



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS**  
**CAMPUS UNIVERSITÁRIO DE PALMAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E**  
**TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**DELMA PEREIRA DA SILVA BERNARDI**

**PROSPECÇÃO DA UTILIZAÇÃO DE HIDROLISADO PROTEICO DE**  
**CASTANHA-DO-BRASIL NO ENRIQUECIMENTO NUTRICIONAL DE**  
**BISCOITOS COM ADIÇÃO DE FARINHA DE PUPUNHA**

**Palma - TO**

**2024**

**Delma Pereira da Silva Bernardi**

**Prospecção da utilização de hidrolisado proteico de castanha-do-brasil no enriquecimento nutricional de biscoitos com adição de farinha de pupunha**

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência em Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Tocantins (UFT), como requisito à obtenção do grau de Mestra em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

**Linha de pesquisa:** Desenvolvimento de novos produtos.

**Orientadora:** Prof.<sup>a</sup>. Dra. Caroline Roberta Freitas Pires

**Palma - TO**

**2024**

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Tocantins**

---

- B523p Bernardi, Delma Pereira da Silva.  
Prospecção da utilização de hidrolisado proteico de castanha-do-brasil no enriquecimento nutricional de biscoitos com adição de farinha de pupunha. / Delma Pereira da Silva Bernardi. – Palmas, TO, 2024.  
84 f.  
Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade Federal do Tocantins – Câmpus Universitário de Palmas - Curso de Pós-Graduação (Mestrado) em Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2024.  
Orientadora : Caroline Roberta Freitas Pires  
1. Hidrolisado proteico. 2. Compostos bioativos. 3. Aminoácidos essenciais. 4. Biscoitos biofortificado. I. Título

**CDD 664**

---

TODOS OS DIREITOS RESERVADOS – A reprodução total ou parcial, de qualquer forma ou por qualquer meio deste documento é autorizado desde que citada a fonte. A violação dos direitos do autor (Lei nº 9.610/98) é crime estabelecido pelo artigo 184 do Código Penal.

**Elaborado pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFT com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

**Delma Pereira da Silva Bernardi**

**Prospecção da utilização de hidrolisado proteico de castanha-do-brasil no enriquecimento nutricional de biscoitos com adição de farinha de pupunha**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos Foi avaliado para a obtenção do título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos e aprovada em sua forma final pela Orientadora e pela Banca Examinadora.

Data de aprovação: 22/ 01/ 2024

Banca Examinadora

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Caroline Roberta Freitas Pires (Orientadora)

UFT

---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Glendara Apara de Souza Martins

UFT

---

Prof. Dr. Fernando Morais Rodrigues

IFTO

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço muito à divina trindade pela oportunidade de ter chegado até aqui, só Deus sabe o quanto concluir esta etapa é importante para mim. E graças a ele, aqui cheguei com o coração repleto de gratidão, por cada batalha vencida diariamente.

Em segundo lugar agradeço imensamente a minha família, principalmente ao meu esposo Douglas Bernardi por todo apoio emocional, motivacional e principalmente pela paciência de ficar ouvindo-me a ler cada versão do trabalho para ver o que faltava melhorar... E a minha querida filha Sofia Emanuela, razão do meu esforço diário. Minha mãe por vim embora para o estado do Tocantins só para me ajudar a cuidar da Sofia Emanuela, amo muito todos vocês.

Em terceiro lugar, agradeço muito de coração essa pessoa tão especial que Deus colocou em minha vida Dra. Caroline Roberta Freitas Pires. A senhora foi um exemplo como profissional e como pessoa fora do trabalho, obrigada por toda paciência que teve comigo, por todo conhecimento transmitido, respeito e atenção. Carregarei comigo seu carisma e didática ao conduzir uma aula, sentirei muitas saudades.

Não poderia deixar de agradecer a outras pessoas que também fazem parte deste processo. Aos professores do curso de Tecnologia de Alimentos IFTO campus Paraíso do Tocantins, em especial ao professor Dr. Fernando Morais, que me orientou com o projeto para seleção do mestrado e que graças a Deus podemos vibrar juntos a felicidade da minha aprovação.

E para finalizar aos professores da Universidade Federal do Tocantins que me acolheram maravilhosamente bem, aos técnicos de laboratório, principalmente a Anielli o Douglas, que me auxiliaram durante a realização dos experimentos. E aos meus colegas de turma do mestrado: Roze Anne, Lorrane, Wellington, Catarina, Laís, Thaís, Jackson, Bruna e aquele também que não eram da turma mais fiz amizade Najara, Larissa e Gabriella, todos de alguma forma me ajudaram e estiveram junto comigo durante esse período.

## RESUMO

A Amazônia legal se destaca por conter uma diversidade de frutos de alto valor nutricional com perspectivas de aplicação industrial. O estudo desse bioma é de grande importância para a renovação do conhecimento, além de agregar valor a flora dessa região. A partir dos frutos de pupunha se obtém uma farinha com alto valor nutricional, rica em compostos bioativos. A aplicação dessa matriz alimentar no desenvolvimento de novos produtos pode representar uma importante estratégia para a veiculação e consumo destes compostos. Além da pupunha, a castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*, H.B.K) é uma importante espécie de exploração extrativista nativa da Amazônia e beneficiada industrialmente. A partir da extração do seu óleo se obtém um co-produto denominado de torta de alto valor nutricional e propriedades funcionais, esta torta é fonte de proteína vegetal que pode ser usada, por exemplo, na elaboração de hidrolisado proteico. Os hidrolisados proteicos podem ser inseridos em diversos produtos inclusive nos panificáveis. Diante disso, visando o aproveitamento dos frutos amazônicos, bem como sua viabilidade de utilização no desenvolvimento de produtos alimentícios, o objetivo deste estudo foi fazer uma prospecção da utilização de hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil no enriquecimento nutricional de biscoitos com adição de farinha de pupunha. Inicialmente foi realizada a otimização do processo de obtenção do hidrolisado, o qual foi caracterizado quanto suas propriedades nutricionais, atividade antioxidante e propriedades tecno-funcionais. A partir dos frutos de pupunha obteve-se uma farinha a qual avaliou-se as características nutricionais, tecnológicas e atividade antioxidante. Posteriormente, elaborou-se diferentes formulações de biscoitos com adição de hidrolisado proteico e farinha de pupunha, e avaliou-se a qualidade nutricional, perfil de minerais e atividade antioxidante das formulações. Conclui-se que a farinha de pupunha assim como a torta da castanha-do-brasil, possui alta qualidade nutricional. Na farinha destacou-se o elevado teor de carboidratos (75,65%), valor energético (378,94) e teor de carotenoides (2980,00 µg/100g), já na torta se destacou o elevado teor de proteínas (35,99%), lipídios (37,84%) e cinzas (4,49%). A torta de castanha-do-brasil mostrou-se um bom substrato para produção de hidrolisado proteico quando submetida a concentração enzimática de 1,0% (E/S) na temperatura de 60 °C por 120 minutos. O hidrolisado proteico obtido mostrou-se eficaz na neutralização de radicais livres, além de possui um alto teor proteico (46,34%) e conter todos os aminoácidos essenciais. Os biscoitos produzidos apresentaram características nutricionais bastante interessantes, como um alto teor de proteínas, carotenoides totais, ferro e zinco.

**Palavras-chaves:** Hidrolisado proteico. Compostos bioativos. Aminoácidos essenciais. Biscoitos biofortificado.

## ABSTRACT

The legal Amazon stands out for containing a diversity of fruits with high nutritional value with prospects for industrial application. The study of this biome is of great importance for the renewal of knowledge, in addition to adding value to the flora of this region. From peach palm fruits, a flour with high nutritional value, rich in bioactive compounds, is obtained. The application of this food matrix in the development of new products can represent an important strategy for the dissemination and consumption of these compounds. In addition to the peach palm, the Brazil nut (*Bertholletia excelsa*, H.B.K) is an important species of extractive exploitation native to the Amazon and industrially benefited. From the extraction of its oil, a co-product called cake with high nutritional value and functional properties is obtained. This cake is a source of vegetable protein that can be used, for example, in the preparation of protein hydrolyzate. Protein hydrolysates can be used in various products, including bakery products. In view of this, aiming at the use of Amazonian fruits, as well as their feasibility of use in the development of food products, the objective of this study was to explore the use of protein hydrolyzate from Brazil nut cake in the nutritional enrichment of cookies with added of peach palm flour. Initially, the process of obtaining the hydrolyzate was optimized, which was characterized in terms of its nutritional properties, antioxidant activity and techno-functional properties. A flour was obtained from peach palm fruits and its nutritional, technological characteristics and antioxidant activity were evaluated. Subsequently, different biscuit formulations were prepared with the addition of protein hydrolyzate and peach palm flour, and the nutritional quality, mineral profile and antioxidant activity of the formulations were evaluated. It is concluded that peach palm flour, like Brazil nut pie, has high nutritional quality. In the flour, the high carbohydrate content (75.65%), energy value (378.94) and carotenoid content (2980.00 µg/100g) stood out, while in the pie the high protein content (35.00 µg/100g) stood out. 99%), lipids (37.84%) and ash (4.49%). Brazil nut cake proved to be a good substrate for the production of protein hydrolyzate when subjected to an enzyme concentration of 1.0% (E/S) at a temperature of 60 °C for 120 minutes. The protein hydrolyzate obtained proved to be effective in neutralizing free radicals, in addition to having a high protein content (46.34%) and containing all essential amino acids. The cookies produced presented very interesting nutritional characteristics, such as a high content of proteins, total carotenoids, iron and zinc.

**Keywords:** Protein hidrolizate. Bioative compounds. Essential amino acid. biofortified biscuits.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - (A) pupunheira com frutos; (B) escalador com esporas; (C) descida dos cachos de pupunha acondicionados em caixas plásticas e (D) recepção dos cachos no solo. Fonte: Autora (2024).....	15
<b>Figura 2</b> - (A) Frutos de pupunha, (B) imagem externa e corte longitudinal do fruto e semente. Fonte: Autora (2024). .....	16
<b>Figura 3</b> - A- Castanheira, B- Fruto (pixídio), C- Sementes com cascas, D- Sementes descascadas	18
<b>Figura 4</b> - Obtenção da farinha de pupunha: Polpa e casca (A); Cozimento (B); Secagem (C); Farinha (D). Fonte: Autora (2024). .....	23
<b>Figura 5</b> - Superfície de resposta mostrando o efeito de: A – Tempo x temperatura na %GH. B – Tempo x concentração enzimática na %GH. C – Temperatura x concentração enzimática na %GH	43
<b>Figura 6</b> - Superfície de resposta mostrando o efeito: A – Tempo x temperatura na %SRL. B – Tempo x concentração enzimática na %SRL. C – Temperatura x concentração enzimática na %SRL .....	44
<b>Figura 7</b> - Superfície de resposta mostrando o efeito: A – Tempo x temperatura na $\mu\text{M}$ de trolox/g. B – Tempo x concentração enzimática na $\mu\text{M}$ de trolox/g. C – Temperatura x concentração enzimática na $\mu\text{M}$ de trolox/g. Fonte: Autora (2024).....	44
<b>Figura 8</b> - Superfície de resposta mostrando o efeito: A – Tempo x temperatura na $\mu\text{M}$ de sulfato ferroso/g. B – Tempo x concentração enzimática na $\mu\text{M}$ de sulfato ferroso/g. C – Temperatura x concentração enzimática na $\mu\text{M}$ de sulfato ferroso/g. Fonte: Autora (2024).....	45
<b>Figura 9</b> - Capacidade de absorção de água (WHC) e Capacidade de absorção de óleo (OHC) das frações do hidrolisado proteico de castanha-do-brasil. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre as frações do hidrolisado. Fonte: Autora (2024).....	52
<b>Figura 10</b> - Índice de atividade emulsificante (EAI) e o índice de estabilidade da emulsão (ESI) das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil (HPCB). Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre as frações do hidrolisado. ....	53
<b>Figura 11</b> - Superfície de resposta mostrando o efeito das razões: Concentração de grão de bico x farinha de pupunha/trigo; Concentração de hidrolisado x farinha de pupunha/trigo; Concentração de hidrolisado x concentração de grão de bico. A, B, C – ABTS $\mu\text{M}$ de trolox/g; B – DPPH %SRL; G, H, I – FRAP $\mu\text{M}$ de sulfato ferroso/g de amostra. ....	59
<b>Figura 12</b> - Superfície de resposta mostrando o efeito das razões: A - Concentração de grão de bico x farinha de pupunha/trigo (mg/100g de EAG); B - Concentração de hidrolisado x farinha de pupunha/trigo (mg/100g de EAG); C - Concentração de hidrolisado x concentração de grão de bico (mg/100g de EAG). ....	60
<b>Figura 13</b> - superfície de resposta mostrando o efeito das razões: A - Concentração de grão de bico, farinha de pupunha/trigo ( $\mu\text{g/g}$ de carotenóides); B - Concentração de hidrolisado, farinha de pupunha/trigo ( $\mu\text{g/g}$ de carotenóides); C - Concentração de hidrolisado, concentração de grão de bico ( $\mu\text{g/g}$ de carotenóides). ....	60
<b>Figura 14</b> - Gráfico de superfície de resposta mostrando o efeito das razões: A - Concentração de grão de bico, farinha de pupunha/trigo (g/100g); B - Concentração de hidrolisado, farinha de pupunha/trigo (g/100g); C - Concentração de hidrolisado, concentração de concentração de grão de bico (g/100g).....	61
<b>Figura 15</b> - Aspecto visual das formulações de biscoitos com adição de hidrolisado proteico de torta de castanha do Brasil. Autora (2024).....	66
<b>Figura 16</b> - A - Principal componente analysis (PCA); B - Hierarchical cluster analysis (HCA). .....	69

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Valores codificados e valores reais dos ensaios para hidrólise enzimática utilizando a enzima comercial bromelina.....	28
<b>Tabela 2</b> - Fatores e níveis testados para o Delineamento de Composição Central Rotacional.....	31
<b>Tabela 3</b> - Formulações dos biscoitos com adição da farinha de pupunha e hidrolisado proteico da castanha-do-Brasil .....	32
<b>Tabela 4</b> - Composição nutricional da farinha de pupunha.....	34
<b>Tabela 5</b> - Propriedades tecnológicas, atividade antioxidante e compostos bioativos da farinha de pupunha .....	36
<b>Tabela 6</b> - Composição físico-química da torta da Castanha-do-Brasil.....	38
<b>Tabela 7</b> - Valores do grau de hidrólise (GH%) e atividade antioxidante (ABTS, FRAP, DPPH) obtidos para os hidrolisados proteicos de torta da castanha-do-Brasil (HPTCB).....	41
<b>Tabela 8</b> - Análise de variância (ANOVA) para as variáveis de grau de hidrólise (GH%) e atividade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP) dos hidrolisados proteicos da torta de castanha-do-brasil (HPTCB).....	42
<b>Tabela 9</b> - Composição nutricional das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha do Brasil (HPCB) .....	46
<b>Tabela 10</b> - Perfil de aminoácidos das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil e escore químico (EQ) .....	49
<b>Tabela 11</b> - Propriedades tecnológicas das frações do HPTCB .....	51
<b>Tabela 12</b> - Compostos bioativos e atividade antioxidante de biscoitos com adição de hidrolisado proteico de torta de castanha-do-Brasil .....	54
<b>Tabela 13</b> - Análise de variância dos compostos bioativos, atividade antioxidante e do teor de proteína de biscoitos com adição de hidrolisado proteico de torta de castanha-do-Brasil .....	57
<b>Tabela 14</b> - Composição nutricional de biscoitos com adição de farinha de pupunha e hidrolisado proteico de castanha-do-Brasil .....	62
<b>Tabela 15</b> - Parâmetros colorimétricos (CIELAB) de biscoitos com adição de hidrolisado proteico de torta de castanha-do-Brasil .....	64
<b>Tabela 16</b> - Perfil de minerais de biscoitos com adição de hidrolisado proteico de torta de castanha do Brasil.....	66
<b>Tabela 17</b> - Teor Mineral nos Biscoitos e Atendimento às Necessidades Diárias de Minerais após o Consumo de Porções de 30g e 100g .....	68

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>14</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo geral.....</b>	<b>14</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>15</b>
<b>3.1</b>	<b>Pupunha (<i>Bactris gasipaes</i> Kunth) .....</b>	<b>15</b>
<b>3.2</b>	<b>Castanha-do-Brasil.....</b>	<b>18</b>
<b>3.3</b>	<b>Hidrolisado proteico .....</b>	<b>20</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>22</b>
<b>4.1</b>	<b>Obtenção das matérias-primas.....</b>	<b>22</b>
<b>4.2</b>	<b>Obtenção da farinha de pupunha .....</b>	<b>23</b>
<b>4.3</b>	<b>Composição nutricional das matérias-primas .....</b>	<b>23</b>
<b>4.4</b>	<b>Propriedades tecno-funcionais da farinha de pupunha .....</b>	<b>24</b>
4.4.1	Capacidade de absorção de água (WHC) e capacidade de absorção de óleo (OHC) .....	24
4.4.2	Atividade emulsificante (EAI) e estabilidade da emulsão (ESI) .....	25
4.4.3	Atividade emulsificante .....	25
4.4.4	Capacidade espumante e capacidade de formação de gel .....	26
<b>4.5</b>	<b>Determinação da capacidade antioxidante e compostos fenólicos .....</b>	<b>26</b>
<b>4.6</b>	<b>Obtenção do hidrolisado proteico da torta da castanha-do-brasil.....</b>	<b>27</b>
4.6.1	Otimização das Condições de Hidrólise Enzimática .....	27
4.6.2	Determinação do Grau de Hidrólise (%GH).....	28
4.6.3	Determinação da atividade antioxidante .....	28
<b>4.7</b>	<b>Obtenção das frações do hidrolisado proteico da torta da castanha-do-Brasil.....</b>	<b>29</b>
4.7.1	Rendimento das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil .....	29
4.7.2	Composição nutricional das frações hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil .....	29
4.7.3	Propriedades tecno-funcionais das frações hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil .....	29
4.7.4	Perfil de aminoácidos das frações do hidrolisado proteico .....	30

<b>4.8</b>	<b>Elaboração das formulações de biscoitos com adição da farinha de pupunha e hidrolisado proteico.....</b>	<b>30</b>
4.8.1	Composição nutricional das formulações dos biscoitos com adição da farinha de pupunha e hidrolisado proteico da castanha-do-Brasil.....	32
4.8.2	Perfil de minerais das formulações dos biscoitos .....	32
<b>4.9</b>	<b>Análise estatística.....</b>	<b>32</b>
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES .....</b>	<b>33</b>
<b>5.1</b>	<b>Composição nutricional da farinha de pupunha .....</b>	<b>33</b>
5.1.1	Propriedades tecno-funcionais e atividade antioxidante da farinha de pupunha 36	
<b>5.2</b>	<b>Composição nutricional da torta da castanha-do-brasil.....</b>	<b>38</b>
<b>5.3</b>	<b>Otimização das condições de hidrólise enzimática para produção do hidrolisado proteico da torta de Castanha-do-Brasil.....</b>	<b>40</b>
<b>5.4</b>	<b>Análise de variância (ANOVA) para o grau de hidrólise e atividade antioxidante dos hidrolisados proteicos .....</b>	<b>41</b>
<b>5.5</b>	<b>Análise da composição nutricional do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil .....</b>	<b>46</b>
<b>5.6</b>	<b>Perfil de aminoácidos das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil .....</b>	<b>48</b>
<b>5.7</b>	<b>Propriedades tecno-funcionais das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil .....</b>	<b>51</b>
<b>5.8</b>	<b>Avaliação da atividade antioxidante das formulações de biscoitos com adição de farinha de pupunha e hidrolisado proteico de torta de castanha-do-brasil.....</b>	<b>54</b>
5.8.1	Análise de Variância (ANOVA) para atividade antioxidante e proteínas .....	56
<b>5.9</b>	<b>Composição nutricional de biscoitos com adição de hidrolisado proteico de torta de castanha-do-Brasil .....</b>	<b>61</b>
5.9.1	Coloração .....	64
<b>5.10</b>	<b>Perfil de minerais de biscoitos com adição de farinha de pupunha e hidrolisado proteico de torta de castanha-do-Brasil .....</b>	<b>66</b>
<b>5.11</b>	<b>Análise de componentes principais (PCA) .....</b>	<b>69</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>71</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>73</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A pupunheira (*Bactris gasipaes Kunth*) é uma palmeira (*Arecaceae*) nativa do bioma Amazônico, a qual produz pequenos frutos elípticos cuja a polpa do fruto costuma representar 72% do seu peso, seguida das sementes com 21% e 6% da casca (Chisté e Fernandes, 2016), apresentando diferentes variedades de coloração verde, amarelo, laranja e vermelho (Santos *et al.*, 2022).

Os frutos da pupunheira possuem boa qualidade nutritiva e energética, principalmente, em relação a pró-vitamina A, cálcio, fósforo, ferro, complexo B, carboidratos e gorduras insaturadas (martínez-girón *et al.*, 2017), entretanto, a polpa de seus frutos não deve ser consumida in natura devido à presença de cristais de oxalato de cálcio que irritam a mucosa da boca e inibem a digestão de proteínas, especialmente em crianças (Matos *et al.*, 2019).

A presença de elevados teores de compostos bioativos com propriedades antioxidantes, como os compostos fenólicos e os carotenóides, vem sendo frequentemente investigados com o objetivo de ampliar o conhecimento sobre o potencial benéfico deste fruto para a saúde humana, assim como estimular o desenvolvimento de produtos funcionais contribuindo para a valorização da pupunha no cenário amazônico (Pires *et al.*, 2019; Ribeiro *et al.*, 2021; Chisté *et al.*, 2021; Monteiro *et al.*, 2022).

Estudos mostram o potencial de aproveitamento dos frutos da pupunheira para produção de farinha (Prado, 2022; Souza *et al.*, 2022) bem como sua aplicação em cereais extrusados (Santos, 2014) e em produtos de panificação (Pires *et al.*, 2019).

Além da pupunha, a Castanha-do-Brasil apesar de ser um alimento nativo da região Amazônica é comercializada em todo o mundo (Silva, 2016). Os valores médios encontrados para seus macronutrientes são de 15,52% de proteínas, 12,36% de carboidratos, 66,16% de lipídeos e 7,7% de fibras (Cardoso *et al.*, 2017). Além de vitaminas A, E, B1 e B3 e alguns minerais, tais como cálcio, ferro, sódio, magnésio, selênio, potássio e outros em menores proporções (Nogueira *et al.*, 2014).

Durante o processamento industrial das amêndoas de Castanha-do-Brasil, há geração expressiva de resíduos, dentre eles o ouriço, as cascas amadeiradas e sua respectiva película, além das amêndoas quebradas que não se encaixam no padrão tipo exportação (Santos, 2014; Souza; Silva, 2021), uma outra modalidade de resíduo obtido da Castanha-do-Brasil consiste na torta advinda da extração do óleo, esta caracteriza-se pelo alto teor de proteína (37,54%) e valores elevados de minerais tais como selênio (7,13mg/kg) (Da Costa *et al.*, 2022).

Neste sentido, alguns trabalhos na literatura vêm propondo a exploração e uso dos resíduos agroindustriais como potenciais fontes de biomoléculas, com alto valor nutricional agregado, como as proteínas vegetais, que podem ser extraídas, isoladas e aproveitadas em diversos setores industriais na área de alimentos, fármacos, cosméticos e química, tornando a cadeia agroindustrial sustentável (Sari, 2015; Araújo, 2019; Evangelho *et al.*, 2016).

Sabendo do elevado teor de proteína da torta da Castanha-do-Brasil, uma alternativa viável consiste na elaboração de hidrolisados proteicos. Os hidrolisados desempenham atividade antioxidante, uma vez que são ricos em peptídeos bioativos, que diminuem a atividade de radicais livres no organismo, reduzindo assim o risco de doenças como câncer e artrite (Pereira *et al.*, 2019).

Diversos estudos vêm sendo desenvolvidos utilizando a hidrólise enzimática para obtenção de hidrolisados e peptídeos (Magalhães *et al.*, 2022; Pereira *et al.*, 2021; Evangelho *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2022). Além disso, Madruga (2018), verificou que pães enriquecidos com hidrolisados obtidos da semente de chia apresentaram maior capacidade antioxidante pelo método de DPPH em relação às amostras de pães, sem adição do hidrolisado.

Levando em consideração a relação entre alimentação e qualidade de vida nos últimos anos, a indústria de alimentos tem mostrado grande interesse por matérias-primas que apresentam elevados teores de vitaminas e minerais, os quais são essenciais para a manutenção do organismo e exercem efeitos à saúde dos consumidores (Ferreira *et al.*, 2018), sendo as farinhas alternativas uma opção viável para o aumento de fibras e compostos antioxidantes nos produtos formulados (Abreu, 2018).

Diante do exposto, a elaboração de novos produtos que têm como base o uso e a valorização de ingredientes naturais provenientes da região amazônica com potencial tecnológico na área de alimentos como a farinha de pupunha e a torta da Castanha-do-Brasil, vem propiciar o aumento de seus valores agregados e a diversificação de subprodutos a partir das mesmas, possibilitando o fornecimento de propriedades nutricionais, funcionais e biológicas essenciais para o bom funcionamento do organismo.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Produzir um hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil e fazer a sua aplicação em biscoitos com adição de farinha de pupunha.

### 2.2 Objetivos específicos

- Produzir e caracterizar a farinha de pupunha quanto à composição nutricional, atividade antioxidante, teor de carotenóides e propriedades tecnológicas;
- Fazer a composição nutricional da torta da castanha-do-brasil;
- Avaliar o efeito do tempo, temperatura e concentração enzimática da bromelina na hidrólise da torta da castanha-do-brasil;
- Determinar o percentual de grau de hidrólise dos hidrolisados proteicos;
- Avaliar a capacidade antioxidante dos hidrolisados proteicos por meio dos protocolos de DPPH, FRAP e ABTS;
- Analisar as frações do hidrolisado que obteve maior percentual de grau de hidrólise, quanto a composição nutricional e as propriedades tecno-funcionais;
- Avaliar o perfil de aminoácidos do hidrolisado proteico com maior percentual de grau de hidrólise;
- Elaborar diferentes formulações dos biscoitos com adição da farinha de pupunha e hidrolisado proteico da castanha-do-brasil;
- Avaliar a composição nutricional, cor, atividade antioxidante por meio dos protocolos (DPPH, FRAP, ABTS, fenólicos totais e carotenóides totais) e perfil de minerais das formulações dos biscoitos com adição da farinha de pupunha e hidrolisado proteico da castanha-do-brasil.

### 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Pupunha (*Bactris gasipaes Kunth*)

A pupunheira (*Bactris gasipaes Kunth*) é uma palmeira da família Arecaceae encontrada na América Central e no norte da América do Sul, sendo, no Brasil, uma planta nativa da região amazônica, muito comum nos estados do Pará, Amazonas, Acre e Amapá (Spacki *et al.*, 2021).

A palmeira é monóica, alógama, espinhosa e multicaule. Ela pode alcançar até 25 metros de altura e cada tronco atinge de 10 a 25 centímetros de diâmetro. Sua copa pode conter de 15 a 25 folhas pinadas. As inflorescências surgem nas axilas das folhas senescentes e geram cachos que podem ter de 50 a 1000 unidades. Cada fruto tem uma semente no seu interior, mas há variedades de pupunha que produzem frutos sem sementes (Clement *et al.*, 2004; Neri-Numa *et al.*, 2018; Rabelo, 2012).

A colheita dos frutos é uma operação difícil, devido à altura das plantas e à presença de espinhos no caule. Esta operação é feita comumente utilizando uma vara com foice na extremidade e uma rede feita de lona para apurar os cachos evitando o impacto direto deles com o solo, mantendo assim a qualidade dos fruto (Flores *et al.*, 2019). Na figura 1, pode-se observar a colheita dos frutos.



**Figura 1** - (A) pupunheira com frutos; (B) escalador com esporas; (C) descida dos cachos de pupunha acondicionados em caixas plásticas e (D) recepção dos cachos no solo. Fonte: Autora (2024).

Os frutos da pupunha podem exibir distintas formas e tamanhos, apresentando de 4 a 6 cm de comprimento de 3 a 5 cm de largura, com diferentes formas (cônica, ovóide ou elipsóide) e pesos variados (20 a 205 g) (Peixoto Araujo *et al.*, 2021). Seu epicarpo (casca) possui superfície lisa ou rachada, opaca ou brilhosa, fina e flexível, já o mesocarpo (polpa), apresenta um rendimento de  $\pm 80\%$  em relação ao total do fruto, sua textura é farinácea, oleosa ou seca (Rabelo, 2012). Na Figura 2 pode-se observar os frutos de pupunha inteiros e suas porções.



