

UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA

Proteínas de baru: extração e potencial como carreadoras de curcumina

Nayara Matiko Reis Miyashita
Doctor Scientiae

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

NAYARA MATIKO REIS MIYASHITA

Proteínas de baru: extração e potencial como carreadoras de curcumina

Tese 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 *Doctor Scientiae*.

Orientadora: Ana C. dos Santos Pires

Coorientadores: Luis H. Mendes da Silva
Marcia C. T. R. Vidigal
Pedro H. Campelo Felix

**VIÇOSA - MINAS GERAIS
2025**

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

T

M685p
2025

Miyashita, Nayara Matiko Reis, 1990-

Proteínas do baru: extração e potencial como carreadoras de curcumina / Nayara Matiko Reis Miyashita. – Viçosa, MG, 2025.

1 tese eletrônica (73 f.): il. (algumas color.).

Orientador: Ana Clarissa dos Santos Pires.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Tecnologia de Alimentos, 2025.

Inclui bibliografia.

DOI: <https://doi.org/10.47328/ufvbbt.2026.159>

Modo de acesso: World Wide Web.

1. Proteínas. 2. Curcumina. 3. Baru. 4. Compostos bioativos. I. Pires, Ana Clarissa dos Santos, 1981-. II. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Tecnologia de Alimentos. Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos. III. Título.

CDD 22. ed. 664.002

NAYARA MATIKO REIS MIYASHITA

Proteínas de baru: extração e potencial como carreadoras de curcumina

Tese 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 *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 11 de julho de 2025.

Assentimento:

Nayara Matiko Reis Miyashita
Autora

Ana Clarissa dos Santos Pires
Orientadora

Essa tese foi assinada digitalmente pela autora em 16/04/2026 às 18:16:41 e pela orientadora em 17/04/2026 às 12:20:54. 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 **XE5Q.SOXY.V8S7** e clique no botão 'Validar documento'.

AGRADECIMENTOS

A Deus, porque tudo é Dele.

Aos meus pais e irmã, meu marido, meus sogros, e aos meus filhos, por todo amor e apoio incondicional para realizar este sonho !

A todos os meus professores e em especial à professora Ana Clarissa, pelos ensinamentos, paciência e amizade.

Aos professores Luis Henrique e Márcia, pela coorientação, disponibilidade e conhecimentos compartilhados.

Às professoras Jaqueline e Eliara por aceitarem contribuir com esta banca.

Aos amigos do THERMA, pela parceria, suporte e incentivo.

À Universidade Federal de Viçosa e ao DTA.

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). Agradeço a todas as fontes pelos recursos, incluindo o apoio da Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP).

RESUMO

MIYASHITA, Nayara Matiko Reis, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2025. **Proteínas de baru: extração e potencial como carreadoras de curcumina.** Orientadora: Ana Clarissa dos Santos Pires. Coorientadores: Luis Henrique Mendes da Silva, Marcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal e Pedro Henrique Campelo Felix.

A crescente busca por ingredientes alimentares sustentáveis e funcionais tem estimulado pesquisas sobre proteínas vegetais extraídas de espécies nativas do Brasil. Esta tese investigou as proteínas da amêndoa de baru (*Dipteryx alata* Vogel), com foco em métodos de extração, propriedades tecno-funcionais e seu potencial como carreadores de curcumina (CUR), um composto bioativo com reconhecida atividade antioxidante, mas com aplicação limitada em função da sua baixa solubilidade em água e instabilidade química frente à luz. O trabalho foi composto por dois estudos complementares. O primeiro artigo, de natureza revisional, abordou os métodos de extração convencionais para obter as proteínas de baru e informações sobre as propriedades físico-químicas e tecno-funcionais das proteínas do baru que poderão contribuir com conhecimentos científicos básicos estimulando a aplicação dessa fonte proteica em sistemas alimentícios. Dentre essas informações, pode-se citar a elevada solubilidade em pH alcalino (83%), boa capacidade emulsificante (54,8%), estabilidade de espuma (até 96%), e propriedades satisfatórias de retenção de água (118,3%) e óleo (155,5%). A principal lacuna identificada foi a escassez de estudos sobre a capacidade de gelificação das proteínas, que seria essencial para aplicações em produtos vegetais estruturados. O segundo artigo investigou as interações intermoleculares entre a CUR e os isolados proteicos de baru (IPB) e do soro de leite (IPS), visando à formação de complexos com maior estabilidade fotoquímica. A espectroscopia de fluorescência indicou supressão estática, sugerindo a formação de complexos proteína-CUR. A análise termodinâmica mostrou que, a 25°C, os valores de G° foram $-18,08\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (IPB-CUR) e $-22,76\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (IPS-CUR), indicando que a formação dos complexos é termodinamicamente favorecida em relação à existência dos componentes na forma livre. Os valores negativos de TS° ($-237,82\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para IPB e $-63,81\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para IPS) refletem redução da entropia no processo. A formação dos complexos foi predominantemente guiada por interações entálpicamente favoráveis, com $H^\circ = -255,90\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para IPB-CUR e $H^\circ = -86,57\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para IPS-CUR. A interação com os isolados proteicos aumentou a fotoestabilidade da CUR, reduzindo sua constante de fotodegradação e ampliando o tempo de meia-vida. A complexação da CUR com isolados proteicos não aumentou

significativamente sua atividade antioxidante, mas os sistemas mantiveram sua atividade antioxidante. Esses resultados indicam que os isolados proteicos estabilizam a CUR, destacando o IPB como uma alternativa promissora ao IPS para formulações vegetais funcionais, especialmente para consumidores veganos ou intolerantes a lácteos. A tese contribui para a valorização de biomas nativos e o desenvolvimento de sistemas alimentares mais saudáveis e inovadores.

Palavras-chave: *Dipteryx alata*; curcumina; isolado proteico de baru; propriedades tecno-funcionais, parâmetros termodinâmicos; interação termodinâmica; composto bioativo.

ABSTRACT

MIYASHITA, Nayara Matiko Reis, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2025.
Baru proteins: extraction and potential as curcumin carriers. Adviser: Ana Clarissa dos Santos Pires. Co-advisers: Luis Henrique Mendes da Silva, Marcia Cristina Teixeira Ribeiro Vidigal and Pedro Henrique Campelo Felix.

The growing demand for sustainable and functional food ingredients has encouraged the research of plant proteins extracted from native species of Brazil. This thesis investigated proteins from baru almonds (*Dipteryx alata* Vogel), focusing on extraction methods, techno-functional properties, and their potential as carriers for curcumin (CUR), a bioactive compound known for its antioxidant activity but limited by poor water solubility and chemical photoinstability. The work comprised two complementary studies. The first article, a review, discussed conventional extraction methods (such as alkaline extraction with isoelectric precipitation) and emerging techniques (including ultrasound, deep eutectic solvents, pulsed electric fields, and enzyme-assisted extraction), to produce baru almond proteins. Furthermore, the review presents important information on the physicochemical and techno-functional properties of baru proteins, which may contribute to basic scientific knowledge, stimulating the application of this protein source in food systems. Among this information, one can mention the baru protein isolates exhibited high solubility under alkaline pH (~83%), good emulsifying capacity (54.8%), high foam stability (up to 96%), and satisfactory water- (118.3%) and oil-holding capacities (155.5%). The main knowledge gap identified was the lack of studies on gelation behavior, which is essential for applications in structured plant-based products. The second article investigated the intermolecular interactions between CUR and protein isolates from baru (IPB) and whey (IPS), aiming to form complexes with enhanced photochemical stability. Fluorescence spectroscopy indicated static quenching, suggesting the formation of CUR–protein complexes. Thermodynamic analysis showed that at 25°C, the Gibbs free energy values were $-18.08\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (IPB–CUR) and $-22.76\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (IPS–CUR), indicating that complex formation is thermodynamically favored compared to the free components. The negative TS° values ($-237.82\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ for IPB and $-63.81\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ for IPS) reflect entropy reduction during the process. Complex formation was predominantly driven by favorable enthalpic interactions, with $H^\circ = -255.90\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ for IPB–CUR and $-86.57\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ for IPS–CUR. The interaction with protein isolates enhanced CUR photostability by reducing its photodegradation constant and increasing its half-life. Although complexation did not significantly increase CUR antioxidant activity, the

systems maintained their antioxidant activity. These findings indicate that protein isolates stabilize CUR effectively, with IPB emerging as a promising alternative to IPS for plant-based functional formulations, especially suitable for vegan consumers or individuals with dairy intolerance. This thesis contributes to the valorization of brazilian native biomes and the development of healthier and more innovative food systems.

Keywords: *Dipteryx alata*; curcumin; baru protein isolate; techno-functional properties; thermodynamic parameters; protein–ligand interaction; bioactive compound.

SUMÁRIO

Introdução Geral.....	9
Artigo 1	11
Artigo 2.....	39
Conclusões gerais.....	66
Bibliografia.....	68

INTRODUÇÃO GERAL

O crescente interesse pela diversificação das fontes alimentares de origem vegetal tem impulsionado a pesquisa e o desenvolvimento de ingredientes funcionais provenientes de biomas nativos (Domínguez et al., 2021; Fu et al., 2023). Essa tendência se baseia na necessidade global de promover sistemas alimentares mais sustentáveis, acessíveis e com menor impacto ambiental. Nesse contexto, a amêndoa de baru (*Dipteryx alata* Vogel), uma oleaginosa nativa do Cerrado brasileiro, tem se destacado como uma fonte proteica promissora, tanto por seu perfil nutricional quanto por suas propriedades tecnofuncionais (Aracava et al., 2022; Egea et al., 2023).

Estudos têm demonstrado que a amêndoa de baru possui alto teor proteico (23–30%, m/m), com perfil equilibrado de aminoácidos essenciais, boa digestibilidade e predominância da fração de globulinas (Da Cruz et al., 2011; Fernandes et al., 2021; Lima et al., 2022). Comparativamente, apresenta teor de proteína superior ao de outras leguminosas, como ervilha, feijão e grão-de-bico, bem como de nozes, amêndoa, castanha de caju e noz-pecã (da Cruz et al., 2011). Essa composição confere às suas proteínas potencial para aplicações em alimentos estruturados, como emulsões e espumas, além de compatibilidade com dietas baseadas em vegetais (Nunes et al., 2016). Apesar do potencial demonstrado, o aproveitamento integral dessas proteínas é limitado por lacunas relacionadas à compreensão de suas propriedades tecnológicas e funcionais.

O primeiro artigo desta tese, publicado no periódico *Foods* (ISSN: 2304-8158), apresenta uma revisão abrangente sobre os métodos de extração e as propriedades tecnofuncionais das proteínas da amêndoa de baru. São discutidos tanto os métodos convencionais de extração proteica, como a extração alcalina com precipitação isoelétrica, quanto abordagens emergentes como extração assistida por enzimas, solventes eutéticos profundos e campos elétricos pulsados. Além disso, o artigo destaca a capacidade emulsificante, formação de espuma, retenção de água e óleo das proteínas extraídas, identificando lacunas no conhecimento sobre sua capacidade de gelificação — propriedade fundamental para aplicações em alimentos vegetais texturizados (Miyashita et al., 2025).

O segundo artigo desta tese explora as interações moleculares entre isolados proteicos da amêndoa de baru e a curcumina, composto bioativo da *Curcuma longa* com reconhecidas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (Hao et al., 2023; Huang et al., 2021). Apesar de seu potencial terapêutico e uso como corante natural na indústria de alimentos, a curcumina apresenta baixa solubilidade em água, instabilidade química e alta suscetibilidade à fotodegradação, o que limita sua aplicação (Yan et al., 2024). A complexação com proteínas vegetais tem se mostrado uma estratégia eficaz para superar essas limitações, promovendo maior estabilidade fotoquímica e solubilidade em sistemas aquosos. Nesse contexto, a formação de complexos com proteínas, como observado em isolados de soja, tem proporcionado proteção contra a degradação e liberação controlada do composto,

configurando-se como alternativa promissora para o desenvolvimento de sistemas de entrega em alimentos funcionais (Fu et al., 2023; Ma et al., 2024; Wang et al., 2021).

Estudos recentes, como o de Leonel et al. (2025), demonstraram que as proteínas da amêndoa de baru são capazes de formar complexos estáveis com flavonoides como naringina e naringenina, evidenciando interações governadas por forças hidrofílicas e hidrofóbicas, dependendo da estrutura química do composto. Esses achados reforçam o potencial das proteínas do baru como carreadores naturais de compostos bioativos.

No presente estudo, investigou-se a complexação entre curcumina e isolados proteicos da amêndoa de baru por meio de análises espectroscópicas de fluorescência, com o objetivo de elucidar os mecanismos de interação, a estequiometria, as constantes de ligação e os parâmetros cinéticos e termodinâmicos envolvidos. Os resultados obtidos contribuem para o entendimento das propriedades funcionais dessas proteínas e suas aplicações em sistemas alimentares com curcumina estabilizada.

Assim, os dois artigos desta tese estão interligados pelo eixo central de valorização das proteínas da amêndoa de baru como ingrediente funcional. O primeiro artigo fundamenta a escolha da matriz proteica, destacando sua composição, extração e funcionalidades, enquanto o segundo avança na aplicação dessas proteínas como carreadores bioativos. Em conjunto, essas investigações contribuem para a ampliação do conhecimento sobre ingredientes nativos do Cerrado e seu potencial em produtos sustentáveis e funcionais.

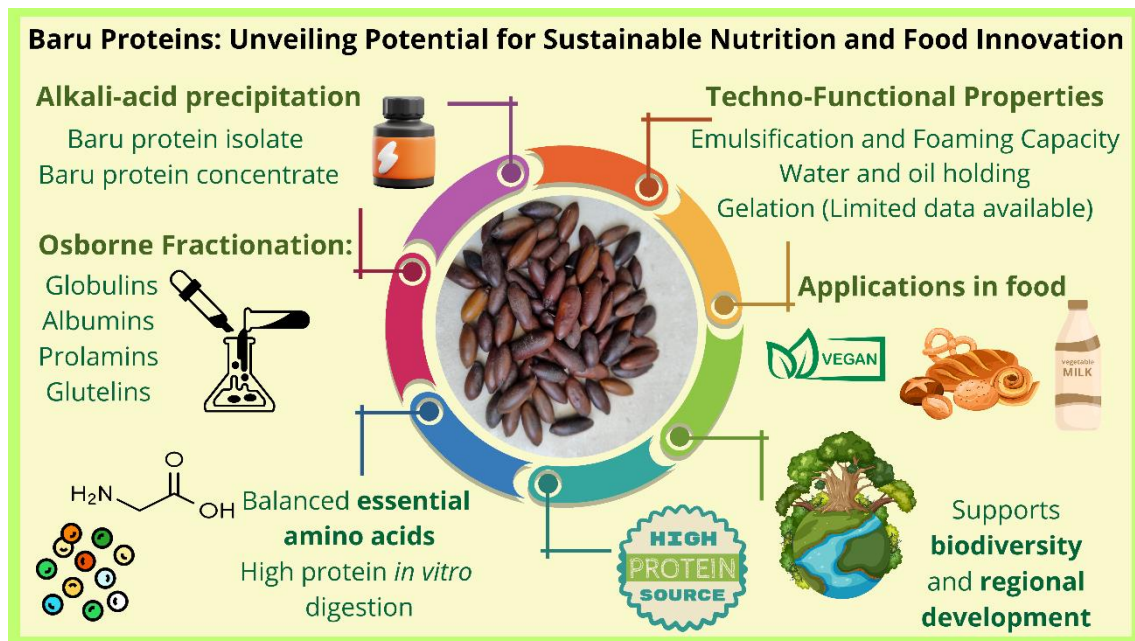
ARTIGO 1**Baru Proteins: Extraction Methods and Techno-Functional Properties for Sustainable Nutrition and Food Innovation**

Article published in the journal Foods. Doi:
<https://doi.org/10.3390/foods14081286>

Abstract

Global population growth raises concerns about the availability of safe and nutritious food, along with its environmental and social impacts. In this context, plant-based foods have emerged as a promising solution, offering sustainable and affordable alternatives. Baru almonds (*Dipteryx alata* Vogel), a native Brazilian species, represent a viable and eco-friendly protein source with significant potential for food applications. This review discusses the nutritional composition, protein extraction methods and techno-functional properties of baru almonds, highlighting both advantages and limitations for food application. Baru proteins exhibit a high protein content (23–30%, w/w), a balanced essential amino acid profile, and valuable functional properties, including emulsifying capacity, foam stability, and moderate water- and oil-holding capacities. However, despite their potential, the lack of research on the gelation properties of baru proteins restricts their application in structured plant-based food formulations, where protein gelation is crucial for texture, water retention, and overall product stability. Further research is needed to evaluate their gel-forming ability and allergenic potential. Additionally, this review explores emerging protein extraction techniques that could improve protein quality and functionality, expanding their applicability in the food industry. By promoting biodiversity conservation and regional development, baru almonds contribute to the growing demand for sustainable protein sources.

Keywords: plant-based protein; baru almond; nutritional value; techno-functional property; sustainability; food application.



1. Introduction

The demand for plant-based proteins has surged in recent years, driven by population growth and the need for sustainable, nutritious food alternatives that minimize reliance on finite natural resources associated with livestock production [1,2]. Scientific interest in vegetable proteins has increased significantly, with a notable rise in publications from 2001 to 2024 (Figure 1), highlighting their growing relevance across multidisciplinary fields like food science, nutrition, and agronomy.

Figure 1. Number of scientific publications reported by Web of Science containing the terms of the topic “plant protein”, “plant-based protein” and “vegetable protein”, from 2001 to 2024.

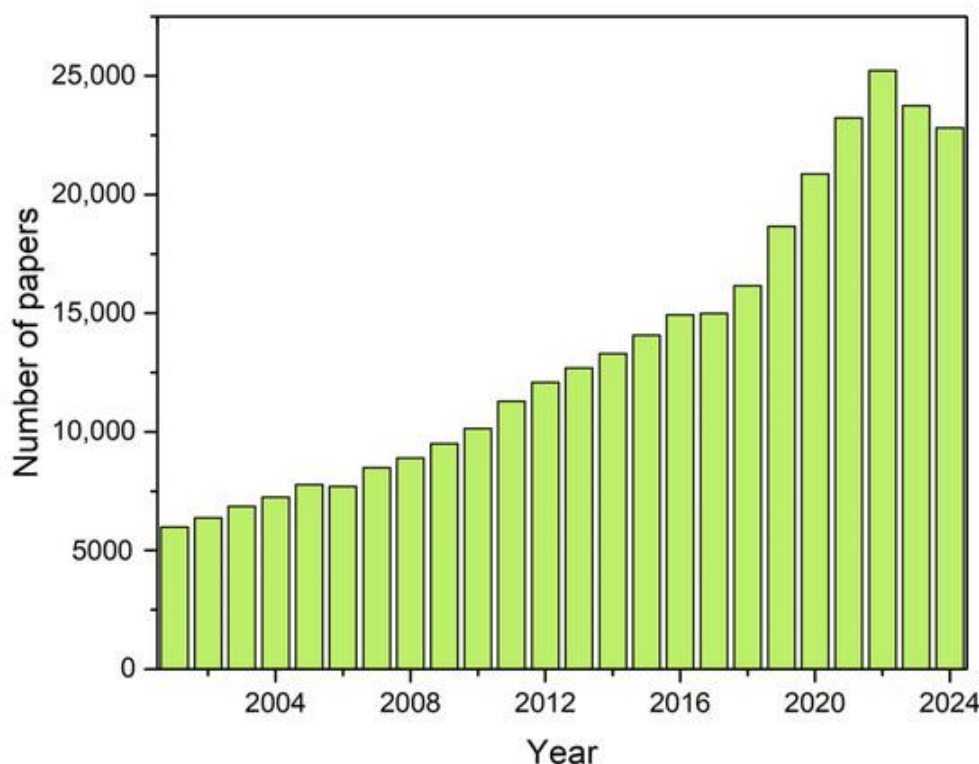


Figure 1. Number of scientific publications reported by Web of Science containing the terms of the topic “plant protein”, “plant-based protein” and “vegetable protein”, from 2001 to 2024.

Many studies have highlighted a prevailing trend toward replacing animal proteins with plant-based proteins, such as soy, wheat, gluten, and pea [3,4,5,6,7]. However, while this shift is evident, it primarily relies on a limited number of conventionally cultivated monoculture crops, which pose significant environmental and social challenges, including soil degradation, biodiversity loss, and the concentration of land and resources [8]. As a result, the long-term sustainability of these protein sources is questionable. The environmental impact of extensive reliance on conventional plant proteins could be comparable to that of meat production. A study assessing the environmental footprint of various burger formulations, incorporating both animal- and plant-based proteins, found that poultry protein had the lowest environmental impact, followed by soybean, pork, lentil, and chickpea protein, based on parameters such as global warming potential, water footprint, energy demand, and ecotoxicity [9].

Furthermore, a lack of dietary diversity may negatively impact health. The global food supply heavily relies on a narrow spectrum of options, with a small number of plant and animal species contributing to 75% of our food intake [10]. This limited food biodiversity can lead to nutritional imbalances, such as unbalanced amino acid profile, reduced protein digestibility, and the excessive presence of antinutritional factors. Moreover, it poses risk of allergic reactions such as those associated with soy, a prevalent component of vegan diets and a recognized allergen by the Food and Drug Administration (FDA) [11]. Generally, plant-based proteins show inferior technological properties compared to animal

proteins [12,13], necessitating the blending of multiple proteins in various formulations.

