



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ALIMENTOS



JOSÉ LUCAS CARDOSO MAGALHÃES

ESTUDOS DE MÉTODOS ALCALINO/PRECIPITAÇÃO ISOELÉTRICA PARA
EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNA DA FARINHA OBTIDA DAS
FOLHAS DA *PERESKIA ACULEATA* MILLER
(*ORA-PRO-NÓBIS*)

Patos de Minas - MG

2025

JOSÉ LUCAS CARDOSO MAGALHÃES

ESTUDOS DE MÉTODOS ALCALINO/PRECIPITAÇÃO ISOELÉTRICA PARA
EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNA DA FARINHA OBTIDA DAS
FOLHAS DA *PERESKIA ACULEATA* MILLER
(*ORA-PRO-NÓBIS*)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao curso de graduação em Engenharia de
Alimentos da Faculdade de Engenharia
Química da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito parcial para
obtenção do título de bacharel em Engenharia
de Alimentos.

Orientador: Prof^ª. Dra. Daniele do E. S. L. da Silva
Coorientador: Prof^ª. Dra. Leticia Rocha Guidi

Patos de Minas - MG

2025

JOSÉ LUCAS CARDOSO MAGALHÃES

Ficha Catalográfica Online do Sistema de Bibliotecas da UFU
com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).

M188 Magalhães, José Lucas Cardoso, 1995-
2025 Estudos de métodos alcalino/precipitação isoelétrica para
extração e quantificação de proteína da farinha obtida das
folhas da pereskia aculeata miller (ora-pro-nóbis) [recurso
eletrônico] : Estratégias para valorização da ora-pro-nóbis
como fonte proteica alternativa / José Lucas Cardoso
Magalhães. - 2025.

Orientadora: Daniele do Espírito Santo Loreda da Silva.

Coorientadora: Leticia Rocha Guidi.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Uberlândia, Graduação em
Engenharia de Alimentos.

Modo de acesso: Internet.

Inclui bibliografia.

Inclui ilustrações.

1. Alimentos - Indústria. I. Silva, Daniele do Espírito Santo
Loreda da ,1977-, (Orient.). II. Guidi, Leticia Rocha,1984-,
(Coorient.). III. Universidade Federal de Uberlândia.
Graduação em Engenharia de Alimentos. IV. Título.

CDU: 664

Bibliotecários responsáveis pela estrutura de acordo com o AACR2:

Gizele Cristine Nunes do Couto - CRB6/2091

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074

Nelson Marcos Ferreira - CRB6/3074



HOMOLOGAÇÃO Nº 119

JOSÉ LUCAS CARDOSO MAGALHÃES

**Estudos de métodos alcalino/precipitação isoelétrica para extração
e quantificação de proteína da farinha obtida das folhas
da Pereskia aculeata Miller (Ora-Pro-Nobis)**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado nesta
data para obtenção do título de Bacharel em
Engenharia de Alimentos da Universidade Federal
de Uberlândia (UFU) - *campus* Patos de Minas (MG)
pela banca examinadora constituída por:

Prof.^a Dr.^a Daniele do Espírito Santo Loreda da Silva
Orientadora - FEQUI/UFU

Prof. Dr. Rodrigo Aparecido Moraes de Souza
FEQUI/UFU

Prof. Dr. Richtier Gonçalves da Cruz
FEQUI/UFU

Patos de Minas, 6 de outubro de 2025.



Documento assinado eletronicamente por **Richtier Gonçalves da Cruz, Professor(a) do Magistério Superior**, em 06/10/2025, às 16:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Rodrigo Aparecido Moraes de Souza, Professor(a) do Magistério Superior**, em 06/10/2025, às 16:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniele do Espírito Santo Loreda da Silva, Professor(a) do Magistério Superior**, em 06/10/2025, às 16:02, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site
https://www.sei.ufu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código
verificador **5983694** e o código CRC **404370FE**.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela força e pela oportunidade de chegar até aqui. Aos meus pais José Rodrigues e Maria Nilza, pelo amor incondicional, apoio constante e incentivo em cada etapa desta caminhada. Aos meus irmãos (Tatiana, Maycon e Fillipe), pela compreensão, companheirismo e por acreditar sempre no meu potencial.