**Figura 2** - (A) Frutos de pupunha, (B) imagem externa e corte longitudinal do fruto e semente. Fonte: Autora (2024).

Os frutos da pupunha apresentam uma grande variação na tonalidade da casca e da polpa, que pode ser vermelha, amarela, alaranjada, verde, branca ou listrada (Araujo *et al.*, 2021; Soares *et al.*, 2022). A composição nutricional dos frutos depende do tipo de palmeira, que é determinado pelo genótipo. Existem muitos genótipos de pupunha, uma vez que essa é uma espécie que se reproduz por polinização cruzada entre plantas diferentes (Costa, Rodrigues e Silva, 2022; Filho *et al.*, 2010).

Isso resulta em uma grande diversidade genética e uma variação nos componentes dos frutos, como o teor de óleo, de amido, de açúcares, de proteínas e de minerais. Esses fatores afetam tanto a qualidade nutricional quanto o potencial de uso dos frutos para diferentes fins, como alimentação humana, animal ou industrial (Araujo *et al.*, 2021; Soares *et al.*, 2022).

Os frutos de pupunha são considerados altamente nutritivos e energéticos, com potencial na indústria de alimentos associados aos vários compostos bioativos encontrados nas suas diferentes partes (Pires *et al.*, 2019).

A polpa do fruto de pupunha apresenta consideráveis teores de compostos fenólicos, como flavonóides (17 mg/100 g), antocianinas (1 mg/100 g) e carotenóides, como o  $\beta$ -caroteno (150,19 mg/Kg),  $\gamma$ -caroteno (67,62 mg/kg), cis- $\gamma$ -caroteno (35,40 mg/kg), licopeno (30,8 mg/kg), *cis-licopeno* (26,84 mg/kg Kg) e luteína (11,49 mg/Kg), enquanto na casca dos frutos os compostos predominantes encontrados foram o all-E- $\beta$ -Caroteno (7,3 mg/100 g) e all-E- $\gamma$ -Caroteno (4,1 mg/100 g) (Peixoto Araujo *et al.*, 2021).

De acordo com Chisté *et al.* (2021), os frutos de cor laranja se sobressaem por conterem mais carotenóides pró-vitamina A e vicenina-2 do que os frutos de cor amarela, sendo esses compostos importantes para a prevenção de doenças e o fortalecimento do sistema imunológico.

Os frutos de pupunha são comercializados in natura, aderidos aos cachos, o que torna curto seu período de vida pós-colheita, sendo comum o desperdício de grande parte de sua produção (Coelho *et al.*, 2021). Por isso, é importante a aplicação de técnicas de conservação para aproveitar melhor esses frutos, como a desidratação. A desidratação ou secagem dos alimentos, além de conservá-los por longos períodos, concentra substâncias, preserva seu valor nutricional, facilita o transporte e manipulação (Martins *et al.*, 2019).

Alguns estudos já demonstraram a viabilidade da utilização dos frutos de pupunha na produção de farinha. O processo para obtenção dessa farinha envolve várias etapas, que incluem a colheita dos frutos, a desidratação e a moagem. A farinha resultante é rica em nutrientes, possui elevada concentração de amido (59,7 a 81%), além de carotenóides pró-vitamina A, polifenóis entre outros compostos bioativos (Menezes *et al.*, 2019; Prado *et al.*, 2022; Santos, Y. J. S. *et al.*, 2023; Souza, Pantoja, Lilian, *et al.*, 2022; Souza, Pantoja, Lílian, *et al.*, 2022).

Além disso, algumas pesquisas trazem a viabilidade da aplicação da farinha de pupunha na preparação de produtos da área de panificação, como biscoitos (Carvalho *et al.*, 2023; Menezes *et al.*, 2019; Ribeiro, G. S. *et al.*, 2021; Yves *et al.*, 2023) panetone (Silva, 2015) e bolos (Martínez-girón, Figueroa-molano e Ordóñez-santos, 2017) e também na produção de cervejas lager (Souza, *et al.*, 2022).

### 3.2 Castanha-do-Brasil

A castanheira *Bertholletia excelsa*, pertencente ao gênero *Bertholletia* da família *Lecythidaceae* é uma das mais exuberantes árvores nativas da Floresta Amazônica, que pode alcançar até 50 metros de altura (Figura 3. A), ocorre em ambientes naturais de matas de terra firme por todo o bioma amazônico. Seus frutos pesam de 1 a 2kg e se caracterizam como cápsulas lenhosas (pixídio), rija e esférica, que medem de 9 cm a 12 cm de diâmetro (Figura 3. B) e contém de 5 a 25 sementes (amêndoas) comestíveis (Figura X. C) (Rabelo, 2012; Ribeiro *et al.*, 2014; Rockwell *et al.*, 2015; Silva, Kluczkovski e Lima, 2022).

As sementes, são denominadas castanhas ou amêndoas, cujo tamanho varia entre 4 a 7 cm de comprimento (Figura 3. D), representam cerca de 25% do fruto e têm uma casca bastante dura e rugosa (Cardoso *et al.*, 2017; Rabelo, 2012; Silva, Pontes e Albuquerque, 2020).



**Figura 3** - A- Castanheira, B- Fruto (pixídio), C- Sementes com cascas, D- Sementes descascadas  
Fonte: Autora (2024).

A castanha-do-brasil é um dos principais produtos do extrativismo vegetal não madeireiro, colhida por catadores florestais, que geralmente são moradores locais, sua comercialização garante a subsistência de milhares de famílias tradicionais amazônicas (Ribeiro *et al.*, 2014; Silva, Pontes e Albuquerque, 2020).

Com base nos dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a produção brasileira de castanha-do-brasil no ano de 2022 foi de 38.169 toneladas, gerando uma receita de 170.006,00 mil reais, sendo o estado do Amazonas o maior produtor nacional, com 14.303 toneladas (IBGE, 2023).

O valor nutritivo da amêndoa da castanha-do-Brasil é atribuído à sua composição, que inclui proteínas (13,9–15%), carboidratos (12–16,8%), lipídios (63,7–66,7%), ácidos graxos saturados (15,3–25,4%), ácidos graxos monoinsaturados (27,4–29,1%) e ácidos graxos poli-insaturados (21–45,6%) (Alcântara *et al.*, 2022; Cornelio-Santiago *et al.*, 2019).

O perfil lipídico mostra que os ácidos graxos mais abundantes presentes nessa amêndoa são o palmítico (14%–16%), o esteárico (9%–11%), o oléico (28%–36%) e o linoléico (36%–40%) (Sousa de Oliveira *et al.*, 2020), também apresenta substâncias bioativas como o  $\alpha$  e  $\gamma$ -tocoferóis e altas concentrações de selênio que variam de 0,2 a 512 mg/kg, sendo o alimento com a maior concentração deste mineral já registrado na literatura, quando comparado com outros grupos de alimentos (arroz, feijão, nozes e castanhas) (Sartori *et al.*, 2018; Alcântara *et al.*, 2022).

A partir da castanha, são produzidos o óleo e o extrato hidrossolúvel (leite de castanha), ambos os processos geram uma quantidade elevada de resíduos conhecido por torta. Este co-produto apresenta grande valor nutricional, baseado em seus elevados valores em lipídios (49,95 a 27,42%), proteínas (24,16 a 27,12%), altas proporções de ácido linoleico, ácido oleico e concentrações notáveis de vários minerais, especialmente selênio (Kato *et al.*, 2016; Sartori *et al.*, 2020).

A castanha-do-brasil tem sido alvo de muitas investigações, a incluir os benefícios à saúde associados ao consumo da castanha in-natura (Donadio *et al.*, 2019; Saldanha Melo *et al.*, 2022), a extração e qualidade do seu óleo (Ribeiro, Ú. *et al.*, 2021), a produção de extrato hidrossolúvel “leite de castanha” (Sartori *et al.*, 2020; Vasquez-Rojas *et al.*, 2021) e à melhoria do processo tecnológico e/ou na qualidade do produto (Vasquez-Rojas *et al.*, 2023).

Na literatura também há relatos que mostram a viabilidade da aplicação da torta de castanha-do-brasil na produção de isolado proteico pela técnica de ultrassom de alta intensidade (Assumpção, 2023), e na recuperação de óleo por extração supercrítica (Vasquez *et al.*, 2021).

Dessa forma, a aplicação deste co-produto tem grande importância sob o ponto de vista econômico global do setor agroindustrial e da economia circular, com o objetivo de reduzir toda e qualquer perda e desperdício, transformando os resíduos em insumos para um novo ciclo (Foundation, 2019).

### 3.3 Hidrolisado proteico

A hidrólise enzimática é um método bem conhecido para aumentar o valor agregado de proteínas de alimentos, modificando suas propriedades físicas e nutricionais. Durante o processo de hidrólise, ocorre a quebra de ligações peptídicas, o que pode alterar as propriedades das proteínas de três maneiras: reduzindo o peso molecular, aumentando o número de grupos ionizáveis e causando a exposição de grupos hidrofóbicos (Garcés-Rimón *et al.*, 2016).

A hidrólise protéica consiste no rompimento das ligações peptídicas das proteínas, promovendo a liberação de peptídeos bioativos, que possuem geralmente de 2 a 20 resíduos de aminoácidos por molécula, facilitando sua digestibilidade e absorção (Evangelho *et al.*, 2016; Malomo *et al.*, 2020; Marçal *et al.*, 2021).

Neste processo emprega-se o uso de enzimas comerciais derivadas de plantas, animais ou microrganismos (Toldrá *et al.*, 2020). Dentre as enzimas comerciais mais utilizadas para produção de hidrolisados estão a papaína, bromelina e ficina de origem vegetal, a tripsina e quimotripsina de origem animal, a alcalase e a Protamex de origem microbiana. Tais enzimas caracterizam-se pelo potencial de desempenho e importância tecnológica devido à alta eficácia de hidrólise peptídica que elas possuem (Hau *et al.*, 2022; Rivas-Vela *et al.*, 2021).

A bromelina é uma enzima proteolítica ou cisteína-protease com massa molecular de 20 a 33,2 kDa, presente nos tecidos de caule, folhas e nos frutos do abacaxi, e em outras espécies de plantas da família *Bromeliácea* (Nanda *et al.*, 2020; Ramli *et al.*, 2018; Rojas *et al.*, 2018).

É constituída por uma única cadeia polipeptídica com 212 aminoácidos dobrados em dois domínios estruturais estabilizados por pontes dissulfeto e numerosas pontes de hidrogênio (Soares *et al.*, 2012), ela mantém sua atividade biológica em temperaturas que variam entre 35 e 60 °C, sua atividade enzimática se situa em diferentes níveis de pH entre 5 e 9, e sua temperatura de desnaturação está entre 70°C e 75 °C (Abreu e Figueiredo, 2019).

Esta enzima é capaz de clivar ligações peptídicas internas das proteínas, sendo denominada de endopeptidase, exibindo funções semelhantes à papaína e à ficina (Wang *et*

*al.*, 2018), essa capacidade favorece a geração de peptídeos com diferentes sequências aminoacídicas e também influencia positivamente na bioatividade (Joana Gil-Chávez *et al.*, 2013).

A bromelina é indicada como uma enzima essencial para a atividade proteolítica e um agente bioativo que possui notáveis propriedades terapêuticas como, por exemplo, inibição reversível da agregação plaquetária, alívio brônquico, sinusite, recuperação, tromboflebite, pielonefrite e aumento da absorção de remédios, principalmente antibióticos, assim elevando seu valor industrial (Nelson, Peter e Saju, 2022; Schulz *et al.*, 2018).

Já na indústria de alimentos sua utilização está relacionada ao amaciamento de carnes vermelhas, pois ela quebra as fibras do colágeno; na produção de pães e biscoitos a partir de farinhas de trigo de alto teor proteico, pois ela melhora a textura e o volume dos produtos; na produção de ovos desidratados, pois ela evita a formação de grumos e facilita a reidratação; na preparação de leite de soja e isolados proteicos, pois ela aumenta a solubilidade e a digestibilidade das proteínas; na clarificação de cervejas, pois ela hidrolisa os complexos proteína-taninos que causam turvação na bebida (Kaur e Gill, 2019; Nanda *et al.*, 2020; Xu *et al.*, 2022).

Um dos benefícios dos peptídeos gerados da hidrólise com relação às proteínas intactas está na capacidade de difundir-se mais rapidamente para a interface devido ao seu aumento de solubilidade em vários níveis de pH, influenciando na velocidade de sua adsorção na relação água/óleo ou óleo/água (Sharif *et al.*, 2018).

Os hidrolisados podem ser classificados conforme o grau de hidrólise (GH) e sua aplicação, agrupando-se em três blocos: 1. Hidrolisados com baixo GH, entre 1 e 10%, para a melhoria das propriedades funcionais; 2. Hidrolisados com GH variável, geralmente alto, para a utilização como aromatizantes; 3. Altamente hidrolisados, com GH superior a 10% para uso em alimentos para fins especiais (Benítez, Ibarz e Pagan, 2008).

Alguns estudos tem mostrado que os hidrolisados proteicos podem ser incorporados em produtos alimentícios para melhorar seu perfil nutricional, resultando no aumento da atividade antioxidante e das propriedades antidiabéticas (Bazsefidpar *et al.*, 2024), aumento na capacidade emulsionante e na estabilidade de emulsões alimentares (Ospina-quirola *et al.*, 2022; Galves *et al.*, 2021; Silva *et al.*, 2021), sendo que os hidrolisados com um baixo grau de hidrólise formam uma emulsão mais estável, em comparação com os hidrolisados com uma maior extensão de hidrólise, uma vez que os peptídeos são muito pequenos para reduzir a tensão interfacial de forma suficiente para assegurar capacidades emulsificantes ótimas

(Ghribi *et al.*, 2015), além de reterem mais água do que peptídeos de tamanho maior, devido sua característica hidrofílica (Pacheco *et al.*, 2022).

Cabe destacar que os hidrolisados proteicos têm aplicações diversas na indústria alimentícia, sendo empregados na elaboração de produtos com alto teor proteico, isso inclui bebidas proteicas, massas fortificadas com proteínas, suplementos em pó, alimentos para crianças, barras de cereais e até como substitutos de produtos cárneos (Garbacz *et al.*, 2023).

Dessa forma, a bioatividade dos peptídeos originados de alimentos contribuem na manutenção da saúde cardiovascular, por meio da inibição da enzima conversora da angiotensina I (ECA), atividade imunomoduladoras, anti-inflamatória e atividade antimicrobiana (Almeida *et al.*, 2023; Garbacz *et al.*, 2023), além de melhorar a digestibilidade e a biodisponibilidade de nutrientes e a redução de substâncias alergênicas (Nnamezie, Famuwagun e Gbadamosi, 2021; Tavano, 2013; Toldrá *et al.*, 2020), possuindo também a capacidade de quelar metais, inibir oxidases e aumentar a atividade de enzimas antioxidantes endógenas (Almeida *et al.*, 2023).

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Obtenção das matérias-primas**

Frutos de pupunha (*Bactris gasipaes Kunth*) *in natura*, foram adquiridos em Medicilândia – PA (03°26'46" S, 52°53'20" W e 151 m de altitude), no mês de fevereiro do ano de 2022 e transportados para o Laboratório de Tecnologia de Alimentos (LATECA), onde o experimento foi conduzido.

Inicialmente foram selecionados, sendo desprezados aqueles que apresentaram injúrias mecânicas, amolecimento ou despadronização de coloração e em seguida as amostras foram lavadas em água corrente e submetidas à sanitização com hipoclorito de sódio a 100 ppm por 15 minutos e, por fim, foram novamente enxaguadas em água corrente potável para a retirada do excesso de cloro. Após essas etapas as pupunhas foram armazenadas sob temperatura controlada de -18° C.

A torta da Castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*) foi obtida com a empresa TERRAMAZÔNIA Indústria e Comércio de Produtos Naturais da Amazônia Ltda, localizada na cidade de Manaus-AM, sendo transportada em embalagens laminadas visando a preservação da integridade das amostras enviadas ao Laboratório de Tecnologia de Alimentos

(LATECA) da Universidade Federal do Tocantins.

## 4.2 Obtenção da farinha de pupunha

Utilizou-se as frações polpa e casca dos frutos, em seguida foram submetidos ao processo de cocção durante 30 minutos, e posteriormente os frutos foram ralados e desidratados em estufa com circulação de ar a 65 °C (TECNAL, modelo Te-394/2), por cerca de 48 horas (Figura 4).



**Figura 4** - Obtenção da farinha de pupunha: Polpa e casca (A); Cozimento (B); Secagem (C); Farinha (D). Fonte: Autora (2024).

Após o resfriamento, as frações secas foram trituradas em moinho de facas (Wiley SL-31) para obtenção da farinha com granulometria fina (0,42 mm). A farinha elaborada foi acondicionada em sacos metalizados com zíper, mantendo assim protegida contra a incidência de luminosidade, na geladeira ( $8^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ).

## 4.3 Composição nutricional das matérias-primas

A composição proximal seguiu os métodos estabelecidos pela Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2012) sendo o teor de umidade determinado à 105 °C até peso constante das amostras (método 934.06), considerando para proteínas o fator de 6.25 como conversão de nitrogênio (920.152), para determinação de lipídios a utilização do extrator

Soxhlet (método 920.85) e para determinação de cinzas a incineração do material em mufla a 550 °C (método 940.26).

O teor de fibra bruta foi obtido por digestão em determinador de fibras utilizando o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,25% p/v) e NaOH (1,25% p/v) (método 962.09). O teor de carboidratos disponíveis foi calculado pela diferença entre 100 e a soma dos teores da composição proximal obtidos anteriormente. O valor da energia foi determinado a partir da relação estabelecida por Atwater e Bryant (1900), onde cada grama de proteína ou carboidrato libera 4 kcal de energia, enquanto para cada grama de lipídio esse valor é de 9 kcal.

O conteúdo de sólidos solúveis totais foi determinado utilizando um refratômetro portátil (VXO-90, Vodex) e o resultado expresso em °Brix. O pH foi obtido utilizando um aparelho pHmetro de bancada previamente calibrado (Incoterm PHB 550). A acidez total titulável foi determinada pelo método 16/IV do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008), sendo a titulação efetuada com solução de hidróxido de sódio 0,01 M, até coloração rósea e os resultados expressos em % de ácido cítrico.

Os parâmetros instrumentais de cor foram determinados utilizando um colorímetro (Konica Minolta, CR 410), e os resultados expressos utilizando-se a escala CIELAB: L \*, a \*, b \*, croma (C \*) e ângulo hue (° h).

#### 4.4 Propriedades tecno-funcionais da farinha de pupunha

##### 4.4.1 Capacidade de absorção de água (WHC) e capacidade de absorção de óleo (OHC)

A capacidade de absorção de água (WHC), capacidade de absorção de óleo (OHC), e solubilidade em água (ISA) foram determinados de acordo com a metodologia proposta por Okezie & Bello, (1988) e calculados conforme descrição das equações (1), (2) e (3).

$$WHC = \frac{\text{Água Absorvida (g)}}{\text{Peso da amostra (g)}} \quad (1)$$

$$OHC = \frac{\text{Óleo Absorvido}}{\text{Peso da Amostra (g)}} \quad (2)$$

$$SA = \frac{\text{Resíduo da Evaporação (g)}}{\text{Peso da amostra (g)}} \times 100 \quad (3)$$

#### 4.4.2 Atividade emulsificante (EAI) e estabilidade da emulsão (ESI)

A atividade emulsificante (EAI) e a estabilidade da emulsão (ESI) foram obtidas utilizando a metodologia descrita por Silva *et al.* (2022), e foram calculados conforme equações (4) e (5).

$$EAI \text{ (m2/g)} = \frac{2 \times 2,303 \times 100 \times A0}{c \times 0,25 \times 10000} \quad (4)$$

Onde:

A0 é a absorvância da emulsão no tempo zero, isto é, logo após o fim da homogeneização. c é a concentração da amostra proteica (g/mL), ou seja, a massa pesada da amostra dividida por 60 mL.

NOTA: Os números 2 e 2,303 são valores fixos. O número 100 corresponde ao fator de diluição, 0,25 é a fração de volume do óleo adicionado na emulsão e 10000 é usado para a correção da unidade de expressão do resultado.

$$ESI \text{ (min)} = \frac{A0}{A0 - A10} \times 10 \quad (5)$$

Onde:

A0 é a absorvância da emulsão no tempo zero, isto é, logo após o fim da homogeneização. A10 é a absorvância da emulsão após 10 minutos.

#### 4.4.3 Atividade emulsificante

Na farinha de pupunha a atividade emulsificante e a estabilidade da emulsão foram determinadas utilizando a metodologia descrita por Yasumatsu *et al.*, (1972). Procedeu-se à homogeneização em agitador mecânico eletrônico macro-Q250 (DIADEMA, São Paulo); 1,0 g de amostra em 10 ml de água e 10 ml de óleo de soja, dividiu-se em tubos graduados de 15 ml e centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos. A atividade emulsificante foi calculada de acordo com a Equação 6.

Para determinar a estabilidade da emulsão, os tubos foram aquecidos em banho-maria à 80 °C por 30 minutos; em seguida resfriados por 20 minutos em água corrente e centrifugados a 3000 rpm por 5 minutos. A estabilidade da emulsão foi calculada pela Equação 7.

$$\textit{Atividade emulsificante} = \frac{\text{Camada emulsificada (ml)}}{\text{Volume total no tubo (ml)}} \quad (6)$$

$$\textit{Estabilidade da emulsão} = \frac{\text{Camada emulsificada remanecente (ml)}}{\text{Camada emulsificada no tubo (ml)}} \times 100 \quad (7)$$

#### 4.4.4 Capacidade espumante e capacidade de formação de gel

A capacidade espumante e a capacidade de formação de gel foram determinadas pela metodologia de Coffman e Garcia (1977) e calculada pela equação (8).

$$\% \textit{Aumento de volume} = \frac{\text{Volume final} - \text{Volume inicial}}{\text{Volume inicial}} \times 100 \quad (8)$$

Para a capacidade de formação de gel, dispersões de diferentes concentrações (2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18% e 20%) foram preparadas em 20 ml de água e aquecidos a 90 °C por 30 minutos. As dispersões foram então resfriadas à temperatura ambiente e refrigeradas a 4°C por 2 horas. Os tubos foram invertidos e analisados quanto à formação de gel.

#### 4.5 Determinação da capacidade antioxidante e compostos fenólicos

Para a obtenção dos extratos, inicialmente pesou-se 5 g de amostra, e adicionou-se 80 ml de acetona (70%), homogeneizou-se e manteve ao abrigo da luz por uma hora à temperatura ambiente (30 °C). O extrato foi então filtrado e transferido para um balão volumétrico, e armazenados em frascos âmbar, e congelados até a realização das análises, seguindo a metodologia de Rufino *et al.* (2007).

Para determinar a atividade antioxidante pelo protocolo do DPPH, utilizou-se a metodologia proposta por Rufino *et al.* (2007), com algumas modificações, analisando-se a capacidade do sequestro do radical DPPH de cada um dos ensaios. Após uma hora de reação e

ambiente escuro, a leitura das amostras foi realizada em espectrofotômetro à 515 nm. Os dados de atividade antioxidante obtidos, foram expressos em porcentagem de sequestro de radicais livres (SRL%), através da Equação 9:

$$SRL (\%) = \frac{[(Abscontrole - Absamostra) \times 100]}{Abscontrole} \quad (9)$$

A avaliação da atividade antioxidante quanto ao poder de redução do Ferro, foi medida de acordo com Rufino et al. (2006). Os resultados foram expressos em  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g de amostra, enquanto a capacidade de redução do radical ABTS<sup>+</sup> foi realizada segundo a metodologia proposta por Rufino et al. (2007b) e os resultados foram expressos em  $\mu\text{mol}$  de Trolox/g de amostra.

A determinação dos compostos fenólicos totais foi realizada utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu, conforme metodologia descrita por Waterhouse (2002). Os resultados foram expressos em miligramas de equivalente de ácido gálico (EAG)/ 100 g de amostra.

A extração dos carotenóides foi realizada de acordo com Higby (1962), sendo as leituras feitas a 450 nm, e os resultados expressos em mg/100 g.

## **4.6 Obtenção do hidrolisado proteico da torta da castanha-do-brasil**

### **4.6.1 Otimização das Condições de Hidrólise Enzimática**

Para a obtenção dos hidrolisados foi utilizada a metodologia descrita por Paiva (2014), com algumas modificações. Com o intuito de avaliar o efeito dos fatores tempo, temperatura e concentração enzimática na produção do hidrolisado, adotou-se um delineamento estatístico de Composição Central Rotacional (DCCR) descrito na Tabela 1.

Inicialmente o substrato (torta da Castanha-do-Brasil) foi pesado, adicionado em tubo falcon e homogeneizado com água destilada na proporção 1:15 (sólidos/ ml de água). Em seguida, os tubos foram encaminhados para a etapa de hidrólise enzimática em banho-maria da marca Tecnal modelo TE-054 mag, sob agitação constante. Para o processo hidrolítico, foi realizado o ajuste de temperatura, concentração enzimática e controle do tempo de reação conforme combinação dos fatores.

**Tabela 1** - Valores codificados e valores reais dos ensaios para hidrólise enzimática utilizando a enzima comercial bromelina

Ensaio	Tempo (min)		Temperatura °C		E/S (%)	
	Cod	Real	Cod	Real	Cod	Real
1	-1	40	-1	35	-1	0,5
2	+1	120	+1	60	-1	0,5
3	-1	40	-1	35	+1	1,0
4	+1	120	+1	60	+1	1,0
5	-1	40	-1	35	-1	0,5
6	+1	120	+1	60	-1	0,5
7	-1	40	-1	35	+1	1,0
8	+1	120	+1	60	+1	1,0
9	0	80	0	47,5	0	0,75
10	0	80	0	47,5	0	0,75
11	0	80	0	47,5	0	0,75

E/S (%): Enzima/Substrato (g proteína/g proteína).

Ao término da reação, a enzima foi inativada em temperatura de 90°C por 15 minutos e a fração solúvel foi separada da fração insolúvel através de centrifugação a 7.000 rpm força por 10 minutos em centrífuga da marca Excelsa 4. Em seguida os sobrenadantes então, inseridos em micro tubos Eppendorf, foram centrifugados novamente à 13.000 rpm por 5 minutos em centrífuga Hettich modelo Universal 320 e armazenados em freezer até o momento da realização da análise de grau de hidrólise (%) (Paiva, 2014).

#### 4.6.2 Determinação do Grau de Hidrólise (%GH)

Para a determinação do grau de hidrólise inicialmente foi realizada a análise de reação de derivação conforme metodologia descrita por Spellman *et al.* (2003) com algumas alterações. Já para a análise do grau de hidrólise foi adotada metodologia proposta por Church *et al.* (1983).

#### 4.6.3 Determinação da atividade antioxidante

A atividade antioxidante (DPPH, FRAP e ABTS) foi realizada de acordo com os procedimentos metodológicos descritos no item 4.5.

#### **4.7 Obtenção das frações do hidrolisado proteico da torta da castanha-do-Brasil**

Após determinação do percentual de grau de hidrólise e da atividade antioxidante dos hidrolisados, procedeu-se com a seleção do ensaio para a obtenção das frações do hidrolisado.

As frações do hidrolisado foram submetidas à secagem em estufa com circulação forçada de ar à 60° C por 18 horas, moídas, peneiradas e acondicionadas em embalagem de vidro hermeticamente fechada para posteriormente serem analisadas quanto à sua qualidade nutricional e tecnológica, visando a seleção da melhor fração para incorporação à formulação do biscoito.

##### **4.7.1 Rendimento das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil**

Para realizar o cálculo da proporção de rendimento das frações do hidrolisados proteico da torta de castanha-do-brasil, utilizou-se o seguinte cálculo da equação 10:

$$\text{Rendimento (\%)} = \frac{\text{Peso final (g)}}{\text{Peso inicial (g)}} \times 100 \quad (10)$$

Onde o peso inicial refere-se à massa da torta de castanha-do-brasil (g) utilizada como substrato para a hidrólise enzimática e o peso final, a quantidade de amostra (g) obtida ao final do processo de elaboração do hidrolisado proteico.

##### **4.7.2 Composição nutricional das frações hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil**

A caracterização nutricional das frações do hidrolisado proteico foi realizada conforme descrito no item 4.3.