To address these challenges, exploring diverse and sustainable protein sources from global biomes is critical. Unconventional species like baru almonds offer promising nutritional and environmental benefits while supporting regional development and reducing deforestation [14]. Baru almonds reviews have highlighted the health benefits associated with baru consumption [15,16]. However, the specific properties of baru proteins remain relatively unexplored. This review aims to provide a comprehensive understanding of baru almond proteins, particularly concerning their extraction methods, nutritional value, and techno-functional properties for potential use as ingredients in food formulations. Furthermore, the opportunities and challenges involved in incorporating baru proteins into future foods will also be discussed.

2. Baru (*Dipteryx alata*): Biome, Characteristics and Almond Composition

The Cerrado, Brazil's second-largest ecosystem, is among the world's most biodiverse regions. However, approximately 50% of its area is occupied by agriculture, primarily monoculture, impacting 80% of its native vegetation and risking irreversible degradation by 2030 [17,18]. Sustainable use of native species like baru (*Dipteryx alata* Vogel), offers a solution to preserve biodiversity, reduce deforestation and minimize the environmental impact of long-distance ingredient transport.

Baru almonds, derived from the fruit of the *Dipteryx alata* tree (Figure 2), are sustainably harvested by rural communities, providing income while minimizing environmental impact. Valued for their nutritional content and peanut-like flavor, baru almonds have a growing global market, projected to rise from USD 5.1 million in 2022 to USD 47 million by 2032 [19].

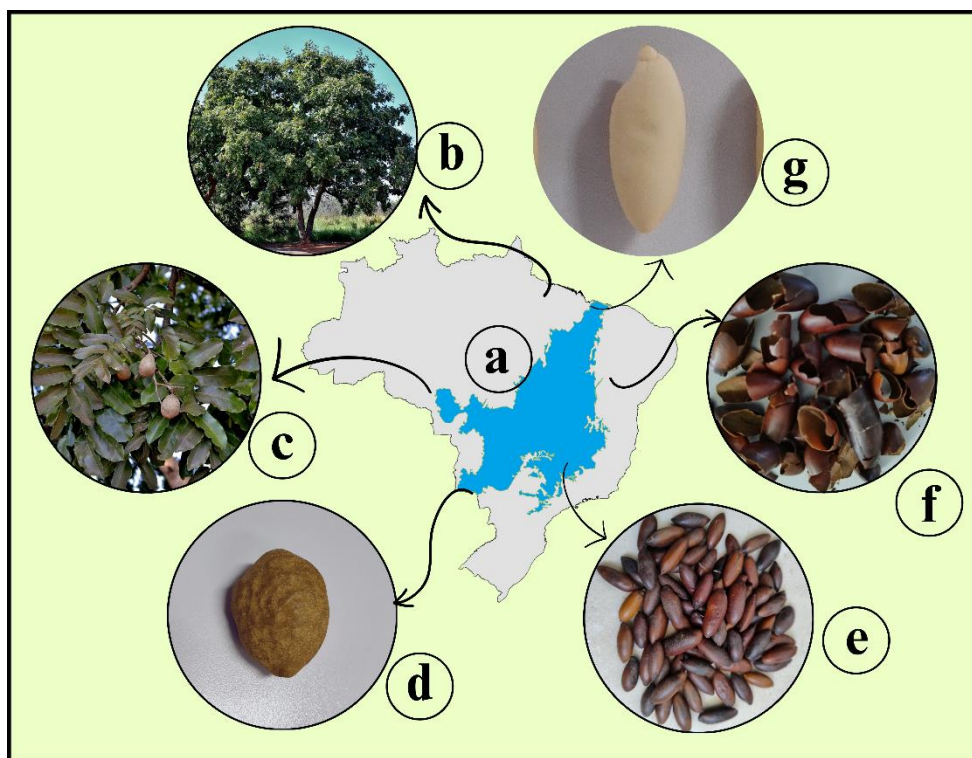


Figure 2. Map of Brazil with the Cerrado region highlighted (a), where barú tree is found (b), barú fruit (c and d), barú almonds with skin (e), its skin (f) and the barú almond without skin (g).

Nutritionally, barú almonds are rich in protein (23–30%, w/w), fat (40–45.80%, w/w), dietary fiber (6.10–12.50%, w/w), and minerals such as calcium, iron, and zinc [20,21]. Their total protein content exceeds that of almonds (21%, w/w), pistachio (20%, w/w), and hazelnut (14.5%, w/w) [22]. Additionally, raw barú almonds are abundant in bioactive compounds like carotenoids ($11.40 \mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$) and tocopherols ($11.61 \mu\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$), contributing to their high antioxidant capacity. However, antinutritional factors like phytates and tannins can reduce nutrient bioavailability. Heat treatment effectively mitigates these compounds, enhancing their nutritional value [23].

Similar to soybean, pea, sunflower, rapeseed, hemp and pumpkin seeds, the predominant protein fraction in barú almonds is globulin (61.7%), followed by albumin, glutelin, and prolamin, highlighting its potential for diverse food applications [22,24]. The application of barú almonds as food ingredients aligns with global efforts to promote underutilized crops for sustainable and nutritious food solutions.

3. Nutritional Proprieties of Barú Proteins

The quality of proteins is determined by their essential amino acids (EAAs) content, digestibility, bioavailability, purity, and the impact of extraction and processing methods. Table 1 compares the amino acid profile of barú almond proteins with other high-protein sources. Barú almond flour contains 25.81 g/100 g of protein, lower than soybean flour (41.85 g/100 g), and animal-derived powders like eggs (48.56 g/100 g) and casein (81.57 g/100 g), but higher than other vegetable sources like pea flour (21.50 g/100 g), and *Moringa oleifera*

leaves (moringa) (23.60 g/100 g), making it valuable source of protein, particularly in vegetarian and plant-based diets.

Table 1. Essential amino acid profile (mg.g⁻¹ of protein), total protein content (g.100 g⁻¹) and in vitro protein digestibility (%) of high-protein sources.

Table 1. Essential amino acid profile (mg.g⁻¹ of protein), total protein content (g.100 g⁻¹) and in vitro protein digestibility (%) of high-protein sources.

	FAO [25]	Baru Almond Flour [22,26]	Soybean Flour [27,28]	Dehydrated Beef [28]	Bovine Casein Powder [28]	Eggs Powder [28,29]	<i>Moringa Oleifera</i> Flour [30] *	Pea Flour [31]
EAA	Amino acid concentration (mg.g ⁻¹ of protein)							
Met + Cys	22	22.00	18.65	35.59	30.14	40.05	71.40	23.00
His	15	23.40	32.88	38.10	18.99	22.12	14.40	35.00
Ile	30	37.50	37.36	39.43	46.91	34.64	28.80	35.00
Leu	59	77.80	81.34	92.24	93.05	83.90	56.60	70.00
Lys	45	48.40	82.69	95.28	78.66	91.44	58.20	63.00
Phe + Tyr	38	87.33	96.99	83.86	109.71	98.64	74.10	65.00
Thr	23	44.90	51.34	48.23	43.22	53.50	39.00	37.00
Trp	6.0	20.20	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	17.60	n.d.
Val	39	51.80	48.16	43.00	54.95	47.52	42.80	39.00
	Total protein content (g.100 g ⁻¹)							
		25.81	41.85	81.76	81.57	48.56	23.60	21.50
IPD (%)		86.00	78.90	80.00	91.00	81.40	57.22–64.70	86.20–86.90

The concentration of EAAs in proteins from animal sources such as dehydrated beef, casein powder, and egg powder meets the dietary recommendations of the FAO/WHO/UNU reference pattern [25]. In contrast, plant-based proteins often contain limiting amino acids. For example, soybean protein is deficient in methionine + cysteine (18.65 mg/g), making it necessary to combine it with other protein sources rich in these amino acids. Conversely, *Moringa oleifera* flour contains an excess of methionine + cysteine (71.40 mg/g) but is limited in histidine, isoleucine, and leucine. Given these differences, combining different plant protein sources, such as soybean and *Moringa oleifera* flour, could enhance amino acid balance and improve protein quality in food formulations.

However, baru almond flour demonstrates a robust EAA profile. Baru almond flour contains significant amounts of methionine + cysteine (22.00 mg/g of protein), histidine (23.4 mg/g of protein), isoleucine (37.5 mg/g of protein), and leucine (77.8 mg/g of protein), which indicates a well-balanced composition that aligns closely with the FAO/WHO/UNU dietary recommendations. When compared to the FAO reference values, baru almond flour meets or exceeds all these standards [25,26]. For example, compared to soybean flour—the most widely used plant-based protein in the food industry—baru almond flour presents higher methionine + cysteine (22.08 mg/g vs. 18.65 mg/g) and valine (51.8 mg/g vs. 48.16 mg/g) content. However, it falls short in other EAA, which can be attributed to the higher overall protein content in soybean flour. Despite this, the well-balanced and complete EAA profile of baru almond flour stands out, highlighting its potential as a nutritious alternative protein source.

Regarding pea flour, both baru almond and pea flour do not present limiting amino acids and show similar methionine + cysteine. Nevertheless, baru almond flour is superior in leucine (77.8 mg/g vs. 70.00 mg/g), phenylalanine + tyrosine (87.33 mg/g vs. 65.00 mg/g), threonine (44.90 mg/g vs. 37.00 mg/g), and valine (51.8 mg/g vs. 39.00 mg/g). When compared to another unconventional protein source, *Moringa oleifera* flour, baru almond flour shows no limiting amino acids, whereas *Moringa oleifera* leaves present limiting amounts of histidine (14.40 mg/g), isoleucine (28.80 mg/g), and leucine (56.60 mg/g). However, baru almond flour has significantly lower methionine + cysteine (22.08 mg/g vs. 71.40 mg/g) and lysine (48.4 mg/g vs. 58.20 mg/g) content. Over again, baru almond amino acid profile stands out for being a well-equilibrated source of EAA, as promising as moringa, but it does not present the dark green color and astringent flavor, which can affect sensory properties of foods [32].

Baru almond flour demonstrates high in vitro protein digestibility (IPD: 86.0%), comparable to animal-based proteins and superior to many plant-based options, including soybean and moringa flours. Its digestibility enhances the delivery of essential amino acids, making it suitable for diverse applications, including breads, snacks, vegan supplements, and protein bars. As global demand for plant-based proteins grows, baru almond flour emerges as a sustainable and innovative option that supports nutrition and biodiversity.

4. Extraction of Baru Almond Proteins

Baru almond protein extraction plays a crucial role in determining its functional properties, beginning with oil removal, typically performed via mechanical pressing, producing defatted baru almond flour (DBF), a protein-rich byproduct [33,34]. Combining mechanical pressing with solvent extraction improves oil recovery and protein yield while minimizing oxidation [35]. Safer solvents like ethanol and supercritical CO₂ are preferred over traditional hexane for enhanced safety and efficiency [36].

Baru protein concentrate (BPC) and isolate (BPI) are obtained via alkaline extraction. This method is also applied to other plant sources, including soy, almonds, and peanuts. DBF is solubilized in an alkaline medium (pH~10) to enhance protein solubility through electrostatic repulsion, followed by centrifugation to collect the protein-rich supernatant for BPC production. Further acidification of supernatant to the isoelectric point (pI) (pH~4.8), causes protein aggregation, resulting in the BPI [37].

This process yields BPC and BPI with a high protein content (55.03 g/100 g and 84.11–88.4 g/100 g, respectively), comparable to or exceeding other protein isolates sources like soy (87.6 g/100 g) and casein (83.0 g/100 g), highlighting the feasibility and competitiveness of baru protein extraction for use in food formulation [37,38]. Despite its high efficiency, simplicity, and cost-effectiveness, the alkaline extraction-acid precipitation method has some drawbacks. It can lead to protein denaturation and the formation of insoluble aggregates, negatively impacting digestibility and techno-functional properties [39,40,41,42]. Additionally, the alkaline extraction generates large amounts of acid and alkali wastewater as environmental pollutants and may form toxic species, such as lysinoalanine, having a significant environmental footprint [41].

The Osborne method offers a milder alternative that allows the sequential separation of different protein fractions without the formation of toxic species, also, unlike alkali protein extraction, preserves the functionality of albumins and globulins, the main protein fractions in baru almonds. This sequential extraction is based on solubility, using water (pH 7.0, 1:30 w/v) for albumins, followed by 0.5 mol/L NaCl (pH 7.0, 1:30 w/v) for globulins, 700 g/L ethanol for prolamins, and 0.1 mol/L NaOH for glutelins. Stirring (60 min) and centrifugation (32,000× g, 40 min) were applied at each step, with dialysis (10 kDa membranes, 24–36 h) where applicable. This method recovers 80% of total baru almond proteins, with globulins (61.7%) as the predominant fraction, followed by albumins (14.0%), glutelins (3.3%), and prolamins [22]. Despite its effectiveness, the Osborne method is time-consuming and requires precise handling, limiting its industrial scalability [43].

Innovative techniques such as enzyme-assisted (EA) extraction reduce harsh chemical usage while improve protein yield and techno-functional properties by enhancing emulsification, solubility, and water- and oil-holding capacities, as observed in chickpea protein properties [44,45]. It is particularly suitable for heat-sensitive ingredients, but its commercial application is limited by

high enzyme costs, sensitivity, and the potential formation of bitter byproducts [46].

Ultrasound-assisted extraction (US) is a sustainable alternative due to low energy consumption, maintenance costs, and processing time. When combined with conventional techniques, it increased protein yields from *Spirulina* (32.48% to 76.83%, 200 W, 26 kHz), while enhancing solubility and digestibility [47,48]. Despite its advantages, US protein extraction faces challenges such as heat generation, free radical formation, and limited scalability [49].

Pulsed electric field (PEF) is an eco-friendly and cost-effective protein extraction technique, that enables by-products recovery from food waste. Combining PEF with alkaline extraction (2.3 kV for 25 min) improved rice bran protein yield by 22.8% and enhanced functional properties, including oil-holding capacity and emulsifying (20.29–22.64%, 3.3–12.0%, respectively) [46]. However, high initial equipment costs and process optimization remain challenges for large-scale applications [50].

Deep eutectic solvents (DES), formed from a hydrogen bond acceptor (HBA) and donor (HBD), are non-toxic, recyclable, and cost-effective, making them suitable for protein extraction. For instance, a DES made from choline chloride (HBA) and levulinic acid (HBD), in a 6:1 molar ratio, extracted 39.16 mg/g of protein from bamboo shoots, outperforming conventional methods (23.88 mg/g) [51]. Despite their potential, further research is needed to assess their compatibility, biodegradability, and recyclability for broader food industry applications.

Integrating emerging extraction methods can enhance protein yield and functionality, making baru almonds proteins valuable ingredients for diverse food applications. Nevertheless, selecting an appropriate extraction approach requires balancing efficiency, cost, and sustainability to minimize environmental impact while maximizing protein recovery. Hybrid strategies, combining conventional and green technologies, may offer an optimal compromise for scalable and eco-friendly industrial applications.

5. Baru Almonds Techno-Functional Properties

Proteins play a crucial role in food product development, influencing sensory characteristics and techno-functional properties. Baru almond proteins offer a promising plant-based alternative, making essential to evaluate their functionality and competitiveness with other protein sources. The next sections will compare the techno-functional properties of baru almonds with animal and plant proteins.

5.1. Solubility

Protein solubility is a foundational property influencing applications like emulsification, foaming, and gelation. Baru proteins follow a U-shaped solubility curve relative to pH, similar to other plant-based proteins like soybean, pea, and moringa (Figure 3). At alkaline pH (8–10), baru proteins show high solubility

(approximately 83%), surpassing pea (80%), and moringa (58%) proteins but slightly below soy, whey, egg, and sodium caseinate proteins, which exceed 88%. Above their pI, proteins exhibit a net negative charge, increasing mutual repulsion and solubility.

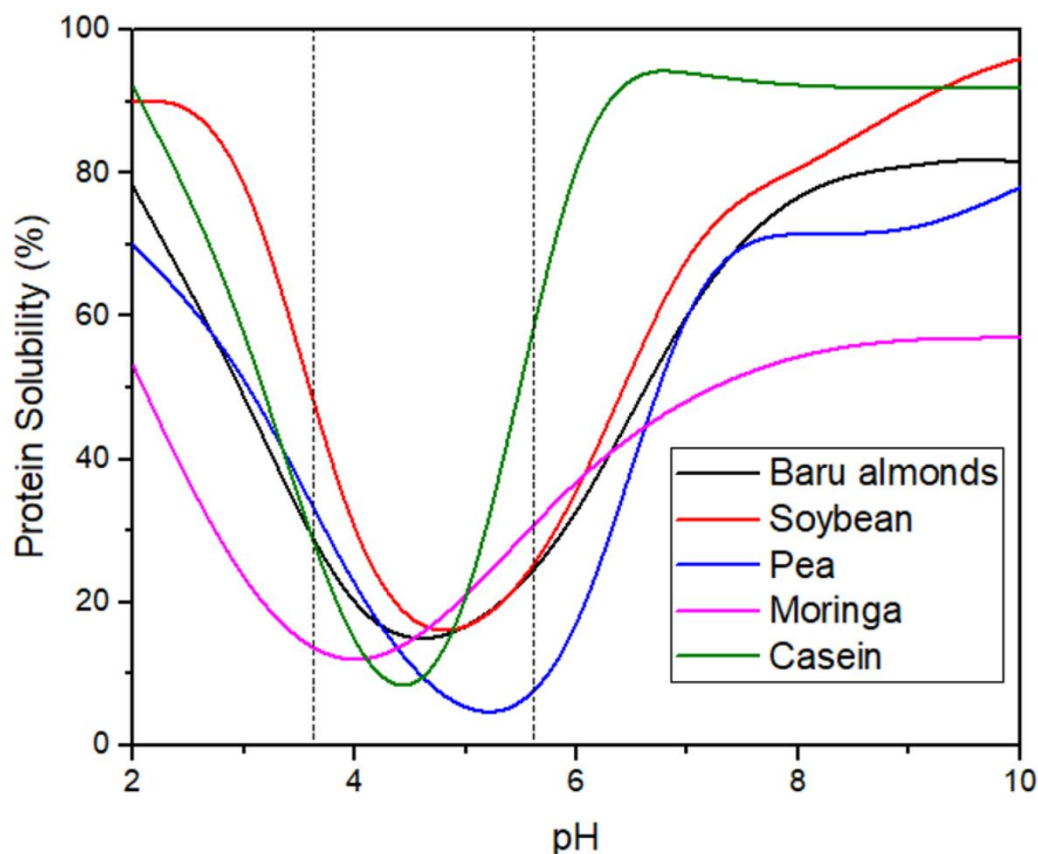


Figure 3. Solubility profile of proteins from baru almond [37], soybean [52], *Moringa oleifera* leaves [53], pea [54] and sodium caseinate [55], with their isoelectric point (pI) region indicated by vertical black lines. The pI of baru almond proteins (pI = 4.8) is specifically marked with a vertical red line. Adapted with permission from [37], 2016, John Wiley and Sons; ref. [52] 1976, American Chemical Society, ref. [54], 2013, Elsevier, ref. [55], 2009, Cambridge University and ref. [53], 2020, Creative Commons license.

At acidic pH (3–5), near to their pI, baru proteins experience a sharp decrease in solubility, similar to soy protein isolate and sodium caseinate, which form precipitates near their pI. This reduced solubility limits their use in low-pH products like beverages and acidic dressings, where high solubility is essential for stability.

Several strategies have been proposed to improve the solubility of plant proteins in acidic conditions. Enzymatic hydrolysis, which generates peptides with enhanced solubility [56], and complexation with highly soluble proteins, such as whey proteins, have both been shown to enhance protein solubilization and resistance to aggregation [57]. Additionally, modifications such as the use of sodium alginate under microwave radiation [58] and the combination of pulsed

electric field with pH shifting have demonstrated improvements in protein solubility [59]. Future research could explore the use of stabilizers, such as gum Arabic [60], in combination with baru protein isolate to improve protein stability under acidic conditions, potentially broadening their application in various food matrices by preventing precipitation and increasing solubility at acidic pH.

Despite their limitations at acidic pH, the solubility profile and mild flavor of baru proteins position them as a promising alternative to soy in neutral pH applications, such as plant-based beverages. With plant proteins representing only 18% of protein-rich beverages, the underrepresentation in this market highlights a significant opportunity for innovative product development using baru proteins [61].

The solubility of baru proteins across different pHs plays a crucial role in their incorporation into aqueous systems and in enhancing their functional properties, such as emulsification. This functionality is essential in stabilizing food systems, including emulsified products like non-dairy creams and protein-enriched drinks, further expanding the potential uses of baru proteins in the food industry.

5.2. Emulsifying Activity and Stability

Emulsifying capacity (EC) measures the efficiency of proteins emulsification and it is calculated as the ratio of emulsion layer height to the total mixture height after mechanical emulsification. Emulsifying kinetic stability (ES) evaluates the percentage of emulsion that remains stable over time, determined by the ratio of initial to remaining emulsion volume after stress tests like centrifugation, heating, or storage [62]. Table 2 presents the emulsifying properties of baru proteins, offering a comparison with other high-protein sources.

