



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS  
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

**BEATRIZ LEDERMAN VALENTE**

**PROCESSAMENTO DO ISOLADO PROTEICO DE GERGELIM (*Sesamum indicum* L.) POR ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA COMBINADO COM MUDANÇA DE pH**

Campinas

2024

BEATRIZ LEDERMAN VALENTE

**PROCESSAMENTO DO ISOLADO PROTEICO DE GERGELIM (*Sesamum indicum* L.) POR ALTA PRESSÃO HIDROSTÁTICA COMBINADO COM MUDANÇA DE pH**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestra em Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Professor Doutor Marcelo Cristianini

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À  
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO  
DEFENDIDA PELA ALUNA BEATRIZ  
LEDERMAN VALENTE, E ORIENTADA  
PELO PROF. DR. MARCELO  
CRISTIANINI.

Campinas  
2024

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)  
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos  
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

V234p Valente, Beatriz Lederman, 1994-  
Processamento do isolado proteico de Gergelim (*Sesamum indicum* L.) por alta pressão hidrostática combinado com mudança de pH. / Beatriz Lederman Valente. – Campinas, SP : [s.n.], 2024.

Orientador: Marcelo Cristianini.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Alta Pressão Hidrostática. 2. Proteína de Gergelim. 3. Indústria - Subprodutos. I. Cristianini, Marcelo. II. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Faculdade de Engenharia de Alimentos. III. Título.

Informações Complementares

**Título em outro idioma:** Processing of Sesame isolate protein (*Sesamum indicum* L.) by high hydrostatic pressure coupled pH-shifting.

**Palavras-chave em inglês:**

High Hydrostatic Pressure

Sesame protein

Industry - By-products

**Área de concentração:** Tecnologia de Alimentos

**Titulação:** Mestra em Tecnologia de Alimentos

**Banca examinadora:**

Marcelo Cristianini [Orientador]

Guilherme Miranda Tavares

Alline Artigiani Lima Tribst

**Data de defesa:** 18-03-2024

**Programa de Pós-Graduação:** Tecnologia de Alimentos

**Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)**

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0009-0004-3868-9891>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/8476345880833245>

## **COMISSÃO EXAMINADORA**

**Prof. Dr. Marcelo Cristianini**

Presidente

FEA - UNICAMP

**Prof. Dr. Guilherme Miranda Tavares**

Membro Titular

FEA – UNICAMP

**Dra. Alline Artigiani Lima Tribst**

Membro Titular

NEPA - UNICAMP

*A Ata de Defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertações/Teses e na Secretaria do Programa de Pós-Graduação.*

*Dedico este trabalho ao Senhor “Tudo o que fizerem, façam de todo o coração, como para o Senhor, e não para os homens, sabendo que receberão do Senhor a recompensa da herança. É a Cristo, o Senhor, que vocês estão servindo” Colossenses 3:23-24.*

*Deus acima de todos.*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus Todo- Poderoso, fonte de sabedoria e inspiração, que me fortaleceu em cada passo da minha vida. Em gratidão à sua orientação divina, que me guiou e iluminou meus caminhos, tornando possível esta conquista.

Aos meu país, agradeço imensamente pelo amor incondicional, apoio constante e sacrifícios incansáveis ao longo dessa trajetória. Seguindo o mandamento sagrado *“Honra a teu pai e a tua mãe, para que se prolonguem os teus dias na terra que o Senhor teu Deus te dá.”* (Êxodo 20:12.). O caráter exemplar que vocês me transmitiram, fundamentado em valores de honra, disciplina e justiça, moldando meu caráter.

Minha gratidão eterna e especial ao meu orientador Marcelo. Que teve um trabalho árduo para conseguir me transformar em Engenheira de Alimentos. Obrigada por sua orientação sábia, conselhos e dedicação incansável. Agradeço pelas broncas que me ajudaram a crescer, pelos conselhos que me guiaram e pelos momentos de risadas. Sua expertise, paciência e comprometimento me guiaram e me deram força nesta caminhada.

A minha querida família, em especial ao meu irmão Victor, agradeço por estar ao meu lado, apoiar-me e compartilhar comigo as alegrias, chatices e os desafios da vida. Sua presença foi um verdadeiro presente e uma fonte constante de inspiração.

Agradeço aos meus familiares que de uma maneira ou outra, contribuíram nessa trajetória, seja com carinho ou palavras de incentivo.

A todos que de alguma forma contribuíram para esta conquista, meu profundo agradecimento. Que este trabalho seja não apenas uma expressão de minha dedicação, mas também um testemunho da generosidade Divina e do apoio inestimável daqueles que estiveram ao meu lado.

Este trabalho foi desenvolvido com recurso do Projeto 30235/2022-9 recebido do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil. O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001.

## RESUMO

O isolado proteico de Gergelim (*Sesamum indicum* L.) pode ser um ingrediente de grande interesse para aplicações na indústria de alimentos, contribuindo para uma economia circular, visto que pode ser gerado a partir de resíduos industriais. Neste sentido, este estudo teve como objetivo avaliar as alterações nas propriedades tecnofuncionais (*capacidade de retenção de água e óleo, propriedades emulsificantes e solubilidade*) e estruturais (*hidrofobicidade de superfície e FTIR*) do isolado proteico de gergelim (obtido a partir de um subproduto industrial) após o processamento por tecnologia de Alta Pressão Hidrostática (*HHP – High Hydrostatic Pressure*). O Isolado Proteico de Gergelim (*SPI – Sesame Protein Isolate*) foi processado a 200, 400 e 600 MPa por 10 minutos (25°C) em diferentes pHs (4,5; 7,0 e 11,0). O processamento por HHP causou alterações na estrutura secundária do SPI principalmente quando processado à 400 e 600 MPa em pH 4,5 e à 200, 400 e 600 MPa em pH 11,0. Foi observado aumento do conteúdo de bobinas aleatórias na estrutura secundária. Em relação a hidrofobicidade de superfície (Ho) as amostras processadas à 200 MPa em pH 4,5 apresentaram aumento de 157% quando comparadas a amostra controle. Aumento de Ho também foi observado em amostras processadas em pH 11,0 a 400 e 600 MPa, enquanto o processamento em pH 7,0 causou redução conforme o aumento do nível de pressão. Os processamentos realizados em pH 4,5 e 7,0, causaram um aumento de 63% e 80%, respectivamente, na solubilidade do SPI quando analisados em pH 2,0. Nas mesmas condições de processamento quando analisado em pH 5,0 houve um aumento de 300% e 97% na solubilidade. Os processos a 200 MPa exerceram maior influência no índice de atividade emulsificante em pH 4,5; 7,0 e 11,0, aumentando em 132%, 115% e 17%, respectivamente. A estabilidade das emulsões foi melhorada quando processada a 600 MPa em pH 4,5 e 7,0, aumentando em 170% e 147%, respectivamente. A capacidade de retenção de água aumentou em 23% das amostras processadas a 600MPa em pH 4,5 e a 200MPa em pH 7,0. Em relação a capacidade de retenção de óleo, os processos com pH 4,5 e 7,0 a 600 MPa apresentaram um aumento de 20%, enquanto a o isolado processado em pH 11,0 a 200 MPa aumentou em 25%. A partir desses resultados é possível afirmar que o processamento por alta pressão hidrostática consegue modificar as estruturas proteicas (quaternárias, terciárias e secundárias) do SPI. Essas modificações em suas estruturas causaram alterações em suas propriedades tecno-

funcionais, podendo ser de grande interesse para aplicação industrial, visto que proteínas vegetais possuem baixas propriedades tecno-funcionais.

**Palavras-chave:** Proteína de Gergelim; Alta Pressão Hidrostática; Mudança de pH; Subproduto industrial.



## ABSTRACT

Sesame isolate protein (*Sesamum indicum* L.) will be a promising ingredient for the food industry, contributing to a circular economy. However, its techno-functional properties, particularly its solubility, limits its application in food products. In this study, changes in structural (Surface hydrophobicity index and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR)) and techno-functional properties (Water and oil holding capacity, emulsifying activity, emulsion stability index and solubility) of Sesame Protein Isolate (SPI) were evaluated after processing by High Hydrostatic Pressure (HHP) at pressures of 200, 400, and 600 MPa for 10 minutes (25°C) at different pH (4.5, 7.0, and 11.0). HHP treatment caused structural changes in the SPI when processed at 200, 400 and 600 MPa at pH 4.5 and 11.0. Processing by HHP caused changes in the secondary structure of SPI mainly when processed at 400 and 600 MPa at pH 4.5 and at 200, 400 and 600 MPa at pH 11.0. An increase in the content of random coils in the secondary structure was observed. Regarding surface hydrophobicity (Ho), samples processed at 200 MPa at pH 4.5 showed a 157% increase when compared to the unprocessed sample. Increased Ho was also observed in samples processed at pH 11.0 at 400 and 600 MPa, while processing at pH 7.0 caused a reduction in Ho as the pressure level increased. Processes carried out at pH 4.5 and 7.0 caused an increase of 63% and 80%, respectively, on solubility when analyzed at pH 2.0. Under the same processing conditions at pH 5.0 there was an increase of 300% and 97% in its solubility. In relation to SPI processed at pH 11.0, only at 200 MPa it was observed a 60% increase in its solubility (evaluated as pH 8.0) when compared to its control. Processes at 200 MPa had a greater influence on the emulsifying activity index at pH 4.5, 7.0 and 11.0, increasing by 132%, 115% and 17% respectively. While the stability of the obtained emulsions was improved when processed at 600 MPa at pH 4.5 and 7.0, increasing by 170% and 147% respectively. The water holding capacity increased by 23% for samples processed at 600 MPa at pH 4.5 and at 200 MPa at pH 7.0. Regarding oil holding capacity, SPI processed at pH 4.5 and 7.0 at 600 MPa increased its capacity by 20%, while SPI processed at pH 11.0 at 200 MPa increased 25%. From these results it can be concluded that High Hydrostatic Pressure can modify SPI protein structures (quaternary, tertiary and secondary). These changes in their caused changes in their techno-functional properties, which may be of great importance for industrial applications since vegetable proteins have low techno- functional properties.

**Keywords:** Sesame Protein Isolate; High Hydrostatic Pressure; pH-shifting; Industrial by-products.

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> - Relação entre as diferentes propriedades funcionais, a solubilidade das proteínas animais, e a sua aplicação em sistemas alimentares. ....                        | 24 |
| <b>Figura 2</b> - Plantação de Gergelim. ....                                                                                                                                       | 25 |
| <b>Figura 3</b> - Semente de Gergelim Branco.....                                                                                                                                   | 26 |
| <b>Figura 4</b> - Fluxograma de extração do óleo. ....                                                                                                                              | 27 |
| <b>Figura 5</b> - Processamento por Alta Pressão Hidrostática.....                                                                                                                  | 30 |
| <b>Figura 6</b> - Modificações Estruturais Decorrentes da Aplicação de Pressão pela HHP. ....                                                                                       | 32 |
| <b>Figura 7</b> - Fluxograma das principais etapas do projeto. ....                                                                                                                 | 36 |
| <b>Figura 8</b> - Condições das análises estruturais e tecno-funcionais do SPI independente do pH de processamento.....                                                             | 38 |
| <b>Figura 9</b> - Gradação das diferenças de cor. ....                                                                                                                              | 45 |
| <b>Figura 10</b> - Aparência visual do SPI processados por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11,0.....                                                                      | 48 |
| <b>Figura 11</b> - Índice de Hidrofobicidade Superficial (Ho) do SPI processado a 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11,0.....                                                     | 49 |
| <b>Figura 12a</b> - Espectros de FTIR do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5. ....                                                                                | 53 |
| <b>Figura 12b</b> - Espectros de FTIR do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 7,0.....                                                                                 | 53 |
| <b>Figura 12c</b> - Espectros de FTIR do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 11,0.....                                                                                | 54 |
| <b>Figura 13a</b> - Análise de Componentes Principais (PCA) da análise de FTIR do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa nos pH 4,5; 7,0 e 11,0. ....                          | 56 |
| <b>Figura 13b</b> - Gráfico de Loadings ilustrando a distribuição no conjunto de dados do espectro FTIR do SPI processados por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11, 0...57 | 57 |
| <b>Figura 14</b> - Solubilidade do SPI - Controle em pressão atmosférica (0,1 MPa) processada em pH 4,5; 7,0 e 11,0.....                                                            | 59 |
| <b>Figura 15a</b> - Solubilidade do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5.....                                                                                      | 61 |
| <b>Figura 15b</b> - Solubilidade do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 7,0.....                                                                                      | 61 |

|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 15c - Solubilidade do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 11,0.</b> ..... | 62 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> - Composição do farelo de Gergelim (% de peso seco e base livre de lipídios).....                                                                                 | 28 |
| <b>Tabela 2</b> - Composição centesimal (g/100g). ....                                                                                                                            | 44 |
| <b>Tabela 3</b> - Parâmetros de cor do SPI processados por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11,0.....                                                                    | 46 |
| <b>Tabela 4</b> - Estruturas Secundárias do SPI processados por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11,0.....                                                               | 52 |
| <b>Tabela 5</b> - Índice de Atividade Emulsificante (EAI) e Índice de Estabilidade Emulsificante (ESI) do SPI processados por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11,0..... | 65 |
| <b>Tabela 6</b> – Capacidade de Retenção de Água (CRA) e Óleo (CRO) de SPI processadas por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11,0. ....                                   | 68 |

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

**CRA** – Capacidade de Retenção de Água

**CRO** - Capacidade de Retenção de Óleo

**EAI** – Índice de Atividade Emulsificante

**ESI** – Índice de Estabilidade Emulsificante

**FG** – Farelo de Gergelim

**FDG** – Farelo Desengordurado de Gergelim

**FTIR** - Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier

**HHP** – Processamento por Alta Pressão Hidrostática

**Ho** – Hidrofobicidade de Superfície

**pI** – Ponto Isoelétrico

**pH** – Potencial Hidrogeniônico

**PCA** – Análise de Componentes Principais

**SPI** – Isolado Proteico de Gergelim

## SUMÁRIO

|          |                                                                       |           |
|----------|-----------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b> | <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                               | <b>17</b> |
| <b>2</b> | <b>OBJETIVOS.....</b>                                                 | <b>20</b> |
| 2.1      | Objetivos gerais.....                                                 | 20        |
| 2.2      | Objetivos específicos .....                                           | 20        |
| <b>3</b> | <b>Revisão Bibliográfica .....</b>                                    | <b>21</b> |
| 3.1      | Mercado Consumidor .....                                              | 21        |
| 3.2      | Proteínas .....                                                       | 23        |
| 3.3      | Gergelim.....                                                         | 25        |
| 3.4      | Processamento por Alta Pressão Hidrostática .....                     | 29        |
| <b>4</b> | <b>Material e Métodos .....</b>                                       | <b>35</b> |
| 4.1      | Materiais.....                                                        | 35        |
| 4.2      | Métodos .....                                                         | 35        |
| 4.2.1    | Extração do Isolado Proteico de Gergelim .....                        | 35        |
| 4.2.2    | Processamento por Alta Pressão Hidrostática (HHP) .....               | 37        |
| 4.2.3    | Composição Centesimal e Rendimento Proteico .....                     | 38        |
| 4.2.4    | Determinação instrumental de cor .....                                | 39        |
| 4.2.5    | Hidrofobicidade de Superfície (Ho) .....                              | 39        |
| 4.2.6    | Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier<br>(FTIR) | 39        |
| 4.2.7    | Solubilidade Proteica .....                                           | 40        |
| 4.2.8    | Índice de Atividade e Estabilidade Emulsificante .....                | 41        |
| 4.2.9    | Capacidade de Retenção de Água .....                                  | 42        |
| 4.2.10   | Capacidade de Retenção de Óleo .....                                  | 42        |
| 4.2.11   | Análise Estatística .....                                             | 43        |
| <b>5</b> | <b>Resultados e Discussão .....</b>                                   | <b>44</b> |
| 5.1      | Composição centesimal e Rendimento Proteico .....                     | 44        |

|          |                                                                                            |           |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.2      | Determinação instrumental de cor.....                                                      | 45        |
| 5.3      | Hidrofobicidade de Superfície (Ho) .....                                                   | 48        |
| 5.4      | Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)                         | 51        |
| 5.5      | Solubilidade Proteica.....                                                                 | 58        |
| 5.6      | Índice de Atividade Emulsificante (EAI) e Índice de Estabilidade Emulsificante (ESI) ..... | 65        |
| 5.7      | Capacidade de Retenção de Água e Capacidade de Retenção Óleo                               | 68        |
| <b>6</b> | <b>Conclusão .....</b>                                                                     | <b>70</b> |
|          | <b>Referencial Bibliográfico .....</b>                                                     | <b>72</b> |
|          | <b>APÊNDICE A – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM pH 2,0.....</b>                       | <b>91</b> |
|          | <b>APÊNDICE B – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM pH 3,0.....</b>                       | <b>92</b> |
|          | <b>APÊNDICE C – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM pH 4,0.....</b>                       | <b>93</b> |
|          | <b>APÊNDICE D – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM pH 5,0.....</b>                       | <b>94</b> |
|          | <b>APÊNDICE E – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM pH 6,0.....</b>                       | <b>95</b> |
|          | <b>APÊNDICE F – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM pH 7,0.....</b>                       | <b>96</b> |
|          | <b>APÊNDICE G – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM pH 8,0.....</b>                       | <b>97</b> |



## 1 INTRODUÇÃO

A evolução do perfil do consumidor ao longo dos anos vem ocasionando modificações no mercado e na indústria de alimentos. Os consumidores querem cada vez mais tomar decisões sobre os produtos alimentícios disponíveis para compras, com base em suas características, valores e prioridades (Clark et al., 2022).

Atualmente, a crescente preocupação dos consumidores com o meio ambiente e com o bem-estar animal delineia uma tendência ascendente em um nicho de mercado específico. Nesse cenário, as tendências de mercado incluem o veganismo, o vegetarianismo e o flexitarianismo (Bryant, 2019). Devido a mudança desse mercado, o consumo de produtos *plant-based* vêm crescendo e, esse movimento impulsiona a indústria a buscar por novas fontes de proteínas vegetais.

A soja por muitos anos foi a principal fonte de proteína dos produtos alimentícios voltados para a substituição da proteína animal. No entanto, a alta demanda por produtos *plant-based* fez com que o mercado explorasse novas fontes de proteínas, cedendo espaço para as proteínas alternativas além da soja (The Good Food Institute, 2021).

Uma fonte leguminosa com grande destaque nos últimos anos e que vem sendo amplamente utilizada para produzir os análogos de carne, é a ervilha. As proteínas alternativas podem ser obtidas a partir de leguminosas (por exemplo, ervilhas, feijões, grão de bico, lentilhas e tremoços), de oleaginosas (amendoim, gergelim, linhaça e colza/canola), de cereais (trigo, milho, arroz, aveia, cevada e sorgo), de pseudocereais (quinoa, amaranto, chia e trigo sarraceno), de fermentação fúngica (micoproteínas), de microalgas (*Spirulinas*) e de insetos (D. Lin et al., 2017).

Uma fonte alternativa que vêm sendo cobiçada são as proteínas extraídas a partir de subprodutos industriais. Os subprodutos têm sido reconhecidos como uma fonte abundante e barata de compostos funcionais, como proteínas, antioxidantes e fibras. A utilização desses resíduos vai de encontro com um dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), estabelecidos pela ONU (Organização das Nações Unidas), que é reduzir pela metade o desperdício de alimentos e reduzir a perda de alimentos até o ano de 2030 (Pojić et al., 2018)

Muitos estudos têm avaliado as proteínas destes subprodutos como substitutos promissores às proteínas animais, como é o caso das tortas provenientes da extração de oleaginosas como colza (ou canola) (Jia et al., 2021a), abóbora (Vinayashree & Vasu, 2021a), mostarda (Chakraborty et al., 2021), algodão (Kumar et al., 2021), girassol (Albe Slabi et al., 2020) e semente de gergelim (Sá et al., 2021). O subproduto da indústria de óleo geralmente tem um alto conteúdo proteico (11-55%), que na maioria das vezes são descartados pela indústria ou usados como matéria-prima para ração animal (Görgüç et al., 2019; Vinayashree & Vasu, 2021a).

Uma oleaginosa que vêm se destacando é o Gergelim (*Sesamum indicum* L.), pois quase toda a sua produção é destinada para a extração do óleo. A torta de gergelim possui um teor de 35% de proteína (base seca) e pode chegar a 70% quando livre de lipídeos (Sá et al., 2022a).

O gergelim, apesar de não ser originário do Brasil, é também uma fonte proteica de grande interesse de exploração, principalmente devido ao aumento exponencial do seu cultivo no país e por gerar um subproduto de alta qualidade (Kaur et al., 2021). Na safra de 2023/2024 a expectativa do mercado é produzir o dobro da temporada anterior, que foi de 174 mil toneladas, o que representa 300 vezes mais do que se plantava há 10 anos. Em relação à exportação, subiu de 42 mil toneladas em 2022 para mais de 151 mil toneladas em 2023, um aumento de 257% (Conab, 2023).

Porém, assim como a maioria das proteínas vegetais, a proteína do gergelim possui propriedades funcionais inferiores quando comparadas com as de origem animal. As proteínas vegetais podem atuar como base estrutural na formulação de produtos *plant-based*, no entanto, quando utilizadas em sua forma “nativa”, essas proteínas apresentam desempenho funcional inferior se comparadas às de origem animal, o que, de certa forma, limita suas aplicações na indústria de alimentos. Dessa forma, métodos de modificação de proteínas estão sendo usados para provocar alterações na estrutura molecular ou em determinados grupos químicos das proteínas com a finalidade de aprimorar suas tecno-funcionalidades e ampliar suas aplicações no setor de alimentos (Nikbakht Nasrabadi et al., 2021).

Essas modificações podem ser realizadas através de métodos classificados como físicos (processamento à alta pressão, processamento térmico, irradiação gama, radiação ultravioleta, campo elétrico pulsado, extrusão), químicos (alteração de pH, glicação, fosforilação, acilação, desamidação, cationização) e biológicos (modificação enzimática, fermentação) (Queirós et al., 2018a).

Dentre os métodos físicos de modificação, o processamento a alta pressão hidrostática (*High Hydrostatic Pressure - HHP*) destaca-se como uma tecnologia emergente de processamento não térmico, no qual os alimentos são submetidos a elevadas pressões. Além de atuar com a inativação de micro-organismos, atualmente o HHP vêm sendo utilizado nas modificações das propriedades físico-químicas e tecno-funcionais das macromoléculas dos alimentos (Gang Huang et al., 2022).

De acordo com as pesquisas realizadas, constata-se que a utilização da tecnologia de alta pressão pode melhorar as propriedades tecno-funcionais das proteínas vegetais, como visto na proteína de soja (Ma et al., 2022; Puppo et al., 2004; Z. Wang et al., 2021a), ervilha (Chao et al., 2018; Hall & Moraru, 2021a; Sim et al., 2019), feijão (Ahmed et al., 2018; H. Lee et al., 2018; T. Lin & Fernández-Fraguas, 2020) e quinoa (Luo, Yang, et al., 2022; Yildiz & Yildiz, 2023).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar o potencial do processamento da Alta Pressão Hidrostática sobre o isolado proteico de gergelim em diferentes pH, verificando suas propriedades tecno-funcionais e estruturais.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivos gerais**

Avaliar o efeito da tecnologia de Alta Pressão Hidrostática (HHP) combinado com mudanças de pH sobre as propriedades estruturais e tecno-funcionais do isolado proteico de gergelim.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Obter o isolado proteico a partir do farelo de gergelim;
- Processar os isolados proteicos por Alta Pressão Hidrostática, sob diferentes pressões (200, 400 e 600 MPa) e pH (4,5; 7,0 e 11,0);
- Avaliar o efeito do processamento sobre a estrutura proteica através da Hidrofobicidade de Superfície e a Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de *Fourier* (FTIR);
- Avaliar o efeito do processamento sobre a Atividade e Estabilidade Emulsificante, Solubilidade, Capacidade de Retenção de Água e Capacidade de Retenção de Óleo;

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Mercado Consumidor

A evolução do perfil do consumidor ao longo dos anos vem ocasionando modificações no mercado e na indústria de alimentos. Os consumidores estão cada vez mais propensos a realizar escolhas em relação aos produtos alimentícios disponíveis para compra com base em uma avaliação criteriosa de suas características, valores e prioridades (Clark et al., 2022).

Atualmente, a crescente preocupação dos consumidores com o meio ambiente e o bem-estar animal delinea uma tendência ascendente em um nicho de mercado específico. Nesse cenário, as tendências de mercado incluem o veganismo, vegetarianismo e flexitarianismo (Bryant, 2019). Devido a mudança desse mercado, o consumo de produtos *plant-based* vêm crescendo e esse movimento impulsiona a indústria a buscar por novas fontes de proteínas vegetais.

Embora os indivíduos que seguem um estilo de vida vegano sejam uma minoria no mundo economicamente desenvolvido, as tendências recentes indicam um crescimento notável em seus números (Karmaus & Jones, 2021a). De acordo com *The Good Food Institute* (GFI), o crescimento do mercado *plant-based* é de 7% ao ano, e esse valor deve chegar a 12% em 2027. Globalmente, estima-se que até o ano de 2030, as vendas do segmento movimentem US\$ 162 bilhões. No Brasil o setor de proteínas alternativas recebeu investimento recorde de \$5 bilhões no ano de 2021, ou seja, 60 % a mais do que no ano de 2020. Neste setor estão incluídas não apenas as empresas de proteína vegetal, mas também as de carne cultivada e as de fermentação (The Good Food Institute, 2022).

Desde 2018, o mercado vegano tem experimentado um crescimento significativo, e análises mais recentes sugerem que esse nicho está se consolidando como uma das principais tendências globais em termos de consumo (Saari et al., 2021). A projeção para o mercado à base de carnes vegetais está estimada para aumentar de US\$ 4,6 bilhões em 2018 para US\$ 85 bilhões em 2030 (Reports and Data, 2019).