Um agradecimento especial ao Flávio, pelo apoio, cumplicidade e pela motivação nos momentos em que mais precisei.

Às minhas orientadoras, pela dedicação, paciência e valiosas contribuições para a construção deste trabalho. Agradeço pela confiança depositada em mim, paciência e pelos ensinamentos que levarei para toda a vida acadêmica e profissional.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho, deixo aqui a minha sincera gratidão.

RESUMO

A busca por fontes alternativas de proteínas e outros compostos bioativos têm sido objeto de estudo na última década, com a finalidade de atender a diferentes públicos como, por exemplo, os flexitarianos. Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar métodos não enzimáticos de extração e quantificação de proteínas das folhas de *Pereskia aculeata* Miller (ora-pro-nóbis), com a importância de abrir caminhos para compreensão da função biológica, aplicações industriais, criação de novos produtos alimentícios, além de impulsionar pesquisas científicas, por se tratar de uma Planta Alimentícia Não Convencional (PANC) com elevado potencial nutricional. Foram testados os métodos de extração alcalina/precipitação isoelétrica, em condições convencionais e associadas ao ultrassom, com posterior quantificação proteica pelo método de Kjeldahl. Os resultados demonstraram que a extração alcalina com NaOH 2 M e HCl 2 M apresentou o maior rendimento (24,16%), enquanto a associação com ultrassom não promoveu ganhos, resultando em rendimentos menores como (18,92% e 7,29%). A presença de mucilagem nas folhas mostrou-se um fator limitante, formando complexos proteína-polissacarídeo que reduziram a recuperação proteica, mas também um potencial recurso tecnológico por suas propriedades espessantes e estabilizantes. Os achados reforçam o valor da ora-pro-nóbis como fonte alternativa de proteína vegetal e destacam a necessidade de otimização dos protocolos de extração, visando conciliar rendimento, integridade estrutural e aplicabilidade tecnológica.

Palavras-chave: *Pereskia aculeata*; ora-pro-nóbis; proteínas vegetais; extração alcalina; precipitação isoelétrica; ultrassom; mucilagem.

ABSTRACT

The search for alternative sources of proteins and other bioactive compounds has been the focus of numerous studies over the past decade, aiming to meet the demands of different consumer groups, such as flexitarians. In this context, the present work aimed to evaluate non-enzymatic methods for the extraction and quantification of proteins from the leaves of *Pereskia aculeata* Miller (ora-pro-nóbis), with the goal of paving the way for a better understanding of its biological functions, industrial applications, and the development of new food products, as well as stimulating scientific research on this Non-Conventional Edible Plant (PANC) with high nutritional potential. extraction/isoelectric precipitation methods were tested under conventional conditions and in combination with ultrasound, followed by protein quantification using the Kjeldahl method. The results showed that alkaline extraction with NaOH 2 M and HCl 2 M yielded the highest protein recovery (24.16%), whereas the combination with ultrasound did not enhance extraction efficiency, resulting in lower yields (18.92% and 7.29%). The presence of mucilage in the leaves was identified as a limiting factor, forming protein–polysaccharide complexes that reduced protein recovery, but also representing a potential technological resource due to its thickening and stabilizing properties. These findings reinforce the value of ora-pro-nóbis as an alternative source of plant protein and highlight the need for optimization of extraction protocols to balance yield, structural integrity, and technological applicability.