182 Table 2. Techno-functional properties of baru almonds and other high proteins sources.

	Emulsifyin g Capacity (EC) (%)	Emulsifyin g Stability (ES) (%)	Foam Capacity (FC) (%)	Foam Stability (FS) (%)	Water- Holding Capacity (%)	Oil- Holding Capacity (%)	Experimental Conditions
Baru almond protein isolate (BPI) [37]	54.80	53.90	58.30	96.0	118.30	155.50	pH 7.0; ES: 70 °C/30 min; FS: 60 min.
Baru almond protein concentrate (BPC) [62]	55.00	51.00	95.00	23.00	193.84	205.28	pH 7.0; ES: 80 °C/30 min; FS: 60 min.
Defatted baru almond flour (DBF) [62]	51.00	50.00	69.00	35.00	225.98	199.80	pH 7.0; ES: 80 °C/30 min; FS: 60 min. after.
Soybean protein Isolate (SPI) [37]	48.20	47.50	25.00	92.00	310.90	60.00	pH 7.0; ES: 80 °C/30 min; FS: 60 min.
<i>Moringa</i> <i>oleifera</i> leaf protein isolate [53,63]	20.00	35.00	13.00	4.00	231– 280.00	160–355.00	pH 6.0; ES: 70 °C/30 min; FS: 10 min.
Sodium caseinate [64– 66]	30.00	19.50	290.00	40.00	300.00	280.00	pH 7,0; ES: 80 °C/30 min; FS: 30 min.
Pea protein isolate [54,64,67]	57.10	60.00	300.00	58.00	300– 430.00	110–250.00	pH 7,0; ES:7 days; FS:5 min.

Whey protein isolate [64,68–71].	41.00	57.65	320.00	35.00	20.00	320.00	pH 7,5; ES: 10 min; FS: 30 min.
--	-------	-------	--------	-------	-------	--------	---------------------------------------

The DBF showed EC and ES (51 and 50%, respectively) slightly smaller than BPC (55 and 51%, respectively) and BPI (55 and 54%, respectively). Despite the higher protein content of BPI (84.11 g.100 g⁻¹) compared to DBF (49.00 g.100 g⁻¹) and BPC (57.65 g.100 g⁻¹), there is no significant improvement in EC and ES, suggesting that these properties depend more on the quality than the quantity of soluble proteins [37,62,72]. The emulsifying properties of baru almond proteins are largely attributed to their high globulin content, typical of legume seeds like soybeans. Globulins are amphipathic, with both hydrophobic and hydrophilic regions, allowing them to adsorb to the oil–water interface and reduce interfacial tension. This enables them to stabilize oil-in-water emulsions effectively. The molecular structure of globulins, which facilitates their ability to form stable layers around oil droplets, makes them efficient emulsifiers in various food applications [73,74].

Compared to other proteins, BPI offers competitive emulsifying properties. It surpasses sodium caseinate (30%) and *Moringa oleifera* protein isolate (20%) in EC, demonstrating its potential as a robust plant-based emulsifier. Furthermore, BPI's EC is comparable to that of soy (48.2%) and pea protein isolates (57.1%), both widely used plant-based emulsifiers in foods like cereals, bakery, and meat products. However, BPI EC is lower than whey protein isolate (73.4%), which is known for its superior solubility and interfacial activity. Whey, soy, and egg proteins are often associated with allergenic reactions, making it essential to evaluate the allergenicity of baru proteins to ensure they meet low-allergenicity standards.

At neutral pH, baru proteins display adequate EC and emulsifying stability (ES), making them suitable for plant-based beverages. Defatted baru flour (DBF) has shown potential as a wheat flour substitute, with 25% DBF cookies achieving sensory acceptance comparable to wheat-based counterparts and enhancing nutritional value [75]. Baru almonds have also been utilized in innovative products, such as protein-enriched cereal bars and vegan “Dulce de leche”, both receiving high sensory scores (higher than 7) for appearance, flavor, and texture [14,76].

The EC and ES of baru almond proteins, particularly in the forms of defatted flour, protein concentrate, and isolate, highlight their potential as versatile emulsifying agents in various food applications. Also, baru almond proteins may offer advantages as a lower-allergen alternative to traditional emulsifiers, pending further studies on allergenicity. These findings suggest that baru almond proteins could serve as valuable ingredients in developing plant-based food products and clean-label formulations, expanding their potential applications in the food industry.

5.3. Foam Capacity and Stability

Foam capacity (FC) and foam stability (FS) are essential properties in aerated food products, influencing texture and structure in products like breads, cakes, meringues, and ice creams. FC refers to the volume of foam that proteins

generate, while FS describes the protein's ability to stabilize the foam against gravitational and mechanical stress.

FC and FS values for baru proteins and other proteins are presented in Table 2. BPI demonstrates an FC of 58.30%, surpassing soybean protein isolate (SPI, 25.00%) and Moringa oleifera protein isolate (13.00%). Conversely, higher SPI FC values reported in other studies (82.00% to 250.00%) highlight the influence of blending speed and time, suggesting similar adjustments could enhance the FC of BPI [64,77,78].

The FC and FS of BPC (95.00% and 23.00%, respectively) and DBF (69.00% and 35.00%, respectively) differ from BPI (58.30% and 96%, respectively), reflecting the impact of extraction processes on protein structure. In BPI, globulins are the main protein fraction, forming viscoelastic films that enhance foam stability [79,80]. Although its FC is lower than whey (320.00%), pea (300.00%), and sodium caseinate (290.00%), its superior FS (96.00% vs. 35–58.00%) makes it ideal for stable foam applications like whipped toppings and vegan meringues.

Future research could explore how various processing techniques influence the foaming properties of plant proteins, potentially enhancing their functionality in food applications. For instance, high-intensity ultrasound has been shown to modify the structure of soy protein isolates, leading to improved foaming capacity by reducing particle size and altering interfacial properties [78]. Similarly, heat treatments can affect the surface hydrophobicity and solubility of soy protein concentrates, thereby enhancing their foaming properties [81]. Additionally, the glycation reaction, when combined with ultrasound treatment, has been reported to improve the foaming properties of brewer's spent grain protein [82]. Investigating these and other processing methods, such as enzymatic hydrolysis and pH modification, could provide valuable insights into optimizing the foaming characteristics of plant proteins for diverse food applications.

5.4. Gelation

Gelation (GE) is a key techno-functional property for developing structured plant-based foods, such as meat, egg, yogurt, and cheese analogs. It typically occurs through thermal denaturation, where protein molecules unfold, aggregate, and form a protein network.

While extensive studies have focused on the emulsifying and foaming capacities of baru proteins, their gelation properties remain largely unexplored, representing a critical knowledge gap. Considering insights from other plant-based proteins, as soy proteins (12%) and pea proteins (14%), they require higher concentrations compared to animal proteins like ovalbumin (1%) to achieve gelation [67,83,84]. These variations highlight how protein type and molecular composition influence gelation behavior. Smaller globular proteins, such as those predominant in pea protein, require higher concentrations to form a gel. Since globulins are the major protein fraction in baru almond, further research is needed to determine the least gelation concentration of its protein

concentrates and isolates, as well as the gelation behavior of individual protein fractions. Additionally, studies on their denaturation temperature and its impact on gel strength are essential to better understand their functionality [22,83,85].

Given the unique protein profile of baru almonds, investigating the gelation properties of baru proteins under various conditions may further expand their application in different food matrices, offering functional and textural benefits that align with the growing demand for plant-based, texture-optimized foods. Future research should explore the effects of protein concentration and thermal treatments on the gelation behavior of baru proteins. Studies on almond proteins have shown that heating protein solutions (3.6% protein (w/v), 85–95 °C, 30 min) can induce gel formation with high water-holding capacity and gel strength comparable to dairy gels [86]. Additionally, enzymatic hydrolysis has been reported to modify the gelation properties of almond proteins (8% protein (w/v), 85 °C, 30 min), where limited hydrolysis (degree of hydrolysis less than 10%) resulted in gels with improved water-holding capacity and texture [87]. Investigating similar conditions for baru proteins, including varying protein concentrations, thermal treatments, and enzymatic modifications, could provide valuable insights into optimizing their gelation properties for diverse food applications.

5.5. Water- and Oil-Holding Capacity

Water-holding capacity (WHC) measures a protein's ability to retain water. In applications such as soups, baked goods, meat analogues, sausages, and custards, high WHC helps maintain moisture and product stability. For example, in meat analogues, plant proteins with high WHC contribute to replicating the texture and juiciness of traditional meat. In emulsified meat products, such as sausages and mortadella, WHC influences gel formation, ensuring product integrity and preventing phase separation. On the other hand, oil-holding capacity (OHC) indicates a protein's ability to retain oil, enhancing flavor, mouthfeel, and structure in lipid-rich foods. In cheeses and sauces, high OHC helps maintain a creamy and homogeneous texture. Additionally, OHC plays a crucial role in restructured meats and meat substitutes, where oil retention improves texture and enhances the sensory profile of the final product [88,89,90,91,92].

Interestingly, studies in the literature have shown that the WHC of baru proteins decreases as protein concentration increases, with DBF exhibiting the highest WHC value (225.98%, 49.00 g·100 g⁻¹), followed by BPC (193.84%, 57.65 g·100 g⁻¹) and BPI (118.30%, 88.40 g·100 g⁻¹) [37,62]. This decline in WHC for BPI is likely associated with conformational changes induced during the acid precipitation step during protein extraction, leading to partial protein aggregation and reduced structural flexibility [58]. Additionally, this step further alters protein conformation, decreasing the availability of hydrophilic sites and contributing to WHC reduction [93]. Similarly, OHC shows a decreasing trend, with DBF exhibiting the highest value (199.80%) compared to BPI (155.50%), likely due to the loss of low-molecular-weight protein fractions, such as albumins and globulins, during the extraction process [37,62].

Baru proteins have a distinct amino acid profile that contributes to their functional properties. Hydrophilic amino acids like lysine and glutamine enhance WHC, while hydrophobic residues such as leucine and phenylalanine improve OHC [26,94,95]. Compared to other isolates, BPI's WHC is lower than pea (300–430%), soybean (310.90%), and sodium caseinate (300%), but higher than whey protein isolate. This balance between moisture retention and solubility supports its use in formulations requiring enhanced texture and stability.

BPI demonstrates a higher OHC (155.50%) than soybean protein isolate (60.00%), enhancing its suitability for fat-rich foods, but it falls short of whey protein isolate (320.00%) and sodium caseinate (280.00%) [37,66,69]. The superior OHC of caseins are attributed to their flexible structures, which expose more hydrophobic sites compared to the globular proteins in baru almonds. These differences highlight BPI's potential for specific lipid-rich food applications, despite structural limitations.

Furthermore, OHC of BPI (155.50%) is comparable to the lower range of pea (110–250.00%), and *Moringa oleifera* leaves (160–355.00%) protein isolates, likely due to the similar globulin composition of pea and baru proteins. However, the specific proteins in baru almonds remain unidentified, warranting further research to better understand and optimize BPI's structural properties for targeted industrial applications.

These intermediate WHC and OHC values position baru proteins as a promising alternative for food formulations requiring moderate water and oil retention, such as meat substitutes, sauces, and bakery products. Moreover, the balanced amino acid profile and compatibility with other protein sources highlight their potential as a functional ingredient.

6. Conclusions

Baru almond proteins hold significant potential as a sustainable and versatile ingredient for the food industry. Their balanced nutritional profile, which meets all FAO essential amino acid standards and their functional properties make them ideal for incorporation into diverse food products, including vegan and plant-based formulations. Advanced extraction methods can optimize their usability and efficiency, supporting industrial scalability. Furthermore, the utilization of baru almonds promotes Cerrado conservation and regional socio-economic development, aligning with global sustainability goals.

However, despite their promising functional characteristics, the gelation properties of baru proteins remain underexplored. A deeper understanding of their gel-forming behavior is crucial for expanding their applications in food systems, particularly in texturized plant-based products. Continued research on optimizing their functionality, including gelation mechanisms and allergenic potential, is essential to fully harness their applications in innovative food formulations.

Author Contributions

N.M.R.M., data curation, formal analysis, investigation, methodology, validation, and writing—original draft. E.A.H., formal analysis, methodology, validation, visualization, and writing—review and editing. J.d.P.R., formal analysis, methodology, validation, visualization, and writing—review and editing. M.C.T.R.V., methodology, resources, validation, visualization, and writing—review and editing. A.C.d.S.P., conceptualization, funding acquisition, resources, validation, visualization, and writing—review and editing. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding

This research was funded by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior—Brasil (CAPES)—Finance Code 001, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq: 311788/2021-1; 406919/2021-6; 403724/2023-6), Fundação de Apoio à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG: APQ-02024-21; APQ-00823-22; APQ-03953-22; BPD-00305-22; RED-00186-22), and Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP 01.23.0632.00).

Institutional Review Board Statement

Not applicable.

Informed Consent Statement

Not applicable.

Data Availability Statement

No new data were created or analyzed in this study.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Abbreviations

The following abbreviations are used in this manuscript:

BPC Baru protein concentrate

BPI Baru protein isolate

DBF Defatted baru almond flour

DES Deep eutectic solvents

EA Enzyme-assisted extraction

EAA Essential amino acids

EC Emulsifying capacity

ES Emulsifying kinetic stability

FC Foam capacity

FS Foam stability

391	GE	Gelation
392	HBA	Hydrogen bond acceptor
393	HBD	Hydrogen bond donor
394	IPD	In vitro protein digestibility
395	OHC	Oil-holding capacity
396	PEF	Pulsed electric field
397	pI	Isoelectric point
398	SPI	Soybean protein isolate
399	US	Ultrasound-assisted extraction
400	WHC	Water-holding capacity

401 References

- 402 1. Mohammad, Z.H.; Ahmad, F.; Ibrahim, S.A. Biotechnology Approaches to
403 Food Security: Risks and Solutions. In *Microbial Biotechnology in the Food*
404 *Industry*; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2024; pp. 1–
405 13.
- 406 2. Wang, J.; Azam, W. Natural Resource Scarcity, Fossil Fuel Energy
407 Consumption, and Total Greenhouse Gas Emissions in Top Emitting
408 Countries. *Geosci. Front.* **2024**, *15*, 101757.
409 <https://doi.org/10.1016/j.gsf.2023.101757>.
- 410 3. Messina, M.; Duncan, A.M.; Glenn, A.J.; Mariotti, F. Perspective: Plant-Based
411 Meat Alternatives Can Help Facilitate and Maintain a Lower Animal to Plant
412 Protein Intake Ratio. *Adv. Nutr.* **2023**, *14*, 392–405.
413 <https://doi.org/10.1016/j.advnut.2023.03.003>.
- 414 4. Webb, D.; Dogan, H.; Li, Y.; Alavi, S. Use of Legume Flours and Fiber for
415 Tailoring Structure and Texture of Pea Protein-based Extruded Meat
416 Alternatives. *J. Food Sci.* **2023**, *88*, 57–71. [https://doi.org/10.1111/1750-](https://doi.org/10.1111/1750-3841.16397)
417 [3841.16397](https://doi.org/10.1111/1750-3841.16397).
- 418 5. Webb, D.; Dogan, H.; Li, Y.; Alavi, S. Physico-Chemical Properties and
419 Texturization of Pea, Wheat and Soy Proteins Using Extrusion and Their
420 Application in Plant-Based Meat. *Foods* **2023**, *12*, 1586.
421 <https://doi.org/10.3390/foods12081586>.
- 422 6. Webb, D.; Li, Y.; Alavi, S. Chemical and Physicochemical Features of
423 Common Plant Proteins and Their Extrudates for Use in Plant-Based Meat.
424 *Trends Food Sci. Technol.* **2023**, *131*, 129–138.
- 425 7. Zhang, X.; Zhao, Y.; Zhang, T.; Zhang, Y.; Jiang, L.; Sui, X. Potential of
426 Hydrolyzed Wheat Protein in Soy-Based Meat Analogues: Rheological,
427 Textural and Functional Properties. *Food Chem.* **2023**, *20*, 100921.
428 <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100921>.
- 429 8. Khatri, P.; Kumar, P.; Shakya, K.S.; Kirlas, M.C.; Tiwari, K.K. Understanding
430 the Intertwined Nature of Rising Multiple Risks in Modern Agriculture and
431 Food System. *Environ. Dev. Sustain.* **2023**, *26*, 24107–24150.
432 <https://doi.org/10.1007/s10668-023-03638-7>.

9. Deprá, M.C.; Dias, R.R.; Sartori, R.B.; de Menezes, C.R.; Zepka, L.Q.; Jacob-Lopes, E. Nexus on Animal Proteins and the Climate Change: The Plant-Based Proteins Are Part of the Solution? *Food Bioprod. Process.* **2022**, *133*, 119–131. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.03.006>.
10. Colgrave, M.L.; Dominik, S.; Tobin, A.B.; Stockmann, R.; Simon, C.; Howitt, C.A.; Belobrajdic, D.P.; Paull, C.; Vanhercke, T. Perspectives on Future Protein Production. *J. Agric. Food Chem.* **2021**, *69*, 15076–15083. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c05989>.
11. Sharma, G.M.; Ma, Y.; Luccioli, S. Recalls Associated with Food Allergens and Gluten in FDA-Regulated Foods from Fiscal Years 2013 to 2019. *J Food Prot* **2023**, *86*, 100069. <https://doi.org/10.1016/j.jfp.2023.100069>.
12. Boukid, F.; Hassoun, A.; Zouari, A.; Tülbek, M.; Mefleh, M.; Aït-Kaddour, A.; Castellari, M. Fermentation for Designing Innovative Plant-Based Meat and Dairy Alternatives. *Foods* **2023**, *12*, 1005. <https://doi.org/10.3390/foods12051005>.
13. Nikbakht Nasrabadi, M.; Sedaghat Doost, A.; Mezzenga, R. Modification Approaches of Plant-Based Proteins to Improve Their Techno-Functionality and Use in Food Products. *Food Hydrocoll.* **2021**, *118*, 106789. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106789>.
14. Lima, D.S.; Egea, M.B.; Cabassa, I. de C.C.; Almeida, A.B. de; Sousa, T.L. de; Lima, T.M. de; Loss, R.A.; Volp, A.C.P.; Vasconcelos, L.G. de; Dall'Oglio, E.L.; Hernandez, T.; Takeuchi, K. P. Technological Quality and Sensory Acceptability of Nutritive Bars Produced with Brazil Nut and Baru Almond Coproducts. *Lwt* **2021**, *137*, 110467. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110467>.
15. Alves-Santos, A.M.; Fernandes, D.C.; Naves, M.M.V. Baru (*Dipteryx alata* Vog.) Fruit as an Option of Nut and Pulp with Advantageous Nutritional and Functional Properties: A Comprehensive Review. *NFS J.* **2021**, *24*, 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.nfs.2021.07.001>.
16. Lima, M.d.C.; do Nascimento, H.M.A.; da Silva, J.Y.P.; de Brito Alves, J.L.; de Souza, E.L. Evidence for the Beneficial Effects of Brazilian Native Fruits and Their By-Products on Human Intestinal Microbiota and Repercussions on Non-Communicable Chronic Diseases—A Review. *Foods* **2023**, *12*, 3491. <https://doi.org/10.3390/foods12183491>.
17. WWF-Brazil Conversion in the Brazilian Cerrado Increases by 25% in 2022 and Registers the Highest Rate in 7 Years. Available online: <https://www.wwf.org.br/?84401/Deforestation-in-the-Brazilian-Cerrado-increases-by-25-in-2022-and-registers-the-highest-rate-in-seven-years> (accessed on 27 March 2025).
18. Silva, B.d.O.; Moitinho, M.R.; Panosso, A.R.; Oliveira, D.M.d.S.; Montanari, R.; Moraes, M.L.T.d.; Milori, D.M.B.P.; Bicalho, E.d.S.; La Scala, N. Implications of Converting Native Forest Areas to Agricultural Systems on the Dynamics of CO₂ Emission and Carbon Stock in a Cerrado Soil, Brazil. *J. Environ. Manag.* **2024**, *358*, 120796. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.120796>.
19. Fact MR Baru Nuts Market. Available online: <https://www.factmr.com/report/1362/baru-nuts-market> (accessed on 27 March 2025).
20. Oliveira-Alves, S.C.; Pereira, R.S.; Pereira, A.B.; Ferreira, A.; Mecha, E.; Silva, A.B.; Serra, A.T.; Bronze, M.R. Identification of Functional Compounds