De acordo com a *Euromonitor International* com esse *boom* na mudança de perfil do consumidor, outros mercados estão começando a acompanhar essa tendência, como o mercado de *baby food* e *pet food*, no qual esse hábito vegano é passado para os filhos e até mesmo animais de estimação. Esse aumento do mercado exige inovação das marcas para sustentar o crescimento de valor e qualidade, portanto, alimentos *premium* continuarão sendo cruciais para vencer no espaço de alimentos para bebês e *pets* (Euromonitor International, 2022).

O mercado global de ração vegana para *pets* (cães e gatos) deverá atingir US\$ 15.6 milhões até 2028, tendo um CAGR (*Compound Annual Growth Rate*) de 7.7% durante 2021-2028. Esse aumento no mercado *pet food* é devido ao aumento do número de donos de animais que são veganos e preferem que a comida de seus *pets* sejam veganas. As principais inclinações no mercado de alimentos para animais de estimação são influenciadas por tendências de alimentos humanos, como exemplo, rótulos *clean label*, proteínas alternativas e ingredientes saudáveis (The Insights Partners, 2020).

Porém, essa urgência de produtos *plant-based* é um grande desafio para a indústria. Em um levantamento feito pelo GFI, observou-se que existem alguns principais desafios da indústria para o mercado de produtos vegetais, incluindo matérias primas e ingredientes com melhores funcionalidades tecnológicas (72% das empresas apontam essa como uma alta prioridade); processos e ingredientes mais sustentáveis (procura por processamentos que sejam sustentáveis, diminuindo o impacto ambiental e otimizando o processo); e obtenção do produto final com características nutricionais equiparado ou superior ao do produto de origem animal (De Matos et al., 2021).

Na União Europeia a reclamação dos consumidores ocorre principalmente em torno da qualidade sensorial, englobando a aparência, textura e sabor, pois buscam por produtos que sejam o mais similar possível com os provenientes de origem animal (Tuorila & Hartmann, 2020).

Portanto, a indústria de alimentos está criando uma geração de produtos para atender essa demanda do seu público-alvo. O principal desafio nessa área é produzir produtos similares aos de origem animal, que incluam suas características sensoriais e nutricionais. Assim, a indústria alimentícia deve desenvolver combinações de ingredientes, mediante a utilização de técnicas inovadoras de processamento para

criar esses atributos em alimentos *plant-based*, além de constituir uma cadeia produtiva sustentável.

### 3.2 Proteínas

As proteínas são polímeros, ou seja, moléculas formadas por uma sequência de aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas. Possuem quatro níveis estruturais: a estrutura primária (sequência linear dos aminoácidos unidos por ligação peptídica); a secundária (interação da estrutura primária local, organizando-se em estruturas de  $\alpha$ -hélice e folhas  $\beta$ ); a terciária (arranjo tridimensional da cadeia polipeptídica com ela mesma); e a quaternária (associação estável entre duas ou mais cadeias de polipeptídeos) (Sim et al., 2021).

A classificação das proteínas pode ser feita de acordo com suas funções como catalíticas, estruturais, regulatórias ou hormonais, de transporte, genéticas, imunes, contráteis, armazenamento; conforme sua forma como fibrosas ou globulares; de acordo com sua solubilidade como albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas; e segundo o seu valor nutricional (aminoácidos essenciais) (Nadathur et al., 2017).

Quanto ao conteúdo nutricional das proteínas, sabe-se que as de origem animais apresentam alta qualidade e conteúdo nutricional, enquanto as de procedência vegetais são geralmente deficientes em alguns aminoácidos essenciais (Fasolin et al., 2019a). Proteínas que atendem aos requerimentos nutricionais para todos os aminoácidos são chamadas de proteínas completas, que são de origem animal (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2013). Ao contrário, as proteínas vegetais são normalmente incompletas, como por exemplo o milho é deficiente em triptofano, o arroz e outros cereais em lisina, enquanto a metionina é o aminoácido limitante no feijão e outras leguminosas. Combinar diferentes proteínas vegetais pode ser uma solução para que se atinja o perfil de aminoácidos desejados (Aluko, 2018).

Além do importante papel nutricional, as proteínas têm uma relevância também pelas suas propriedades tecno-funcionais, que as tornam um alimento mais atraente sensorialmente. Desta forma, as proteínas desempenham um papel importantíssimo nas propriedades nutricionais, sensoriais, físico-químicas e organolépticas (cor,

textura, sabor) dos alimentos e, por isso, despertam interesse para aplicações industriais (Moure et al., 2006).

As propriedades tecno-funcionais mais importantes das proteínas nas matrizes alimentares incluem a solubilidade, a capacidade de retenção de água e gordura, a formação de gel, a capacidade de emulsificação, e a formação de espuma, conforme Figura 1. Estas propriedades relacionam-se com a forma como as proteínas interagem com outros componentes (Soares et al., 2020).

**Figura 1** - Relação entre as diferentes propriedades funcionais, a solubilidade das proteínas animais, e a sua aplicação em sistemas alimentares.

|                       | SOLUBILIDADE ELEVADA                                                                                                                                                                   | SOLUBILIDADE INTERMÉDIA                                                                                                                                                                             | SOLUBILIDADE BAIXA                                                                                                                                                                |
|-----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| PROPRIEDADE FUNCIONAL | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Solubilidade</b><br/>Solvatação da proteína<br/>Ex. sistema alimentar: Bebidas</li> </ul>                                                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Coesão-adesão</b><br/>Ex. sistema alimentar: Carnes, enchidos, produtos de pastelaria, massas alimentícias</li> </ul>                                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Adsorção de gordura</b><br/>Ligação às moléculas de água livre<br/>Ex. sistema alimentar: Carnes, enchidos, bolos, padaria</li> </ul> |
|                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Emulsificação</b><br/>Formação e estabilização de emulsões<br/>Ex. sistema alimentar: Molhos, sopas, bolos, gelado, iogurte</li> </ul>     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Elasticidade</b><br/>Ligação hidrofóbica no glúten; Ligações sulfeto nos géis;<br/>Ex. sistema alimentar: Carnes, padaria, queijo</li> </ul>            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Flavour binding</b><br/>Adsorção<br/>Ex. sistema alimentar: Análogos de carne, padaria</li> </ul>                                     |
|                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Formação de espuma</b><br/>Formação e estabilização de espuma<br/>Ex. sistema alimentar: Coberturas batidas, sobremesas, bolos</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Viscosidade</b><br/>Espessamento e ligação a moléculas de água<br/>Ex. sistema alimentar: Sopas, molhos e produtos com baixo teor de gordura</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Filmes hidrofóbicos</b><br/>Formação de redes interfaciais<br/>Ex. sistema alimentar: Revestimentos alimentares</li> </ul>            |
|                       | <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Formação de gel</b><br/>Formação e configuração da matriz proteica<br/>Ex. sistema alimentar: Carnes, queijo, análogos da carne</li> </ul> |                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                   |
|                       |                                                                                                                                                                                        |                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                   |

Fonte: Voudouris et al., (2017).

Apesar da relevância das propriedades tecno-funcionais, o uso de proteínas vegetais como ingredientes geralmente está associado a algumas limitações, como baixa solubilidade em água e sabor residual. Isso traz um desafio para a indústria de alimentos, principalmente na aplicação e desenvolvimento de alimentos *plant-based* (Alves & Tavares, 2019). Porém, estrutura, funcionalidade e propriedades físico-químicas das proteínas podem ser modificadas por vários métodos (químico, físico ou enzimático). O grau de modificação dependerá de parâmetros operacionais e ambientais como teor de proteína, binômio de processamento (tempo x temperatura), composição do meio e pH (Gharibzahedi & Smith, 2021).

Estas propriedades tecno-funcionais dependem diretamente de características físico-químicas das proteínas, como seu peso molecular, composição dos aminoácidos, carga líquida, sua hidrofobicidade, estruturas (secundária, terciária e



quaternária), flexibilidade/rigidez molecular em resposta ao ambiente externo (pH, temperatura, concentração de sal) e a interação com outros constituintes dos alimentos, sendo importante mencionar que as propriedades funcionais da proteína variam de acordo com a sua fonte (Rodrigues et al., 2012).

### 3.3 Gergelim

O gergelim, (que significa “grão de coentro”) ou conhecido como Sésamo, cujo nome científico é *Sesamum indicum* L., é uma oleaginosa que pertence à família *Pedaliaceae* (Figuras 2 e 3), originária do Oriente (EMBRAPA, 2009). As oleaginosas são plantas que contêm sementes ou frutos com alto teor de óleos, como reserva energética. Elas se caracterizam não apenas por serem ricas em lipídeos, mas também por seu alto teor proteico (Antoniassi et al., 2013). As sementes de gergelim branco têm uma alta concentração de óleo (44-58%), proteínas (18-25%) e carboidratos (13,5%) em base seca (Sá et al., 2022b).

**Figura 2** - Plantação de Gergelim.



Fonte: EMBRAPA, 2021.

**Figura 3** - Semente de Gergelim Branco.



Fonte: EMBRAPA, 2021.

Cerca de 90% do gergelim produzido mundialmente é destinado ao consumo alimentício, em sua maior parte utilizado para produção de óleo. Além do óleo, o gergelim pode ser consumido como grão in natura, pasta (*tahine*), doces (*halawi*) e as farinhas que podem ser utilizadas nas indústrias de panificação (EMBRAPA, 2021).

O gergelim é cultivado em 71 países, mas quase 70% da produção mundial é proveniente da Índia, China e Mianmar (Idowu et al., 2021a). Cultivada especialmente nos países do continente asiático e africano, essa planta se adapta tanto aos climas tropicais quanto subtropicais, e por esta razão, a sua lavoura no Brasil vem crescendo.

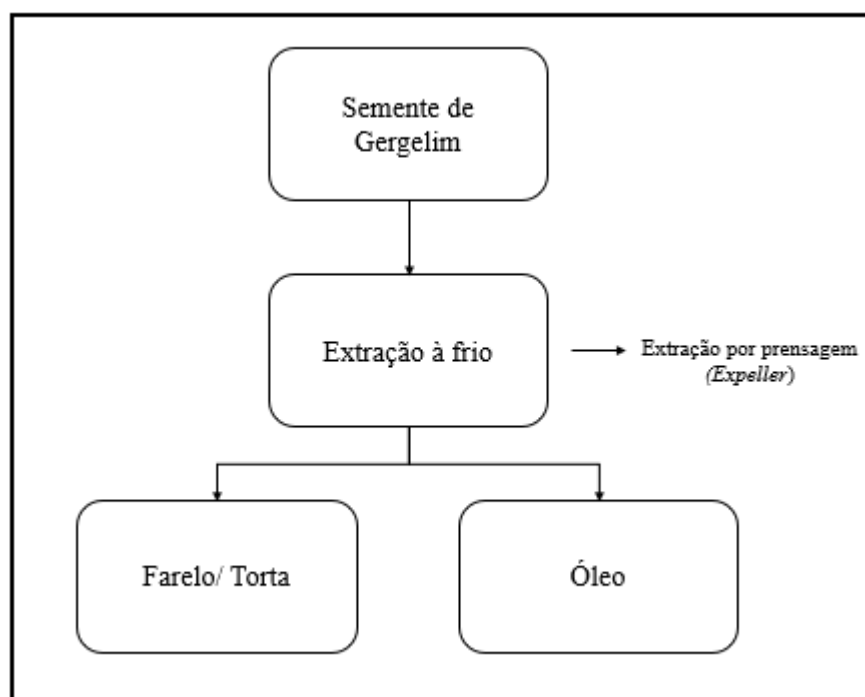
Na safra de 2023/2024 a expectativa do mercado é produzir o dobro da temporada anterior, que foi de 174 mil toneladas, o que representa 300 vezes mais do que se plantava há 10 anos. Em relação à exportação, subiu de 42 mil toneladas em 2022 para mais de 151 mil toneladas em 2023, um aumento de 257% (Conab, 2023). O interesse pelo gergelim cresceu ainda mais em 2023 devido ao atraso do plantio da soja e risco climático para o milho. Além disso, o gergelim foi incluído em 2020 na lista de produtos agrícolas com benefícios fiscais do Programa Nacional de Produção e

Uso do Biodiesel (PNPB), o que ampliou ainda mais o interesse entre os produtores de terem como alternativa de plantio nas entressafras de soja (Conab, 2023).

A principal utilização do gergelim pela indústria é para a extração de óleo, cujo substrato é muito empregado como intensificador de sabor em cozinhas do oriente médio, além de conter sesamol e sesaminol, dois importantes antioxidantes, que demonstram propriedades anti-inflamatórias e neuroprotetoras (Gina et al., 2023).

Cabe destacar que a produção de óleo gera um resíduo industrial denominado de torta ou farelo, conforme Figura 4, a qual ficou estimada mundialmente cerca de 317 milhões de toneladas em 2016 e está projetado para 386 milhões de toneladas até o ano de 2025 (Kaur et al., 2021).

**Figura 4** - Fluxograma de extração do óleo.



Fonte: Autoria própria.

A incorporação desses subprodutos como ingredientes na indústria de alimentos segue os princípios de sustentabilidade da cadeia, gerando uma economia circular, além de terem um grande potencial econômico (matéria prima relativamente barata e disponível durante todo o ano) (Han et al., 2021; Melo et al., 2021).

Devido à grande demanda por proteínas vegetais, atualmente as tortas de oleaginosas tem sido testada como matéria prima para produzi-las, destacando-se a semente de colza (ou canola) (Jia et al., 2021a), abóbora (Vinayashree & Vasu, 2021a), mostarda (Chakraborty et al., 2021), algodão (Kumar et al., 2021), girassol (Albe Slabi et al., 2020), semente de gergelim (Sá et al., 2021a) e a principal sendo a soja (Cao et al., 2022; Z. Wang et al., 2021a, 2021b; Yuan et al., 2023).

Quando se compara o farelo de gergelim com outras fontes tradicionais de proteína vegetal, já utilizadas pela indústria, como os grãos de soja, ervilha e feijão, que apresenta, um teor de proteína de 35,3%, 21,7 % e 19,9% respectivamente (em base seca), o gergelim possuiu um excelente potencial como fonte proteica (Tabela 1) (Sha & Xiong, 2020).

**Tabela 1** - Composição do farelo de Gergelim (% de peso seco e base livre de lipídios).

| <b>Composição (peso seco/100g)</b> |      |
|------------------------------------|------|
| Proteína                           | 52,5 |
| Cinza                              | 12,3 |
| Fibra bruta                        | 12,2 |

Fonte: Sá et al., (2021a).

Apesar da promissora utilização de farelos de oleaginosas como fontes proteicas na dieta humana, um fator que limita seu uso é o percentual de aminoácidos essenciais, visto que possuem em maiores concentrações a Leucina e Valina, enquanto a Metionina (Met), aminoácido contendo enxofre, estão presentes em menores quantidades (Kotecka-Majchrzak et al., 2021a).

O farelo de gergelim possui um teor de aminoácidos sulfurados (Met + Cys) relevantes, numa proporção aproximada de 4,50 g/100g de proteína, porém o seu aminoácido limitante é a Lisina (Lys) com cerca de 3g/100 g de proteína (Sá et al., 2022b). Segundo Kotecka-Majchrzak (et al., 2021), quando se compara os teores de Metionina, o farelo de gergelim (0,67 g/100g) está em um nível superior se comparadas com a proteína de frango (0,58 g/100g), proteína bovina (0,57 g/100g) e a proteína de soja (0,59 g/100g).

Devido ao seu valor nutricional o farelo de gergelim vem sendo adicionado como coadjuvante em produtos de panificação “sem glúten”, melhorando os valores nutricionais, além de melhorar as texturas dos produtos (Papagianni et al., 2024; Parandi et al., 2024).

Todas essas características podem impulsionar ainda mais o uso do farelo de gergelim como ingrediente funcional em vários produtos alimentícios. Várias pesquisas já realizaram a extração da proteína a partir do farelo, as extrações foram feitas via alcalina com precipitação ácida (ponto isoelétrico) e obtiveram teores proteicos entre 85 e 98%, sendo considerado um isolado proteico (Achouri & Boye, 2013; Fasuan et al., 2018; Idowu et al., 2021; Lu et al., 2019; Onsaard et al., 2010).

Nas sementes de gergelim são, principalmente, encontradas as proteínas de armazenamento, sendo que a principal proteína do gergelim é a globulina 11S insolúvel, que representa 80% das proteínas totais da semente e é convencionalmente denominada  $\alpha$ -globulina. A principal proteína solúvel, a albumina 2S, que representa aproximadamente 20% do total de proteínas do gergelim (Idowu et al., 2021a). Essas frações de proteínas são classificadas de acordo com sua solubilidade e, além da globulina e albumina, tem-se a glutelina e prolamina (Koysuren et al., 2021).

Outra relevância é o fato do hidrolisado de proteína de gergelim apresentar atividade antioxidante, efeito anti-hipertensivo, efeito na resistência insulínica e quelante de metais (Lu et al., 2019b).

Uma atuação promissora é o uso de peptídeos antibacterianos (ABPs), que podem ajudar a preservar os alimentos (S. Wang et al., 2016). Em recente estudo Zhu (et al., 2024), verificou que os peptídeos derivados do gergelim, pertencente à família 11S e 2S têm potencial inibitório contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*. Além disso a proteína *SiAMP2* pertencente à família da albumina 2S foi avaliada também como uma proteína antimicrobiana, uma vez que inibe a *Klebsiella sp.*, e, portanto, mostra que as proteínas de armazenamento podem atuar como antimicrobianos (Maria-Neto et al., 2011).

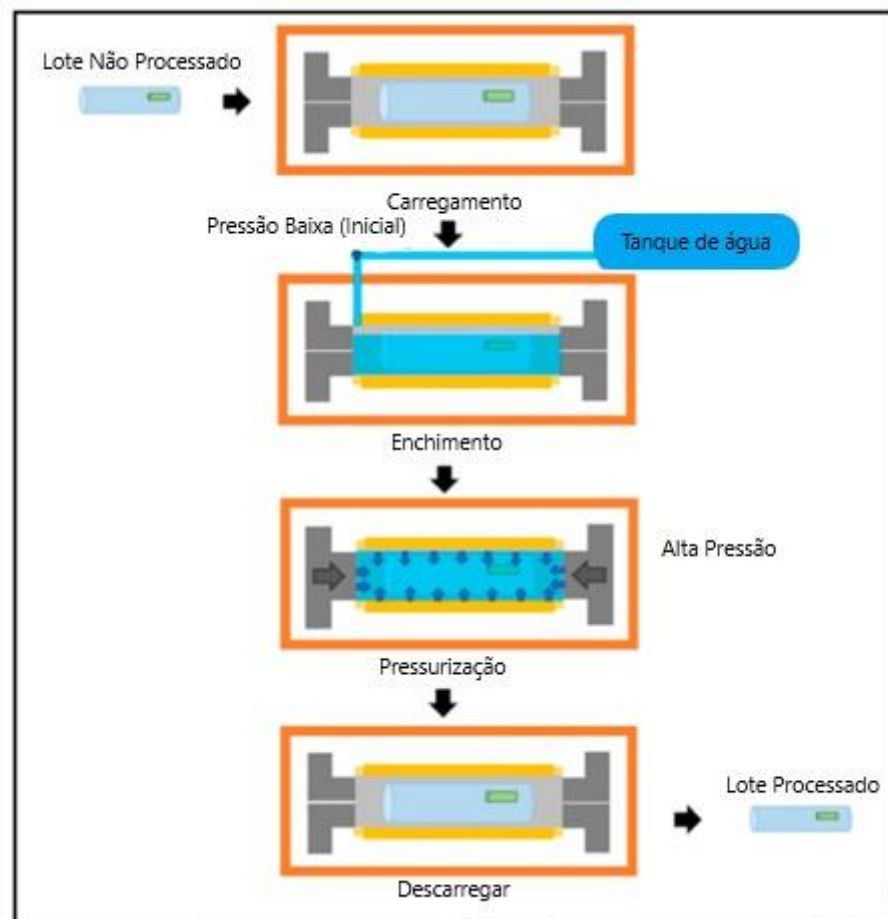
### **3.4 Processamento por Alta Pressão Hidrostática**

A tecnologia de Alta Pressão Hidrostática (*HHP – High Hydrostatic Pressure*) emprega um método de processamento físico não térmico que é amplamente utilizada

na indústria de alimentos e é classificada como uma das 10 principais tecnologias de ponta do mundo (Pan et al., 2022a).

O processamento por HHP, é uma técnica de pasteurização a frio que consiste em colocar produtos líquidos ou sólidos previamente embalados em um recipiente hermeticamente fechado e submetê-los a alta pressão (100 a 700 MPa), por pequenos intervalos de tempo (de poucos segundos a alguns minutos), em temperaturas normalmente inferiores a 40°C, através de um meio transmissor de pressão (normalmente água), promovendo uma transferência uniforme e instantânea de pressão, como descrito na Figura 5 Silva & Evelyn, (2023).

**Figura 5** - Processamento por Alta Pressão Hidrostática.



Fonte: Adaptado de Silva & Evelyn, (2023).

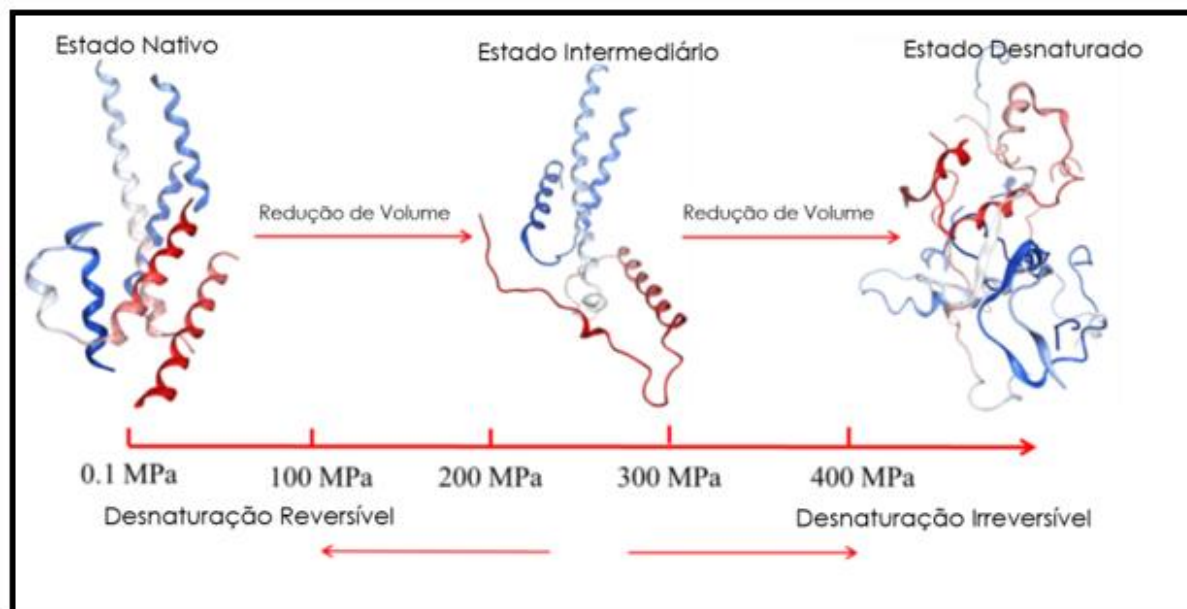
Dois princípios essenciais governam esta tecnologia, o Princípio de *Le Chatelier* e o Princípio Isostático. O princípio de *Le Chatelier*, que afirma que qualquer mudança feita em um sistema em equilíbrio (reação química, transição de fase ou modificação de configurações moleculares) acompanhada por uma diminuição de volume é compensada por um aumento de pressão e vice-versa. O princípio Isostático estipula que a pressão é distribuída uniformemente por toda a amostra, seja em contato direto ou em uma embalagem flexível, independentemente de sua forma ou tamanho (Cristianini et al., 2023; Pinto et al., 2021).

A principal utilização do HHP pelas indústrias visa a inativação microbiana e o aumento da vida de prateleira dos produtos, sem influenciar nas questões sensoriais do alimento. Entretanto, atualmente ele vem sendo empregado na melhoria das características tecno-funcionais das proteínas. As alterações das ligações e interações entre as moléculas devido à ação da alta pressão podem induzir mudanças estruturais nas proteínas, modificando suas características e propriedades (Hernández-Hernández et al., 2019). No entanto, essas mudanças estruturais das proteínas são diretamente dependentes do tipo e concentração da proteína, pH, força iônica, além das condições de processamento (Gharibzahedi & Smith, 2021).

Dependendo das condições do tratamento, isto é, da pressão, da temperatura e do tempo de processo, as estruturas das proteínas podem ser afetadas e, conseqüentemente, suas propriedades tecno-funcionais (Fasolin et al., 2019b). Porém, no geral, o HHP não tem efeito sobre a estrutura primária das proteínas, visto que essas estruturas são formadas por ligações peptídicas (ligações com menor compressibilidade) (Queirós et al., 2018b). A modificação da proteína acontece principalmente pelas rupturas ou formação de novas interações e ligações não covalentes, como ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas. Novas ligações dissulfeto também podem ser formadas, promovendo interação entre as proteínas ou estabilizando proteínas desnaturadas (Long et al., 2016; Yang et al., 2021).

As modificações estruturais podem ser reversíveis (elásticas) ou irreversíveis (plásticas). Pressões acima de 300 MPa podem resultar em desnaturação irreversível da proteína a temperatura ambiente, enquanto menores pressões levam a transformações reversíveis. Assim modificações nas estruturas quaternárias e terciárias são reversíveis (requerem menores pressões), ao passo que as modificações das estruturas secundárias são irreversíveis, (dependendo de uma pressão superior a 300MPa), conforme ilustrado na Figura 6 (Pinto et al., 2021).

**Figura 6** - Modificações Estruturais Decorrentes da Aplicação de Pressão pela HHP.



Fonte: Adaptado de Pinto et al., (2021).

