-estar dos animais de produção em Fortaleza, Ceará. *Revista Ciência Agronômica*, 45(2), 379–386. <https://doi.org/10.1590/s1806-66902014000200020>
- Rahmati, N. F., Koocheki, A., Varidi, M., Kadkhodae, R. (2018). Introducing Speckled sugar bean (*Phaseolus vulgaris*) protein isolates as a new source of emulsifying agent. *Food Hydrocolloids*, 79, 498–508. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.01.022>
- Ramos, O. L., Pereira, R. N., Martins, A., Rodrigues, R., Fuciños, C., Teixeira, J. A., Pastrana, L., Malcata, F. X., Vicente, A. A. (2017). Design of whey protein nanostructures for incorporation and release of nutraceutical compounds in food. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(7), 1377–1393. <https://doi.org/10.1080/10408398.2014.993749>
- Rigon, E. E. S., Oliveira-Folador, G., Sora, G. T. S., Paula, L. C., Polesi, L. F. (2022). Physicochemical and functional composition of peach palm flour. *Editora Científica Digital EBooks*, 111–119. <https://doi.org/10.37885/211207084>
- Ritter, L., Biasi, V., Slongo, A. R., Ramos, C., Moraes, B. W., Cavassini, S. (2024). A importância das proteínas na dieta humana. *Anais da Feira de Ciência, Tecnologia, Arte e Cultura do Instituto Federal Catarinense do Campus Concórdia*, 7(1). <https://publicacoes.ifc.edu.br/index.php/fecitac/article/view/6518>
- Robins, M. M. (2000). Emulsions — creaming phenomena. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 5(5-6), 265–272. [https://doi.org/10.1016/s1359-0294\(00\)00065-0](https://doi.org/10.1016/s1359-0294(00)00065-0)
- Rodrigues, I. M., Coelho, J. F. J., Carvalho, M. G. V. S. (2012). Isolation and valorisation of vegetable proteins from oilseed plants: Methods, limitations and potential. *Journal of Food Engineering*, 109(3), 337–346. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.10.027>
- Rosset, M., Acquaro, V. R., Beléia, A. D. P. (2012). Protein Extraction from Defatted Soybean Flour with Viscozyme L Pretreatment. *Journal of Food Processing and Preservation*, 38(3), 784–790. <https://doi.org/10.1111/jfpp.12030>

Salehi, G., Díaz, E., Redondo, R. (2023). Forty-five years of research on vegetarianism and veganism: A systematic and comprehensive literature review of quantitative studies. *Heliyon*, 9(5), e16091. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16091>

Santana, G. S., Filho, J. G. de O., Egea, M. B. (2017). Características tecnológicas de farinhas vegetais comerciais. *Revista de agricultura neotropical*, 4(2), 88–95. <https://doi.org/10.32404/rean.v4i2.1549>

Santos A. F., Corrêa Jr., C. Neves, E. J. M. (2008). *Palmeiras para produção de palmito: juçara, pupunheira e palmeira real*. 1. ed. Colombo, PR: EMBRAPA Florestas. v. 1. 190p.

Santos, Á. F., Neves, E. J. M., Corrêa Jr., C., Filho, A. N. K. (2021). Importância ambiental - Portal Embrapa. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/cultivos/pupunha/preproducao/socioeconomia/importancia-ambiental>. Acesso: 28 de outubro de 2023.

Santos, A. F., Neves, D. J. M., Filho, A. N. K., Junior, J. P. (2015). Uso da pupunheira na agricultura familiar - *Revista Cultivar*. Disponível em: <<https://revistacultivar.com.br/artigos/uso-da-pupunheira-na-agricultura-familiar>>. Acesso em: 13 abr. 2025.

Sha, L., Xiong, Y. L. (2020). Plant protein-based alternatives of reconstructed meat: Science, technology, and challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 102, 51-61.

Shahnaz, T., Fawole, A. O., Adeyanju, A. A., Onuh, J. O. (2024). Food Proteins as Functional Ingredients in the Management of Chronic Diseases: A Concise Review. *Nutrients*, 16(14), 2323. <https://doi.org/10.3390/nu16142323>

Sharma, S., Thakur, K., Sharma, R., Bobade, H. (2023). Molecular morphology & interactions, functional properties, rheology and in vitro digestibility of ultrasonically modified pearl millet and sorghum starches. *International Journal of Biological Macromolecules*, 253, 127476–127476. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.127476>

Shevkani, K., Singh, N., Chen, Y., Kaur, A., Yu, L. (2019). Pulse proteins: secondary structure, functionality and applications. *Journal of Food Science and Technology*. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03723-8>

Shevkani, K., Singh, N., Kaur, A., Rana, J. C. (2015). Structural and functional characterization of kidney bean and field pea protein isolates: A comparative study. *Food Hydrocolloids*, v. 43, p. 679–689. [10.1016/j.foodhyd.2014.07.024](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.07.024)

Silva, A. C. C., Frota, K. M. G., Arêas, J. A. G. *Funções plenamente de nutrientes: proteínas*. São Paulo: ILSI Brasil-Internacional Life Sciences Institute from Brazil, 2012. Vol. 20. 16p. Disponível: https://nutritotal.com.br/pro/wp-content/uploads/2014/04/Fun%C3%A7%C3%B5es_proteina.pdf

Soares, S. D., Santos, O. V., Conceição, L. R. V., Costi, H. T., Silva Júnior, J. O. C., Nascimento, F. C. A., Pena, R. S. (2023). Nutritional and Technological Properties of Albino Peach Palm (*Bactris gasipaes*) from the Amazon: Influence of Cooking and Drying. *Foods*, 12(23), 4344. <https://doi.org/10.3390/foods12234344>

Streimikyte, P., Viskelis, P., Viskelis, J. (2022). Enzymes-Assisted Extraction of Plants for Sustainable and Functional Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2359. <https://doi.org/10.3390/ijms23042359>

- Sun, X. D., Arntfield, S. D. (2011). Gelation properties of salt-extracted pea protein isolate induced by heat treatment: Effect of heating and cooling rate. *Food Chemistry*, 124(3), 1011–1016. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.07.063>
- Verfaillie, D., Janssen, F., Van Royen, G., Wouters, A. G. B. (2023). A systematic study of the impact of the isoelectric precipitation process on the physical properties and protein composition of soy protein isolates. *Food Research International*, 163, 112177. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112177>
- Vilg, J. V., Undeland, I. (2016). pH-driven solubilization and isoelectric precipitation of proteins from the brown seaweed *Saccharina latissima*—effects of osmotic shock, water volume and temperature. *Journal of Applied Phycology*, 29, 585–593. <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0957-6>
- Wilson, C. J., Mikko Karttunen, Bert, Vytautas Gapsys. (2024). Accurately predicting protein pKa values non-equilibrium alchemy. *Biophysical Journal*, 123(3), 425a425a. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2023.11.2578>
- Wittmüss, M., Amft, J., Heyn, T. R., Schwarz, K. (2024). Oil binding capacity and related physicochemical properties of commercial plant protein products. *Food Bioscience*, 103823. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.103823>
- Wolfe, R. R., Church, D. D., Ferrando, A. A., Moughan, P. J. (2024). Consideration of the role of protein quality in determining dietary protein recommendations. *Frontiers in Nutrition*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnut.2024.1389664>
- Yang, F., Weng, D., Huang, X., Yao, X., Pan, S. (2009). Research on the interaction of lipid and protein in SPI gel. *European Food Research and Technology*, 230(3), 467–473. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1176-z>
- Yi-Shen, Z., Shuai, S., FitzGerald, R. (2018). Mung bean proteins and peptides: nutritional, functional and bioactive properties. *Food & Nutrition Research*, 62(0). <https://doi.org/10.29219/fnr.v62.1290>
- Zahari, I., Ferawati, F., Helstad, A., Ahlström, C., Östbring, K., Rayner, M., Purhagen, J. K. (2020). Desenvolvimento de análogos de carne de alta umidade com proteína de cânhamo e soja usando cozimento por extrusão. *Alimentos*, 9(6), 1-13. PMID:32545255. <http://doi.org/10.3390/foods9060772>
- Zhang, M., Fan, L., Liu, Y., Huang, S., Li, J. (2022). Effects of proteins on emulsion stability: The role of proteins at the oil–water interface. *Food Chemistry*, 397, 133726. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133726>
- Zhang, W., Xu, X., Zhao, X., Zhang, Y., He, Y. (2024). Oil density and viscosity affect emulsion stability and destabilization mechanism. *Journal of Food Engineering*, 366, 111864–111864. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111864>
- Zhao, H., Shen, C., Wu, Z., Zhang, Z., Xu, C. (2020). Comparison of wheat, soybean, rice, and pea protein properties for effective applications in food products. *Journal of Food Biochemistry*, 44(4). <https://doi.org/10.1111/jfbc.13157>
- Zhou, S., Reddy, C. K., Du, B., Xu, B. (2021). Pasting, thermal, and functional properties of wheat flour and rice flour formulated with chestnut flour. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 26, 100290. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2021.100290>
- 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. <https://doi.org/10.3390/ijms17091376>

CAPÍTULO 3

**PROTEINS-RICH EXTRACT FROM PEACH
PALM SEEDS (*Bactris gasipaes*): OBTENTION,
PHYSICAL AND CHEMICAL
CHARACTERIZATION AND TECHNO-
FUNCTIONALITY ASSESSMENT**

1. INTRODUCTION

In recent years, the global population has increasingly sought to adopt a healthier lifestyle, motivated by ecological and nutritional concerns. This trend has driven changes in eating habits and stimulated the search for new sources of ingredients applicable to food matrices (Lee et al., 2023; Liu et al., 2024). Traditional sources of plant proteins, such as soy and wheat, are still widely used by the food industry (Kyriakopoulou et al., 2019; Li et al., 2025). However, the use of novel plant protein sources can bring several benefits, including dietary diversification (reducing dependence on a few crops and promoting local biodiversity), greater environmental sustainability (through more efficient use of resources such as water, fertilizers, and cultivation area), and improved nutritional profiles (by supplying essential amino acids that are often lacking in common protein sources). Additionally, these novel proteins may offer promising technological functionality and important social benefits, such as providing alternatives for individuals with allergies or dietary restrictions related to conventional proteins (Pires et al., 2006; Domene et al., 2023; Gonçalves et al., 2023; Nascimento and Tabai, 2023).

To effectively harness these new sources, it is necessary to conduct in-depth studies of their techno-functional properties, such as oil and water holding capacity, emulsification, gelation, and foaming ability, thereby demonstrating their viability in different food applications (Jeong et al., 2022). Understanding the relationship between the physical and chemical properties of proteins and their technological functionality is essential for improving product characteristics such as appearance, stability, and texture (Omura et al., 2021; Lessa et al., 2022). In this context, the search for protein isolates or concentrates from novel plant sources remains a strategic topic for food innovation, aiming to develop ingredients that are sensorially pleasant, technologically efficient, and nutritionally valuable.

The peach palm (*Bactris gasipaes*) is a tropical palm from the Arecaceae family whose techno-functional properties have already been explored in different fractions, such as peel flour, whole fruit flour (peel and pulp), and pulp flour. These have demonstrated promising properties including water and oil holding capacity, foam formation, and emulsifying activity (Martínez-Girón et al., 2021; Prado et al., 2022; Soares et al., 2023; Pereira et al., 2024). Studies have also evaluated the dry basis composition of peach palm seed flour, reporting moisture (3.12%), carbohydrates (50%), proteins (9.19%), lipids (35.53%), and ash (2.16%) (Pinheiro et al., 2022). Nevertheless, investigations into its techno-functional properties remain limited. Considering that these seeds are often used as natural charcoal, soil fertilizer, carbohydrate-rich

animal feed, or even discarded during the processing of peach palm pulp or heart of palm, their valorization represents a significant opportunity (Flores et al., 2019; Jaramillo-Vivanco et al., 2022). A deeper investigation of these seeds as a protein source for human consumption could lead to relevant innovations, reduce industrial waste, and add value to this by-product. Therefore, research focused on exploring their potential as a food ingredient may contribute to sustainable and environmentally responsible solutions (Araújo et al., 2021).

To properly assess their techno-functional properties, it is essential that the protein fraction from the seeds be highly concentrated and pure. Given that the natural protein content of the seed is only 9.19%, the application of extraction methods is necessary to obtain isolates or concentrates and minimize the interference of other biomacromolecules (lipids, carbohydrates, and ash) in the functional evaluations (Ghosh and Bandyopadhyay, 2012; Bi et al., 2024). Among the most commonly used extraction techniques in the industry are isoelectric precipitation, enzyme-assisted extraction, and ultrasound-assisted extraction (Hewage et al., 2022; Nafav et al., 2023).

Given this scenario, the objectives of this study were to obtain defatted flour from peach palm seeds, apply different protein extraction methods to produce a protein concentrate, and characterize the physical, chemical, and techno-functional properties of the resulting material. In this way, the present research contributes to the valorization of peach palm seeds—currently underutilized as an industrial by-product—by highlighting their potential and applicability in innovative food formulations.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Reagents

HCl, NaOH, SDS, boric acid, sulfuric acid, 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid), and 8-anilino-1-naphthalenesulfonic acid (ANS), Coomassie Brilliant Blue, sodium azide, Cellic CTec2, and Tris-HCl buffer [0.187 mol·L⁻¹, pH 6.8] were all purchased from Sigma–Aldrich (Saint Louis, MO, USA). The TrueColor High Range Protein Marker was obtained from SMOBIO (Baoshan Township, Hsinchu, Taiwan). Acetic acid, hexane, phenolphthalein, and methanol were purchased from ACS Científica (Sumaré, SP, Brazil) and also used in the experiments. All reagents and solvents were used without further purification. Food-grade soybean oil (batch: 02 U, Liza Alimentos, Brazil) was purchased from a local market. Deionized water (electrical resistivity close to 18.2 Mohm·cm⁻¹ at 25.0 °C; A+ Reference, Millipore, USA) was used in all experiments.

2.2. Raw material

Peach palm seeds (*Bactris gasipaes*) were acquired in July 2024 from a seed company called Click Mudas, located in Vale do Ribeira, São Paulo, Brazil. To obtain peach palm seeds without the exocarp, the seeds were manually cracked and peeled. Seeds with a thin fibrous brown film were washed with water, dried, and stored at -20 °C.

2.3. Obtaining defatted peach palm seed flour (DPPSF)

Peach palm seeds were thawed for 6 hours at 25 °C and ground in solid medium using a blender (Mondial Turbo Inox L-1100 BI) at power level 3 for 2 minutes and power level 4 for 4 minutes. The resulting mass was dried in a forced-air oven (New Lab, Model NL-81-64, Brazil) at 32 °C for 30 hours. After cooling, the dried mass was further ground in a blender at power level 4 for 3 minutes, then sieved using a 60-mesh sieve, resulting in whole peach palm flour. Lipids were subsequently extracted using hexane in a Soxhlet apparatus for 8 hours.