Keywords: *Pereskia aculeata*; ora-pro-nóbis; plant proteins; alkaline extraction; isoelectric precipitation; ultrasound; mucilage; Kjeldahl.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Pereskia aculeata</i> mill.....	11
Figura 2. Características das técnicas PSM.....	16
Figura 3. Diagrama de fases no ponto triplo.....	18
Figura 4. Processo de obtenção da proteína da OPN pelo exercício da EA+Ultrassom.....	22
Figura 5. Processo de obtenção da proteína da OPN pelo exercício da EA.....	23
Figura 6. Formação de grumos e gel do extrato em contato com pH alcalino.....	28

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1. Fontes vegetais de proteína, teores médios e perfil de aminoácidos.....	8
Tabela 2. Composição centesimal na matéria seca e das folhas <i>in natura</i> da OPN.....	13
Tabela 3. Análise físico-química das folhas <i>in natura</i> e farinha seca da OPN.....	24
Tabela 4. Média da proteína extraída (%) por método de extração alcalina/precipitação isoeletrica convencional e combinada com ultrassom, determinadas pelo método de Kjeldahl.....	25

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Objetivo geral.....	14
1.1.1 Objetivos específicos.....	14
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	15
2.1 Proteínas	15
2.1.1 Proteína vegetal.....	16
2.1.2 Mercado e perspectiva.....	18
2.2 Plantas alimentícias não convencionais (PANCs).....	19
2.3 Ora-pro-nóbis.....	19
2.4 Métodos de extração de proteínas	22
2.4.1 Extração alcalina/Precipitação isoeletrica combinada com ultrassom.....	23
2.5 Mucilagem	24
2.6 Métodos de concentração de proteínas	24
2.6.1 Processo de Separação por Membranas (PSM).....	25
2.6.2 Liofilização	26
2.7 Método de Kjeldahl para determinação de proteínas	27
3 METODOLOGIA.....	29
3.1 Materiais.....	29
3.2 Metodologia Experimental.....	30
3.2.1 Caracterização das folhas da OPN.....	30
3.3 Extração alcalina/Precipitação isoeletrica combinada com ultrassom.....	30
3.4 Extração alcalina/Precipitação isoeletrica.....	31
3.5 Concentração das proteínas por ultrafiltração	32
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 Análise físico-química das folhas <i>in natura</i> e da farinha seca da OPN.....	33
4.2 Extração Alcalina e Extração Alcalina Combinada com Ultrassom	33
4.3 Influência da mucilagem na extração proteica	39
4.4 Implicações tecnológicas	40
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	41
6 REFERÊNCIAS.....	43

1 INTRODUÇÃO

A proteína se encontra presente em diversos alimentos, podendo estar em maior ou menor concentração, sendo esta essencial para a nutrição humana. Os alimentos mais ricos em proteínas são as carnes, ovos, bebidas lácteas e soja, sendo estas referências em aminoácidos essenciais e digestibilidade. As proteínas de origem animal são constituídas por aminoácidos essenciais. Enquanto, as de origem vegetal, podem ou não conter todos os aminoácidos essenciais, exigindo-se uma combinação com alimentos que podem ser do mesmo grupo ou não para alcançar todos os aminoácidos essenciais necessários para nutrição completa (Ribeiro et al, 2021).

Percebe-se que a proteína animal se encontra cada vez mais onerosa e a cada dia mais inacessível para muitas pessoas nos países em desenvolvimento, tornando-se cada vez mais importante a busca por fontes de proteína baratas com boas propriedades nutricionais para aplicações alimentares e não alimentares (Mune et al, 2016). Segundo Torres e colaboradores (2022) o mercado de proteínas vegetais é representado principalmente pela soja e mais de 75% da demanda de proteínas vegetais da União Europeia é atendida pelos farelos de soja e pelos grãos de soja.

No entanto, espera-se que o mercado de proteínas vegetais cresça a uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 10,5% de 2021 a 2028, de forma a aumentar a busca e a demanda por culturas alternativas para produção de proteínas vegetais (Torres et al, 2022).