A atividade de água (Aw) foi realizada em temperatura ambiente, utilizando-se aparelho Aqualab, com cubeta própria do aparelho.

##### **4.7.3 Propriedades tecno-funcionais das frações hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil**

As análises tecnológicas da capacidade de absorção de água (WHC), índice de solubilidade em água (ISA) e capacidade de absorção de óleo (OHC), atividade emulsificante (EAI) e a estabilidade da emulsão (ESI) do hidrolisado proteico de Castanha-do-Brasil foram realizadas de acordo com os procedimentos metodológicos descritos nos subitens 4.4.1 á 4.4.4 do presente trabalho.

#### 4.7.4 Perfil de aminoácidos das frações do hidrolisado proteico

Para a determinação dos aminoácidos presentes nas frações dos hidrolisados, seguiu-se o protocolo proposto por Hagen, Frost e Augustin (1989) e White, Hart e Fry (1986). A análise de quantificação de triptofano foi realizada segundo a metodologia descrita por Lucas e Sotelo (1980). Ao pesar a amostra e adicionada em um tubo de hidrolise, adiciona-se 9mL de HCl 6N com 3% *m/v* de fenol, faz-se vácuo no tubo, lacra-se e acondiciona-se o mesmo em bloco de reação térmica, deixando-o por 24h a 110°C. Em seguida, acrescenta-se uma alíquota do padrão interno AAAB e diluí-se a volume tabelado. Filtra-se uma alíquota, seguindo-se a tabela de diluição, seca-se a 70miliTorr em sistema trapp com nitrogênio criogênico. Neutraliza-se com uma solução 4:4:2 de acetato de sódio trihidratado 0,2N, metanol grau HPLC e trietilamina a 99-100%, e seca-se novamente. Nesta etapa, adiciona-se o PITC para derivatizar os aminoácidos liberados pela hidrólise, formando-se o PTC-aminoácido. Ao tubo contendo os cristais de aminoácidos derivatizados, adiciona-se 500uL de diluente. A detecção é a 254nm após a cromatografia em fase reversa (loop de injeção de 30uL, pH 6,40, em gradiente linear binário com fluxo de 1mL min<sup>-1</sup> e temperatura da coluna 58°C), sendo o eluente A um tampão de acetado de sódio 0,14N, acetonitrila (240mL/2000mL de acetado de sódio 0,14N) e trietilamina (1mL/2000mL de acetado de sódio 0,14N). O eluente B é uma solução 6:4 de acetonitrila (grau HPLC) e água milli-Q. A quantificação é feita por inclusão do ácido a-aminobutírico AAAB como padrão interno.

### **4.8 Elaboração das formulações de biscoitos com adição da farinha de pupunha e hidrolisado proteico**

Após testes prévios, para a otimização da produção dos biscoitos com adição da farinha de pupunha, grão de bico e hidrolisado proteico da castanha-do-Brasil, foi adotado um

delineamento estatístico de Composição Central Rotacional (DCCR), os quais todos os parâmetros avaliados estão descritos na Tabela 2.

**Tabela 2** - Fatores e níveis testados para o Delineamento de Composição Central Rotacional

Ensaio	Farinha de pupunha/ Farinha trigo (%)		Grão de bico (%)		Hidrolisado proteico (%)	
	Cod	Real	Cod	Real	Cod	Real
1	-1	100/0	-1	0	-1	0
2	-1	100/0	-1	0	+1	50
3	+1	0/100	-1	0	-1	0
4	+1	0/100	-1	0	+1	50
5	-1	100/0	+1	50	-1	0
6	-1	100/0	+1	50	+1	50
7	+1	0/100	+1	50	-1	0
8	+1	0/100	+1	50	+1	50
9	0	50/50	0	25	0	25
10	0	50/50	0	25	0	25
11	0	50/50	0	25	0	25

\* Os % de concentração do grão de bico e do hidrolisado proteico foram determinados após testes prévios se baseando na totalidade da razão farinha de pupunha/farinha de trigo.

A Tabela 3 apresenta os ingredientes presentes na composição dos biscoitos. O preparo das formulações foi realizado no laboratório de Técnica Dietética, da Universidade Federal do Tocantins após ensaios prévios. Primeiramente foi pesado todos os ingredientes e reservado, após a pesagem procedeu-se a mistura manual com auxílio de uma colher em aço inox de todos os ingredientes secos, em seguida adicionou-se os líquidos a mistura, a massa foi sovada até atingir consistência homogênea e uniforme.

Com auxílio de um rolo abriu-se a massa deixando-a em uma espessura fina de proximadamente 3mm, cortou-se em formatos de triângulos, transferiu-se para uma forma antiaderente e levou-se ao forno pré-aquecido a 180 °C, o tempo de assamento foi de 30 minutos. Após as amostras atingirem temperatura ambiente foram armazenadas em sacos metalizados até o momento das análises.

**Tabela 3** - Formulações dos biscoitos com adição da farinha de pupunha e hidrolisado proteico da castanha-do-Brasil

<b>Ingredientes</b>	<b>Nível Inferior (-1)</b>	<b>Nível Intermediário (0)</b>	<b>Nível Superior (+1)</b>
Farinha de pupunha	69,00g	34,50g	0,00g
Farinha de trigo	0,00g	34,50 g	69,00g
Grão de Bico	0,00g	17,25g	34,50g
Hidrolisado Proteico	0,00g	17,25g	34,50g
Azeite de oliva	10 ml	10 ml	10 ml
Sal	4 g	4 g	4 g
Cebola em Pó	3,77 g	3,77 g	3,77 g
Alho em Pó	5,23 g	5,23 g	5,23 g
Cominho em Pó	0,2 g	0,2 g	0,2 g
Cravo da índia em Pó	0,1 g	0,1 g	0,1 g
Salsa	1,63 g	1,63 g	1,63 g
Água	100 ml	110 ml	200 ml

**Fonte:** Autora, 2024.

4.8.1 Composição nutricional das formulações dos biscoitos com adição da farinha de pupunha e hidrolisado proteico da castanha-do-Brasil.

As formulações foram analisadas quanto à composição nutricional e análise de coloração conforme descrito no item 4.3; atividade antioxidante (DPPH, ABTS, FRAP, fenólicos e carotenóides totais), conforme descrito no item 4.5.

4.8.2 Perfil de minerais das formulações dos biscoitos

As amostras foram secas em estufa a 60 °C por 72 horas até peso constante, submetidas à digestão nitroperclórica e analisadas quanto à composição mineral, a saber: fósforo, potássio, cálcio, magnésio, enxofre, boro, cobre, manganês, zinco e ferro, de acordo com a metodologia de Malavolta, Vitti e Oliveira (1997). Os resultados foram expressos em mg/100 g<sup>-1</sup> de matéria fresca.

#### **4.9 Análise estatística**

Os dados da composição nutricional, análises tecnológicas, atividade antioxidante, perfil de aminoácidos e perfil de minerais, foram submetidos a análise de variância e as médias dos tratamentos comparadas pelo teste de Tukey a 5% ( $p < 0,05$ ). Para a produção do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil, e do biscoito com adição da farinha de pupunha e hidrolisado proteico da castanha-do-Brasil, foi adotado um Delineamento Central de Composto Rotacional (DCCR), e os dados obtidos foram submetidos ao teste estatístico F, utilizando a Análise de Variância para determinar o nível de significância entre as amostras. Para análise estatística foi utilizado o software estatístico STATISTICA 13.0.

Para auxiliar na conclusão sobre os melhores ensaios e para identificar padrões, foi aplicada análise de componentes principais (PCA) para os dados médios de cada experimento, individualmente. Para selecionar as componentes principais, foi utilizado o critério de Jolliffe (1972) e variância acumulada mínima de 70%. As variáveis participantes em cada componente principal foram determinadas com base em correlação  $\pm 0.6$  do autovetor com o componente em questão. Todas as análises foram realizadas com o auxílio do software R 4.0.

## **5 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### **5.1 Composição nutricional da farinha de pupunha**

Na Tabela 4, estão descritos os valores encontrados para a composição nutricional e dos parâmetros colorimétricos da farinha de pupunha.

A umidade da farinha está diretamente ligada à qualidade e estabilidade do produto durante o armazenamento. A farinha de pupunha apresentou um teor de umidade de 6,15%, estando em conformidade com a legislação RDC nº 726 de 1º de julho, que preconiza teor de umidade inferior a 12% para farináceos (BRASIL, 2022).

O teor de cinzas encontrado no presente estudo foi de 1,97%, ficando abaixo do encontrado por Pimenta (2011) (2,11%), porém, superior ao registrado por Prado et al. (2022) (1,52%), e Souza *et al.* (2022) (1,40%). Maiores percentuais de cinzas podem indicar elevados teores de minerais. Em estudo realizado com frutos amazônicos, Araujo et al. (2021), mostram que a pupunha é uma importante fonte de manganês, potássio, ferro e boa fonte de zinco, uma vez que 100g de polpa oferece 36,6, 8,2, 4,0 e 4,0% da ingestão diária

recomendada desses minerais, respectivamente.

**Tabela 4** - Composição nutricional da farinha de pupunha

Parâmetros	Farinha de pupunha
Umidade (%)	6,15 ± 0,06
Cinzas (%)	1,97 ± 0,56
Lipídios (%)	6,34 ± 0,37
Fibra bruta (%)	5,07 ± 0,28
Proteínas (%)	4,82 ± 0,29
Carboidratos <sup>1</sup> (%)	75,65 ± 0,43
VET (Kcal)	378,94 ± 0,52
pH	6,31 ± 0,10
°Brix <sup>2</sup>	9,00 ± 0,35
Acidez total <sup>3</sup>	0,99 ± 0,01
L*	58,03 ± 1,88
a*	6,85 ± 0,72
b*	31,25 ± 6,41
Croma	38,33 ± 3,51
Hue°	79,10 ± 1,12

<sup>1</sup>Obtidos pela diferença dos demais componentes; <sup>2</sup>Sólidos solúveis totais; <sup>3</sup>Ácido cítrico (%). Dados reportados como média ± desvio padrão. Fonte: Autora (2024).

Ao analisar o conteúdo lipídico, observou-se que a farinha de pupunha apresentou um teor de gordura menor, de 6,34%. Este valor é menor aos teores de gorduras presentes na farinha de pupunha relatadas por Prado *et al.* (2022) e Souza *et al.* (2022), de 13 e 12,92% respectivamente. É importante considerar que existe uma grande variedade de frutos de pupunha, o que pode justificar essa diferença nos teores lipídicos observados.

Portanto, a escolha de variedades com menor percentual lipídico, conforme sugerido por Barros *et al.* (2021), é mais apropriada para a produção de farinhas de qualidade. Isso se deve ao fato de que o teor lipídico pode acelerar a oxidação do alimento, prejudicando o self life do produto.

As concentrações de fibras na farinha de pupunha podem variar de 1,70 à 11,10% devido a grande variedade de genótipos de pupunheiras e tipos de solos (Santos *et al.*, 2023; Prado *et al.*, 2022). O percentual médio para fibra bruta foi de 5,07%, sendo este próximo ao

encontrado por Souza *et al.* (2022), com média de 5,19%.

Quanto às proteínas, de acordo com a Instrução Normativa nº 75/20, para que determinado alimento seja classificado como fonte proteica, é necessário que ele contenha, no mínimo, 5 g do nutriente em 100 g do alimento, que representa 10% da ingestão diária recomendada em 100 g de alimento (Brasil, 2020). Desse modo, a farinha de pupunha alcançou 4,82% de proteína, sendo inferior à quantidade mínima indicada pela legislação para que seja classificada como fonte proteica.

Na literatura outros autores também reportaram baixos percentuais de proteínas em farinha de pupunha (Pires *et al.*, 2019; Prado *et al.*, 2022; Souza, Pantoja, Lilian, *et al.*, 2022).

A quantidade de carboidratos disponíveis foi de 75,65% (Tabela 4), e este valor corrobora com os valores relatados por Pires *et al.* (2019) e Santos *et al.* (2023). A alta concentração de carboidratos na farinha de pupunha é crucial para sua aplicabilidade em produtos alimentícios, pois os carboidratos desempenham um papel central na textura, sabor e valor energético dos alimentos. Além disso, os carboidratos desempenham um papel fundamental na formação de estrutura e consistência em muitos alimentos processados, influenciando diretamente a experiência sensorial do consumidor (Forezi *et al.*, 2022).

O valor energético da farinha da pupunha (378,94 kCal), foi próximo ao da farinha de casca de buriti (358,78 kCal) (Morais *et al.*, 2019).

Este alto valor energético advém principalmente dos carboidratos (75,65g/100g), responsáveis por 79,85g/100g das calorias presentes na farinha, enquanto o teor de lipídios e proteínas juntos correspondem a 20,15 g/100g. Assim sendo, sugere-se a utilização desta farinha como ingrediente em formulações para o enriquecimento energético de produtos processados.

O pH da farinha de pupunha apresentou valor médio de 6,37, enquanto Prado *et al.* (2022), obtiveram menor valor médio (3,99), também foram observados baixos teores de sólidos solúveis com média de 9° Brix. A farinha de pupunha apresentou baixa acidez com 0,99%, atendendo o padrão estabelecido pela legislação brasileira que preconiza o valor máximo de acidez de 2% em farinha (Brasil, 2011).

Além disso, também foram avaliados os parâmetros colorimétricos da farinha de pupunha, sendo que a luminosidade ( $L^*$ ) foi de 58,03, o parâmetro  $a^*$  de 6,85 e o parâmetro  $b^*$  de 31,25, já para a cromaticidade foi encontrado o valor de 38,33, com predominância de intensidade na região laranja, certificada pelo valor do ângulo Hue de 79,10, indicando que a farinha possui cor viva com tom alaranjado, o que já era esperado em função da coloração do fruto.

Tonalidade semelhante foi reportada por Prado *et al.* (2022) em farinha de pupunha, com valores de 67,4 para a variável L\*, 8,6 para a\*, 71,2 para b\*, 71,7 para C\*, e 44,8 para o ângulo hue.

### 5.1.1 Propriedades tecno-funcionais e atividade antioxidante da farinha de pupunha

Na Tabela 5, encontram-se os resultados para as propriedades tecno-funcionais, atividade antioxidante realizada pelo método DPPH, fenólicos totais e carotenóides totais da farinha de pupunha.

**Tabela 5** - Propriedades tecno-funcionais, atividade antioxidante e compostos bioativos da farinha de pupunha

<b>Parâmetro Avaliado</b>	<b>Farinha de pupunha</b>
WHC (g/g de amostra)	3,33 ± 0,70
OHC (g/g de amostra)	3,33 ± 0,35
ISA (%)	14,78 ± 1,01
Atividade emulsificante (%)	54,59 ± 2,71
Estabilidade da emulsão (%)	55,33 ± 2,56
Capacidade espumante (%)	–
Estabilidade da espuma (%)	–
Formação de gel (%)	–
Fenólicos totais (mg EAG/100 g)	266,73 ± 1,87
Carotenóides totais (µg/100 g)	2980,00 ± 0,06
DPPH (g fruta/g DPPH)	11,13 ± 1,95

Valores expressos em média ± desvio padrão. Autora (2024).

A farinha de pupunha apresentou um WHC de 3,33 g de água absorvida/ g de amostra, valor superior ao encontrado em farinha da casca do buriti (3,19 g água absorvida/ g de amostra) (Morais *et al.*, 2019). O WHC é uma propriedade importante no estudo da utilização de farináceos como ingrediente em formulações de produtos cárneos e panificáveis pois permite a adição de água a fim de facilitar o manuseio da massa e evitar seu ressecamento durante o processamento (Santana, Oliveira Filho e Egea, 2017).

O OHC da farinha de pupunha foi de 3,33 g de óleo absorvido/g de amostra, sendo próximo ao OHC da farinha da casca do buriti (3,69 g de óleo absorvido/g de amostra)

analisado por Morais *et al.* (2019).

Já o ISA encontrado foi de 14,78%, sendo este valor superior aos relatados pelos autores Prado *et al.*, (2022) com média de 7,98% e Rigon *et al.*, (2022) com média de 4,48% que analisaram farinhas de pupunha. O ISA é um parâmetro importante, pois por meio deste, pode-se verificar o grau de cozimento do amido e avaliar as condições de solubilidade em meio aquoso.

A farinha de pupunha apresentou uma alta atividade emulsificante com 54,59%, o que a torna interessante para a indústria de alimentos. Valores próximos a este foram encontrados em farinhas comerciais de linhaça dourada (55,56%) e feijão branco (52,22%) (Santana, Oliveira Filho e Egea, 2017).

Para o parâmetro estabilidade da emulsão a farinha de pupunha apresentou 55,33%. As propriedades emulsificantes normalmente são influenciadas pelas quantidades de proteínas solúveis na farinha e fornecem maior estabilidade na emulsão (Santana, Oliveira Filho e Egea, 2017).

A farinha de pupunha não apresentou formação de espuma, igualmente foi observado por Santana, Oliveira Filho e Egea, (2017), para as farinhas de aveia, linhaça dourada e marrom e de uva. De acordo com Porte *et al.* (2011), farinhas que não apresentam esta propriedade tecnológica não podem ser utilizadas na elaboração de alimentos que requerem esta propriedade como no uso para fabricação de sorvetes e mousses.

A farinha em estudo não apresentou a capacidade de formação de gel nos testes realizados, o que pode limitar sua utilidade na fabricação de mingaus e de cremes que dependem de uma gelificação consistente e contínua.

Os compostos fenólicos participam dos mecanismos de defesa da fruta contra fatores bióticos e abióticos adversos. Rufino *et al.* (2010), classificam o conteúdo fenólico presente nos frutos em três categorias: baixa (<100 mg EAG/100 g), média (100 – 500 mg EAG/100 g) e alta (> 500 mg EAG/100 g). De acordo com esta classificação o teor de composto fenólicos encontrados na farinha de pupunha estão na faixa de média concentração com valor médio de 266,73 mg EAG/100 g.

Sousa (2022), realizou uma avaliação dos compostos fenólicos em três frutos da amazônia e notou diferença entre eles. O fruto pupunha apresentou 46,96 mg de EAG/100g<sup>1</sup>, enquanto o bacuri e o tucumã 358,61 mg EAG/100g<sup>1</sup> e 117,42 mg EAG/100g, respectivamente. Notavelmente, os frutos bacuri e tucumã foram classificados com média concentração fenólica. No entanto, a concentração de compostos fenólicos em frutos pode variar devido varios fatores, incluindo a espécie de planta, as condições de crescimento e

maturação do fruto (Rufino *et al.*, 2010).

Chisté e seus colaboradores (2021), traçaram o perfil de compostos fenólicos nos frutos de pupunha com diferentes colorações da polpa e quantificaram o scaftosídeo sendo composto majoritário nas variedades amarela (45%) e na laranja (32%), enquanto a vicenina-2 foi detectada em alta concentração relativa (21%) nos frutos de polpa laranjados, em contraste com os 6% encontrados nos frutos de polpa amarela, sendo ambos compostos com potencial biológico conhecido.

A farinha de pupunha do presente estudo apresentou um elevado teor de carotenóides totais (2980,00  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ), sendo superior ao encontrado por Pimenta (2011), que foi de 176,56  $\mu\text{g}/100\text{g}$ . Os resultados encontrados neste trabalho podem assim caracterizar a farinha do fruto em questão para prospecção de carotenóides, podendo ser utilizado como estratégia de valorização desse produto.

A atividade antioxidante avaliada pelo protocolo do DPPH apresenta os valores pela captura de radicais livres e quanto menor o valor encontrado maior é a atividade antioxidante da amostra (Sousa, 2022). A farinha de pupunha apresentou uma captura de radicais livres de 11,13 g fruta/g DPPH.

## 5.2 Composição nutricional da torta da castanha-do-brasil

Na Tabela 6 estão apresentados os valores médios da composição nutricional da torta da castanha-do-brasil.

**Tabela 6** - Composição nutricional da torta de castanha-do-brasil

Parâmetros (g/100g)	Torta da Castanha-do-Brasil
Umidade (%)	2,27 $\pm$ 0,15
Cinzas (%)	4,49 $\pm$ 0,06
Lipídeos (%)	37,84 $\pm$ 0,53
Fibra bruta (%)	6,67 $\pm$ 0,54
Proteína (%)	35,99 $\pm$ 0,43
Carboidratos <sup>1</sup> (%)	12,74 $\pm$ 0,47
VET (Kcal)	535,50 $\pm$ 8,32
pH	6,63 $\pm$ 0,01
°Brix <sup>2</sup>	9,60 $\pm$ 0,22
Acidez total <sup>3</sup>	0,85 $\pm$ 0,14

<sup>1</sup>Obtidos pela diferença dos demais componentes; <sup>2</sup>Sólidos solúveis totais; <sup>3</sup>Ácido cítrico (%). Dados reportados como média  $\pm$  desvio padrão. Fonte: Autora (2024).

Para o teor de umidade, o valor encontrado é considerado baixo sendo 2,27 g/100g de amostra (Tabela 6). Estudos realizados com a torta de castanha-do-brasil demonstraram que o teor de umidade é menor em comparação com os outros macronutrientes presentes (Kato *et al.*, 2016; Pinheiro *et al.*, 2022). Um baixo teor de umidade denota a uma maior estabilidade frente ao desenvolvimento microbiano, tornando a vida útil da torta mais elevada (Campidelli *et al.*, 2020).

Para o teor de cinzas, a torta apresentou um valor médio de 4,49g/100g de amostra, o que a torna uma potencial fonte de minerais para a dieta. Estudos indicam que a torta de castanha-do-brasil é rica em minerais, como ferro, zinco, cálcio e potássio (Kato *et al.*, 2016; Souza *et al.*, 2016).

Nesse contexto, a Castanha-do-Brasil é conhecida como uma das principais fontes de selênio, no entanto a extração do óleo das mesmas pode provocar um aumento de mais de 12x nos percentuais deste mineral na torta obtida. Quanto aos teores de magnésio, outro mineral com forte presença, os percentuais podem se elevar em cerca de 2,5x na matéria desengordurada (Kato *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2013).

Quanto ao teor de lipídios foi encontrado um valor médio de 37,84%. No entanto, é importante destacar que esta amostra foi previamente submetida à prensagem à frio para a obtenção da torta. Contudo, a prensagem à frio da castanha-do-brasil não degrada os compostos bioativos, no entanto, o rendimento do óleo é geralmente baixo (30-40%) (Zanqui *et al.*, 2019), o que justifica o alto teor de lipídios presente na torta após a prensagem.

Quanto ao teor de fibra bruta, a torta de Castanha-do-Brasil apresentou um valor médio de 6,67g/100g. O consumo adequado de fibra dietética apresenta efeitos benéficos na prevenção de doenças cardiovasculares e quando ingerida conforme o valor recomendado de 25g ao dia auxilia na prevenção de acidente vascular cerebral (Leão *et al.*, 2016). Elas também podem auxiliar na redução dos níveis do colesterol total, triglicerídeos e aumentam a fração da lipoproteína de alta densidade (HDL), pois formam um gel solúvel que ajuda na absorção do colesterol no organismo, sendo um importante aliado para a saúde do indivíduo (Tonetta *et al.*, 2017).

A torta da Castanha-do-Brasil apresentou um valor médio de proteína de 35,99% (Tabela 6), esse resultado mostra que esta matéria-prima é uma rica fonte desse macronutriente essencial para a manutenção de uma dieta balanceada, podendo ser utilizada para o enriquecimento proteico em preparações diversas.

A ingestão diária recomendada (IDR) de proteínas para adultos é de 50 g, e para ser considerado um alimento de alto conteúdo proteico deve apresentar um teor de no mínimo 10 g de proteínas para cada 100 g de alimento, de acordo com RDC nº429 de 8 de outubro de 2020, logo a torta da castanha-do-brasil pode ser consideradas um alimento de alto conteúdo proteico (Brasil, 2020).

O percentual médio de carboidratos encontrado para a torta da Castanha-do-Brasil foi de 12,74%. Esse resultado indica que a torta de castanha-do-brasil é um alimento com alto teor de carboidratos, pois segundo a RDC nº54 de 12 de novembro de 2012, um alimento é considerado rico em carboidratos quando apresenta 5 g por 100 g de alimentos. Dessa maneira, a torta apresenta um teor de carboidratos mais do que o dobro do mínimo definido pela RDC nº54.

Para o valor energético total da torta da Castanha-do-Brasil nota-se que os três principais macronutrientes encontrados (lipídeos, proteínas e carboidratos) são também os utilizados para calcular, dessa forma o teor lipídico é o que exerce maior influência sobre esse valor. Assim, pelo elevado teor de lipídeos, proteína e carboidrato a Castanha-do-Brasil pode ser considerada uma fonte energética, como mostrado no valor energético de 535,50 Kcal por porção de 100 g (Tabela 6).

De acordo com Santos (2012), para oleaginosas amazônicas, a acidez norteia a qualidade de seus subprodutos em virtude das próprias peculiaridades caracterizadas pelo clima de temperaturas e umidade altas da região. A torta da Castanha-do-Brasil (Tabela 6) apresentou um pH de 6,63, valor próximo ao encontrado por Santos (2011) de 6,17. Esse parâmetro é um fator de grande importância na limitação da capacidade de desenvolvimento de microrganismos no alimento (Pinto, 2020). O valor médio de acidez do presente estudo foi de 0,85 (g ácido cítrico/ 100 g), o que corrobora com o pH encontrado, já o valor médio dos sólidos solúveis totais foi de 9,60 °Brix.

### **5.3 Otimização das condições de hidrólise enzimática para produção do hidrolisado proteico da torta de Castanha-do-Brasil**

Os valores médios das variáveis grau de hidrólise (GH%) e atividade antioxidante mensurados pelos protocolos de DPPH, ABTS e FRAP dos ensaios estão mostrados na Tabela 7.

**Tabela 7** - Valores do grau de hidrólise (GH%) e atividade antioxidante (ABTS, FRAP, DPPH) obtidos para os hidrolisados proteicos de torta da castanha-do-Brasil (HPTCB)

Ensaio	Tempo	Temperatura	E/S	GH (%)	DPPH (%SRL)	ABTS ( $\mu\text{M}$ de trolox/g de amostra)	FRAP ( $\mu\text{M}$ de sulfato ferroso/g de amostra)
1	40	35	0,5	9,49 $\pm$ 0,10 <sup>i</sup>	21,34 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>	4,20 $\pm$ 0,03 <sup>h</sup>	10,12 $\pm$ 0,04 <sup>g</sup>
2	40	60	0,5	9,07 $\pm$ 0,07 <sup>k</sup>	20,22 $\pm$ 0,04 <sup>g</sup>	4,94 $\pm$ 0,04 <sup>e</sup>	9,96 $\pm$ 0,04 <sup>h</sup>
3	40	35	1	13,38 $\pm$ 0,07 <sup>b</sup>	22,15 $\pm$ 0,03 <sup>c</sup>	6,13 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>	12,18 $\pm$ 0,03 <sup>e</sup>
4	40	60	1	12,99 $\pm$ 0,11 <sup>c</sup>	26,22 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>	5,55 $\pm$ 0,10 <sup>c</sup>	11,23 $\pm$ 0,02 <sup>f</sup>
5	120	35	0,5	10,31 $\pm$ 0,07 <sup>h</sup>	20,12 $\pm$ 0,01 <sup>h</sup>	4,67 $\pm$ 0,07 <sup>f</sup>	11,24 $\pm$ 0,02 <sup>f</sup>
6	120	60	0,5	10,45 $\pm$ 0,04 <sup>g</sup>	18,60 $\pm$ 0,03 <sup>j</sup>	4,45 $\pm$ 0,03 <sup>g</sup>	12,92 $\pm$ 0,02 <sup>c</sup>
7	120	35	1	11,13 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>	20,43 $\pm$ 0,03 <sup>f</sup>	5,41 $\pm$ 0,01 <sup>d</sup>	13,20 $\pm$ 0,04 <sup>b</sup>
8	120	60	1	15,40 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	32,73 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>	6,20 $\pm$ 0,05 <sup>a</sup>	15,70 $\pm$ 0,02 <sup>a</sup>
9	80	47,5	0,75	10,65 $\pm$ 0,03 <sup>f</sup>	16,26 $\pm$ 0,02 <sup>k</sup>	3,72 $\pm$ 0,03 <sup>i</sup>	12,50 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>
10	80	47,5	0,75	9,35 $\pm$ 0,05 <sup>j</sup>	19,01 $\pm$ 0,02 <sup>i</sup>	3,51 $\pm$ 0,04 <sup>j</sup>	13,20 $\pm$ 0,05 <sup>b</sup>
11	80	47,5	0,75	10,93 $\pm$ 0,02 <sup>e</sup>	21,95 $\pm$ 0,03 <sup>d</sup>	2,24 $\pm$ 0,02 <sup>k</sup>	12,40 $\pm$ 0,04 <sup>d</sup>

Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $p \leq 0,05$ ). Resultados expressos em média e  $\pm$  desvio padrão. Fonte: Autora (2024).