- in Baru (*Dipteryx alata* Vog.) Nuts: Nutritional Value, Volatile and Phenolic Composition, Antioxidant Activity and Antiproliferative Effect. *Food Res. Int.* **2020**, *131*, 109026. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109026>.
21. Souza, R.G.M.; Gomes, A.C.; de Castro, I.A.; Mota, J.F. A Baru Almond–Enriched Diet Reduces Abdominal Adiposity and Improves High-Density Lipoprotein Concentrations: A Randomized, Placebo-Controlled Trial. *Nutrition* **2018**, *55–56*, 154–160. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2018.06.001>.
 22. da Cruz, K.S.; da Silva, M.A.; de Freitas, O.D.; Neves, V.A. Partial Characterization of Proteins from Baru (*Dipteryx alata* Vog) Seeds. *J. Sci. Food Agric.* **2011**, *91*, 2006–2012. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4410>.
 23. Siqueira, A.P.S.; Pacheco, M.T.B.; Naves, M.M. V. Nutritional Quality and Bioactive Compounds of Partially Defatted Baru Almond Flour. *Food Sci. Technol.* **2015**, *35*, 127–132. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6532>.
 24. Ravindran, N.; Kumar Singh, S.; Singha, P. A Comprehensive Review on the Recent Trends in Extractions, Pretreatments and Modifications of Plant-Based Proteins. *Food Res. Int.* **2024**, *190*, 114575. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114575>.
 25. FAO. *Dietary Protein Quality Evaluation in Human Nutrition*; FAO: Auckland, New Zealand, 2011.
 26. Fernandes, D.C.; Freitas, J.B.; Czeder, L.P.; Naves, M.M. V. Nutritional Composition and Protein Value of the Baru (*Dipteryx alata* Vog.) Almond from the Brazilian Savanna. *J. Sci. Food Agric.* **2010**, *90*, 1650–1655. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3997>.
 27. Clatterbuck, K.L.; Kehrberg, N.L.; Marable, N.L. Solubility and in Vitro Digestibility of Soy Flours, Concentrates and Isolates. *J. Food Sci.* **1980**, *45*, 931–935. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1980.tb07481.x>.
 28. Pires, C.V.; Oliveira, M.G.d.A.; Rosa, J.C.; Costa, N.M.B. Qualidade Nutricional e Escore Químico de Aminoácidos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2006**, *26*, 179–187.
 29. Pedersen, B.; Eggum, B.O. Prediction of Protein Digestibility by an in Vitro Enzymatic PH-stat Procedure. *Z. Tierphysiol. Tierernahr. Futtermittelkd.* **1983**, *49*, 265–277. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.1983.tb00808.x>.
 30. Benhammouche, T.; Melo, A.; Martins, Z.; Faria, M.A.; Pinho, S.C.M.; Ferreira, I.M.L.P.V.O.; Zaidi, F. Nutritional Quality of Protein Concentrates from *Moringa oleifera* Leaves and in Vitro Digestibility. *Food Chem.* **2021**, *348*, 128858. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128858>.
 31. Millar, K.A.; Gallagher, E.; Burke, R.; McCarthy, S.; Barry-Ryan, C. Proximate Composition and Anti-Nutritional Factors of Fava-Bean (*Vicia faba*), Green-Pea and Yellow-Pea (*Pisum sativum*) Flour. *J. Food Compos. Anal.* **2019**, *82*, 103233. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103233>.
 32. Trigo, C.; Castelló, M.L.; Ortolá, M.D. Potentiality of *Moringa oleifera* as a Nutritive Ingredient in Different Food Matrices. *Plant Foods Hum. Nutr.* **2023**, *78*, 25–37. <https://doi.org/10.1007/s11130-022-01023-9>.
 33. Aracava, K.K.; Capellini, M.C.; Gonçalves, D.; Soares, I.D.; Margoto, C.M.; Rodrigues, C.E.C. Valorization of the Baru (*Dipteryx alata* Vog.) Processing Chain: Technological Properties of Defatted Nut Flour and Oil Solubility in Ethanol and Isopropanol. *Food Chem.* **2022**, *383*, 132587. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132587>.
 34. Lima, D.C.; Noguera, N.H.; del Pilar Flores Granados, A.; Rodrigues, R.A.F. Hydrocolloids and Partially Defatted Cake on Encapsulation of Baru Oil

- (*Dipteryx alata* Vogel): A Study on Emulsion, Particle, and Oxidative Stability. *Food Bioproc Tech.* **2023**, *16*, 2598–2610. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03087-0>.
35. Choudhry, R.; Yasmin, A.; Aslam, M.A.; Imran, A.; Ahmad, R.S.; Saeed, F.; Islam, F.; Zahoor, T.; Shah, M.A.; Rasool, A. Extraction of Protein from Apricot Kernel Oil Press Cake through Innovative Techniques and the Formulation of Supplemented Yogurt. *Food Sci. Nutr.* **2023**, *11*, 6085–6095. <https://doi.org/10.1002/fsn3.3544>.
 36. Chañi-Paucar, L.O.; Osorio-Tobón, J.F.; Johner, J.C.F.; Meireles, M.A.A. A Comparative and Economic Study of the Extraction of Oil from Baru (*Dipteryx alata*) Seeds by Supercritical CO₂ with and without Mechanical Pressing. *Heliyon* **2021**, *7*. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e05971>.
 37. Nunes, Â.A.; Favaro, S.P.; Miranda, C.H.B.; Neves, V.A. Preparation and Characterization of Baru (*Dipteryx alata* Vog) Nut Protein Isolate and Comparison of Its Physico-Chemical Properties with Commercial Animal and Plant Protein Isolates. *J. Sci. Food Agric.* **2016**, *97*, 151–157. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7702>.
 38. Guimarães, R.d.C.A.; Favaro, S.P.; Souza, A.D.V. de; Soares, C.M.; Nunes, Â.A.; Oliveira, L.C.S. de; Honer, M.R. Thermal Properties of Defatted Meal, Concentrate, and Protein Isolate of Baru Nuts (*Dipteryx alata* Vog.). *Food Sci. Technol.* **2012**, *32*, 52–55. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000031>.
 39. Yang, J.; Kornet, R.; Ntone, E.; Meijers, M.G.J.; van den Hoek, I.A.F.; Sagis, L.M.C.; Venema, P.; Meinders, M.B.J.; Berton-Carabin, C.C.; Nikiforidis, C.V. Plant Protein Aggregates Induced by Extraction and Fractionation Processes: Impact on Techno-Functional Properties. *Food Hydrocoll.* **2024**, *155*, 110223.
 40. Hernández-Álvarez, A.J.; Mondor, M.; Nosworthy, M.G. *Green Protein Processing Technologies from Plants: Novel Extraction and Purification Methods for Product Development*; Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2023; ISBN 9783031169687.
 41. Gao, K.; Rao, J.; Chen, B. Plant Protein Solubility: A Challenge or Insurmountable Obstacle. *Adv. Colloid. Interface Sci.* **2024**, *324*, 103074.
 42. Hadidi, M.; Aghababaei, F.; McClements, D.J. Enhanced Alkaline Extraction Techniques for Isolating and Modifying Plant-Based Proteins. *Food Hydrocoll.* **2023**, *145*, 109132.
 43. Das, R.S.; Zhu, X.; Hannon, S.; Mullins, E.; Alves, S.; Garcia-Vaquero, M.; Tiwari, B.K. Exploring Osborne Fractionation and Laboratory/Pilot Scale Technologies (Conventional Extraction, Ultrasound-Assisted Extraction, High-Pressure Processing and Hydrodynamic Cavitation) for Protein Extraction from Faba Bean (*Vicia faba* L.). *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **2023**, *89*, 103487. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2023.103487>.
 44. Tigar, M.; Silcock, P.; Carne, A.; Birch, E.J. Effect of Extraction Method on Functional Properties of Flaxseed Protein Concentrates. *Food Chem.* **2017**, *215*, 417–424. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.002>.
 45. Perović, M.N.; Pajin, B.S.; Antov, M.G. The Effect of Enzymatic Pretreatment of Chickpea on Functional Properties and Antioxidant Activity of Alkaline Protein Isolate. *Food Chem.* **2022**, *374*, 131809. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131809>.

46. Thongkong, S.; Klangpetch, W.; Unban, K.; Tangjaidee, P.; Phimolsiripol, Y.; Rachtanapun, P.; Jantanasakulwong, K.; Schönlechner, R.; Thipchai, P.; Phongthai, S. Impacts of Electroextraction Using the Pulsed Electric Field on Properties of Rice Bran Protein. *Foods* **2023**, *12*, 835. <https://doi.org/10.3390/foods12040835>.
47. Purdi, T.S.; Setiowati, A.D.; Ningrum, A. Ultrasound-Assisted Extraction of *Spirulina Platensis* Protein: Physicochemical Characteristic and Techno-Functional Properties. *J. Food Meas. Charact.* **2023**, *17*, 5474–5486. <https://doi.org/10.1007/s11694-023-02051-y>.
48. Sert, D.; Rohm, H.; Struck, S. Ultrasound-Assisted Extraction of Protein from Pumpkin Seed Press Cake: Impact on Protein Yield and Techno-Functionality. *Foods* **2022**, *11*, 4029. <https://doi.org/10.3390/foods11244029>.
49. Tang, Q.; Roos, Y.H.; Miao, S. Structure, Gelation Mechanism of Plant Proteins versus Dairy Proteins and Evolving Modification Strategies. *Trends Food Sci. Technol.* **2024**, *147*, 104464. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104464>.
50. Ramaswamy, R.; Bala Krishnan, S. Pulsed Electric Field Treatment in Extracting Proteins from Legumes: A Review. *Processes* **2024**, *12*, 2667. <https://doi.org/10.3390/pr12122667>.
51. Lin, Z.; Jiao, G.; Zhang, J.; Celli, G.B.; Brooks, M.S.-L. Optimization of Protein Extraction from Bamboo Shoots and Processing Wastes Using Deep Eutectic Solvents in a Biorefinery Approach. *Biomass Convers. Biorefin.* **2021**, *11*, 2763–2774. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-00614-3>.
52. Franzen, K.L.; Kinsella, J.E. Functional Properties of Succinylated and Acetylated Soy Protein. *J. Agric. Food Chem.* **1976**, *24*, 788–795. <https://doi.org/10.1021/jf60206a036>.
53. Roger, R.A.; Rawdkuen, S. Properties of *Moringa oleifera* Leaf Protein from Alkaline–acid Extraction. *Food Appl. Biosci. J.* **2020**, *8*, 43–67.
54. Liang, H.N.; Tang, C.H. PH-Dependent Emulsifying Properties of Pea [*Pisum sativum* (L.)] Proteins. *Food Hydrocoll.* **2013**, *33*, 309–319. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.04.005>.
55. Foley, J.; O'Connell, C. Comparative Emulsifying Properties of Sodium Caseinate and Whey Protein Isolate in 18% Oil in Aqueous Systems. *J. Dairy. Res.* **1990**, *57*, 377–391. <https://doi.org/10.1017/S0022029900027035>.
56. Qi, X.; Luo, Y.; Fei, W.; Shen, M.; Chen, Y.; Yu, Q.; Xie, J. Effects of Enzyme Hydrolysis-Assisted Fibrillation Treatment on the Solubility, Emulsifying Properties and Antioxidant Activity of Rice Protein. *Int. J. Biol. Macromol.* **2024**, *279*, 135378. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135378>.
57. Alrosan, M.; Tan, T.; Easa, A.M.; Gammoh, S.; Alu'datt, M.H. Mechanism of the Structural Interaction between Whey and Lentil Proteins in the Unique Creation of a Protein Structure. *J. Food Sci.* **2021**, *86*, 5282–5294. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15974>.
58. Meng, X.; Li, T.; Song, T.; Chen, C.; Venkitasamy, C.; Pan, Z.; Zhang, H. Solubility, Structural Properties, and Immunomodulatory Activities of Rice Dreg Protein Modified with Sodium Alginate under Microwave Heating. *Food Sci. Nutr.* **2019**, *7*, 2556–2564. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1105>.
59. Wang, R.; Wang, L.H.; Wen, Q.H.; He, F.; Xu, F.Y.; Chen, B.R.; Zeng, X.A. Combination of Pulsed Electric Field and PH Shifting Improves the Solubility, Emulsifying, Foaming of Commercial Soy Protein Isolate. *Food Hydrocoll.* **2023**, *134*, 108049. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108049>.

60. Zha, F.; Dong, S.; Rao, J.; Chen, B. The Structural Modification of Pea Protein Concentrate with Gum Arabic by Controlled Maillard Reaction Enhances Its Functional Properties and Flavor Attributes. *Food Hydrocoll.* **2019**, *92*, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.01.046>.
61. Ahern, N.; Arendt, E.K.; Sahin, A.W. Protein Soft Drinks: A Retail Market Analysis and Selected Product Characterization. *Beverages* **2023**, *9*, 73. <https://doi.org/10.3390/beverages9030073>.
62. Guimarães, R.d.C.A.; Favaro, S.P.; Viana, A.C.A.; Braga Neto, J.A.; Neves, V.A.; Honer, M.R. Study of the Proteins in the Defatted Flour and Protein Concentrate of Baru Nuts (*Dipteryx alata* Vog). *Food Sci. Technol.* **2012**, *32*, 464–470. <https://doi.org/10.1590/s0101-20612012005000065>.
63. Bocarando-Guzmán, M.D.; Luna-Suárez, S.; Hernández-Cázares, A.S.; Herrera-Corredor, J.A.; Hidalgo-Contreras, J.V.; Ríos-Corripio, M.A. Comparison of the Physicochemical and Functional Properties of Flour and Protein Isolate from Moringa (*Moringa oleifera* Lam.) Leaves. *Int. J. Food Prop.* **2022**, *25*, 733–747. <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2058533>.
64. Tang, Q.; Roos, Y.H.; Miao, S. Plant Protein versus Dairy Proteins: A PH-Dependency Investigation on Their Structure and Functional Properties. *Foods* **2023**, *12*, 368. <https://doi.org/10.3390/foods12020368>.
65. Furtado, G.d.F.; Mantovani, R.A.; Consoli, L.; Hubinger, M.D.; da Cunha, R.L. Structural and Emulsifying Properties of Sodium Caseinate and Lactoferrin Influenced by Ultrasound Process. *Food Hydrocoll.* **2017**, *63*, 178–188. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.08.038>.
66. Shilpashree, B.G.; Arora, S.; Chawla, P.; Vakkalagadda, R.; Sharma, A. Succinylation of Sodium Caseinate and Its Effect on Physicochemical and Functional Properties of Protein. *LWT-Food Sci. Technol.* **2015**, *64*, 1270–1277. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.07.008>.
67. Boye, J.I.; Aksay, S.; Roufik, S.; Ribéreau, S.; Mondor, M.; Farnworth, E.; Rajamohamed, S.H. Comparison of the Functional Properties of Pea, Chickpea and Lentil Protein Concentrates Processed Using Ultrafiltration and Isoelectric Precipitation Techniques. *Food Res. Int.* **2010**, *43*, 537–546. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.021>.
68. Yamauchi, K.; Shimizu, M.; Kamiya, T. Emulsifying Properties of Whey Protein. *J. Food Sci.* **1980**, *45*, 1237–1242.
69. Li, J.; Fu, J.; Ma, Y.; He, Y.; Fu, R.; Qayum, A.; Jiang, Z.; Wang, L. Low Temperature Extrusion Promotes Transglutaminase Cross-Linking of Whey Protein Isolate and Enhances Its Emulsifying Properties and Water Holding Capacity. *Food Hydrocoll.* **2022**, *125*, 107410. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.107410>.
70. Jiang, S.; Hussain, M.A.; Cheng, J.; Jiang, Z.; Geng, H.; Sun, Y.; Sun, C.; Hou, J. Effect of Heat Treatment on Physicochemical and Emulsifying Properties of Polymerized Whey Protein Concentrate and Polymerized Whey Protein Isolate. *LWT* **2018**, *98*, 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.08.028>.
71. Chobert, J.-M.; Catherine Bertrand-Harb, J.; Nicolas, M.-G. Solubility and Emulsifying Properties of Caseins and Whey Proteins Modified Enzymatically by Trypsin; *J. Agric. Food Chem.* **1988**, *36*, 883–892.
72. Mao, X.; Hua, Y. Composition, Structure and Functional Properties of Protein Concentrates and Isolates Produced from Walnut (*Juglans regia* L.). *Int. J. Mol. Sci.* **2012**, *13*, 1561–1581. <https://doi.org/10.3390/ijms13021561>.

73. Tang, C.H. Emulsifying Properties of Soy Proteins: A Critical Review with Emphasis on the Role of Conformational Flexibility. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2017**, *57*, 2636–2679.
74. Ma, J.; Pan, C.; He, R.; Chen, W.; Pei, J.; Zhong, Q.; Chen, H.; Chen, W. Physicochemical Properties and Oil-Water Interfacial Behavior of Subcritical Water-Treated Coconut (*Cocos nucifera* L.) Globulins. *Food Hydrocoll.* **2024**, *152*, 109897. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109897>.
75. Pineli, L.d.L.d.O.; de Carvalho, M.V.; de Aguiar, L.A.; de Oliveira, G.T.; Celestino, S.M.C.; Botelho, R.B.A.; Chiarello, M.D. Use of Baru (Brazilian Almond) Waste from Physical Extraction of Oil Toproduce Flour and Cookies. *LWT-Food Sci. Technol.* **2015**, *60*, 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.09.035>.
76. de Jesus, E.P.; Tech Diniz, L.G.; Alves, V.; da Silva, Y.P.; Schmitz, A.C.; Quast, L.B.; dos Passos Francisco, C.T.; Tormen, L.; Bertan, L.C. From Nut to Dulce de Leche: Development of a Vegan Alternative—Physicochemical Characterization, Microbiological Evaluation and Sensory Analysis. *Food Humanit.* **2023**, *1*, 581–588. <https://doi.org/10.1016/j.foohum.2023.06.027>.
77. Zeng, M.; Adhikari, B.; He, Z.; Qin, F.; Huang, X.; Chen, J. Improving the Foaming Properties of Soy Protein Isolate Through Partial Enzymatic Hydrolysis. *Dry. Technol.* **2013**, *31*, 1545–1552. <https://doi.org/10.1080/07373937.2013.829490>.
78. Morales, R.; Martínez, K.D.; Pizones Ruiz-Henestrosa, V.M.; Pilosof, A.M.R. Modification of Foaming Properties of Soy Protein Isolate by High Ultrasound Intensity: Particle Size Effect. *Ultrason. Sonochem* **2015**, *26*, 48–55. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.01.011>.
79. Shen, P.; Ha, S.M.L.; Peng, J.; Landman, J.; Sagis, L.M.C. Role of Pulse Globulins and Albumins in Air-Water Interface and Foam Stabilization. *Food Hydrocoll.* **2025**, *160*, 110792. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110792>.
80. Shen, P.; Peng, J.; Sagis, L.M.C.; Landman, J. Molecular, Interfacial and Foaming Properties of Pulse Proteins. *Food Hydrocoll.* **2024**, *156*, 110313. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110313>.
81. Shao, Y.; Lin, K.; Kao, Y. Modification of Foaming Properties of Commercial Soy Protein Isolates and Concentrates by Heat Treatments. *J. Food Qual.* **2016**, *39*, 695–706. <https://doi.org/10.1111/jfq.12241>.
82. Li, Q.; Li, W.; Li, L.; Zong, X.; Coldea, T.E.; Yang, H.; Zhao, H. Enhancing the Foaming Properties of Brewer's Spent Grain Protein by Ultrasound Treatment and Glycation Reaction. *Food Funct.* **2023**, *14*, 2781–2792. <https://doi.org/10.1039/D2FO03734C>.
83. Ma, K.K.; Grossmann, L.; Nolden, A.A.; McClements, D.J.; Kinchla, A.J. Functional and Physical Properties of Commercial Pulse Proteins Compared to Soy Derived Protein. *Future Foods* **2022**, *6*, 100155. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100155>.
84. Nakamura, R.; Sugiyama, H.; Sato, Y. Factors Contributing to the Heat-Induced Aggregation of Ovalbumin. *Agric. Biol. Chem.* **1978**, *42*, 819–824. <https://doi.org/10.1080/00021369.1978.10863067>.
85. Gravel, A.; Dubois-Laurin, F.; Turgeon, S.L.; Doyen, A. The Role of the 7S/11S Globulin Ratio in the Gelling Properties of Mixed β -Lactoglobulin/Pea Proteins Systems. *Food Hydrocoll.* **2024**, *156*, 110273. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110273>.

86. Devnani, B.; Ong, L.; Kentish, S.; Gras, S. Heat Induced Denaturation, Aggregation and Gelation of Almond Proteins in Skim and Full Fat Almond Milk. *Food Chem.* **2020**, *325*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126901>.
87. Zhao, J.; Bhandari, B.; Gaiani, C.; Prakash, S. Altering Almond Protein Function through Partial Enzymatic Hydrolysis for Creating Gel Structures in Acidic Environment. *Curr. Res. Food Sci.* **2022**, *5*, 653–664. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.03.012>.
88. Tarahi, M.; Abdolalizadeh, L.; Hedayati, S. Mung Bean Protein Isolate: Extraction, Structure, Physicochemical Properties, Modifications, and Food Applications. *Food Chem.* **2024**, *444*, 138626.
89. Hamid, M.A.; Shan, T.P.; Devi, M.; Pindi, W.; Akanda, J.H.; Mamat, H.; Yin, F.H. Effect of Seaweed Powder on the Quality of the Pineapple-Chili Sauce. *Adv. Soc. Sci. Educ. Humanit. Res.* **2020**, *406*, 34–39.
90. Langendörfer, L.J.; Wüst, A.; Hensel, O.; Diakité, M. Functional Properties of Legume Protein and Their Application in the Development of a Plant-Based Hollandaise Sauce. *Chem. Eng. Trans.* **2023**, *102*, 1–6. <https://doi.org/10.3303/CET23102001>.
91. Han, Z.; Liu, S.; Cao, J.; Yue, X.; Shao, J.-H. A Review of Oil and Water Retention in Emulsified Meat Products: The Mechanisms of Gelation and Emulsification, the Application of Multi-Layer Hydrogels. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2024**, *64*, 8308–8324. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2199069>.
92. Wang, W.; Jia, R.; Hui, Y.; Zhang, F.; Zhang, L.; Liu, Y.; Song, Y.; Wang, B. Utilization of Two Plant Polysaccharides to Improve Fresh Goat Milk Cheese: Texture, Rheological Properties, and Microstructure Characterization. *J. Dairy Sci.* **2023**, *106*, 3900–3917. <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22195>.
93. Jeong, M.S.; Cho, S.J. Effect of PH-Shifting on the Water Holding Capacity and Gelation Properties of Mung Bean Protein Isolate. *Food Res. Int.* **2024**, *177*. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113912>.
94. Mitaku, S.; Hirokawa, T.; Tsuji, T. Amphiphilicity Index of Polar Amino Acids as an Aid in the Characterization of Amino Acid Preference at Membrane-Water Interfaces. *Bioinformatics* **2002**, *18*, 608–616.
95. Biswas, K.M.; DeVido, D.R.; Dorsey, J.G. Evaluation of Methods for Measuring Amino Acid Hydrophobicities and Interactions. *J. Chromatogr. A* **2003**, *1000*, 637–655. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00182-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00182-1).