As alterações estruturais decorrentes da pressurização podem ocasionar o desdobramento e posteriormente a agregação de diferentes proteínas. Estes fenômenos afetam as propriedades tecno-funcionais dos materiais proteicos, como a solubilidade, capacidade de retenção de água, capacidade de formação de espuma e capacidade emulsificante, além de melhorar a digestibilidade e reduzir a alergenicidade (Abera, 2019; Pan et al., 2022b; R. P. Queirós et al., 2018a).

Também é relevante mencionar que os efeitos do HHP na estrutura secundária da proteína podem ser dependentes do pH. Em geral, mudanças mais pronunciadas na estrutura da proteína ocorrem mais em pH alcalino e neutro do que em pH ácido (Achouri & Boye, 2013b; Luo, Cheng, et al., 2022; Puppo et al., 2004).

Recentemente, o emprego desta tecnologia para modificar as propriedades de proteínas vegetais tem ganhado atenção especial. Alsaman & Ramaswamy, (2020) avaliaram o efeito da alta pressão nas propriedades emulsificantes da proteína de aquafaba (extraída da água de cozimento do grão de bico). A aquafaba foi submetida ao processamento de 300 MPa por 10 minutos (23°C) em uma concentração de 25% de proteína (p/v) em água. O processamento por HHP melhorou a capacidade de



emulsão (EAI) quando comparada com o controle, porém a estabilidade da emulsão (ESI) foi diminuída. Essa melhora da EAI se deu pelo do aumento do grau de desnaturação e está relacionado a uma maior hidrofobicidade. A alta pressão reduziu os agregados de proteínas em 33,3% e as folhas  $\beta$  diminuíram em 80% em relação ao controle. Essas duas reduções correlacionam com o aumento da digestibilidade da proteína.

Um estudo realizado com a proteína de soja (SPI) Wang et al., (2021a) investigaram o efeito da alta pressão hidrostática na capacidade de retenção de água (WHC), atividade emulsificante (EAI), estabilidade emulsificante (ESI) e solubilidade. A proteína foi processada à 280 MPa por 19 minutos (25°C) com uma concentração de 8% de proteína (p/v). As propriedades tecno- funcionais foram analisadas em diferentes pH (3, 7 e 8). As propriedades de WHC e solubilidade nas 3 condições de pH demonstraram uma melhora significativa quando comparada a amostra não tratada e que isso se devia ao desdobramento parcial da proteína permitindo interações entre as subunidades para formar uma rede flexível na qual a água foi aprisionada, aumentando a interação proteína- solvente. O EAI foi maior em pH 3 e 8 (devido ao aumento da solubilidade) e inferior no pH 7. Já a ESI mostrou um aumento em todas as condições de pH, podendo indicar uma repulsão eletrostática entre as gotículas.

A solubilidade, uma das propriedades tecno-funcionais mais importantes das proteínas, apresenta resultados controversos em isolados proteicos processados por esta tecnologia. Pesquisas desenvolvidas com diversas proteínas vegetais já reportaram a redução da solubilidade devido ao processamento. Hall & Moraru (2021), avaliaram o efeito do HHP em proteínas de leguminosas (ervilha, lentilha e feijão). Todas as proteínas foram processadas nas mesmas condições (600 MPa, 4 minutos, 5°C e 5% de proteína (p/v)). Em todas elas as proteínas diminuíram significativamente a solubilidade em relação as amostras não processadas. As amostras apresentavam, aproximadamente, 65% de solubilidade e após o processamento os valores ficaram em 40%, provavelmente devido a exposição de grupos hidrofóbicos que estavam escondidos dentro do núcleo da proteína.

Luo et al., (2022) investigaram o efeito da alta pressão na proteína de quinoa. O tratamento aplicado foi de 250 e 600 MPa por 15 minutos a 33°C, em uma solução contendo 1% de proteína (p/v) combinado com uma mudança de pH da amostra. As amostras foram processadas em pH 5, 7 e 9. As amostras apresentaram um aumento na solubilidade apenas após o processamento à 600 MPa em pH 7 e 9; de 14,7%

(controle – não processado) para 22,8% (pH 7) e 39,8% (pH 9), no entanto após o processo em pH 5 a solubilidade se manteve igual. Os autores atribuíram isso à conversão de agregados insolúveis em solúveis, diminuindo a estrutura secundária ordenada, acompanhado de um aumento nas estruturas secundárias desordenadas.

Mune Mune et al., (2020) investigaram mudanças estruturais nas proteínas do feijão de bambara, induzidas por processamento a alta pressão (200 - 600 MPa, 22°C, 10 minutos) em diferentes pH (4,5; 7 e 9). A vicilina foi a principal proteína do isolado proteico de feijão. Os resultados sugeriram dissociação de subunidades da vicilina por HHP (600 MPa) em pH (4,5), já em pH 7 ocorreram duas transições de conformação com a formação de um intermediário, seguido de dissociação de subunidades. Em pH 9 as alterações foram mais complexas ocorrendo quatro transições. Os rearranjos estruturais alteraram a exposição dos resíduos de Trp (triptofano) e Try (tirosina), resultando na diminuição do número total de pontes de hidrogênio. Assim, segundo os autores, as forças que impulsionaram as mudanças estruturais induzidas pela pressão foram nas interações eletrostáticas, pontes de hidrogênio, forças de *van der Waals* e o efeito hidrofóbico. Os rearranjos conformacionais das proteínas sob pressão crescente induzem mudanças na exposição de diferentes aminoácidos, explicando assim as variações da superfície hidrofóbica disponível.

O processamento por Alta Pressão demonstra que novos ingredientes e produtos *plant-based* podem ser desenvolvidos em função das modificações funcionais das proteínas vegetais (Gharibzahedi & Smith, 2021; Karmaus & Jones, 2021b; Mulla et al., 2022; Nikbakht Nasrabadi et al., 2021; Penha et al., 2021; Venkateswara Rao et al., 2021).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

O farelo de gergelim (*Sesamum indicum* L.) da variedade K3 foi doada pela empresa Sésamo Real Ind. Com. Prods. Alims. LTDA, localizada no município de Valinhos (São Paulo -SP) e foi utilizada para obtenção do isolado proteico de gergelim.

### 4.2 Métodos

#### 4.2.1 Extração do Isolado Proteico de Gergelim

Para obtenção dos Isolados Proteicos de Gergelim (*SPI – Sesame Protein Isolate*), o farelo passou por um processo de remoção de lipídeos utilizando solvente hexano na proporção 1:10 (p/v) com agitação constante por 4 horas em temperatura ambiente (RT) conforme proposto por (Achouri & Boye, 2013a). A necessidade da remoção adicional de lipídeos do farelo de gergelim se deu pelo fato de que a extração do óleo industrial é feita apenas por prensagem (*expeller*), o que resulta em uma grande quantidade de óleo residual no farelo de gergelim (aproximadamente 35% de óleo).

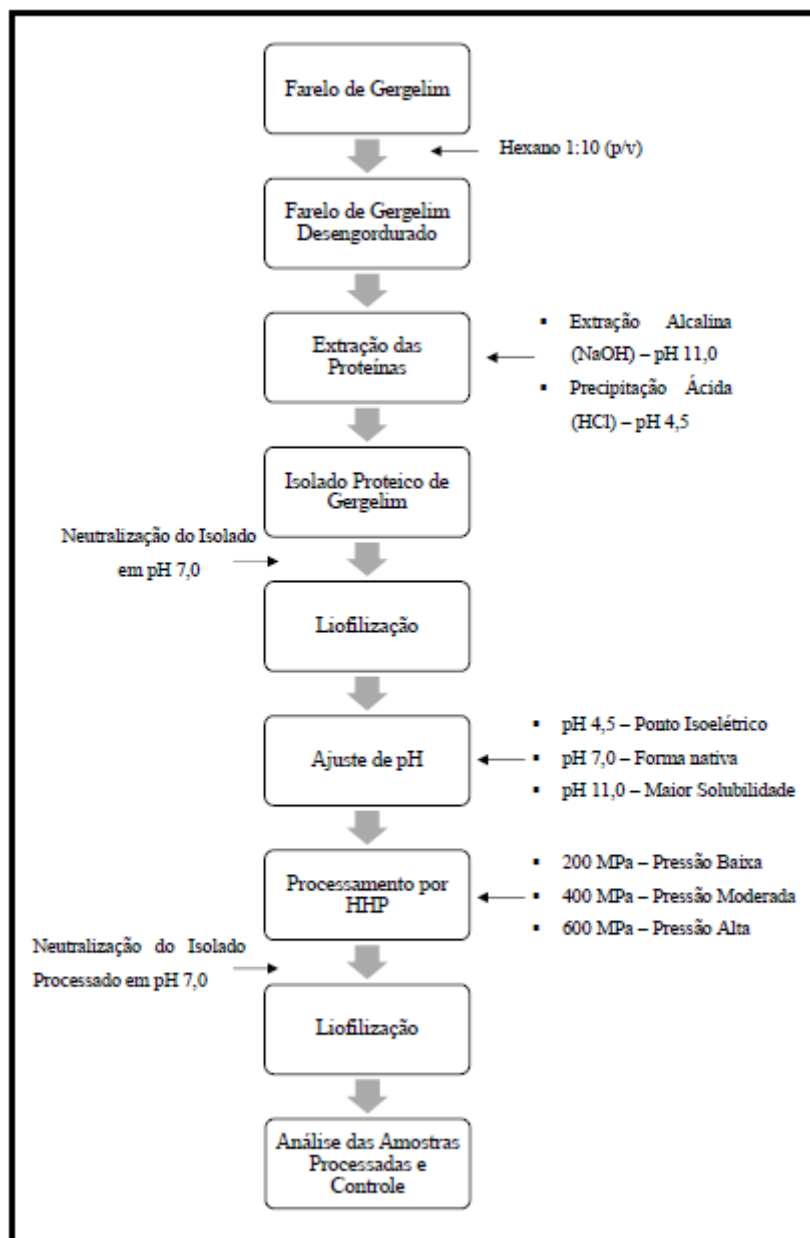
Após a remoção dos lipídios, o farelo desengordurado de gergelim (FDG) foi submetido à extração alcalina. O FDG foi suspenso em água deionizada 1:8 (p/v) e teve o pH ajustado para 11,0, usando NaOH 1N. A suspensão foi agitada durante 1 hora em temperatura ambiente e centrifugada por 15 minutos a 6000 g (5 °C) em uma centrífuga refrigerada (Allegra 25R, Beckman Coulter, USA). Após a centrifugação, o sobrenadante foi coletado para a precipitação ácida com adição de HCl 1N até pH 4,5 (ponto isoelétrico da proteína de gergelim).

As suspensões em pH 4,5 foram centrifugadas à 5000 rpm por 15 minutos (5°C), os sobrenadantes foram descartados e os precipitados foram diluídos em água deionizada (1:2 p/v), ajustados para o pH para 7,0 (com adição de NaOH 1N),

congelados e liofilizados. Após a liofilização os isolados proteicos foram armazenados em embalagens plásticas de polietileno (15 x 25 cm) e mantidas em temperatura de - 15 °C até o momento da realização do processamento (Singharaj & Onsaard, 2015).

A Figura 7 apresenta as etapas realizadas no desenvolvimento do projeto.

**Figura 7** - Fluxograma das principais etapas do projeto.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.2.2 *Processamento por Alta Pressão Hidrostática (HHP)*

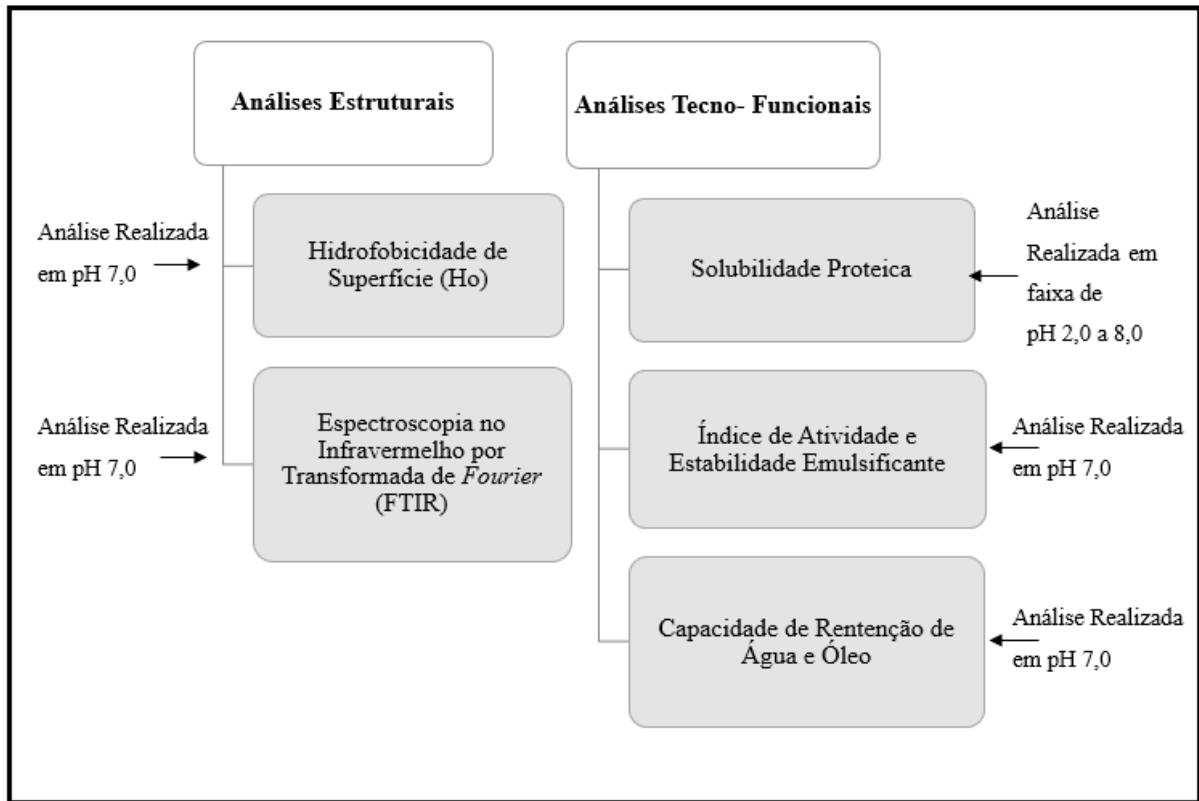
Os isolados foram suspensos em água deionizada na concentração de 5% (p/v) de proteínas. Em seguida foram feitos os ajustes de pH das suspensões, em pH 4,5 (condição ácida – ponto isoelétrico do SPI), pH 7,0 (condição neutra) e pH 11,0 (condição alcalina – pH de maior solubilidade da proteína). Após o ajuste de pHs, as suspensões foram acondicionadas e embaladas à vácuo (sacos de polietileno 15x25 cm). O processamento por HHP do isolado proteico foi realizado em equipamento *QFP 2L-700* (Avure Technologies, OH, USA) equipado com uma câmara cilíndrica com capacidade de 2L, pressão máxima de trabalho de 100.000 psi (690 MPa) e água deionizada como fluido pressurizador.

Foram realizadas três as condições de pressão: 200 MPa (pressão moderada), 400 MPa (pressão intermediária) e 600 MPa (pressão elevada), o tempo foi fixado em 10 minutos e a temperatura mantida em aproximadamente 25°C. Após o processamento as amostras foram neutralizadas em pH 7,0, liofilizadas e armazenadas (5°C) para caracterização.

Cabe destacar que as amostras controles (não processadas) consistiram em suspensões de 5% de proteína em pHs 4,5, 7,0 e 11,0, deixadas durante 10 minutos em pressão atmosférica (0,1 MPa). Após o processo as amostras foram neutralizadas em pH 7,0, liofilizadas e armazenadas (5°C) para caracterização.

Os experimentos foram realizados em duplicata de processo e duplicata de amostra. Independente das condições de processamento, as análises estruturais e tecno-funcionais foram realizadas em pH 7,0, com exceção da solubilidade proteica, conforme demonstrado na Figura 8.

**Figura 8** - Condições das análises estruturais e tecno-funcionais do SPI independente do pH de processamento.



Fonte: Autoria própria.

#### 4.2.3 Composição Centesimal e Rendimento Proteico

O conteúdo de umidade e cinzas foram determinados segundo métodos padrões da AOAC (2005), já o teor de proteínas será realizado por Dumas (*NDA 701, fabricante Velp Scientifica, Itália*) utilizando 6,25 como fator de conversão de nitrogênio. O total de carboidratos foi calculado por diferença. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

O rendimento de extração proteica (%) foi obtido conforme descrito por Mathews et al., (2023a), sendo calculado através da Equação 1:

$$\text{Rendimento Proteico (\%)} = \frac{\text{g de SPI} \times \text{teor de proteína no SPI}}{\text{g de FDG} \times \text{teor de proteína no FDG}} \times 100 \quad (1)$$

onde, SPI é o Isolado Proteico de Gergelim e FDG é Farinha Desengordurada de Gergelim.

#### 4.2.4 Determinação instrumental de cor

A cor instrumental (transmitância) das amostras de proteína foi medida por um espectrofotômetro (*Hunter Lab, UltraScan PRO, EUA*) como descrito por Ayustaningwarno et al., (2021).

Foram analisadas as componentes  $L^*$  (Luminosidade),  $a^*$  (tonalidade vermelho-verde),  $b^*$  (tonalidade amarelo-azul) e  $\Delta E$  (Equação 2), que significa a diferença total de cor de uma amostra em relação ao padrão, segundo técnica *CIELab*. Todas as leituras foram realizadas em triplicata.

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - L_o)^2 + (a^* - a_o)^2 + (b^* - b_o)^2} \quad (2)$$

onde  $L_o$ ,  $a_o$  e  $b_o$  são as médias dos valores da amostra não processada (controle).

#### 4.2.5 Hidrofobicidade de Superfície ( $H_o$ )

O índice de hidrofobicidade da superfície foi determinado a partir da inclinação da reta da intensidade de fluorescência da sonda ácido-8anilino-1-naftalenossulfônico (ANS) em função da concentração de proteína, conforme descrito em Vidotto (et al., 2022). As dispersões de proteína foram diluídas em concentrações de 0,0025% a 0,015% (w/w). Uma alíquota de 2 mL de cada dispersão preparada foi misturada em vórtex por 10 s com 10  $\mu$ L de solução ANS 8mM. A intensidade fluorescente foi determinada utilizando um leitor de microplaca (*SynergyMx -BiotekInstruments, Winooski, USA*) em um comprimento de onda de excitação de 390 nm e um comprimento de onda de emissão de 470 nm. Todos os experimentos foram realizados em triplicata.

#### 4.2.6 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Amostras liofilizadas foram analisadas usando um espectrofotômetro FTIR (*Jasco - FT/IR 6100, Tóquio, Japão*) na faixa de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  a 25°C. As medições

foram realizadas com uma resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ , utilizando 32 varreduras. Foram realizadas duplicatas de leituras. As deconvoluções de Fourier foram realizadas na região amida I (1600-1700  $\text{cm}^{-1}$ ) e foram realizadas utilizando o software *Origin Pro* versão 2023b (*Origin Lab Corporation, Northampton, MA, EUA*).

#### *Análise de Componentes Principais (PCA)*

Inicialmente, os espectros foram analisados para identificar bandas características das amostras. Foi utilizado a centralização média e outros pré-tratamentos foram testados: suavização de *Savitzky-Golay* (S-G) usando uma janela de tamanho variando de 7 a 13, empregando regressão polinomial local (ordem 0) para remover ruído. Derivadas de primeira e segunda ordens foram utilizadas para corrigir a linha de base, calculadas usando o algoritmo de *Savitzky-Golay* e uma janela de tamanho de 7 a 15 pontos de dados. A correção de dispersão multiplicativa (MSC) e a normalização variável normal (SNV) foram aplicadas para lidar com os efeitos de dispersão de luz (Barnes et al., 1989; Martens and Geladi, 1983). Após os testes, apenas os dados que apresentaram melhor desempenho foram apresentados. A análise estatística multivariada foi conduzida utilizando o software *Matlab* R2019a (*Mathworks, Natick, USA*) com a *PLSToolbox da Eigenvector Research, Inc. (Manson, WA, USA)*. Para análise de tendência e agrupamento, foi realizada uma análise exploratória de dados por meio da Análise de Componentes Principais (PCA). Modelos de PCA foram desenvolvidos com uma faixa estreita de espectro de 1100 a 1800  $\text{cm}^{-1}$ , representando a região de maior importância para as amostras. Amostras anômalas (*outliers*), foram identificadas e eliminadas usando gráficos *Q residual* e *Hotelling T2*.

#### *4.2.7 Solubilidade Proteica*

A solubilidade das proteínas isoladas foi determinada seguindo o método descrito por Calderón-Chiu et al., (2021) com algumas modificações. As proteínas isoladas foram dissolvidas em soluções tampão (10mg/ml), de acordo com cada pH (pH 2,0 até 8,0), usando tampão ácido clorídrico/cloreto de potássio (pH 2,0) tampão citrato (pH 3,0 a 6,0) e tampão fosfato (pH 7,0 e 8,0). As suspensões foram agitadas por 30 minutos e em seguida centrifugada a 8.000 rpm por 15 minutos a 25°C. Os sobrenadantes resultantes foram então submetidos a um ensaio de Bradford (Bradford, 1976), em uma absorbância de 595 nm, utilizando espectrofotômetro de



microplaca (*BioTek-800TS microplate reader, CA, USA*), para determinar o teor de proteína. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A solubilidade da proteína foi expressa em porcentagem, conforme mostrado na Equação (3):

$$\text{Solubilidade da proteína (\%)} = \frac{\text{Teor de proteína do sobrenadante}}{\text{Teor de proteína Total}} \times 100 \quad (3)$$

onde, o teor de proteína total se refere a amostra 100% solubilizada. A quantidade de proteína foi calculada a partir da curva padrão de albumina do soro bovino (BSA).

#### 4.2.8 Índice de Atividade e Estabilidade Emulsificante

Os Índices de Atividade (EAI) e a Estabilidade (ESI) foram determinados de acordo com o método descrito por Pearce & Kinsella, (1978) com algumas modificações. Foram preparadas emulsões a partir de 300 mg do isolado, 30 mL de água destilada e 10 ml de óleo de girassol utilizando ultra-turrax a 20000 rpm durante 1 min. Logo após o preparo, 50 µL das emulsões foram diluídas em 12,5 mL de solução de dodecil sulfato de sódio (SDS) a 0,1%. Então, foi feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 500 nm (*DU- 800 spectrophotometer, Beckman Coulter, USA*). Todas os experimentos foram realizados em triplicata. O EAI foi calculado conforme a Equação 4:

$$EAI = \frac{2 \times 2,303 \times A_0 \times N}{10000 \times L \times C \times \theta} \quad (4)$$

onde  $A_0$  é a absorbância a 500 nm imediatamente após a preparação, N refere-se ao fator de diluição (250),  $\theta$  a proporção da fase óleo (0,25), L espessura da cubeta (0,01 m) e C a concentração da proteína na dispersão (g/mL).

Após 10 min outra parte da emulsão (50 µL) foi diluída em SDS a 0,1% e feita novamente a leitura da absorbância a 500 nm. Assim, a estabilidade da emulsão foi determinada de acordo com a Equação 5:

$$ESI = \frac{A_0}{(A_0 - A_{10})} \times t \quad (5)$$

onde  $A_0$  refere-se a absorbância inicial,  $A_{10}$  a absorbância após 10 min e  $t = 10$  min.

#### 4.2.9 Capacidade de Retenção de Água

A capacidade de retenção de água (CRA) foi determinada usando a metodologia descrita por Özdemir et al., (2022b), com algumas modificações. Em microtubo previamente pesado, o concentrado (100 mg) foi disperso em 1 mL de água destilada. As dispersões foram agitadas em vórtex durante 30 segundos. Posteriormente, as dispersões foram centrifugadas a 3.000g por 30 min (*Allegra 25R, Beckman Coulter, USA*) em temperatura ambiente (25°C). A partir da decantação do sobrenadante o excesso de água foi drenado. Para determinar a quantidade de água retida por grama de amostra o tubo contendo o resíduo de proteína foi pesado novamente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Desta forma, a CRA foi calculada através da Equação 6:

$$CRA = \frac{P_{inicial} - P_{final}}{P_{isolado\ proteico}} \quad (6)$$

onde  $P_{inicial}$  refere-se ao peso do tubo + peso do concentrado proteico + peso da água;  $P_{final}$  refere-se ao peso do tubo + peso do concentrado proteico + peso da água absorvida.

#### 4.2.10 Capacidade de Retenção de Óleo

A capacidade de retenção de óleo (CRO) foi determinada usando a metodologia descrita por Özdemir et al., (2022b), com algumas modificações. Em micro tubo previamente pesado o concentrado (100 mg) foi disperso em 1 mL de óleo de soja. Então, as dispersões foram agitadas em vórtex durante 30 segundos. As dispersões foram centrifugadas a 3.000 g por 30 minutos (*Allegra 25R, Beckman Coulter, USA*) em temperatura ambiente. A partir da decantação do sobrenadante, foi drenado o excesso de óleo. Para determinar a quantidade de óleo retido por grama de amostra, o tubo contendo o resíduo de proteína foi pesado novamente. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Desta forma, a CRO foi calculada através da Equação 7:

$$CRO = \frac{P_{inicial} - P_{final}}{P_{isolado\ proteico}} \quad (7)$$

onde *P inicial* refere-se ao peso do tubo + peso do concentrado proteico + peso de óleo; *P final* refere-se ao peso do tubo + peso do concentrado proteico+ peso de óleo absorvido.

#### 4.2.11 Análise Estatística

Os dados foram expressos como Média ± Desvio Padrão e todos os resultados foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA). O teste de *Tukey* foi utilizado para avaliar a diferença de médias com nível de 5% de significância ( $p < 0,05$ ). A análise estatística foi realizada por meio do *Software The R Foundation for Statistical Computing - R versão 4.3.0 (2023)*.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Composição centesimal e Rendimento Proteico

A Tabela 2 apresenta a composição centesimal do farelo de gergelim (FG), farinha de gergelim desengordurado (FDG) e do isolado proteico (SPI).