2.4. Comparison of methods to obtain protein extracts from peach palm seeds (PEPPS)

Since all the extraction methods employed the average isoelectric point, this analysis was carried out beforehand. Subsequently, the extraction methods — isoelectric precipitation, ultrasound-assisted, and enzymatic — were tested with the aim of identifying the one that would yield the highest protein content in the final material (Figure 8), for subsequent analysis of its physical and chemical and techno-functional properties.

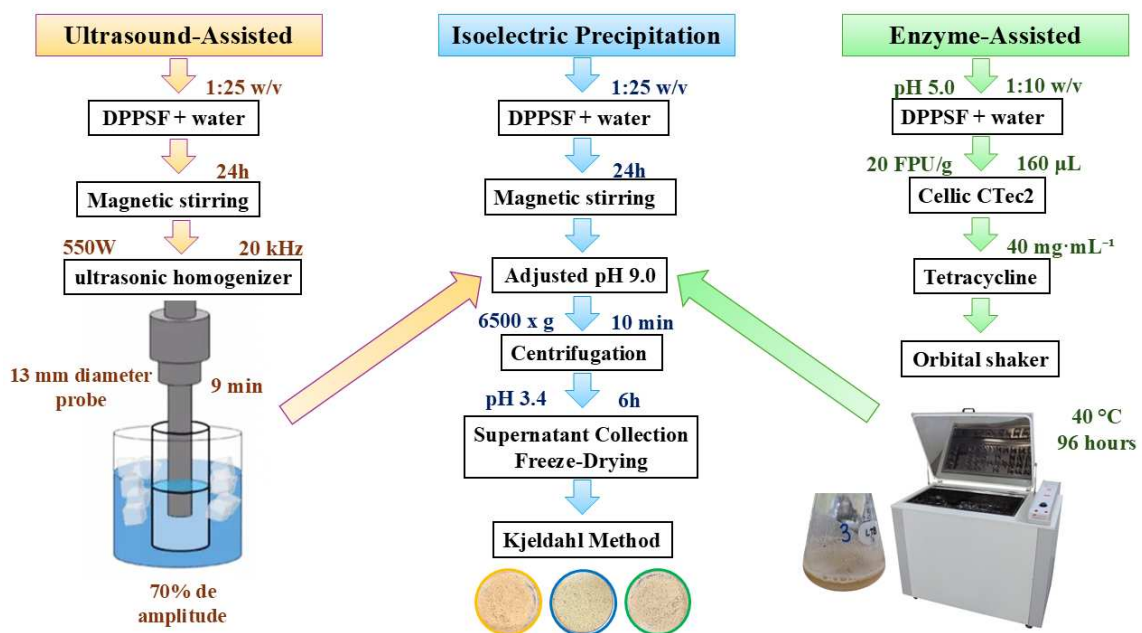


Figure 8 - Flowchart of extraction by isoelectric precipitation, enzyme-assisted extraction, and ultrasound-assisted extraction. Source: Author's own elaboration.

2.4.1. Average isoelectric point (pH_i)

The pH_i was determined according to Omura et al. (2021). The protein extract was dispersed in Milli-Q water at a concentration of 0.1 mg·mL⁻¹ and maintained under magnetic stirring (BS-2H, Lab Science, China) at 25.0 ± 0.5 °C for 24 hours. Then, the pH was measured (pH/conductivity meter 914, Metrohm, Switzerland) as being ~ 5.0. The dispersion was divided into two parts. In one part, the pH was increased from 5.0 to 11.0 using 1.0 mol·L⁻¹ or 0.1 mol·L⁻¹ NaOH. In the other, the pH was decreased from 5.0 to 2.0 using 1.0 mol·L⁻¹ or 0.1 mol·L⁻¹ HCl. Aliquots of the dispersions with pH values ranging from 2.0 to 11.0 (with 1.0 unit increments) were subjected to ζ-potential analysis (Zetasizer Nano-ZS, Malvern Instruments, UK) at 25.0 ± 0.1 °C, with samples placed in capillary cells (DTS1070; Malvern Instruments, UK). Further measurements were made with pH increment of 0.1, for the dispersions whose pH ranged from 2.6 to 3.7.

2.4.2. Isoelectric Precipitation Extraction

PEPPS was obtained according to the method described by Boye et al. (2010). Briefly, a dispersion of DPPSF was prepared in Milli-Q water at a 1:25 ratio (w/v) and maintained under magnetic stirring for 24 hours at 25.0 ± 1.0 °C. The pH_i was determined to be at pH 3.4 (see detail in section 3.2.1). Subsequently, the pH was adjusted to 9.0 (using 1.0 mol·L⁻¹ or 0.1 mol·L⁻¹ NaOH), followed by centrifugation (6500 × g for 10 minutes at 25 °C). After isoelectric precipitation extraction, the supernatant was collected and its pH was adjusted to 3.4 with 1.0 mol·L⁻¹ or 0.1 mol·L⁻¹ HCl. After isoelectric precipitation, excess liquid was removed using a 3 mL pipette, and the resulting material was frozen for 6 hours, freeze-dried (Liotop-L101, Liobras, Brazil), and stored in containers under refrigeration (2.0 ± 1.0 °C) for use in subsequent steps.

2.4.3. Ultrasound-Assisted Extraction

The extraction was carried out according to Tang et al. (2024). Briefly, DPPSF dispersions in Milli-Q water (1:25, w/v) were hydrated for 24 hours, followed by ultrasonic homogenization using an ultrasonic homogenizer (Viber Cell 750, Sonics, USA) set to 550 W, at 20 kHz, with 70% amplitude, for 9 minutes, using a 13 mm diameter probe. During this process, the flasks containing the DPPSF dispersions were submerged in a container with ice cubes to minimize the effects of high temperatures on the proteins. The probe was submerged 30 mm below the surface of the dispersions. After this step, the isoelectric precipitation

extraction process continued as described in section 2.4.2. The obtained material was frozen for 6 hours, freeze-dried (Liotop-L101, Liobras, Brazil), and stored in containers under refrigeration (2.0 ± 1.0 °C).

2.4.4. Enzyme-Assisted Extraction

The extraction was performed according to Guo et al. (2025). Briefly, DPPSF dispersions were prepared in distilled water (1:10, w/v), and the pH was adjusted to 5.0 using $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ HCl. The enzyme used was Cellic® CTec2 (Sigma–Aldrich), which contains cellulases, β -glucosidases, and hemicellulases, with optimal operating conditions at 45–50 °C and a pH range of 5.0–5.5 (Marchwicka, 2021). The amount of 160 μL (0.16 mL) of Cellic® CTec2 was used to achieve a dosage of 20 FPU/g of cellulose, and tetracycline ($40 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) was added to prevent microbial growth. The mixture was then incubated in an orbital shaker (LUCA-221, Brazil) at 40 °C for 96 hours. The subsequent extraction steps followed the procedure described for isoelectric precipitation extraction in section 2.4. The resulting material was frozen for 6 hours, freeze-dried (Liotop-L101, Liobras, Brazil), and stored in containers under refrigeration (2.0 ± 1.0 °C).

2.5. Proximate composition of DPPSF and PEPPS

The procedures were described by AOAC (1990). Moisture content was determined in an oven at 105 °C (AOAC 925.09). Total nitrogen content was quantified using the Kjeldahl method, and the protein content was calculated using a conversion factor of 5.75 (Silva et al., 2021; AOAC 930.29). Lipid content was determined by gravimetric difference after extraction in a Soxhlet apparatus, using petroleum ether as the extraction solvent (AOAC 920.85). Ash content was determined by incineration in a muffle furnace at 550 °C (AOAC 923.03). Carbohydrate content was calculated by difference, subtracting the contents of protein, lipids, moisture, and ash from 100%. Crude fiber content was determined according to the official method of the Adolfo Lutz Institute (2008). These analyses were performed on the defatted flour and the protein extract flour.

2.6. Physical and chemical characterization of PEPPS

The physical and chemical characterization of PEPPS included the determination of its isoelectric point (Section 2.4.1), molecular mass distribution of proteins, dispersibility and

turbidity profiles (pH 2.0 to 11.0), surface hydrophobicity (pH 3.5 and 7.0), and free sulfhydryl groups (pH 3.5 and 7.0), as described in the following subsections.

2.6.1. Molecular Mass Distribution (SDS-PAGE)

SDS-PAGE under reducing conditions was performed based on the method of Laemmli (1970). A 3.0% protein dispersion was prepared and maintained under magnetic stirring for 24 hours. Then, the pH was adjusted to 7.0, and the mixture was centrifuged ($7000 \times g$ for 10 minutes). The supernatant was collected, and protein content was determined using the Bradford method (1976). The dispersion was diluted to a protein concentration of $3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. A 15.0% (w/v) resolving gel and a 4.0% (w/v) stacking gel were used. To each $10 \mu\text{L}$ dispersion ($3 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), $5 \mu\text{L}$ of Tris-HCl buffer [$0.187 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 6.8; containing 50% (v/v) glycerol, 6.0% (w/v) SDS, 1.0% (w/v) bromophenol blue, and 15.0% (v/v) β -mercaptoethanol] were added. The samples were heated at $90 \text{ }^\circ\text{C}$ for 5 minutes, cooled to $21\text{--}23 \text{ }^\circ\text{C}$, and loaded into the wells of the stacking gel. A molecular weight marker (TrueColor High Range Protein Marker, Sinapse Inc., Brazil) ranging from 10 to 245 kDa was used. Electrophoresis was conducted at 120 V initially, then increased to 150 V for 220 minutes. After electrophoresis, the gel was stained with a solution containing 0.1% (w/v) Coomassie Brilliant Blue, 10.0% (w/v) acetic acid, and 40.0% (v/v) methanol, under gentle agitation for 2 hours, and then immersed in a destaining solution (10.0% acetic acid, 40.0% methanol, and 50.0% water).

2.6.2. Turbidity and dispersibility profile

The profiles were evaluated according to Li et al. (2023) at pH values ranging from 2.0 to 11.0, in 1-unit intervals. Dispersions of 0.5% (w/v) of the protein extract were prepared in Milli-Q water and kept under magnetic stirring for 24 hours at $25 \pm 1.0 \text{ }^\circ\text{C}$. The initial pH (~ 5.0) was gradually adjusted using NaOH and HCl (1.0 or $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$). For the turbidity profile, the suspensions were analyzed using a UV Vis spectrophotometer at 600 nm (Ab_{600}) (Cary 50, Varian, Australia), at $25.0 \pm 1.0 \text{ }^\circ\text{C}$. Absorbance values were expressed as turbidity, according to Omura et al. (2021) in Equation (1).

$$T = \frac{2.303 \times Ab_{600}}{l} \quad (1)$$

In Eq. 1, T is turbidity and l is the optical path length (cuvette width). The dispersibility profile was evaluated using the method by Ladjal-Ettoumi et al. (2015), with adaptations by Lessa (2022). The dispersions were centrifuged at $7000 \times g$ for 10 minutes, and

the protein concentration in the supernatant was determined using the Bradford method (1976). A standard curve with PEPPS (53,4% protein) was previously constructed with concentrations of 00.00, 0.10, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.50, 2.00, and 3.00 mg·mL⁻¹, and absorbance was measured at 595 nm (Mæhre et al., 2018).

2.6.3. Exposed hydrophobic surface (h_0 index)

According to Oliete et al. (2018). Dispersions of PEPPS at a concentration of 1.0% (w/v) in phosphate buffer (pH 7.0 and 10 mmol·L⁻¹) were maintained under stirring at 25 ± 0.5 °C for 24 hours. The dispersions were then centrifuged at $10,000 \times g$ for 25 minutes, and the protein content of the supernatants was assessed by the method of Bradford (1976). The concentration was adjusted to 0.5 mg·mL⁻¹. Then, 6 μ L of ANS solution (1 mmol·L⁻¹) was added to 300 μ L of protein dispersion. After incubation in the dark for 15 minutes, fluorescence intensity was measured using a spectrophotometer (SpectraMax M5, Molecular Devices, USA) at 380 nm (excitation) and 460 nm (emission). The graph relating the fluorescence intensity to the protein concentration (mg·mL⁻¹) was used to calculate the hydrophobicity index (h_0).

2.6.4. Free sulfhydryl (–SH) groups

According to the method described by Xiao et al. (2024). PEPPS dispersions at 1.0% (w/v) in Milli-Q water were stirred for 24 hours at 25 ± 0.5 °C. The pH was adjusted to 3.5 and 7.0 (using 1.0 mol·L⁻¹ or 0.1 mol·L⁻¹ NaOH or HCl), followed by centrifugation at $7100 \times g$ for 20 minutes. After collecting the supernatant and readjusting the pH, 80 μ L of DTNB was added to 2 mL of the supernatant and gently stirred in the dark for 15 minutes. Absorbance was measured at 412 nm. The blank consisted of DTNB in Milli-Q water. The free SH content was calculated according to Chen et al. (2023) and Ryu (2025), using Equation (2).

$$C - SH \left(\frac{\mu\text{mol}}{g} \right) = \frac{73,53 \times Abs_{412} \times D}{C} \quad (2)$$

In Eq. 2, C is the concentration of the PEPPS solution (mg·mL⁻¹), D is the dilution factor, abs_{412} is the absorbance at 412 nm, and the value 73.53 refers to the molar extinction coefficient (L·mol⁻¹·cm⁻¹).

2.7. Techno-functionality of PEPPS assessment

The techno-functional properties of PEPPS were evaluated in terms of water holding capacity (WHC) and oil holding capacity (OHC) (in this method, it was not possible to perform

measurements at pH 3.5 due to its proximity to the isoelectric point, which drastically reduces protein solubility, leading to aggregation and precipitation. This effect compromises protein dispersibility, making it unfeasible to obtain accurate quantitative measurements of water or oil retention in the samples. Therefore, WHC and OHC values were assessed without pH adjustment), foaming properties (pH 3.5 and 7.0), emulsifying properties (pH 3.5 and 7.0), and gelling properties (pH 7.0, as at pH 3.5, which is close to the isoelectric point, gel formation did not occur at any of the minimum concentrations tested), as detailed in the following subsections.

2.7.1. Water and oil holding capacities

According to Espinosa-Ramírez and Serna-Saldívar (2016). A total of 0.1 g of PEPPS was weighed and placed in a 1.5 mL centrifuge tube, then mixed with 1.0 g of Milli-Q water or soybean oil. The mixtures were vortexed for 10 seconds every 5 minutes over a total period of 30 minutes. Immediately afterward, the samples were centrifuged at $10,000 \times g$ for 15 minutes. The corresponding supernatants (water or oil) were discarded, and the remaining solids were weighed again to quantify the amount of water or oil retained in the PEPPS. The WHC and OHC were calculated as described in Equation (3).

$$WHC \text{ or } OHC(\%) = \left(\frac{WG}{IW} \right) \times 100\% \quad (3)$$

In Eq. 3, WG represents the final mass retaining water or oil (g), and IW represents the initial mass (g).