De acordo com a Tabela 7, observou-se que houve diferença significativa entre todos os ensaios para o percentual de grau de hidrólise, obtendo-se uma variação entre 9,07% (ensaio 02) a 15,40% (ensaio 8).

O GH avalia a porcentagem de ligações peptídicas quebradas durante a reação reduzindo o peso molecular médio dos peptídeos (Görgüç, Gençdağ e Yılmaz, 2020).

Nikhita e Sachindra (2021), reportaram que a temperatura e a concentração enzimática têm uma influência significativa no %GH, destacando que a enzima bromelina apresentou seu melhor desempenho quando submetida à temperatura de 60°C corroborando com os resultados do presente estudo.

Diversos estudos apontam que hidrolisados proteicos com GH abaixo de 20%, apresentam melhor atividade antioxidante e melhores características técnico-funcionais (Bazsefidpar *et al.*, 2023; Bozkurt *et al.*, 2021; Galves *et al.*, 2021; Zheng, Li e Liu, 2020). Já aqueles com um GH% considerado alto, acima de 20%, são usados principalmente como suplementos nutricionais em dietas médicas para fins especiais (Queiroz *et al.*, 2017).

#### 5.4 Análise de variância (ANOVA) para o grau de hidrólise e atividade antioxidante dos hidrolisados proteicos

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para compreender o efeito dos principais fatores e suas interações nas variáveis dependentes (Tabela 8).

A variável %GH da torta de castanha-do-brasil foi significativamente influenciada pela interação entre a temperatura e concentração enzimática. No entanto, os fatores independentes tempo, temperatura e concentração enzimática não apresentaram um efeito significativo, também foi encontrado um valor de  $R^2$  de 0,88. De acordo com Halim e Sarbon (2017), para que haja um bom ajuste do modelo, o  $R^2$  deverá apresentar um valor maior que 0,80, o que foi observado no estudo.

**Tabela 8** - Análise de variância (ANOVA) para as variáveis de grau de hidrólise (GH%) e atividade antioxidante (DPPH, ABTS e FRAP) dos hidrolisados proteicos da torta de castanha-do-brasil (HPTCB)

Fator	GH%					DPPH %SRL				
	SS	Df	MS	F	P	SS	df	MS	F	p
(1) Tempo	0,70	1	0,70	0,98	0,43	0,47	1	0,47	0,06	0,83
(2) Temp. C°	1,62	1	1,62	2,29	0,27	23,56	1	23,56	2,91	0,23
(3) E/S	4,20	1	4,20	5,91	0,13	56,44	1	56,44	6,97	0,12
1*2	3,41	1	3,41	4,79	0,16	7,66	1	7,66	0,95	0,43
1*3	4,12	1	4,12	5,79	0,14	7,28	1	7,28	0,90	0,44
2*3	17,82*	1*	17,82*	25,07*	0,04*	45,17	1	45,17	5,58	0,14
1*2*3	1,69	1	1,69	2,38	0,26	-	-	-	-	-
Falta de ajuste	3,23	1	3,23	4,55	0,17	38,42	2	19,21	2,37	0,30
Erro Puro	1,42	2	0,71			16,19	2	8,10		
Total SS	38,21	10				195,21	10			
R <sup>2</sup>	0,88					0,72				

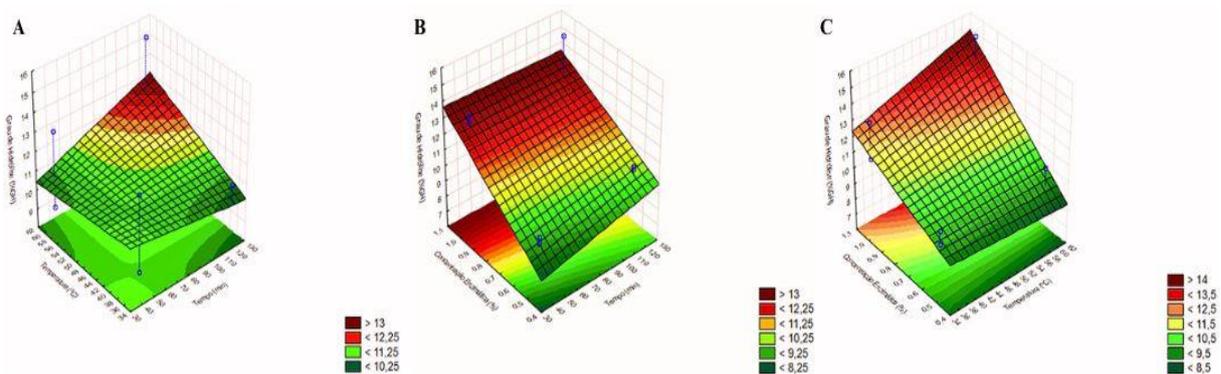
  

Fator	ABTS (µM de trolox/g amostra)					FRAP µM de sulfato ferroso/g de amostra				
	SS	Df	MS	F	P	SS	df	MS	F	p
(1) Tempo	0,00	1	0,001	0,001	0,97	11,45*	1*	11,45*	60,25*	0,02*
(2) Temp. C°	0,67	1	0,67	0,10	0,78	1,18	1	1,18	6,20	0,13
(3) E/S	3,16	1	3,16	4,93	0,16	8,15*	1*	8,15*	42,84*	0,02*
1*2	0,02	1	0,02	0,03	0,87	3,50	1	3,50	18,41	0,06
1*3	0,00	1	0,00	0,00	0,98	0,25	1	0,25	1,31	0,37
2*3	0,01	1	0,01	0,02	0,90	0,00	1	0,00	0,0006	0,98
1*2*3	0,68	1	0,68	1,06	0,41	0,32	1	0,32	1,70	0,32
Falta de ajuste	9,05	1	9,05	14,12	0,06	0,87	1	0,87	4,57	0,16
Erro Puro	1,28	2	0,64			0,38	2	0,19		
Total SS	14,28	10				26,09	10			
R <sup>2</sup>	0,27					0,95				

Coefficientes com \* são significativos  $p \leq 0,05$ . Fonte: Autora (2024).

Para melhor visualização dos efeitos das variáveis foram obtidos os gráficos de superfície de resposta que estão apresentados na Figura 5.

Pelas figuras 5B e 5C é possível afirmar que maiores valores da concentração enzimática contribuem para obtenção de maiores valores do percentual do grau de hidrólise (ensaios 3,4,7,8).



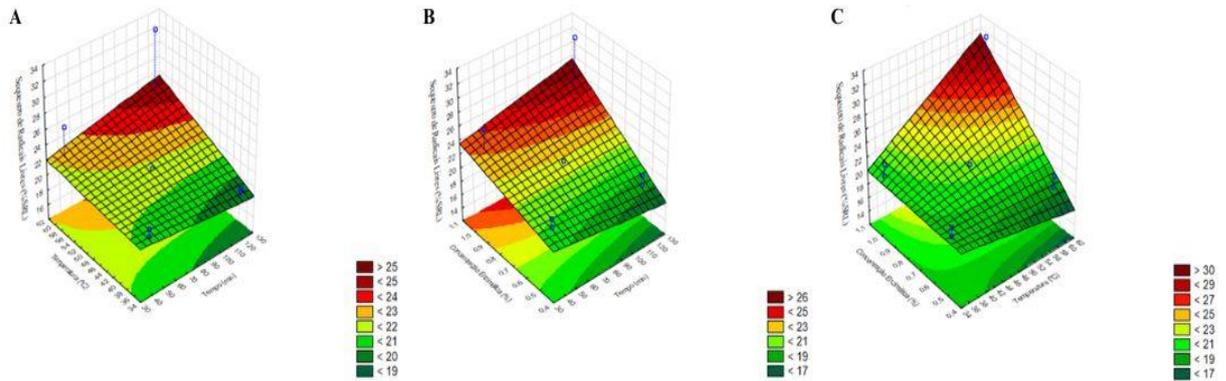
**Figura 5** - Superfície de resposta mostrando o efeito de: A – Tempo x temperatura na %GH. B – Tempo x concentração enzimática na %GH. C – Temperatura x concentração enzimática na %GH  
Fonte: Autora (2024).

Diferentes fatores podem influenciar na hidrólise das proteínas. De acordo com Galves *et al.* (2021), o GH pode ser influenciado pelo tempo e concentração enzimática, sendo que nos primeiros 10 minutos de reação, ocorre uma rápida clivagem de ligações polipeptídicas (5,5% GH) e após esse tempo ocorre uma estabilização, obtendo-se o maior valor de GH (10,8%) após um tempo de 100 minutos. No presente estudo o tempo não foi um fator significativo sobre o %GH, o que pode estar relacionado a uma redução das ligações peptídicas disponíveis para serem clivadas (Galves *et al.*, 2021).

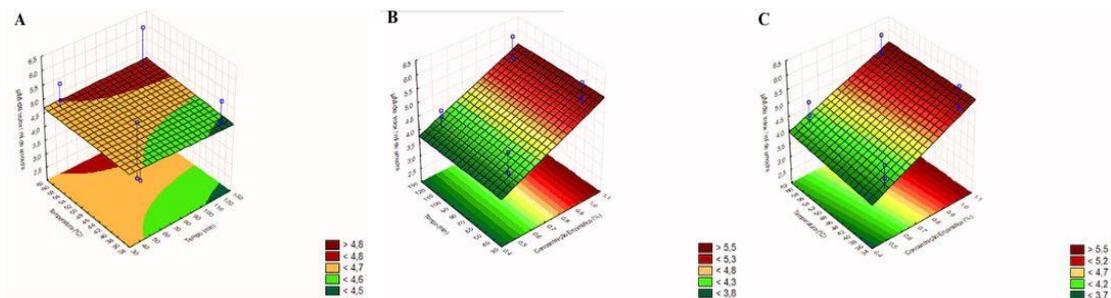
De acordo com a Tabela 8 observou-se que houve diferença significativa entre todos os ensaios para os valores médios do percentual de sequestro do radical DPPH, com variação entre 19,01% SRL (ensaio 10) e 32,73% SRL (ensaio 8). Comportamento semelhante foi observado para os valores da atividade antioxidante mensurada pelo protocolo ABTS, com médias entre 2,24  $\mu\text{M}$  de trolox/g (ensaio 11) a 6,20  $\mu\text{M}$  de trolox/g (ensaio 8).

A Tabela 8 da ANOVA também mostrou que a eliminação do radical DPPH e do radical ABTS pelos hidrolisados não foi influenciada pelas variáveis independentes nem pela interação entre elas, com valores de  $R^2$  de 72% para o primeiro e de 27% para o segundo protocolo.

Pela análise dos gráficos de superfície de resposta pode-se verificar que os maiores valores da concentração enzimática (E/S) culminaram em maiores valores do %SRL (Figura 6) e maiores valores de captura do cátion ABTS<sup>+</sup> (Figura 7).



**Figura 6** - Superfície de resposta mostrando o efeito: A – Tempo x temperatura na %SRL. B – Tempo x concentração enzimática na %SRL. C – Temperatura x concentração enzimática na %SRL  
Fonte: Autora (2024).



**Figura 7** - Superfície de resposta mostrando o efeito: A – Tempo x temperatura na  $\mu\text{M}$  de trolox/g. B – Tempo x concentração enzimática na  $\mu\text{M}$  de trolox/g. C – Temperatura x concentração enzimática na  $\mu\text{M}$  de trolox/g. Fonte: Autora (2024).

Em condições de hidrólise semelhantes ao presente estudo (E/S 1%; temperatura de 60 °C), Bozkut et al. (2021) avaliaram a atividade antioxidante de hidrolisados de glúten de trigo com o uso de diferentes enzimas e identificaram que o hidrolisado com menor %GH (GH% 3,11%) teve maior influência na eliminação do radical ABTS, apresentando a melhor atividade antioxidante (824.10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), sendo que os autores atribuíram este fato ao número e peso molecular dos peptídeos formados durante a hidrólise. Já no presente estudo, o maior valor de %GH culminou na maior captura do radical ABTS.

No entanto, Ding *et al.* (2020), sugerem que existe um ponto ótimo para a proporção enzima-substrato (E/S) para melhorar a atividade antioxidante dos hidrolisados proteicos, afirmando que maiores concentrações de E/S influenciaram na maior capacidade de

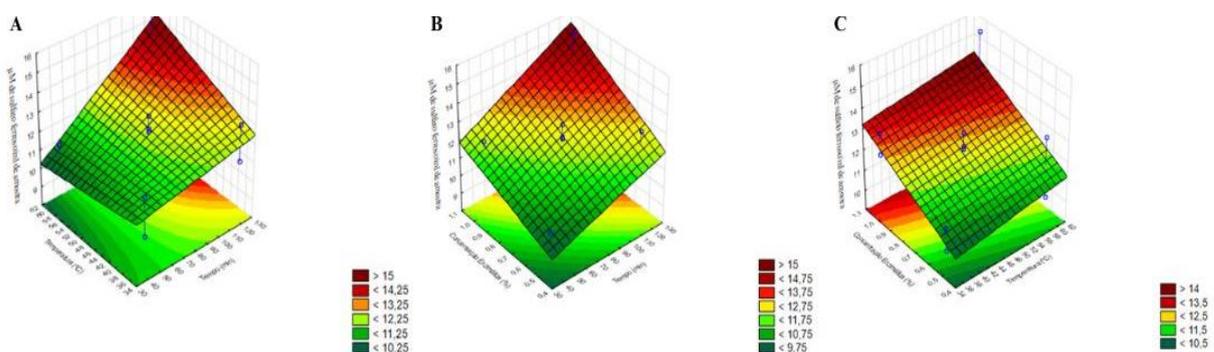
eliminação dos radicais livres, corroborando com os resultados encontrados no presente estudo.

Dessa forma, quando a proporção E/S é aumentada, mais enzima está disponível para catalisar a reação de hidrólise, resultando em mais peptídeos e aminoácidos com potencial atividade antioxidante. No entanto, quando a proporção E/S é aumentada além de um certo ponto ótimo, pode ocorrer o fenômeno conhecido como inibição enzimática (Ding *et al.*, 2020; Zhou, Liu e Feng, 2017).

Ao avaliar a atividade antioxidante pelo protocolo FRAP observou-se que não houve diferença estatística significativa entre os ensaios 4 e 5, assim como entre os ensaios 9 e 11, já para os demais observou-se que todos se diferiram significativamente. O maior valor médio foi encontrado para o ensaio 5 (15,70  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g de amostra) enquanto o menor valor foi obtido para o ensaio 2 (9,96  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g de amostra).

A atividade antioxidante mensurada pelo método FRAP foi influenciada pelas variáveis independentes tempo e concentração enzimática, não havendo influência significativa da interação entre as variáveis. Foi encontrado um valor de  $R^2$  de 95%, indicando um bom ajuste ao modelo quadrático.

É possível observar na Figura 8 da superfície de resposta que o aumento do tempo de hidrólise, assim como o aumento na concentração enzimática promoveu um aumento na redução férrica dos ensaios.



**Figura 8** - Superfície de resposta mostrando o efeito: A – Tempo x temperatura na  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g. B – Tempo x concentração enzimática na  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g. C – Temperatura x concentração enzimática na  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g. Fonte: Autora (2024).

Investigar a atividade antioxidante de hidrolisados proteicos é de grande importância, já que a hidrólise proteica promove a liberação de compostos fenólicos e a formação de peptídeos bioativos. Esses antioxidantes podem ser aplicados em alimentos com diversas

finalidades, como na conservação de alimentos e na melhoria do perfil nutricional dos produtos alimentícios. Além disso, possuem a capacidade de mitigar doenças relacionadas aos radicais livres, controlar a pressão arterial e até mesmo possuir propriedades neuroprotetoras (Chandrasekaran e Gonzalez de Mejia, 2022; Garbacz *et al.*, 2023; Nikhita e Sachindra, 2021).

Após a análise dos onze ensaios, considerando a influência dos fatores tempo, temperatura e concentração E/S sobre as variáveis %GH e atividade antioxidante adotou-se o ensaio 8 para prosseguir com a elaboração das frações do hidrolisado e a sua caracterização nutricional e tecnológica para posterior inserção nos biscoitos.

### 5.5 Análise da composição nutricional do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil

Após a hidrólise enzimática, procedeu-se com a avaliação do rendimento das frações, considerando a fração mista (FM), fração solúvel (FS) e a fração insolúvel (FI). De acordo com as condições utilizadas para obtenção do hidrolisado, o rendimento para a fração mista foi de 99,53%, para a fração insolúvel de 79,86% e para a fração solúvel 12,77%.

A avaliação da composição nutricional das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil pode ser observada na Tabela 9.

**Tabela 9** - Composição nutricional das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-Brasil (HPCB)

Parâmetros (%)	MISTO (FM)	SOLÚVEL (FS)	INSOLÚVEL (FI)
Umidade	6,94 ± 0,17 <sup>b</sup>	8,03 ± 0,38 <sup>a</sup>	5,83 ± 0,32 <sup>c</sup>
AW	0,50 ± 0,00 <sup>c</sup>	0,55 ± 0,00 <sup>a</sup>	0,53 ± 0,00 <sup>b</sup>
Cinzas	7,74 ± 0,07 <sup>b</sup>	13,39 ± 0,06 <sup>a</sup>	7,23 ± 0,08 <sup>c</sup>
Lipídeos	15,22 ± 1,08 <sup>a</sup>	2,80 ± 0,10 <sup>c</sup>	12,42 ± 0,14 <sup>b</sup>
Proteínas	46,34 ± 0,47 <sup>a</sup>	42,58 ± 1,02 <sup>b</sup>	41,64 ± 0,62 <sup>b</sup>
Fibra bruta	20,00 ± 0,10 <sup>a</sup>	0,65 ± 0,18 <sup>c</sup>	19,35 ± 0,17 <sup>b</sup>

Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Resultados expressos em média e ± desvio padrão. Fonte: Autora (2024).

De acordo com os resultados observou-se que a fração solúvel (FS) apresentou valores significativamente maiores de umidade (8,03%) e Aw (0,55%), quando comparada com as demais frações. No entanto, todas as frações do hidrolisado (FM, FS, FI) apresentaram teores de umidade abaixo de 12%, atendendo a legislação RDC nº 726 de 1º de julho, que preconiza teor de umidade inferior a 12% para produto proteico de origem vegetal (Brasil, 2022). A redução da umidade dos alimentos aliada com uma baixa atividade de água (Aw) permite o armazenamento e prolonga o shelf life dos produtos alimentícios (Dala-Paula *et al.*, 2021).

Ao avaliar o teor de cinzas, observou-se que todas as frações se diferiram significativamente. O maior valor médio foi encontrado na fração mista (13,39%), o que representa um aumento de aproximadamente três vezes em relação à matéria-prima. Isso sugere que o HPTCB pode ser utilizado no enriquecimento de novos produtos, uma vez que o teor de cinzas está associado ao teor de minerais. Estudos indicam que a torta de castanha-do-brasil é rica em minerais, como alto teor de ferro, zinco, cálcio, potássio (Souza *et al.*, 2016), além de ser considerada uma das mais importantes fontes de selênio (Kato *et al.*, 2016; Sartori *et al.*, 2020).

Outros autores sugerem que o aumento nos percentuais de cinzas dos hidrolisados podem estar relacionado à adição de NaOH e à decorrência dos sais presentes nos tampões para ajustar o pH durante o processo de hidrólise (Brückner-Gühmann *et al.*, 2018; Paiva *et al.*, 2015), entretanto no presente estudo não houve a necessidade de ajustar pH devido o substrato estar na faixa de atuação da enzima.

Para os teores lipídicos das frações dos hidrolisados observou-se que houve diferença significativa entre a FM, FS e FI, sendo que o valor médio variou de 2,80 a 15,22%.

Cabe destacar que a castanha-do-brasil é rica em lipídios monoinsaturados e poli-insaturados, que são importantes para a regulação dos lipídios no sangue e podem ajudar a proteger contra doenças cardiovasculares (Colpo *et al.*, 2013; Hever e Cronise, 2017).

Embora os hidrolisados tenham sido obtidos a partir da torta da castanha, o processo de prensagem remove parcialmente (27,42%) os lipídios, restando uma porção que permanecerá nas frações analisadas (Kato *et al.*, 2016).

Para os teores de proteína houve diferença estatística entre as amostras, sendo que a fração mista apresentou maior média significativa com 46,34%, mostrando que o processo de hidrólise ocasionou um aumento significativo no teor de proteína, cerca de 32% (Tabela 9), quando comparado com a quantidade presente no substrato (torta de castanha-do-brasil), que é de 35 g em 100 g. Os resultados deste estudo assemelham-se aos obtidos por Ospina-quirola *et al.* (2022), que observaram que a hidrólise enzimática (alcalase-tripsina) aumentou o teor

de proteína dos hidrolisados entre 19,7% a 81% em comparação com o teor proteico dos substratos, fato este justificado pela quebra das ligações peptídicas que aumenta a exposição de grupos polares, melhorando a sua solubilidade e a recuperação de proteínas do hidrolisado em relação à proteína original, indicando a eficácia da hidrólise enzimática (Ospina-quirola *et al.*, 2022).

Conforme estabelecido na Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 726 de 1º de julho 2022 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), o produto proteico de origem vegetal deve atender ao requisito de composição proteica mínima que é de 40% para outros produtos proteicos que não sejam derivados de soja ou glúten de trigo, e 25% para hidrolisados proteicos (Brasil, 2022). Com base na resolução citada, todas as frações do hidrolisado da castanha-do-brasil atendem ao requisito de composição proteica (mín. 25%), estando acima do limite mínimo estabelecido.

De acordo com os valores encontrados para os teores de fibra bruta, observou-se que a fração mista do hidrolisado apresentou o maior valor médio (20,00%) e se diferiu significativamente das demais frações. Segundo a instrução normativa, IN nº 75, de 08 de outubro de 2020 quando um alimento apresenta a cada 100 gramas, 3 gramas de fibra alimentar ou 2,5 gramas por porção, ele é considerado uma fonte de fibra. No entanto, na determinação de fibra bruta, é determinada apenas a fração insolúvel em ácido, o que pode subestimar os valores encontrados (Arayici *et al.*, 2022).

Considerando a recomendação dietética de no mínimo 25g/dia, a fração mista do hidrolisado possui um alto conteúdo de fibra (20%), atendendo a 80% do valor diário de referência (VDR) (Brasil, 2020).

Alimentos ricos em fibras podem ser utilizados para melhorar as características de outros produtos, e como ingrediente para suplementos alimentares. Alguns estudos mostram que as fibras podem ser utilizadas como substitutos da gordura contribuindo nas modificações texturais e no apelo nutricional (Moreno *et al.*, 2023; Akbari, Eskandari e Davoudi, 2019),

Campos e Campos (2023) afirmaram que o alto conteúdo de fibras dos suplementos, resultaram em maior saciedade, melhora da constipação, além de ser observado a redução da gordura abdominal e aumento da massa magra.

## **5.6 Perfil de aminoácidos das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil**

O perfil de aminoácidos das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil está apresentado na Tabela 10.

**Tabela 10** - Perfil de aminoácidos das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil e escore químico (EQ)

<b>Aminoácidos Essenciais</b>	<b>Fração mista (mg)</b>	<b>EQ (2-5 anos)</b>	<b>EQ (≥ 18 anos)</b>	<b>Fração solúvel (%)</b>	<b>EQ (2-5 anos)</b>	<b>EQ (≥ 18 anos)</b>	<b>Fração Insolúvel (%)</b>	<b>EQ (2-5 anos)</b>	<b>EQ (≥ 18 anos)</b>
Histidina	740	0,84	1,00	50	0,06	0,07	690	0,78	0,93
Isoleucina	1.040	0,80	1,73	50	0,04	0,08	990	0,76	1,64
Leucina	2480	0,81	2,82	150	0,05	0,17	2330	0,76	2,65
Lisina	770	0,29	1,04	50	0,02	0,07	720	0,27	0,97
Metionina + Cisteína	2.580	2,23	3,28	30	0,03	0,04	2280	1,97	2,89
Fenilalanina + Tirosina	2.450	0,84	2,78	110	0,04	0,12	2340	0,80	2,66
Valina	1.570	0,97	2,61	60	0,04	0,10	1510	0,93	2,51
Triptofano	550	1,08	2,37	210	0,41	0,91	520	1,02	2,24
<b>Aminoácidos não essenciais</b>	<b>Fração mista (mg)</b>	<b>EQ (2-5 anos)</b>	<b>EQ (≥ 18 anos)</b>	<b>Fração solúvel (%)</b>	<b>EQ (2-5 anos)</b>	<b>EQ (≥ 18 anos)</b>	<b>Fração Insolúvel (%)</b>	<b>EQ (2-5 anos)</b>	<b>EQ (≥ 18 anos)</b>
Alanina	1.300	-	-	70	-	-	1.230	-	-
Ácido aspártico	3.010	-	-	180	-	-	2.830	-	-
Ácido glutâmico	6.990	-	-	700	-	-	6.290	-	-
Serina	1.510	-	-	100	-	-	1.410	-	-
Prolina	1.460	-	-	110	-	-	1.350	-	-
Arginina	4.510	-	-	400	-	-	4.110	-	-
Glicina	1.620	-	-	120	-	-	1.500	-	-
Hidroxiprolina	20	-	-	10	-	-	10	-	-
Taurina	80	-	-	10	-	-	70	-	-

Fonte: Autora (2024).

De acordo com os resultados pode-se observar (Tabela 10) que as três frações do hidrolisado, apresentam em sua composição todos os aminoácidos essenciais. Segundo

Hoffer, (2016), o consumo destes aminoácidos é importante porque não podem ser sintetizados no organismo humano, e precisam ser consumidos na alimentação.

A fração mista se destaca pelas concentrações dos aminoácidos essenciais, prevalecendo a leucina (2.480 mg), metionina + cistina (2.580 mg), fenilalanina + tirosina (2.450 mg) e valina (1.570 mg).

Os aminoácidos isoleucina, leucina e valina compõem um grupo diferenciado denominado de cadeia ramificada que apresenta destaque na indústria de alimentação esportiva (Souza *et al.*, 2016). Este grupo estabiliza a estrutura da proteína através de interações hidrofóbicas, agem como importante fonte de energia para o músculo esquelético, promovendo a síntese proteica, evitando o catabolismo e servindo como substrato para a glicogênese (Polmann *et al.*, 2021).

Baseando-se no escore químico dos aminoácidos essenciais, a fração mista apresentou aminoácidos limitantes ao buscar atender as necessidades dietéticas em faixa etária pré-escolar (2-5 anos), se diferenciando desta classificação os aminoácidos sulfurados (Met + Cys) com EQ de 2,23 e o triptofano com EQ de 1,07. Além disso, é importante destacar que a deficiência de lisina no hidrolisado não constituiria um problema nutricional, uma vez que esse aminoácido é abundante em leguminosas como o feijão, que está presente na mesa dos brasileiros (Freitas *et al.*, 2012).

O triptofano é nutricionalmente significativo, ele atua como precursor do neurotransmissor serotonina, que por sua vez está envolvido no controle do sono, da dor, da agressividade, do comportamento sexual, do consumo alimentar, do aprendizado, da memória, da percepção sensorial e da depressão (Júnior, Verde e Landim, 2021).

Entretanto, ao buscar atender as necessidades dietéticas na faixa etária adulta (acima dos 18 anos), a fração mista do hidrolisado, não apresentou nenhum aminoácido limitante, podendo ser considerada de alto valor nutricional e destinada para formulações de suplementação esportiva.

Quanto aos aminoácidos não essenciais, os maiores destaques foram para o ácido glutâmico com 6.990 mg/g, arginina com 4.510 mg/g e o ácido aspártico com 3.010 mg/g.

De acordo com Arise *et al.* (2021), os hidrolisados proteicos de castanha de caju também apresentaram alto nível de ácido aspártico e glutâmico, esses aminoácidos possuem carga negativa e podem doar elétrons para eliminar os radicais livres, conferindo potencial antioxidante aos hidrolisados, além destes, os hidrolisados também apresentaram alto teor de arginina, aminoácido que participa da síntese de óxido nítrico, um potente vasodilatador que pode prevenir e reduzir a hipertensão arterial.