**Tabela 2** - Composição centesimal (g/100g).

| Amostras   | % base seca (g/100g) |               |              |               |               |
|------------|----------------------|---------------|--------------|---------------|---------------|
|            | Proteína             | Lipídeos      | Cinzas       | Carboidratos  | Umidade       |
| <b>FG</b>  | 38,75 ± 0,07 c       | 35,78 ± 0,1 a | 5,65 ± 0,3 b | 19,82 ± 0,1 b | 5,55 ± 0,02 b |
| <b>FDG</b> | 52,83 ± 0,05 b       | 7,30 ± 0,9 b  | 7,90 ± 0,4 a | 31,97 ± 0,3 a | 9,33 ± 0,01 a |
| <b>SPI</b> | 90,93 ± 0,06 a       | 2,21 ± 0,2 c  | 2,95 ± 0,4 c | 3,91 ± 0,1 c  | 2,88 ± 0,02 c |

Todos os valores são médias ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*). Todas as análises foram realizadas em pH 7,0, independente do pH de processo.

O conteúdo de carboidratos disponíveis foi determinado calculando a diferença percentual de todos os constituintes [100g de peso seco – (g proteína + g lipídeos + g cinzas)].

A partir da Tabela 2, observa-se que o teor de proteína do farelo de gergelim e da farinha desengordurada, em base seca, estão de acordo com resultados de Sá (et al., 2021b), que obteve 52,5 % de proteína para a farinha desengordurada e 35,3% para o farelo de gergelim. Esses valores (farinha desengordurada) são superiores aos encontrados em abóbora (~47%) (Vinayashree & Vasu, 2021b), chia (~29%) (Renoldi et al., 2023), linhaça (~32%) (Liu et al., 2020) e canola (~32%) (Jia et al., 2021b).

A amostra de farelo de gergelim foi obtida empregando extração por prensagem a frio sem solventes orgânicos. Esta técnica de extração apresenta grandes vantagens (ex. maior qualidade do óleo extraído); no entanto, pode apresentar rendimentos de óleo mais baixos do que a extração de óleo utilizando alta temperatura e solventes orgânicos. Os resultados de lipídios (com base no peso seco) demonstraram que o óleo residual ainda é apresentado no farelo, em torno de 35.7%. A eliminação do óleo residual foi feita com solvente (hexano), reduzindo para 7.30% o teor de óleo de farinha, assim aumentando a concentração dos demais

constituintes. O rendimento da extração proteica (%) foi de 45,89 % obtendo-se um isolado proteico final com 90,93% de proteína.

## 5.2 Determinação instrumental de cor

A cor dos alimentos é uma das principais características de qualidade sensorial para os consumidores e determinam a aceitação de um produto (Ayustaningwarno et al., 2021). A análise instrumental convencional utiliza uma amostra homogênea e fornece três coordenadas de cor em  $L^*$  (Luminosidade),  $a^*$  (tonalidade vermelho-verde) e  $b^*$  (tonalidade amarelo-azul) que representam uma cor como sendo a cor média de um produto (Wexler et al., 2016).

A interpretação independente dos três parâmetros ( $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ ) que compõem a percepção da cor pode ser mais complexa. Portanto, uma abordagem eficaz para descrever a variação de cor é utilizar a diferença total de cor ( $\Delta E$ ), que engloba os parâmetros  $L^*$ ,  $a^*$  e  $b^*$ .

De acordo com a avaliação de Choi et al., (2002), apenas mudanças de cor visualmente perceptíveis ao olho humano ocorrem para valores de  $\Delta E$  superiores a 2,0 entre duas amostras (Figura 9).

**Figura 9** - Gradação das diferenças de cor.

| <b>Quadro 1 – Gradação das diferenças de cor</b> |                                                                    |
|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| <b>Valor de <math>\Delta E^*</math></b>          | <b>Gradação da diferença</b>                                       |
| 0 - 1                                            | Diferença praticamente invisível.                                  |
| 1 - 2                                            | Diferença muito pequena, apenas perceptível para um olho treinado. |
| 2 - 3,5                                          | Diferença média, mas perceptível para um olho não treinado.        |
| 3,5 - 5                                          | Diferença Óbvia                                                    |
| >6                                               | Uma diferença muito óbvia                                          |

Fonte: CTB – Colorimetria (2016).

A Tabela 3 apresenta os resultados de análise de cor do controle e das amostras processadas por HHP e a Figura 10 apresenta os resultados visuais das amostras gerados a partir do *software Colorizer (Color picker, calculator and generator with high precision and contrast test- colorizer.org)*

**Tabela 3** - Parâmetros de cor do SPI processados por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11,0.

| Amostras          | L*                 | a*                | b*                 | $\Delta E$ |
|-------------------|--------------------|-------------------|--------------------|------------|
| 0,1 MPa x pH 4,5  | 51,98 $\pm$ 0,1 d  | 3,90 $\pm$ 0,11 a | 19,54 $\pm$ 0,15 a | -          |
| 200 MPa x pH 4,5  | 56,63 $\pm$ 0,2 a  | 3,28 $\pm$ 0,16 d | 17,88 $\pm$ 0,3 c  | 4,98       |
| 400 MPa x pH 4,5  | 55,33 $\pm$ 0,13 b | 3,68 $\pm$ 0,14 b | 19,28 $\pm$ 0,18 b | 3,37       |
| 600 MPa x pH 4,5  | 53,61 $\pm$ 0,3 c  | 3,45 $\pm$ 0,11 c | 19,59 $\pm$ 0,11 a | 1,69       |
| 0,1 MPa x pH 7,0  | 47,45 $\pm$ 0,11 d | 4,01 $\pm$ 0,2 c  | 18,16 $\pm$ 0,1 a  | -          |
| 200 MPa x pH 7,0  | 50,29 $\pm$ 0,12 c | 4,30 $\pm$ 0,19 a | 17,89 $\pm$ 0,25 b | 2,86       |
| 400 MPa x pH 7,0  | 54,92 $\pm$ 0,2 a  | 2,99 $\pm$ 0,3 d  | 14,93 $\pm$ 0,28 d | 8,20       |
| 600 MPa x pH 7,0  | 54,20 $\pm$ 0,3 b  | 4,08 $\pm$ 0,21 b | 17,69 $\pm$ 0,2 c  | 6,77       |
| 0,1 MPa x pH 11,0 | 45,86 $\pm$ 0,19 c | 4,73 $\pm$ 0,2 b  | 18,21 $\pm$ 0,11 b | -          |
| 200 MPa x pH 11,0 | 47,39 $\pm$ 0,13 b | 4,87 $\pm$ 0,12 b | 18,94 $\pm$ 0,14 a | 1,70       |
| 400 MPa x pH 11,0 | 42,74 $\pm$ 0,22 d | 5,03 $\pm$ 0,15 a | 18,79 $\pm$ 0,26 a | 3,19       |
| 600 MPa x pH 11,0 | 48,68 $\pm$ 0,24 a | 3,93 $\pm$ 0,11 c | 17,24 $\pm$ 0,29 c | 3,09       |

Todos os valores são médias  $\pm$  desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*). Todas as análises foram realizadas em pH 7,0, independente do pH de processo.

Através da Tabela 3, observa – se que no pH 4,5 de processamento o parâmetro L\* aumentou ( $p < 0,05$ ) para todas as amostras processadas, com destaque para pressão de 200 MPa (56,63), que representa uma cor branca mais forte e uma cor preta enfraquecida. Essas alterações nos parâmetros mostraram um  $\Delta E = 4,98$  (200 MPa), exibindo uma diferença perceptível na coloração. Já para as amostras processadas em 400 MPa essa diferença foi menor, mas perceptível ( $\Delta E = 3,37$ ), conforme Figura 10. Por outro lado, para as amostras processadas à 600 MPa a diferença na coloração foi muito pequena, dificilmente percebida ( $\Delta E = 1,69$ ) pelo consumidor.

Para as amostras processadas em pH 7,0, nota se também um aumento ( $p < 0,05$ ) da luminosidade (L\*) em comparação às amostras controle. Com as alterações

causadas pelo HHP, tanto o SPI processado a 400 MPa ( $\Delta E = 8,20$ ), quanto ao de 600 MPa ( $\Delta E = 6,77$ ), tiveram uma diferença bastante perceptível na alteração da cor (Figura 10); já o SPI processado a 200 MPa apresentou uma diferença menor ( $\Delta E = 2,86$ ).

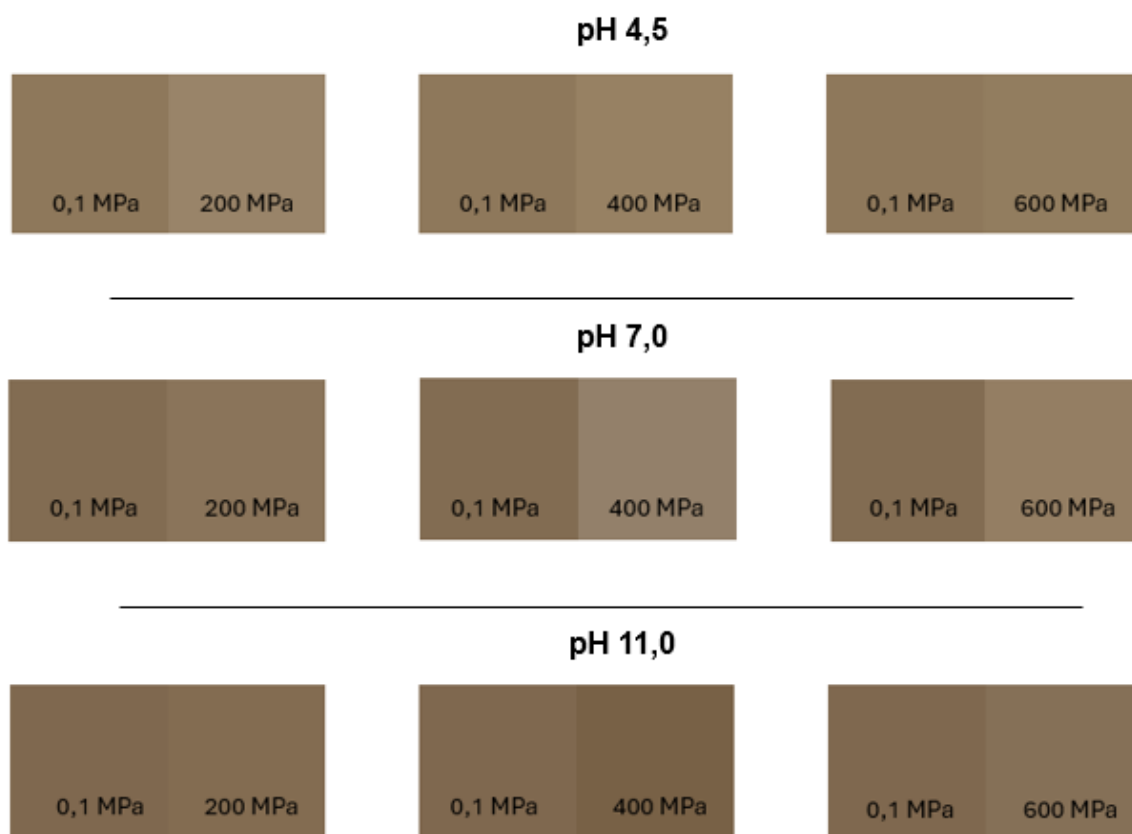
A amostra processada em pH 11,0 à 400 MPa teve uma diminuição ( $p < 0,05$ ) em seu parâmetro  $L^*$ , que representa uma cor branca mais enfraquecida e uma cor preta mais intensa. Essa diminuição no  $L^*$  pode estar associada ao pH alcalino, como relatado por Sharma et al., (2016), no qual encontrou uma cor mais escura em géis de proteína de gergelim em pH alcalino. Este mesmo relato também foi encontrado por Bourtoom, (2008) e Wang et al., (2024), em géis de proteínas de feijão e soja em pH alcalino.

Para o parâmetro visual ( $\Delta E$ ), as amostras processadas a 400 e 600 MPa apresentaram uma diferença na gradação moderada, sendo ainda perceptível ( $\Delta E = 3,19$  e  $3,09$ , respectivamente), já em 200 MPa a diferença foi muito pequena ( $\Delta E = 1,70$ ), dificilmente sendo perceptível aos olhos nus.

A mudança no parâmetro  $L^*$  pode ser explicada pela produção de partículas menores as quais tem uma área superficial maior, o que causa um aumento na dispersão da luz, e, portanto, um aumento no valor de  $L^*$  (Zhang et al., 2024). Essa relação de  $L^*$  com o tamanho de partícula foi observado em proteína de ervilha (Cheng et al., 2022) e na proteína de abóbora (Sert et al., 2024), no qual os autores sugeriram que as partículas foram quebradas durante processamento de HDP (*High Dynamic Pressure*), gerando partículas menores.

Até o momento não foi encontrado na literatura científica publicações sobre tratamentos de HHP na análise de cor do isolado proteico de gergelim.

**Figura 10** - Aparência visual do SPI processados por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11,0.



As cores foram geradas a partir dos valores de parâmetros de cor ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) utilizando o software *Colorizer*. Todas as leituras foram realizadas em pH 7,0, independente do pH de processo.

### 5.3 Hidrofobicidade de Superfície ( $H_o$ )

A hidrofobicidade de superfície ( $H_o$ ) pode ser um indicador de alterações na estrutura terciária e quaternária das proteínas, uma vez que, em sua forma nativa, os grupos hidrofóbicos estão mais voltados para dentro de suas estruturas. Alterações na conformação e exposição de grupos hidrofóbicos podem ser induzidas por meio do processamento (Mulla et al., 2022).

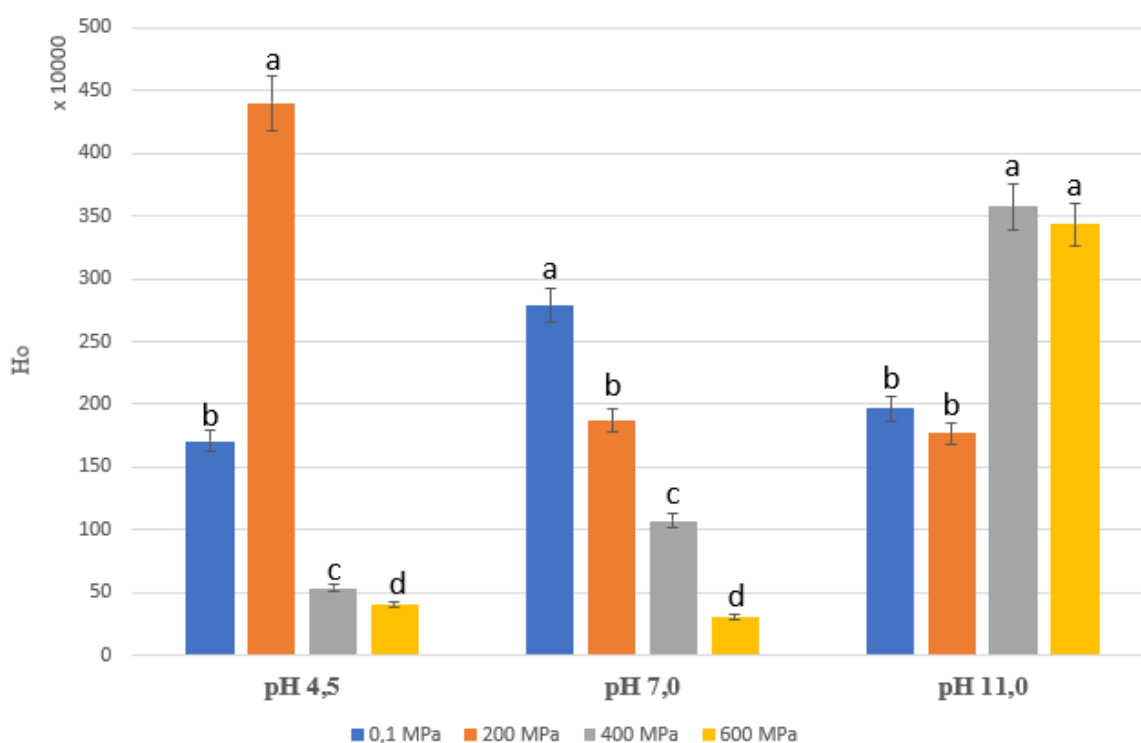


A Figura 11 apresenta o índice de hidrofobicidade superficial da dispersão de SPI processada as 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5, 7,0 e 11,0. As amostras processadas em pH 4,5 (400 e 600 MPa) e 7,0 (todos os níveis de pressão) apresentaram uma diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) na sua  $H_o$  em relação à respectiva amostra controle (0,1 MPa). Porém quando processada em condição alcalina (pH 11,0) houve um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) do  $H_o$ , para ambas as pressões (400 e 600 MPa) comprando com seu respectivo controle.

O aumento de  $H_o$  está frequentemente relacionado com a exposição de grupos hidrofóbicos previamente “enterrados” na estrutura da proteína (He et al., 2014). No entanto, no caso de proteínas vegetais que frequentemente apresentam uma estrutura quaternária complexa, o aumento de  $H_o$  também pode ser atribuído à rupturas de estruturas quaternárias de proteínas e/ou agregados proteicos previamente estabilizados por interações hidrofóbicas (Lopes et al., 2023).

Como em pH 11,0 é esperado uma alta repulsão eletrostática, é razoável inferir rupturas de agregados proteicos e/ou estruturas quaternárias contribuiria para explicar os resultados observados.

**Figura 11** - Índice de Hidrofobicidade Superficial ( $H_o$ ) do SPI processado a 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11,0.



Diferentes letras para o mesmo pH indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  para teste de Tukey). Todas as análises foram realizadas em pH 7,0, independente do pH de processo.

Pela Figura 11 também pode-se observar que o pH influencia a hidrofobicidade da proteína, onde as amostras não processadas (0,1 MPa) de pH 4,5 e 11,0 tiveram seu  $H_o$  reduzido em relação ao pH 7,0 (0,1 MPa). Segundo Tang et al., (2021), quando valores extremos de pH são ajustados de volta ao pH neutro, as fortes interações entre proteínas são reduzidas, causando modificações na estrutura quaternária.

Essa influência do pH também pode facilitar a formação de agregados, principalmente em condições próximas ao seu ponto isoelétrico, onde há maior proximidade das moléculas de proteínas. Este efeito pode ser observado para as amostras processadas em pH 4,5 (ponto isoelétrico) e pressões de 400 e 600 MPa, onde houve grande redução de  $H_o$ . Isto também foi relatado para proteína de quinoa processada por HHP, onde a diminuição de  $H_o$  foi maior em pH 5,0 quando comparada a pH 7,0 e 9,0 (Luo, Yang, et al., 2022).

No pH 4,5 de processamento, apesar dessa redução na  $H_o$  (em relação ao SPI controle de pH 7,0), quando foi aplicada uma pressão baixa (200 MPa) houve um aumento ( $p < 0,05$ ) de 157% na  $H_o$  quando comparada à amostra controle (0,1 MPa x pH 4,5).

Proteínas vegetais como a proteína do amendoim (Hall & Moraru, 2021a), proteína de soja (He et al., 2014), proteína de ervilha (Li et al., 2012), proteína de lentilha (Wang et al., 2021) e de feijão (Wang et al., 2021a) quando processadas por HHP apresentaram um valor máximo (*peak value*) em sua hidrofobicidade. Esse valor máximo ocorreu nas pressões entre 200 e 400 MPa. Esse resultado também pode ser visto na condição de processamento em pH 4,5, conforme Figura 11, no qual há um aumento de  $H_o$  relacionado ao aumento da pressão de 0,1 MPa para 200 MPa (*peak value*).

Mudanças reversíveis na estrutura proteica podem estar relacionada com esse valor de máximo  $H_o$ , no qual a estrutura proteica está em um estado intermediário de desnaturação, podendo expor grupos hidrofóbicos (Queirós et al., 2023).

A diminuição de hidrofobicidade também pode estar relacionada a agregação proteica induzida por pressão, onde agregados proteicos de alto peso molecular são formados através de interações hidrofóbicas (Elahi & Mu, 2017; Hu et al., 2013; R. P.

Queirós et al., 2018a), como observado nas amostras processadas em pH 7,0, que em todos os níveis de pressão houve uma redução de Ho, mostrando que o HHP pode atuar em estruturas proteicas.

#### 5.4 Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A banda Amida I é a região espectral mais explorada na análise *FTIR* de proteínas, abrangendo de 1600 a 1700  $\text{cm}^{-1}$ . Essa banda surge principalmente da vibração de estiramento do C=O (carbonila) na espinha dorsal do peptídeo e é sensível à conformação da cadeia polipeptídica. Picos distintos nessa região indicam diferentes estruturas secundárias de proteínas, como  $\alpha$ -hélices, folhas- $\beta$ , voltas- $\beta$  e configurações desordenadas (Moreno-Santander et al., 2020). O tratamento com Alta Pressão Hidrostática pode induzir alterações na dobragem e oligomerização de proteínas, de acordo com o *princípio de Le Chatelier*, favorecendo um deslocamento do equilíbrio do sistema biofísico em direção a um estado ocupando um volume molar parcialmente menor (Dong et al., 2020; Wang et al., 2022).

Para determinar as quantidades percentuais das estruturas secundárias de proteínas foi realizada a deconvolução espectral da região Amida I (1600 – 1700  $\text{cm}^{-1}$ ), atribuindo cada componente às estruturas secundárias correspondentes, como folhas- $\beta$  (1600 – 1640  $\text{cm}^{-1}$ ),  $\alpha$ -hélices (1650 - 1660  $\text{cm}^{-1}$ ), voltas- $\beta$  (1660 – 1700  $\text{cm}^{-1}$ ) e estruturas desordenadas ou bobinas (1640 - 1650  $\text{cm}^{-1}$ ) (Gul et al., 2023; Kim et al., 2023; Mathews et al., 2023b; Saini et al., 2018; Yüzer & Gençcelep, 2023).

A Tabela 4 mostra a porcentagem de estruturas secundárias de proteínas do SPI processado por HHP em pH 4,5, 7,0 e 11,0. Pode-se observar uma presença significativa de folhas- $\beta$  e bobinas aleatórias, juntamente com estruturas de voltas- $\beta$  nas amostras analisadas.

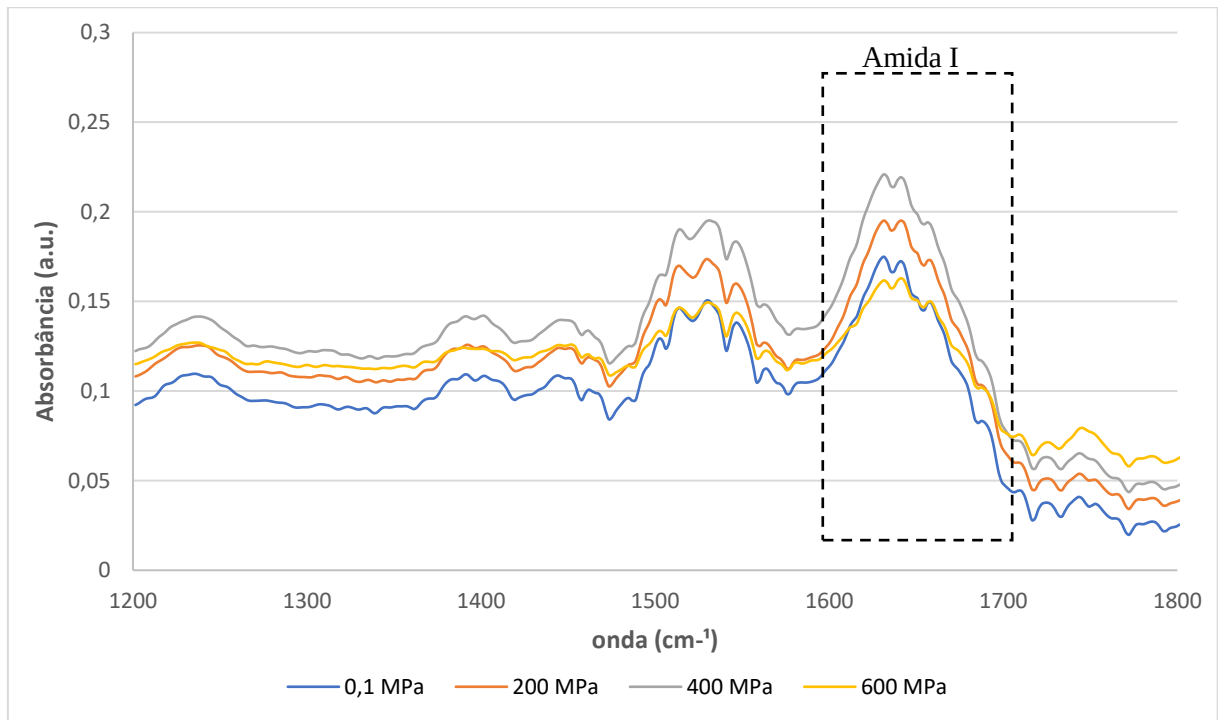
**Tabela 4** - Estruturas Secundárias do SPI processados por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11,0.

| Condições de Processo | folhas- $\beta$ | % Estruturas Secundárias |                    |                    |
|-----------------------|-----------------|--------------------------|--------------------|--------------------|
|                       |                 | voltas- $\beta$          | bobinas aleatórias | $\alpha$ - hélices |
| 0,1 MPa x pH 4,5      | 82,90           | 17,06                    | -                  | -                  |
| 200 MPa x pH 4,5      | 92,12           | 7,87                     | -                  | -                  |
| 400 MPa x pH 4,5      | 75,64           | 2,16                     | 22,19              | -                  |
| 600 MPa x pH 4,5      | -               | 6,84                     | 72,30              | 1,13               |
| 0,1 MPa x pH 7,0      | 89,30           | 10,65                    | -                  | -                  |
| 200 MPa x pH 7,0      | 57,30           | 42,63                    | -                  | -                  |
| 400 MPa x pH 7,0      | 87,90           | 7,27                     | -                  | 4,54               |
| 600 MPa x pH 7,0      | 61,13           | 38,80                    | -                  | 0,82               |
| 0,1 MPa x pH 11,0     | 100,00          | -                        | -                  | -                  |
| 200 MPa x pH 11,0     | 12,06           | 2,51                     | 85,40              | -                  |
| 400 MPa x pH 11,0     | 42,69           | 11,96                    | 40,77              | -                  |
| 600 MPa x pH 11,0     | 2,38            | -                        | 97,61              | -                  |

Todos os valores foram gerados a partir da deconvolução dos espectros de FTIR. Todas as análises foram realizadas em pH 7,0, independente do pH de processo.