2.7.2. Foaming Properties

According to Othmeni et al. (2024), PEPPS dispersions at a concentration of 1.0% (w/v) were maintained under magnetic stirring for 24 hours. After stirring, the pH was adjusted to 3.5 and 7.0 (using $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ or $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH or HCl). The dispersions were then transferred to a Falcon tube (capacity = 15 mL) and homogenized using an Ultra-Turrax T25 (IKA-Werke GMBH & CO., Germany) at 25,000 rpm for 1 minute to generate foams. Foam capacity (FC) and foam stability (FS) were calculated according to Equations (4) and (5), respectively.

$$\%FC = \frac{V_0}{7.5} \times 100\% \quad (4)$$

$$\%FS = \frac{\Delta V}{V_0} \times 100\% \quad (5)$$

In Eq 5. V_0 represents the foam volume at time 0 (zero) (%), and ΔV represents the foam volume after 30 min, 60 min, or 1440 min (%).

2.7.3. Emulsifying Properties

2.7.3.1. Preparation of the emulsions

PEPPS dispersions in Milli-Q water were prepared and stirred for 24 hours. To prevent microbial growth, sodium azide was added at a concentration of $0.0008 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$. After stirring, the pH of the dispersions was adjusted to 3.5 and 7.0 (using $1.0 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ or $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH or HCl). The emulsions were composed of 95% (w/w) PEPPS dispersion (continuous phase) and 5% (w/w) soybean oil (dispersed phase). The emulsification process was carried out in two steps. In summary, pre-emulsification was performed using an Ultra-Turrax (Ultra-Turrax T25, IKA-Werke GMBH & CO., Germany) at 25,000 rpm for 1 minute. Then, the emulsions were processed using an ultrasonic homogenizer (Viber Cell 750, Sonics, USA), operating at 20 kHz with a power of 500 W for 4 minutes. During the emulsification process, the beakers were kept in an ice bath to prevent overheating and were subsequently transferred to Falcon tubes (capacity = 15 mL).

2.7.3.2. Emulsifying activity index (EAI)

According to the methodology of Qi et al. (2024), 50 μL of each emulsion was collected 2 cm from the bottom of the beaker using a micropipette and diluted (1:400) in a 0.1% sodium dodecyl sulfate (SDS) solution. The absorbance of the samples was then measured at 500 nm in a UV Vis spectrophotometer using a plastic cuvette (with a path length of 1 cm). The EAI was calculated using Equation (6).

$$EAI \left(\frac{m^2}{g} \right) = \frac{2 \times 2.303 \times A_0 \times DF}{C \times \varphi \times 10000} \quad (6)$$

In Eq, 6, A_0 is the absorbance of the diluted emulsion after homogenization ($\text{m}^2\cdot\text{mol}^{-1}$); FD is the dilution factor (mL); C is the protein concentration in the aqueous phase before emulsion formation (% w/v); and φ is the oil fraction of the emulsion.

2.7.3.3. Macroscopic stability of emulsions

According to the methodology of Wang et al. (2024), 10 mL of each prepared emulsion were transferred to 15 mL Falcon tubes, which were stored vertically at 25 °C. The serum height (H_s) and the total height of the emulsion (H_t) were recorded over 20 days. Immediately after

preparation and on days 0, 5, 10, 15, and 20 after the emulsions were produced, the creaming index was calculated according to Equation (7).

$$CI(\%) = \frac{H_s}{H_t} \times 100\% \quad (7)$$

2.7.4. Gelling Properties

2.7.4.1. Minimum gelling concentration

According to the method described by Wang et al. (2023), PEPPS was dissolved in 3 mL of Milli-Q water to achieve PEPPS concentrations in water of 13.0, 14.0, 15.0, 16.0, and 17.0% (w/v), and then placed in screw-cap glass vials (capacity = 8.0 mL). The dispersions were then magnetically stirred for 24 hours. After stirring, the pH was adjusted to 3.5 and 7.0 (using NaOH or HCl at 1.0 mol.L⁻¹ or 0.1 mol.L⁻¹). The samples were heated to 95.0 °C in a thermostatic water bath for 15 minutes, immediately cooled, and then refrigerated at 4 °C for 24 hours to induce gelation. After this process, the glass vials were inverted to check the formation of a gel that did not slide on the internal walls of the vial.

2.7.4.2. Gel firmness

For the systems in which gelation occurred, gel firmness (g) was measured at room temperature using a texture analyzer (Stable Micro Systems, model TA-TX Plus, USA). The gel was prepared as described in the previous section, at a minimum gelation concentration of 16%, with dimensions of 35 mm in diameter and 30 mm in height. It was then compressed using a 5 mm stainless steel cylindrical probe (P/5), with a trigger force of 0.0098 N, a test speed of 0.5 mm·s⁻¹, and a penetration depth of 50% into the gel. The parameters analyzed were gel strength and firmness.

2.8. Statistical analysis

All analyses were performed in three repetitions and triplicates of each repetition. The data are expressed as means ± standard deviations. Statistical analysis was conducted using Minitab software. One-way analysis of variance (ANOVA), Tukey's test, and t-test (all at a 5% significance level), as well as linear regression and mean square residual (MSR), were used to evaluate significant differences between treatments.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Proximate composition of DPPSF and PEPPS

The defatted peach palm seed flour (DPPSF) exhibited a high carbohydrate content ($69.54 \pm 0.3\%$ w/w), with more than half consisting of dietary fiber ($35.8 \pm 2.6\%$ w/w), highlighting its potential as a functional ingredient for the food industry. The lipid content remaining after the first extraction ($15.41 \pm 0.4\%$ w/w) justified the need for a second extraction, which reduced this value to $7.6 \pm 0.9\%$ w/w. This step was essential to minimize lipophilic interference during the subsequent protein extraction process (Le et al., 2025).

The protein content of DPPSF was $11.75 \pm 0.9\%$ w/w. Moisture and ash contents were $9.1 \pm 0.3\%$ and $2.2 \pm 0.2\%$ w/w, respectively. Peach palm seed flour is rich in minerals such as potassium, phosphorus, magnesium, and calcium, making it a significant dietary source of these elements (Pineiro et al., 2022).

Following the isoelectric precipitation process, the resulting protein product, named PEPPS, showed marked changes in its composition, with a substantial increase in protein content to $53.4 \pm 0.93\%$ w/w. This result demonstrates the effectiveness of the applied method in enhancing protein concentration compared to the original matrix. A significant reduction in lipid content ($3.6 \pm 0.9\%$), total carbohydrates ($40.1 \pm 1.6\%$) including fiber ($17.4 \pm 1.2\%$), and ash ($1.1 \pm 0.1\%$) was observed, which can be attributed to the removal of non-protein compounds during the isoelectric precipitation step (Salcedo-Chávez et al., 2002). The low moisture content ($1.8 \pm 0.1\%$) ensures the stability of PEPPS during storage (Hedegaard and Skibsted, 2013).

3.2. Comparison of methods to obtain protein extracts from PEPPS

3.2.1. Average isoelectric point (pH_i)

The average isoelectric point (pH_i) of PEPPS proteins was determined to be pH 3.4, as illustrated in Figures 9A and 9B. This value, when compared to proteins from other Areceaceae family sources, such as those found in macaúba seeds (*Acrocomia aculeata*), with a pH_i of 4.9 (Lessa et al., 2022), and coconut milk (*Cocos nucifera*), with a pH_i of 3.9 (Kunarayakul et al., 2018), is notably lower. Both macauba seeds and coconut milk exhibit higher isoelectric points than that observed for PEPPS. To date, no additional studies have been found reporting the isoelectric point of proteins within the Areceaceae family.

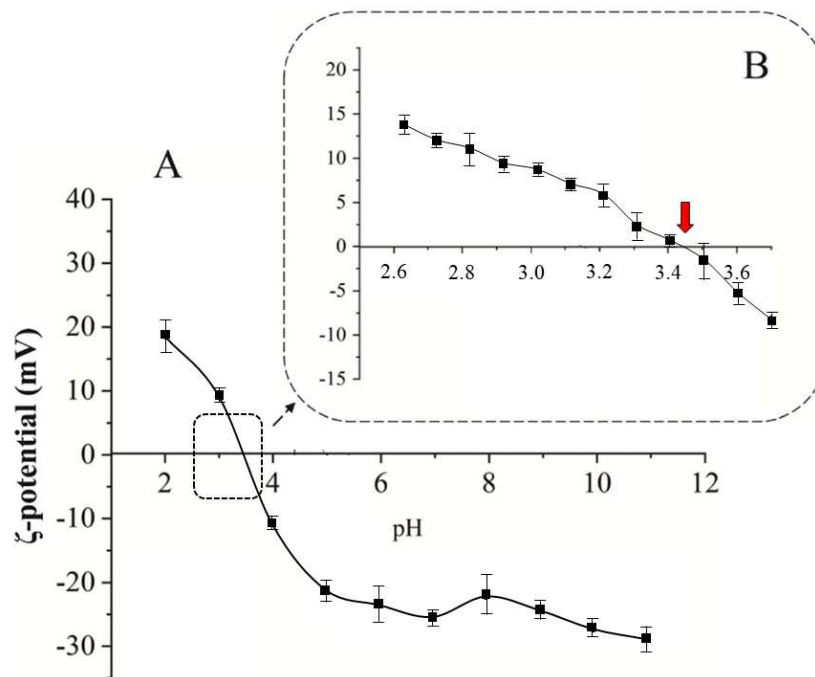


Figure 9 – A) Average ζ potential (mV) of PEPPS dispersed over a pH range of 2.0 to 11.0, in B) Magnified view of the pH range between 2.6 and 3.7 from Figure 9A, highlighting the point where the ζ potential was approximately zero (marked by the red dot), corresponding to the average isoelectric point of the protein extract. Source: Author’s own elaboration.

When proteins are dispersed in solutions or adsorbed at air/water or oil/water interfaces, and the medium’s pH approaches their isoelectric point, electrostatic repulsion between molecules is significantly reduced. This leads to lower dispersibility, favoring precipitation and promoting the aggregation of colloidal particles. In systems such as foams and emulsions, such aggregation can accelerate phase separation, thereby compromising kinetic stability—particularly when this stability depends on the interfacial properties of the proteins (Gentile, 2020; Zhang et al., 2020).

On the other hand, when a protein’s isoelectric point is below the pH of food application, as is the case with peach palm seed proteins, they tend to remain soluble, stable, and functionally active within the food matrix. This enhances their potential as nutritional and technological ingredients in a variety of products (Ma et al., 2022b).

3.2.2. Isoelectric precipitation, ultrasound-assisted extraction, and enzymatic extraction

Three protein extraction methods were tested using DPPSF: isoelectric precipitation, ultrasound-assisted extraction, and enzymatic extraction. These methods resulted in different protein concentrations and yields. Isoelectric precipitation yielded the best results, with a protein concentration of $53.4 \pm 0.7\%$ and a yield of $14.5 \pm 0.8\%$. When isoelectric precipitation was preceded by ultrasound treatment or carbohydrate hydrolysis, the results were similar to

each other but significantly lower. Ultrasound-assisted extraction resulted in a protein concentration of $34.8 \pm 0.4\%$ and a yield of $7.3 \pm 1.2\%$. Enzymatic extraction, on the other hand, yielded a protein concentration of $36.2 \pm 0.8\%$ and a yield of $9.6 \pm 0.7\%$.

To the best of our knowledge, this is the first study to systematically compare different extraction methods applied to peach palm seeds. It is surprising that prior treatments with ultrasound and carbohydrate hydrolysis significantly reduced both the protein concentration and yield obtained through isoelectric precipitation. However, some plausible hypotheses can explain this behavior. Ultrasound, which is typically used to disrupt cell walls and facilitate the release of intracellular components such as proteins, may have promoted the formation of protein–polysaccharide complexes or conjugates under the operational conditions of this study, due to the heat and shear generated in the medium (Zhang et al., 2013; Thirunavookarasu et al., 2022).

Enzymatic extraction, in turn, aimed to break down the carbohydrate-rich matrix—composed of structural polysaccharides such as cellulose, hemicellulose, and pectin—that encapsulates or entraps proteins. However, the hydrolysis products (oligosaccharides) may have interacted with proteins, favoring the formation of protein–carbohydrate complexes, which may have hindered protein recovery (Oliveira et al., 2014; Gentile, 2020; Babu et al., 2024).

These findings do not invalidate the potential of pretreatments with ultrasound or enzymes to improve protein extraction from peach palm seeds. It is important to note that this study was conducted under fixed operational conditions. Adjusting ultrasound parameters (frequency, power, exposure time) or enzymatic hydrolysis conditions (enzyme-to-substrate ratio, temperature, pH) could lead to improved outcomes, although this goes beyond the scope of the present work and is currently under investigation by our team.

From an industrial perspective, the results indicate that the simplest extraction strategy—i.e., isoelectric precipitation without pretreatments—resulted in the highest protein concentrations and yields, in addition to being more cost-effective. It is likely that even higher yields of PEPPS could be achieved at industrial scale by optimizing the process, such as by reducing the particle size of DPPSF through more efficient milling systems and employing more powerful agitation equipment (Antarlina et al., 2021; Sulaimana and Yudhistira, 2023; Badjona et al., 2024a).

Studies such as that of Reis and Netto (2006), which investigated the influence of extraction methods on the yield, protein profile, and solubility of amaranth protein concentrates, also highlight the significant impact of extraction pH and method. Extraction at pH 9.0 using

water resulted in a maximum protein recovery of 24%, higher than under other tested conditions. Although protein losses during isoelectric precipitation were notable, the method proved effective in obtaining protein concentrates with distinct profiles.

In summary, alkaline extraction via isoelectric precipitation—a relatively simple and easily scalable process—proved to be a promising approach for producing protein ingredients from defatted peach palm seed flour.

3.3. Physical and chemical characterization of PEPPS

3.3.1. Molar mass distribution (SDS-PAGE)

The molar mass distribution of the PEPPS proteins was analyzed by SDS-PAGE under reducing conditions. The electrophoretic profile (Fig. 10) revealed a variety of molar masses for the PEPPS proteins, distributed in five bands within the range of 10 to 51 kDa. The results showed: i) two smeared bands corresponding to small proteins with molar masses of approximately 10 kDa and 15 kDa; ii) one smeared and less intense band representing proteins with molar masses between 11 and 14 kDa; iii) another clear and diffuse band associated with proteins with molar masses between 16 and 20 kDa; iv) a broad and prominent band indicating the presence of proteins with molar masses in the range of 26 to 30 kDa; and v) a smeared and dispersed band corresponding to larger proteins with molar masses from 47 to 51 kDa. It remains unclear whether these bands – especially those mentioned in iv) and v) – correspond to specific protein monomeric units or to homo/heterooligomers formed by combinations of the proteins corresponding to bands i), ii), and iii) (Gruber et al., 2008; Lessa et al., 2022).

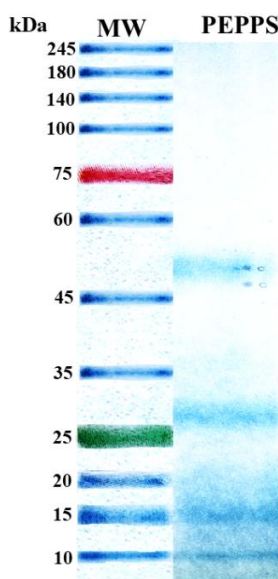


Figure 10 - SDS-PAGE pattern of PEPPS under reducing conditions. Source: Author's own elaboration.