## 5.7 Propriedades tecno-funcionais das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil

Quando os hidrolisados proteicos são empregados como ingredientes em formulações alimentícias, suas propriedades funcionais desempenham um papel importante, uma vez que influenciam positivamente a qualidade dos produtos e a rentabilidade dos processos (López *et al.*, 2019).

Neste contexto a avaliação de propriedades tecno-funcionais se faz importante para verificar as funcionalidades das proteínas (Pacheco *et al.*, 2022; Silva *et al.*, 2022).

De acordo com a Tabela 11, observou-se que não houve diferença significativa na variável solubilidade entre as frações do hidrolisado, com variação dos valores médios de 13,37 (FI) a 14,25%(FS).

**Tabela 11** - Propriedades tecno-funcionais das frações do HPTCB

Parâmetro Avaliado	MISTO (FM)	SOLÚVEL (FS)	INSOLÚVEL (FI)
Solubilidade (%)	13,67 ± 0,16 <sup>a</sup>	14,25 ± 0,28 <sup>a</sup>	13,37 ± 0,55 <sup>a</sup>
Capacidade espumante (%)	ND	ND	ND
Estabilidade da espuma (%)	ND	ND	ND
Formação de gel (%)	ND	ND	ND

\*ND – Não identificado. Letras iguais na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância. Resultados expressos em média e ± desvio padrão. Fonte: Autora (2024).

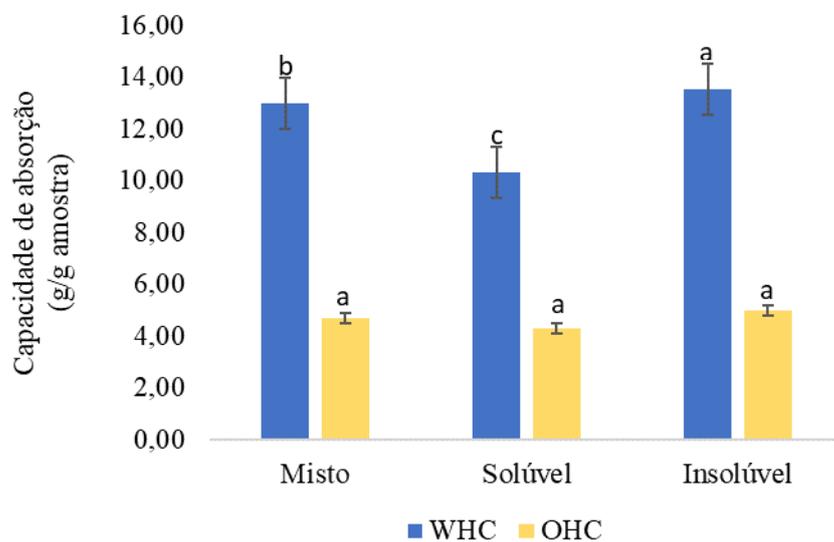
A maior solubilidade da proteína hidrolisada é geralmente atribuída ao acréscimo no número de pequenos peptídeos, e ao aumento correspondente nos grupos amino ionizável e carboxila. Peptídeos menores são frequentemente mais hidrofílicos e exibem melhor capacidade de retenção de água do que peptídeos de tamanho maior (Pacheco *et al.*, 2022).

Em relação à capacidade de formação de espuma, estabilidade da espuma e formação de gel, nenhuma das frações do hidrolisado apresentaram essas propriedades tecnológicas.

A formação e estabilidade da espuma são determinadas por diferentes fatores como tipo de proteína, método de preparação, composição, solubilidade, concentração, pH, presença de sais, interações hidrofóbicas, elasticidade molecular, hidrofobicidade superficial, distribuição de carga e propriedades hidrodinâmicas (Çelik, Güzel e Yildirim, 2019).

Já a capacidade de gelificação depende da concentração proteica, força iônica, pH, quantidade de grupos sulfidrila e hidrofóbicos, e interações com carboidratos e lipídios (Çelik, Güzel e Yildirim, 2019; Tavano, 2013).

Na figura 9, pode-se observar que a capacidade de absorção de água (WHC) foi maior que a capacidade de absorção de óleo (OHC) para todas as frações do hidrolisado. Para a variável WHC todas as frações se diferiram estaticamente ( $p \leq 0,05$ ), sendo que a fração insolúvel apresentou maiores valores (13,53  $\text{g.g}^{-1}$ ). Já a OHC não apresentou diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ), entre as frações, ficando entre 4,30 a 4,98 ( $\text{g.g}^{-1}$ ).



**Figura 9** - Capacidade de absorção de água (WHC) e Capacidade de absorção de óleo (OHC) das frações do hidrolisado proteico de castanha-do-brasil. Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre as frações do hidrolisado. Fonte: Autora (2024).

Os resultados deste estudo indicaram uma maior capacidade de absorção de água e óleo em comparação com o concentrado proteico de coco (Rodsamran e Sothornvit, 2018) e as proteínas isoladas de feijão da Turquia (Gundogan e Karaca, 2020), sendo que tais diferenças podem estar relacionadas a variação de matéria-prima e às condições de ensaio de cada estudo (Goswami *et al.*, 2022).

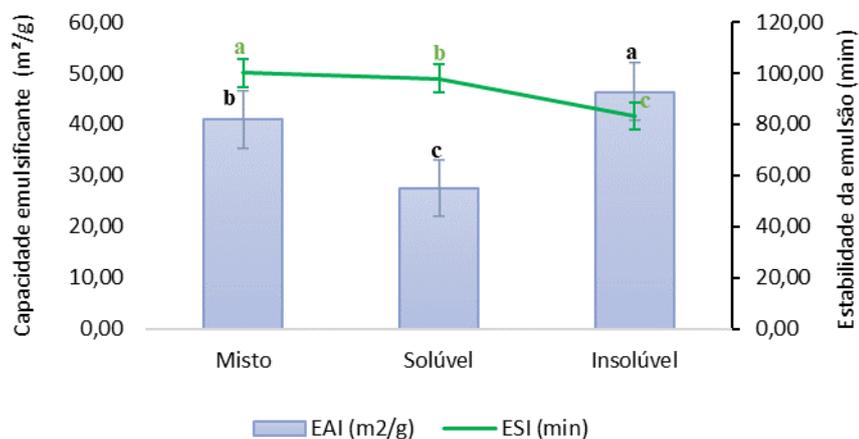
Já no estudo de Bozkurt *et. al* (2021) com hidrolisados de glúten de trigo, a capacidade de absorção de óleo variou de 2,63 a 9,69 (g/g), sendo que os maiores OHC foram obtidos nos ensaios com menor grau de hidrólise (3,11%).

A capacidade de absorção de água e óleo é uma propriedade importante dos ingredientes proteicos, pois afeta a qualidade e a textura dos alimentos. A retenção de água é

um fator crítico na produção de alimentos viscosos, como sopas e massas e no processo de panificação. Por outro lado, a retenção de óleo é importante principalmente no processo de elaboração de embutidos, pois podem formar emulsões, unindo a água e a gordura na fabricação de produtos, por exemplo, de salsichas (Silva *et al.*, 2022).

Além das propriedades de absorção de óleo e água, os peptídeos bioativos derivados de subprodutos vegetais são de interesse especial devido às suas propriedades emulsificantes, que são atribuídas à sua natureza anfifílica. As estruturas anfifílicas dos peptídeos permitem reduzir a tensão interfacial e estabilizar a interface óleo/água (Görgüç, Gençdağ e Yılmaz, 2020).

A Figura 10, apresenta que todas as frações do hidrolisado proteico foram capazes de formar uma emulsão. Além disso, é possível afirmar que houve diferença estatística entre as frações do hidrolisado para as variáveis índice de atividade emulsificante (EAI) e índice de estabilidade da emulsão (ESI). A fração insolúvel apresentou a maior EAI (46,28 m<sup>2</sup>/g), enquanto a fração solúvel apresentou o menor valor médio (27,46 m<sup>2</sup>/g). Em relação a ESI a amostra mista se diferiu das demais apresentando maior estabilidade da emulsão (min).



**Figura 10** - Índice de atividade emulsificante (EAI) e o índice de estabilidade da emulsão (ESI) das frações do hidrolisado proteico da torta de castanha-do-brasil (HPCB). Letras diferentes indicam diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre as frações do hidrolisado.

Fonte: Autora (2024).

Daliri *et al.* (2021), estudaram as propriedades técnico-funcionais de hidrolisados obtidos pela ação da enzima pancreatina sobre proteínas de quinoa e verificaram que hidrolisados que apresentaram maiores valores de grau de hidrólise tiveram melhores propriedades emulsificantes (EAI 50 m<sup>2</sup>/g e ESI 76 min) em comparação com a proteína

nativa, mostrando que a hidrólise aumentou a atividade superficial dos hidrolisados potencializando sua utilização como emulsificante.

No entanto, Bozkurt *et al.* (2021), relataram que a hidrólise excessiva pode ter correlação com o baixo índice de estabilidade da emulsão (ESI), pois esse tipo de hidrólise gera peptídeos de baixo peso molecular que não são capazes de formar uma rede contínua entre as gotículas de óleo.

Dessa forma, os resultados encontrados no presente estudo podem ser atribuídos ao elevado valor de GH (15,40%), a sua alta carga superficial líquida, absorção de água, bem como aos seus aminoácidos hidrofóbicos.

### 5.8 Avaliação da atividade antioxidante das formulações de biscoitos com adição de farinha de pupunha e hidrolisado proteico de torta de castanha-do-brasil

Os resultados apresentados na Tabela 12, indicaram uma variação significativa ( $P < 0,05$ ) na atividade antioxidante, medida pela inibição do radical ABTS, que variou de 8,25 a 32,34  $\mu\text{M}$  de trolox/g de amostra entre os ensaios. A maior capacidade antioxidante avaliada por este protocolo foi observada no ensaio n.º 6 (Farinha de pupunha/trigo: 100/0%; Farinha de grão de bico: 50%; Hidrolisado: 50%), seguida pelo ensaio n.º 2 (Farinha de pupunha/trigo: 100/0%; Farinha de grão de bico: 0%; Hidrolisado: 50%), enquanto o ensaio n.º 3 (Farinha de pupunha/ trigo: 0/100%; Farinha de grão de bico: 0%; Hidrolisado: 0%) apresentou o menor valor médio.

**Tabela 12** - Compostos bioativos e atividade antioxidante de biscoitos com adição de farinha de pupunha e hidrolisado proteico de torta de castanha-do-brasil

Ensaio	ABTS ( $\mu\text{M}$ de trolox/g amostra)	DPPH %SRL	FRAP $\mu\text{M}$ de sulfato ferroso/g de amostra	Fenólicos (mg/100g de EAG)	Carotenóides ( $\mu\text{g/g}$ de carotenóides)
1	22,34 $\pm$ 0,69 <sup>c</sup>	48,52 $\pm$ 0,54 <sup>b</sup>	135,38 $\pm$ 0,99 <sup>a</sup>	280,36 $\pm$ 1,29 <sup>b</sup>	2900 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>
2	24,58 $\pm$ 1,31 <sup>b</sup>	51,49 $\pm$ 1,18 <sup>ab</sup>	69,04 $\pm$ 2,01 <sup>b</sup>	265,54 $\pm$ 0,97 <sup>d</sup>	2710 $\pm$ 0,51 <sup>b</sup>
3	8,25 $\pm$ 0,22 <sup>h</sup>	30,67 $\pm$ 0,45 <sup>fg</sup>	39,46 $\pm$ 0,48 <sup>efg</sup>	255,96 $\pm$ 0,98 <sup>e</sup>	450 $\pm$ 0,15 <sup>h</sup>
4	13,89 $\pm$ 0,44 <sup>fg</sup>	33,59 $\pm$ 2,30 <sup>ef</sup>	42,35 $\pm$ 0,59 <sup>e</sup>	258,73 $\pm$ 1,30 <sup>e</sup>	437 $\pm$ 0,12 <sup>h</sup>
5	21,12 $\pm$ 0,14 <sup>cd</sup>	41,68 $\pm$ 0,46 <sup>c</sup>	63,11 $\pm$ 0,56 <sup>c</sup>	315,91 $\pm$ 2,46 <sup>a</sup>	1760 $\pm$ 0,26 <sup>c</sup>
6	32,34 $\pm$ 0,47 <sup>a</sup>	53,70 $\pm$ 1,36 <sup>a</sup>	37,44 $\pm$ 0,21 <sup>gh</sup>	279,47 $\pm$ 0,53 <sup>b</sup>	1540 $\pm$ 2,64 <sup>d</sup>
7	12,89 $\pm$ 0,55 <sup>g</sup>	31,81 $\pm$ 0,60 <sup>fg</sup>	38,83 $\pm$ 1,85 <sup>fg</sup>	247,76 $\pm$ 1,90 <sup>f</sup>	600 $\pm$ 0,31 <sup>g</sup>
8	14,29 $\pm$ 0,75 <sup>fg</sup>	38,18 $\pm$ 0,89 <sup>d</sup>	41,98 $\pm$ 1,20 <sup>ef</sup>	246,28 $\pm$ 1,25 <sup>f</sup>	570 $\pm$ 0,40 <sup>g</sup>
9	19,60 $\pm$ 1,29 <sup>de</sup>	35,92 $\pm$ 1,80 <sup>de</sup>	59,40 $\pm$ 0,32 <sup>d</sup>	260,04 $\pm$ 0,17 <sup>e</sup>	1360 $\pm$ 0,82 <sup>e</sup>

10	18,45 ± 0,89 <sup>e</sup>	29,39 ± 1,39 <sup>g</sup>	34,18 ± 0,84 <sup>h</sup>	269,91 ± 2,74 <sup>c</sup>	1200 ± 0,31 <sup>f</sup>
11	15,30 ± 0,32 <sup>f</sup>	30,79 ± 0,50 <sup>g</sup>	62,87 ± 1,64 <sup>c</sup>	265,14 ± 0,58 <sup>e</sup>	1280 ± 0,17 <sup>ef</sup>

Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $p \leq 0,05$ ). Resultados expressos em média e  $\pm$  desvio padrão. Fonte: Autora (2024).

Durante a otimização de biscoitos ricos em fibras e proteínas, (Singh *et al.*, 2015), fizeram observações que se alinham com as descobertas do nosso estudo. Eles perceberam que a adição de proteína advinda de espirulina (uma alga azul-esverdeada) provocou um aumento na atividade antioxidante (avaliada por ABTS e DPPH) dos biscoitos elaborados com farinha de sorgo e espirulina em pó. Algumas proteínas podem atuar como antioxidante devido à sua capacidade de quelação de metais e de neutralização de radicais livre (Tan *et al.*, 2022).

Em relação ao sequestro de radicais livres (SRL%), os ensaios 2 e 6 não se diferiram estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ), apresentando os maiores valores médios (51,49 e 53,70% SRL) em comparação com os demais ensaios. Com base no protocolo DPPH, a farinha de pupunha (Tabela 5) demonstrou uma notável capacidade antioxidante com um valor de 11,13 g fruta/g DPPH. Isso sugere que a farinha de pupunha é eficaz na neutralização dos radicais livres.

Além disso, os biscoitos formulados a partir desta farinha, indicaram uma capacidade moderada de sequestrar radicais livres, destacando as propriedades antioxidantes da farinha de pupunha e dos biscoitos derivados dela, o que pode ter implicações benéficas para a saúde, como a prevenção de doenças crônicas relacionadas ao estresse oxidativo (Soares *et al.*, 2022).

Segundo Bazsefidpar *et al.* (2024), a adição de hidrolisado proteico de grão (subproduto da produção de cerveja), aos muffins resultou em um aumento significativo na capacidade antioxidante, sendo que, as formulações suplementadas mostraram uma capacidade de eliminação do radical DPPH seis vezes maior em comparação com o muffin controle.

Já a avaliação da capacidade antioxidante pelo método FRAP, mostrou que o ensaio n.º 1 (Farinha de pupunha/trigo: 100/0%; Farinha de grão de bico: 0%; Hidrolisado: 0%), apresentou maior capacidade antioxidante se diferenciando significativamente dos demais ensaios com 135,38  $\mu\text{M}$  de sulfato ferroso/g de amostra. Este resultado pode estar relacionado à concentração de farinha de pupunha presente nesta formulação.

Em relação aos fenólicos totais, o ensaio n.º 5 (Farinha de pupunha/trigo: 100/0%; Farinha de grão de bico: 50%; Hidrolisado: 0%), diferiu estatisticamente dos demais, apresentando o maior valor médio com 315,91mg/100g de EAG, sendo este valor maior do

que o encontrado na farinha de pupunha (263,47 mg/100g EAG) conforme a Tabela 5. No entanto, os ensaios 1 e 6 não diferiram significativamente ( $p \leq 0,05$ ), apresentando valores médios de 279,47 e 280,36 mg/100g de EAG, respectivamente. O ensaio 8 (Farinha de trigo/pupunha: 100/0%; Farinha de grão de bico: 50%; Hidrolisado: 50%) diferiu estatisticamente, apresentando o menor valor (246,28 mg/100g de EAG) em comparação com os demais ensaios.

Na análise de fenólicos totais o aumento de equivalentes de ácido gálico (EAG) em biscoitos pode estar relacionado principalmente a dois fatores: (1) à quebra das estruturas celulares, resultante do aquecimento da amostra, e à consequente libertação de compostos fenólicos que estavam ligados; ou (2) à formação de compostos semelhantes a fenol que podem ser quantificados como tal (Santos, Y. J. de S. *et al.*, 2023).

Como esperado os ensaios que foram adicionados farinha de pupunha apresentaram os melhores resultados para este parâmetro, no entanto as condições estabelecidas no ensaio 1 (Farinha de pupunha/trigo: 100/0%; Farinha de grão de bico: 0%; Hidrolisado: 0%) proporcionou a este o maior resultado com 2900  $\mu\text{g/g}$  de carotenóides totais, o qual se diferiu estatisticamente dos demais ensaios. Este resultado satisfatório e atribuído ao teor de carotenóides totais presente na farinha de pupunha (2980,00  $\mu\text{g/g}$  de carotenóides), o qual também se destacou na elaboração dos biscoitos, o que pode ter implicações benéficas para a saúde.

Chisté, *et al.* (2021), afirmaram que os carotenóides presente nos frutos e na farinha de pupunha são fontes significativas de  $\beta$ -caroteno pró-vitamina A e vicenina-2. No corpo humano, o  $\beta$ -caroteno é convertido em vitamina A, contribuindo para o fortalecimento do sistema imunológico e a prevenção de doenças degenerativas (Rolim e Andrade, 2022).

Quanto ao percentual proteico dos biscoitos observou-se que o ensaio n.º 8 (Farinha de pupunha/trigo: 0/100%; Farinha de grão de bico: 50%; Hidrolisado: 50%), se diferiu significativamente dos demais ensaios (Tabela 12). Já no ensaio n.º 1 (Farinha de pupunha/trigo: 100/0%; Farinha de grão de bico: 0%; Hidrolisado: 0%), as condições fornecidas fizeram com que este apresentasse o menor percentual proteico o que pode ser atribuído a presença da totalidade da farinha de pupunha que possui baixo teor proteico (4,82%). Entretanto, as combinações de ingredientes no ensaio n.º 6 (Farinha de pupunha/trigo: 100/0%; Farinha de grão de bico: 50%; Hidrolisado: 50%), proporcionaram um aumento significativo no teor proteico para o biscoito.

### 5.8.1 Análise de Variância (ANOVA) para atividade antioxidante e proteínas

Os dados experimentais das variáveis resposta foram submetidos à ANOVA com nível de significância de 95% para compreender o efeito dos fatores e suas interações nas variáveis dependentes conforme apresentado na Tabela 13.

Os modelos ajustados foram adequados apresentando regressão significativa, valores residuais baixos, sem falta de ajuste com coeficientes de determinação satisfatórios ( $R^2$  de 0,91, 0,74, 0,97, 0,98, 0,99 e 0,99) para a resposta da atividade antioxidante: ABTS, DPPH, fenólicos, carotenóides totais e proteína, respectivamente. Esses resultados indicaram a adequação do modelo no processo de otimização das formulações dos biscoitos.

**Tabela 13** - Análise de variância dos compostos bioativos, atividade antioxidante e do teor de proteína de biscoitos com adição de hidrolisado proteico de torta de castanha-do-Brasil

Fator	ABTS ( $\mu\text{M}$ de trolox/g amostra)					DPPH %SRL				
	SS	df	MS	F	p	SS	df	MS	F	p
(1) F. pupunha/F. trigo (%)	325,89*	1*	325,89*	66,76*	0,01*	467,26*	1*	467,26*	39,53*	0,02*
(2) C. Grão de bico (%)	16,76	1	16,76	3,38	0,21	0,15	1	0,15	0,01	0,92
(3) C. de hidrolisado (%)	52,53	1	52,53	10,60	0,08	73,69	1	73,69	6,23	0,13
1*2	0,28	1	0,28	0,06	0,83	13,42	1	13,42	1,14	0,40
1*3	5,15	1	5,15	1,04	0,42	4,06	1	4,06	0,34	0,62
2*3	2,81	1	2,81	0,57	0,53	19,53	1	19,53	1,65	0,33
1*2*3	21,85	1	21,85	4,41	0,17	3,92	1	3,92	0,33	0,62
Falta de ajuste	1,88	1	1,88	0,38	0,60	183,53	1	183,53	15,53	0,59
Erro Puro	9,91	2	4,96			23,64	2	11,82		
Total SS	437,67	10				789,20	10			
$R^2$	0,91					0,74				

Fator	FRAP $\mu\text{M}$ de sulfato ferroso/g de amostra					Fenólicos (mg/100g de EAG)				
	SS	df	MS	F	p	SS	df	MS	F	p
(1) F. pupunha/F. trigo (%)	325,90*	1*	325,90*	65,76*	0,01*	2196,19*	1*	2196,19*	90,14*	0,01*
(2) C. Grão de bico (%)	16,76	1	16,76	3,38	0,21	103,90	1	103,90	4,26	0,17
(3) C. de hidrolisado (%)	52,53	1	52,53	10,60	0,83	312,13	1	312,13	12,81	0,07
1*2	0,28	1	0,28	0,06	0,83	614,78*	1*	614,78*	25,23*	0,04*
1*3	5,15	1	5,15	1,04	0,42	345,19	1	345,19	14,17	0,06
2*3	2,81	1	2,81	0,57	0,53	83,66	1	83,66	3,43	0,21
1*2*3	21,85	1	21,85	4,41	0,17	37,72	1	37,72	1,55	0,34
Falta de ajuste	1,88	1	1,88	0,38	0,60	30,21	1	30,21	1,24	0,38
Erro Puro	9,91	2	4,96			48,73	2	24,36		
Total SS	437,07	10				3772,49	10			
$R^2$	0,97					0,98				

Fator	Carotenóides ( $\mu\text{g}$ /g de carotenóides)					Proteína (g/100g)				
	SS	df	MS	F	p	SS	df	MS	F	p
(1) F. pupunha/F.	5870451*	1*	5870451*	917,26*	0,00*	8,24	1	8,24	15,77	0,06

trigo (%)										
(2) C. Grão de bico (%)	513591*	1*	513591*	80,25*	0,01*	18,85*	1*	18,85*	36,07*	0,03*
(3) C. de hidrolisado (%)	25651	1	840456	4,01	0,18	66,36*	1*	66,36*	126,96*	0,01*
1*2	840456*	1*	16836*	131,32*	0,01*	4,12	1	4,12	7,88	0,11
1*3	16836	1	276	2,63	0,25	18,91*	1*	18,91*	36,18*	0,03*
2*3	276	1	21	0,04	0,85	1,60	1	1,60	3,65	0,22
1*2*3	21	1	180018	0,00	0,96	6,70	1	6,70	12,82	0,07
Falta de ajuste	180018	1	6400	2,82	0,24	1,28	1	1,28	2,45	0,26
Erro Puro	12800	2				1,05	2	0,52		
Total SS	7298101	10				127,10	10			
R <sup>2</sup>	0,99					0,99				

Coeficientes com \* são significativos  $p \leq 0,05$ . Fonte: Autora (2024).

Observou-se que o fator farinha de pupunha/trigo (100/0%) teve efeito significativo na resposta de neutralização dos radicais ABTS e DPPH, e na redução do ferro ( $Fe^{3+}$ ) a ferroso ( $Fe^{2+}$ ) pelo protocolo FRAP. No entanto, os fatores concentração de grão de bico e concentração de hidrolisado, bem como a interação entre elas não tiveram efeito significativo na resposta para a atividade antioxidante avaliada por estes protocolos.

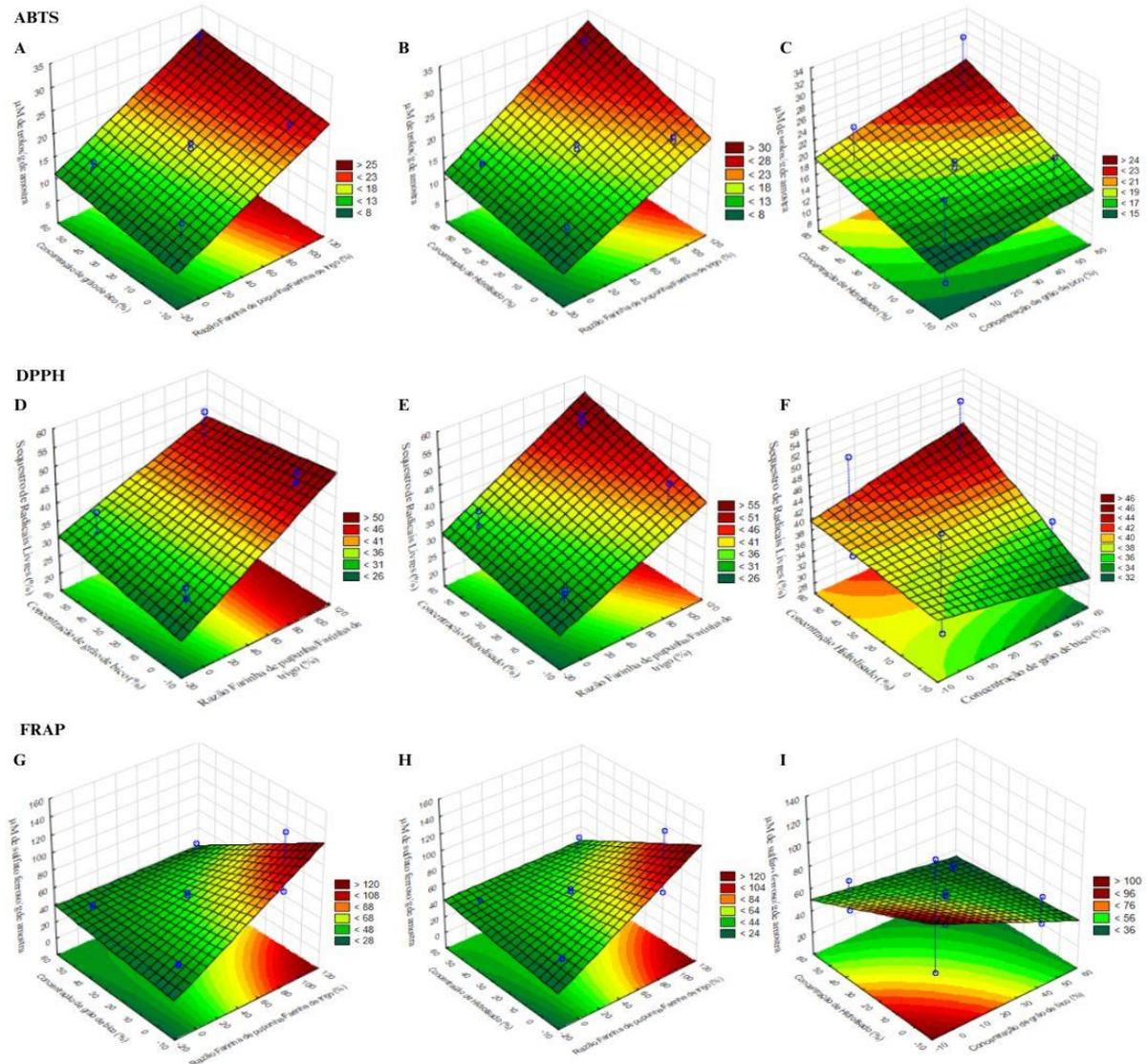
Através da análise de variância foi possível notar que a porcentagem de variação explicada ( $R^2$ ) pelo modelo foi consideravelmente relevante com valores de 91 e 97% para os protocolos ABTS e FRAP, respectivamente, sendo obtido um valor menor para o protocolo de DPPH cuja variação explicada foi de 74% ( $R^2$ ), já para fenólicos a porcentagem de variação explicada foi de 98% ( $R^2$ ). Para esta última variável resposta, observou-se que o fator farinha de pupunha/trigo teve efeito significativo ( $p \leq 0,05$ ), pode-se observar também que houve interação significativa entre os fatores farinha de pupunha/trigo (1) e concentração de grão de bico (2), no entanto, o fator concentração de hidrolisado proteico de torta de castanha do Brasil não apresentou significância na resposta para a variável teor de compostos fenólicos.