Disclaimer/Publisher's Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

© 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Artigo 2

Interação entre isolados proteicos de baru e do soro do leite e curcumina: Termodinâmica, foto-estabilidade e atividade antioxidante

Resumo

Este estudo avaliou a interação da curcumina (CUR) com isolados proteicos da amêndoa de baru (IPB) e do soro do leite (IPS), investigando parâmetros termodinâmicos, fotoestabilidade e atividade antioxidante dos complexos formados. A espectroscopia de fluorescência indicou supressão estática, sugerindo a formação de complexos IPB-CUR e IPS-CUR. Os valores de ΔG° negativos à 25 °C, $-18,08 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (IPB-CUR) e $-22,76 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (IPS-CUR), indicaram que a formação dos complexos foi termodinamicamente favorecida em relação à existência dos componentes na forma livre. Os valores negativos de $T\Delta S^\circ$ ($-237,82 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para IPB e $-63,81 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para IPS) refletem redução da entropia no processo. A formação dos complexos foi predominantemente guiada por interações entalpicamente favoráveis, com $\Delta H^\circ = -255,90 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para IPB-CUR e $\Delta H^\circ = -86,57 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para IPS-CUR. A interação com os isolados proteicos aumentou a fotoestabilidade da CUR, reduzindo sua constante de fotodegradação e ampliando seu tempo de meia-vida. Além disso, a complexação da CUR com isolados proteicos não inibiu sua atividade antioxidante. Portanto, os isolados proteicos estabilizam a CUR por meio da formação de complexos estáveis, destacando o IPB como uma alternativa vegetal promissora para carrear bioativos em formulações vegetais funcionais, especialmente para consumidores veganos ou intolerantes a lácteos.

1.0 Introdução

A curcumina (CUR), um polifenol bioativo extraído dos rizomas de *Curcuma longa*, apresenta efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios, antivirais e antimicrobianos amplamente reconhecidos, além de potencial aplicação como corante natural na indústria de alimentos (Hao et al., 2023; Lin et al., 2022). No entanto, sua aplicação comercial permanece limitada devido à baixa solubilidade em água, alta sensibilidade à luz, e, conseqüentemente, sua reduzida estabilidade em matrizes alimentares e sistemas biológicos (Niu et al., 2025; Yan et al., 2024).

Estratégias de estabilização, como a formação de complexos com biopolímeros, especialmente proteínas, têm se mostrado eficazes para melhorar a biodisponibilidade e a estabilidade físico-química da CUR (Hudson et al., 2019; Lelis et al., 2020; Y. Liu et al., 2018; Wang et al., 2021). As proteínas possuem múltiplos grupos funcionais capazes de interagir com compostos fenólicos, formando redes estabilizadas por interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio e forças de van der Waals (Chen et al., 2022). Nesse contexto, proteínas amplamente utilizadas, como os isolados proteicos de soro de leite (IPS), têm sido empregadas como nanocarreadores naturais para a entrega e proteção de compostos bioativos (Kannamangalam Vijayan et al., 2021; Lei et al., 2023; W. Liu et al., 2016; Racz et al., 2023; Solghi et al., 2020).

De maneira complementar, proteínas de origem vegetal vêm se destacando como alternativas sustentáveis e funcionais para o desenvolvimento de sistemas que veiculam compostos bioativos, especialmente devido às suas propriedades tecnológicas e ao apelo ambiental (Tiwari et al., 2021; Wang et al., 2021; Xu et al., 2022). O isolado proteico da amêndoa de baru (*Dipteryx alata* Vog.), uma leguminosa nativa do Cerrado brasileiro, apresenta elevado teor proteico, perfil nutricional equilibrado e boas propriedades tecnofuncionais, incluindo propriedades como emulsificante, espumante e de interação com flavonoides (Leonel et al., 2025; Lima et al., 2022; Miyashita et al., 2025; SILVA et al., 2023). Apesar desse potencial, os estudos sobre a interação do isolado proteico de baru (IPB) com compostos bioativos ainda são pouco explorados. Até o momento, a literatura reporta apenas a investigação da interação com dois flavonoides específicos, naringina e naringenina (Leonel et al., 2025), restringindo-se ao estudo de parâmetros de ligação e não contemplando outros compostos fenólicos nem aspectos como estabilidade após exposição ao calor e a luz.

No que se refere à estabilidade fotoquímica da CUR, estudos têm demonstrado que a formação de complexos com proteínas de origem animal (whey protein, albumina do soro bovino) ou vegetal (soja) podem reduzir significativamente sua taxa de fotodegradação, protegendo a CUR da exposição direta à luz (L. Fu et al., 2023b; Hudson et al., 2018; Yan et al., 2024). No entanto,

essas investigações são, em sua maioria, conduzidas de forma isolada para cada tipo de proteína, sem a realização de comparações diretas entre diferentes origens. Assim, observa-se uma lacuna na literatura no que diz respeito à avaliação comparativa entre proteínas de origem vegetal e animal na proteção da CUR frente à fotodegradação.

De forma semelhante, a capacidade antioxidante da CUR também pode ser modulada pela interação com proteínas. Estudos indicam que a formação de complexos CUR-proteínas (de origem animal ou vegetal) pode potencializar sua atividade antioxidante (Li et al., 2013; Raj et al., 2026; Solghi et al., 2020; Xu et al., 2022). No entanto, a influência específica das proteínas do isolado proteico de baru sobre a atividade antioxidante da CUR ainda não foi elucidada.

Diante disso, o presente estudo teve como objetivo investigar a formação de complexos entre a CUR e os isolados proteicos de baru (IPB) e de soro (IPS), avaliando os efeitos dessas interações sobre a atividade antioxidante e a estabilidade fotoquímica da CUR. Este trabalho contribui para o avanço no entendimento dos mecanismos moleculares de interação CUR-proteína e fornece subsídios para o desenvolvimento de sistemas de entrega eficazes para aplicação na indústria de alimentos.

2.0 Materiais e Métodos

2.1 Materiais

A amêndoa de baru (*Dipteryx alata* Vog.) foi adquirida no mercado local de Viçosa, Minas Gerais, Brasil. O isolado proteico de baru (IPB) (90,5% de proteína p/p) foi obtido em laboratório, seguindo metodologia de Leonel et al. (2025). O isolado proteico de soro de leite (IPS) foi adquirido comercialmente (Nutrichem, China), com teor proteico de 90%.

A CUR foi adquirida da Sigma-Aldrich (St. Louis, EUA), com pureza de aproximadamente 80% e massa molar de 368,38 g/mol. O dimetilsulfóxido (DMSO) (Dinâmica Química Contemporânea, Brasil), utilizado como agente solubilizante da CUR, apresenta massa molar de 78,13 g/mol. O tampão fosfato de potássio (0,01 mol/L, pH 7,4) foi preparado a partir da combinação de fosfato de sódio monobásico (NaH_2PO_4) e fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4), ambos

de grau analítico (Vetec, Brasil), com massas molares de 119,98 g/mol e 141,96 g/mol, respectivamente.

O radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) foi adquirido da Sigma-Aldrich, com massa molar de 394,32 g/mol. Os solventes metanol (grau HPLC) e n-hexano (ACS científica, Brasil) foram utilizados nas análises e extrações, ambos de grau analítico. A água utilizada nas preparações foi previamente purificada em sistema de osmose reversa (Milli-Q, Millipore, EUA).

2.2 Espectroscopia de fluorescência

As medidas de fluorescência foram realizadas em um espectrofotômetro LS55 (Perkin Elmer Inc, Waltham, EUA), utilizando cubetas de quartzo com caminho óptico de 1 cm. Foram adicionados 2 mL de suspensão de isolados proteicos (do soro ou do baru) na cubeta e titulada uma solução estoque de CUR, obtendo concentrações de 0 a $2,46 \times 10^{-5}$ mol/L de CUR na cubeta.

As suspensões de proteínas utilizadas ([IPB] = 0,26 mg/mL, [IPS] = 0,13 mg/mL) foram preparadas em tampão fosfato de potássio (pH 7,4), com 5% de DMSO. A solução estoque de CUR (8×10^{-5} mol/L), foi inicialmente preparada solubilizando a CUR em dimetilsulfóxido (DMSO) e, em seguida foi transferida para uma dispersão de isolado proteico, tendo como concentração final 5% de DMSO, com o objetivo de manter a concentração das proteínas constante durante a titulação.

O experimento de espectroscopia de fluorescência foi realizado em cinco temperaturas (20, 25, 30, 35 e 40 °C). O comprimento de onda de excitação foi 295 nm, e as fendas de excitação e emissão foram ajustadas para 3,2 nm. Os espectros de emissão foram registrados na faixa de 300 a 450 nm.

2.3 Cinética de degradação da CUR por exposição à luz

Dispersões de CUR (0,0092 mg/mL) foram preparadas em tampão fosfato (pH 7,4), contendo 5% DMSO, tanto na ausência quanto na presença de suspensões de isolados proteicos (do soro e de amêndoas de baru), em concentrações variando de 0 a 0,050 mg/mL. As amostras foram armazenadas em frascos de vidro e expostas à luz em uma câmara equipada com duas lâmpadas fluorescentes, que simulavam a luz do dia. A degradação da CUR foi

monitorada por meio de leituras de absorbância a 425 nm, utilizando um espectrofotômetro UV-Vis (Shimadzu UV-2550) a 25 °C, em intervalos de 15 minutos, durante 4 horas (Hudson et al., 2018). As análises foram realizadas em duplicata.

2.4 Atividade antioxidante da CUR

A atividade antioxidante foi determinada segundo metodologia descrita por Silva et al. (2019), com adaptações. A solução do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH) foi preparada em metanol na concentração de 0,1192 mmol/L, sendo mantida protegida da luz até o momento do uso. As amostras de CUR foram preparadas em metanol na concentração de 2 mg/mL.

Volumes de 25, 50, 75 e 100 µL do extrato metanólico das amostras de CUR foram transferidos para tubos, juntamente com 0,2 mL de água destilada, e 1,8 mL da solução de DPPH. As misturas foram incubadas em ambiente escuro, à temperatura ambiente (25 ± 2 °C) por 30 minutos. A absorbância foi medida em espectrofotômetro a 517 nm, utilizando metanol como controle.

Para a avaliação do efeito antioxidante da CUR interagindo com as proteínas dos isolados proteicos de soro (IPS) e de barú (IPB), foi utilizada a mesma metodologia, com a adição de 0,2 mL de isolados proteicos em concentração final de 0,0092 mg/mL em cada tubo. Como controle, foi utilizado metanol, água destilada, mais a solução de DPPH.

Inicialmente, foi calculada a porcentagem de inibição do radical DPPH, seguida da construção da curva de calibração, obtida por regressão linear entre a concentração do extrato (eixo x) e a porcentagem de inibição (eixo y). A partir da equação da reta, foi determinado o IC₅₀, ou seja, a concentração de extrato antioxidante necessária para inibir 50% do radical DPPH.

A capacidade antioxidante foi expressa em termos de porcentagem de inibição do radical DPPH, calculado pela Equação 1:

$$\% \text{ inibição DPPH} = \frac{(Abs_{DPPH} - Abs_{amostra})}{Abs_{DPPH}} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Em que Abs_{DPPH} é a absorbância da solução de DPPH com metanol e Abs_{amostra} é a absorbância da solução de DPPH na presença da amostra após 30 minutos de reação.

Após calcular a % inibição DPPH, a curva de calibração da concentração

de extrato de CUR *versus* % *inibição DPPH* foi plotada. A partir da regressão linear, foi determinado o IC₅₀, ou seja, a concentração de extrato de CUR necessária para inibir 50% dos radicais livres de DPPH. Foram realizadas duas replicatas para cada amostra.

3.0 Resultados e Discussão

3.1 Avaliação da formação de complexos entre CUR e isolados proteicos da amêndoa de baru (IPB) e do soro do leite (IPS)

A CUR apresenta grupos funcionais, como anéis aromáticos, grupos carbonila e hidroxilas, que podem interagir de diferentes maneiras com os fluoróforos presentes nas proteínas do isolado proteico de baru (IPB) e do isolado proteico de soro (IPS). Neste contexto, a espectroscopia de fluorescência é um método sensível, rápido e amplamente utilizado para identificar interações proteína-ligante e elucidar mudanças conformacionais em proteínas, em decorrência da formação de complexos (Kaffash et al., 2024).

Para avaliar a formação de complexos entre a CUR e os isolados proteicos (IP), espectros de fluorescência das dispersões contendo os isolados proteicos (IPB ou IPS) e concentrações crescentes de CUR, em pH 7,4. Observou-se uma diminuição da intensidade da fluorescência emitida à medida que a concentração de CUR aumentava (Figuras 1a e 1b), o que sugere a ocorrência de interações entre a CUR e os resíduos de triptofano das proteínas. Essa supressão da fluorescência foi mais pronunciada no IPB, com redução de aproximadamente 40% na intensidade de emissão de fluorescência na concentração de CUR igual a 24,6 µM, enquanto no IPS a redução foi de apenas 5% nessa mesma concentração. Esses resultados sugerem que a CUR teve mais acesso aos resíduos de triptofano das proteínas do IPB, promovendo uma supressão mais acentuada da fluorescência.

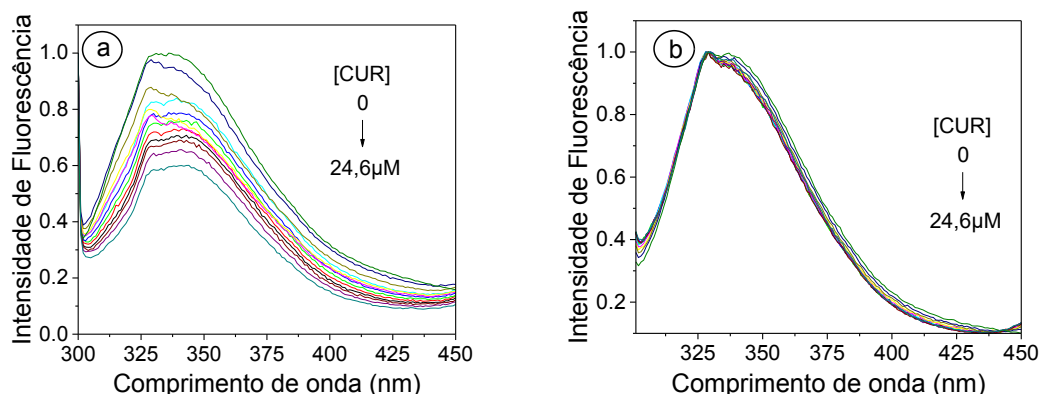


Figura 1- Espectros de emissão de fluorescência das proteínas dos isolados proteicos a) de baru e b) de soro, com diferentes concentrações de CUR, variando de 0 a 24,6 μM, em 25°C.

A supressão da fluorescência das proteínas (IPB e IPS) pode resultar de colisões ocorrendo entre as moléculas de proteínas e a CUR (supressão dinâmica) ou da formação de complexos proteína-ligante (supressão estática). Para identificar o principal mecanismo de supressão nestes sistemas, o modelo de Stern-Volmer foi ajustado aos dados de fluorescência de todas as temperaturas estudadas (Equação 2, Figuras 2a e 2b) (Tchaikovskaya et al., 2025) :

$$\frac{F_0}{F} = 1 + k_q \tau_0 [Q] = 1 + K_{sv} [CUR] \quad \text{Equação 2}$$

em que: F_0 e F representam as intensidades de fluorescência, no estado estacionário, na ausência e na presença da CUR, respectivamente. K_{sv} é a constante de supressão dinâmica de Stern-Volmer, $[CUR]$ é a concentração total da CUR, k_q é a constante de supressão biomolecular e τ_0 é o tempo de meia vida do fluoróforo (resíduos de triptofano excitados nas proteínas) na ausência da molécula supressora, aproximadamente 10^{-8} s para proteínas.

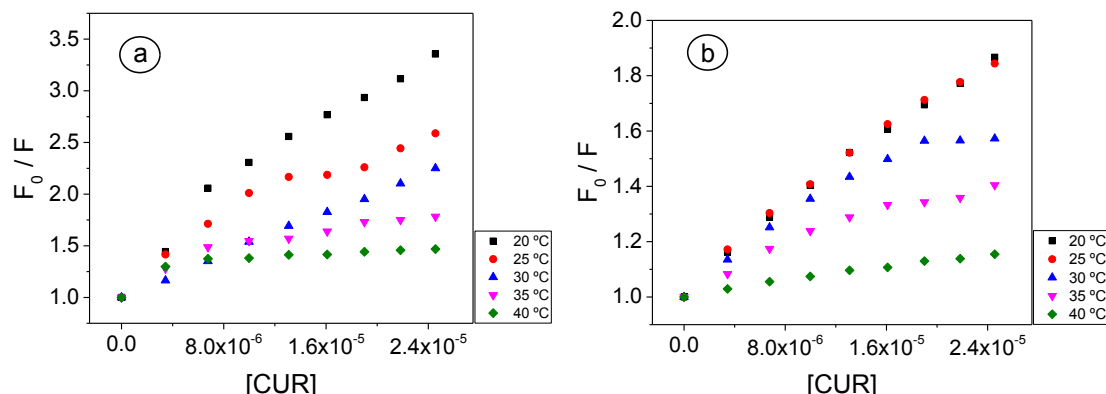


Figura 2 – Gráfico de F_0/F versus $[CUR]$, cuja inclinação fornece o valor de K_{sv} , para as interações a) IBP e CUR e b) IPS-CUR.

Os valores da constante de Stern–Volmer, K_{sv} , obtidos a partir das inclinações dos gráficos de Stern–Volmer, apresentaram comportamento decrescente com o aumento da temperatura para ambos os sistemas avaliados (Tabela 1). Para o isolado proteico de baru (IPB), os valores de K_{sv} diminuíram de $9,15 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ para $1,45 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$, enquanto para o isolado proteico do soro (IPS), variaram de $3,48 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ para $6,39 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$. Essa redução progressiva indica que, em ambos os casos, o mecanismo de supressão da fluorescência é predominantemente estático, ou seja, ocorre a partir da formação de complexos estáveis entre a CUR e as proteínas, em vez de interações transitórias características da supressão dinâmica (Orhan et al., 2025). Estes resultados são semelhantes aos observados por Liu et al. (2016) que estudaram a interação entre IPS (1,0 mg/mL) e CUR (0 a 100 μM) dispersos em água destilada, e verificaram o mecanismo estático de supressão de fluorescência, resultando em mudanças nos espectros de absorção UV-visível das proteínas após a interação com a CUR, confirmando a formação dos complexos. Outros autores encontraram valores de K_{sv} da mesma ordem para a interação entre CUR e zeína, proteína extraída do milho, decrescendo de $2,49 \cdot 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ (20°C) até $1,96 \cdot 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ (40°C) (Tiwari et al., 2021).

1006

1007

Tabela 1 – Parâmetros termodinâmicos da formação dos complexos IPB-CUR e IPS-CUR em diferentes temperaturas (T) e pH 7,4. Dados obtidos por meio de medidas de fluorescência.

Tempera- tura	K_{sv}		n		K_b		ΔH°		ΔG°		$T\Delta S^\circ$	
	IPB	IPS	IPB	IPS	IPB	IPS	IPB	IPS	IPB	IPS	IPB	IPS
(°C)	10^4 L.mol^{-1}				L.mol^{-1}				(kJ.mol^{-1})			
20	9,15	3,48	0,80	0,85	$1,5 \times 10^4$	$1,29 \times 10^4$	-255,90	-86,57	-22,78	-23,08	233,12	-63,50
25	5,88	3,41	0,63	0,83	$1,47 \times 10^3$	$9,73 \times 10^3$			-18,08	-22,76	237,82	-63,81
30	4,98	2,42	1,01	0,76	$6,60 \times 10^2$	$3,76 \times 10^3$			-16,36	-20,75	239,54	-65,82
35	2,91	1,74	0,48	0,80	$9,32 \times 10^1$	$2,99 \times 10^3$			-11,62	-20,50	244,28	-66,07
40	1,45	0,64	0,27	0,77	$1,03 \times 10^1$	$1,37 \times 10^3$			-6,07	-18,80	-249,83	-67,78

1008

No caso da supressão de fluorescência estática, assumindo que os complexos IPB-CUR e IPS-CUR foram formados, a constante de ligação (K_b , M^{-1}) e a estequiometria de formação do complexo (n), foram determinadas a partir da Equação (3), que considera sítios de ligação independentes nas proteínas e semelhantes para CUR (Zhao et al., 2021).

$$\log\left(\frac{F_0 - F}{F}\right) = \log K_B + n \log [CUR] \quad \text{Equação 3}$$

em que: F_0 e F representam as intensidades de fluorescência, no estado estacionário, na ausência e presença da CUR, respectivamente, $[CUR]$ é a concentração total da CUR, K_B é a constante de ligação e n é o número de sítios de ligação (estequiometria de formação do complexo).

Os valores de K_B e n foram obtidos por meio de gráficos de $\log (F_0 - F)/F$ em função de $\log [CUR]$ (Figuras 3a e 3b), sendo os resultados apresentados na Tabela 1.