The rather narrow range of molar masses may be associated with the presence of proteins with similar molecular masses. This appears to be the case for the most intense band (10–20 kDa), which likely represents proteins from the 7S globulin family but may also include the 11S globulin fraction, as well as the less intense bands at 47 and 51 kDa. Meanwhile, the bands between 26 and 28 kDa are attributed to 7S globulins. The bands at 17 and 30 kDa are associated with the 11S family, which consists of acidic and basic globulins (Thaiphanit and Anprung, 2016, Ma et al., 2022a, Meenmanee et al., 2022). The 2S proteins were composed of two polypeptides, one basic and one acidic, with molecular weights of 19 and 22 kDa, respectively (Akasha et al., 2016). The larger band may also include polypeptides linked by one or more disulfide bonds (Ma et al., 2022a).

The proteins found in palm fruits may share characteristics with 2S, 7S, and 11S proteins present in legume proteins, although few studies have detailed their protein composition. Among these proteins, 2S (albumins) are small and water-soluble, commonly identified in oilseeds such as oil palm (*Elaeis guineensis*), rich in cysteine and playing roles in plant defense. The 7S (vicilins) are intermediate globulins with properties similar to vicilins in legumes, and there is evidence of their presence in palm seeds such as oil palm (Morcillo et al., 1997). The 11S (legumins), on the other hand, are high molecular weight globulins associated with nitrogen storage and seed germination, as found in coconut (Garcia et al., 2005; Wu et al., 2025). Proteins with similar behavior to legumins have been identified in some species of the Arecaceae family (Barakat and Alfheaid, 2023). Detailed characterization of these proteins can expand knowledge about the nutritional and functional potential of palm fruits, contributing to their value in the food and biotechnology industries (Amorim et al., 2024).

3.3.2. Turbidity and dispersibility profile

The data regarding the dispersibility and turbidity profiles of PEPPS are presented in Figures 11A and 11B, respectively. The proteins exhibited lower dispersibility (BSA equivalent) within the pH range of 2.0 to 6.0, with the following values: $0.21 \pm 0.01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ at pH 2.0; $0.10 \pm 0.01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ at pH 3.0; $0.05 \pm 0.01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ at pH 4.0; $0.18 \pm 0.03 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ at pH 5.0; and $0.28 \pm 0.01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ at pH 6.0. At pH 7.0, dispersibility increased to $0.48 \pm 0.01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, reaching $0.60 \pm 0.03 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ at pH 8.0. The highest values were observed at pH 9.0 ($0.70 \pm 0.01 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), pH 10.0 ($0.78 \pm 0.03 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), and pH 11.0 ($0.99 \pm 0.04 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$).

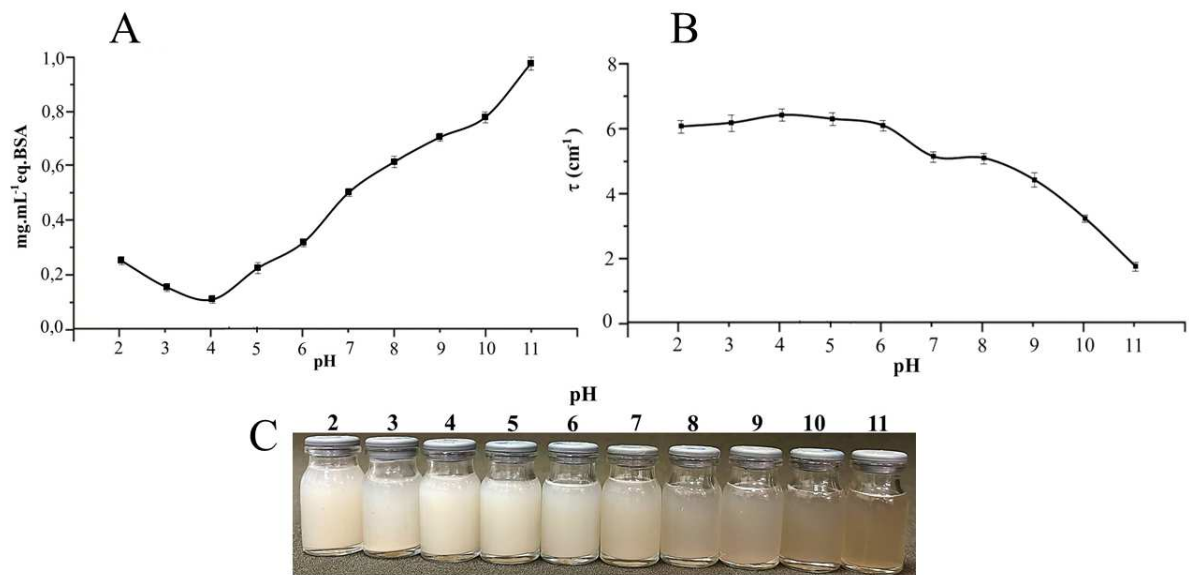


Figure 11 - (A) Dispersibility profile of PEPPS ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ BSA equivalent in the supernatant of centrifuged dispersions) from pH 2.0 to 11.0, in B) turbidity profile of PEPPS in an aqueous medium over the same pH range, and in C) visual appearance of 0.5% (w/v) PEPPS dispersions (25 ± 0.5 °C) from pH 2.0 to 11.0. Results are expressed as mean, and error bars indicate standard deviation ($n = 3$). Source: Author's own elaboration.

Turbidity, a physical and chemical parameter that is easy to measure and important for inferring the colloidal state of dispersed particles, showed an inverse trend compared to dispersibility. In the pH range where proteins were less dispersible (2.0 to 6.0), turbidity was higher. This phenomenon reflects the thermodynamic balance between protein–protein and protein–solvent interactions (Vélez-Eraza et al., 2022; Lavanya et al., 2024; Kong, 2024). In the region of lowest dispersibility, protein–protein interactions dominate over protein–solvent interactions, promoting the formation of protein aggregates.

These results align with the ζ -potential profile of PEPPS proteins (Figure 9A), which shows that as pH moves away from the average isoelectric point (pH_i), protein dispersibility increases while turbidity decreases (pH 7.0 to 11.0) (Figure 11C). A similar behavior was observed in macaúba kernel (*Acrocomia aculeata*) proteins, which showed lower dispersibility and higher turbidity in the pH range of 4.0 to 6.0 (Lessa et al., 2022).

Identifying the pH values or ranges in which proteins are more or less soluble is essential for the development of food products. Greater dispersibility tends to enhance both sensory attributes (such as appearance and texture) and the techno-functional performance of proteins (including foaming, emulsification, and gelation capacities) (Ma et al., 2023; Zheng et al., 2025).

Based on the dispersibility profile of PEPPS and its isoelectric point (pH_i), pH values of 3.5 and 7.0 were selected for further investigation in this study to explore the functional behavior of proteins under conditions near and far from the pH_i, both of which have technological relevance in food—and even cosmetic—formulations. pH 7.0 is particularly favorable as it promotes greater protein dispersibility and solubility due to increased protein surface charge, which enhances interactions with water, reduces aggregate formation, and improves techno-functional properties while contributing to colloidal stability (Zhang et al., 2024). In contrast, pH values below 3 are unsuitable for formulations, as they impair protein solubility and functionality, promote aggregation, affect texture and appearance, impart an excessively acidic taste, and may degrade sensitive ingredients (such as vitamins and flavorings), in addition to requiring corrosion-resistant materials, thereby increasing costs and complicating processing (Zhang et al., 2024).

3.3.3. Exposed hydrophobic surface (h₀ index) and free sulfhydryl (–SH) groups

The hydrophobicity of PEPPS proteins was significantly higher at pH 7.0 (828.8 ± 22.3), suggesting greater exposure of hydrophobic regions compared to pH 3.5 (133.8 ± 8.1) (Fig. 12A). Changes in pH or ionic strength can induce conformational alterations in proteins, leading to the exposure of hydrophobic regions to the surrounding environment (Luo et al., 2022).

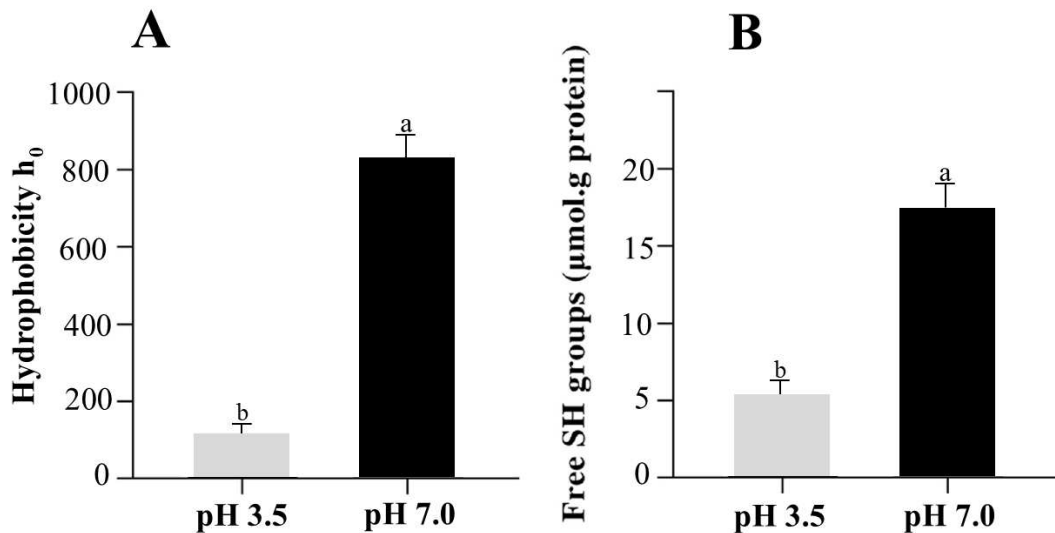


Figure 12 - A) hydrophobic surface (h₀ index), in B) Free sulfhydryl groups. Results are expressed as means, with error bars indicating the standard deviation (n = 3). A t-test was conducted with a significance level of 5%. Lowercase letters indicate comparisons between pH 3.5 and 7.0. Source: Author's own elaboration.

According to some studies, this difference can be explained as follows: at pH 7.0, the increased hydrophobicity is associated with greater solubility of the proteins in water, which

facilitates the binding of the ANS probe to hydrophobic regions. Similar findings have been reported in multiple studies (Luo et al., 2022; Yang et al., 2023; Shao et al., 2025).

Conversely, the lower hydrophobicity value observed at pH 3.5 may be related to the proteins' isoelectric point (pH_i). Near the pH_i , proteins carry a net charge close to zero, which favors aggregation and precipitation, reducing their dispersibility and enhancing intermolecular hydrophobic interactions. As the pH moves away from the pH_i , proteins acquire higher net charges (either positive or negative), increasing electrostatic repulsion, promoting structural unfolding, and exposing previously buried hydrophobic regions (Silva et al., 1997).

Protein hydrophobicity plays a key role in several techno-functional properties relevant to the food industry, including solubility, WHC, OHC, emulsification, foaming, and gelation (Hu et al., 2025). Therefore, pH manipulation emerges as an effective strategy to tailor protein functionality in food systems.

Moreover, hydrophobic interactions between proteins can contribute to the formation of firmer gels, directly influencing the texture of structured products such as cheeses and desserts. Another important aspect is the ability of these proteins to interact with lipidic and aromatic compounds, which can modulate the sensory profile of foods. This feature also affects moisture retention and the texture of products like processed meats and plant-based alternatives, playing a crucial role in determining the quality and stability of such foods (Hu et al., 2025).

Proteins with higher hydrophobicity tend to have lower water solubility but play a crucial role in stabilizing emulsions and foams, making them essential in products such as sauces, mousses, and fat substitutes. The increase in hydrophobicity may enable stronger hydrophobic interactions between proteins, which can contribute to the formation of firmer gels, thereby affecting the texture of structured products such as cheeses and desserts. Another relevant aspect is the ability of these proteins to interact with lipidic and aromatic compounds, modulating the sensory profile of foods. This characteristic also influences moisture retention and the texture of products such as processed meats and plant-based alternatives, making it a key factor in determining the quality and stability of these foods (Hu et al., 2025).

The contents of free sulfhydryl groups (-SH) in PEPPS at different pH values are shown in Fig. 12B. The content of -SH groups at pH 7.0 (17.53 ± 0.70) was nearly four times higher than that observed at pH 3.5 (5.62 ± 0.41). This difference can be attributed to two factors: (i) the disulfide bonds (-S-S-) present in the protein structure may be reduced to -SH under less acidic conditions, as the disulfide/thiol exchange is mechanically inhibited at lower pH (Gilbert, 1990), or (ii) structural modifications induced by changes in the protonation state of amino acid

side chains as the pH increases, which result in the exposure of -SH groups previously hidden on the protein surface (Tanford, 1968). A study by Jiang et al. (2009) showed that the content of free sulfhydryls in isolated soybean proteins increased at pH 10.0 compared to pH 3.5, reflecting greater unfolding of the structure and exposure of reactive residues.

As the pH increases, creating a more alkaline environment, the sulfhydryl groups become more reactive. The pKa of the -SH group is between 8 and 9, which means that at alkaline pH, it tends to deprotonate, forming thiolate ($-S^-$). Thiolate is more nucleophilic and, therefore, can more easily react with other -SH groups to form disulfide bonds (Bermejo-Velasco et al., 2019).

The increase in pH can significantly impact the reactivity of sulfhydryl groups (-SH). Under oxidative conditions, these groups can form disulfide bonds (-S-S-), which are essential for stabilizing the tertiary and quaternary structure of proteins, as well as promoting the formation of three-dimensional networks in protein gels. Regarding emulsifying capacity, an initial improvement may occur, as the formation of more open structures exposes hydrophobic regions useful at the oil/water interface. However, excessive disulfide bonding can reduce the protein's flexibility, compromising its efficiency as an emulsifier. The formation of disulfide bonds is crucial for creating firm and cohesive protein networks, promoting more stable gels with better water retention (Kelany et al., 2024; Zhang et al., 2024; Li et al., 2025).

3.4. Techno-functionality of PEPPS assessment

3.4.1. Water and oil holding capacities

As shown in Figure 13, PEPPS exhibits a significantly higher oil-holding capacity (OHC) ($239.66 \pm 0.14\%$) compared to its water-holding capacity (WHC) ($121.3 \pm 0.04\%$). This difference may be attributed to the exposure of a greater number of nonpolar groups on the protein surface, favoring interactions with oil. Additionally, the use of HCl and NaOH to adjust the pH during the isoelectric precipitation process may have increased the presence of ions in the medium (Na^+ , H^+ cations and Cl^- , OH^- anions), which help stabilize charges on the protein surface, consequently reducing WHC (Farshi et al., 2024). The presence of 1.1% ash in PEPPS composition may also have contributed to the introduction of ions such as Cu^+ , Cu^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Na^+ , and Zn^{2+} into the system (Gualberto, 2022).