Em relação aos teores de carotenóides nos biscoitos pode-se observar que este foi influenciado significativamente ( $p \leq 0,05$ ), pelo fator relação farinha de pupunha/trigo (1), concentração de grão de bico (2) e pela interação entre os dois fatores (1 x 2).

Já o teor proteico dos biscoitos foi significativamente influenciado pelos fatores concentração de grão de bico (2) e concentração de hidrolisado proteico (3), bem como a interação entre a razão farinha de trigo/pupunha e concentração do hidrolisado proteico (2x3), e a variação explicada foi de 99% indicando um bom ajuste do modelo.

Os gráficos de superfície de resposta para o efeito da razão Farinha de pupunha/trigo, concentração de grão de bico e concentração de hidrolisado proteico, para atividade antioxidante determinada por diferentes protocolos são apresentados na Figura 11. A, B, C, D, E, F, G, H e I.

Pode-se observar que o principal efeito significativo para a mensuração da atividade antioxidante pelos três protocolos (ABTS, DPPH, FRAP) foi o fator relação farinha de pupunha/trigo (100/0%), percebe-se que todos os ensaios que foram adicionados farinha de pupunha apresentaram maior capacidade atividade antioxidante.

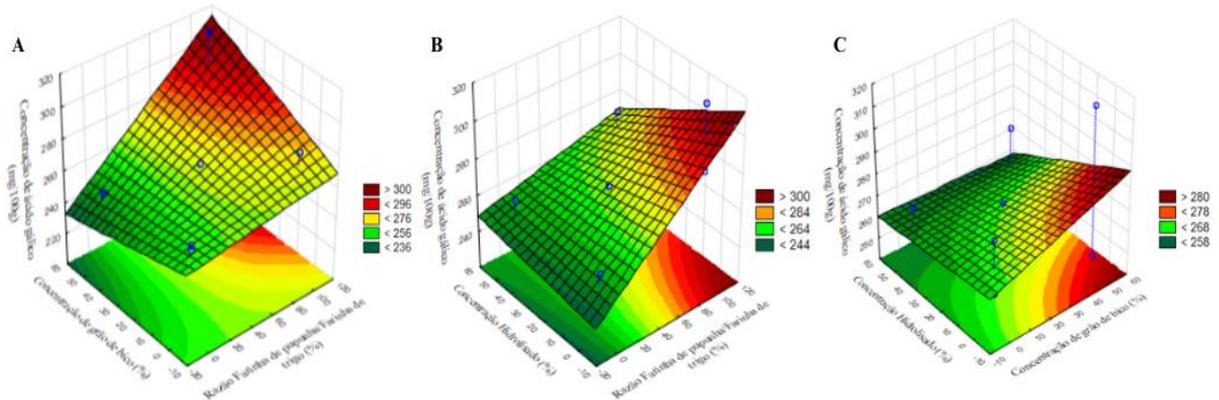


**Figura 11** - Superfície de resposta mostrando o efeito das razões: Concentração de grão de bico x farinha de pupunha/trigo; Concentração de hidrolisado x farinha de pupunha/trigo; Concentração de hidrolisado x concentração de grão de bico. A, B, C – ABTS µM de trolox/g; B – DPPH %SRL; G, H, I – FRAP µM de sulfato ferroso/g de amostra.

Fonte: Autora (2024).

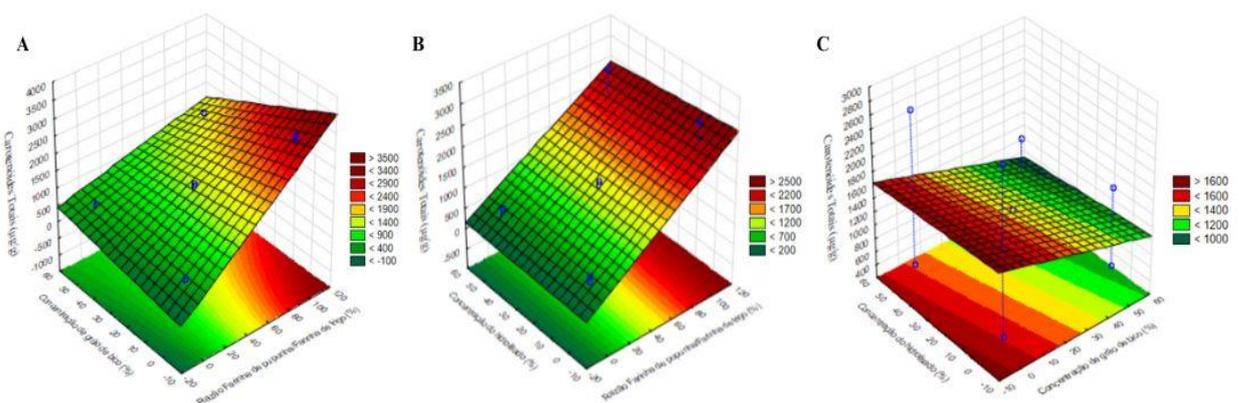
A farinha de pupunha é conhecida por sua qualidade antioxidante, e vários trabalhos têm abordado o potencial antioxidante presente no fruto pupunha, bem como na farinha obtida a partir do fruto (Chisté *et al.*, 2021b; Neri-Numa *et al.*, 2018; Peixoto Araujo *et al.*, 2021).

Através das Figuras 12. A, B, C e Figura 13. A, B, C, é possível afirmar que as concentrações de fenólicos (mg/100g de EAG) e de carotenóides totais ( $\mu\text{g/g}$  de carotenóides) nos biscoitos foram influenciadas pela razão de farinha de pupunha/trigo (100/0%) e de grão de bico (50%), bem como pela interação entre a farinha de pupunha e o grão de bico.



**Figura 12** - Superfície de resposta mostrando o efeito das razões: A - Concentração de grão de bico x farinha de pupunha/trigo (mg/100g de EAG); B - Concentração de hidrolisado x farinha de pupunha/trigo (mg/100g de EAG); C - Concentração de hidrolisado x concentração de grão de bico (mg/100g de EAG). Fonte: Autora (2024).

É possível notar que o teor de carotenóides aumentou proporcionalmente com a quantidade da farinha de pupunha. Além disso, é possível observar que a concentração de grão de bico também contribuiu no teor de carotenóides totais Fig. 13.

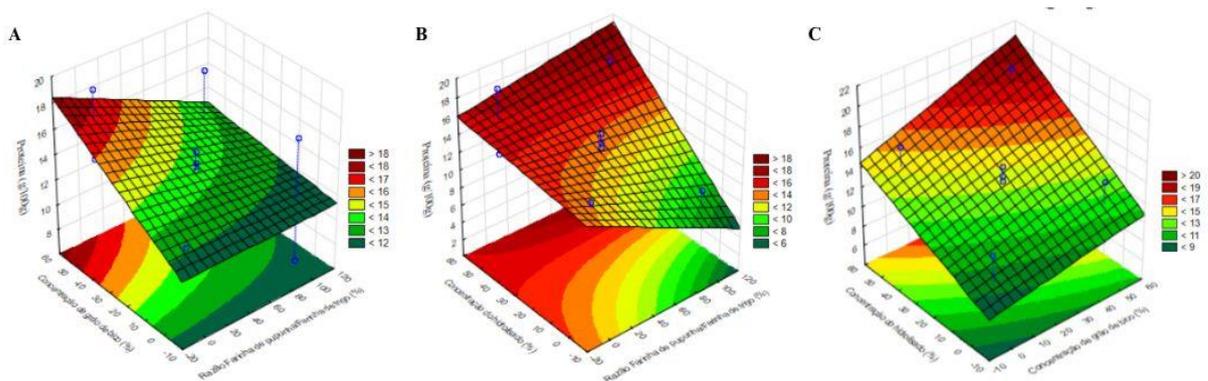


**Figura 13** - superfície de resposta mostrando o efeito das razões: A - Concentração de grão de bico, farinha de pupunha/trigo ( $\mu\text{g/g}$  de carotenóides); B - Concentração de hidrolisado, farinha de pupunha/trigo ( $\mu\text{g/g}$  de carotenóides); C - Concentração de hidrolisado, concentração de grão de bico ( $\mu\text{g/g}$  de carotenóides).

Carvalho *et al.* (2023), estudando diferentes formulações de produtos panificáveis substituindo farinha de trigo por farinha de pupunha (20% bolo, 30% biscoito, e 20% pão)

observaram que o biscoito que tinha a maior proporção de farinha de pupunha, apresentou um valor superior de carotenóides totais em comparação com os outros produtos panificáveis.

A Figura 14. A, B, C mostra a superfície de resposta para a variável proteína a qual foi influenciada pela concentração de grão de bico e concentração de hidrolisado e também pela interação entre a relação farinha de pupunha/trigo (100/0%) e concentração de hidrolisado proteico (50%).



**Figura 14** - Gráfico de superfície de resposta mostrando o efeito das razões: A - Concentração de grão de bico, farinha de pupunha/trigo (g/100g); B - Concentração de hidrolisado, farinha de pupunha/trigo (g/100g); C - Concentração de hidrolisado, concentração de concentração de grão de bico (g/100g).

O aumento da concentração de grão de bico e do hidrolisado proteico culminaram no aumento da proteína dos biscoitos, assim como a redução da farinha de pupunha também contribuiu para este resultado. Isso pode estar relacionado à maior quantidade de farinha de trigo usada, já que o farinha de trigo possui proteínas de qualidade, cuja quantidade varia de 8 a 16%, a qual afeta as propriedades da massa e a qualidade do produto final (Zhang *et al.*, 2022).

Segundo Adegoke, Oyekunle e Afolabi (2017), biscoitos com alto teor proteico, podem ser usados como alternativas de fácil acesso para superar a desnutrição proteico-calórica no mundo.

## 5.9 Composição nutricional de biscoitos com adição de hidrolisado proteico de torta de castanha-do-Brasil

Os resultados apresentados na Tabela 14 indicam uma variação significativa nos teores de umidade dos biscoitos entre os diferentes ensaios realizados, com valores variando de 1,00% a 6,00%. Apesar dessa variação, todos as formulações estão em conformidade com a

Resolução CNNPA n.º 12 de 1978 (Brasil, 1978) que estabelece um limite máximo de 14% de umidade para esse tipo de produto.

**Tabela 14** - Composição nutricional de biscoitos com adição de farinha de pupunha e hidrolisado proteico de castanha-do-brasil

Ensaio	Umidade %	Cinzas %	Lipídios %	Proteína %	Fibra Bruta	Carboidrato%	VET%
1	1,67 ± 0,11 <sup>bcd</sup>	4,00 ± 0,36 <sup>bc</sup>	10,33 ± 0,45 <sup>c</sup>	6,55 ± 0,19 <sup>g</sup>	5,33 ± 0,73 <sup>cd</sup>	72,00 ± 0,97 <sup>b</sup>	407,00 ± 1,16 <sup>bcd</sup>
2	2,33 ± 0,38 <sup>bc</sup>	4,67 ± 0,44 <sup>ab</sup>	14,00 ± 0,16 <sup>a</sup>	16,32 ± 0,00 <sup>bc</sup>	6,33 ± 0,81 <sup>c</sup>	56,33 ± 0,88 <sup>f</sup>	419,00 ± 3,98 <sup>a</sup>
3	6,00 ± 0,01 <sup>a</sup>	3,00 ± 0,03 <sup>d</sup>	4,00 ± 0,02 <sup>e</sup>	12,05 ± 0,32 <sup>e</sup>	1,33 ± 0,75 <sup>f</sup>	73,00 ± 0,87 <sup>ab</sup>	380,67 ± 2,94 <sup>f</sup>
4	2,67 ± 0,44 <sup>b</sup>	3,33 ± 0,12 <sup>cd</sup>	5,00 ± 0,06 <sup>de</sup>	12,01 ± 0,10 <sup>e</sup>	1,00 ± 0,01 <sup>f</sup>	75,33 ± 0,39 <sup>a</sup>	397,67 ± 1,41 <sup>de</sup>
5	2,67 ± 0,61 <sup>b</sup>	4,00 ± 0,35 <sup>bc</sup>	10,33 ± 0,31 <sup>c</sup>	9,12 ± 0,33 <sup>f</sup>	6,00 ± 0,14 <sup>cd</sup>	67,67 ± 0,46 <sup>c</sup>	402,00 ± 1,19 <sup>cd</sup>
6	1,33 ± 0,28 <sup>cd</sup>	5,00 ± 0,02 <sup>a</sup>	11,67 ± 0,37 <sup>b</sup>	17,02 ± 0,22 <sup>b</sup>	18,67 ± 0,45 <sup>a</sup>	46,00 ± 0,85 <sup>g</sup>	358,67 ± 1,07 <sup>g</sup>
7	2,33 ± 0,36 <sup>bc</sup>	3,00 ± 0,00 <sup>d</sup>	6,00 ± 0,02 <sup>d</sup>	13,83 ± 0,66 <sup>d</sup>	2,67 ± 1,00 <sup>ef</sup>	72,33 ± 1,99 <sup>ab</sup>	398,00 ± 1,17 <sup>de</sup>
8	1,00 ± 0,15 <sup>d</sup>	4,00 ± 0,01 <sup>bc</sup>	9,67 ± 0,17 <sup>c</sup>	19,24 ± 0,76 <sup>a</sup>	3,00 ± 0,09 <sup>ef</sup>	63,00 ± 0,98 <sup>de</sup>	415,00 ± 0,69 <sup>ab</sup>
9	2,00 ± 0,35 <sup>bcd</sup>	4,00 ± 0,01 <sup>bc</sup>	10,00 ± 0,13 <sup>c</sup>	13,91 ± 0,38 <sup>d</sup>	8,67 ± 1,44 <sup>b</sup>	61,00 ± 1,55 <sup>e</sup>	390,33 ± 0,68 <sup>ef</sup>
10	2,00 ± 0,09 <sup>bcd</sup>	4,00 ± 0,01 <sup>bc</sup>	10,33 ± 0,10 <sup>c</sup>	14,81 ± 0,21 <sup>cd</sup>	5,67 ± 0,82 <sup>cd</sup>	63,00 ± 0,97 <sup>de</sup>	406,00 ± 0,13 <sup>bcd</sup>
11	2,00 ± 0,10 <sup>bcd</sup>	4,00 ± 0,01 <sup>bc</sup>	10,00 ± 0,10 <sup>c</sup>	13,38 ± 0,41 <sup>d</sup>	4,00 ± 0,10 <sup>de</sup>	65,00 ± 0,14 <sup>cd</sup>	409,00 ± 0,24 <sup>abc</sup>

Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $p \leq 0,05$ ). Resultados expressos em média e  $\pm$  desvio padrão. Fonte: Autora (2024).

Em relação ao teor de cinzas os ensaios 2 e 6 não se diferiu estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ), apresentando os maiores valores médios (5,00 e 4,67%) em comparação com os demais ensaios.

As condições estabelecidas no ensaio n.º. 06 (Farinha de trigo/pupunha: 0/100%; Farinha de grão de bico: 50%; Hidrolisado: 50%) e no ensaio 2 (Farinha de pupunha/ trigo: 100/0%; Farinha de grão de bico: 0%; Hidrolisado: 50%) proporcionaram a estes ensaios o maior percentual de cinzas. Este aumento no teor de cinzas pode estar relacionado a interação entre os ingredientes utilizados, principalmente a adição do hidrolisado que se destaca pela concentração de minerais.

Quanto ao teor de lipídios observou-se que a formulação 2 apresentou valor significativamente superior aos demais ensaios (14%). De acordo com a IN 75 de 2020, a maioria dos ensaios se classifica como de baixo teor de gorduras totais, pois atendem ao critério estabelecido de 3g de gordura na porção de referência (30g) (Brasil, 2020), entretanto os ensaios 2 e 6 não atenderam a este critério.

Com relação ao percentual proteico o ensaio 8 se diferiu estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ) dos demais ensaios, com valor médio de 19,24% de proteína. No entanto, os ensaios 2 e 6 não

apresentaram diferenças significativas, os quais também apresentaram valores satisfatórios (16,32 e 17,02%). As condições estabelecidas no ensaio 1 (Farinha de pupunha/ trigo: 100/0%; Farinha de grão de bico: 0%; Hidrolisado: 0%) proporcionaram a este o menor teor proteico (6,55%) o qual se diferiu estatisticamente dos demais ensaios. Observa-se que o aumento de proteínas nas formulações dos biscoitos é advindo da adição de hidrolisado proteico de torta de castanha-do-brasil e da farinha de grão de bico.

A ingestão diária recomendada (IDR) de proteínas para um adulto saudável é de 50g, um alimento é considerado fonte de proteína se atende ao mínimo de 10% do VDR, alto em proteína se atende ao mínimo de 20% do VDR, e aumentado em proteína se atende acima de 25% do VDR, de acordo com a IN 75 de 8 de outubro de 2020. Portanto, uma porção de 30g dos biscoitos dos ensaios 2, 6 e 8 é considerada fonte de proteínas, pois atendem ao mín. de 10% do VDR. No entanto, uma porção de 100g dos biscoitos (ensaios 2, 6, 7, 8, 9, 10 e 11) é considerado aumentado em proteínas, pois atendem acima do mín. de 25% do VDR (Brasil, 2020).

De acordo com os valores encontrados para os teores de fibra bruta, observou-se que o ensaio 6 se diferiu significativamente ( $p \leq 0,05$ ) dos demais, e apresentou um valor médio de 18,67%. Segundo a instrução normativa, IN nº 75, de 08 de outubro de 2020 quando um alimento apresenta a cada 100 gramas, 3 gramas de fibra alimentar ou 2,5 gramas por porção, ele é considerado uma fonte de fibra. Considerando a recomendação dietética de no mínimo 25g/dia, o biscoito do ensaio 6 possui um alto conteúdo de fibra atendendo a 22% do valor diário de referência na porção de 30g do biscoito (VDR) (Brasil, 2020).

Observou-se uma ampla variação nos teores de carboidratos, com valores variando de 46,00 a 75,33%. Os ensaios 3, 4 e 7 apresentaram maiores valores médios, não se diferenciando estatisticamente. Por outro lado, o ensaio 02 apresentou os menores valores médios se diferenciando estatisticamente das demais formulações. A variação nos valores de carboidratos pode ser atribuída à quantidade de nutrientes presentes em cada ensaio, uma vez que o valor deste parâmetro foi obtido por diferença.

Em relação ao valor calórico, o ensaio 2 se diferiu estatisticamente das demais formulações apresentando o maior valor médio (419 Kcal). Por outro lado, o ensaio 6 também se diferenciou significativamente ( $p \leq 0,05$ ) porém com o menor valor médio (358 Kcal).

É importante notar que o valor energético dos biscoitos é influenciado pelos três principais macronutrientes encontrados: lipídeos, proteínas e carboidratos. Dentre esses, o teor lipídico exerce a maior influência sobre esse valor. No entanto, ao avaliar o valor calórico de um biscoito, é importante considerar sua qualidade nutricional, além das calorias. Portanto os

ensaios 2, 6, e 8 são os que apresentaram melhores características nutricionais, podendo ser apontado como uma boa fonte nutricional e funcional.

### 5.9.1 Coloração

A coloração de qualquer alimento tem grande influência na percepção do consumidor ao escolher um produto, portanto é essencial avaliar como o ajuste de uma formulação afeta os parâmetros colorimétricos (Aboshora *et al.*, 2019).

**Tabela 15** - Parâmetros colorimétricos (CIELAB) de biscoitos com adição de farinha de pupunha e hidrolisado proteico de torta de castanha-do-brasil

Ensaio	L	a*	b*	C	h°
1	60,33 ± 1,54 <sup>e</sup>	12,67 ± 1,85 <sup>a</sup>	30,00 ± 1,94 <sup>b</sup>	33,00 ± 2,13 <sup>a</sup>	69,00 ± 1,82 <sup>cd</sup>
2	68,00 ± 1,68 <sup>d</sup>	12,33 ± 1,22 <sup>a</sup>	26,67 ± 1,98 <sup>c</sup>	29,33 ± 1,44 <sup>b</sup>	68,33 ± 0,51 <sup>d</sup>
3	72,00 ± 0,55 <sup>abc</sup>	5,67 ± 1,11 <sup>c</sup>	22,00 ± 0,42 <sup>de</sup>	23,00 ± 0,16 <sup>ef</sup>	77,00 ± 0,95 <sup>a</sup>
4	72,00 ± 1,30 <sup>abc</sup>	8,00 ± 1,00 <sup>bc</sup>	21,00 ± 0,20 <sup>e</sup>	22,00 ± 0,80 <sup>f</sup>	73,33 ± 0,56 <sup>b</sup>
5	67,33 ± 1,14 <sup>d</sup>	12,00 ± 2,08 <sup>a</sup>	33,67 ± 0,42 <sup>a</sup>	35,67 ± 0,79 <sup>a</sup>	68,33 ± 1,61 <sup>d</sup>
6	68,66 ± 0,43 <sup>cd</sup>	10,67 ± 0,61 <sup>ab</sup>	26,67 ± 1,55 <sup>c</sup>	28,67 ± 1,66 <sup>bc</sup>	68,33 ± 0,35 <sup>d</sup>
7	70,00 ± 0,67 <sup>bcd</sup>	7,67 ± 1,16 <sup>bc</sup>	25,00 ± 1,17 <sup>cd</sup>	26,00 ± 1,04 <sup>cde</sup>	71,67 ± 1,40 <sup>bc</sup>
8	74,00 ± 0,96 <sup>a</sup>	7,00 ± 0,50 <sup>bc</sup>	22,33 ± 0,56 <sup>de</sup>	23,67 ± 0,57 <sup>def</sup>	73,00 ± 1,16 <sup>b</sup>
9	72,00 ± 1,80 <sup>abc</sup>	6,67 ± 0,94 <sup>c</sup>	26,00 ± 1,18 <sup>c</sup>	27,00 ± 1,00 <sup>bc</sup>	73,67 ± 0,35 <sup>b</sup>
10	72,66 ± 1,32 <sup>ab</sup>	8,00 ± 1,19 <sup>bc</sup>	25,00 ± 0,62 <sup>cd</sup>	26,33 ± 0,57 <sup>bcd</sup>	73,67 ± 1,02 <sup>b</sup>
11	72,33 ± 0,42 <sup>abc</sup>	9,33 ± 1,21 <sup>abc</sup>	26,00 ± 0,75 <sup>c</sup>	27,67 ± 0,55 <sup>bc</sup>	73,33 ± 0,59 <sup>b</sup>

L: Luminosidade (0 – preto e 100 – branco); a\*: verde/vermelho; b\*: azul/amarelo; C: Cromaticidade (saturação da cor); h°: Ângulo Hue. Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $p \leq 0,05$ ). Resultados expressos em média e  $\pm$  desvio padrão. Fonte: Autora (2024).

Diferenças significativas foram observadas entre os ensaios dos biscoitos para todos os parâmetros de cor L\*, a\*, b\*, c\* e h° (Tabela 15). Observou-se que o ensaio 8 se diferiu estatisticamente dos demais, o qual obteve um valor médio de 74,00. No entanto os ensaios 3, 4, 9, 10 e 11 (72,00, 72,00, 72,00, 72,33, 72,66) não apresentaram diferenças significativas ( $p \leq 0,05$ ).

A luminosidade (L\*) de uma amostra de produto alimentício pode ser caracterizada por meio de uma escala que varia de 0 (preto) à 100 (branco) (Konica Minolta, 1998). Diante dos dados obtidos para esse parâmetro, os ensaios dos biscoitos com adição de hidrolisado

proteico de torta de castanha-do-Brasil, apresentaram valores de luminosidade na faixa moderada.

Para a coordenada  $a^*$ , não houve diferença estatística significativa entre os ensaios 1, 2, 5 e 6, sendo, portanto, as formulações que apresentou maior valor médio para esta coordenada (12,67, 12,33, 12,00 e 10,67), apresentando uma leve tonalidade avermelhada.

Em relação à coordenada  $b^*$ , o ensaio 5 se diferiu significativamente ( $p \leq 0,05$ ) dos demais ensaios, no entanto os ensaios 2, 6, 7 e 9 não apresentaram diferenças significativas. Os valores positivos de  $b^*$  indicam a cor amarela, todos os ensaios apresentaram valores positivos, com uma variação média de 33,67 a 21,00  $b^*$ , portanto todas as formulações tem uma tonalidade amarelada.

Em relação aos valores obtidos para o  $C^*$  (cromaticidade) que indica saturação da cor, ou seja, a intensidade da cor, os ensaios 1 e 5 não se diferiram estatisticamente ( $p \leq 0,05$ ), apresentando os maiores valores médios (35,67 e 33,00), em sequência os ensaios 2 e 6 (29,33 e 28,67), os quais também não apresentaram diferença significativas ( $p \leq 0,05$ ).

Para o ângulo Hue ( $h^\circ$ ) o ensaio n.º 3 se diferiu significativamente ( $p \leq 0,05$ ) dos demais ensaios, no entanto os ensaios 4, 8, 9, 10 e 11 não se diferiram estatisticamente. Segundo o sistema CIELAB, se o ângulo Hue estiver entre  $0^\circ$  e  $90^\circ$ , quanto mais próximo ao  $0^\circ$  mais vermelho, e quanto mais próximo ao  $90^\circ$  mais amarelo. De acordo com a Tabela 15, o biscoito do ensaio n.º 3 e o mais amarelo ( $77^\circ$ ), seguido dos ensaios 4, 8, 9, 10 e 11 ( $73,33$ ;  $73,00$ ;  $73,67$ ;  $73,67$  e  $73,33^\circ$ ), enquanto os biscoitos dos ensaios 1, 2, 5 e 6 ( $69,00$ ;  $68,33$ ;  $68,33$  e  $68,33^\circ$ ) tendem a cor laranja pois o ângulo Hue está em um ponto que mistura as cores amarela e vermelho, sendo amarelo a cor predominante.

Os resultados indicaram que todos os biscoitos que tinham a presença de farinha de pupunha exibiram tonalidade de amarelo mais intenso tendendo ao laranja, provavelmente influenciados pelas concentrações de carotenoide, o que é interesse para a produção de alimentos. A diferença entre a cor dos biscoitos também pode ser observada na Figura 15.

Martínez-girón, Figueroa-Molano e Ordóñez-Santos (2017), avaliaram a cor e a aceitação de bolos com diferentes concentrações de farinha de casca de pupunha (2,5 a 10%) comparando com o controle que usou corante tartrazina e encontraram que a adição da farinha afetou significativamente as variáveis de cor ( $CIE-L^*a^*b^*$ ) dos bolos, além de aumentar o teor de carotenóides das formulações, possuindo boa aceitação sensorial.



**Figura 15** - Aspecto visual das formulações de biscoitos com adição de hidrolisado proteico de torta de castanha do Brasil. Autora (2024).

### 5.10 Perfil de minerais de biscoitos com adição de farinha de pupunha e hidrolisado proteico de torta de castanha-do-Brasil

Todos os dias, as pessoas precisam de mais de 20 elementos minerais (macro e micronutrientes) para a manutenção da saúde e do funcionamento adequado dos órgãos (Wojdyto, 2022). O perfil de minerais dos biscoitos está apresentado na Tabela 16.