O Brasil é um país com uma vasta biodiversidade de plantas com importantes propriedades nutricionais. Exemplo disso, são as plantas alimentícias não convencionais (PANC's), que são plantas que têm distribuição limitada e estão cingidas a determinadas áreas ou regiões, não sendo cultivados em larga escala e fazendo parte da alimentação regional. Por isso, não despertam o interesse comercial das empresas agrícolas (Vitor, 2022).

A *Ora-pro-nóbis* (OPN), é um exemplo de PANC que hoje se encontra em grandes estudos no intuito de atender a essa demanda. Ela é uma planta não domesticada com potencial nutritivo significativo (Torres et al, 2022), apresentando um elevado teor proteico (17-30%) e digestibilidade, além de altos teores de aminoácidos essenciais (Rodrigues et al, 2013).

Portanto, faz-se necessário a extração das proteínas presentes na OPN. Para isso, é fundamental avaliar e desenvolver métodos efetivos de extração dessa proteína, uma vez que ainda são escassos estes estudos na literatura.

1.1 Objetivo geral

Avaliar o método de extração de proteínas a partir da farinha das folhas de *Pereskia aculeata* Mill. (Ora-pro-nóbis), utilizando a extração alcalina seguida de precipitação isoelétrica, visando a quantificação do teor proteico obtido.

1.1.1 Objetivos específicos

- Realizar a extração alcalina das proteínas das folhas de *Pereskia aculeata* Miller utilizando solução de NaOH.
- Promover a precipitação isoelétrica das proteínas extraídas por ajuste do pH com solução de HCl.
- Quantificar o rendimento proteico obtido a partir das extrações realizadas.
- Comparar os resultados obtidos com dados da literatura sobre extração de proteínas da *ora-pro-nóbis*.
- Avaliar a eficiência do método aplicado.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Proteínas

As proteínas são componentes essenciais a todas as células vivas correspondendo a cerca de 50% ou mais de seu peso seco e estão relacionadas a praticamente todas as funções fisiológicas. Sendo formadas por uma ou mais cadeias lineares de aminoácidos que estão unidos entre si por ligações peptídicas. Elas são utilizadas na regeneração de tecidos, e funcionam como catalisadores nas reações químicas que se dão nos organismos vivos e que envolvem enzimas ou hormônios. Além disso, as proteínas são necessárias nas reações imunológicas e, juntamente com os ácidos nucleicos, são indispensáveis nos fenômenos de crescimento e reprodução (Quiroga, 2014; Ribeiro, 2014; Brasil¹, 2023).

Quimicamente, as proteínas são polímeros de alto peso molecular (acima de 10.000 Daltons), cujas unidades básicas são os aminoácidos, ligados entre si por ligações peptídicas e o seu tamanho pode variar entre poucas dezenas de aminoácidos até vários milhares. Nesse contexto, dentre as macromoléculas (ácidos nucleicos, hidratos de carbono, lipídios e proteínas), as proteínas são as que têm estrutura tridimensional e funções mais diversas, participando em todas as fases do ciclo celular. As propriedades de uma proteína são determinadas pelo número e espécie dos resíduos de aminoácidos, bem como pela sequência desses compostos na molécula (Quiroga, 2014; Ribeiro, 2014).

As proteínas foram identificadas pela primeira vez no século XVIII, por Antoine Fourcroy e outros investigadores, que observaram a sua resposta particular, desnaturação, face a temperaturas elevadas e a condições ácidas. (Ribeiro, 2014). Avaliando as funções específicas e o seu perfil de aminoácidos essenciais, além da importância de quantificar a proteína total necessária para o organismo. Assim, em virtude da importância qualitativa e quantitativa, as proteínas têm sido largamente estudadas e seus segredos desvendados, no que diz respeito à sua síntese ou aproveitamento metabólico (Brasil¹, 2023). As proteínas podem ser tanto de origem animal quanto de origem vegetal.