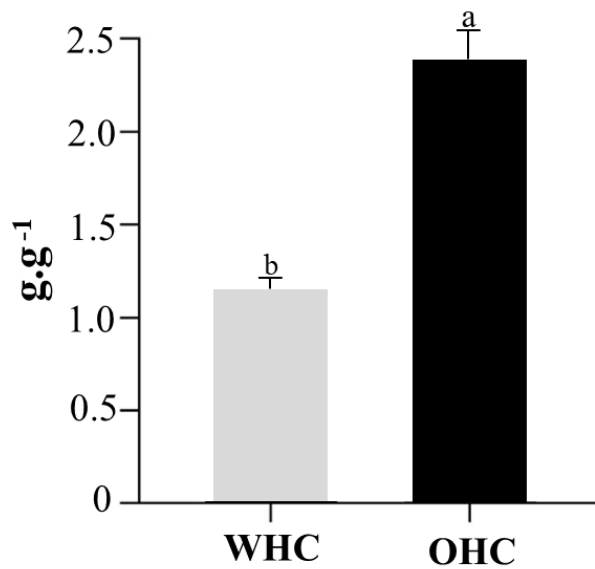


Figure 13 - Water-holding capacity (WHC) and oil-holding capacity (OHC) of PEPPS (pH 5.9, temperature of 25°C, and osmotic pressure) and the Y-axis represents the mass of water absorbed per gram of PEPPS. Results are expressed as means, with error bars indicating the standard deviation (n = 3). A t-test was conducted with a significance level of 5%. The letters represent the comparison of the effects of solvents on retention. Source: Author's own elaboration.

In Figure 12A, the H_0 value indicates greater hydrophobicity at pH 7.0 compared to pH 3.5. This suggests that hydrophobic chains are more exposed at neutral pH, promoting stronger interactions with oil molecules than with water molecules. Therefore, the greater the hydrophobicity, the higher the oil-holding capacity (OHC) and the lower the water-holding capacity (WHC) (Han et al., 2023). Moreover, the formation of polypeptide aggregates, as evidenced by SDS-PAGE (Figure 10), may have reduced the exposure of polar groups on the surface of peach palm seed proteins, thereby decreasing protein–water interactions.

WHC is essential for improving moisture retention, softness, and viscosity, making it a desirable attribute in various food matrices such as meat products and plant-based analogs, baked goods, desserts and protein gels, dairy and fermented products, as well as soups, sauces, and food pastes (Wi et al., 2020; Sarabandi et al., 2023; Farshi et al., 2024).

On the other hand, OHC contributes to reducing rancidity, as proteins bind strongly to the surface of oil droplets, forming a physical barrier that limits contact between oil and atmospheric oxygen. This helps reduce the formation of undesirable volatile compounds such as aldehydes and ketones (Noyola-Altamirano et al., 2022). Furthermore, OHC enhances the retention of flavoring agents by improving the retention of oils that carry volatile compounds, reducing their evaporation during processing (such as cooking) or storage, and enabling a

controlled release of aroma during consumption, which enhances sensory perception (Ruth et al., 2002).

OHC also plays a crucial role in emulsifying properties, as it is generally associated with increased exposure of nonpolar groups on the protein surface. These characteristics are essential for enhancing the sensory attributes and overall quality of various food matrices (Zheng and Li, 2018; Sarabandi et al., 2023; Farshi et al., 2024). Therefore, PEPPS shows great potential for application in a wide range of food formulations, depending on the desired product characteristics.

3.4.2. Foaming properties

The foaming capacity (FC) results of PEPPS showed significant differences between pH 3.5 ($102.2 \pm 3.85\%$) and pH 7.0 ($128.9 \pm 7.70\%$) (Fig. 14A). These data suggest that factors such as dispersibility, zeta potential (*modulus*), and hydrophobicity (H_0) of PEPPS may positively influence foam formation by enhancing protein diffusivity within this pH range. This leads to greater surface coverage at the air–water interface, highlighting the relevance of these physical and chemical characteristics to this techno-functional property (Tang et al., 2023a). From a functional perspective, PEPPS appears promising for formulations near neutral pH as well as those in acidic environments.

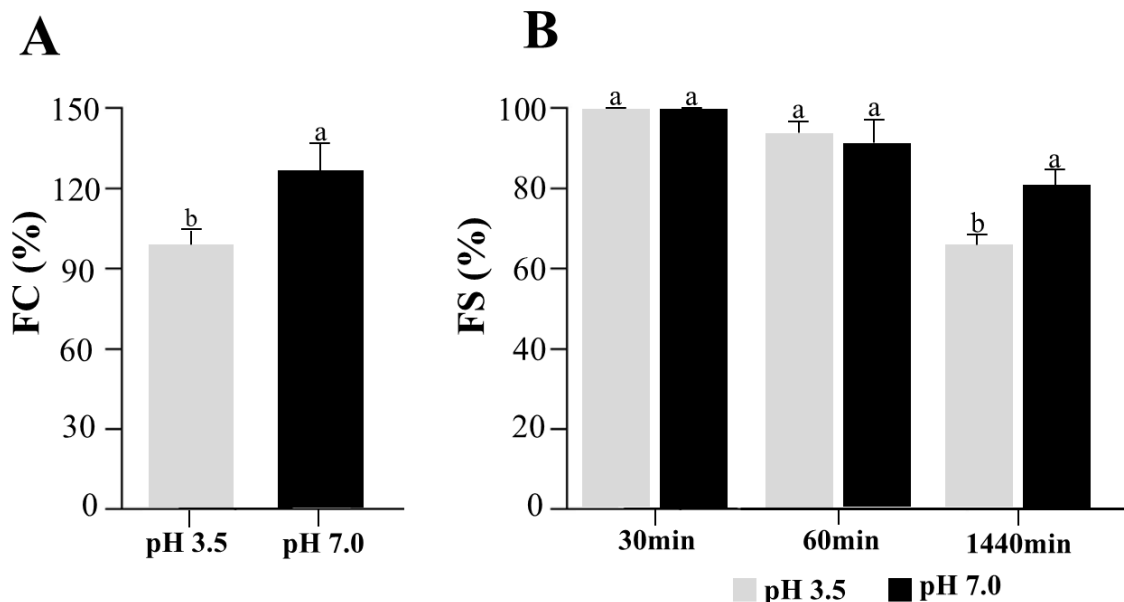


Figure 14 - A) Foaming capacity, and in B) Foam stability over time at 30 min, 60 min, and 1440 min. Results are expressed as means, with error bars indicating the standard deviation ($n = 3$). A t-test was conducted with a significance level of 5%. Lowercase letters indicate comparisons between pH 3.5 and 7.0. Source: Author's own elaboration.

Foam stability (FS) was also assessed over time. After 30 minutes, both pH levels (3.5 and 7.0) exhibited 100% stability. At 60 minutes, the values decreased to $94.4 \pm 1.43\%$ (pH 3.5) and $92.3 \pm 2.5\%$ (pH 7.0), with no statistically significant difference between the two treatments (Tukey, 5%). However, after 1440 minutes (24 hours), a significant difference was observed: FS at pH 3.5 was $67.8 \pm 1.36\%$, while at pH 7.0 its was $81.4 \pm 1.7\%$ (Fig. 14B).

These findings are in line with those reported by Li and Girard (2023), who investigated foam stability in proanthocyanidin–whey protein isolate complexes at pH 3.0 and 7.0. After 60 minutes, FS values were 16% at pH 3.0 and 65% at pH 7.0. According to the authors, pH levels further from the isoelectric point (pH_i) enhance intrachain electrostatic repulsion, which increases the flexibility of polypeptide chains. This facilitates stronger lateral interactions at the foam interface, resulting in a denser and more rigid layer that contributes to improved foam stability. This explanation supports the results of the present study, considering that the pH_i of PEPPS is 3.4 — which may explain the lower foam stability at pH levels close to this value.

The foaming properties of PEPPS are particularly noteworthy due to its high foam-forming capacity at both acidic and neutral pH values, along with kinetic stability of up to 24 hours. These features broaden its potential applications in various food matrices that require air incorporation and the retention of light structures, such as liquid products (beers, sparkling wines, carbonated soft drinks, coffee-based beverages), semi-solids (mousses, ice cream, whipped cream, aerated desserts), and solids (bread, cakes, aerated chocolate bars) (Campbell, 1999; Narsimhan and Xiang, 2018; Amagliani et al., 2021).

3.4.3. Emulsifying properties

As shown in Fig. 15, at pH 3.5, emulsions prepared with 0.25% PEPPS exhibited a higher emulsifying activity index (EAI) compared to those containing 0.75% PEPPS in the continuous phase ($427.7 \pm 23.2 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ and $199.0 \pm 12.9 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, respectively). At pH 7.0, this trend was maintained: the EAI was even higher in emulsions with 0.25% PEPPS ($737.2 \pm 13.0 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) and further reduced in those with 0.75% ($130.2 \pm 24.6 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$).

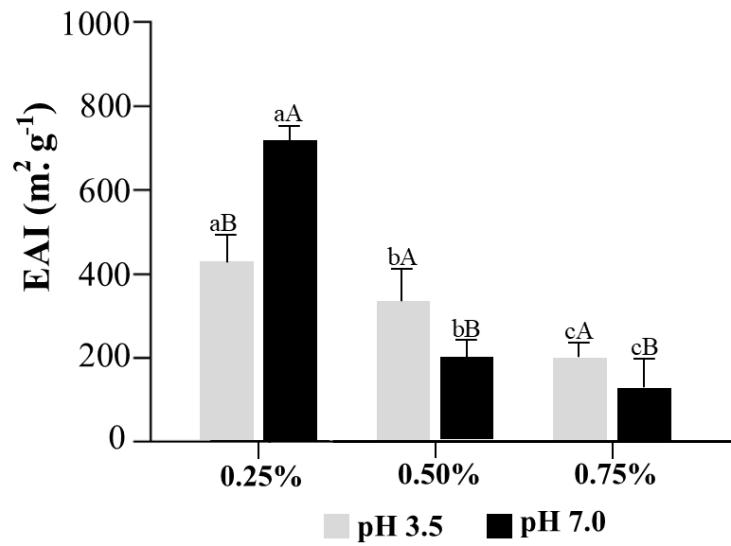


Figure 15 - EAI values are expressed as means, with error bars indicating standard deviation ($n = 3$). Lowercase letters indicate comparisons between treatment means at the same pH level using Tukey's test (5% probability). Source: Author's own elaboration.

These results can be explained by physical and chemical principles:

- i) Under the same pH condition, lower protein concentrations lead to greater average distances between molecules in the aqueous phase, resulting in weaker protein–protein interactions. This favors protein diffusivity and, consequently, their migration to the oil/water interface;
- ii) At a given concentration, the further the pH is from the isoelectric point, the stronger the repulsive electrostatic interactions between proteins adsorbed at the interface, which increases the average distance between them and reduces the number of molecules per unit interfacial area (Tang et al., 2023b; Zakki et al., 2024).

These findings are in line with previous studies on plant proteins, which also report increased EAI at lower concentrations due to improved interfacial diffusion and adsorption (Omura et al., 2021). However, despite the higher initial emulsifying activity observed at lower PEPPS concentrations, these emulsions showed greater instability over time (Fig. 16), indicating that EAI alone is not a good predictor of long-term stability.

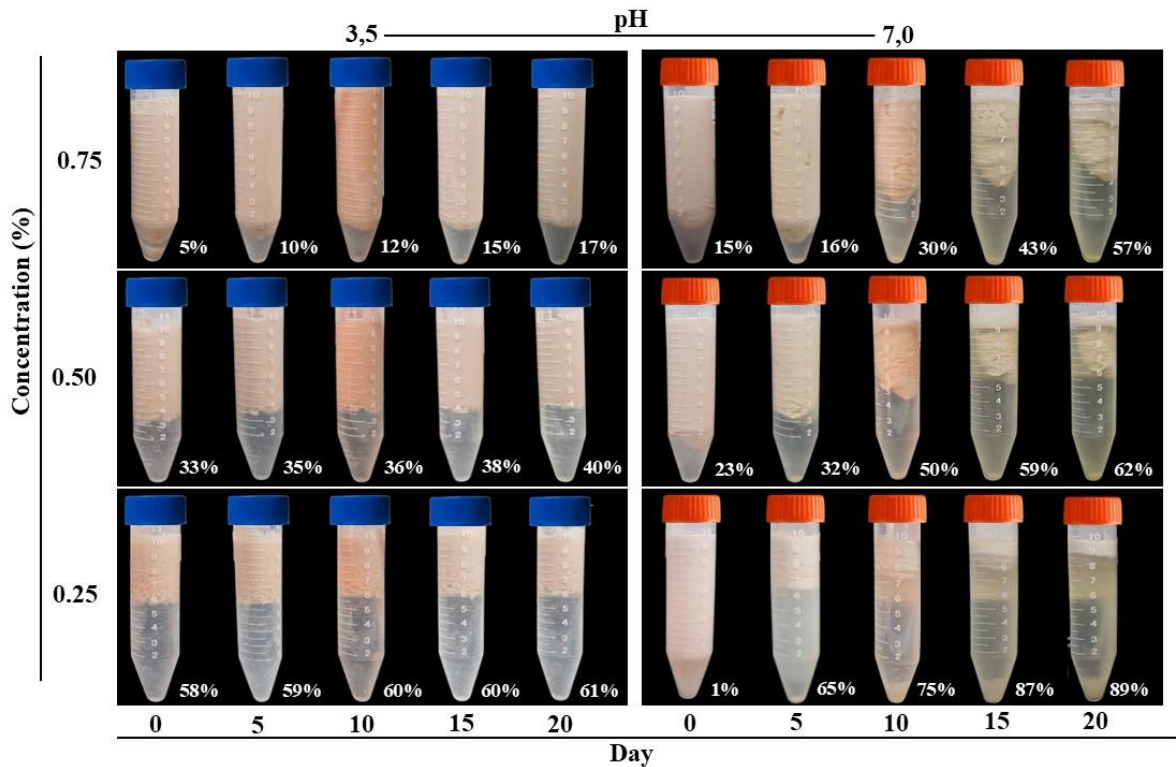


Figure 16 - Visual appearance of emulsions on days 0, 5, 10, 15, and 20 of storage, with creaming index values indicated alongside. Source: Author's own elaboration.

The extent of the creaming phenomenon in oil-in-water (O/W) emulsions, formulated with different concentrations of PEPPS and at various pH values, was assessed using the creaming index (CI%). This phenomenon results from the upward migration of oil droplets, as oil is less dense than the aqueous phase. Preceding flocculation and coalescence can intensify creaming, as increased droplet size promotes their rise.

The kinetic stability of emulsions was visually monitored for twenty days at room temperature ($25 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$), with the development of an upper phase being observed. Emulsions were photographed on days 0 (preparation day), 5, 10, 15, and 20, as shown in Fig. 16. A progressive increase in the creaming index was observed in all emulsions formulated with PEPPS dispersions, with the clear phase becoming more pronounced over time.