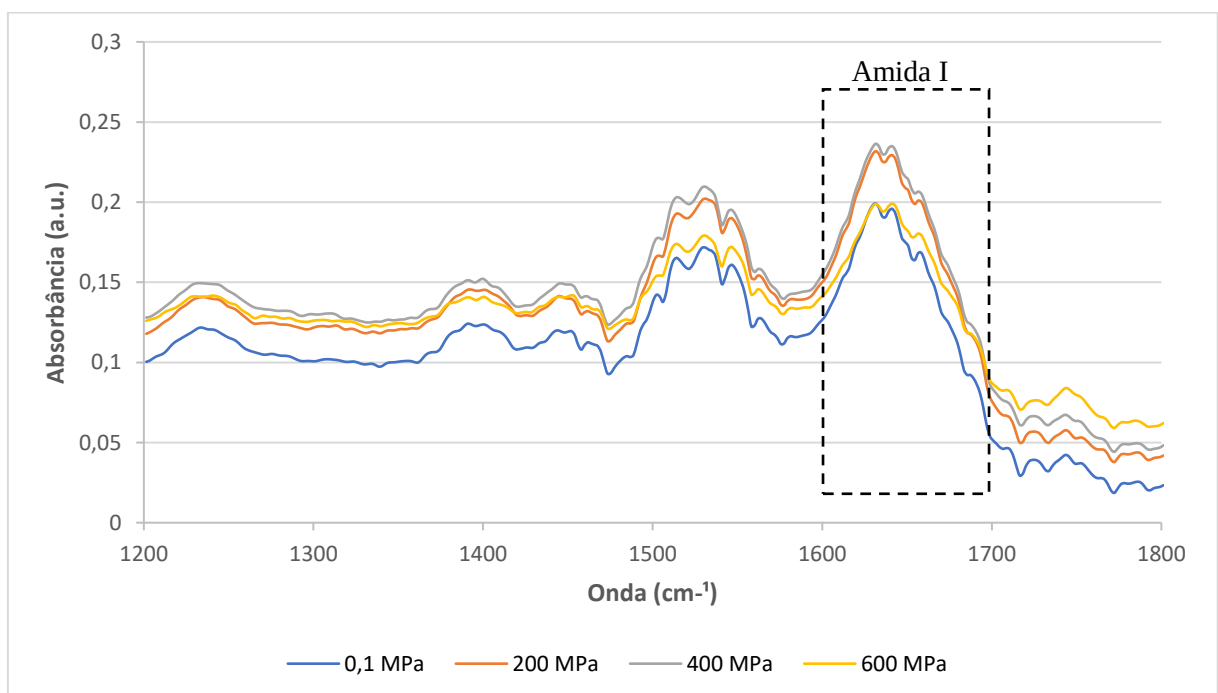
A partir dos espectros *FTIR* mostrados nas Figuras 12a, 12b e 12c (pH 4,5, 7,0 e 11,0, respectivamente), o pico principal da Amida I apareceu em um número de onda de aproximadamente  $\sim 1630\text{ cm}^{-1}$  em todas as condições, indicando a prevalência de estruturas de folhas- $\beta$ . Essa confirmação de estruturas de folhas- $\beta$  e voltas- $\beta$  também é observada na Figura 11b, onde o gráfico demonstra que os picos de contribuições significativas estão em  $1630\text{ cm}^{-1}$  e  $1700\text{ cm}^{-1}$ .

**Figura 12a** - Espectros de FTIR do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5.



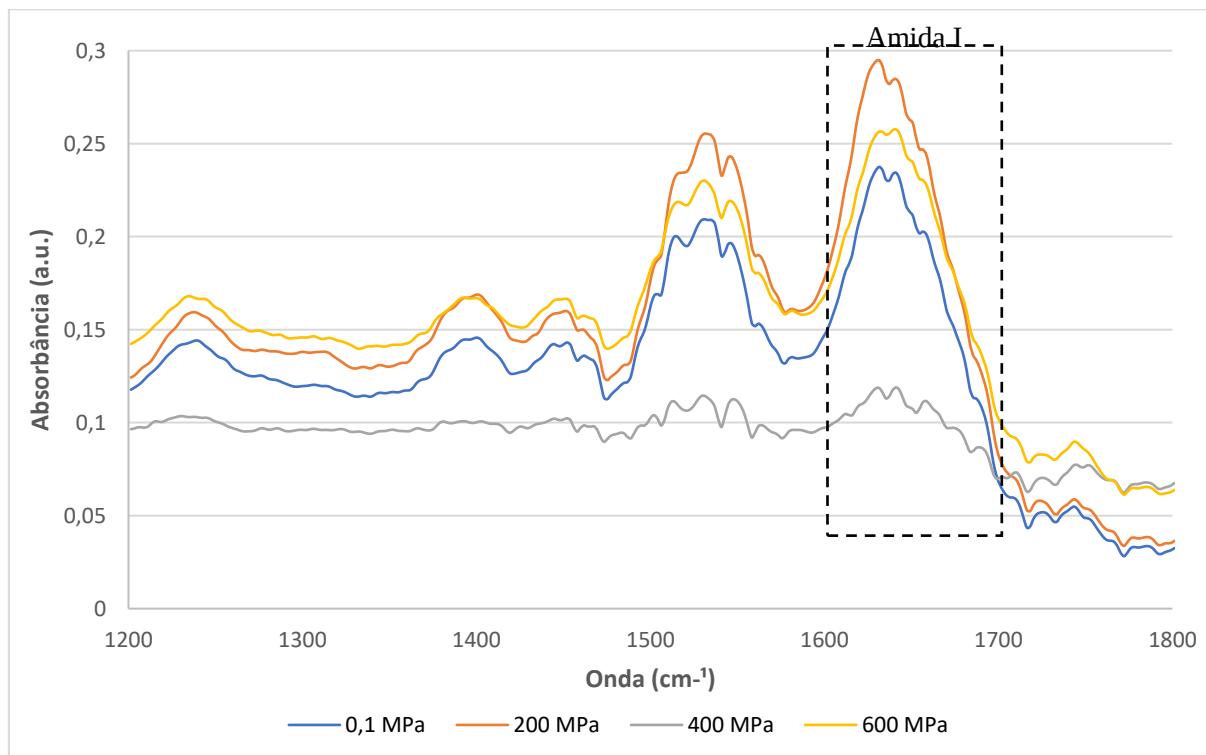
Todas as leituras foram realizadas em pH 7,0, independente do pH de processo.

**Figura 12b**- Espectros de FTIR do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 7,0.



Todas as leituras foram realizadas em pH 7,0, independente do pH de processo.

**Figura 12c** - Espectros de FTIR do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 11,0.



Todas as leituras foram realizadas em pH 7,0, independente do pH de processo.

O conteúdo dessas estruturas é notável na estrutura proteica semelhante à nativa (0,1 MPa x pH 7,0), onde as principais estruturas da proteína de gergelim são folhas- $\beta$  e voltas- $\beta$ . No entanto, com uma alteração no pH (sem tratamento de HHP), observa-se que as quantificações das estruturas de folhas- $\beta$  e voltas- $\beta$  foram alteradas, indicando que o processamento sob diferentes pH também influencia essas estruturas proteicas.

Nas amostras processadas em pH 4,5 e 11,0, nota-se que a pressão teve uma influência maior nas estruturas de bobina aleatória. Na condição de 200 MPa x pH 4,5, observa-se que essa influência é mais pronunciada nas estruturas de folhas- $\beta$ . Essa influência da pressão nas estruturas de folhas- $\beta$  e bobina aleatória também foi observada por Achouri & Boye, (2013), onde o tratamento com HHP induziu mudanças na proteína de gergelim, especialmente em folhas- $\beta$  em pressões mais baixas (100-200 MPa), principalmente em pH ácido (pH 2,0). Em pressões mais altas (300-600

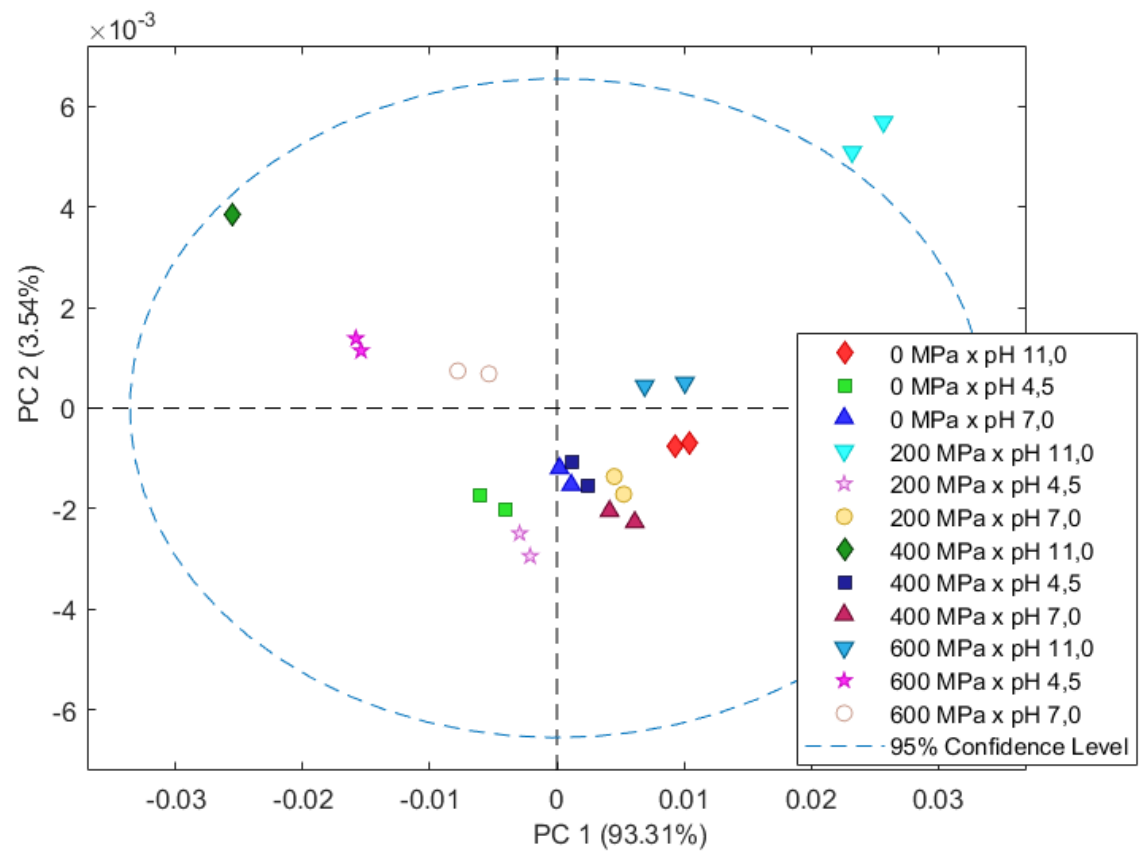
MPa), observou-se um aumento nas bobinas aleatórias (em  $1645\text{ cm}^{-1}$ ), indicativo de maior dissociação e/ou agregação proteica. Essa redução na estrutura de folhas- $\beta$  também foi identificada na proteína de quinoa, especialmente nas amostras a pH 9 (600 MPa x 15 min). Essa redução ocorreu porque as cavidades e ligações de hidrogênio das proteínas são as partes mais compressíveis, e a pressurização por HHP causa um colapso das proteínas, permitindo a penetração de água nessas cavidades e reduzindo a distância entre as ligações de hidrogênio (Luo, Yang, et al., 2022).

Conforme observado na Tabela 4, o aumento no conteúdo de bobinas aleatórias nas condições de processo a 400 e 600 MPa em pH 4,5 pode estar relacionado com a diminuição da hidrofobicidade, o que pode ser um indicativo de formação de agregados proteicos. Esse aumento de bobinas aleatórias também foi visto quando SPI processado em pH 11,0 a 400 e 600 MPa, onde houve um aumento da hidrofobicidade, podendo estar relacionado com a dissociação proteica.

Pela Tabela 4 observa-se que, em pH 7,0 (processamento) nas pressões de 200 e 600 MPa, uma diminuição nas folhas- $\beta$  e um aumento nas voltas- $\beta$ , e, sob a condição de 400 MPa, houve uma redução em ambas as estruturas, mas com o aparecimento mais significativo de  $\alpha$ -hélices (4,54%). A ausência de picos claros na região de  $\alpha$ -hélices ( $1650 - 1660\text{ cm}^{-1}$ ) em todas as condições, exceto em 400 MPa x pH 7,0 e 600 MPa x pH 4,5, pode indicar que essas estruturas estão ausentes e/ou não são as formas secundárias predominantes nas condições analisadas.

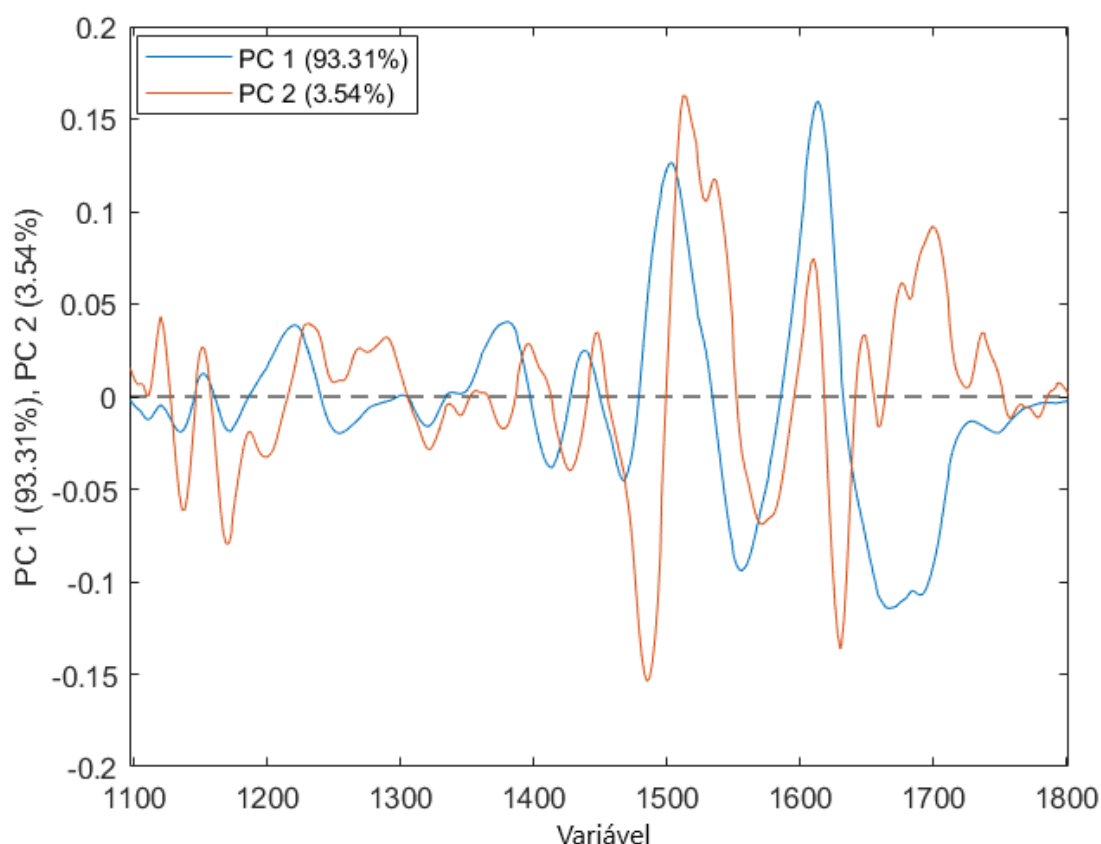
A Figura 13a apresenta o gráfico de pontuações obtido após a Análise de Componentes Principais (PCA), o qual fornece uma representação visual da distribuição dos dados no espaço de componentes principais, permitindo a visualização de padrões, agrupamentos ou tendências nos dados com dimensões reduzidas. Os dados espectrais brutos foram centrados na média (MC) e, em seguida, pré-processados utilizando suavização S-G com 9 pontos + 1ª derivada S-G com 7 pontos. Dois componentes principais foram selecionados, explicando 96,85% da variabilidade. No PC2 foi possível analisar a variação de pH das amostras, onde pontuações negativas correspondem a amostras submetidas abaixo pH (4,5 e 7,0), enquanto pontuações positivas representam amostras com alto pH (11,0). As diferenças estruturais entre as proteínas da amostra controle (sem processamento) e das outras amostras processadas podem ser vistas conforme mostrado na Figura 13a.

**Figura 13a** - Análise de Componentes Principais (PCA) da análise de FTIR do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa nos pH 4,5; 7,0 e 11,0.





**Figura 13b** - Gráfico de Loadings ilustrando a distribuição no conjunto de dados do espectro FTIR do SPI processados por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11,0.



Além do gráfico de pontuações foi gerado o gráfico de *loadings* (Figura 13b), onde a contribuição ou peso de cada comprimento de onda para a formação de cada componente principal pode ser analisada. Esses *loadings* podem ser positivos ou negativos, indicando a direção da influência da variável no componente principal. Quanto maior o valor absoluto do *loading*, maior a contribuição da variável para o componente principal. Por outro lado, *loadings* próximos de zero indicam que a variável tem contribuição limitada para aquele componente principal específico. Os comprimentos de onda que mais contribuíram para a distribuição de proteínas no PC2 foram  $1485\text{ cm}^{-1}$ ,  $1515\text{ cm}^{-1}$ ,  $1535\text{ cm}^{-1}$ , ligados às regiões características de amida,  $1630\text{ cm}^{-1}$  correspondente a regiões de folhas- $\beta$  e  $1700\text{ cm}^{-1}$  para voltas- $\beta$ , regiões previamente destacadas.

As amostras submetidas a 200 MPa e 400 MPa em pH 11,0 mostraram maior distinção das demais, conforme Figura 13a. Essa distinção pode estar correlacionada

com as características distintas dessas proteínas apresentadas no presente trabalho. Houve um aumento na hidrofobicidade na pressão de 400 MPa em pH 11,0 e menor solubilidade ( $p < 0,05$ ) em comparação com a amostra controle (0,1 MPa em pH 11,0). A solubilidade proteica, a atividade emulsificante (EAI) e a capacidade de retenção de óleo (CRO) da amostra processada à 200 MPa em pH 11,0 aumentaram significativamente ( $p < 0,05$ ) em relação ao seu controle.

No geral, o processamento por HHP em proteínas vegetais resulta em desnaturação irreversível, geralmente em pressões mais elevadas, acima de 400 MPa. Normalmente as estruturas  $\alpha$ -hélices são menos sensíveis a pressão em relação as folhas- $\beta$  (Akasaka, 2006; Dehnad et al., 2024; Gharibzahedi & Smith, 2020).

## **5.5 Solubilidade Proteica**

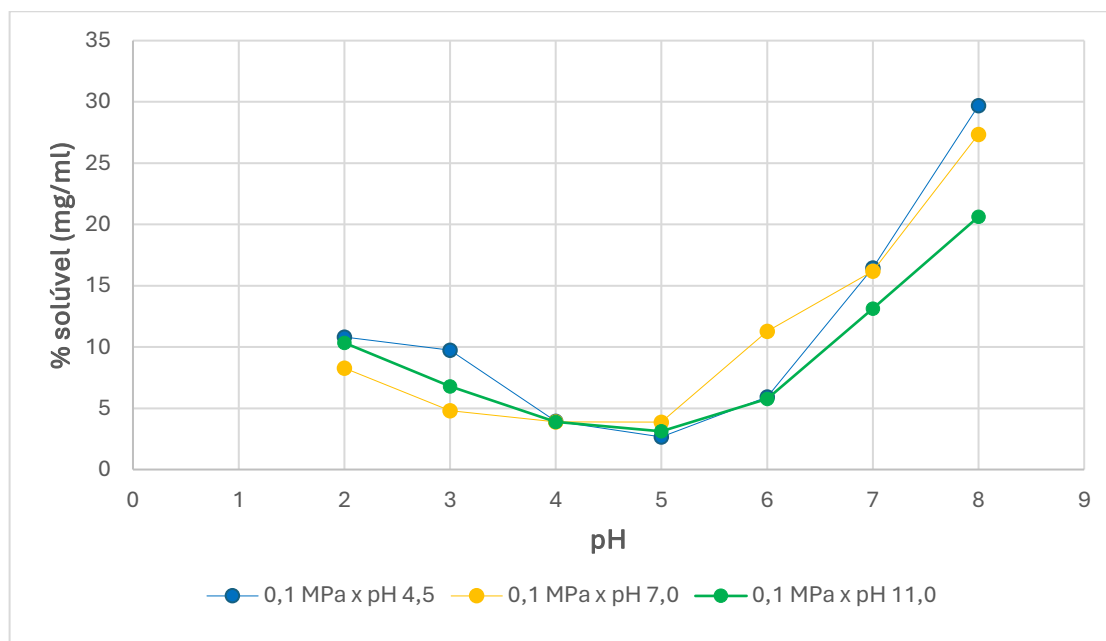
A solubilidade das proteínas é uma propriedade tecno-funcional proeminente, essencial para aplicações tecnológicas na indústria alimentícia, especialmente para proteínas usadas como ingredientes funcionais. Isso contribui para a qualidade e estabilidade dos alimentos processados (Boye et al., 2010).

A solubilidade das proteínas é mínima em valores de pH próximos ao ponto isoelétrico devido ao equilíbrio entre cargas positivas e negativas que reduz a repulsão eletrostática, favorecendo a agregação e precipitação das proteínas (Lee et al., 2021; Los et al., 2020). Em contraste, em valores extremos de pH (ácido ou alcalino), as proteínas possuem cargas líquidas (positivas ou negativas) que aumentam a repulsão eletrostática, resultando em maior hidratação e, conseqüentemente, maior solubilidade (Lopes et al., 2023).

A proteína de gergelim tem seu ponto isoelétrico (pI) em pH 4,5, e, portanto, menor solubilidade (Achouri et al., 2012; Khalid et al., 2003; Onsaard, 2012; Onsaard et al., 2010b).

A Figura 14 apresenta a solubilidade analisada na faixa de pH de 2,0 até 8,0 do SPI das amostras controles (0,1 MPa). Os Apêndices de A – G apresentam as análises estatísticas dos ensaios de solubilidade para cada pH de análise.

**Figura 14** - Solubilidade do SPI - Controle em pressão atmosférica (0,1 MPa) processada em pH 4,5; 7,0 e 11,0.



Todos os valores são médias  $\pm$  desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de Tukey). Todas as análises foram realizadas em faixa de pH 2,0 a 8,0, independente do pH de processo.

A partir da Figura 14 pode se notar a mudança da solubilidade da proteína somente pela mudança do meio (pH). Vale lembrar que o SPI foi submetido aos pHs de 4,5, 7,0 e 11,0 por 10min a 0,1MPa para servirem como controle das amostras processadas em pressões de 200, 400 e 600MPa. Após este procedimento as amostras foram neutralizadas e liofilizadas. A análise da solubilidade das amostras foi então realizada nos pH de 2,0 a 8,0.

Pode se observar que o meio tem influência na solubilidade. No pH 3,0 observa-se um aumento da solubilidade ( $p < 0,05$ ) das amostras processadas em pH 4,5 (0,09 mg/ml), seguido pelo pH 11,0 (0,06 mg/ml) e pH 7,0 (0,04 mg/ml). Já no pH 5,0, as amostras submetidas ao pH neutro foram mais solúveis ( $p < 0,05$ ) do que as ao pH alcalino e ácido, respectivamente. Em pH 6,0 as amostras submetidas ao pH ácido e alcalino não tiveram diferença entre si ( $p < 0,05$ ). Em pH 8,0 as amostras de do pH ácido e neutro foram mais solúveis ( $p < 0,05$ ) comparado com o pH alcalino.

Apesar de pH alcalino causar uma alta solubilidade em proteínas, essa mudança de pH (pH 11,0 de processo) não causou efeitos positivo na solubilidade da

proteína do gergelim, diferente do causado em proteínas de leguminosas, onde pH alcalino apresenta um aumento da solubilidade das proteínas ( Zhang et al., 2024).