2.1.1 Proteína vegetal

As proteínas vegetais proporcionam benefícios à saúde, por se tratarem de proteínas que promovem a redução do colesterol LDL, a saúde digestiva por meio de fibras, além dos nutrientes essenciais característicos da espécie (Silva et al, 2019). É notório que, o interesse por elas está sendo cada vez maior, tanto na comunidade científica quanto pela população em geral, e é movido por um tripé – ética, sustentabilidade e saúde – uma vez que a procura por substitutos da carne e de suplementos proteicos de origem animal é uma tendência de consumo (Nichele, 2021).

Diante disso, o estímulo ao consumo de proteínas vegetais é apontado como uma das principais formas de promoção de sistemas alimentares mais sustentáveis e redução de doenças crônicas (Nichele, 2021).

As proteínas estão presentes de forma significativa em diferentes partes de sua estrutura como: sementes, talos, nós, córtex, pecíolos, folhas, flores, frutos, raízes, rizomas e tubérculos. Logo, a proteína isolada a partir dessas fontes vegetais podem ser utilizadas como ingrediente com propriedades funcionais, como benefício à saúde (Silva et al, 2019).

Distribuídas em diversas matrizes, principalmente leguminosas, cereais, pseudocereais e oleaginosas. Apresentam um bom teor de proteína, e a qualidade nutricional está relacionada ao perfil de aminoácidos, com destaque para a presença de aminoácidos essenciais e para os limitantes como mostra a Tabela 1.

É importante ressaltar que o valor nutricional e a qualidade das proteínas vegetais variam de acordo com a composição de aminoácidos, sua digestibilidade e biodisponibilidade, sendo que algumas proteínas vegetais possuem pouco valor nutricional, devido à deficiência de aminoácidos essenciais. Além disso, elas possuem baixa quantidade de aminoácidos básicos na fração predominante, que é formada pelas prolaminas, que são proteínas insolúveis em água e etanol absoluto, mas solúveis em etanol entre 50% e 80%. Assim, entre os exemplos de prolaminas estão o trigo e o centeio (gliadina), o milho (seína) e a cevada (hordeína) (Silva et al, 2019; Brasil⁴, 2023).

Tabela 1 - Fontes vegetais de proteína, teores médios e perfil de aminoácidos.

FONTE VEGETAL	TEOR DE PROTEÍNA (%)	AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS PRESENTES	AMINOÁCIDO(S) LIMITANTE	REFERÊNCIA
Soja (<i>Glycine Max</i>)	36-40	Lisina, leucina, valina e isoleucina	Metionina e cisteína	LI; CHEN; ZHANG, 2020
Ervilha (<i>Pisum Sativum</i>)	20-25	Lisina, arginina e fenilalanina	Metionina	STANGLER; LAMMERS; HAYES, 2021
Grão-de-bico (<i>Cicer Arietinum</i>)	18-22	Lisina e triptofano	Metionina	FERREIRA <i>et al.</i> , 2020
Lentilha (<i>Lens Culinaris</i>)	24-28	Lisina, leucina e treonina	Metionina e cisteína	PEREIRA; SOUZA, 2018
Quinoa (<i>Chenopodium Quinoa</i>)	14-18	Completo (todos essenciais, incluindo lisina)	Não apresenta aminoácido crítico relevante	NAVRUZ- VARLI; SANLIER, 2016
Amaranto (<i>Amaranthus Caudatus</i>)	13-18	Lisina e metionina (mais elevado que outros)	Leucina (relativamente mais baixa)	BARROS <i>et al.</i> , 2018
Arroz (<i>Oryza Sativa</i>)	7-9	Metionina e cisteína	Lisina	WU, 2016
Milho (<i>Zea Mays</i>)	8-10	Leucina e valina	Lisina e triptofano	FAO, 2013
Trigo (<i>Triticum Aestivum</i>)	10-14	Glutamina, prolina e leucina	Lisina	SHEWRY; HEY, 2015
Ora-pro-nóbis (<i>Pereskia aculeata</i>)	17-30	Lisina, leucina e arginina	Metionina e cisteína	MENDES, 2019; COSTA, 2022; EMBRAPA, 2022

Fonte: Autor, 2025.