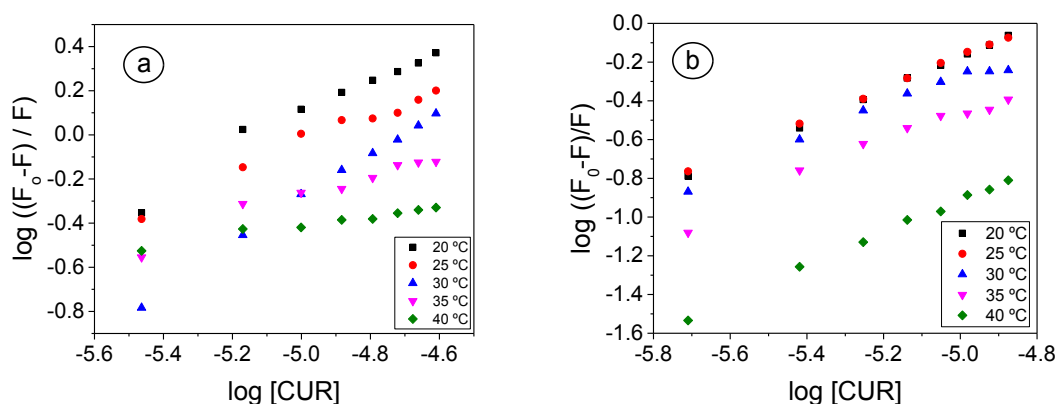


Figura 3- Gráficos de $\log ((F_0 - F)/F)$ em função de $\log [CUR]$, em pH 7,4, temperaturas de 20°C a 40°C, com concentrações constantes de a) IPB e b) IPS.

Para o complexo IPS-CUR, K_b variou de $1,29 \times 10^4$ a $1,37 \times 10^3$ $L.mol^{-1}$, com uma diminuição de 9,4 vezes quando a temperatura aumentou de 20 °C para 40 °C. Já para o IPB-CUR, K_B variou de $1,15 \times 10^4$ a $1,03 \times 10^1$ $L.mol^{-1}$, com um decréscimo de 1116,5 vezes, quando a temperatura aumenta de 20 °C para 40 °C. Considerando que $K_b = [IP - CUR]/[IP][CUR]$, a diminuição dos

valores de K_b com o aumento da temperatura indica que menos complexos são formados em temperaturas mais elevadas.

Embora a β -lactoglobulina — principal proteína do soro — e o IPB apresentem temperaturas de desnaturação (T_d) relativamente próximas — 71,9 °C (Boye & Alli, 2000) e 67,97 °C, respectivamente — o valor ligeiramente mais alto da β -lactoglobulina indica maior resistência à desnaturação térmica. Essa maior estabilidade estrutural pode favorecer a manutenção de conformações adequadas para a interação com a CUR em temperaturas elevadas, o que ajuda a explicar a menor redução da constante de ligação, K_b , observada para o IPS em comparação ao IPB. Além disso, por se tratar de isolados proteicos, ambos contêm uma mistura de proteínas, com diferentes graus de estabilidade térmica, por exemplo, as proteínas do soro são compostas majoritariamente por globulinas (48% β -lactoglobulina, 19% α -lactalbumina, 6% albumina sérica bovina (BSA) e 8% imunoglobulinas) assim como o IPB (61,7% globulinas e albuminas (14,0%) (da Cruz et al., 2011; Tang et al., 2024). Porém o IPB apresenta menor quantidade de globulinas que o IPS, além de apresentar glutelinas (3,3%) e prolaminas (0,5%) (da Cruz et al., 2011).

Para o IPS-CUR, a análise termodinâmica mostrou valores de n variando de 0,76 a 0,85, o que é consistente com a presença de aproximadamente um sítio de ligação efetivo para a CUR por molécula de proteína. Essa pequena variação pode ser atribuída à heterogeneidade estrutural intrínseca do isolado proteico, que contém diferentes tipos de proteínas, apresentando tamanhos distintos, conformações variadas, diferentes quantidades de sítios de ligação e acessibilidade diferenciada para a CUR. Outro estudo sobre a interação entre o concentrado proteico de soro e a CUR encontrou valores de n próximos de um (de 0,99 a 1,12) em pH 7,4 (Racz et al., 2023),

Os valores de n para o complexo IPB-CUR apresentaram comportamento típico de segunda ordem à medida que a temperatura variou. À 25 °C, $n = 0,63$, atingiu um valor máximo em 30 °C ($n = 1,01$), e diminuiu em temperaturas mais elevadas ($n = 0,27$ em 40 °C). Este comportamento sugere que a exposição e disponibilidade dos sítios de ligação foram favorecidas até 30 °C, enquanto temperaturas mais altas limitaram a interação, possivelmente devido à rigidez conformacional em temperaturas mais baixas e à desnaturação parcial das

proteínas em temperaturas elevadas. Além disso, a redução do número de sítios de ligação em temperaturas elevadas pode ser explicada devido as proteínas de baru estarem mais desordenadas, vibrando rapidamente em altas temperaturas, o que está associado ao aumento no coeficiente de difusão, contribuindo para a instabilidade dos complexos IPB–CUR (Wani et al., 2017).

Ademais, é provável, que as proteínas do baru formem agregados ao redor da CUR, o que poderia mascarar ou bloquear os sítios de interação e contribuir para os baixos valores de n observados. Um comportamento de agregação foi descrito para a albumina sérica humana (HSA), cujo isômero F, ao interagir com CUR, apresentou agregação amorfa associada à reorganização conformacional da proteína e exposição de regiões hidrofóbicas, favorecendo a formação de fibrilas (Mothi et al., 2015). Esses resultados indicam que a CUR, além de atuar como ligante, pode induzir mudanças estruturais significativas nas proteínas, culminando na formação de agregados.

A variação da energia livre de Gibbs padrão (ΔG°), a variação da entalpia padrão (ΔH°) e a contribuição entrópica ($T\Delta S^\circ$) para a formação dos complexos foram determinadas para obter mais informações sobre a energética da formação dos complexos entre as proteínas dos isolados proteicos e a CUR. Os valores de ΔG° foram calculados a partir das constantes de ligação (K_b) por meio da Equação 4 (do Vale et al., 2022).

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_b \quad (\text{Equação 4})$$

Para a determinação do termo entálpico foi utilizada a equação linear de Van't Hoff (Equação 5), com os dados de um experimento de fluorescência realizado em diferentes temperaturas, seguido da análise do gráfico de $\ln K_b$ versus $1/T$. O termo entrópico foi então obtido por meio da Equação 6 (Lelis et al., 2020)

$$\frac{\ln K_{b2}}{\ln K_{b1}} = -\frac{\Delta H^\circ}{R} \left(\frac{1}{T_1} + \frac{1}{T_2} \right) \quad (\text{Equação 5})$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T\Delta S^\circ \quad (\text{Equação 6})$$

em que, ΔH° (kJ/mol) é a variação da entalpia padrão de formação de complexo, ΔS° (kJ/mol) é a variação da entropia padrão de formação de complexo, K_b (L/mol) é a constante de ligação, T é a temperatura e R (8,314 J/mol K) é a constante universal dos gases.

Na Tabela 1 estão apresentados os valores de ΔG° , ΔH° e $T\Delta S^\circ$ para as interações da CUR com IPB e IPS. Os valores de ΔG° negativos em todas as temperaturas indicam que o equilíbrio químico ($IP + CUR \rightleftharpoons IP-CUR$) favorece a formação dos complexos IP-CUR em relação às moléculas livres. Além disso, com o aumento da temperatura os valores de ΔG° se tornam menos negativos, indicando a formação de complexos menos estáveis, tanto para o IPS ($\Delta G^\circ_{20^\circ C} = -23,08 \text{ kJ.mol}^{-1}$ a $\Delta G^\circ_{40^\circ C} = -18,80 \text{ kJ.mol}^{-1}$) quanto para o IPB ($\Delta G^\circ_{20^\circ C} = -22,78 \text{ kJ.mol}^{-1}$ a $\Delta G^\circ_{40^\circ C} = -6,07 \text{ kJ.mol}^{-1}$).

Os valores de ΔG° para os complexos IBP-CUR são comparáveis aos relatados para interações naringina-IPB, em pH 7,4, utilizando a técnica de ressonância plasmônica de superfície, que variam de $\Delta G^\circ_{15^\circ C} \cong -27,5$ a $\Delta G^\circ_{28^\circ C} \cong -25,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$ (Leonel et al., 2025). Entretanto, Racz et al, (2023), ao estudarem a interação entre IPS E e CUR, por espectroscopia de fluorescência, em pH 7,4 em concentrações de CUR E e IPS diferentes das aqui utilizadas, relataram valores de ΔG° variando de $\Delta G^\circ_{23^\circ C} = -25,40 \text{ kJ.mol}^{-1}$ a $\Delta G^\circ_{40^\circ C} = -32,40 \text{ kJ.mol}^{-1}$, indicando, neste caso, maior estabilidade com o aumento da temperatura (Racz et al., 2023).

Os valores de ΔH° foram negativos tanto para a IPS- CUR ($\Delta H^\circ = -86,57 \text{ (kJ.mol}^{-1})$) quanto para o IPB-CUR ($-255,90 \text{ (kJ.mol}^{-1})$), sendo mais intensamente exotérmicos para a interação IPB-CUR. Os valores de ΔH° resultam da contribuição das entalpias de dessolvatação, mudança conformacional, interação proteína-CUR e interação entre as moléculas de água liberadas para o bulk (ΔH_{DES} , ΔH_{CONF} , $\Delta H_{Prot-CUR}$, $\Delta H_{H_2O-H_2O}$). As contribuições entálpicas ΔH_{DES} e ΔH_{CONF} são positivas porque é necessário energia para quebrar as interações entre as moléculas de água que se situam na camada de solvatação das moléculas de CUR e proteínas, e também para desfazer as interações intramoleculares no sítio de ligação da proteína, respectivamente. Por outro lado,

$\Delta H_{Prot-CUR}$ é negativa devido à energia liberada durante as interações entre as proteínas dos isolados proteicos e a CUR. Assim, o ΔH° negativo pode ser explicado por $|\Delta H_{Proteína-CUR} + \Delta H_{H2O-H2O}| > |\Delta H_{DES} + \Delta H_{CONF}|$, provavelmente devido a energia liberada pelos complexos formados entre as proteínas e a CUR, e também a interação entre as moléculas de água que foram liberadas para o bulk. Além disso, ΔH° negativo indica que as interações hidrofílicas, como ligações de hidrogênio, interações de van der Waals e interações eletrostáticas, formadas entre os aminoácidos das proteínas e a CUR foram os responsáveis pela liberação de energia para que a interação IPS-CUR e IPB-CUR ocorram (Hudson, Rezende, et al., 2019; Rezende et al., 2022).

De forma semelhante, o termo entrópico (ΔS°) é composto pelas contribuições: variação de entropia de dessolvatação (ΔS_{DES}), variação de entropia conformacional do sítio de ligação de proteína (ΔS_{CONF}) e variação de entropia devido as interações Proteína-CUR ($\Delta S_{Proteína-CUR}$), portanto, o termo ΔS_{DES} é positivo devido ao aumento da entropia das moléculas de água que são liberadas da camada de solvatação das proteínas e da CUR, levando ao aumento da entropia do sistema. O termo ΔS_{CONF} pode ser positivo ou negativo, dependendo se a interação com a CUR torna o sítio de ligação proteico menos ou mais estruturado, respectivamente. Por fim, o $\Delta S_{Proteína-CUR}$ tende a ser negativo devido à diminuição dos graus de liberdade das moléculas de proteína e CUR quando formam um complexo. Desta forma, como todos os valores de ($T\Delta S^\circ$) foram negativos para as interações entre CUR e IPS é possível inferir que, em módulo, a contribuição negativa de $|\Delta S_{Proteína-CUR}|$ superou as contribuições positivas de ΔS_{DES} e ΔS_{CONF} , ou seja, $|\Delta S_{Proteína-CUR}| > |\Delta S_{DES} + \Delta S_{CONF}|$.

No caso do IPB, os valores altamente negativos de ΔH° e $T\Delta S^\circ$ ($\Delta H^\circ = -255,90 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$; $T\Delta S^\circ$ de $-233,12 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ a $-249,83 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$, entre 20°C a 40°C), também indicaram que as ligações de hidrogênio e interações de Van der Waals governam a formação de complexos IPB-CUR, sendo mais exotérmica que a interação IPS-CUR e ambas entalpicamente dirigidas (Orhan et al., 2025). Valores semelhantes de ΔH° foram encontrados para a interação entre estradiol e albumina sérica humana (ASH), utilizando um calorímetro de titulação isotérmica (ITC), $\Delta H^\circ = -231,90 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Interações similares entre ASH e

ácido decanoico apresentaram $\Delta H^\circ = 214,56 \text{ kJ.mol}^{-1}$ (Crisalli et al., 2023; Danesh et al., 2018).

A CUR possui dois domínios fenil hidrofóbicos que são conectados por um ligante flexível, e estudos de docking molecular confirmam que a CUR pode adotar muitas conformações diferentes para maximizar o contato com a proteína à qual está ligada. Por exemplo, os anéis fenil da CUR podem participar de interações π - π van der Waals com cadeias laterais de aminoácidos aromáticos. Além disso, dentro da estrutura geralmente hidrofóbica da CUR, os grupos funcionais fenólicos e carbonílicos, que estão localizados nas extremidades e no centro da molécula, podem participar de ligações de hidrogênio com uma macromolécula alvo. A forma enol predominante da CUR, decorrente de tautomerismo ceto-enol, aumenta sua funcionalidade para doação e aceitação de ligações de hidrogênio (Gupta et al., 2011). Tais características justificam as interações moleculares observadas entre a CUR e o isolados proteicos (IPB e IPS).

A interação IPS-CUR também apresentou caráter exotérmico ($\Delta H^\circ = -86,57 \text{ (kJ.mol}^{-1})$ e $T\Delta S^\circ$ entre $-63,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$ e $-67,78 \text{ kJ.mol}^{-1}$, sendo entalpicamente guiada. No entanto, estudos realizados com maiores concentrações de proteína e CUR, em pH 7,0, relataram valores positivos de ΔH° e ΔS° , típicos de interações hidrofóbicas (Kannamangalam Vijayan et al., 2021; Lei et al., 2023). Estes resultados evidenciam que o tipo de interação predominante é modulável em função do pH e proporções molares dos componentes, o que pode ter implicações importantes para o desenho de sistemas de encapsulação ou entrega controlada de compostos bioativos.

3.2 Efeito protetivo das proteínas (baru e soro) na fotodegradação da CUR

A fotoestabilidade da CUR é o principal desafio que limita sua aplicação, reduzindo sua biodisponibilidade (Yan et al., 2024). Assim, o estudo da fotodegradação da CUR complexada com proteínas é relevante para futuras aplicações de CUR em formulações alimentícias e farmacêuticas.

Para avaliar o efeito protetor das proteínas do barú e do soro sobre a CUR exposta à luz, foi determinada a constante de fotodegradação (K_{FD}) e o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) da CUR livre e da CUR na presença de concentrações crescentes da proteína, em pH 7,4, ao longo do tempo, ajustando os dados experimentais às Equações. (7) e (8), respectivamente.

$$-\ln \frac{A}{A_0} = K_{FD} t \quad \text{Equação 7}$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{K_{FD}} \quad \text{Equação 8}$$

em que: A é a absorbância em cada tempo de medida, A_0 é a absorbância no tempo 0, K_{FD} é a constante de fotodegradação, t é o tempo de armazenamento e $t_{1/2}$ é o tempo de meia vida.

Os valores da K_{FD} foram obtidos a partir da inclinação do gráfico de $-\ln(A/A_0)$ versus o tempo de exposição a luz. A Figura 4 mostra os gráficos de $-\ln(A/A_0)$ versus tempo de exposição à luz para a CUR na ausência (Figura 4a) e na presença das proteínas (IPB e IPS) (Figura 4b).

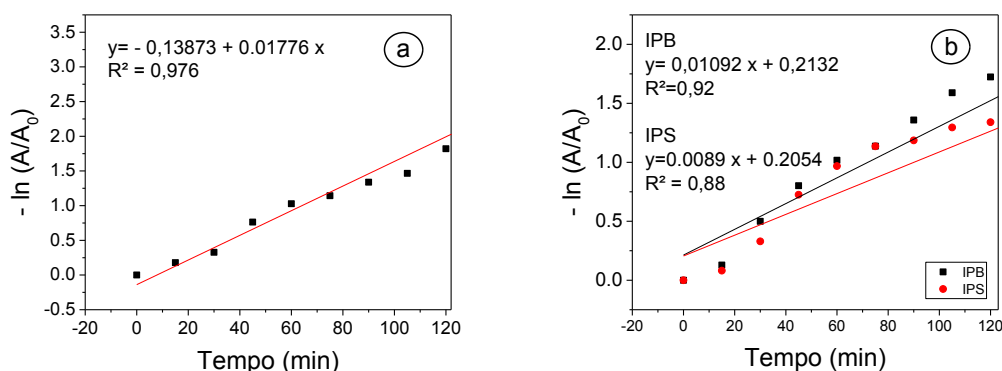


Figura 4- Gráfico de $-\ln A/A_0$ versus o tempo de exposição a luz a) para a CUR livre e b) para a CUR interagindo com o IPB ou IPS [0,0062 mg/mL].

Na Figura 4a, observa-se que a CUR livre apresenta um aumento linear de $-\ln(A/A_0)$ ao longo do tempo, indicando uma degradação progressiva do composto. O coeficiente de determinação ($R^2 = 0,978$) confirma o bom ajuste dos dados ao modelo cinético de primeira ordem, sugerindo que o processo de

1199 fotodegradação segue um comportamento linear nas condições experimentais.
1200 A Figura 4b mostra os perfis de fotodegradação da CUR na presença dos
1201 isolados proteicos IPB e IPS. Observa-se que ambos os isolados foram capazes
1202 de retardar a degradação da CUR em comparação com a CUR livre (Figura 4a),
1203 evidenciado pelos menores coeficientes angulares das regressões lineares. O
1204 IPB apresentou uma constante de fotodegradação ligeiramente maior ($0,01092$
1205 min^{-1}) em comparação ao IPS ($0,0089 \text{ min}^{-1}$), indicando uma eficiência de
1206 proteção um pouco inferior. No entanto, o comportamento cinético foi bastante
1207 semelhante entre os dois isolados, com curvas que seguem tendências muito
1208 semelhantes ao longo do tempo.

1209 De forma geral, tanto o IPB quanto o IPS demonstraram capacidade de
1210 proteger a CUR frente à exposição luminosa. Esse comportamento sugere que
1211 o IPB, uma fonte proteica vegetal, pode desempenhar papel tecnológico
1212 semelhante ao IPS, uma proteína de origem animal, no desenvolvimento de
1213 sistemas carreadores de compostos bioativos fotossensíveis.

1214 Os valores da constante de fotodegradação (K_{FD}) e do tempo de meia-
1215 vida ($t_{1/2}$) da CUR, em função da concentração das proteínas (IPB e IPS), estão
1216 apresentados na Figura 5. Observa-se que os complexos CUR-IPB e CUR-IPS
1217 apresentaram comportamentos semelhantes tanto para a K_{FD} quanto para o $t_{1/2}$,
1218 à medida que a concentração proteica aumentou. De maneira geral, quando a
1219 concentração de proteína aumentou de 0 para $0,05 \text{ mg/mL}$, a K_{FD} diminuiu
1220 exponencialmente para ambos os complexos, com redução percentual de 51%
1221 para CUR-IPB e 59,93% para CUR-IPS, indicando uma proteção eficiente da
1222 CUR contra a fotodegradação, ligeiramente mais pronunciada na presença de
1223 IPS. Por outro lado, os tempos de meia-vida apresentaram tendência oposta,
1224 com aumento exponencial à medida que a concentração proteica se elevou. Na
1225 presença de IPS, o tempo de meia-vida da CUR aumentou 116,89%, enquanto
1226 na presença de IPB o aumento foi de 104,4%, em relação à condição controle
1227 (sem proteína). Embora o IPS tenha promovido valores ligeiramente menores de
1228 K_{FD} e tempos de meia-vida levemente superiores em comparação ao IPB, os
1229 perfis cinéticos foram essencialmente sobrepostos. Esses resultados evidenciam
1230 que o IPB, uma proteína de origem vegetal, apresenta desempenho comparável
1231 ao IPS na proteção da CUR, reforçando seu potencial como alternativa
1232 sustentável para a estabilização desse composto bioativo.

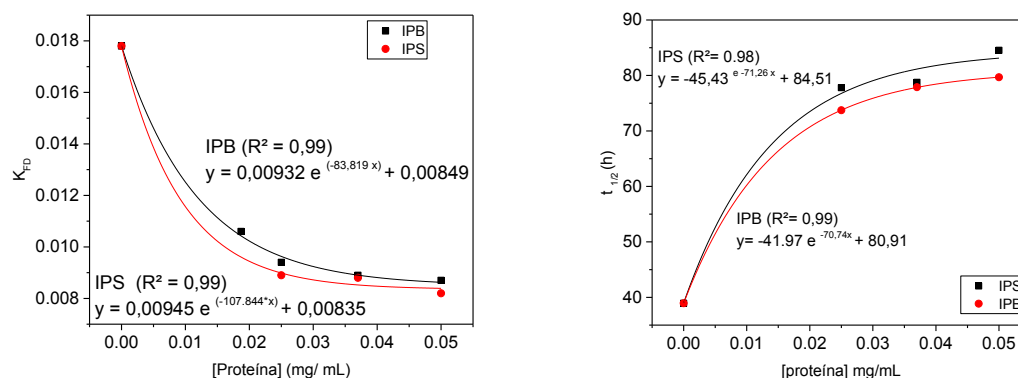


Figura 5- Parâmetros de fotodegradação da CUR complexada com as proteínas do baru (■) e as proteínas do soro (●): (a) constante de fotodegradação (K_{FD}) e (b) tempo de meia-vida ($t_{1/2}$).

Essa proteção conferida pelos isolados pode estar relacionada à formação de complexos entre a CUR e as proteínas, nos quais a CUR fica associada a regiões mais hidrofóbicas da estrutura proteica (Liu et al., 2018). Isso provavelmente reduz sua exposição à luz e ao oxigênio, contribuindo para sua maior estabilidade em solução. Além disso, essa interação pode proteger grupos reativos da CUR, como os grupos cetona insaturados, que são sensíveis à oxidação, tornando o composto menos suscetível à degradação quando exposto à luz (Fu et al., 2023; Ma et al., 2024).