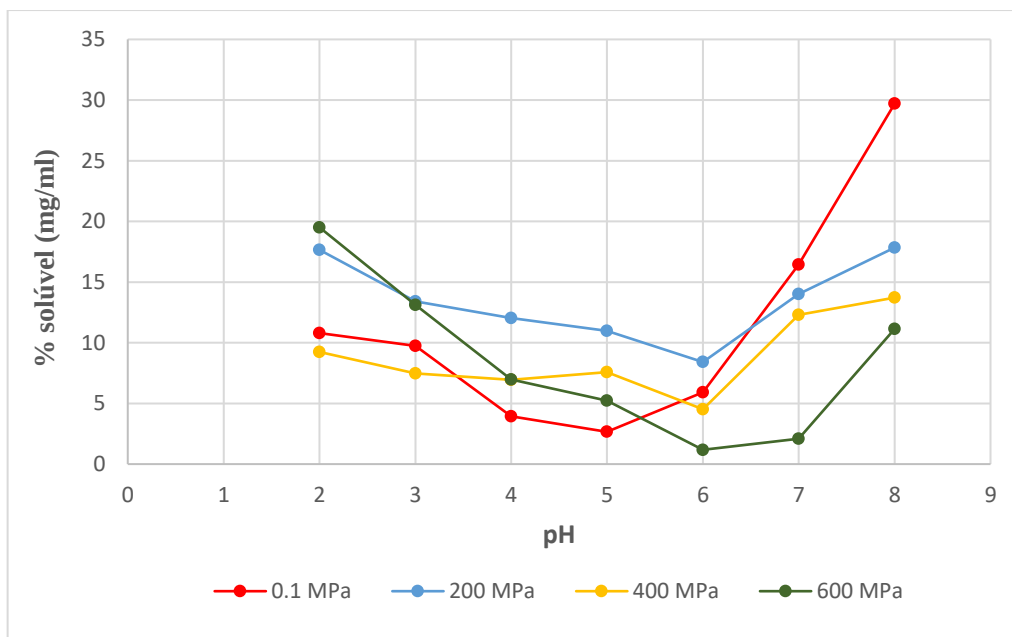
Observa-se uma mudança da solubilidade nas amostras processadas em pH 4,5, principalmente pelo fato de estarem próximas do ponto isoelétrico, onde predominam forças atrativas, como as forças hidrofóbicas e de *van der Waals*, causando agregação de proteínas e aumento no tamanho das partículas (Horvitz et al., 2024; D. Zhang et al., 2024).

Neste sentido, a mudança de pH é empregada para aumentar a solubilidade de proteínas vegetais, pois, durante esse processo, a estrutura da proteína sofre um desdobramento inicial em uma condição alcalina ou ácida, seguido por um redobramento parcial quando volta para seu pH neutro, resultando em uma estrutura “mais flexível” (Jiang et al., 2018; Kahraman et al., 2022; Q. Wang et al., 2024).

No entanto, como visto, a mudança de pH por si só não foi suficiente para modificar a proteína isolada do gergelim. Consequentemente, a combinação com a tecnologia de alta pressão hidrostática pode aumentar a eficiência desse processo de solubilização (Karabulut & Yemiş, 2022; Tang et al., 2021b).

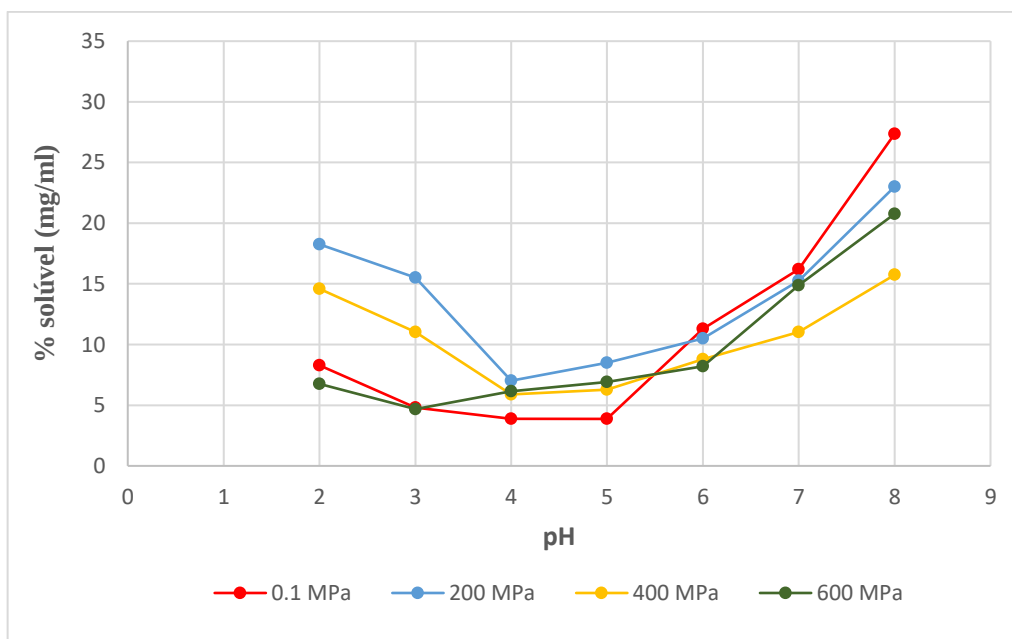
As Figuras 15a, 15b e 15c apresentam a solubilidade do isolado proteico de gergelim em pH variando de 2,0 a 8,0 quando processado a alta pressão hidrostática. Pode-se observar que as amostras tratadas com HHP a 200 MPa, 400 MPa e 600 MPa apresentam perfis de solubilidade diferentes em comparação com as amostras controle em diferentes valores de pH.

**Figura 15a** - Solubilidade do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5.



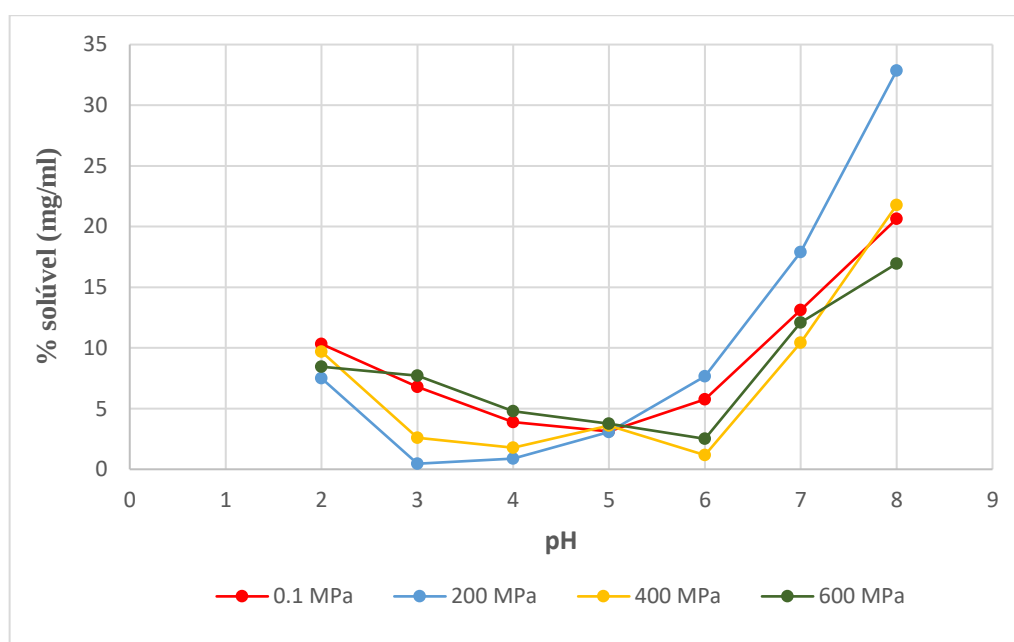
Todos os valores são médias  $\pm$  desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de Tukey). Todas as análises foram realizadas em faixa de pH 2,0 a 8,0, independente do pH de processo.

**Figura 15b**- Solubilidade do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 7,0.



Todos os valores são médias  $\pm$  desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de Tukey). Todas as análises foram realizadas em faixa de pH 2,0 a 8,0, independente do pH de processo.

**Figura 15c-** Solubilidade do SPI processado por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 11,0.



Todos os valores são médias  $\pm$  desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de Tukey). Todas as análises foram realizadas em faixa de pH 2,0 a 8,0, independente do pH de processo.

A Figura 15a apresenta a solubilidade das amostras processadas em pH 4,5. No ponto isoelétrico, esperaríamos a menor solubilidade, já que as cargas positivas e negativas das proteínas se neutralizam, resultando em pouca ou nenhuma repulsão entre as moléculas e, portanto, uma maior tendência à agregação (Gharibzahedi & Smith, 2020).

Todas as amostras processadas em pH 4,5 (200, 400 e 600 MPa) e analisadas em seu ponto isoelétrico (pH 4,5) aumentaram sua solubilidade ( $p < 0,05$ ) em comparação a amostra controle (0,1 MPa). Isto pode indicar que o HHP altera a

estrutura da proteína de uma forma que favorece a solubilidade, mesmo sob condições em que normalmente seria baixa (pI).

Com aumento do pH de análise (de 5,0 para 7,0), as amostras de 0,1, 200 e 400 MPa apresentaram solubilidade semelhante. Porém, o SPI a 600 MPa apresentou menor solubilidade ( $p < 0,05$ ). Isto pode estar relacionado à redução de sua hidrofobicidade observada quando as amostras foram processadas a 600 MPa, onde a formação de agregados reduz a exposição de grupos hidrofóbicos, mas aumenta o tamanho das partículas.

A Figura 15b apresenta a solubilidade das amostras processadas em pH 7,0. Em pH neutro e longe do ponto isoelétrico da proteína, o comportamento das amostras quanto a solubilidade pode ser mais influenciada pela pressão do que pelo pH. Isso ocorre, pois, as cargas superficiais das proteínas devem ser distribuídas de maneira mais uniforme (Queirós et al., 2018a).

Em pH ácidos da análise, as amostras processadas a 200 e 400 MPa apresentaram maior solubilidade ( $p < 0,05$ ), que o SPI controle (0,1 MPa). Houve um aumento de 120% e 222% a 200 MPa e de 76% e 130% à 400 MPa em pH 2,0 e 3,0, respectivamente. A amostra processada a 600 MPa apresenta solubilidade significativamente menor ( $p < 0,05$ ) do que as respectivas amostras controle, indicando que a alta pressão pode estar promovendo interações que reduzem a solubilidade em ambientes ácidos.

Em pH 4,0 e 5,0 (da análise), o SPI processado em pH 7,0 (Figura 15b) apresenta maior solubilidade ( $p < 0,05$ ) do que a amostra controle, com a solubilidade aumentando com a pressão aplicada, sendo o processamento a 200 MPa o mais solúvel (aumento de 80% e 119%, respectivamente). O aumento da solubilidade com pressões acima de 100 MPa também foi relatado por Achouri & Boye, (2013), em que pressões de 200 e 300 MPa promoveram maior solubilidade das frações proteicas 7S e 11S da proteína de gergelim.

Esta tendência de pressões de 200 e 400 MPa em pH 7,0 de processo, em que a solubilidade é melhorada, está relacionada a conversão de agregados insolúveis em solúveis, desnaturação proteica e exposição de diferentes grupos hidrofóbicos e hidrofílicos. Este desdobramento inicial da proteína em pressões intermediárias é seguido pela subsequente agregação e reassociação de proteínas em pressões mais altas (Li et al., 2012; Luo, Cheng, et al., 2022).

Esses resultados puderam ser observados na proteína de soja, onde a solubilidade máxima das frações (7S e 11S) ocorreu em 300 MPa Wang et al., (2011), enquanto Molina et al., (2001.) observou o melhoramento da solubilidade dessas subunidades em 200 e 400 MPa. A proteína de soja também apresentou aumento em 400 e 450 MPa, conforme visto em Puppo et al., (2004); Torrezan et al., (2007) e a 200 MPa na proteína de tremço (Chapleau & De Lamballerie-Anton, 2003.).

Na Figura 15c pode se observar que as amostras processadas em pH 11,0 sob pressões de 200 e 400 MPa apresentaram menor solubilidade ( $p < 0,05$ ) quando avaliadas em pHs mais baixos em comparação a amostra controle (0,1 MPa) e a amostra processada a 600 MPa. Porém à medida que o pH da análise aumenta, o SPI a 200 MPa apresenta um notável aumento na solubilidade ( $p < 0,05$ ). Esse aumento foi de 36% quando comparada a amostra controle. Isso pode estar relacionado com a mudança da estrutura secundária da proteína, como visto na Figura 13a (PCA), onde a amostra processada a 200MPa em pH 11,0 mostrou se distinta das demais.

Em pH 8,0 (análise) o aumento da solubilidade em relação ao controle foi de 59% ( $p < 0,05$ ). Este padrão também pode ser observado em proteínas de quinoa e soja, onde a solubilidade aumentou apenas em um valor de pressão (400 MPa) à medida que o pH passou de 3 para 8. Isto pode ser devido a rupturas de estruturas quaternárias e/ou agregados proteicos (Luo, Cheng, et al., 2022; Puppo et al., 2004). Os mecanismos pelos quais a alta pressão hidrostática afeta as modificações proteicas estão intrinsicamente ligados a magnitude da variação no volume das moléculas proteicas em solução. Este fenômeno resulta na ruptura das estruturas quaternárias das proteínas, desnaturação e agregação. A mudança no volume da proteína sob HHP geralmente envolve a compressão de cavidades proteicas, rupturas de interações não covalentes (como interações hidrofóbicas e eletrostática) e modificações nas interações proteína- solvente (Galazkaa et al., 2000).

Estas transformações nas estruturas e interações moleculares tem o potencial de provocar mudanças nas propriedades físico-químicas e tecno-funcionais das proteínas (Huang et al., 2021).



### 5.6 Índice de Atividade Emulsificante (EAI) e Índice de Estabilidade Emulsificante (ESI)

As proteínas são utilizadas como agentes emulsificantes na indústria alimentícia devido à sua natureza anfifílica, ou seja, pois reduzem a tensão interfacial ao redirecionar sua fração hidrofílica para fase aquosa e sua parte hidrofóbica para fase oleosa (Gundogan & Can Karaca, 2020; Nunes & Tavares, 2019).

A partir da Tabela 5 pode-se observar que, na pressão de 200 MPa, houve um aumento ( $p < 0,05$ ) na capacidade emulsificante do SPI, independentemente dos valores de pH (4,5, 7,0 e 11,0). Essa EAI máxima é geralmente obtida a perto de 200 MPa (valor de pico), como visto em proteína de batata-doce (Khan et al., 2014), proteínas de feijão (Ahmed et al., 2018), proteínas de ervilha e feijão (Hall & Moraru, 2021a).

**Tabela 5** - Índice de Atividade Emulsificante (EAI) e Índice de Estabilidade Emulsificante (ESI) do SPI processados por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11,0.

| Condições de Processo | Propriedades Emulsificantes |                |
|-----------------------|-----------------------------|----------------|
|                       | EAI (m <sup>2</sup> /g)     | ESI (min)      |
| 0,1 MPa x pH 4,5      | 5,04 ± 0,1 c                | 34,99 ± 0,01 c |
| 200 MPa x pH 4,5      | 11,70 ± 0,71 a              | 31,46 ± 0,09 c |
| 400 MPa x pH 4,5      | 10,47 ± 0,9 b               | 49,20 ± 0,01 b |
| 600 MPa x pH 4,5      | 10,59 ± 0,08 b              | 94,81 ± 0,1 a  |
| 0,1 MPa x pH 7,0      | 11,57 ± 0,58 b              | 23,13 ± 0,07 c |
| 200 MPa x pH 7,0      | 24,95 ± 0,42 a              | 22,47 ± 0,09 c |
| 400 MPa x pH 7,0      | 6,93 ± 0,76 c               | 40,03 ± 0,02 b |
| 600 MPa x pH 7,0      | 7,41 ± 0,1 c                | 57,37 ± 0,8 a  |
| 0,1 MPa x pH 11,0     | 21,33 ± 0,61 b              | 17,06 ± 0,07 b |
| 200 MPa x pH 11,0     | 25,01 ± 0,29 a              | 26,41 ± 0,06 a |
| 400 MPa x pH 11,0     | 10,45 ± 0,98 d              | 19,64 ± 0,4 b  |
| 600 MPa x pH 11,0     | 15,38 ± 0,14 c              | 20,17 ± 0,07 b |

Todos os valores são médias  $\pm$  desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*). Todas as análises foram realizadas em pH 7,0, independente do pH de processo.

Esse valor máximo (*peak value*) na pressão de 200 MPa, corresponde a um aumento de 132% (pH 4,5), 115% (pH 7,0) e 17% (pH 11,0) em sua atividade emulsificante. Esse aumento significativo, principalmente em pH 4,5 pode estar relacionado com o aumento da sua hidrofobicidade. O aumento da  $H_o$  pode gerar dissociação proteica, o que é associado com uma melhor flexibilidade da proteína, melhorando sua atividade na interface água/óleo.

Por outro lado, em condições de pressão de 400 e 600 MPa, em pH 4,5, houve um aumento ( $p < 0,05$ ) na capacidade emulsionante em comparação com a amostra controle (0,1 MPa). Essa mudança também foi observada em proteína de soja, onde a EAI foi maior em pH próximo ao ponto isoelétrico Torrezan et al., (2007), mas em pHs 7,0 e 11,0 houve uma diminuição ( $p < 0,05$ ) em relação à amostra não processada (0,1 MPa). A diminuição na EAI em pH mais elevado (pH 7,0 e 8,0) também foi observada em proteínas de soja e ervilha, explicada pelo fato de que o HHP resultou numa redução da carga superficial da proteína, diminuindo sua capacidade emulsionante (Queirós et al., 2023).

Observa-se pela Tabela 5 que o efeito da pressão de 200 MPa em pH 4,5 e 7,0 não alterou a ESI, sendo significativamente igual aos controles ( $p < 0,05$ ). Por outro lado, em condições alcalinas (pH 11,0), a pressão de 200 MPa aumentou a estabilidade em 55%. Sob condição de pressão mais elevada (600 MPa) e pH 4,5 ou 7,0 observou-se uma melhor estabilidade ( $p < 0,05$ ) de 94,81 min e 57,37 min, respectivamente, em comparação com o pH 11,0 (20,17min).

Em alguns casos é relatado que, embora o processamento por HHP possa melhorar a EAI das proteínas, pode comprometer a estabilidade da emulsão, ou seja, a atividade emulsificante e a estabilidade da proteína são propriedades que podem ser antagônicas (Wang et al., 2022) . Isso ocorre devido ao fato de, sob algumas condições de processamento, o HHP pode induzir a formação de agregados proteicos, resultando em uma flexibilidade conformacional limitada, o que pode ser útil para a

estabilidade da emulsão (Baier & Knorr, 2015; T. Lin & Fernández-Fraguas, 2020; Singh & Ramaswamy, 2015).

Esse antagonismo entre EAI e ESI pode ser observado em pH 7,0, no qual houve um aumento em ESI e uma diminuição em EAI para a proteína processada a 400 e 600 MPa. A formação de agregados proteicos também pode ser observada com a redução da hidrofobicidade superficial ( $H_o$ ), onde, em pH 7,0, todas as condições apresentaram uma redução nesse índice, assim como em pH 4,5 e, nas pressões de 400 e 600 MPa, houve uma redução em  $H_o$  e um aumento em ESI.

O processamento por alta pressão (400 e 600 MPa) em pH 4,5 reduziu a hidrofobicidade, e aumentou sua estabilidade (ESI) do SPI. O tratamento com HHP, ao reduzir a hidrofobicidade, expõe mais sítios de proteínas polares devido a formação de agregados, que também podem contribuir para a estabilização na interface emulsionante. Esses resultados também podem estar relacionados com a diminuição da solubilidade proteica na condição de 600 MPa em pH 4,5, sendo mais um indicativo de formação de agregados insolúveis.

O aumento em EAI e ESI, especialmente a 600 MPa, sugere que, apesar da diminuição na hidrofobicidade as proteínas podem estar se reorganizando para aprimorar sua atividade e estabilidade emulsionante.

Considerando o processamento em pH 11,0 a 200 MPa, nota-se um aumento de 17% de sua EAI em relação ao seu controle. Esse aumento pode estar associado com um aumento da solubilidade proteica, nesta mesma condição, além disso a amostra apresentou uma diferença significativa em sua estrutura secundária de acordo com o PCA (Figura 13a). Além disso, pode-se observar que, independentemente da aplicação da pressão, o pH teve influência sobre a EAI. Quando comparada as amostras a 0,1 MPa em pH 7,0 e 11,0, nota-se um aumento de 84% para o pH 11,0, o que pode estar relacionado com as mudanças na carga proteica em pH alcalino afetando as interações eletrostáticas, afastando assim as moléculas de proteínas, aumentando a flexibilidade molecular na interface água/óleo.

As amostras processadas a 200 MPa em pH 4,5, 7,0 e 11,0 obtiveram um melhor desempenho do EAI, enquanto as amostras a 600 MPa em pH 4,5 e 7,0 tiveram uma melhor estabilidade no ESI, aumentando em 170% e 147%, respectivamente.

### 5.7 Capacidade de Retenção de Água e Capacidade de Retenção Óleo

CRA (Capacidade de Retenção de Água) é a capacidade da proteína de reter água em sua estrutura tridimensional, assim como CRO (Capacidade de Retenção de Óleo) é a capacidade da proteína de reter óleo (Gundogan & Can Karaca, 2020). Os efeitos do processamento HHP combinado com mudança de pH na CRA e CRO no Isolado Proteico de Gergelim (*SPI – Sesame Protein Isolate*) são apresentados na Tabela 6.

**Tabela 6** – Capacidade de Retenção de Água (CRA) e Óleo (CRO) de SPI processadas por HHP à 200, 400 e 600 MPa em pH 4,5; 7,0 e 11,0.

| Condições de Processo | CRA (g/g)        | CRO (g/g)        |
|-----------------------|------------------|------------------|
| 0,1 MPa x pH 4,5      | 2,01 ± 0,65 b    | 1,99 ± 0,88 b    |
| 200 MPa x pH 4,5      | 2,38 ± 0,33 a, b | 2,45 ± 0,09 a    |
| 400 MPa x pH 4,5      | 2,28 ± 0,38 a, b | 2,45 ± 0,55 a    |
| 600 MPa x pH 4,5      | 2,49 ± 0,74 a    | 2,25 ± 0,9 a     |
| 0,1 MPa x pH 7,0      | 1,94 ± 0,67 b    | 2,53 ± 0,2 b, c  |
| 200 MPa x pH 7,0      | 2,37 ± 0,91 a    | 2,40 ± 0,22 c    |
| 400 MPa x pH 7,0      | 2,04 ± 0,61 a, b | 2,97 ± 0,32 a, b |
| 600 MPa x pH 7,0      | 2,32 ± 0,67 a, b | 3,07 ± 0,96 a    |
| 0,1 MPa x pH 11,0     | 2,21 ± 0,09 a    | 3,83 ± 0,11 c    |
| 200 MPa x pH 11,0     | 2,12 ± 0,21 a    | 5,02 ± 0,38 a    |
| 400 MPa x pH 11,0     | 2,16 ± 0,94 a    | 4,39 ± 0,89 b, c |
| 600 MPa x pH 11,0     | 2,34 ± 0,22 a    | 4,77 ± 0,41 a, b |

Todos os valores são médias ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*) entre as amostras. Todas as análises foram realizadas em pH 7,0, independente do pH de processo.

A partir da Tabela 6, analisando somente as amostras controle (0,1 MPa), nota-se que o meio (pH) teve influência na CRA. As amostras em pH 11,0 tiveram um aumento de 10% ( $p < 0,05$ ) em relação as amostras de pH 4,5 e de 14% em relação as amostras de pH 7,0, mostrando que o pH alcalino tem influência considerável nesta característica. Assim como o pH de processamento teve influência na CRA, o mesmo também influenciou a CRO, onde a amostra controle em pH 11,0 aumentou ( $p < 0,05$ ) sua CRO em 91% quando comparada ao controle de pH 4,5 e um aumento de 51% quando comparada ao pH 7,0 ( $p < 0,05$ ). Essas mudanças na CRO podem ser atribuídas aos aminoácidos não polares nas cadeias laterais das proteínas que foram expostos e que se ligaram às cadeias de ácidos graxos, retendo o óleo em sua estrutura (Gundogan & Can Karaca, 2020; Onsaard et al., 2010).

Para as amostras processadas em pH 4,5 e 7,0, a CRA aumentou significativamente quando foram submetidas às pressões de 600 e 200 MPa, respectivamente. Assim como no SPI, a proteína de ervilha processada a 300 MPa em pH neutro teve alterações significativas geradas pela pressão, expondo grupos enterrados que contribuíram para o aumento da CRA (Kalayci et al., 2022; Peyrano et al., 2016). Este aumento pode ser de grande interesse, uma vez que o CRA está diretamente relacionado com a capacidade de formar géis.

Para o SPI processado em pH alcalino (11,0), não houve alteração na CRA em relação ao controle, ou seja, a pressão não influenciou tanto nessa propriedade tecnofuncional quanto o pH de processamento.

Com relação a CRO, as amostras processadas em pH 4,5 tiveram aumento significativo ( $p < 0,05$ ) em todos os níveis de pressão em comparação com a amostra controle (0,1 MPa). No pH 7,0 de processamento houve aumento ( $p < 0,05$ ) na CRO apenas na pressão de 600 MPa.

As amostras processadas em pH 11,0 à 200 e 600 MPa tiveram um melhor desempenho na capacidade de retenção de óleo, quando comparadas ao seu controle (0,1 MPa), aumentando em 31% e 24% respectivamente. Vale a pena ressaltar que esse aumento da CRO em pH 11,0 a 200 MPa pode estar relacionado com a melhoria da atividade emulsificante (EAI). Além disso, nessa condição houve o aumento da solubilidade e mudanças proeminentes na estrutura secundária (Figura 13a).

## 6 CONCLUSÃO

O processamento por HHP combinado com a variação de pH, induziu mudanças estruturais isolado proteico de Gergelim. Estas mudanças foram observadas através da hidrofobicidade de superfície que diminuiu nas condições de 400 e 600 MPa em pH 4,5 e a 200, 400 e 600 MPa em pH 7,0 podendo ser associado a formação de agregados proteicos. Por outro lado, nas condições de 200 MPa em pH 4,5 e a 400 e 600 MPa em pH 11,0 houve um aumento da hidrofobicidade o que pode estar relacionado com a dissociação proteica, relacionando a ruptura da estrutura quaternária da proteína.

Além disso, mudanças nas estruturas secundárias do SPI foram avaliadas a partir da análise de FTIR, onde pressões de 400 e 600 MPa em pH 4,5 e 11,0 tiveram maior influência sobre a estrutura de bobinas aleatórias, indicando novamente a formação de agregados e/ou dissociação proteica. Com base nos resultados de FTIR notou-se que a proteína de gergelim tem um predomínio de estrutura folhas- $\beta$ ,

Essas modificações nas estruturas quaternárias, terciárias e secundárias da proteína de Gergelim induziram mudanças significativas em suas propriedades tecno-funcionais (capacidade de retenção de água e óleo, solubilidade e atividade e estabilidade emulsificante), especialmente na solubilidade, uma propriedade tecnológica altamente desejada para proteínas vegetais na indústria alimentícia, facilitando sua aplicação em formulações alimentícias.