**Tabela 16** - Perfil de minerais de biscoitos com adição de farinha de pupunha e hidrolisado proteico de torta de castanha do Brasil

Ensaio	N (g/Kg)	P (g/Kg)	K (g/Kg)	Ca (g/kg)	Mg (g/kg)	S (g/Kg)
1	10,67±0,26 <sup>e</sup>	1,00±0,07 <sup>d</sup>	8,00±0,17 <sup>bc</sup>	0,33±0,23 <sup>bc</sup>	1,00±0,01 <sup>c</sup>	1,00±0,07 <sup>d</sup>
2	25,00 ±0,12 <sup>c</sup>	6,00±0,04 <sup>a</sup>	9,00±0,32 <sup>ab</sup>	1,00±0,08 <sup>ab</sup>	3,00±0,02 <sup>a</sup>	3,00±0,06 <sup>a</sup>
3	20,33±0,38 <sup>d</sup>	1,33±0,04 <sup>cd</sup>	3,00±0,09 <sup>e</sup>	0,21±0,09 <sup>c</sup>	1,00±0,0 <sup>c</sup>	1,00±,08 <sup>d</sup>
4	21,00±0,4 <sup>d</sup>	1,00±0,0 <sup>d</sup>	3,00±0,0 <sup>e</sup>	0,13±0,0 <sup>c</sup>	1,00±0,0 <sup>c</sup>	1,00±0,10 <sup>d</sup>
5	18,33±0,99 <sup>d</sup>	2,00±0,11 <sup>c</sup>	8,00±0,16 <sup>bc</sup>	1,00±0,05 <sup>ab</sup>	1,00±0,01 <sup>c</sup>	1,00±0,06 <sup>d</sup>
6	29,67±0,24 <sup>b</sup>	6,00±0,14 <sup>a</sup>	9,67±0,31 <sup>a</sup>	1,67±0,27 <sup>a</sup>	3,00±0,05 <sup>a</sup>	2,67±0,44 <sup>ab</sup>
7	24,67±0,72 <sup>c</sup>	2,00±0,03 <sup>c</sup>	4,00±0,13 <sup>e</sup>	0,33±0,08 <sup>bc</sup>	1,00±0,02 <sup>c</sup>	1,33±0,16 <sup>cd</sup>
8	34,33±0,37 <sup>a</sup>	6,00±0,15 <sup>a</sup>	6,33±0,14 <sup>d</sup>	1,00±0,21 <sup>ab</sup>	3,00±0,05 <sup>a</sup>	2,67±0,10 <sup>ab</sup>
9	27,00±0,95 <sup>bc</sup>	4,00±0,04 <sup>b</sup>	7,00±0,20 <sup>cd</sup>	1,00±0,12 <sup>ab</sup>	2,00±0,06 <sup>b</sup>	2,00±0,13 <sup>bc</sup>
10	26,67±0,38 <sup>bc</sup>	4,33±0,08 <sup>b</sup>	7,33±0,44 <sup>cd</sup>	1,00±0,10 <sup>ab</sup>	2,00±0,02 <sup>b</sup>	2,00±0,06 <sup>bc</sup>
11	26,33±0,41 <sup>c</sup>	4,00±0,14 <sup>b</sup>	6,67±0,75 <sup>d</sup>	1,00±0,08 <sup>ab</sup>	2,00±0,06 <sup>b</sup>	2,00±0,16 <sup>bc</sup>
Ensaio	B (mg/kg)	Cu (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Fe (mg/kg)	Na (mg/kg)

1	ND	ND	7,00±0,64 <sup>g</sup>	9,00±1,23 <sup>e</sup>	55,33±0,53 <sup>f</sup>	7858,33±1,01 <sup>b</sup>
2	ND	11,00±0,16 <sup>b</sup>	9,33±0,38 <sup>f</sup>	33,00±0,44 <sup>abc</sup>	69,33±0,61 <sup>e</sup>	6103,67±0,87 <sup>d</sup>
3	ND	ND	9,33±0,41 <sup>f</sup>	17,00±1,23 <sup>de</sup>	94,67±1,41 <sup>bc</sup>	8965,33±0,52 <sup>a</sup>
4	ND	ND	9,33±0,19 <sup>f</sup>	14,00±0,07 <sup>de</sup>	95,66±1,15 <sup>b</sup>	8790,00±0,58 <sup>a</sup>
5	ND	1,00±0,08 <sup>e</sup>	19,00±1,16 <sup>ab</sup>	19,00±0,15 <sup>de</sup>	78,67±0,20 <sup>de</sup>	6561,00±0,58 <sup>c</sup>
6	ND	12,00±0,38 <sup>a</sup>	16,33±0,78 <sup>cd</sup>	41,00±0,26 <sup>ab</sup>	78,67±0,80 <sup>de</sup>	5423,67±1,19 <sup>e</sup>
7	ND	ND	20,00±0,80 <sup>a</sup>	23,33±0,92 <sup>cd</sup>	93,33±0,29 <sup>bc</sup>	6627,33±0,04 <sup>c</sup>
8	ND	9,67±0,31 <sup>c</sup>	17,67±0,66 <sup>bc</sup>	43,00±0,34 <sup>a</sup>	107,33±0,06 <sup>a</sup>	5291,33±0,62 <sup>e</sup>
9	ND	6,33±0,36 <sup>d</sup>	15,00±0,29 <sup>e</sup>	36,67±0,50 <sup>ab</sup>	80,33±0,97 <sup>d</sup>	6463,67±0,58 <sup>cd</sup>
10	ND	6,67±0,41 <sup>d</sup>	15,00±0,12 <sup>e</sup>	32,67±0,91 <sup>bc</sup>	87,00±0,58 <sup>cd</sup>	6548,67±0,03 <sup>c</sup>
11	ND	6,00±0,08 <sup>d</sup>	15,33±0,64 <sup>e</sup>	38,33±1,53 <sup>ab</sup>	84,67±0,38 <sup>bcd</sup>	6334,33±0,06 <sup>cd</sup>

\*ND – Não identificado. Letras iguais na mesma coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância ( $p \leq 0,05$ ). Resultados expressos em média e  $\pm$  desvio padrão. Fonte: Autora (2024).

Comparando a composição mineral das formulações (Tabela 16), nota-se que os ensaios 2 (25,00 g/kg de N; 6,00 g/kg de P; 9,00 g/kg de K; 1,00 g/kg de Ca; 3,00 g/kg de Mg; 3,00 g/kg de S; 11,00 mg/kg de Cu; 9,33 mg/kg de Zn; 69,33 mg/kg de Fe; 6103,67 mg/kg de Na) , 6 (29,67 g/kg de N; 6,00 g/kg de P; 9,67 g/kg de K; 1,67 g/kg de Ca; 3,00 g/kg de Mg; 2,67 g/kg de S; 12,00 mg/kg de Cu; 16,33 mg/kg de Mn; 41,00 mg/kg de Zn; 78,67 mg/kg de Fe; 5428,67 mg/kg de Na) e 8 (4,33 g/kg de N; 6,00 g/kg de P; 6,33 g/kg de K; 1,00 g/kg de Ca; 3,00 g/kg de Mg; 2,67 g/kg de S; 9,67 mg/kg de Cu; 17,67 mg/kg de Mn; 69,33 mg/kg de Zn; 107,33 mg/kg de Fe; 6103,67 mg/kg de Na) apresentaram concentrações mais elevadas para a maioria dos elementos quantificados, observa-se que estes ensaios foram enriquecidos com a adição do hidrolisado.

No grupo dos microminerais, o ferro e o zinco se destacam por suas concentrações satisfatórias em todos os ensaios. Na Tabela 16 pode-se observar que o ferro se diferiu significativamente em todas as formulações, sendo o ensaio 8 que apresentou a maior concentração desse mineral (107,33 mg/kg), no entanto para o zinco observou-se que algumas formulações não se diferiram significativamente ( $p \leq 0,05$ ), sendo o ensaio 8 que apresentou maior concentração de zinco com 43,00 mg/kg.

A presença de ferro nas formulações dos biscoitos é de grande valor, uma vez que a falta desse mineral e problema de saúde pública mundial, a deficiência de ferro leva à anemia, e muitos países usam estratégias de fortificação de farinhas com ferro a fim de reduzir a deficiência de ferro e a anemia causada pela baixa ingestão de ferro biodisponível (Cardoso *et al.*, 2019).

Em relação a importância do zinco na alimentação, este mineral está envolvido em diversos processos biológicos do corpo, e uma das principais preocupações da deficiência de

zinco está relacionada ao atraso no crescimento de crianças (Ahmad, Ahmed e Abbas, 2022). Estratégias de suplementação de alimentos de fácil acesso a população vem sendo desenvolvidos: pão francês (Rebellato *et al.*, 2017), biscoito recheado (Sadaat *et al.*, 2023), pães e biscoitos (Agrahar-Murugkar, 2020) farinha de milho e de trigo (Cardoso *et al.*, 2019).

Como pode ser observado na Tabela 16, às combinações dos ingredientes (farinha de pupunha, farinha de trigo, farinha de grão de bico e hidrolisado proteico) realizadas no DCCR em busca da melhor formulação para o biscoito, proporcionaram um aumento significativo de minerais para os ensaios 2, 6 e 8.

Agrahar-Murugkar (2020), ao avaliar a substituição da farinha de trigo por milheto maltado, oleaginosas, especiarias e ervas para melhorar a composição mineral de pães e biscoitos observou que as modificações alteraram significativamente as quantidades de minerais totais e bioacessíveis no produto final.

Na Tabela 17, estão apresentados os valores da RDA (Dose Dietética Recomendada) para indivíduos saudáveis com idade 19–50 (masculino e feminino), de acordo com as diretrizes RDA de 2023 e da IN 75 de 2020.

**Tabela 17** - Teor Mineral nos Biscoitos e Atendimento às Necessidades Diárias de Minerais após o Consumo de Porções de 30g e 100g

Ensaio	RDA% (Porção de 30g)*								
	P	K	Ca	Mg**	S	Cu	Mn**	Zn**	Fe**
2	25,71	7,69	3,00	22,50/29,03	12,86	36,67	12,17/15,55	9,00/12,38	26,00/11,56
6	25,71	8,26	5,01	22,50/29,03	11,44	40,00	21,30/27,22	11,18/15,38	29,50/13,11
8	25,71	5,41	3,00	22,50/29,03	11,44	32,23	23,05/29,45	11,73/16,13	40,25/17,89
Ensaio	RDA% (Porção de 100g)*								
	P	K	Ca	Mg**	S	Cu	Mn**	Zn**	Fe**
2	85,71	25,64	10,00	75,00/96,77	42,86	122,22	40,57/51,83	30,00/41,25	86,66/38,52
6	85,71	27,55	16,70	75,00/96,77	38,14	133,33	71,00/90,72	37,27/51,25	98,34/43,71
8	85,71	18,03	10,00	75,00/96,77	38,14	107,44	76,83/98,17	39,09/53,75	134,16/59,63

\* Dose diária recomendada [mg/pessoa/dia] com base RDA e IN 75 de 2020, \*\*Homem/mulher.

Fonte: Autora, 2024.

Uma porção de 30g de biscoito dos ensaios 2, 6 e 8 pode fornecer desde um mínimo de 7,69 até 8,26% da RDA de potássio, 22,50% de magnésio nos três ensaios, e de 3,00 até 5,01% da RDA de cálcio. No caso do ferro e do zinco a quantidade diária de ingestão é diferente para homem e mulher, os biscoitos atendem desde o mínimo de 26,00 até 40,25% de ferro e de 9,00 até 11,73% de zinco da RDA para homem, no caso das mulheres o percentual é de 11,56 até 17,89% de ferro e de 12,38 até 16,13% de zinco.



As formulações F2 e F6 agruparam principalmente em função das variáveis Fenólicos, carotenóides, croma, b, a, DPPH, ABTS, lipídios, cinzas, k, Ca, fibras que apresentaram correlação positiva com PC1 (Figura 16. A). Este agrupamento sugere uma notável similaridade entre essas formulações, sendo que a presença de compostos bioativos, como Fenólicos Totais e Carotenóides, destaca o potencial antioxidante, enquanto as variáveis relacionadas à cor (Croma, b\*, a\*) e Lipídeos indicam características sensoriais fundamentais, tais como cor e textura.

Foi observado que as amostras F11, F10, F9 e F8 compartilham um posicionamento conjunto no quadrante 2 do mapa bidimensional de PCA, indicando similaridades principalmente com relação aos teores de Mn, N, Proteína, Zn, S, P, Mg, Cu.

A amostra F8 se destaca devido a valores particularmente elevados de Proteínas associados à fonte original da matéria-prima (farinha de trigo) ou a suplementação com o hidrolisado proteico de torta de castanha-do-brasil.

Hierarchical cluster analysis (HCA) é uma técnica utilizada para identificar grupos de amostras com características semelhantes com base nas características ou medidas observadas nos dados. Diferentes parâmetros podem ser utilizados para medir e agrupar esta similaridade (Barros, de *et al.*, 2021). Na Figura 16. B, é possível observar que as formulações de biscoito com adição de hidrolisado proteico de torta de castanha-do-Brasil foram agrupadas de acordo com suas semelhanças, mostrado no dendrograma resultante.

Na Análise Hierárquica de Cluster (HCA), as amostras foram agrupadas considerando a distância euclidiana, revelando padrões distintos entre as formulações de biscoitos. O agrupamento das amostras F5 e F1 sugere similaridade entre essas formulações, indicando compartilhamento de características específicas. Da mesma forma, as amostras F7, F4 e F3 foram agrupadas, denotando uma afinidade notável entre essas fórmulas. O agrupamento conjunto das amostras F6 e F2 destaca uma similaridade singular, sugerindo características comuns. Por fim, as amostras F8, F9, F11 e F10 formaram um agrupamento, indicando que essas formulações apresentam características mais semelhantes entre si em comparação com as demais. A distância euclidiana, ao ser utilizada como métrica, revelou-se uma ferramenta eficaz para identificar padrões de similaridade e dissimilaridade entre as formulações de biscoitos, fornecendo insights valiosos para a compreensão das relações entre as variáveis analisadas e as características distintivas das amostras. Em suma, o PCA e análise hierárquica de cluster corroboram, de forma mais intuitiva, os resultados dos testes de médias discutidos anteriormente.

## 6 CONCLUSÕES

A composição nutricional da farinha de pupunha mostrou um potencial nutritivo promissor pelo seu elevado teor de carboidratos e valor energético, além de demonstrar uma boa capacidade antioxidante com destaque para os carotenóides totais. A farinha também apresentou propriedades tecno-funcionais bastante interessantes, como capacidade de absorção de água e óleo.

A composição nutricional da torta da castanha-do-brasil também mostrou um potencial nutritivo promissor pelo seu elevado teor de proteínas, lipídios e cinzas. Evidenciando que esse resíduo tem potencial de ser inserido na dieta ou no enriquecimento nutricional de alimentos, visando atender as recomendações de ingestão diária destes nutrientes.

A melhor condição para produção do hidrolisado proteico com a torta de castanha-do-brasil utilizando a enzima bromelina baseado no percentual de grau de hidrólise foi obtida com a concentração enzimática de 1,0% (E/S) na temperatura de 60 °C por 120 minutos.

Os hidrolisados proteicos mostraram ser eficaz na neutralização dos radicais livres e, ainda na capacidade de redução do complexo férrico/ferroso. Sendo assim a utilização da torta de castanha-do-brasil se mostra como uma alternativa viável para elaboração de hidrolisados proteicos com potencial antioxidante para ser incorporado em produtos alimentícios.

Dentre as frações do hidrolisado proteico de torta de castanha-do-brasil avaliadas, a fração mista mostrou bons resultados quanto ao rendimento, teor de proteínas, fibras e cinzas.

Todas as frações do hidrolisado proteico, contêm todos os aminoácidos essenciais, entretanto a fração mista se destacou por conter quantidades mais significativas, como por exemplo a leucina, metionina + cistina, fenilalanina + tirosina e valina.

Ao buscar atender as necessidades dietéticas na faixa etária adulta (acima dos 18 anos), a fração mista do hidrolisado proteico, não apresentou nenhum aminoácido limitante, podendo ser considerada de alto valor nutricional e destinada para formulações de suplementação esportiva. A qual também teve bons resultados nas propriedades tecno-funcionais como capacidade de absorção de água e óleo, sendo estas propriedades importantes nos ingredientes proteicos, pois afeta a qualidade e a textura dos alimentos.

Através dos resultados apresentados pode-se concluir que a farinha de pupunha e o hidrolisado proteico apresentam um grande potencial de aplicabilidade industrial, uma vez que os biscoitos produzidos apresentaram características nutricionais bastante interessantes, como alto teor proteicos, baixo teor de gorduras, uma capacidade moderada de antioxidantes,

apresentando altas concentrações de carotenoides totais. Além de atender as recomendações diárias de vários minerais como o ferro e zinco.

## REFERÊNCIAS

ABOSHORA, W.; YU, J.; OMAR, K. A.; LI, Y.; HASSANIN, H. A. M.; NAVICHA, W. B.; ZHANG, L. Preparation of Doum fruit (*Hyphaene thebaica*) dietary fiber supplemented biscuits: influence on dough characteristics, biscuits quality, nutritional profile and antioxidant properties. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 3, p. 1328–1336, 13 mar. 2019.

ABREU, D. C. A.; FIGUEIREDO, K. C. DE S. BROMELAIN SEPARATION AND PURIFICATION PROCESSES FROM PINEAPPLE EXTRACT. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 36, n. 2, p. 1029–1039, jun. 2019.

ADEGOKE, G. O.; OYEKUNLE, A. O.; AFOLABI, M. O. Functional Biscuits from Wheat, Soya Bean and Turmeric (*Curcuma Longa*): Optimization of Ingredients Levels Using Response Surface Methodology. **Research Journal of Food and Nutrition**, v. 1, n. 1, p. 13–22, 2017.

AGRAHAR-MURUGKAR, D. Food to food fortification of breads and biscuits with herbs, spices, millets and oilseeds on bio-accessibility of calcium, iron and zinc and impact of proteins, fat and phenolics. **LWT**, v. 130, n. May, p. 109703, ago. 2020.

AHMAD, G.; AHMED, H.; ABBAS, E. Systematic Review and Meta-analysis of Zinc Supplementation and Stunting in Children under 5 years of age. **Bulletin of the National Nutrition Institute of the Arab Republic of Egypt**, v. 59, n. 1, p. 55–83, 1 jun. 2022.

AKBARI, M.; ESKANDARI, M. H.; DAVOUDI, Z. Application and functions of fat replacers in low-fat ice cream: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 86, p. 34–40, abr. 2019.

ALCÂNTARA, D. B.; DIONÍSIO, A. P.; ARTUR, A. G.; SILVEIRA, B. K. S.; LOPES, A. F.; GUEDES, J. A. C.; LUZ, L. R.; NASCIMENTO, R. F.; LOPES, G. S.; HERMSDORFF, H. H. M.; ZOCCOLO, G. J. Selenium in Brazil nuts: An overview of agronomical aspects, recent trends in analytical chemistry, and health outcomes. **Food Chemistry**, v. 372, n. August 2021, 2022.

ALMEIDA, A. L. F.; CIRIBELLI, G. N.; MEDEIROS, K. K. R. DE; SANTANA, L. O.; ARAUJO, L. P.; ALMEIDA, E. C. V.; LIMA, R. A. F.; LIMA, C. F. M.; ALMEIDA, A. F. DE. Hidrolisados enzimáticos como suplementos alimentares. **Seven Editora**, n. SE-Articles, 27 jul. 2023.

ARISE, R. O.; TAOFEEK, O. O.; BABAITA, K.; ADEOYE, R. I.; OSEMWEGIE, O. Blood pressure and sugar regulating potentials of *Anarcadium occidentale* nut globulin and albumin hydrolysates. **Heliyon**, v. 7, n. 3, p. e06384, mar. 2021.

ASSUMPÇÃO, R. S. C. **Extração e modificação de proteína vegetal de castanha-do-Brasil (*Bertholletia Excelsa*) por técnicas não tradicionais** Universidade Federal do Amazonas, Manaus (AM), 2023. Disponível em: <<https://tede.ufam.edu.br/handle/tede/9471>>

BARROS, H. E. A. DE; ALEXANDRE, A. C. S.; CAMPOLINA, G. A.; ALVARENGA, G. F.; SILVA, L. M. DOS S. F. E.; NATARELLI, C. V. L.; CARVALHO, E. E. N.; VILAS

BOAS, E. V. DE B. Edible seeds clustering based on phenolics and antioxidant activity using multivariate analysis. **LWT**, v. 152, n. August, p. 112372, dez. 2021.

BARROS, S. K. A.; SOUZA, A. R. M. DE; DAMIANI, C.; PEREIRA, A. S.; ALVES, D. G.; CLEMENTE, R. C.; COSTA, D. M. DA. Obtenção e caracterização de farinhas de caroço de açaí (*Euterper Oleracea*) e de casca de bacaba (*Oenocarpus Bacaba*). **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e2710413724, 2021.

BAZSEFIDPAR, N.; AHMADI GAVLIGHI, H.; GHANDEHARI YAZDI, A. P.; JAFARI, S. M. Optimization of protein extraction from brewer's spent grain and production of bioactive peptides. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 15 fev. 2023.

BAZSEFIDPAR, N.; GHANDEHARI YAZDI, A. P.; KARIMI, A.; YAHYAVI, M.; AMINI, M.; AHMADI GAVLIGHI, H.; SIMAL-GANDARA, J. Brewers spent grain protein hydrolysate as a functional ingredient for muffins: Antioxidant, antidiabetic, and sensory evaluation. **Food Chemistry**, v. 435, n. April 2023, p. 137565, mar. 2024.

BENÍTEZ, R.; IBARZ, A.; PAGAN, J. Hidrolizados de proteína: Procesos y aplicaciones. **Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana**, v. 42, n. 2, p. 227–236, 2008.

BOZKURT, F.; BEKIROGLU, H.; DOGAN, K.; KARASU, S.; SAGDIC, O. Technological and bioactive properties of wheat glutenin hydrolysates prepared with various commercial proteases. **LWT**, v. 149, n. March, p. 111787, set. 2021.

BRASIL, MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, P. E A. (MAPA). **INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 52, DE 7 DE NOVEMBRO DE 2011** Diário Oficial da União, , 2011. Disponível em: <<http://track.flash.pt/go/bcd014c5eb5aa-385813f49a4110132a012523318e-281f682fae4e1Ctge3Piedye1s7Rd>>

BRASIL, A. N. DE V. S.-A. **Instrução Normativa - IN Nº 75, de 8 de Outubro de 2020** Diário Oficial da União, , 2020. Disponível em: <<https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-75-de-8-de-outubro-de-2020-282071143>>

\_\_\_\_. **Instrução Normativa - IN Nº 726 de 1º de julho 2022**. Diário Oficial da União, , 2022. Disponível em: <<http://antigo.anvisa.gov.br/legislacao#/visualizar/487512>>

BRÜCKNER-GÜHMANN, M.; HEIDEN-HECHT, T.; SÖZER, N.; DRUSCH, S. Foaming characteristics of oat protein and modification by partial hydrolysis. **European Food Research and Technology**, v. 244, n. 12, p. 2095–2106, 2018.

CAMPOS, L. F.; CAMPOS, A. C. L. Efeito de suplemento nutricional hiperproteico enriquecido com nutrientes neuroprotetores na função cognitiva e na composição corporal de idosos institucionalizados. **BRASPEN Journal**, v. 38, n. 2, p. 160–166, 2023.

CARDOSO, B. R.; DUARTE, G. B. S.; REIS, B. Z.; COZZOLINO, S. M. F. Brazil nuts: Nutritional composition, health benefits and safety aspects. **Food Research International**, v. 100, n. August, p. 9–18, 2017.

CARDOSO, R. V. C.; FERNANDES, Â.; GONZALÉZ-PARAMÁS, A. M.; BARROS, L.; FERREIRA, I. C. F. R. Flour fortification for nutritional and health improvement: A review. **Food Research International**, v. 125, p. 108576, nov. 2019.

CARVALHO, A. V.; OLIVEIRA, M. DO S. P. DE; CARVALHO, M. N.; GOMES, I. C. L. Obtenção de produtos de panificação a partir da substituição parcial da farinha de trigo por farinha de pupunha. **Research, Society and Development**, v. 12, n. 6, p. e16112642167, 16 jun. 2023.

ÇELIK, M.; GÜZEL, M.; YILDIRIM, M. Effect of pH on protein extraction from sour cherry kernels and functional properties of resulting protein concentrate. **Journal of Food Science and Technology**, v. 56, n. 6, p. 3023–3032, 2019.

CHANDRASEKARAN, S.; GONZALEZ DE MEJIA, E. Optimization, identification, and comparison of peptides from germinated chickpea (*Cicer arietinum*) protein hydrolysates using either papain or ficin and their relationship with markers of type 2 diabetes. **Food Chemistry**, v. 374, p. 131717, abr. 2022.

CHISTÉ, R. C.; COSTA, E. L. N.; MONTEIRO, S. F.; MERCADANTE, A. Z. Carotenoid and phenolic compound profiles of cooked pulps of orange and yellow peach palm fruits (*Bactris gasipaes*) from the Brazilian Amazonia. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 99, n. December 2020, p. 103873, jun. 2021a.

\_\_\_\_\_. Carotenoid and phenolic compound profiles of cooked pulps of orange and yellow peach palm fruits (*Bactris gasipaes*) from the Brazilian Amazonia. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 99, p. 103873, 1 jun. 2021b.

CLEMENT, C. R.; WEBER, J. C.; LEEUWEN, J. VAN; ASTORGA DOMIAN, C.; COLE, D. M.; ARÉVALO LOPEZ, L. A.; ARGÜELLO, H. Why extensive research and development did not promote use of peach palm fruit in Latin America. **Agroforestry Systems**, v. 61–62, n. 1–3, p. 195–206, 2004.

COELHO, T. C.; FERREIRA, M. G. R.; CUTRIM, M. B. DE A.; BEZERRA, D. H. S.; COSTA NETO, A.; ROCHA, C. H. DA S.; MONTEIRO, G. L.; LEITE, M. J. DE H. Estratégias e dificuldades encontradas na comercialização de hortifrutícolas em São Luís – MA. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 5, p. e1310514632, 2021.

COFFMANN, C. W.; GARCIAJ, V. V. Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour\*. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 12, n. 5, p. 473–484, 28 jun. 2007.

COLPO, E.; VILANOVA, C. D. D. A.; BRENNER REETZ, L. G.; MEDEIROS FRESCURA DUARTE, M. M.; FARIAS, I. L. G.; IRINEU MULLER, E.; MULLER, A. L. H.; MORAES FLORES, E. M.; WAGNER, R.; ROCHA, J. B. T. DA. A single consumption of high amounts of the Brazil nuts improves lipid profile of healthy volunteers. **Journal of Nutrition and Metabolism**, v. 2013, 2013.

CORNELIO-SANTIAGO, H. P.; MAZALLI, M. R.; RODRIGUES, C. E. C.; OLIVEIRA, A. L. DE. Extraction of Brazil nut kernel oil using green solvents: Effects of the process variables in the oil yield and composition. **Journal of Food Process Engineering**, v. 42, n. 7, 2019.

COSTA, R. D. S. DA; RODRIGUES, A. M. DA C.; SILVA, L. H. M. DA. The fruit of peach palm (*Bactris gasipaes*) and its technological potential: an overview. **Food Science and Technology**, v. 42, 2022.

DALA-PAULA, B. M.; GOZZI, W. P.; KRINGEL, D.; PELOSO, EDUARDO DE FIGUEIREDO; CUSTODIO, F. B. **Bruno Martins Dala Paula 1ª Edição Alfenas-MG**. 1. ed. Alfenas - MG: Bruno Martins Dala Paula, 2021.

DALIRI, H.; AHMADI, R.; PEZESHKI, A.; HAMISHEHKAR, H.; MOHAMMADI, M.; BEYRAMI, H.; KHAKBAZ HESHMATI, M.; GHORBANI, M. Quinoa bioactive protein hydrolysate produced by pancreatin enzyme- functional and antioxidant properties. **LWT**, v. 150, n. February, p. 111853, out. 2021.

DING, J.; LIANG, R.; YANG, Y.; SUN, N.; LIN, S. Optimization of pea protein hydrolysate preparation and purification of antioxidant peptides based on an in silico analytical approach. **LWT**, v. 123, p. 109126, abr. 2020.

DONADIO, J. L. S.; ROGERO, M. M.; GUERRA-SHINOHARA, E. M.; BARBOSA, F.; DESMARCHELIER, C.; BOREL, P.; SNEDDON, A. A.; HESKETH, J. E.; COZZOLINO, S. M. F. Genetic variants in selenoprotein genes modulate biomarkers of selenium status in response to Brazil nut supplementation (the SU.BRA.NUT study). **Clinical Nutrition**, v. 38, n. 2, p. 539–548, abr. 2019.

EVANGELHO, J. A. DO; BERRIOS, J. DE J.; PINTO, V. Z.; ANTUNES, M. D.; VANIER, N. L.; ZAVAREZE, E. DA R. Antioxidant activity of black bean (*Phaseolus vulgaris* L.) protein hydrolysates. **Food Science and Technology (Brazil)**, v. 36, p. 23–27, 2016.

FERREIRA, DE S. E.; SILVEIRA, S.; LUCIEN, V. G.; AMARAL, A. S. Torta E Composição Dos Ácidos Graxos Majoritários Do Óleo Bruto Da Castanha-Do-. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 17, n. January, p. 203–208, 2006.