Esse comportamento de redução exponencial da K_{FD} também foi relatado por Hudson et al. (2018) no estudo da interação entre CUR e albumina do soro bovino (BSA), no qual a K_{FD} apresentou decréscimo exponencial até atingir um platô na concentração de 1,99 mg/mL de BSA (com 0,0092 mg/mL de CUR, em pH 7,0). Além disso, quando a concentração de BSA aumentou de 0 para 2,99 mg/mL, observou-se uma redução de 40% na K_{FD} para a BSA desnaturada e de 68% para a BSA nativa, indicando que tanto a BSA quanto as proteínas dos isolados proteicos de soro (IPS) e de baru (IPB) conferem proteção efetiva à CUR contra a fotodegradação.

Entretanto, é relevante destacar que, no presente estudo, a redução da K_{FD} promovida pelos complexos CUR-IPS (59,93%) e CUR-IPB (51%) foi obtida em uma faixa de concentração substancialmente menor, de 0 a 0,05 mg/mL, em comparação às concentrações utilizadas no estudo com BSA. Esse achado

evidencia que, mesmo em baixas concentrações, os isolados proteicos de soro e barú foram capazes de exercer um efeito expressivo na redução da K_{FD} , o que reforça sua eficiência como agentes estabilizantes da CUR. Por outro lado, diferentemente dos dados observados neste trabalho, Hudson et al. (2018) relataram um aumento linear do tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) da CUR com o incremento da concentração de BSA. Essa diferença sugere a atuação de mecanismos distintos de estabilização, possivelmente relacionados às características estruturais e composicionais dos sistemas. Enquanto a BSA corresponde a uma proteína isolada, com estrutura tridimensional bem definida, os isolados proteicos (IPS e IPB) são misturas complexas compostas por diferentes frações proteicas, capazes de estabelecer múltiplas interações com a CUR, o que pode justificar os diferentes padrões cinéticos observados.

3.2 Atividade antioxidante

A análise da capacidade antioxidante da CUR é fundamental para compreender seu potencial como composto funcional em aplicações alimentícias. Como um polifenol com reconhecida ação neutralizadora de radicais livres, sua eficácia antioxidante pode ser influenciada por interação com biomoléculas (Chen et al., 2020; Yujia et al., 2017). Nesse contexto, avaliar a atividade antioxidante da CUR na forma livre e complexada com proteínas é fundamental, uma vez que sistemas baseados em proteínas podem proteger a CUR contra degradação, ampliando sua aplicabilidade no desenvolvimento de alimentos funcionais, suplementos e bebidas (Fu et al., 2023a; Mohammadian et al., 2021; Xu et al., 2022).

Neste estudo, a capacidade antioxidante da CUR foi avaliada por meio do valor de IC_{50} , que representa a concentração necessária para reduzir 50% da atividade do radical livre testado. A CUR isolada apresentou um IC_{50} de 3,17 $\mu\text{g/mL}$, indicando uma elevada capacidade antioxidante. Esse valor é inferior ao reportado por Venka Tesan & Rao (2000), que descreveram um IC_{50} de 7,37 $\mu\text{g/mL}$ para a CUR sintetizada em laboratório a partir de tetrahidrocurcumina. A diferença pode ser atribuída à maior pureza da CUR utilizada neste estudo e às diferenças no tipo de solvente, já que o uso de DMSO

no estudo citado pode ter influenciado negativamente a estabilidade e a atividade antioxidante da CUR.

A complexação da CUR com os isolados proteicos do barú (IPB) e do soro (IPS) resultou em uma redução pouco expressiva nos valores de IC_{50} (3,11 e 3,15 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente), quando comparados ao valor da CUR livre (3,17 $\mu\text{g/mL}$). Essa pequena diferença sugere que, nas concentrações utilizadas neste estudo, a adição dos isolados proteicos não influenciou na atividade antioxidante da CUR.

Diversos estudos têm mostrado que a atividade antioxidante da CUR pode ser significativamente aumentada quando ela interage com proteínas do soro de leite (IPS), especialmente a β -lactoglobulina (β -Lg). Li et al. (2013) estudaram o efeito antioxidante da CUR interagindo com a β -Lg, por meio do método de eliminação de radicais ABTS, em pH 7,0, e observaram que os complexos CUR- β -Lg apresentaram capacidade antioxidante significativamente superior à da CUR isolada. Além disso, esse efeito aumentou progressivamente com a concentração de β -Lg. Embora a β -Lg isoladamente também apresente alta atividade antioxidante, atribuída à presença de grupos sulfidríla ($-\text{SH}$) em sua estrutura, os valores obtidos para os complexos foram ainda maiores, sugerindo uma interação sinérgica entre os dois componentes. Esse sinergismo não se deve apenas à concentração, mas também à estrutura e ao tipo de interação, as quais podem favorecer mecanismos como a transferência de elétrons da CUR ao radical, potencializada pela presença da proteína. Em conjunto, esses estudos reforçam o papel das proteínas do soro como sistemas carreadores eficazes para compostos fenólicos como a CUR, ampliando seu potencial de aplicação em formulações alimentares com propriedades bioativas otimizadas.

A literatura indica que proteínas podem atuar como estabilizantes e transportadoras de compostos fenólicos, protegendo-os contra degradação oxidativa e potencializando sua eficácia por mecanismos como a doação de hidrogênios fenólicos (W. Liu et al., 2016; Solghi et al., 2020). Acredita-se que a formação de complexos CUR-proteína possa facilitar mecanismos antioxidantes como o SPLET (Sequential Proton Loss Electron Transfer), no qual a CUR doa prótons de grupos fenólicos ou da estrutura enol, formando ânions que

posteriormente transferem elétrons a espécies reativas, gerando radicais fenóxi estáveis (Litwinienko & Ingold, 2004). No entanto, neste estudo, o impacto funcional da complexação sobre a atividade antioxidante foi limitado, provavelmente devido à baixa razão CUR:proteína.

Dessa forma, conclui-se que, nas condições testadas, os isolados proteicos de baru e do soro não aumentaram de forma relevante a capacidade antioxidante da CUR. No entanto, os resultados indicam que esses sistemas mantêm a atividade da CUR e apresentam potencial como matrizes funcionais para aplicação em alimentos, desde que avaliados em diferentes contextos de formulação e proporção CUR:proteína.

Conclusão

Os resultados deste estudo demonstraram que tanto o IPB quanto o IPS formaram complexos termodinamicamente estáveis com CUR, em pH 7,4. Os parâmetros termodinâmicos padrão obtidos para o complexo IPB–CUR foram comparáveis aos do complexo IPS–CUR, demonstrando que as proteínas de baru possuem capacidade semelhante às proteínas do soro na formação de complexos estáveis com CUR. Este desempenho destaca o IPB como uma alternativa sustentável, de origem vegetal, para sistemas de encapsulação e entrega de compostos bioativos, com potencial de aplicação em alimentos funcionais e produtos nutracêuticos destinados a consumidores que buscam reduzir o consumo de ingredientes de origem animal.

Além disso, a interação da CUR com os isolados proteicos conferiu proteção significativa contra a fotodegradação e manteve a atividade antioxidante da CUR. Esses resultados apresentam relevância prática para o desenvolvimento de sistemas alimentares funcionais contendo CUR, pois a capacidade dos isolados de proteger a CUR contribui diretamente para o aumento da estabilidade e da vida útil de produtos enriquecidos com esse composto bioativo, com possíveis aplicações em formulações sujeitas à exposição à luz, como bebidas, emulsões e suplementos líquidos.

Bibliografia

- Aracava, K. K., Capellini, M. C., Gonçalves, D., Soares, I. D., Margoto, C. M., & Rodrigues, C. E. C. (2022). Valorization of the baru (*Dipteryx alata* Vog.) processing chain: Technological properties of defatted nut flour and oil solubility in ethanol and isopropanol. *Food Chemistry*, 383. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132587>
- Boye, J. I., & Alli, I. (2000). Thermal denaturation of mixtures of α -lactalbumin and β -lactoglobulin: a differential scanning calorimetric study. *Food Research International*, 33(8), 673–682. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00112-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00112-5)
- Chen, L., Chen, N., He, Q., Sun, Q., Gao, M.-R., & Zeng, W.-C. (2022). Effects of different phenolic compounds on the interfacial behaviour of casein and the action mechanism. *Food Research International*, 162, 112110. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112110>
- Chen, S., Li, Q., McClements, D. J., Han, Y., Dai, L., Mao, L., & Gao, Y. (2020). Co-delivery of curcumin and piperine in zein-carrageenan core-shell nanoparticles: Formation, structure, stability and in vitro gastrointestinal digestion. *Food Hydrocolloids*, 99, 105334. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105334>
- Crisalli, A. M., Cai, A., & Cho, B. P. (2023). Probing the Interactions of Perfluorocarboxylic Acids of Various Chain Lengths with Human Serum Albumin: Calorimetric and Spectroscopic Investigations. *Chemical Research in Toxicology*, 36(4), 703–713. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.3c00011>
- da Cruz, K. S., da Silva, M. A., de Freitas, O. D., & Neves, V. A. (2011). Partial characterization of proteins from baru (*Dipteryx alata* Vog) seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(11), 2006–2012. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4410>
- Danesh, N., Navaee Sedighi, Z., Beigoli, S., Sharifi-Rad, A., Saberi, M. R., & Chamani, J. (2018). Determining the binding site and binding affinity of estradiol to human serum albumin and holo-transferrin: fluorescence spectroscopic, isothermal titration calorimetry and molecular modeling approaches. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 36(7), 1747–1763. <https://doi.org/10.1080/07391102.2017.1333460>
- do Vale, R. T. R., de Paula, H. M. C., Coelho, Y. L., Rezende, J. D. P., Vidigal, M. C. T. R., Da Silva, L. H. M., & Pires, A. C. D. S. (2022). β -lactoglobulin and resveratrol nanocomplex formation is driven by solvation water release. *Food Research International*, 158. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111567>
- Domínguez, R., Pateiro, M., Munekata, P. E. S., McClements, D. J., & Lorenzo, J. M. (2021). Encapsulation of Bioactive Phytochemicals in Plant-Based

Matrices and Application as Additives in Meat and Meat Products.

Molecules, 26(13), 3984. <https://doi.org/10.3390/molecules26133984>

Egea, M. B., de Oliveira Filho, J. G., Campos, S. B., & Lemes, A. C. (2023). The potential of baru (*Dipteryx alata* Vog.) and its fractions for the alternative protein market. In *Frontiers in Sustainable Food Systems* (Vol. 7). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1148291>

Fernandes, D. S., Donadon, J. R., Rangel, T. F., Guimarães, R. de C. A., Campos, R. P., de LIMA, L. B., & Hiane, P. A. (2021). Quality of roasted baru almonds stored in different packages. *Food Science and Technology (Brazil)*, 41(4), 953–960. <https://doi.org/10.1590/fst.10720>

Fu, L., Tan, S., Si, R., Qiang, Y., Wei, H., Huang, B., Shi, M., Fang, L., Fu, J., & Zeng, S. (2023a). Characterization, stability and antioxidant activity of curcumin nanocomplexes with soy protein isolate and pectin. *Current Research in Food Science*, 6, 100530. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100530>

Fu, L., Tan, S., Si, R., Qiang, Y., Wei, H., Huang, B., Shi, M., Fang, L., Fu, J., & Zeng, S. (2023b). Characterization, stability and antioxidant activity of curcumin nanocomplexes with soy protein isolate and pectin. *Current Research in Food Science*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100530>

Fu, Q., Zhao, J., Rong, S., Han, Y., Liu, F., Chu, Q., Wang, S., & Chen, S. (2023). Research Advances in Plant Protein-Based Products: Protein Sources, Processing Technology, and Food Applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(42), 15429–15444. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c02224>

Gupta, S. C., Prasad, S., Kim, J. H., Patchva, S., Webb, L. J., Priyadarsini, I. K., & Aggarwal, B. B. (2011). Multitargeting by curcumin as revealed by molecular interaction studies. In *Natural Product Reports* (Vol. 28, Number 12, pp. 1937–1955). <https://doi.org/10.1039/c1np00051a>

Hao, M., Chu, Y., Lei, J., Yao, Z., Wang, P., Chen, Z., Wang, K., Sang, X., Han, X., Wang, L., & Cao, G. (2023). Pharmacological Mechanisms and Clinical Applications of Curcumin: Update. *Aging and Disease*, 14(3), 716. <https://doi.org/10.14336/AD.2022.1101>

Huang, L., Yong, K. W. L., Fernando, W. C., Carpinelli de Jesus, M., De Voss, J. J., Sultanbawa, Y., & Fletcher, M. T. (2021). The Inactivation by Curcumin-Mediated Photosensitization of *Botrytis cinerea* Spores Isolated from Strawberry Fruits. *Toxins*, 13(3), 196. <https://doi.org/10.3390/toxins13030196>

Hudson, E. A., De Paula, H. M. C., da Silva, R. M., Pires, A. C. dos S., & da Silva, L. H. M. (2019). Curcumin micellar-casein multisite interactions elucidated by surface plasmon resonance. *International Journal of Biological Macromolecules*, 133(July 2019), 860–866. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.166>

- Hudson, E. A., De Paula, H. M. C., Ferreira, G. M. D., Ferreira, G. M. D., Hespanhol, M. do C., Da Silva, L. H. M., & Pires, A. C. dos S. (2018). Thermodynamic and kinetic analyses of curcumin and bovine serum albumin binding. *Food Chemistry*, 242(August 2017), 505–512. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.092>
- Hudson, E. A., Rezende, J. de P., de Paula, H. M. C., Coelho, Y. L., da Silva, L. H. M., & Pires, A. C. dos S. (2019). Energetic parameters of β -casein/quercetin activated and thermodynamically stable complex formation accessed by Surface Plasmon Resonance. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 181(June), 798–805. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.06.048>
- Kaffash, M., Tolou-Shikhzadeh-Yazdi, S., Soleimani, S., Hoseinpoor, S., Saberi, M. R., & Chamani, J. (2024). Spectroscopy and molecular simulation on the interaction of Nano-Kaempferol prepared by oil-in-water with two carrier proteins: An investigation of protein–protein interaction. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 309, 123815. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.123815>
- Kannamangalam Vijayan, U., Shah, N. N., Muley, A. B., & Singhal, R. S. (2021). Complexation of curcumin using proteins to enhance aqueous solubility and bioaccessibility: Pea protein vis-à-vis whey protein. *Journal of Food Engineering*, 292(July 2020), 110258. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110258>
- Lei, H., Lin, J., Chen, Z., Shi, Z., Niu, D., Zeng, X., Zhou, L., & Han, Z. (2023). The behavior of whey protein isolate-curcumin complex at the oil-water interface. *Food Hydrocolloids*, 145. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109046>
- Lelis, C. A., Nunes, N. M., de Paula, H. M. C., Coelho, Y. L., da Silva, L. H. M., & Pires, A. C. dos S. (2020). Insights into protein-curcumin interactions: Kinetics and thermodynamics of curcumin and lactoferrin binding. *Food Hydrocolloids*, 105, 105825. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105825>
- Leonel, G. V. F., de Paula, H. M. C., Miyashita, N. M. R., Hudson, E. A., Rezende, J. de P., da Silva, L. H. M., & Pires, A. C. dos S. (2025). Baru (*Dipteryx alata*) proteins as plant-based carriers for flavanones: Exploring the kinetics and thermodynamics of complex formation. *Food Research International*, 214, 116685. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.116685>
- Li, M., Ma, Y., & Ngadi, M. O. (2013). Binding of curcumin to β -lactoglobulin and its effect on antioxidant characteristics of curcumin. *Food Chemistry*, 141(2), 1504–1511. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.099>
- Lima, D., Alves, M. R., Nogueira, N., & Nascimento, R. D. P. (2022). A review on Brazilian baru plant (*Dipteryx alata* Vogel): morphology, chemical composition, health effects, and technological potential. *Future Foods*, 5(April), 100146. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100146>

- Lin, Y., Liu, H., Bu, L., Chen, C., & Ye, X. (2022). Review of the Effects and Mechanism of Curcumin in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.908077>
- Litwinienko, G., & Ingold, K. U. (2004). Abnormal Solvent Effects on Hydrogen Atom Abstraction. 2. Resolution of the Curcumin Antioxidant Controversy. The Role of Sequential Proton Loss Electron Transfer. *The Journal of Organic Chemistry*, 69(18), 5888–5896. <https://doi.org/10.1021/jo049254j>
- Liu, W., Chen, X. D., Cheng, Z., & Selomulya, C. (2016). On enhancing the solubility of curcumin by microencapsulation in whey protein isolate via spray drying. *Journal of Food Engineering*, 169, 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.08.034>
- Liu, Y., Cai, Y., Ying, D., Fu, Y., Xiong, Y., & Le, X. (2018). Ovalbumin as a carrier to significantly enhance the aqueous solubility and photostability of curcumin: Interaction and binding mechanism study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 116(May 2018), 893–900.
- Ma, D., Zhang, X., Yin, C., Xu, Z., Zhao, S., Qin, M., Zhao, Q., Li, Y., & Zhang, S. (2024). Fabrication and characterization of curcumin-encapsulated composite nanoparticles based on soybean protein isolate hydrolysate/soybean polysaccharides: Interaction mechanism, stability and controlled release properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 282, 137540. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137540>
- Miyashita, N. M. R., Hudson, E. A., Rezende, J. de P., Vidigal, M. C. T. R., & Pires, A. C. dos S. (2025). Baru Proteins: Extraction Methods and Techno-Functional Properties for Sustainable Nutrition and Food Innovation. *Foods*, 14(8), 1286. <https://doi.org/10.3390/foods14081286>
- Mohammadian, M., Salami, M., Moghadam, M., Amirsalehi, A., & Emam-Djomeh, Z. (2021). Mung bean protein as a promising biopolymeric vehicle for loading of curcumin: Structural characterization, antioxidant properties, and in vitro release kinetics. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 61. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102148>
- Mothi, N., Muthu, S. A., Kale, A., & Ahmad, B. (2015). Curcumin promotes fibril formation in F isomer of human serum albumin via amorphous aggregation. *Biophysical Chemistry*, 207, 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2015.08.002>
- Niu, B., Li, Z., Luan, C., & Zhao, B. (2025). The dissolution and bioavailability of curcumin reinforced by loading into porous starch under solvent evaporation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 287, 138611. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.138611>
- Nunes, Â. A., Favaro, S. P., Miranda, C. H. B., & Neves, V. A. (2016). Preparation and characterization of baru (*Dipteryx alata* Vog) nut protein isolate and comparison of its physico-chemical properties with commercial

animal and plant protein isolates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(1), 151–157. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7702>

Orhan, D. E., Cetinkaya, A., Aybi, E. N., Unal, M. A., Nazir, H., Ozkan, S. A., Ates, I., & Dogan-Topal, B. (2025). Evaluation of the interaction mechanism of dsDNA-propofol binding: Electrochemical, thermodynamic, molecular docking studies and comet assay. *Microchemical Journal*, 213, 113647. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2025.113647>

Racz, C. P., Racz, L. Z., Floare, C. G., Tomoaia, G., Horovitz, O., Riga, S., Kacso, I., Borodi, G., Sarkozi, M., Mocanu, A., Roman, C., & Tomoaia-Cotisel, M. (2023). Curcumin and whey protein concentrate binding: Thermodynamic and structural approach. *Food Hydrocolloids*, 139. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108547>

Raj, N., Suman, S., Chandra Rai, D., Meena, S., Duary, R. K., Meena, K. K., & Mishra, S. (2026). Curcumin encapsulation via protein-stabilized emulsions: comparative formulation and characterization using whey, soy, and pea proteins. *Sustainable Food Technology*. <https://doi.org/10.1039/d5fb00526d>

Rezende, J. de P., De Paula, H. M. C., Freitas, T. D., Coelho, Y. L., Da Silva, L. H. M., & Pires, A. C. dos S. (2022). Application of Congo red dye as a molecular probe to investigate the kinetics and thermodynamics of the formation processes of arachin and conarachin nanocomplexes. In *Food Chemistry* (Vol. 384, p. 132485). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132485>

SILVA, H. D. M. da, SANTOS, F. C. dos, ANDRADE, B. R. P. de, PERFEITO, D. G. de A., & SIQUEIRA, A. P. S. (2023). Extraction and nutritional characterization of baru almond (*Dipteryx alata* Vog.) water-soluble extract. *Food Science and Technology*, 43. <https://doi.org/10.5327/fst.98522>

Silva, H. A., Custódio, M., & Ferreira, M. (2019). Preparo e avaliação da atividade antioxidante e sólidos solúveis totais de bebidas com apelo comercial detox. In *Brazilian Journal of Food Research* (Vol. 10, Number 1).