2.1.2 Mercado e perspectiva

Durante muitos anos, alimentos à base de plantas, utilizados como substitutos para carne, leite e ovos, foram amplamente considerados de interesse para pessoas veganas e vegetarianas. Entretanto, tem havido uma procura crescente por esse tipo de alimento por aqueles que querem diminuir a quantidade de proteína animal ingerida na dieta, são os chamados de “flexitarianos”. Os flexitarianos consomem carne, porém com menos frequência, substituindo a proteína animal por opções vegetais em parte das refeições. Sendo esse, um modelo de alimentação com cada vez mais adeptos, inclusive no Brasil (Brasil², 2023; Giacomelly et al, 2020).

O setor de alimentos à base de plantas não é exatamente novo, substitutos vegetais já são vistos nas prateleiras dos supermercados há muitos anos. Entre as razões para o crescimento desse público, está o aumento da demanda por produtos mais sustentáveis, a preocupação com o bem-estar animal e a busca por uma dieta mais saudável, tendência que tem crescido no mundo todo. E, com a expectativa do aumento da população mundial, o mercado global de alimentos à base de plantas pode quintuplicar (Brasil², 2023).

No Brasil, o processo de desenvolvimento do mercado e aceitação do consumidor foi similar a outros países, iniciando-se com produtos vegetarianos que não se propunham a simular as características da carne e evoluindo para os produtos análogos (Pachá et al, 2021). Além disso, os avanços em ciência de alimentos (tecnologia de sabores e processos de extrusão) levaram a uma capacidade aprimorada de criar alimentos à base de planta que imita o produto de origem animal (Giacomelly et al, 2020).

A categoria *plant-based* (à base de plantas, em português) já não é mais um nicho, pelo contrário, é um negócio promissor, em plena expansão global, graças ao aumento significativo de um novo perfil consumidor. Desse modo, o mercado de *plant-based* cresce no Brasil acompanhando uma tendência global (Brasil², 2023).

Segundo dados da *Food Connection* (2024) em 2024, 84% dos consumidores brasileiros estão abertos ao consumo de proteínas alternativas, já a *The Good Food Institute* (2022), apresenta dados de que 29% da população brasileira estão reduzindo o consumo de produtos de origens animais. Portanto, com essa expectativa de aumento promissor de proteínas alternativas, faz-se necessário a busca de novos alimentos e

métodos de extração de proteínas para uso no mercado, promovendo estudos e pesquisas para novos desenvolvimentos.

2.2 Plantas alimentícias não convencionais (PANCs)

Pressupõe-se que existam 390 mil espécies de plantas no mundo e que o Brasil seja um dos mais biodiversos do planeta, rico em variadas espécies. Entretanto, a alta biodiversidade do Brasil ainda é pouco conhecida, seu uso para alimentação relativamente baixo e grande parte dessas plantas se encontram em diversas localidades, mas vistas, muitas vezes, sem utilidade e identificadas como mato, praga ou erva daninha (Silva, 2021; Brasil³, 2023).

A falta de conhecimento sobre o potencial nutricional dessas plantas deve-se principalmente à insuficiência de pesquisas sobre técnicas de cultivo, propagação, processamento e reprodução, bem como sobre características biológicas, reprodutivas e nutricionais. No entanto, várias espécies podem ser consumidas e possuem alto valor nutricional (Jesus et al 2020; Brasil³, 2023), sendo essas, chamadas de Plantas Alimentícias Não Convencionas (PANCs).

O termo PANC foi criado em 2008 pelo biólogo e professor Valdely Ferreira Kinupp e engloba todas as plantas que possuem uma ou mais partes comestíveis, sejam elas espontâneas ou cultivadas, nativas ou exóticas e que não façam parte do nosso cardápio diário e que podem incluir partes alimentícias de espécies convencionais, como exemplo: folhas de batata-doce, folhas de flores, “umbigo” da bananeira, flores, alguns brotos e sementes de abóboras. (Kinupp et al, 2014; Liberato et al, 2019, Vitor, 2022).