In most of the evaluated systems, a distinct separation line was identified, except for the emulsion at pH 3.5 with 0.75% PEPPS, which remained kinetically stable throughout the evaluation period. Interestingly, the opposite would be expected—that the emulsion would be less stable at the isoelectric point (pH_i). However, when an emulsion remains stable at this point and unstable at pH values far from it, especially at high concentrations of biomacromolecules, several mechanisms may explain such behavior: i) increased viscosity of the continuous phase, at higher concentrations, there is a greater amount of dispersed material (proteins,

polysaccharides, etc.) in the aqueous phase, increasing the medium's viscosity and hindering droplet movement, delaying flocculation, coalescence, and creaming. Even at the pH_i, this "physical barrier" may compensate for the lack of electrostatic repulsion. ii) formation of a three-dimensional network, at higher protein levels, structured aggregates or physical networks can form, even with low solubility. This network may "trap" oil droplets, preventing coalescence and acting as mechanical protection. iii) dense interfacial coverage, with more protein available to adsorb at the oil/water interface, a thick and possibly irreversible interfacial layer is formed, providing resistance to coalescence, even without electrostatic repulsion. iv) presence of soluble carbohydrates (such as fibers or neutral/acidic polysaccharides), these components can contribute to stabilization both by increasing viscosity and by interacting with proteins at the interface, forming stabilizing complexes (Franco et al., 2000; Comas et al., 2006; Rangsansarid and Fukada, 2007).

In the other emulsions, formulated with 0.25% and 0.50% PEPPS at pH 3.5 and 7.0, and with 0.75% at pH 7.0, creaming was observed from day 0, right after preparation. Considering the composition of PEPPS (53% protein, 40.1% total carbohydrates, and 1.1% ash) and its physical and chemical properties, other hypotheses can be raised: i) depletion flocculation, the presence of neutral and carboxylated polysaccharides, more soluble at higher pHs, may induce depletion and flocculation—an osmotic attraction capable of overcoming the electrostatic repulsion between protein-covered droplets (Rangsansarid and Fukada, 2007). ii) electrostatic shielding, ions present in the solution (such as Na⁺, Cl⁻, or Mn²⁺) can reduce or neutralize the electric charges around protein or lipid droplets. This neutralization diminishes repulsive forces, facilitating droplet approach and potentially aggregation (Jukkola et al., 2019).

Finally, it is worth noting that the kinetic stability results did not show a direct correlation with EAI values, which is not surprising since EAI only reflects the emulsifying capacity at the initial time ($t = 0$), without providing information on the temporal evolution of these colloidal structures. Therefore, under the evaluated conditions, the performance of PEPPS in emulsion formation and stability did not prove promising for applications in food matrices that require stable emulsifying functionality.

3.4.4. Gelling Properties

The minimum concentration required for gel formation by PEPPS was 16% at pH 7.0, resulting in a firm protein gel that remained physically stable at the bottom of the containers and did not flow even when the containers were inverted (Fig. 17). This value is consistent with those reported for other well-studied plant proteins, such as pea (17.0%) (Moreno et al., 2020), fava bean (15%) (Langton et al., 2020), and coconut (9%) (Wang et al., 2023). This similarity suggests that PEPPS exhibits an intermediate gelling capacity within the spectrum of plant proteins, showing competitive potential for food applications requiring gel formation.

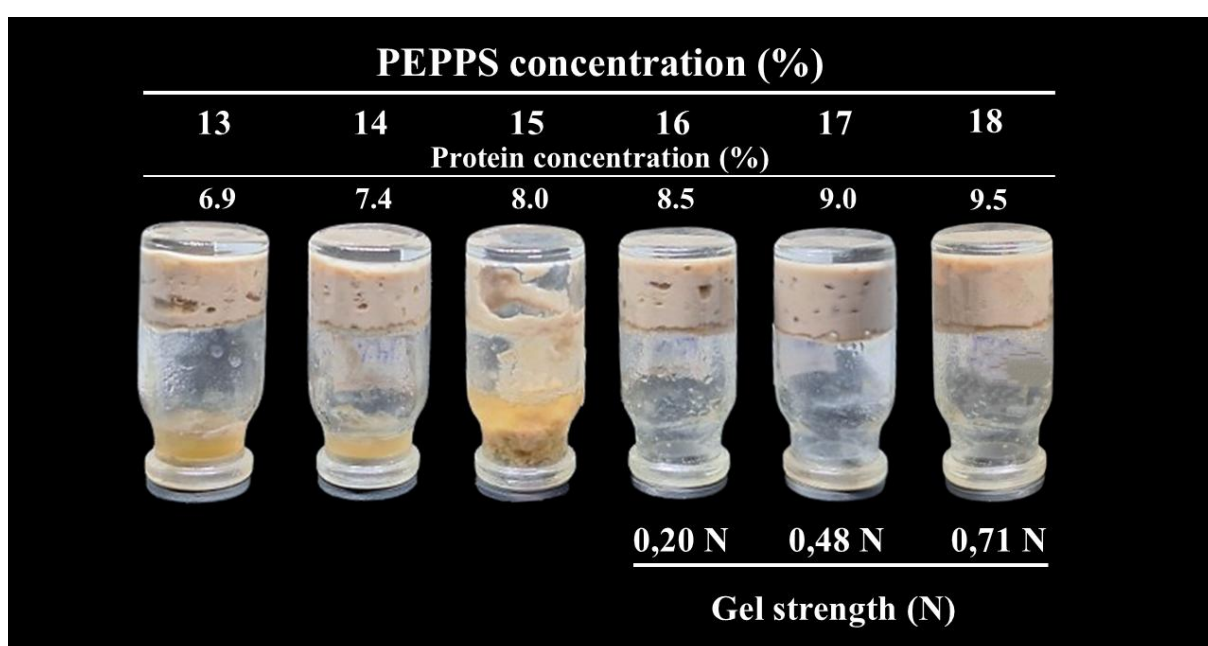


Figure 17 - Minimum gelation concentration and gel strength for PEPPS in pH 7.0. Source: Author's own elaboration.

Nonetheless, the performance of plant proteins can be hindered by the presence of fibers and other non-protein components, which impair the formation of structured and cohesive networks. Even so, considering that many plant extracts require concentrations above 18–20% to form consistent gels, the performance of PEPPS is promising. Technological strategies such as the incorporation of structuring polysaccharides, thermal treatments, and pH adjustments may be adopted to reduce the minimum gelling concentration and optimize the mechanical properties of gels formed with PEPPS.

Plant proteins still present limitations, such as low solubility, which reduces the number of molecules available for the essential interactions required to form a stable three-dimensional network. This leads to fragile gels with lower cohesion and reduced water-holding capacity.

Additionally, protein aggregation may result in irregular structures, negatively affecting the texture and functionality of the final product (Oliete et al., 2018).

In the case of PEPPS, gel formation was observed only at pH 7.0, while no gel was formed at pH 3.5. This behavior may be related to hydrophobicity and the presence of free sulfhydryl groups. During heating, proteins denature and expose hydrophobic regions, which tend to interact with each other to minimize water contact, promoting the formation of a dense and cohesive three-dimensional network with higher water retention capacity. These hydrophobic interactions act synergistically with disulfide and hydrogen bonds, playing a crucial role in the rigidity and elasticity of the gel (Han et al., 2023).

Regarding free sulfhydryl groups, during heating, they may oxidize and form disulfide bonds—covalent linkages between cysteine residues—that stabilize the three-dimensional protein network. The greater the controlled formation of these bonds, the more cohesive and resistant the gel becomes. These bonds act as "anchoring points" between denatured proteins, preventing deformation and collapse of the matrix. In addition to mechanical resistance, disulfide bonds may confer greater elasticity, a desirable characteristic in products such as gelled desserts, cheeses, and meat analogues. It is worth noting that the formation and reactivity of free sulfhydryl groups also depend on alkaline pH, which favors —SH ionization. The presence of reducing/oxidizing agents that can promote or inhibit disulfide bond formation, and temperature, which is essential to expose hidden —SH groups inside native proteins, also play key roles (He et al., 2023; Liao et al., 2024).

Heat-induced protein gelation is a multiphase process. When the temperature rises above the protein's denaturation point, molecular unfolding occurs, followed by exposure of reactive residues, aggregation, and protein network formation. This progressively developing three-dimensional network retains water and solutes present in the protein dispersion. During cooling, the strengthening of hydrogen bonds between denatured and aggregated protein molecules significantly contributes to structuring the semi-solid system, directly influencing the mechanical properties of the gel (Cao and Mezzenga, 2020; Ahmad et al., 2024).

Gel formation at lower protein concentrations indicates a higher gelling capacity of a given concentrate, which is why this parameter is widely used to compare the functionality of different food proteins or variations of the same protein under different medium or processing conditions (Lerch et al., 2024; Oliveira et al., 2024).

In the present study, gel strength increased progressively with PEPPS concentration, ranging from 0.20 ± 0.01 N ($16 \pm 0.1\%$) to 0.48 ± 0.03 N ($17 \pm 0.13\%$), reaching 0.71 ± 0.01 N

($18 \pm 0.2\%$) (Fig. 17). Nevertheless, the gel is still classified as weak, showing low cohesion and mechanical resistance. Visually, it is characterized by a soft texture, high deformability, elevated water retention, and moderate structural stability. Notably, even after 21 days of storage at 4 °C, the gel remained self-supporting, indicating a certain level of stability over time.

Regarding gel strength values, similar results were reported by Brühan et al. (2024), who investigated the application of plant proteins in whey systems for gel formation. Their findings indicated that the combination of soy protein with whey resulted in gels with a strength of 0.9 N at pH 6.5 and 0.2 N at pH 5. It is important to highlight that the high fiber content present in some plant proteins can partially entrap them within cellular matrices, reducing their availability for gel-forming interactions. On the other hand, high-purity proteins minimize fiber content, reduce water competition, and favor the formation of more organized and stronger protein networks (Badjona et al., 2024b).

4. CONCLUSION

The characterization of peach palm seed provided both quantitative and qualitative data relevant to the scientific community. Regarding its composition, the protein content obtained exceeded values reported in previous studies, highlighting the nutritional potential of this raw material.

In terms of extraction, isoelectric precipitation showed the best performance for protein recovery. This finding underscores the importance of selecting an appropriate extraction method, a decisive factor in maximizing protein yield and ensuring the industrial viability of new plant-based ingredients.

From a physical and chemical perspective, the isoelectric point identified at a pH below the ideal range for food applications (4.5 to 7.0) suggests good potential for the use of peach palm proteins in the food industry. The farther a protein is from its isoelectric point, the greater its dispersibility tends to be, which enhances solubility and, consequently, its technofunctional properties.

The technofunctional properties of peach palm seed also stand out due to its high oil retention capacity compared to water, which may help reduce rancidity in food matrices and increase the binding of flavor compounds and vitamins. Furthermore, its favorable foaming capacity and foam stability reinforce its potential in aerated formulations. Its ability to form

gels at a minimum concentration of 16% also meets the demand for natural structuring agents, especially as alternatives to synthetic or animal-derived hydrocolloids.

Thus, the results indicate that PEPPS exhibits promising physical, chemical, and technofunctional properties for application in various food systems. The use of underutilized protein sources, such as peach palm seed, contributes not only to innovation in the food sector but also to promoting a more sustainable production chain.

5. REFERENCES

- Ahmad, M. I., Farooq, S., Ali, U., Ullah, S., Li, C., Zhang, H. (2024). Molecular phenomena associated with the formation of fibrous structure of plant-based meat analogues. *Trends in Food Science & Technology*, 104743–104743. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104743>
- Akasha, I., Campbell, L., Lonchamp, J., Euston, S. R. (2016). The major proteins of the seed of the fruit of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.): Characterisation and emulsifying properties. *Food Chemistry*, 197, 799–806. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.046>
- Amagliani, L., Silva, J. V. C., Saffon, M., Dombrowski, J. (2021). On the foaming properties of plant proteins: Current status and future opportunities. *Trends in Food Science & Technology*, 118, 261–272. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.10.001>
- Amorim, I. S., Amorim, D. S., Godoy, H. T., Mariutti, L. R. B., Chisté, R. C., da Silva Pena, R., Bogusz Junior, S., Chim, J. F. (2024). Amazonian palm tree fruits: From nutritional value to diversity of new food products. *Heliyon*, 10(2), e24054. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e24054>
- Antarlina, S. S., Estiasih, T., Zubaidah, E., Harijono. (2021). The physicochemical properties of white sorghum (*Sorghum bicolor* L.) flour in various particle sizes by soaking the seeds before and after dehulling. *Food Research*, 5(3). [https://doi.org/10.26656/fr.2017.5\(3\).541](https://doi.org/10.26656/fr.2017.5(3).541)
- AOAC International. (1990). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Association of official analytical chemists. 15th ed. ISBN 0-935584-42-0.
- Araújo, N. M. P., Arruda, H. S., Marques, D. R. P., De Oliveira, W. Q., Pereira, G. A., Pastore, G. M. (2021). Functional and nutritional properties of selected Amazon fruits: A review. *Food Research International*, 147, 110520. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110520>
- Babu, A., Shams, R., Dash, K. K., Shaikh, A. M., Kovács, B. (2024). Protein-Polysaccharide Complexes and Conjugates: Structural Modifications and Interactions Under Diverse Treatments. *Journal of Agriculture and Food Research*, 101510–101510. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101510>
- Badjona, A., Bradshaw, R., Millman, C., Howarth, M., Dubey, B. (2024a). Response surface methodology guided approach for optimization of protein isolate from Faba bean. Part 1/2. *Ultrasonics Sonochemistry*, 109, 107012–107012. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.107012>
- Badjona, A., Cheron, B., Bradshaw, R., Dubey, B. (2024b). Gelation and rheological properties of ultrasound-extracted faba bean protein: A comparative study with commercial plant proteins. *Food Hydrocolloids*, 162, 110997. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110997>