FILHO, A. N. K.; CLEMENT, C. R.; RESENDE, M. D. V.; FARIAS NETO, J. T.; BERGO, L. C. Programa de melhoramento genético de pupunha na Embrapa, IAC e Inpa. *In: Comunicado técnico 205 Embrapa*. [s.l: s.n.]. p. 32.

FLORES, W. B. C.; SILVA, W. D. P. DA; SANTOS, J. G. DOS; ALFAIA, S. S. **A Cultura da Pupunha: cultivo e beneficiamento**. 1ª edição ed. Manaus: [s.n.].

FOREZI, L. S. M.; FERREIRA, P. G.; ROCHA, D. R. DA; SILVA, F. DE C. DA; FERREIRA, V. F. There is Chemistry Here: Supermarket. Part III: Carbohydrates. **Revista Virtual de Química**, v. 14, n. 4, p. 745–766, 2022.

FREITAS, J. B.; FERNANDES, D. C.; CZEDER, L. P.; LIMA, J. C. R.; SOUSA, A. G. O.; NAVES, M. M. V. Edible Seeds and Nuts Grown in Brazil as Sources of Protein for Human Nutrition. **Food and Nutrition Sciences**, v. 03, n. 06, p. 857–862, 2012.

FUNDATION, E. M. **Cidades e economia circular dos alimentos**. [s.l: s.n.].

GALVES, C.; GALLI, G.; MIRANDA, C. G.; KUROZAWA, L. E. Improving the emulsifying property of potato protein by hydrolysis: an application as encapsulating agent with maltodextrin. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 70, n. January, p. 102696, jun. 2021.

GARBACZ, K.; WAWRZYKOWSKI, J.; CZELEJ, M.; CZERNECKI, T.; WAŚKO, A. Recent Trends in the Application of Oilseed-Derived Protein Hydrolysates as Functional Foods. **Foods**, v. 12, n. 20, p. 3861, 21 out. 2023.

GARCÉS-RIMÓN, M.; SANDOVAL, M.; MOLINA, E.; LÓPEZ-FANDIÑO, R.; MIGUEL, M. Egg protein hydrolysates: New culinary textures. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, v. 3, n. 1878–450x, p. 17–22, 2016.

GHRIBI, A. M.; MAKLOUF GAFSI, I.; SILA, A.; BLECKER, C.; DANTHINE, S.; ATTIA, H.; BOUGATEF, A.; BESBES, S. Effects of enzymatic hydrolysis on conformational and functional properties of chickpea protein isolate. **Food Chemistry**, v. 187, p. 322–330, 2015.

GÖRGÜÇ, A.; GENÇDAĞ, E.; YILMAZ, F. M. Bioactive peptides derived from plant origin by-products: Biological activities and techno-functional utilizations in food developments – A review. **Food Research International**, v. 136, n. January, p. 109504, out. 2020.

GOSWAMI, B.; MAJUMDAR, S.; DUTTA, R.; BHOWAL, J. Optimization of enzymatic hydrolysis of *Pleurotus ostreatus* derived proteins through RSM and evaluation of nutritional and functional qualities of mushroom protein hydrolysates. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 25, p. 1–18, 2022.

GUNDOGAN, R.; KARACA, A. C. Physicochemical and functional properties of proteins isolated from local beans of Turkey. **LWT - Food Science and Technology**, v. 130, p. 109609, 2020.

HALIM, N. R. A.; SARBON, N. M. A response surface approach on hydrolysis condition of eel (*Monopterus Sp.*) protein hydrolysate with antioxidant activity. **International Food Research Journal**, v. 24, n. 3, p. 1081–1093, 2017.

HAU, E. H.; TEH, S. S.; YEO, S. K.; CHUA, B. L.; OWATWORAKIT, A.; XIAO, J.; MAH, S. H. Physicochemical and functional properties of Flavourzyme-extracted protein hydrolysate from oil palm leaves. **Biomass Conversion and Biorefinery**, n. 0123456789, 2022.

HEVER, J.; CRONISE, R. J. Plant-based nutrition for healthcare professionals: Implementing diet as a primary modality in the prevention and treatment of chronic disease. **Journal of Geriatric Cardiology**, v. 14, n. 5, p. 355–368, 2017.

HIGBY, W. K. A Simplified Method for Determination of Some Aspects of the Carotenoid Distribution in Natural and Carotene-Fortified Orange Juice. **Journal of Food Science**, v. 27, n. 1, p. 42–49, 1 jan. 1962.

HOFFER, L. J. Human Protein and Amino Acid Requirements. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, v. 40, n. 4, p. 460–474, 21 maio 2016.

IAL, I. A. L. **Métodos físicos-químicos para análise de Alimentos**. 1º edição ed. São Paulo: [s.n.].

JOANA GIL-CHÁVEZ, G.; VILLA, J. A.; FERNANDO AYALA-ZAVALA, J.; BASILIO HEREDIA, J.; SEPULVEDA, D.; YAHIA, E. M.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Technologies for Extraction and Production of Bioactive Compounds to be Used as Nutraceuticals and Food Ingredients: An Overview. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 12, n. 1, p. 5–23, 2013.

JÚNIOR, D. T. S.; VERDE, T. F. C. L.; LANDIM, L. A. S. R. Alimentos ricos em triptofano e seu efeito na liberação da serotonina e possíveis benefícios no transtorno de ansiedade.

**Research, Society and Development**, v. 10, n. 14, p. e471101422190, 10 nov. 2021.

KATO, CAMILA GABRIEL; BRUGNARI, T.; CORREA, VANESA GESSER; GOMES, RAQUEL GUTTIERRES; SALEM, RENATA DINNIES SANTOS. Caracterização Físico-Química Da Torta De. **Revista UNINGÁ Review**, v. 25, n. 2178–2571, p. 7–11, 2016.

KAUR, H.; GILL, P. K. Microbial Enzymes in Food and Beverages Processing. *In: Engineering Tools in the Beverage Industry*. [s.l.] Elsevier, 2019. p. 255–282.

LÓPEZ, D. N.; GALANTE, M.; RAIMUNDO, G.; SPELZINI, D.; BOERIS, V. Functional properties of amaranth, quinoa and chia proteins and the biological activities of their hydrolyzates. **Food Research International**, v. 116, n. April 2018, p. 419–429, 2019.

MALOMO, S. A.; NWACHUKWU, I. D.; GIRGIH, A. T.; IDOWU, A. O.; ALUKO, R. E.; FAGBEMI, T. N. Antioxidant and renin-angiotensin system inhibitory properties of cashew nut and fluted-pumpkin protein hydrolysates. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 70, n. 3, p. 275–289, 2020.

MARÇAL, L. D. S.; RAMALHO SILVA, M.; OLIVEIRA PRATA MENDONÇA, H. DE; MELO, J. O. F.; VIEIRA TEIXEIRA GARCIA, M. A.; ARAÚJO, R. L. B. Avaliação do Grau de Hidrólise e da Rotulagem de Suplementos Proteicos à Base de Whey Protein. **Ensaio e Ciência C Biológicas Agrárias e da Saúde**, v. 25, n. 1, p. 55–61, 2021.

MARTÍNEZ-GIRÓN, J.; FIGUEROA-MOLANO, A. MARÍA; ORDÓÑEZ-SANTOS, L. EDUARDO. Effect of the addition of peach palm (*Bactris gasipaes*) peel flour on the color and sensory properties of cakes. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 3, p. 418–424, 9 mar. 2017.

MARTINS, H. F.; CARVALHO, S. S. R. DE A.; BISPO, J. A. C.; SOUZA, S. M. A. DE; MARTINEZ, E. A. Maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *Flavicarpa*): cinética da secagem artificial e natural da casca. **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 11, p. 23221–23233, 2019.

MENEZES, B. DO A. D.; PINTO, V. C.; MATTIETTO, R. D. A.; LOPES, A. S. Tecnologia para obtenção de biscoito adicionado de farinha de pupunha adicionado de farinha de pupunha. **Comunicado Técnico**, n. 307, p. 1–8, 2019.

MORAIS, R. A.; SOUSA MELO, K. K.; OLIVEIRA, T. T. B.; TELES, J. S.; PELUZIO, J. M.; SOUZA MARTINS, G. A. Caracterização Química, física e tecnologia da farinha obtida a partir da casca de Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.). **Brazilian Journal of Development**, v. 5, n. 11, p. 23307–23322, 2019.

MORENO, L. Z.; DAMIAN, F.; LANDINES, E.; EL-SALOUS, A. Sugarcane (*Saccharum officinarum*) bagasse as a source of fiber and fat replacer in ice creams: chemical, microbiological, and sensory evaluation. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 26, p. 1–8, 2023.

NANDA, R. F.; BAHAR, R.; SYUKRI, D.; THU, N. N. A.; KASIM, A. REVIEW: APPLICATION OF BROMELAIN ENZYMES IN ANIMAL FOOD PRODUCTS. **Andalasian International Journal of Agricultural and Natural Sciences (AIJANS)**, v. 1, n. 01, p. 33–44, 6 out. 2020.

- NELSON, A.; PETER, A.; SAJU, F. A review on chemistry, therapeutic applications, extraction & purification of bromelain. **International Journal of Pharmacognosy and Chemistry**, v. 3, n. 1, p. 25–33, 21 mar. 2022.
- NERI-NUMA, I. A.; SORIANO SANCHO, R. A.; PEREIRA, A. P. A.; PASTORE, G. M. Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, v. 103, p. 345–360, 2018.
- NIKHITA, R.; SACHINDRA, N. M. Optimization of chemical and enzymatic hydrolysis for production of chicken blood protein hydrolysate rich in angiotensin-I converting enzyme inhibitory and antioxidant activity. **Poultry Science**, v. 100, n. 5, p. 101047, maio 2021.
- NNAMEZIE, A. A.; FAMUWAGUN, A. A.; GBADAMOSI, S. O. Characterization of okra seed flours, protein concentrate, protein isolate and enzymatic hydrolysates. **Food Production, Processing and Nutrition**, v. 3, n. 1, 2021.
- OKEZIE, B. O.; BELLO, A. B. Physicochemical and Functional Properties of Winged Bean Flour and Isolate Compared with Soy Isolate. **Journal of Food Science**, v. 53, n. 2, p. 450–454, 25 mar. 1988.
- OSPINA-QUIROGA, J. L.; GARC, P. J.; GUADIX, A.; GUADIX, E. M.; ALM, C. Evaluation of Plant Protein Hydrolysates as Natural Antioxidants in Fish Oil-In-Water Emulsions. **Antioxidants**, v. 11, p. 1612, 2022.
- PACHECO, A. F. C.; PEREIRA, G. Z.; NALON, G. A.; GUSMÃO, J. V. F.; PACHECO, F. C.; PAIVA, P. H. C.; LEITE JUNIOR, B. R. DE C. Atividades técnico-funcionais de hidrolisados derivados de proteínas vegetais. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 8, n. 11, p. 15099–01e, 2022.
- PAIVA, F. DE C.; ALECRIM, M. M.; TEIXEIRA, M. F. S.; KIRSCH, L. DE S.; JESUS, R. S. DE. Produção de hidrolisado proteico de pirarucu utilizando-se protease de *Aspergillus flavo-furcatis* e pancreatina. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, v. 45, n. 1, p. 89–96, 2015.
- PEIXOTO ARAUJO, N. M.; ARRUDA, H. S.; MARQUES, D. R. P.; OLIVEIRA, W. Q. DE; PEREIRA, G. A.; PASTORE, G. M. Functional and nutritional properties of selected Amazon fruits: A review. **Food Research International**, v. 147, n. February, p. 110520, set. 2021.
- PINHEIRO, R. D. C.; MARIA DE MENESES COSTA FERREIRA, L.; VASCONCELOS DA SILVA PEREIRA, G.; HELENA DE AGUIAR ANDRADE, E.; ARIMATEIA RODRIGUES DO RÊGO, J. DE; OTÁVIO CARRÉRA SILVA-JÚNIOR, J.; MARIA RIBEIRO-COSTA, R.; BRASIL, D. DO S. B. Estudo do resíduo sólido do processamento da Castanha-do-Brasil para a obtenção de subprodutos com valor agregado. **Conjecturas**, v. 22, n. 11, p. 672–691, 12 ago. 2022.
- PIRES, M. B.; AMANTE, E. R.; LOPES, A. S.; RODRIGUES, A. M. DA C.; SILVA, L. H. M. DA. Peach palm flour (*Bactris gasipae* KUNTH): Potential application in the food industry. **Food Science and Technology (Brazil)**, v. 39, n. 3, p. 613–619, 2019.
- POLMANN, G.; BADIA, V.; DANIELSKI, R.; FERREIRA, S. R. S.; BLOCK, J. M. Non-conventional nuts: An overview of reported composition and bioactivity and new approaches for its consumption and valorization of co-products. **Future Foods**, v. 4, n. October, p. 100099, dez. 2021.

- PRADO, J. M. DE; PASSOS, G. R. DE; SANTOS, T. B. DOS; SILVA, C. N. S. DA; LEMES, A. C.; BATISTA, K. DE A.; SORA, G. T. DE S.; POLESÍ, L. F.; PAULA, L. C. DE. Production and characterization of a carotenoid-rich peach palm flour. **The Journal of Engineering and Exact Sciences**, v. 8, n. 8, p. 14866–01i, 2022.
- QUEIROZ, A. L. DE M.; BEZERRA, T. K. A.; FREITAS PEREIRA, S. DE; SILVA, M. E. C. DA; ALMEIDA GADELHA, C. A. DE; GADELHA, T. S.; PACHECO, M. T. B.; MADRUGA, M. S. Functional protein hydrolysate from goat by-products: Optimization and characterization studies. **Food Bioscience**, v. 20, n. July, p. 19–27, dez. 2017.
- RABELO, A. **Frutas nativas da Amazônia comercializadas nas feiras de Manaus-AM**. 1. ed. Manaus: Editora INPA, 2012.
- RAMLI, A. N. M.; MANAS, N. H. A.; HAMID, A. A. A.; HAMID, H. A.; ILLIAS, R. M. Comparative structural analysis of fruit and stem bromelain from Ananas comosus. **Food Chemistry**, v. 266, n. May, p. 183–191, 2018.
- REBELLATO, A. P.; CASTRO LIMA, J.; SILVA, J. G. S.; STEEL, C. J.; LIMA PALLONE, J. A. Mineral bioaccessibility in French breads fortified with different forms iron and its effects on rheological and technological parameters. **Journal of Cereal Science**, v. 74, p. 56–63, mar. 2017.
- RIBEIRO, G. S.; MONTEIRO, M. K. C.; CARMO, J. R. DO; PENA, R. DA S.; CHISTÉ, R. C. Peach palm flour: production, hygroscopic behaviour and application in cookies. **Heliyon**, v. 7, n. 5, p. e07062, maio 2021.
- RIBEIRO, M. B. N.; JEROZOLIMSKI, A.; ROBERT, P. DE; SALLES, N. V.; KAYAPÓ, B.; PIMENTEL, T. P.; MAGNUSSON, W. E. Anthropogenic landscape in southeastern Amazonia: Contemporary impacts of low-intensity harvesting and dispersal of Brazil nuts by the Kayapó indigenous people. **PLoS ONE**, v. 9, n. 7, 2014.
- RIBEIRO, Ú.; QUEIROZ, L.; MARASSI, A.; CARVALHO, A.; BARROS, G.; CONSALTER, D.; BEZERRA, J.; SANTOS, A.; COLNAGO, L. A.; MACHADO, M. Development of a TD-NMR Method to Monitor Brazil Nuts Oil Content: A Green and Low-Cost Based Approach. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 32, n. 7, p. 1405–1412, 2021.
- RIGON, E. E. S.; OLIVEIRA-FOLADOR, G.; SORA, G. T. DE S.; PAULA, C. DE L.; POLESÍ, L. F. Physicochemical and Functional Composition of Peach Palm Flour. **Open Science Research**, v. 1, p. 111–119, 2022.
- RIVAS-VELA, C. I.; AMAYA-LLANO, S. L.; CASTAÑO-TOSTADO, E.; CASTILLO-HERRERA, G. A. Protein hydrolysis by subcritical water: A new perspective on obtaining bioactive peptides. **Molecules**, v. 26, n. 21, p. 1–15, 2021.
- ROCKWELL, C. A. *et al.* Nut production in bertholletia excelsa across a logged forest mosaic: Implications for multiple forest use. **PLoS ONE**, v. 10, n. 8, p. 1–22, 2015.
- RODSAMRAN, P.; SOTHORNVIT, R. Physicochemical and functional properties of protein concentrate from by-product of coconut processing. **Food Chemistry**, v. 241, p. 364–371, 2018.

- ROJAS, L. F.; CORTÉS, C. F.; ZAPATA, P.; JIMÉNEZ, C. Extraction and identification of endopeptidases in convection dried papaya and pineapple residues: A methodological approach for application to higher scale. **Waste Management**, v. 78, p. 58–68, 1 ago. 2018.
- ROLIM, C. C.; ANDRADE, J. S. Dieta saudável na Amazônia com nutrientes e substâncias bioativas partir dos frutos tropicais. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 15, p. e521111537494, 20 nov. 2022.
- RUFINO, M. DO S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; MORAIS, S. M. DE; SAMPAIO, C. DE G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico Online EMBRAPA**, v. 127, p. 1–4, 2007.
- RUFINO, M. DO S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S. DE; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.; MANCINI-FILHO, J. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. **Food Chemistry**, v. 121, n. 4, p. 996–1002, 15 ago. 2010.
- SADAAT, S.; ARSHAD, M. U.; IMRAN, A.; AFZAAL, M.; SHAH, M. A. Development and characterization of micronutrient fortified sandwich biscuits with respect to nutritional composition and sensorial attributes to address malnutrition in school going children. **Cogent Food & Agriculture**, v. 9, n. 1, 31 dez. 2023.
- SALDANHA MELO, H. *et al.* Impact of Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*, H.B.K.) Supplementation on Body Composition, Blood Pressure, and the Vascular Reactivity of Wistar Rats When Submitted to a Hypersodium Diet. **Journal of the American Nutrition Association**, v. 41, n. 6, p. 559–568, 2022.
- SANTANA, G. S.; FILHO, J. G. DE O.; EGEEA, M. B. Características Tecnológicas De Farinhas Vegetais Comerciais. **Revista De Agricultura Neotropical**, v. 4, n. 2, p. 88–95, 2017.
- SANTOS, Y. J. DE S.; SILVA, A. C. A.; CARVALHO, R. A. DE; COLNAGO, L. A.; VANIN, F. M. Rapid quantification of phenolic content and antioxidant activity in cookies produced with amazonian palm fruit flour using Micro-NIR spectrometer and PLS regression. **Microchemical Journal**, v. 195, n. June, p. 109398, dez. 2023.
- SANTOS, Y. J. S.; FACCHINATTO, W. M.; ROCHETTI, A. L.; CARVALHO, R. A.; FEUNTEUN, S. LE; FUKUMASU, H.; MORZEL, M.; COLNAGO, L. A.; VANIN, F. M. Systemic characterization of pupunha (*Bactris gasipaes*) flour with views of polyphenol content on cytotoxicity and protein in vitro digestion. **Food Chemistry**, v. 405, n. PA, p. 134888, 2023.
- SARTORI, A. G. DE O.; MACHADO, M. C.; BASTOS, D. H. M.; ALENCAR, S. M. DE; REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Water-extracted Brazil nut co-products: nutritional value and estimation of nutrient losses during processing. **Journal of Food Measurement and Characterization**, v. 14, n. 4, p. 1919–1925, 9 ago. 2020.
- SCHULZ, A.; FUCHS, P. C.; HANS, N.; OPLÄNDER, C.; VALDEZ, L. B.; SCHIEFER, J. L. Inhibition of Bromelain Activity During Enzymatic Debridement of Burn Wounds Pretreated With Frequently Used Products. **Journal of Burn Care & Research**, v. 39, n. 3, p. 413–422, 20 abr. 2018.

- SHARIF, H. R.; WILLIAMS, P. A.; SHARIF, M. K.; ABBAS, S.; MAJEED, H.; MASAMBA, K. G.; SAFDAR, W.; ZHONG, F. Current progress in the utilization of native and modified legume proteins as emulsifiers and encapsulants – A review. **Food Hydrocolloids**, v. 76, p. 2–16, 2018.
- SILVA, C. M.; FELBERG, I.; LIMA, J. R.; GOUVÊA, L. DE P.; GALDEANO, M. C.; CALDEIRA, R. F.; AZEVEDO, T. DE L. Guia para Caracterização Tecnológica-Funcional de Ingredientes Proteicos para o Mercado de Produtos de Origem Vegetal. **Embrapa Agroindustria de Alimentos**, v. 145, n. 1516–8247, p. 27, 2022.
- SILVA, M. DE J. A.; KLUCZKOVSKI, A. M.; LIMA, E. S. Características botânicas, importância socioeconômica e usos em saúde da castanha-do-Brasil (*Bertholletia excelsa*): uma revisão. **Conjecturas**, v. 22, n. 2, p. 574–590, 8 mar. 2022.
- SILVA, P. C. DA; TOLEDO, T.; BRIÃO, V.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Development of extruded snacks enriched by bioactive peptides from microalga *Spirulina* sp. LEB 18. **Food Bioscience**, v. 42, n. March, p. 101031, ago. 2021.
- SILVA, T. P. DA; PONTES, A. N.; ALBUQUERQUE, A. R. CADEIAS DE PRODUÇÃO SUSTENTÁVEIS NO EXTRATIVISMO DE CASTANHA DO BRASIL NA AMAZÔNIA BRASILEIRA. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 8, p. 63460–46780, 2020.
- SILVA, V. M. DA. Panetone elaborado com farinhas de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) e de banana (*Musa sapientum*). 20 jul. 2015.
- SINGH, P.; SINGH, R.; JHA, A.; RASANE, P.; GAUTAM, A. K. Optimization of a process for high fibre and high protein biscuit. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 3, p. 1394–1403, 15 mar. 2015.
- SOARES, P. A. .; VAZ, A. F. M.; CORREIA, M. T. S.; JR., A. P.; CARNEIRO-DA-CUNHA, M. G. Purification of bromelain from pineapple wastes by ethanol precipitation. **Separation and Purification Technology**, v. 98, p. 389–395, 2012.
- SOARES, S. D.; SANTOS, O. V. DOS; NASCIMENTO, F. D. C. A. DO; PENA, R. DA S. A review of the nutritional properties of different varieties and byproducts of peach palm (*Bactris gasipaes*) and their potential as functional foods. **International Journal of Food Properties**, v. 25, n. 1, p. 2146–2165, 31 dez. 2022.
- SOUSA DE OLIVEIRA, T.; FREITAS-SILVA, O.; MENDONÇA KLUCZKOVSKI, A.; HENRIQUE CAMPELO, P. Potential use of vegetable proteins to reduce Brazil nut oil oxidation in microparticle systems. **Food Research International**, v. 137, n. April, p. 109526, 2020.
- SOUSA, H. M. S. **Composição Química, Atividade Antioxidante, Compostos Bioativos E Antinutricionais Das Polpas Dos Frutos Do Bacupari, Pupunha E Tucumã**, 2022. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11612/3697>>
- SOUZA, A. L. G. DE; FERREIRA, M. C. R.; CORRÊA, N. C. F.; SANTOS, O. V. DOS. Aproveitamento dos resíduos de extração de óleo da castanha-do-brasil (*Bertholletia excelsa*) em produtos alimentícios ricos em proteínas, lipídios e fibras. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 7, n. 4, p. 21–30, 2016.

SOUZA, P. G. DE; PANTOJA, LÍLIAN; SANTOS, A. S. DOS; MARINHO, H. A.; ALMEIDA E SILVA, J. B. DE. Avaliação físico-química de cervejas lagers com pupunha (*Bactris gasipaes*) em bioprocessos com leveduras livres e imobilizadas. **Conjecturas**, v. 22, n. 8, p. 1159–1172, 25 jul. 2022.

SOUZA, P. G. DE; PANTOJA, LILIAN; SANTOS, A. S. DOS; MARINHO, H. A.; SILVA, J. B. A. E. Avaliação físico-química da farinha de pupunha (*Bactris gasipaes* Kunth) para uso alimentício. **Brazilian Journal of Science**, v. 1, n. 2, p. 65–74, 2022.

SPACKI, K. DE C.; VIEIRA, T. F.; HELM, C. V.; LIMA, E. A. DE; BRACHT, A.; PERALTA, R. M. PUPUNHA (*BACTRIS GASIPAES KUNTH*): UMA REVISÃO. *In: Agricultura e Agroindústria no contexto do desenvolvimento rural sustentável*. 1. ed. [s.l.] Editora Científica Digital, 2021. p. 332–350.

TAN, Q.; WANG, J.; CHEN, J.; LIU, X.; CHEN, X.; XIAO, Q.; LI, J.; LI, H.; ZHAO, X.; ZHANG, X. Involvement of Urm1, a Ubiquitin-Like Protein, in the Regulation of Oxidative Stress Response of *Toxoplasma gondii*. **Microbiology Spectrum**, v. 10, n. 2, p. 1–13, 27 abr. 2022.

TAVANO, O. L. Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 90, p. 1–11, 2013.

TOLDRÁ, F.; GALLEGRO, M.; REIG, M.; ARISTOY, M.-C.; MORA, L. Recent Progress in Enzymatic Release of Peptides in Foods of Animal Origin and Assessment of Bioactivity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 68, n. 46, p. 12842–12855, 18 nov. 2020.

VASQUEZ-ROJAS, W. V.; MARTÍN, D.; MIRALLES, B.; RECIO, I.; FORNARI, T.; CANO, M. P. Composition of Brazil Nut (*Bertholletia excels* HBK), Its Beverage and By-Products: A Healthy Food and Potential Source of Ingredients. **Foods**, v. 10, n. 12, p. 3007, 4 dez. 2021.

VASQUEZ-ROJAS, W. V.; PARRALEJO-SANZ, S.; MARTIN, D.; FORNARI, T.; CANO, M. P. Validation of High-Pressure Homogenization Process to Pasteurize Brazil Nut (*Bertholletia excelsa*) Beverages: Sensorial and Quality Characteristics during Cold Storage. **Beverages**, v. 9, n. 1, p. 22, 1 mar. 2023.

VASQUEZ, W. V.; HERNÁNDEZ, D. M.; HIERRO, J. N. DEL; MARTIN, D.; CANO, M. P.; FORNARI, T. Supercritical carbon dioxide extraction of oil and minor lipid compounds of cake byproduct from Brazil nut (*Bertholletia excelsa*) beverage production. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 171, n. November 2020, p. 105188, maio 2021.

WANG, X.; HE, L.; WEI, B.; YAN, G.; WANG, J.; TANG, R. Bromelain-immobilized and lactobionic acid-modified chitosan nanoparticles for enhanced drug penetration in tumor tissues. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 115, p. 129–142, 2018.

WATERHOUSE AL. Determination of Total Phenolics. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, v. 6, n. 1, p. I1-1, 2002.

XU, D.; GUAN, W.; WU, F.; JIN, Y.; YANG, N.; JIN, Z.; XU, X. Improvement of baked wheat chips quality by protease-mediated enzymatic hydrolysis of wheat flour. **LWT**, v. 157, p. 113043, mar. 2022.

YASUMATSU, K.; SAWADA, K.; MORITAKA, S.; MISAKI, M.; TODA, J.; WADA, T.; ISHII, K. Whipping and Emulsifying Properties of Soybean Products. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 36, n. 5, p. 719–727, 1972.

YVES, J. DE S. S.; SILVA, A. C. A.; CARVALHO, R. A. DE; COLNAGO, L. A.; VANIN, M. F. Rapid quantification of phenolic content and antioxidant activity in cookies produced with amazonian palm fruit flour using Micro-NIR spectrometer and PLS regression. **Microchemical Journal**, v. 195, p. 109398, dez. 2023.

ZHANG, S.; LIU, S.; SHEN, L.; CHEN, S.; HE, L.; LIU, A. Application of near-infrared spectroscopy for the nondestructive analysis of wheat flour: A review. **Current Research in Food Science**, v. 5, n. June, p. 1305–1312, 2022.

ZHENG, Z.; LI, J.; LIU, Y. Effects of partial hydrolysis on the structural, functional and antioxidant properties of oat protein isolate. **Food & Function**, v. 11, n. 4, p. 3144–3155, 2020.

ZHOU, Q.-C.; LIU, N.; FENG, C.-X. Research on the effect of papain co-extrusion on pea protein and enzymolysis antioxidant peptides. **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 41, n. 6, p. e13301, dez. 2017.