Esses vegetais, contudo, não constituem um grupo homogêneo, como uma família de planta. Entre elas, uma PANC que se destaca é a OPN (*Pereskia aculeata* Miller) por ser rica em proteínas e fibras e é comumente utilizada em recheios e corante, no qual suas folhas e frutos são comestíveis (Brasil³, 2023).

2.3 Ora-pro-nóbis

A *Pereskia aculeata* Mill. (Figura 1), popularmente conhecida como groselha de Barbados e mais comumente Ora-pro-nóbis que do latim significa “rogai por nós”, é um nome popular brasileiro para uma planta não convencional da família *Cactaceae*

e subfamília *Pereskioideae*. É nativa da América do Sul e está adaptada apenas a baixas altitudes. Essa planta é utilizada como alimento devido ao seu alto valor nutricional e na medicina tradicional, por possuir diversas bioatividades valiosas para a saúde humana, tais como proteína, vitaminas, minerais e fibras alimentares (Torres et al, 2022; Garcia et al, 2019; Vitor, 2022; Rodrigues et al, 2013).

Figura 1 - *Pereskia aculeata* Mill.



Fonte: Autor, 2024.

A OPN é originária da América Tropical, com distribuição contínua do México até a América do Sul. Nativa do Brasil, ocorre nas regiões Nordeste, Sudeste e Sul, majoritariamente em ecossistemas associados à Mata Atlântica. Comumente ela é encontrada na natureza em bordas de bosques e florestas, em matas ciliares, nas margens de rios e em formações rochosas de gnaiss, podendo também ser encontrada em matagais e florestas costeiras, florestas secas, matas semiáridas, mata nativa em áreas urbanas, dunas costeiras, florestas de savana, matas abertas, matagais perto de ferrovias, beiras de estradas, áreas perturbadas e em espaço abertos (Agostini-Costa et al, 2012; Barbalho et al, 2016; Souza, 2023).

Caracterizada como planta nativa originária dos trópicos, perene, com caules finos, geralmente em forma de trepadeira, quando não podada pode atingir uma altura de dez metros, com ramos longos, espinhos e folhas carnudas com presença de mucilagem, mas também existindo espécie/clone em forma de arbusto. É interessante e propícia ao cultivo por ser rústica e de fácil propagação. No Brasil, é encontrada principalmente nos estados da Bahia e Minas Gerais, apresentando uma vasta

quantidade de clones, mas essa cultura ainda carece de informações técnicas e é pouco estudada (Rodrigues et al, 2013).

Do sul ao nordeste do Brasil, as folhas de OPN são utilizadas na culinária tradicional e estão presentes em diversos pratos doces e salgados. Em algumas comunidades carentes, ela é conhecida como “carne de pobre” porque é a principal fonte de proteína disponível (Garcia et al, 2019). Além de conter grandes quantidades de vitaminas, minerais e fibras elementos que são essenciais para a nutrição humana (Torres et al, 2022).

A OPN mesmo sendo pouco estudada cientificamente é amplamente usada devido ao seu alto teor proteico (17-30% no extrato seco). Suas folhas suculentas possuem um teor de proteína muito alto para os padrões vegetais, cuja concentrações de proteínas nas folhas podem variar de acordo com a idade fisiológica da planta, o manejo agrônomo, à origem botânica, bem como à composição do solo, cuja textura argilosa é a recomendada para o cultivo (EMBRAPA, 2019; Rodrigues et al, 2013; Torres et al, 2022; Garcia et al, 2019).

A estrutura das proteínas de suas folhas contém aminoácidos, sendo ótima fonte de aminoácidos, como triptofano, fenilalanina, tirosina, isoleucina, leucina, treonina e lisina. Ademais, as concentrações desses aminoácidos essenciais são próximas ou superiores às recomendadas pela FAO (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura) na dieta humana, sendo o triptofano um dos mais abundantes (Martin et al, 2017; EMBRAPA, 2019).