- Barakat, H., Alfheaid, H. A. (2023). Date Palm Fruit (*Phoenix dactylifera*) and Its Promising Potential in Developing Functional Energy Bars: Review of Chemical, Nutritional, Functional, and Sensory Attributes. *Nutrients*, 15(9), 2134–2134. <https://doi.org/10.3390/nu15092134>
- Bermejo-Velasco, D., Azémar, A., Oommen, O. P., Hilborn, J., Varghese, O. P. (2019). Modulating Thiol pKa Promotes Disulfide Formation at Physiological pH: An Elegant Strategy To Design Disulfide Cross-Linked Hyaluronic Acid Hydrogels. *Biomacromolecules*, 20(3), 1412–1420. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.8b01830>
- Bi, C., Aoxue Qie, Wang, X., Zhou, T., Chi, S., Liu, Y., Tian, B. (2024). Effects of the addition of edible polysaccharides on the properties of soybean protein isolate gels. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 17(3), 241–248. <https://doi.org/10.25165/j.ijabe.20241703.8030>
- Boye, J. I., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, S., Mondor, M., Farnworth, E., and Rajamohamed, S. H. (2010). Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *Food Research International*, 43(2), 537–546. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.021>
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of protein-dye Binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1-2), 248–254.
- Brühan, J., Gleisenberg, S., Drusch, S. (2024). Impact of process conditions and type of plant protein on aggregate formation with whey protein and resulting ricotta-like gel texture. *LWT*, 117144–117144. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.117144>
- Campbell, G. (1999). Creation and characterisation of aerated food products. *Trends in Food Science & Technology*, 10(9), 283–296. [https://doi.org/10.1016/s0924-2244\(00\)00008-x](https://doi.org/10.1016/s0924-2244(00)00008-x)
- Cao, Y., Mezzenga, R. (2020). Design principles of food gels. *Nature Food*, 1(2), 106–118. <https://doi.org/10.1038/s43016-019-0009-x>
- Chen, J., Cui, Y., Zhang, S., Ma, Y., Yang, F. (2023). Compound treatment of thiolated citrus high-methoxyl pectin and sodium phosphate dibasic anhydrous improved gluten network structure. *Food Chemistry*, 404, 134770. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134770>
- Comas, D. I., Wagner, J. R., Tomás, M. C. (2006). Creaming stability of oil in water (O/W) emulsions: Influence of pH on soybean protein–lecithin interaction. *Food Hydrocolloids*, 20(7), 990–996. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2005.11.006>
- Domene, S. M. A., Agostini, K., Almeida, G. N. P., Camargo, R. G. M., Carvalho, A. M., Corrêa, F. E., Delbem, A. C. B., Domingos, S. S., Drucker, D. P., Marchioni, D. M. L., Martins, I. P., Montedo, U. B., Ribeiro, E. M. S., Santiago, R. A. C., Silva, R. F., Soares, F. M., Steluti, J., Saraiva, A. M. (2023). Segurança alimentar: reflexões sobre um problema complexo. *Estudos Avançados*, 37(109), 181–206. <https://doi.org/10.1590/s0103-4014.2023.37109.012>
- Espinosa-Ramírez, J., Serna-Saldívar, S. O. (2016). Functionality and characterization of kafirin-rich protein extracts from different whole and decorticated sorghum genotypes. *Journal of Cereal Science*, 70, 57–65. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2016.05.023>
- Farshi, P., Mirmohammadali, S. N., Rajpurohit, B., Smith, J. S., Li, Y. (2023). Pea protein and starch: Functional properties and applications in edible films. *Journal of Agriculture and Food Research*, 100927. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100927>

Flores, W. B. C., Silva, W. D. P., Santos, J. G., Alfaia, S. S. A Cultura Da Pupunha: Cultivo E Beneficiamento. Manaus. Editora INPA, 2019. Ed.; 1ª, p. 16. Disponível em: <https://repositorio.inpa.gov.br/bitstream/1/16239/1/Cultura-da-pupunha.pdf>. Acesso: 29 de outubro de 2023.

Franco, J. M., Partal, P., Ruiz-M rquez, D., Conde, B., Gallegos, C. (2000). Influence of pH and protei thermal treatment on the rheology of pea protein-stabilized oil-in-water emulsions. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(9), 975–984. <https://doi.org/10.1007/s11746-000-0154-x>

Garcia, R. N., Arocena, R. V., Laurena, A. C., Tecson-Mendoza, E. M. (2005). 11S and 7S Globulins of Coconut (*Cocos nucifera* L.): Purification and Characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(5), 1734–1739. <https://doi.org/10.1021/jf0402173>

Gentile, L. (2020). Protein–polysaccharide interactions and aggregates in food formulations. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 48, 18–27. <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2020.03.002>

Gilbert, H. F. (1990). Molecular and cellular aspects of thiol-disulfide exchange. *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, 63, 69–172. <https://doi.org/10.1002/9780470123096.ch2>

Ghosh K., A., Bandyopadhyay, P. (2012). Polysaccharide-Protein Interactions and Their Relevance in Food Colloids. *The Complex World of Polysaccharides*. <https://doi.org/10.5772/50561>

Gonçalves, H., Eliane, K., Geralda, M., Conceição, S. (2023). O paradigma do consumo de proteína animal e o risco para a segurança alimentar. *Formação (Online)*, 30(57), 347–367. <https://doi.org/10.33081/formacao.v30i57.8216>

Gruber, C. W., Čemažar, M., Mechler, A., Martin, L. L., Craik, D. J. (2008). Biochemical and biophysical characterization of a novel plant protein disulfide isomerase. *Peptide Science*, 92(1), 35–43. <https://doi.org/10.1002/bip.21113>

Gualberto, L. S. (2022). Obtenção e caracterização dos óleos obtidos dos frutos Tucumã (*astrocaryum vulgare*), Pupunha (*Bactris gasipaes*) e Bacupari (*Garcinia gardneriana*). 2022. 61f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal do Tocantins, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Palmas, 2022.

Guo, J., Wu, Y., Sun, S., Zhu, Q., Du, J., Gu, J., Yang, S., Jiang, J. (2025). Effect of different extraction methods on physicochemical, functional and antioxidant properties of bamboo shoot protein. *LWT*, 117328–117328. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117328>

Han, C., Yang, X., Li, L. (2023). Physicochemical properties and microstructure of soybean protein isolate-vegetable oil complex gels induced by lactic acid bacteria: Effects of vegetable oil types and concentrations. *Food Hydrocolloids*, 145, 109109. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109109>

He, M., Zhang, M., Gao, T., Chen, L., Liu, Y., Huang, Y., Teng, F., Li, Y. (2023). Assembly of soy protein-corn starch composite gels by thermal induction: Structure, and properties. *Food Chemistry*, 434, 137433–137433. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137433>

Hedegaard, R. V., Skibsted, L. H. (2013). Shelf-life of food powders. *Handbook of Food Powders*, 409–434. <https://doi.org/10.1533/9780857098672.2.409>

Hewage, A., Olatunde, O. O., Nimalaratne, C., Malalgoda, M., Aluko, R. E., Bandara, N. (2022). Novel Extraction technologies for developing plant protein ingredients with improved functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 129, 492–511. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.10.016>

Hu, Y., Cheng, L., Yang, Z. (2025). Impact of various physical treatments on physicochemical and microstructural characteristics of vegetable oil-based whipped cream stabilised by faba bean protein isolate. *Food Hydrocolloids*, 163, 111084. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2025.111084>

Instituto Adolfo Lutz (2008) Analytical Standards of the Adolfo Lutz Institute: Physicochemical Methods for Food Analysis. IAL, Sao Paulo.

Jaramillo-Vivanco, T., Balslev, H., Montúfar, R., Cámara, R. M., Giampieri, F., Battino, M., Cámara, M., Alvarez-Suarez, J. M. (2022). Three Amazonian palms as underestimated and little-known sources of nutrients, bioactive compounds and edible insects. *Food Chemistry*, 372, 131273. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131273>

Jeong, H., Kim, H., Lee, J., Jo, Y., Choi, M., Ko, E. Y. (2022). Physico-Chemical Properties and Storage Stability of an Emulsion as a Fat Replacer in Meat Analogs during the Freezing Storage. *Foods*, 11(24), 3977–3977. <https://doi.org/10.3390/foods11243977>

Jiang, J., Chen, J., Xiong, Y. L. (2009). Structural and Emulsifying Properties of Soy Protein Isolate Subjected to Acid and Alkaline pH-Shifting Processes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(16), 7576–7583. <https://doi.org/10.1021/jf901585n>

Jukkola, A., Partanen, R., Xiang, W., Heino, A., Rojas, O. J. (2019). Food emulsifiers based on milk fat globule membranes and their interactions with calcium and casein phosphoproteins. *Food Hydrocolloids*, 94, 30–37. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.03.005>

Kelany, M. A., Rashwan, A. K., Kabil, D. I., Abdelshafy, A. M., Osman, A. I., El-Seedi, H. R., Oktay Yemis. (2024). Effect of high-pressure homogenization optimized by response surface methodology on the techno-functional properties of protein concentrate isolated from date seed. *Industrial Crops and Products*, 222, 119481–119481. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2024.119481>

Kong, H. (2024). Biochemical, Techno-Functional and Sensory Properties of Food Prepared with Algae. https://doi.org/10.1007/978-981-97-2371-3_24

Kunarayakul, S., Thaiphantit, S., Anprung, P., Suppavorasatit, I. (2018). Optimization of coconut protein deamidation using protein-glutaminase and its effect on solubility, emulsification, and foaming properties of the proteins. *Food Hydrocolloids*, 79, 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.12.031>

Kyriakopoulou, K., Dekkers, B., Van Der Goot, A. J. (2019). Plant-Based Meat Analogs. *Sustainable Meat Production and Processing*, 103–126. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814874-7.00006-7>

Ladjal-Ettoumi, Y., Boudries, H., Chibane, M., Romero, A. (2015). Pea, Chickpea and Lentil Protein Isolates: Physicochemical Characterization and Emulsifying Properties. *Food Biophysics*, 11(1), 43–51. <https://doi.org/10.1007/s11483-015-9411-6>

Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>

Langton, M., Ehsanzamir, S., Karkehabadi, S., Feng, X., Johansson, M., Johansson, D. P. (2020). Gelation of faba bean proteins - Effect of extraction method, pH and NaCl. *Food Hydrocolloids*, 103, 105622. [sciencedirect. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105622](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105622)

- Lavanya, M., Namasivayam S. K. R., John, A. (2024). Developmental Formulation Principles of Food Preservatives by Nanoencapsulation—Fundamentals, Application, and Challenges. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(10), 7503–7533. <https://doi.org/10.1007/s12010-024-04943-1>
- Le, T. P. L., Samarathunga, J., Gabard, M., Strazdins, K., Rens, J., Adhikari, B. (2025). Comparison of extraction methods to obtain high-purity protein concentrate from green *microalgae Nannochloropsis oceanica*. *Sustainable Food Technology*. <https://doi.org/10.1039/d4fb00387j>
- Lee, J., Kim, H., Song, H.-J., Seo, K., Lee, H.-G., Choi, M. (2023). Physicochemical and sensory properties of plant-based meat patties using oil-in-water emulsion. *Food Bioscience*, 56, 103084–103084. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.103084>
- Lerch, N. L., Vahedifar, A., Weiss, J., Wu, J. (2024). Cold gelation of canola protein isolate and canola protein hydrolysates. *Food Hydrocolloids*, 109840–109840. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109840>
- Lessa, V. L., Omura, M. H., Pacheco, S., Oliveira, E. B., Barros, F. A. R. (2022). Obtention and evaluation of physico-chemical and techno-functional properties of macauba (*Acrocomia aculeata*) kernel protein isolate. *Food Research International*, 161, 111848–111848. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111848>
- Li, C., McClements, D. J., Dai, T., Deng, L., Feng, Z., Li, T., Liu, C., Chen, J. (2023). Enhancing the dispersibility of commercial pea protein ingredients using stirred media milling: Potential mechanisms of action. *Food Hydrocolloids*, 145, 109130. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109130>
- Li, N., Girard, A. L. (2023). Impact of pH and temperature on whey protein-proanthocyanidin interactions and foaming properties. *Food Hydrocolloids*, 134, 108100. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108100>
- Li, Y., Liu, X., Zhang, J., Yang, Z., Zhou, C., Wu, P., Li, C., Xu, X., Tang, C., Zhou, G., Liu, Y. (2025). Textured vegetable protein as a partial replacement for lean meat in salami analogues: Perspectives on physicochemical properties, flavour and proteome changes. *Food Chemistry*, 463, 140844. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140844>
- Liao, X., Xu, J., Sixu Lv, Zhu, S., Wang, W., Zhou, Y., Liu, Y., Sui, X., Xiao, Y. (2024). Theanine improves the gelation of soy protein isolate by modifying protein conformation and enhancing molecular interaction. *Food Hydrocolloids*, 154, 110109–110109. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110109>
- Liu, D., Esbroeck, T. V., Janssen, A. E. M., Scholten, E., Smeets, P. A. M., Stieger, M. (2024). Influence of structural properties of textured vegetable proteins on in vitro gastric digestion kinetics of plant-based meat analogue patties. *Food Hydrocolloids*, 111011–111011. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.111011>
- Luo, L., Wang, Z., Deng, Y., Wei, Z., Zhang, Y., Tang, X., Liu, G., Zhou, P., Zhao, Z., Zhang, M., Li, P. (2022). High-pressure homogenization: A potential technique for transforming insoluble pea protein isolates into soluble aggregates. *Food Chemistry*, 397, 133684. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133684>
- Ma, C., Wan, Q., Song, J., Hao, T., Xia, S., Shen, S., Li, K., Xue, C., Jiang, X. (2023). Ultrasound-assisted pH shift-induced interfacial remodeling for enhancing soluble yeast protein content: Effects on structure and interfacial properties of proteins under different treatment conditions. *Food Hydrocolloids*, 149, 109521–109521. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109521>

- Ma, J., Chen, H., Chen, W., Wu, J., Li, Z., Zhang, M., Zhong, Q., Chen, W. (2022a). Effects of heat treatment and pH on the physicochemical and emulsifying properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) globulins. *Food Chemistry*, 388, 133031–133031. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133031>
- Ma, K. K., Greis, M., Lu, J., Nolden, A. A., McClements, D. J., Kinchla, A. J. (2022b). Functional Performance of Plant Proteins. *Foods*, 11(4), 594. <https://doi.org/10.3390/foods11040594>
- Mæhre, H. K., Dalheim, L., Edvinsen, G. K., Elvevoll, E. O., Jensen, I.-J. (2018). Protein Determination—Method Matters. *Foods*, 7(1), 5. <https://doi.org/10.3390/foods7010005>
- Marchwicka, M. (2021). Influence of pH and Cellic® CTec2 enzymes dose on the glucose yield after enzymatic hydrolysis of cellulose at 50 °C. *Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW. Forestry and Wood Technology*, n. 114, p. 53–58.
- Martínez-Girón, J., Osorio, C., Ordoñez-Santos, L. E. (2021). Effect of temperature and particle size on physicochemical and techno-functional properties of peach palm peel flour (*Bactris gasipaes*, red and yellow ecotypes). *Food Science and Technology International*, 28(6), 535–544. <https://doi.org/10.1177/10820132211025133>
- Meenmanee, S., Rattananukrom, A., Thaiphanit, S., Suppavorasatit, I. (2022). Improvement of solubility, foaming, and emulsification properties of coconut (*Cocos nucifera* L.) protein by non-enzymatic deamidation. *LWT*, 153, 112493. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112493>
- Morcillo, F., Aberlenc-Bertossi, F., Trouslot, P., Hamon, S., Duval, Y. (1997). Characterization of 2S and 7S storage proteins in embryos of oil palm. *Plant Science*, 122(2), 141–151. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(96\)04555-4](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(96)04555-4)
- Moreno, H. M., Tovar, C. A., Domínguez-Timón, F., Cano-Báez, J., Díaz, M. T., Pedrosa, M. M., Borderías, A. J. (2020). Gelation of commercial pea protein isolate: effect of microbial transglutaminase and thermal processing. *Food Science and Technology*, 40(4), 800–809. <https://doi.org/10.1590/fst.19519>
- Narsimhan, G., Xiang, N. (2018). Role of Proteins on Formation, Drainage, and Stability of Liquid Food Foams. *Annual Review of Food Science and Technology*, 9(1), 45–63. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216-030009>
- Nascimento, A. S, Tabai, K. C. (2023). Sustentabilidade e consumo de proteínas vegetais: orientações proteicas nos guias alimentares. *Revista Brasileira de Agroecologia*, 18(5), 347–362. <https://doi.org/10.33240/rba.v18i5.51366>
- Navaf, M., Sunooj, K. V., Aaliya, B., Sudheesh C., Akhila, P. P., Mir, S. A., Nemţanu, M. R., George, J., Lackner, M., Khaneghah, A. M. (2023). Contemporary insights into the extraction, functional properties, and therapeutic applications of plant proteins. *Journal of Agriculture and Food Research*, 14, 100861–100861. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100861>
- Noyola-Altamirano, B., Méndez-Lagunas, L. L., Rodríguez-Ramírez, J., Sandoval-Torres, S., Aquino-González, L. V., Barriada-Bernal, L. G. (2022). Techno-functional properties and antioxidant capacity of the concentrate and protein fractions of *Leucaena* spp. seeds. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 72(3), 196–204. <https://doi.org/10.37527/2022.72.3.005>
- Oliete, B., Potin, F., Cases, E., Saurel, R. (2018). Modulation of the emulsifying properties of pea globulin soluble aggregates by dynamic high-pressure fluidization. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 47, 292–300. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.03.015>