A solubilidade das amostras processadas em pH 4,5 e 7,0, aumentaram quando analisadas em uma faixa de pH de 2,0 a 5,0, o que pode ser de grande interesse para aplicações em bebidas ácidas e até mesmo lácteas. Já para as amostras analisadas em uma faixa de pH de 6,0 a 8,0, o processamento em pH 11,0 a 200 MPa apresentou uma solubilidade melhorada, facilitando sua aplicação em produtos cárneos, por exemplo.

Com relação as propriedades tecno-funcionais emulsificantes, as amostras processadas a 200 MPa (em todos pH) tiveram um aumento dessa atividade, já as amostras processadas a 400 e 600 MPa (pH 4,5 e 7,0) tiveram um aumento da estabilidade. A melhora dessa propriedade pode ser de interesse em aplicações de produtos emulsionados, onde a atividade e estabilidade emulsificante é de suma importância.

Outra característica importante é a CRA e CRO, onde essas capacidades geram aos alimentos, texturas e sabores mais proeminentes. Esse aumento de CRA foi principalmente em 600 e 200 MPa em pH 4,5 e 7,0, respectivamente. Com relação ao CRO todas as amostras processadas em pH 4,5 aumentaram essa capacidade, e em pH 7,0 a 600 MPa e em pH 11,0 a 200 MPa.

Com isso, nota-se que condições dos parâmetros do processo (pressão, tempo, temperatura), condições do meio (pH), concentração da proteína, tipo de proteína, entre outros parâmetros influenciam diretamente nas modificações estruturais e consequentemente em suas propriedades tecno-funcionais. Pesquisas adicionais são necessárias para esclarecer os efeitos desses diferentes parâmetros (HHP e pH).

Finalmente, este estudo demonstrou que as propriedades funcionais e tecnológicas do Isolado Proteico de Gergelim podem ser adaptadas ao selecionar as diferentes condições de processamento (pressão e níveis de pH), potencialmente beneficiando a indústria ao facilitar a incorporação desse ingrediente em produtos alimentícios.

## REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

- Abera, G. (2019). Review on high-pressure processing of foods. In *Cogent Food and Agriculture* (Vol. 5, Issue 1). Informa Healthcare. <https://doi.org/10.1080/23311932.2019.1568725>
- Achouri, A., & Boye, J. I. (2013a). Thermal processing, salt and high pressure treatment effects on molecular structure and antigenicity of sesame protein isolate. *Food Research International*, 53(1), 240–251. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.016>
- Achouri, A., & Boye, J. I. (2013b). Thermal processing, salt and high pressure treatment effects on molecular structure and antigenicity of sesame protein isolate. *Food Research International*, 53(1), 240–251. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.016>
- Achouri, A., Nail, V., & Boye, J. I. (2012). Sesame protein isolate: Fractionation, secondary structure and functional properties. *Food Research International*, 46(1), 360–369. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2012.01.001>
- Ahmed, J., Al-Ruwaih, N., Mulla, M., & Rahman, M. H. (2018). Effect of high pressure treatment on functional, rheological and structural properties of kidney bean protein isolate. *LWT*, 91, 191–197. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.01.054>
- Akasaka, K. (2006). Probing conformational fluctuation of proteins by pressure perturbation. In *Chemical Reviews* (Vol. 106, Issue 5, pp. 1814–1835). <https://doi.org/10.1021/cr040440z>
- Albe Slabi, S., Mathe, C., Basselin, M., Framboisier, X., Ndiaye, M., Galet, O., & Kapel, R. (2020). Multi-objective optimization of solid/liquid extraction of total sunflower proteins from cold press meal. *Food Chemistry*, 317. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126423>
- Alsaman, F. B., & Ramaswamy, H. S. (2020). Evaluation of Changes in Protein Quality of High-Pressure Treated Aqueous Aquafaba. *Molecules*, 26, 234. <https://doi.org/10.3390/molecules>
- Aluko, R. E. (2018). Food protein-derived peptides: Production, isolation, and purification. In *Proteins in Food Processing: Second Edition* (pp. 389–412). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100722-8.00016-4>



- Alves, A. C., & Tavares, G. M. (2019). Mixing animal and plant proteins: Is this a way to improve protein techno-functionalities? In *Food Hydrocolloids* (Vol. 97). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.06.016>
- Antoniassi, R., Helena Castro Arriel, N., Borges Gonçalves, E., Cordeiro de Freitas, S., Luís Zanotto, D., & Ribeiro Bizzo, H. (2013). *Influência das condições de cultivo na composição da semente e do óleo de gergelim*. 1–10.
- Ayustaningwarno, F., Fogliano, V., Verkerk, R., & Dekker, M. (2021). Surface color distribution analysis by computer vision compared to sensory testing: Vacuum fried fruits as a case study. *Food Research International*, 143. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110230>
- Baier, A. K., & Knorr, D. (2015). Influence of high isostatic pressure on structural and functional characteristics of potato protein. *Food Research International*, 77, 753–761. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.05.053>
- Bourtoom, T. (2008). 167-180 Factors Affecting the Properties of Edible Film Prepared from Mung Bean Proteins 167 International. In *International Food Research Journal* (Vol. 15, Issue 2).
- Boye, J., Zare, F., & Pletch, A. (2010). Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. In *Food Research International* (Vol. 43, Issue 2, pp. 414–431). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.09.003>
- Bradford, M. M. (1976). A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. In *ANALYTICAL BIOCHEMISTRY* (Vol. 72).
- Bryant, C. J. (2019). We can't keep meating like this: Attitudes towards vegetarian and vegan diets in the United Kingdom. *Sustainability (Switzerland)*, 11(23). <https://doi.org/10.3390/su11236844>
- Calderón-Chiu, C., Calderón-Santoyo, M., Herman-Lara, E., & Ragazzo-Sánchez, J. A. (2021). Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam) leaf as a new source to obtain protein hydrolysates: Physicochemical characterization, techno-functional properties and antioxidant capacity. *Food Hydrocolloids*, 112. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106319>
- Cao, J., Li, Y., Li, F., Liao, X., Hu, X., & Zhang, Y. (2022). Effect of high hydrostatic pressure on chlorophyll/soybean protein isolate interaction and the mixtures

- properties. *Food Hydrocolloids*, 128. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107555>
- Chakraborty, P., Bhattacharyya, D. K., & Ghosh, M. (2021). Extrusion treated meal concentrates of *Brassica juncea* as functionally improved ingredient in protein and fiber rich breadstick preparation. *LWT*, 142. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111039>
- Chao, D., Jung, S., & Aluko, R. E. (2018). Physicochemical and functional properties of high pressure-treated isolated pea protein. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 45, 179–185. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.10.014>
- Chapleau, N., & De Lamballerie-Anton, M. (n.d.). *Improvement of emulsifying properties of lupin proteins by high pressure induced aggregation*. [www.elsevier.com/locate/foodhyd](http://www.elsevier.com/locate/foodhyd)
- Cheng, J., Li, Z., Wang, J., Zhu, Z., Yi, J., Chen, B., & Cui, L. (2022). Structural characteristics of pea protein isolate (PPI) modified by high-pressure homogenization and its relation to the packaging properties of PPI edible film. *Food Chemistry*, 388. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132974>
- Choi, M. H., Kim, G. H., & Lee, H. S. (2002). *Effects of ascorbic acid retention on juice color and pigment stability in blood orange (Citrus sinensis) juice during refrigerated storage*. [www.elsevier.com/locate/foodres](http://www.elsevier.com/locate/foodres)
- Clark, M., Springmann, M., Rayner, M., Scarborough, P., Hill, J., Tilman, D., Macdiarmid, J. I., Fanzo, J., Bandy, L., & Harrington, R. A. (2022). *Estimating the environmental impacts of 57,000 food products*. <https://doi.org/10.1073/pnas>
- Cristianini, M., Gomes da Cruz, A., Schwinden Prudêncio, E., Almeida Esmerino, E., Colombo Pimentel, T., Associado, P., & Rodrigues, S. (2023). *TECNOLOGIAS EMERGENTES NO PROCESSAMENTO DE ALIMENTOS*. [www.blucher.com.br](http://www.blucher.com.br)
- De Matos, K., Casselli, R., Katherine De Matos, R., Lupetti, C., Textos, V. G., Gráfico, P., Parucker, L., Cabral -Diretor, A., Públicas, P., Lupetti -Especialista De Dados, C., Guadagnini -Diretor, G., Gusmão, J., Executiva, A., Seibel, K., & Bernal -Analista, M. (2021). *Autores Cristiana Ambiel Equipe do The Good Food Institute Brasil Ficha de Créditos*. [www.gfi.org.br](http://www.gfi.org.br)
- Dehnad, D., Emadzadeh, B., Ghorani, B., Assadpour, E., Yang, N., & Jafari, S. M. (2024). The influence of high hydrostatic pressure on different properties of legume proteins with an emphasis on soy proteins; a comprehensive review. In

- Food Hydrocolloids* (Vol. 146). Elsevier B.V.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109188>
- Dong, X., Wang, J., & Raghavan, V. (2020). Critical reviews and recent advances of novel non-thermal processing techniques on the modification of food allergens. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Taylor and Francis Inc.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1722942>
- Elahi, R., & Mu, T. H. (2017). High hydrostatic pressure (HHP)-induced structural modification of patatin and its antioxidant activities. *Molecules*, 22(3).  
<https://doi.org/10.3390/molecules22030438>
- EMBRAPA, E. B. de P. A. (2009). *O produtor pergunta, a Embrapa responde. O Gergelim*.
- Fasolin, L. H., Pereira, R. N., Pinheiro, A. C., Martins, J. T., Andrade, C. C. P., Ramos, O. L., & Vicente, A. A. (2019a). Emergent food proteins – Towards sustainability, health and innovation. In *Food Research International* (Vol. 125). Elsevier Ltd.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108586>
- Fasolin, L. H., Pereira, R. N., Pinheiro, A. C., Martins, J. T., Andrade, C. C. P., Ramos, O. L., & Vicente, A. A. (2019b). Emergent food proteins – Towards sustainability, health and innovation. In *Food Research International* (Vol. 125). Elsevier Ltd.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108586>
- Fasuan, T. O., Gbadamosi, S. O., & Omobuwajo, T. O. (2018). Characterization of protein isolate from Sesamum indicum seed: In vitro protein digestibility, amino acid profile, and some functional properties. *Food Science and Nutrition*, 6(6), 1715–1723. <https://doi.org/10.1002/fsn3.743>
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. (2013). *Dietary protein quality evaluation in human nutrition Report of an FAO Expert Consultation*.
- Galazkaa, V. B., Dickinson, E., & Ledwardb, D. A. (2000). EL S EVI E R Influence of high pressure processing on protein solutions and emulsions. In *Interface Science* (Vol. 5). [www.elsevier.nl/locate/cocis](http://www.elsevier.nl/locate/cocis)
- Gharibzahedi, S. M. T., & Smith, B. (2020). The functional modification of legume proteins by ultrasonication: A review. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 98, pp. 107–116). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.02.002>
- Gharibzahedi, S. M. T., & Smith, B. (2021). Effects of high hydrostatic pressure on the quality and functionality of protein isolates, concentrates, and hydrolysates

- derived from pulse legumes: A review. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 107, pp. 466–479). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.11.016>
- Gina, N. N. T., Kuo, J.-L., Wu, M.-L., & Chuang, S.-M. (2023). Sesamin and Sesamolin Potentially Inhibit Adipogenesis Through Downregulating the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor  $\gamma$  Protein Expression and Activity in 3T3-L1 Cells. *Nutrition Research*. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2023.12.011>
- Görgüç, A., Bircan, C., & Yılmaz, F. M. (2019). Sesame bran as an unexploited by-product: Effect of enzyme and ultrasound-assisted extraction on the recovery of protein and antioxidant compounds. *Food Chemistry*, 283, 637–645. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.077>
- Gul, O., Saricaoglu, F. T., Atalar, I., Gul, L. B., Tornuk, F., & Simsek, S. (2023). Structural Characterization, Technofunctional and Rheological Properties of Sesame Proteins Treated by High-Intensity Ultrasound. *Foods*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/foods12091791>
- Gundogan, R., & Can Karaca, A. (2020). Physicochemical and functional properties of proteins isolated from local beans of Turkey. *LWT*, 130. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109609>
- Hall, A. E., & Moraru, C. I. (2021a). Structure and function of pea, lentil and faba bean proteins treated by high pressure processing and heat treatment. *LWT*, 152. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112349>
- Hall, A. E., & Moraru, C. I. (2021b). Structure and function of pea, lentil and faba bean proteins treated by high pressure processing and heat treatment. *LWT*, 152. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112349>
- Han, R., Hernández Álvarez, A. J., Maycock, J., Murray, B. S., & Boesch, C. (2021). Comparison of alcalase- and pepsin-treated oilseed protein hydrolysates – Experimental validation of predicted antioxidant, antihypertensive and antidiabetic properties. *Current Research in Food Science*, 4, 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.001>
- He, X. H., Liu, H. Z., Liu, L., Zhao, G. L., Wang, Q., & Chen, Q. L. (2014). Effects of high pressure on the physicochemical and functional properties of peanut protein isolates. *Food Hydrocolloids*, 36, 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.08.031>
- Hernández-Hernández, H. M., Moreno-Vilet, L., & Villanueva-Rodríguez, S. J. (2019). Current status of emerging food processing technologies in Latin America: Novel

- non-thermal processing. In *Innovative Food Science and Emerging Technologies* (Vol. 58). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2019.102233>
- Horvitz, S., Arroqui, C., & Vírveda, P. (2024). Mild high hydrostatic pressure processing: Effects on techno-functional properties and allergenicity of ovalbumin. *Journal of Food Engineering*, 364. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111797>
- Hu, H., Wu, J., Li-Chan, E. C. Y., Zhu, L., Zhang, F., Xu, X., Fan, G., Wang, L., Huang, X., & Pan, S. (2013). Effects of ultrasound on structural and physical properties of soy protein isolate (SPI) dispersions. *Food Hydrocolloids*, 30(2), 647–655. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.08.001>
- Huang, M., Mao, Y., Li, H., & Yang, H. (2021). Kappa-carrageenan enhances the gelation and structural changes of egg yolk via electrostatic interactions with yolk protein. *Food Chemistry*, 360. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129972>
- Huang, Z. gang, Wang, X. ying, Zhang, J. yi, Liu, Y., Zhou, T., Chi, S. yi, Gao, F., Li, J., Tian, B., Shi, W. tian, & Bi, C. hao. (2022). Effect of heat treatment on the nonlinear rheological properties of acid-induced soy protein isolate gels modified by high-pressure homogenization. *LWT*, 157. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113094>
- Idowu, A. O., Alashi, A. M., Nwachukwu, I. D., Fagbemi, T. N., & Aluko, R. E. (2021a). Functional properties of sesame (*Sesamum indicum* Linn) seed protein fractions. *Food Production, Processing and Nutrition*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/s43014-020-00047-5>
- Idowu, A. O., Alashi, A. M., Nwachukwu, I. D., Fagbemi, T. N., & Aluko, R. E. (2021b). Functional properties of sesame (*Sesamum indicum* Linn) seed protein fractions. *Food Production, Processing and Nutrition*, 3(1). <https://doi.org/10.1186/s43014-020-00047-5>
- Jia, W., Rodriguez-Alonso, E., Bianeis, M., Keppler, J. K., & van der Goot, A. J. (2021a). Assessing functional properties of rapeseed protein concentrate versus isolate for food applications. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 68. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102636>
- Jia, W., Rodriguez-Alonso, E., Bianeis, M., Keppler, J. K., & van der Goot, A. J. (2021b). Assessing functional properties of rapeseed protein concentrate versus isolate for food applications. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 68. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102636>

- Jiang, J., Wang, Q., & Xiong, Y. L. (2018). A pH shift approach to the improvement of interfacial properties of plant seed proteins. In *Current Opinion in Food Science* (Vol. 19, pp. 50–56). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2018.01.002>
- Kahraman, O., Petersen, G. E., & Fields, C. (2022). Physicochemical and Functional Modifications of Hemp Protein Concentrate by the Application of Ultrasonication and pH Shifting Treatments. *Foods*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/foods11040587>
- Kalayci, A., Ozel, B., Oztop, M. H., & Alpas, H. (2022). Investigation of the effects of high hydrostatic pressure on the functional properties of pea protein isolate. *Journal of Food Process Engineering*. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14243>
- Karabulut, G., & Yemiş, O. (2022). Modification of hemp seed protein isolate (*Cannabis sativa* L.) by high-intensity ultrasound treatment. Part 1: Functional properties. *Food Chemistry*, 375. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131843>
- Karmaus, A. L., & Jones, W. (2021a). Future foods symposium on alternative proteins: Workshop proceedings. *Trends in Food Science and Technology*, 107, 124–129. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.018>
- Karmaus, A. L., & Jones, W. (2021b). Future foods symposium on alternative proteins: Workshop proceedings. *Trends in Food Science and Technology*, 107, 124–129. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.018>
- Kaur, M., Singh, B., Kaur, A., & Singh, N. (2021). Proximate, mineral, amino acid composition, phenolic profile, antioxidant and functional properties of oilseed cakes. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(12), 6732–6741. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15386>
- Khalid, E. K., Babiker, E. E., & EL Tinay, A. H. (2003). Solubility and functional properties of sesame seed proteins as influenced by pH and/or salt concentration. *Food Chemistry*, 82(3), 361–366. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00555-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00555-1)
- Khan, N. M., Mu, T. H., Zhang, M., & Arogundade, L. A. (2014). The effects of pH and high hydrostatic pressure on the physicochemical properties of a sweet potato protein emulsion. *Food Hydrocolloids*, 35, 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.05.011>
- Kim, D. R., Jung, Y., Rho, S. J., & Kim, Y. R. (2023). Sonication of sesame meal protein isolates modified its microstructural and functional properties. *LWT*, 186. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115242>

- Kotecka-Majchrzak, K., Sumara, A., Fornal, E., & Montowska, M. (2021a). Proteomic analysis of oilseed cake: a comparative study of species-specific proteins and peptides extracted from ten seed species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(1), 297–306. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10643>
- Kotecka-Majchrzak, K., Sumara, A., Fornal, E., & Montowska, M. (2021b). Proteomic analysis of oilseed cake: a comparative study of species-specific proteins and peptides extracted from ten seed species. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(1), 297–306. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10643>
- Koysuren, B., Oztop, M. H., & Mazi, B. G. (2021). Sesame seed as an alternative plant protein source: A comprehensive physicochemical characterisation study for alkaline, salt and enzyme-assisted extracted samples. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(11), 5471–5484. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15229>
- Kumar, M., Potkule, J., Patil, S., Saxena, S., Patil, P. G., Mageshwaran, V., Punia, S., Varghese, E., Mahapatra, A., Ashtaputre, N., Souza, C. D. ', & Kennedy, J. F. (2021). Extraction of ultra-low gossypol protein from cottonseed: Characterization based on antioxidant activity, structural morphology and functional group analysis. *LWT*, 140. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110692>
- Lee, H., Ha, M. J., Shahbaz, H. M., Kim, J. U., Jang, H., & Park, J. (2018). High hydrostatic pressure treatment for manufacturing of red bean powder: A comparison with the thermal treatment. *Journal of Food Engineering*, 238, 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.06.016>
- Lee, H. W., Lu, Y., Zhang, Y., Fu, C., & Huang, D. (2021). Physicochemical and functional properties of red lentil protein isolates from three origins at different pH. *Food Chemistry*, 358. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129749>
- Li, H., Zhu, K., Zhou, H., & Peng, W. (2012). Effects of high hydrostatic pressure treatment on allergenicity and structural properties of soybean protein isolate for infant formula. *Food Chemistry*, 132(2), 808–814. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.11.040>
- Lin, D., Lu, W., Kelly, A. L., Zhang, L., Zheng, B., & Miao, S. (2017). Interactions of vegetable proteins with other polymers: Structure-function relationships and applications in the food industry. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 68, pp. 130–144). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.006>

- Lin, T., & Fernández-Fraguas, C. (2020). Effect of thermal and high-pressure processing on the thermo-rheological and functional properties of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) flours. *LWT*, 127. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109325>
- Liu, D., Zhang, L., Wang, Y., Li, Z., Wang, Z., & Han, J. (2020). Effect of high hydrostatic pressure on solubility and conformation changes of soybean protein isolate glycosylated with flaxseed gum. *Food Chemistry*, 333. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127530>
- Long, F., Yang, X., Sun, J., Zhong, Q., Wei, J., Qu, P., & Yue, T. (2016). Effects of combined high pressure and thermal treatment on the allergenic potential of peanut in a mouse model of allergy. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 35, 133–138. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2016.04.003>
- Lopes, C., Akel Ferruccio, C., de Albuquerque Sales, A. C., Tavares, G. M., & de Castro, R. J. S. (2023). Effects of processing technologies on the antioxidant properties of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and lentil (*Lens culinaris*) proteins and their hydrolysates. *Food Research International*, 172. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113190>
- Los, F. G. B., Demiate, I. M., Prestes Dornelles, R. C., & Lamsal, B. (2020). Enzymatic hydrolysis of Carioca bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein as an alternative to commercially rejected grains. *LWT*, 125. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109191>
- Lu, X., Zhang, L., Sun, Q., Song, G., & Huang, J. (2019a). Extraction, identification and structure-activity relationship of antioxidant peptides from sesame (*Sesamum indicum* L.) protein hydrolysate. *Food Research International*, 116, 707–716. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.001>
- Lu, X., Zhang, L., Sun, Q., Song, G., & Huang, J. (2019b). Extraction, identification and structure-activity relationship of antioxidant peptides from sesame (*Sesamum indicum* L.) protein hydrolysate. *Food Research International*, 116, 707–716. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.001>
- Luo, L., Cheng, L., Zhang, R., & Yang, Z. (2022). Impact of high-pressure homogenization on physico-chemical, structural, and rheological properties of quinoa protein isolates. *Food Structure*, 32. <https://doi.org/10.1016/j.foostr.2022.100265>



- Luo, L., Yang, Z., Wang, H., Ashokkumar, M., & Hemar, Y. (2022). Impacts of sonication and high hydrostatic pressure on the structural and physicochemical properties of quinoa protein isolate dispersions at acidic, neutral and alkaline pHs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 91. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.106232>
- Ma, K. K., Grossmann, L., Nolden, A. A., McClements, D. J., & Kinchla, A. J. (2022). Functional and physical properties of commercial pulse proteins compared to soy derived protein. *Future Foods*, 6, 100155. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100155>
- Maria-Neto, S., Honorato, R. V., Costa, F. T., Almeida, R. G., Amaro, D. S., Oliveira, J. T. A., Vasconcelos, I. M., & Franco, O. L. (2011). Bactericidal activity identified in 2S albumin from sesame seeds and in silico studies of structure-function relations. *Protein Journal*, 30(5), 340–350. <https://doi.org/10.1007/s10930-011-9337-x>
- Mathews, A., Tangirala, A. D. S., Thirunavookarasu S, N., Kumar, S., Anandharaj, A., & Rawson, A. (2023a). Extraction and modification of protein from sesame oil cake by the application of emerging technologies. *Food Chemistry Advances*, 2. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100326>
- Mathews, A., Tangirala, A. D. S., Thirunavookarasu S, N., Kumar, S., Anandharaj, A., & Rawson, A. (2023b). Extraction and modification of protein from sesame oil cake by the application of emerging technologies. *Food Chemistry Advances*, 2. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100326>
- Melo, D., Álvarez-ortí, M., Nunes, M. A., Costa, A. S. G., Machado, S., Alves, R. C., Pardo, J. E., & Oliveira, M. B. P. P. (2021). Whole or defatted sesame seeds (*Sesamum indicum* L.)? The effect of cold pressing on oil and cake quality. *Foods*, 10(9). <https://doi.org/10.3390/foods10092108>
- Molina, E., Papadopoulou, A., & Ledward, D. A. (n.d.). *Emulsifying properties of high pressure treated soy protein isolate and 7S and 11S globulins q.* [www.elsevier.com/locate/foodhyd](http://www.elsevier.com/locate/foodhyd)
- Moreno-Santander, C., García-Zapateiro, L. A., & Ortega-Toro, R. (2020). Contenido rheological characterization of gums-gel obtained from the proteic isolate of sesame (*Sesamum indicum*). *Revista Mexicana de Ingeniera Quimica*, 19(1), 21–31. <https://doi.org/10.24275/rmiq/Alim581>
- Moure, A., Sineiro, J., Domínguez, H., & Parajó, J. C. (2006). Functionality of oilseed protein products: A review. In *Food Research International* (Vol. 39, Issue 9, pp. 945–963). <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.07.002>