Solghi, S., Emam-Djomeh, Z., Fathi, M., & Farahani, F. (2020). The encapsulation of curcumin by whey protein: Assessment of the stability and bioactivity. *Journal of Food Process Engineering*, 43(6). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13403>

Taghavi Kevij, H., Mohammadian, M., & Salami, M. (2019). Complexation of curcumin with whey protein isolate for enhancing its aqueous solubility through a solvent-free pH-driven approach. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(12), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14227>

Tang, Q., Roos, Y. H., & Miao, S. (2024). Structure, gelation mechanism of plant proteins versus dairy proteins and evolving modification strategies. *Trends*

in *Food Science & Technology*, 104464.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104464>

Tchaikovskaya, O., Bocharnikova, E., Chaydonova, V., Bryantseva, N., & Avramov, P. (2025). Spectrophotofluorometric assay of Sulfaguanidine in Milk whey. *Food Chemistry*, 481, 144051.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.144051>

Tiwari, P., Ali, R., Ishrat, R., & Arfin, N. (2021). Study of interaction between zein and curcumin using spectroscopic and in silico techniques. *Journal of Molecular Structure*, 1230. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129637>

Venka Tesan, P., & Rao, M. N. A. (2000). Structure±Activity Relationships for the Inhibition of Lipid Peroxidation and the Scavenging of Free Radicals by Synthetic Symmetrical Curcumin Analogues. In *J. Pharm. Pharmacol* (Vol. 52).

Wang, Y., Sun, R., Xu, X., Du, M., Zhu, B., & Wu, C. (2021). Structural interplay between curcumin and soy protein to improve the water-solubility and stability of curcumin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 193, 1471–1480. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.210>

Wani, T. A., Bakheit, A. H., Zargar, S., Hamidaddin, M. A., & Darwish, I. A. (2017). Spectrophotometric and molecular modelling studies on in vitro interaction of tyrosine kinase inhibitor linifanib with bovine serum albumin. *PLOS ONE*, 12(4), e0176015.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176015>

Xu, P., Qian, Y., Wang, R., Chen, Z., & Wang, T. (2022). Entrapping curcumin in the hydrophobic reservoir of rice proteins toward stable antioxidant nanoparticles. *Food Chemistry*, 387, 132906.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132906>

Yan, S., Liao, X., Xiao, Q., Huang, Q., & Huang, X. (2024). Photostabilities and anti-tumor effects of curcumin and curcumin-loaded polydopamine nanoparticles. *RSC Advances*, 14(20), 13694–13702.
<https://doi.org/10.1039/d4ra01246a>

Yujia, L., Danyang, Y., Yanxue, C., & Xueyi, L. (2017). Improved antioxidant activity and physicochemical properties of curcumin by adding ovalbumin and its structural characterization. *Food Hydrocolloids*, 72, 304–311.

Zhao, R., Qin, X., & Zhong, J. (2021). Interaction between curcumin and β-casein: Multi-spectroscopic and molecular dynamics simulation methods. *Molecules*, 26(16). <https://doi.org/10.3390/molecules26165092>

CONCLUSÕES GERAIS

Esta tese teve como objetivo investigar o potencial das proteínas extraídas da amêndoa de baru (*Dipteryx alata* Vogel), tanto do ponto de vista tecnológico quanto funcional, especialmente em sua aplicação como carreadoras de compostos bioativos, com ênfase na curcumina. O trabalho foi estruturado em dois estudos complementares: um artigo de revisão sobre métodos de extração e propriedades tecno-funcionais das proteínas de baru, e um estudo experimental sobre a complexação da CUR com isolados proteicos de baru (IPB) e do soro de leite (IPS).

O primeiro estudo evidenciou que as proteínas do baru apresentam propriedades tecno-funcionais promissoras, incluindo elevada solubilidade em pH alcalino (~83%), boa capacidade emulsificante (54,8%) e estabilidade de espuma (96%), além de propriedades satisfatórias de retenção de água (118,3%) e óleo (155,5%). Foram discutidas estratégias emergentes de extração (como ultrassom, campos elétricos pulsados e solventes eutéticos profundos) que podem melhorar o rendimento e a qualidade funcional dessas proteínas. Identificou-se, contudo, uma lacuna significativa quanto às propriedades de gelificação, fundamentais para aplicações em alimentos vegetais estruturados.

O segundo estudo demonstrou que tanto o IPB quanto o IPS são capazes de formar complexos supramoleculares com curcumina, com supressão de fluorescência do tipo estática. A análise termodinâmica revelou que a formação dos complexos foi entalpicamente favorável, com valores de ΔG° a 25 °C de $-18,08 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (IPB-CUR) e $-22,76 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ (IPS-CUR), e entalpias negativas de $-255,90 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para IPB-CUR e $-86,57 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ para IPS-CUR. A formação dos complexos resultou em maior estabilidade fotoquímica da CUR, com redução da constante de fotodegradação e aumento do tempo de meia-vida em relação ao composto livre. Embora a complexação não tenha promovido aumento significativo na atividade antioxidante da curcumina, os sistemas preservaram sua eficácia funcional. Destaca-se que o IPB apresentou desempenho comparável ao do IPS, reforçando sua viabilidade como carreador vegetal alternativo, especialmente para consumidores veganos ou com restrições ao consumo de lácteos.

Conclui-se que as proteínas da amêndoa de baru possuem elevado potencial para aplicação como ingredientes funcionais e sistemas de liberação de compostos bioativos, podendo contribuir para o desenvolvimento de alimentos mais saudáveis, sustentáveis e tecnicamente inovadores. A valorização dessas proteínas representa também uma estratégia de aproveitamento de recursos do Cerrado, alinhada às diretrizes de conservação da biodiversidade e desenvolvimento regional. Estudos futuros devem explorar o comportamento em gelificação, o perfil alergênico e a aplicação em matrizes alimentares complexas, visando ampliar ainda mais a aplicabilidade industrial dessas proteínas. Além, de testar a atividade antioxidante da curcumina interagindo com IPB ou IPS em outras condições (pH, concentração de proteína, entre outros).

BIBLIOGRAFIA

- Aracava, K. K., Capellini, M. C., Gonçalves, D., Soares, I. D., Margoto, C. M., & Rodrigues, C. E. C. (2022). Valorization of the baru (*Dipteryx alata* Vog.) processing chain: Technological properties of defatted nut flour and oil solubility in ethanol and isopropanol. *Food Chemistry*, 383. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132587>
- Boye, J. I., & Alli, I. (2000). Thermal denaturation of mixtures of α -lactalbumin and β -lactoglobulin: a differential scanning calorimetric study. *Food Research International*, 33(8), 673–682. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00112-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00112-5)
- Chen, L., Chen, N., He, Q., Sun, Q., Gao, M.-R., & Zeng, W.-C. (2022). Effects of different phenolic compounds on the interfacial behaviour of casein and the action mechanism. *Food Research International*, 162, 112110. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112110>
- Chen, S., Li, Q., McClements, D. J., Han, Y., Dai, L., Mao, L., & Gao, Y. (2020). Co-delivery of curcumin and piperine in zein-carrageenan core-shell nanoparticles: Formation, structure, stability and in vitro gastrointestinal digestion. *Food Hydrocolloids*, 99, 105334. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105334>
- Crisalli, A. M., Cai, A., & Cho, B. P. (2023). Probing the Interactions of Perfluorocarboxylic Acids of Various Chain Lengths with Human Serum Albumin: Calorimetric and Spectroscopic Investigations. *Chemical Research in Toxicology*, 36(4), 703–713. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.3c00011>
- da Cruz, K. S., da Silva, M. A., de Freitas, O. D., & Neves, V. A. (2011). Partial characterization of proteins from baru (*Dipteryx alata* Vog) seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(11), 2006–2012. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4410>
- Danesh, N., Navaee Sedighi, Z., Beigoli, S., Sharifi-Rad, A., Saberi, M. R., & Chamani, J. (2018). Determining the binding site and binding affinity of estradiol to human serum albumin and holo-transferrin: fluorescence spectroscopic, isothermal titration calorimetry and molecular modeling approaches. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 36(7), 1747–1763. <https://doi.org/10.1080/07391102.2017.1333460>
- do Vale, R. T. R., de Paula, H. M. C., Coelho, Y. L., Rezende, J. D. P., Vidigal, M. C. T. R., Da Silva, L. H. M., & Pires, A. C. D. S. (2022). β -lactoglobulin and resveratrol nanocomplex formation is driven by solvation water release. *Food Research International*, 158. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111567>
- Domínguez, R., Pateiro, M., Munekata, P. E. S., McClements, D. J., & Lorenzo, J. M. (2021). Encapsulation of Bioactive Phytochemicals in Plant-Based

Matrices and Application as Additives in Meat and Meat Products.

Molecules, 26(13), 3984. <https://doi.org/10.3390/molecules26133984>

Egea, M. B., de Oliveira Filho, J. G., Campos, S. B., & Lemes, A. C. (2023). The potential of baru (*Dipteryx alata* Vog.) and its fractions for the alternative protein market. In *Frontiers in Sustainable Food Systems* (Vol. 7). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2023.1148291>

Fernandes, D. S., Donadon, J. R., Rangel, T. F., Guimarães, R. de C. A., Campos, R. P., de LIMA, L. B., & Hiane, P. A. (2021). Quality of roasted baru almonds stored in different packages. *Food Science and Technology (Brazil)*, 41(4), 953–960. <https://doi.org/10.1590/fst.10720>

Fu, L., Tan, S., Si, R., Qiang, Y., Wei, H., Huang, B., Shi, M., Fang, L., Fu, J., & Zeng, S. (2023a). Characterization, stability and antioxidant activity of curcumin nanocomplexes with soy protein isolate and pectin. *Current Research in Food Science*, 6, 100530. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100530>

Fu, L., Tan, S., Si, R., Qiang, Y., Wei, H., Huang, B., Shi, M., Fang, L., Fu, J., & Zeng, S. (2023b). Characterization, stability and antioxidant activity of curcumin nanocomplexes with soy protein isolate and pectin. *Current Research in Food Science*, 6. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100530>

Fu, Q., Zhao, J., Rong, S., Han, Y., Liu, F., Chu, Q., Wang, S., & Chen, S. (2023). Research Advances in Plant Protein-Based Products: Protein Sources, Processing Technology, and Food Applications. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 71(42), 15429–15444. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c02224>

Gupta, S. C., Prasad, S., Kim, J. H., Patchva, S., Webb, L. J., Priyadarsini, I. K., & Aggarwal, B. B. (2011). Multitargeting by curcumin as revealed by molecular interaction studies. In *Natural Product Reports* (Vol. 28, Number 12, pp. 1937–1955). <https://doi.org/10.1039/c1np00051a>

Hao, M., Chu, Y., Lei, J., Yao, Z., Wang, P., Chen, Z., Wang, K., Sang, X., Han, X., Wang, L., & Cao, G. (2023). Pharmacological Mechanisms and Clinical Applications of Curcumin: Update. *Aging and Disease*, 14(3), 716. <https://doi.org/10.14336/AD.2022.1101>

Huang, L., Yong, K. W. L., Fernando, W. C., Carpinelli de Jesus, M., De Voss, J. J., Sultanbawa, Y., & Fletcher, M. T. (2021). The Inactivation by Curcumin-Mediated Photosensitization of *Botrytis cinerea* Spores Isolated from Strawberry Fruits. *Toxins*, 13(3), 196. <https://doi.org/10.3390/toxins13030196>

Hudson, E. A., De Paula, H. M. C., da Silva, R. M., Pires, A. C. dos S., & da Silva, L. H. M. (2019). Curcumin micellar-casein multisite interactions elucidated by surface plasmon resonance. *International Journal of Biological Macromolecules*, 133(July 2019), 860–866. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.166>

- Hudson, E. A., De Paula, H. M. C., Ferreira, G. M. D., Ferreira, G. M. D., Hespanhol, M. do C., Da Silva, L. H. M., & Pires, A. C. dos S. (2018). Thermodynamic and kinetic analyses of curcumin and bovine serum albumin binding. *Food Chemistry*, 242(August 2017), 505–512. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.092>
- Hudson, E. A., Rezende, J. de P., de Paula, H. M. C., Coelho, Y. L., da Silva, L. H. M., & Pires, A. C. dos S. (2019). Energetic parameters of β -casein/quercetin activated and thermodynamically stable complex formation accessed by Surface Plasmon Resonance. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 181(June), 798–805. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.06.048>
- Kaffash, M., Tolou-Shikhzadeh-Yazdi, S., Soleimani, S., Hoseinpoor, S., Saberi, M. R., & Chamani, J. (2024). Spectroscopy and molecular simulation on the interaction of Nano-Kaempferol prepared by oil-in-water with two carrier proteins: An investigation of protein–protein interaction. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 309, 123815. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2023.123815>
- Kannamangalam Vijayan, U., Shah, N. N., Muley, A. B., & Singhal, R. S. (2021). Complexation of curcumin using proteins to enhance aqueous solubility and bioaccessibility: Pea protein vis-à-vis whey protein. *Journal of Food Engineering*, 292(July 2020), 110258. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2020.110258>
- Lei, H., Lin, J., Chen, Z., Shi, Z., Niu, D., Zeng, X., Zhou, L., & Han, Z. (2023). The behavior of whey protein isolate-curcumin complex at the oil-water interface. *Food Hydrocolloids*, 145. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109046>
- Lelis, C. A., Nunes, N. M., de Paula, H. M. C., Coelho, Y. L., da Silva, L. H. M., & Pires, A. C. dos S. (2020). Insights into protein-curcumin interactions: Kinetics and thermodynamics of curcumin and lactoferrin binding. *Food Hydrocolloids*, 105, 105825. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105825>
- Leonel, G. V. F., de Paula, H. M. C., Miyashita, N. M. R., Hudson, E. A., Rezende, J. de P., da Silva, L. H. M., & Pires, A. C. dos S. (2025). Baru (*Dipteryx alata*) proteins as plant-based carriers for flavanones: Exploring the kinetics and thermodynamics of complex formation. *Food Research International*, 214, 116685. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.116685>
- Li, M., Ma, Y., & Ngadi, M. O. (2013). Binding of curcumin to β -lactoglobulin and its effect on antioxidant characteristics of curcumin. *Food Chemistry*, 141(2), 1504–1511. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.099>
- Lima, D., Alves, M. R., Nogueira, N., & Nascimento, R. D. P. (2022). A review on Brazilian baru plant (*Dipteryx alata* Vogel): morphology, chemical composition, health effects, and technological potential. *Future Foods*, 5(April), 100146. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100146>

- Lin, Y., Liu, H., Bu, L., Chen, C., & Ye, X. (2022). Review of the Effects and Mechanism of Curcumin in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.908077>
- Litwinienko, G., & Ingold, K. U. (2004). Abnormal Solvent Effects on Hydrogen Atom Abstraction. 2. Resolution of the Curcumin Antioxidant Controversy. The Role of Sequential Proton Loss Electron Transfer. *The Journal of Organic Chemistry*, 69(18), 5888–5896. <https://doi.org/10.1021/jo049254j>
- Liu, W., Chen, X. D., Cheng, Z., & Selomulya, C. (2016). On enhancing the solubility of curcumin by microencapsulation in whey protein isolate via spray drying. *Journal of Food Engineering*, 169, 189–195. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.08.034>
- Liu, Y., Cai, Y., Ying, D., Fu, Y., Xiong, Y., & Le, X. (2018). Ovalbumin as a carrier to significantly enhance the aqueous solubility and photostability of curcumin: Interaction and binding mechanism study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 116(May 2018), 893–900.
- Ma, D., Zhang, X., Yin, C., Xu, Z., Zhao, S., Qin, M., Zhao, Q., Li, Y., & Zhang, S. (2024). Fabrication and characterization of curcumin-encapsulated composite nanoparticles based on soybean protein isolate hydrolysate/soybean polysaccharides: Interaction mechanism, stability and controlled release properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 282, 137540. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137540>
- Miyashita, N. M. R., Hudson, E. A., Rezende, J. de P., Vidigal, M. C. T. R., & Pires, A. C. dos S. (2025). Baru Proteins: Extraction Methods and Techno-Functional Properties for Sustainable Nutrition and Food Innovation. *Foods*, 14(8), 1286. <https://doi.org/10.3390/foods14081286>
- Mohammadian, M., Salami, M., Moghadam, M., Amirsalehi, A., & Emam-Djomeh, Z. (2021). Mung bean protein as a promising biopolymeric vehicle for loading of curcumin: Structural characterization, antioxidant properties, and in vitro release kinetics. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 61. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102148>
- Mothi, N., Muthu, S. A., Kale, A., & Ahmad, B. (2015). Curcumin promotes fibril formation in F isomer of human serum albumin via amorphous aggregation. *Biophysical Chemistry*, 207, 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.bpc.2015.08.002>
- Niu, B., Li, Z., Luan, C., & Zhao, B. (2025). The dissolution and bioavailability of curcumin reinforced by loading into porous starch under solvent evaporation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 287, 138611. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.138611>
- Nunes, Â. A., Favaro, S. P., Miranda, C. H. B., & Neves, V. A. (2016). Preparation and characterization of baru (*Dipteryx alata* Vog) nut protein isolate and comparison of its physico-chemical properties with commercial

animal and plant protein isolates. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(1), 151–157. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7702>

Orhan, D. E., Cetinkaya, A., Aybi, E. N., Unal, M. A., Nazir, H., Ozkan, S. A., Ates, I., & Dogan-Topal, B. (2025). Evaluation of the interaction mechanism of dsDNA-propofol binding: Electrochemical, thermodynamic, molecular docking studies and comet assay. *Microchemical Journal*, 213, 113647. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2025.113647>

Racz, C. P., Racz, L. Z., Floare, C. G., Tomoaia, G., Horovitz, O., Riga, S., Kacso, I., Borodi, G., Sarkozi, M., Mocanu, A., Roman, C., & Tomoaia-Cotisel, M. (2023). Curcumin and whey protein concentrate binding: Thermodynamic and structural approach. *Food Hydrocolloids*, 139. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108547>

Raj, N., Suman, S., Chandra Rai, D., Meena, S., Duary, R. K., Meena, K. K., & Mishra, S. (2026). Curcumin encapsulation via protein-stabilized emulsions: comparative formulation and characterization using whey, soy, and pea proteins. *Sustainable Food Technology*. <https://doi.org/10.1039/d5fb00526d>

Rezende, J. de P., De Paula, H. M. C., Freitas, T. D., Coelho, Y. L., Da Silva, L. H. M., & Pires, A. C. dos S. (2022). Application of Congo red dye as a molecular probe to investigate the kinetics and thermodynamics of the formation processes of arachin and conarachin nanocomplexes. In *Food Chemistry* (Vol. 384, p. 132485). <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132485>

SILVA, H. D. M. da, SANTOS, F. C. dos, ANDRADE, B. R. P. de, PERFEITO, D. G. de A., & SIQUEIRA, A. P. S. (2023). Extraction and nutritional characterization of baru almond (*Dipteryx alata* Vog.) water-soluble extract. *Food Science and Technology*, 43. <https://doi.org/10.5327/fst.98522>

Silva, H. A., Custódio, M., & Ferreira, M. (2019). Preparo e avaliação da atividade antioxidante e sólidos solúveis totais de bebidas com apelo comercial detox. In *Brazilian Journal of Food Research* (Vol. 10, Number 1).

Solghi, S., Emam-Djomeh, Z., Fathi, M., & Farahani, F. (2020). The encapsulation of curcumin by whey protein: Assessment of the stability and bioactivity. *Journal of Food Process Engineering*, 43(6). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13403>

Taghavi Kevij, H., Mohammadian, M., & Salami, M. (2019). Complexation of curcumin with whey protein isolate for enhancing its aqueous solubility through a solvent-free pH-driven approach. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(12), 1–9. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14227>

Tang, Q., Roos, Y. H., & Miao, S. (2024). Structure, gelation mechanism of plant proteins versus dairy proteins and evolving modification strategies. *Trends*

in *Food Science & Technology*, 104464.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2024.104464>

Tchaikovskaya, O., Bocharnikova, E., Chaydonova, V., Bryantseva, N., & Avramov, P. (2025). Spectrophotofluorometric assay of Sulfaguanidine in Milk whey. *Food Chemistry*, 481, 144051.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.144051>

Tiwari, P., Ali, R., Ishrat, R., & Arfin, N. (2021). Study of interaction between zein and curcumin using spectroscopic and in silico techniques. *Journal of Molecular Structure*, 1230. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129637>

Venka Tesan, P., & Rao, M. N. A. (2000). Structure±Activity Relationships for the Inhibition of Lipid Peroxidation and the Scavenging of Free Radicals by Synthetic Symmetrical Curcumin Analogues. In *J. Pharm. Pharmacol* (Vol. 52).

Wang, Y., Sun, R., Xu, X., Du, M., Zhu, B., & Wu, C. (2021). Structural interplay between curcumin and soy protein to improve the water-solubility and stability of curcumin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 193, 1471–1480. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.10.210>

Wani, T. A., Bakheit, A. H., Zargar, S., Hamidaddin, M. A., & Darwish, I. A. (2017). Spectrophotometric and molecular modelling studies on in vitro interaction of tyrosine kinase inhibitor linifanib with bovine serum albumin. *PLOS ONE*, 12(4), e0176015.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176015>

Xu, P., Qian, Y., Wang, R., Chen, Z., & Wang, T. (2022). Entrapping curcumin in the hydrophobic reservoir of rice proteins toward stable antioxidant nanoparticles. *Food Chemistry*, 387, 132906.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132906>

Yan, S., Liao, X., Xiao, Q., Huang, Q., & Huang, X. (2024). Photostabilities and anti-tumor effects of curcumin and curcumin-loaded polydopamine nanoparticles. *RSC Advances*, 14(20), 13694–13702.
<https://doi.org/10.1039/d4ra01246a>

Yujia, L., Danyang, Y., Yanxue, C., & Xueyi, L. (2017). Improved antioxidant activity and physicochemical properties of curcumin by adding ovalbumin and its structural characterization. *Food Hydrocolloids*, 72, 304–311.

Zhao, R., Qin, X., & Zhong, J. (2021). Interaction between curcumin and β -casein: Multi-spectroscopic and molecular dynamics simulation methods. *Molecules*, 26(16). <https://doi.org/10.3390/molecules26165092>