- Oliveira, F. C., Coimbra, J. S. R., Oliveira, E. B., Zuñiga, A. D. G., Rojas, E. E. G. (2014). Food Protein-polysaccharide Conjugates Obtained via the Maillard Reaction: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(7), 1108–1125. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.755669>
- Oliveira, M. M. G., Fessori, A. G. B. W., Huamaní-Meléndez, V. J., Mauro, M. A. (2024). Exploring the rheological and thermal behavior of cowpea protein concentrate: Impact of pH and concentration. *Colloids and Surfaces a Physicochemical and Engineering Aspects*, 694, 134106–134106. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2024.134106>
- Omura, M. H., de Oliveira, A. P. H., Soares, L. de S., Coimbra, J. S. dos R., de Barros, F. A. R., Vidigal, M. C. T. R., Baracat-Pereira, M. C., Oliveira, E. B. (2021). Effects of protein concentration during ultrasonic processing on physicochemical properties and techno-functionality of plant food proteins. *Food Hydrocolloids*, 113, 106457. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106457>
- Othmeni, I., Karoui, R., Blecker, C. (2024). Impact of pH on the structure, interfacial and foaming properties of pea protein isolate: Investigation of the structure – Function relationship. *International Journal of Biological Macromolecules*, 278, 134818. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134818>
- Pereira, D., Roberta, C., Martins, D., Melo, L., Silva, Ferreira, A., Pereira, A. S., Silva, B. M. (2024). Evaluation of the nutritional potential of peach palm flour and its application in crunchy snacks. *Scientia Plena*, 20(3). <https://doi.org/10.14808/sci.plena.2024.031501>
- Pinheiro, R. C., Ballesteros, L. F., Cerqueira, M. A., Rodrigues, A. M. C., Teixeira, J. A., Silva, L. H. M. (2022). Peach palm (*Bactris gasipaes* Kunth) and mammee apple (*Mammea americana* L.) seeds: Properties and potential of application in industry. *LWT*, 170, 114089. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114089>
- Pires, C. V., Oliveira, M. G. de A., Rosa, J. C., Costa, N. M. B. (2006). Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 26(1), 179–187. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612006000100029>
- Prado, J. M., Passos, G. R., Santos, T. B., Silva, C. N. S., Lemes, A. C., Batista, K. A., Sora, G. T. S., Polesi, L. F., Paula, L. C. (2022). Production and characterization of a carotenoid-rich peach palm flour. *The Journal of Engineering and Exact Sciences*, 8(8), 14866-01i. <https://doi.org/10.18540/jcecvl8iss8pp14866-01i>
- Qi, X., Luo, Y., Fei, W., Shen, M., Chen, Y., Yu, Q., Xie, J. (2024). Effects of enzyme hydrolysis-assisted fibrillation treatment on the solubility, emulsifying properties and antioxidant activity of rice protein. *International Journal of Biological Macromolecules*, 279, 135378. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135378>
- Rangsansarid, J., Fukada, K. (2007). Factors affecting the stability of O/W emulsion in BSA solution: Stabilization by electrically neutral protein at high ionic strength. *Journal of Colloid and Interface Science*, 316(2), 779–786. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.07.040>
- Reis, C., Netto, F. M. (2006). Influência do método de extração no rendimento, perfil proteico e solubilidade de concentrados proteicos de amaranto. *Boletim Do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos*, 24(2). <https://doi.org/10.5380/cep.v24i2.7492>
- Ruth, S. M. V., Vries, G., Geary, M., Giannouli, P. (2002). Influence of composition and structure of oil-in-water emulsions on retention of aroma compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82(9), 1028–1035. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1137>

Ryu, J., McClements, D. J. (2025). Cellulose reinforcement of plant-based protein hydrogels: Effects of cellulose nanofibers and nanocrystals on physicochemical properties. *Food Hydrocolloids*, 158, 110541. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110541>

Sarabandi, K., Akbarbaglu, Z., Sarabandi, R., Tamjidi, F., Gharehbeiglou, P., Jafari, S. M. (2023). Improving the functionality and biological properties of Iranian date palm (*Phoenix dactylifera* L) seeds protein with different proteases. *Food and Humanity*, 1, 675–683. <https://doi.org/10.1016/j.foohum.2023.07.017>

Shao, F., Zhang, Y., Wan, X., Duan, Y., Cai, M., Hu, K., Zhang, H. (2025). Regulation in protein hydrophobicity via whey protein-zein self-assembly for improving the techno-functional properties of protein. *Food Chemistry*, 463, 141174. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141174>

Silva, J. B., Bora, P. S., Neto, V. Q. (1997). Characterization of functional properties of protein isolate from mesquite seeds (*Prosopis juliflora* (SW) D.C.) modified by acetylation. *Food Science and Technology*, 17(3). <https://doi.org/10.1590/s0101-20611997000300014>

Silva, S. H. T., Bader-Mittermaier, S., Silva, L. B., Doer, G., Eisner, P. (2021). Electrophoretic characterization, amino acid composition and solubility properties of Macauba (*Acrocomia aculeata* L.) kernel globulins. *Food Bioscience*, 40, 100908. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.100908>

Soares, S. D., Santos, O. V., Conceição, L. R. V., Costi, H. T., Silva Júnior, J. O. C., Nascimento, F. C. A., Pena, R. S. (2023). Nutritional and Technological Properties of Albino Peach Palm (*Bactris gasipaes*) from the Amazon: Influence of Cooking and Drying. *Foods*, 12(23), 4344. <https://doi.org/10.3390/foods12234344>

Sulaimana, A. S., Yudhistira, B. (2023). Effect of streaming process on the quality of wheat (*Triticum aestivum* L.) kernel during extraction. *Food Research*, 7(5), 235–244. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.7\(5\).939](https://doi.org/10.26656/fr.2017.7(5).939)

Tanford, C. (1968). Protein Denaturation. *Advances in Protein Chemistry Volume 23*, 23, 121–282. [https://doi.org/10.1016/s0065-3233\(08\)60401-5](https://doi.org/10.1016/s0065-3233(08)60401-5)

Tang, J., Zhu, X., Dong, G., Hannon, S., Santos, H. M., Sun, D.-W., Tiwari, B. K. (2024). Comparative studies on enhancing pea protein extraction recovery rates and structural integrity using ultrasonic and hydrodynamic cavitation technologies. *LWT*, 200, 116130–116130. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.116130>

Tang, T., Wu, N., Tang, S., Xiao, N., Jiang, Y., Tu, Y., Xu, M. (2023b). Industrial Application of Protein Hydrolysates in Food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(4), 1788–1801. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.2c06957>

Tang, Y. R., Stone, A. K., Wang, Y., Jafarian, Z., Zhou, L., Kimmel, J., House, J. D., Tanaka, T., Nickerson, M. T. (2023a). Effects of enzyme treatments on the functionality of commercial pea and pea blended protein ingredients. *Food Bioscience*, 53, 102838. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102838>

Thaiphanit, S., Anprung, P. (2016). Physicochemical and emulsion properties of edible protein concentrate from coconut (*Cocos nucifera* L.) processing by-products and the influence of heat treatment. *Food Hydrocolloids*, 52, 756–765. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.017>

- Thirunavookarasu, N. S., Kumar, S., Rawson, A. (2022). Effect of ultrasonication on the protein-polysaccharide complexes: a review. *Journal of Food Measurement & Characterization*, 16(6), 4860–4879. <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01567-z>
- Vélez-Erazo, E. M., Okuro, P. K., Gallegos-Soto, A., Cunha, R. L., Hubinger, M. D. (2022). Protein-based strategies for fat replacement: Approaching different protein colloidal types, structured systems and food applications. *Food Research International*, 156, 111346–111346. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111346>
- Wang, L., Zhang, Y., Li, R., Xiang, D. (2023). L-lysine moderates thermal aggregation of coconut proteins induced by thermal treatment. *Scientific Reports*, 13(1), 13310. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38758-7>
- Wang, P., Wang, J., Yang, Y., Liang, K., Chen, X., Wu, F., Fang, G., Liu, X., Wu, C. (2024). Fabrication of the W1/O/W2 emulsions loaded with *Torrey grandis* protein hydrolysate/ polysaccharide complexes in the internal water: Characterization and stability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 280, 136002. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.136002>
- Wi, G., Bae, J., Kim, H., Cho, Y., Choi, M.-J. (2020). Evaluation of the Physicochemical and Structural Properties and the Sensory Characteristics of Meat Analogues Prepared with Various Non-Animal Based Liquid Additives. *Foods*, 9(4), 461. <https://doi.org/10.3390/foods9040461>
- Wu, J., Tang, Y., Chen, W., Chen, H., Zhong, Q., Pei, J., Han, T., Chen, W., Zhang, M. (2023). Mechanism for improving coconut milk emulsions viscosity by modifying coconut protein structure and coconut milk properties with monosodium glutamate. *International Journal of Biological Macromolecules*, 252, 126139. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.126139>
- Xiao, R., Lou, H., Hu, R., Li, S., Zheng, Y., Wang, D., Xu, Y., Xu, Y., Li, Y. (2024). Enzymatic production and physicochemical and functional properties of sorghum protein isolates. *International Journal of Biological Macromolecules*, 283, 137421. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137421>
- Yang, J., Duan, Y., Zhang, H., Huang, F., Wan, C., Cheng, C., Wang, L., Peng, D., Deng, Q. (2023). Ultrasound coupled with weak alkali cycling-induced exchange of free sulfhydryl-disulfide bond for remodeling interfacial flexibility of flaxseed protein isolates. *Food Hydrocolloids*, 140, 108597–108597. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108597>
- Zakki, A., Aryanti, N., Hadiyanto H. (2024). Functional and Structural Characteristic of Plant Protein Isolates as Emulsifier by Ultrasound-Assisted Extraction: A Review. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 32, 100449–100449. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2024.100449>
- Zhang, B., Chi, Y. J., Li, B. (2013). Effect of ultrasound treatment on the wet heating Maillard reaction between β -conglycinin and maltodextrin and on the emulsifying properties of conjugates. *European Food Research and Technology*, 238(1), 129–138. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2082-y>
- Zhang, G., He, L., Qi, X., Wang, X., Zhao, Y., Wang, Q., Liu, M., Ding, Z., Wang, Z., Prakash, S. (2024). Decreased formulation pH and protein preheating treatment enhance the interaction, storage stability, and bioaccessibility of caseinate-bound lutein/zeaxanthin. *Food Research International*, 195, 114971–114971. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114971>
- Zhang, X., Qi, B., Xie, F., Hu, M., Sun, Y., Han, L., Li, L., Zhang, S., Li, Y. (2020). Emulsion stability and dilatational rheological properties of soy/whey protein isolate complexes at the oil-water interface: Influence of pH. *Food Hydrocolloids*, 106391. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106391>

Zhang, Y., Zhou, J., Tian, W., Gui, Y., Li, Y. (2024). Effects of soy flour formulation and pretreatment on the properties of gluten-free cookies: A comprehensive study from flour, dough, to baked products. *Food Chemistry*, 468, 142481–142481. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.142481>

Zheng, X., Cheng, T., Liu, S., Tian, Y., Liu, J., Wang, Z., Guo, Z. (2025). Ultrasonic combined pH shifting strategy for improving the stability of emulsion stabilized by yeast proteins: Focused on solubility, protein structure, interface properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 293, 139396. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.139396>

Zheng, Y., Li, Y. (2018). Physicochemical and functional properties of coconut (*Cocos nucifera* L) cake dietary fibres: Effects of cellulase hydrolysis, acid treatment and particle size distribution. *Food Chemistry*, 257, 135–142. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.012>

CAPÍTULO 4

CONCLUSÕES GERAIS

1. CONCLUSÕES GERAIS

O extrato proteico da semente da pupunha (PEPPS) obteve maior rendimento e pureza quando extraído por precipitação isoelétrica, em comparação com as extrações assistidas por ultrassom e por enzimas. As propriedades físicas e químicas (como a hidrofobicidade e a presença de grupos sulfidríla livres) e as propriedades técnico-funcionais (capacidade de retenção de óleo e água, formação e estabilidade de espumas, e capacidade de gelificação) apresentaram resultados promissores, tornando o PEPPS uma alternativa viável para aplicações na indústria de alimentos, especialmente em produtos como sobremesas aeradas e gelatinosas, panificados, molhos, bebidas fermentadas e espumantes.

Entretanto, a formação e a estabilidade cinética das emulsões em diferentes pHs (3,5 e 7,0) indicaram que o PEPPS, nas condições avaliadas neste estudo, não apresenta aplicabilidade industrial satisfatória para essa propriedade técnico-funcional. Isso ressalta a necessidade de mais estudos com maiores concentrações do extrato e testes em outras faixas de pH.

Algumas sugestões para trabalhos futuros incluem o uso de diferentes solventes na etapa de extração lipídica durante a composição centesimal, ou a adoção de métodos com temperaturas mais baixas; a realização de estudos sobre o ponto de desnaturação da proteína da semente de pupunha, para permitir o processamento em condições térmicas que preservem sua estrutura física e química; o teste de maiores dosagens de enzimas na extração enzimática, bem como a avaliação de novos parâmetros no uso do ultrassom, visando melhorar o rendimento e a qualidade do extrato; além da investigação das propriedades físicas, químicas e técnico-funcionais do PEPPS em faixas de pH abaixo do ponto isoelétrico. Recomenda-se avaliar a formação de emulsões com outros tipos de óleo, maiores concentrações proteicas com grau de pureza superior ao obtido neste estudo (53%) e faixas de pH mais comumente utilizadas em matrizes alimentares, como 4,5 e 6,5.

Por fim, essas investigações contribuíram para o melhor aproveitamento da semente de pupunha como ingrediente alimentar de valor nutricional, ampliando seu potencial de aplicação na indústria de alimentos.