- Mulla, M. Z., Subramanian, P., & Dar, B. N. (2022). Functionalization of legume proteins using high pressure processing: Effect on technofunctional properties and digestibility of legume proteins. *LWT*, 158. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113106>
- Mune Mune, M. A., Stănciuc, N., Grigore-Gurgu, L., Aprodu, I., & Borda, D. (2020). Structural changes induced by high pressure processing in Bambara bean proteins at different pH. *LWT*, 124. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109187>
- Nadathur, S. R., Wanasundara, J. P. D., & Scanlin, L. (2017). Proteins in the Diet: Challenges in Feeding the Global Population. In *Sustainable Protein Sources* (pp. 1–19). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802778-3.00001-9>
- Nikbakht Nasrabadi, M., Sedaghat Doost, A., & Mezzenga, R. (2021). Modification approaches of plant-based proteins to improve their techno-functionality and use in food products. In *Food Hydrocolloids* (Vol. 118). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106789>
- Nunes, L., & Tavares, G. M. (2019). Thermal treatments and emerging technologies: Impacts on the structure and techno-functional properties of milk proteins. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 90, pp. 88–99). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.004>
- Onsaard, E. (2012). Sesame proteins. In *International Food Research Journal* (Vol. 19, Issue 4).
- Onsaard, E., Pomsamud, P., & Audtum, P. (2010a). Asian Journal of Food and Agro-Industry Functional properties of sesame protein concentrates from sesame meal. *As. J. Food Ag-Ind*, 3(04), 419–430. [www.ajofai.info](http://www.ajofai.info)
- Onsaard, E., Pomsamud, P., & Audtum, P. (2010b). Asian Journal of Food and Agro-Industry Functional properties of sesame protein concentrates from sesame meal. *As. J. Food Ag-Ind*, 3(04), 419–430. [www.ajofai.info](http://www.ajofai.info)
- Özdemir, E. E., Görgüç, A., Gençdağ, E., & Yılmaz, F. M. (2022). Physicochemical, functional and emulsifying properties of plant protein powder from industrial sesame processing waste as affected by spray and freeze drying. *LWT*, 154. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112646>
- Pan, J., Zhang, Z., Mintah, B. K., Xu, H., Dabbour, M., Cheng, Y., Dai, C., He, R., & Ma, H. (2022a). Effects of nonthermal physical processing technologies on functional, structural properties and digestibility of food protein: A review. In

- Journal of Food Process Engineering* (Vol. 45, Issue 4). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14010>
- Pan, J., Zhang, Z., Mintah, B. K., Xu, H., Dabbour, M., Cheng, Y., Dai, C., He, R., & Ma, H. (2022b). Effects of nonthermal physical processing technologies on functional, structural properties and digestibility of food protein: A review. In *Journal of Food Process Engineering* (Vol. 45, Issue 4). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14010>
- Papagianni, E., Kotsiou, K., Matsakidou, A., Biliaderis, C. G., & Lazaridou, A. (2024). Development of “clean label” gluten-free breads fortified with flaxseed slurry and sesame cake: Implications on batter rheology, bread quality and shelf life. *Food Hydrocolloids*, 150. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109734>
- Parandi, E., Mousavi, M., Assadpour, E., Kiani, H., & Jafari, S. M. (2024). Sesame protein hydrolysate-gum Arabic Maillard conjugates for loading natural anthocyanins: Characterization, in vitro gastrointestinal digestion and storage stability. *Food Hydrocolloids*, 148. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109490>
- Pearce, K. N., & Kinsella, J. E. (1978). Emulsifying Properties of Proteins: Evaluation of a Turbidimetric Technique. In *J. Agríc. Food Chem* (Vol. 26, Issue 3). <https://pubs.acs.org/sharingguidelines>
- Penha, C. B., Santos, V. D. P., Speranza, P., & Kurozawa, L. E. (2021). Plant-based beverages: Ecofriendly technologies in the production process. In *Innovative Food Science and Emerging Technologies* (Vol. 72). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2021.102760>
- Peyrano, F., Speroni, F., & Avanza, M. V. (2016). Physicochemical and functional properties of cowpea protein isolates treated with temperature or high hydrostatic pressure. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 33, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.10.014>
- Pinto, C. A., Lima, V. J., Amaral, R. A., & Saraiva, J. A. (2021). Tailoring structure of foods using high hydrostatic pressure. In *Food Structure and Functionality* (pp. 69–93). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821453-4.00002-8>
- Pojić, M., Mišan, A., & Tiwari, B. (2018). Eco-innovative technologies for extraction of proteins for human consumption from renewable protein sources of plant origin. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 75, pp. 93–104). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.010>

- Puppo, C., Chapleau, N., Speroni, F., De Lamballerie-Anton, M., Michel, F., Añón, C., & Anton, M. (2004). Physicochemical Modifications of High-Pressure-Treated Soybean Protein Isolates. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(6), 1564–1571. <https://doi.org/10.1021/jf034813t>
- Queirós, R., Ferreira, R., Saraiva, J. A., & Lopes-da-Silva, J. A. (2023). High-Pressure Effects on Selected Properties of Pea and Soy Protein Isolates. *Applied Sciences (Switzerland)*, 13(4). <https://doi.org/10.3390/app13042359>
- Queirós, R. P., Saraiva, J. A., & da Silva, J. A. L. (2018a). Tailoring structure and technological properties of plant proteins using high hydrostatic pressure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(9), 1538–1556. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1271770>
- Queirós, R. P., Saraiva, J. A., & da Silva, J. A. L. (2018b). Tailoring structure and technological properties of plant proteins using high hydrostatic pressure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(9), 1538–1556. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1271770>
- Renoldi, N., Melchior, S., Calligaris, S., & Peressini, D. (2023). Application of high-pressure homogenization to steer the technological functionalities of chia fibre-protein concentrate. *Food Hydrocolloids*, 139. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108505>
- Reports and Data. (2019). *According to the Food revolution Organization report*. <https://www.reportsanddata.com/checkout-form/2053>
- Rodrigues, I. M., Coelho, J. F. J., & Carvalho, M. G. V. S. (2012). Isolation and valorisation of vegetable proteins from oilseed plants: Methods, limitations and potential. In *Journal of Food Engineering* (Vol. 109, Issue 3, pp. 337–346). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.10.027>
- Sá, A. G. A., Pacheco, M. T. B., Moreno, Y. M. F., & Carciofi, B. A. M. (2022a). Cold-pressed sesame seed meal as a protein source: Effect of processing on the protein digestibility, amino acid profile, and functional properties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 111. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104634>
- Sá, A. G. A., Pacheco, M. T. B., Moreno, Y. M. F., & Carciofi, B. A. M. (2022b). Cold-pressed sesame seed meal as a protein source: Effect of processing on the protein digestibility, amino acid profile, and functional properties. *Journal of Food Composition and Analysis*, 111. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104634>

- Sá, A. G. A., Silva, D. C. da, Pacheco, M. T. B., Moreno, Y. M. F., & Carciofi, B. A. M. (2021a). Oilseed by-products as plant-based protein sources: Amino acid profile and digestibility. *Future Foods*, 3. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100023>
- Sá, A. G. A., Silva, D. C. da, Pacheco, M. T. B., Moreno, Y. M. F., & Carciofi, B. A. M. (2021b). Oilseed by-products as plant-based protein sources: Amino acid profile and digestibility. *Future Foods*, 3. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100023>
- Saari, U. A., Herstatt, C., Tiwari, R., Dedehayir, O., & Mäkinen, S. J. (2021). The vegan trend and the microfoundations of institutional change: A commentary on food producers' sustainable innovation journeys in Europe. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 107, pp. 161–167). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.003>
- Saini, C. S., Sharma, H. K., & Sharma, L. (2018). Thermal, structural and rheological characterization of protein isolate from sesame meal. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(1), 426–432. <https://doi.org/10.1007/s11694-017-9655-6>
- Sert, D., Rohm, H., & Struck, S. (2024). High-pressure-assisted protein isolation from pumpkin seed press cake. *International Journal of Food Science and Technology*, 59(1), 368–379. <https://doi.org/10.1111/ijfs.16819>
- Sha, L., & Xiong, Y. L. (2020). Plant protein-based alternatives of reconstructed meat: Science, technology, and challenges. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 102, pp. 51–61). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.022>
- Sharma, L., Singh, C., & Sharma, H. K. (2016). Assessment of functionality of sesame meal and sesame protein isolate from Indian cultivar. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10(3), 520–526. <https://doi.org/10.1007/s11694-016-9330-3>
- Silva, F. V. M., & Evelyn. (2023). Pasteurization of Food and Beverages by High Pressure Processing (HPP) at Room Temperature: Inactivation of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella*, and Other Microbial Pathogens. In *Applied Sciences (Switzerland)* (Vol. 13, Issue 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/app13021193>
- Sim, S. Y. J., Karwe, M. V., & Moraru, C. I. (2019). High pressure structuring of pea protein concentrates. *Journal of Food Process Engineering*, 42(7). <https://doi.org/10.1111/jfpe.13261>

- Sim, S. Y. J., Srv, A., Chiang, J. H., & Henry, C. J. (2021). Plant proteins for future foods: A roadmap. In *Foods* (Vol. 10, Issue 8). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/foods10081967>
- Singh, A., & Ramaswamy, H. S. (2015). High pressure modification of egg components: Exploration of calorimetric, structural and functional characteristics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 32, 45–55. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2015.09.010>
- Singharaj, S., & Onsaard, E. (2015). Production and characteristic of sesame proteins  
ARTICLE INFO ABSTRACT. *Original Research Article Journal of Food Science and Agricultural Technology*, 1(1), 188–192.
- Soares, M., Mestrado, G., Tecnologia, E., Alimentar, C., Gomes, S. M., & Fonseca, C. (2020). *Desenvolvimento de novos produtos alimentares com proteínas vegetais*.
- Tang, Z. X., Ying, R. F., & Shi, L. E. (2021a). Physicochemical and functional characteristics of proteins treated by a pH-shift process: a review. In *International Journal of Food Science and Technology* (Vol. 56, Issue 2, pp. 515–529). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14758>
- Tang, Z. X., Ying, R. F., & Shi, L. E. (2021b). Physicochemical and functional characteristics of proteins treated by a pH-shift process: a review. In *International Journal of Food Science and Technology* (Vol. 56, Issue 2, pp. 515–529). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14758>
- The Good Food Institute. (n.d.). *MERCADO DE PROTEÍNAS ALTERNATIVAS NO BRASIL*.
- The Good Food Institute. (2021). *O CONSUMIDOR BRASILEIRO E O MERCADO PLANT-BASED*.
- Torrezan, R., Tham, W. P., Bell, A. E., Frazier, R. A., & Cristianini, M. (2007). Effects of high pressure on functional properties of soy protein. *Food Chemistry*, 104(1), 140–147. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.013>
- Tuorila, H., & Hartmann, C. (2020). Consumer responses to novel and unfamiliar foods. In *Current Opinion in Food Science* (Vol. 33, pp. 1–8). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.09.004>
- Venkateswara Rao, M., Sunil, C. K., Rawson, A., Chidanand, D. V., & Venkatachlapathy, N. (2021). Modifying the plant proteins techno-functionalities by novel physical processing technologies: a review. In *Critical Reviews in Food*

- Science and Nutrition*. Taylor and Francis Ltd.  
<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1997907>
- Vidotto, D. C., Mantovani, R. A., & Tavares, G. M. (2022). High-pressure microfluidization of whey proteins: Impact on protein structure and ability to bind and protect lutein. *Food Chemistry*, 382.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132298>
- Vinayashree, S., & Vasu, P. (2021a). Biochemical, nutritional and functional properties of protein isolate and fractions from pumpkin (*Cucurbita moschata* var. Kashi Harit) seeds. *Food Chemistry*, 340.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128177>
- Vinayashree, S., & Vasu, P. (2021b). Biochemical, nutritional and functional properties of protein isolate and fractions from pumpkin (*Cucurbita moschata* var. Kashi Harit) seeds. *Food Chemistry*, 340.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128177>
- Wang, C., Yin, H., Zhao, Y., Zheng, Y., Xu, X., & Yue, J. (2021). Optimization of high hydrostatic pressure treatments on soybean protein isolate to improve its functionality and evaluation of its application in yogurt. *Foods*, 10(3).  
<https://doi.org/10.3390/foods10030667>
- Wang, J. M., Yang, X. Q., Yin, S. W., Zhang, Y., Tang, C. H., Li, B. S., Yuan, D. B., & Guo, J. (2011). Structural rearrangement of ethanol-denatured soy proteins by high hydrostatic pressure treatment. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(13), 7324–7332. <https://doi.org/10.1021/jf201957r>
- Wang, Q., Tang, Z., Cao, Y., Ming, Y., & Wu, M. (2024). Improving the solubility and interfacial absorption of hempseed protein via a novel high pressure homogenization-assisted pH-shift strategy. *Food Chemistry*, 442.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.138447>
- Wang, S., Zeng, X., Yang, Q., & Qiao, S. (2016). Antimicrobial peptides as potential alternatives to antibiotics in food animal industry. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 17, Issue 5). MDPI AG.  
<https://doi.org/10.3390/ijms17050603>
- Wang, W., Yang, P., Rao, L., Zhao, L., Wu, X., Wang, Y., & Liao, X. (2022). Effect of high hydrostatic pressure processing on the structure, functionality, and nutritional properties of food proteins: A review. In *Comprehensive Reviews in Food Science*

- and Food Safety* (Vol. 21, Issue 6, pp. 4640–4682). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.13033>
- Wang, Y., Yang, X., & Li, L. (2024). Formation of pH-responsive hydrogel beads and their gel properties: Soybean protein nanofibers and sodium alginate. *Carbohydrate Polymers*, 329. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.121748>
- Wang, Z., Gong, S., Wang, Y., Liu, D., & Han, J. (2021a). Structural and emulsifying properties of soybean protein isolate–sodium alginate conjugates under high hydrostatic pressure. *Foods*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/foods10112829>
- Wang, Z., Gong, S., Wang, Y., Liu, D., & Han, J. (2021b). Structural and emulsifying properties of soybean protein isolate–sodium alginate conjugates under high hydrostatic pressure. *Foods*, 10(11). <https://doi.org/10.3390/foods10112829>
- Wexler, L., Perez, A. M., Cubero-Castillo, E., & Vaillant, F. (2016). Utilización de la metodología de superficie de respuesta para comparar la fritura por inmersión a presión atmosférica y al vacío de hojuelas de papaya impregnadas con jugo de mora. *CYTA - Journal of Food*, 14(4), 578–586. <https://doi.org/10.1080/19476337.2016.1180324>
- Yang, J., Zamani, S., Liang, L., & Chen, L. (2021). Extraction methods significantly impact pea protein composition, structure and gelling properties. *Food Hydrocolloids*, 117. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106678>
- Yildiz, G., & Yıldız, G. (2023). A new approach to enhance quinoa protein nano-aggregates: Combined pH shifting – High pressure homogenization. *Food Chemistry*, 415. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135800>
- Yuan, Z., Zhu, D., Xu, X., Xu, J., Yang, L., Song, H., Wang, S., Liu, J., & Liu, H. (2023). Homogenized soybean hull suspension as an emulsifier for oil/water emulsions: Synergistic effect of the insoluble fiber and soluble polysaccharide. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123950. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123950>
- Yüzer, M. O., & Genççelep, H. (2023). Sesame seed protein: Amino acid, functional, and physicochemical profiles. *Foods and Raw Materials*, 11(1), 72–83. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2023-1-555>
- Zhang, D., Chen, D., & Campanella, O. H. (2024). Effect of pH on the gelling properties of pea protein-pectin dispersions. *Food Hydrocolloids*, 151. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.109731>



- Zhang, J., Cheng, J., Li, Z., Weng, M., Zhang, X., Tang, X., & Pan, Y. (2024). Effects of ultra-high pressure, thermal pasteurization, and ultra-high temperature sterilization on color and nutritional components of freshly-squeezed lettuce juice. *Food Chemistry*, 435. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137524>
- Zhu, Z., Pan, F., Wang, O., Zhao, L., & Zhao, L. (2024). Antibacterial Effect of Sesame Protein-Derived Peptides against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*: In Silico and In Vitro Analysis. *Nutrients*, 16(1), 175. <https://doi.org/10.3390/nu16010175>

## **APÊNDICE**

## APÊNDICE A – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM PH 2,0

*Solubilidade proteica do SPI processado por HHP à 200,400 e 600 MPa em pH 4,5, 7,0 e 11,0. – Análise em pH 2,0*

| <b>Condições de Processo</b> | <b>Solubilidade Proteica (mg/ml)</b> |
|------------------------------|--------------------------------------|
| 0,1 MPa x pH 4,5             | 0,1079 ± 0,06 b, c                   |
| 200 MPa x pH 4,5             | 0,1765 ± 0,03 a                      |
| 400 MPa x pH 4,5             | 0,0925 ± 0,08 b, c                   |
| 600 MPa x pH 4,5             | 0,1950 ± 0,04 a                      |
| 0,1 MPa x pH 7,0             | 0,0828 ± 0,05 b, c                   |
| 200 MPa x pH 7,0             | 0,1825 ± 0,09 a                      |
| 400 MPa x pH 7,0             | 0,1459 ± 0,06 a, b                   |
| 600 MPa x pH 7,0             | 0,0674 ± 0,06 c                      |
| 0,1 MPa x pH 11,0            | 0,1033 ± 0,01 b, c                   |
| 200 MPa x pH 11,0            | 0,0750 ± 0,20 c                      |
| 400 MPa x pH 11,0            | 0,0968 ± 0,03 b, c                   |
| 600 MPa x pH 11,0            | 0,0844 ± 0,13 b, c                   |

Todos os valores são médias ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*) entre as amostras. Todas as análises foram realizadas em pH 2,0, independente do pH de processo.

## APÊNDICE B – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM PH 3,0

*Solubilidade proteica do SPI processado por HHP à 200,400 e 600 MPa em pH 4,5, 7,0 e 11,0. – Análise em pH 3,0*

| <b>Condições de Processo</b> | <b>Solubilidade Proteica (mg/ml)</b> |
|------------------------------|--------------------------------------|
| 0,1 MPa x pH 4,5             | 0,0974 ± 0,05 b, c, d, e             |
| 200 MPa x pH 4,5             | 0,1340 ± 0,02 a, b                   |
| 400 MPa x pH 4,5             | 0,07465 ± 0,39 d, e, f               |
| 600 MPa x pH 4,5             | 0,1310 ± 0,09 a, b, c                |
| 0,1 MPa x pH 7,0             | 0,0481 ± 0,06 e, f, g                |
| 200 MPa x pH 7,0             | 0,1551 ± 0,31 a                      |
| 400 MPa x pH 7,0             | 0,1104 ± 0,11 a, b, c, d             |
| 600 MPa x pH 7,0             | 0,0468 ± 0,07 e, f, g                |
| 0,1 MPa x pH 11,0            | 0,06804 ± 0,09 d, e, f               |
| 200 MPa x pH 11,0            | 0,00462 ± 0,08 g                     |
| 400 MPa x pH 11,0            | 0,0260 ± 0,05 f, g                   |
| 600 MPa x pH 11,0            | 0,0771 ± 0,12 c, d, e, f             |

Todos os valores são médias ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*) entre as amostras. Todas as análises foram realizadas em pH 3,0, independente do pH de processo.

## APÊNDICE C – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM PH 4,0

*Solubilidade proteica do SPI processado por HHP à 200,400 e 600 MPa em pH 4,5, 7,0 e 11,0. – Análise em pH 4,0*

| <b>Condições de Processo</b> | <b>Solubilidade Proteica (mg/ml)</b> |
|------------------------------|--------------------------------------|
| 0,1 MPa x pH 4,5             | 0,0394 ± 0,08 c, d                   |
| 200 MPa x pH 4,5             | 0,1203 ± 0,05 a                      |
| 400 MPa x pH 4,5             | 0,0694 ± 0,09 b                      |
| 600 MPa x pH 4,5             | 0,06968 ± 0,09 b                     |
| 0,1 MPa x pH 7,0             | 0,0388 ± 0,16 c, d                   |
| 200 MPa x pH 7,0             | 0,0702 ± 0,03 b                      |
| 400 MPa x pH 7,0             | 0,0588 ± 0,11 b, c                   |
| 600 MPa x pH 7,0             | 0,0616 ± 0,27 b, c                   |
| 0,1 MPa x pH 11,0            | 0,0389 ± 0,09 c, d                   |
| 200 MPa x pH 11,0            | 0,0086 ± 0,08 e                      |
| 400 MPa x pH 11,0            | 0,0178 ± 0,09 d, e                   |
| 600 MPa x pH 11,0            | 0,0477 ± 0,02 b, c                   |

Todos os valores são médias ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*) entre as amostras. Todas as análises foram realizadas em pH 4,0, independente do pH de processo.

## APÊNDICE D – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM PH 5,0

*Solubilidade proteica do SPI processado por HHP à 200,400 e 600 MPa em pH 4,5, 7,0 e 11,0. – Análise em pH 5,0*

| <b>Condições de Processo</b> | <b>Solubilidade Proteica (mg/ml)</b> |
|------------------------------|--------------------------------------|
| 0,1 MPa x pH 4,5             | 0,0265 ± 0,17 f                      |
| 200 MPa x pH 4,5             | 0,1098 ± 0,09 a                      |
| 400 MPa x pH 4,5             | 0,0758 ± 0,09 b, c                   |
| 600 MPa x pH 4,5             | 0,0522 ± 0,30 d, e                   |
| 0,1 MPa x pH 7,0             | 0,0386 ± 0,09 e, f                   |
| 200 MPa x pH 7,0             | 0,0849 ± 0,17 b                      |
| 400 MPa x pH 7,0             | 0,0627 ± 0,11 c, d                   |
| 600 MPa x pH 7,0             | 0,0691 ± 0,07 b, c, d                |
| 0,1 MPa x pH 11,0            | 0,0312 ± 0,18 f                      |
| 200 MPa x pH 11,0            | 0,0307 ± 0,08 f                      |
| 400 MPa x pH 11,0            | 0,0358 ± 0,03 e, f                   |
| 600 MPa x pH 11,0            | 0,0377 ± 0,02 e, f                   |

Todos os valores são médias ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*) entre as amostras. Todas as análises foram realizadas em pH 5,0, independente do pH de processo.

## APÊNDICE E – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM PH 6,0

*Solubilidade proteica do SPI processado por HHP à 200,400 e 600 MPa em pH 4,5, 7,0 e 11,0. – Análise em pH 6,0*

| <b>Condições de Processo</b> | <b>Solubilidade Proteica (mg/ml)</b> |
|------------------------------|--------------------------------------|
| 0,1 MPa x pH 4,5             | 0,0592 ± 0,06 a, b, c, d             |
| 200 MPa x pH 4,5             | 0,0840 ± 0,22 a, b, c                |
| 400 MPa x pH 4,5             | 0,04524 ± 0,08 b, c, d               |
| 600 MPa x pH 4,5             | 0,0118 ± 0,08 d                      |
| 0,1 MPa x pH 7,0             | 0,1128 ± 0,04 a                      |
| 200 MPa x pH 7,0             | 0,1048 ± 0,04 a, b                   |
| 400 MPa x pH 7,0             | 0,0878 ± 0,09 a, b                   |
| 600 MPa x pH 7,0             | 0,0819 ± 0,07 a, b, c                |
| 0,1 MPa x pH 11,0            | 0,0577 ± 0,16 a, b, c, d             |
| 200 MPa x pH 11,0            | 0,0765 ± 0,06 a, b, c                |
| 400 MPa x pH 11,0            | 0,0117 ± 0,03 d                      |
| 600 MPa x pH 11,0            | 0,0250 ± 0,09 c, d                   |

Todos os valores são médias ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*) entre as amostras. Todas as análises foram realizadas em pH 6,0, independente do pH de processo.

## APÊNDICE F – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM PH 7,0

*Solubilidade proteica do SPI processado por HHP à 200,400 e 600 MPa em pH 4,5, 7,0 e 11,0. – Análise em pH 7,0*

| <b>Condições de Processo</b> | <b>Solubilidade Proteica (mg/ml)</b> |
|------------------------------|--------------------------------------|
| 0,1 MPa x pH 4,5             | 0,1645 ± 0,09 a, b                   |
| 200 MPa x pH 4,5             | 0,1400 ± 0,05 a, b                   |
| 400 MPa x pH 4,5             | 0,1229 ± 0,09 a, b                   |
| 600 MPa x pH 4,5             | 0,0209 ± 0,08 c                      |
| 0,1 MPa x pH 7,0             | 0,1620 ± 0,06 a, b                   |
| 200 MPa x pH 7,0             | 0,1523 ± 0,04 a, b                   |
| 400 MPa x pH 7,0             | 0,1104 ± 0,06 a, b                   |
| 600 MPa x pH 7,0             | 0,1488 ± 0,07 a, b                   |
| 0,1 MPa x pH 11,0            | 0,1312 ± 0,04 a, b                   |
| 200 MPa x pH 11,0            | 0,1790 ± 0,04 a                      |
| 400 MPa x pH 11,0            | 0,1042 ± 0,02 b                      |
| 600 MPa x pH 11,0            | 0,1209 ± 0,09 a, b                   |

Todos os valores são médias ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*) entre as amostras. Todas as análises foram realizadas em pH 7,0, independente do pH de processo.



## APÊNDICE G – RESULTADOS GERAIS DA SOLUBILIDADE EM PH 8,0

*Solubilidade proteica do SPI processado por HHP à 200,400 e 600 MPa em pH 4,5, 7,0 e 11,0. – Análise em pH 8,0*

| <b>Condições de Processo</b> | <b>Solubilidade Proteica (mg/ml)</b> |
|------------------------------|--------------------------------------|
| 0,1 MPa x pH 4,5             | 0,2970 ± 0,06 a, b                   |
| 200 MPa x pH 4,5             | 0,1783 ± 0,02 d, e, f                |
| 400 MPa x pH 4,5             | 0,1372 ± 0,09 e, f                   |
| 600 MPa x pH 4,5             | 0,1114 ± 0,10 f                      |
| 0,1 MPa x pH 7,0             | 0,2735 ± 0,05 a, b, c                |
| 200 MPa x pH 7,0             | 0,2301 ± 0,07 b, c, d                |
| 400 MPa x pH 7,0             | 0,1573 ± 0,03 d, e, f                |
| 600 MPa x pH 7,0             | 0,2077 ± 0,07 c, d, e                |
| 0,1 MPa x pH 11,0            | 0,2062 ± 0,06 c, d, e                |
| 200 MPa x pH 11,0            | 0,3284 ± 0,06 a                      |
| 400 MPa x pH 11,0            | 0,2177 ± 0,03 b, c, d, e             |
| 600 MPa x pH 11,0            | 0,1695 ± 0,10 d, e, f                |

Todos os valores são médias ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*). Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença significativa ( $p < 0,05$  pelo teste de *Tukey*) entre as amostras. Todas as análises foram realizadas em pH 8,0, independente do pH de processo.