Logo, as proteínas presentes na OPN apresentam um perfil essencial frequentemente limitado em outras fontes vegetais. Esse diferencial faz com que a proteína da OPN seja considerada de boa qualidade nutricional, atuando como complemento proteico em dietas à base de vegetais, além da contribuição para combater a insegurança alimentar, especialmente em comunidades com menor acesso a alimentos de origem animal, fazendo-se necessário o estudo de sua extração.

Tabela 2 - Composição centesimal das folhas de *ora-pro-nóbis*.**COMPOSIÇÃO QUÍMICA EM 100g DE FOLHAS DA OPN**

ENERGIA	26 kcal
PROTEÍNA	2,0 g
LIPÍDIOS	0,4 g
CARBOIDRATOS	5,0 g
FIBRAS	0,9 g
CÁLCIO	79,0 mg
FÓSFORO	32,0 mg
FERRO	3,6 mg
RETINOL	250,0 mg
VITAMINA B1	0,02 mg
VITAMINA B2	0,1 mg
NIACINA	0,5 mg
VITAMINA C	23,0 mg

Fonte: Ferreira *et al.*, 2015.

2.4 Métodos de extração de proteínas

Existem vários métodos de obtenção de proteína e as técnicas estabelecidas incluem: extração alcalina (extração de glutelinas) seguida de precipitação isoeletrica, cujo princípio baseia-se na solubilização de proteínas em pH alcalino, promovendo a dissociação de grupos ácidos das proteínas, facilitando sua solubilização. Posteriormente, a precipitação isoeletrica é usada para recuperar as proteínas; extração aquosa (extração de albumina), método que envolve a utilização de água como solvente para solubilizar e remover as proteínas de um material de origem, como tecidos ou células; extração salina (extração de globulinas), que envolve a utilização de altas concentrações de sais para solubilizar proteínas de uma amostra; entre outras. Algumas das tecnologias emergentes são promissoras porque permitem a fabricação de produtos ultrapuros e a busca por marcas tecnológicas verdes, seguras e nutritivas, como a extração enzimática (utiliza enzimas para quebrar as paredes celulares e liberar proteínas), campo elétrico pulsado (método não térmico que usa pulsos elétricos para criar poros nas membranas celulares, facilitando a saída das proteínas), entre outras,

visando a redução de uso químico que as tornam mais sustentáveis. No entanto, essas tecnologias precisam superar vários desafios para alcançar seu status comercial (Fonseca, 2019).

2.4.1 Extração alcalina/Precipitação isoeletrica combinada com ultrassom

A extração alcalina (EA) é sem dúvida o método mais utilizado para extrair proteínas de tecidos vegetais (Boye et al 2010; Quiaoyuin et al, 2017). Em pH alcalino, ocorre a ionização dos aminoácidos ácidos e neutros aumentando assim a solubilidade das proteínas em água. Nesta condição, a matéria-prima (como farinha de ora-pro-nóbis) quando colocada em uma solução alcalina, obtém o aumento da solubilidade das suas proteínas. (Kumar et al, 2021). Em seguida a solução com as proteínas solubilizadas é separada dos resíduos insolúveis por meio de centrifugação ou filtração. O processo de extração ácida obedece ao mesmo princípio de aumentar a solubilidade das proteínas por ionização dos aminoácidos, porém, como o ponto isoeletrico das proteínas vegetais é normalmente em pH ácido, a técnica não é tão eficiente quanto a extração alcalina (Costa, 2022).

No ponto isoeletrico (PI), as proteínas perdem sua conformação estrutural e diminuem a solubilidade, ocorrendo a precipitação. Esse comportamento das proteínas em um pH específico é a chave para o processo de obtenção do isolado proteico por extração alcalina seguida de precipitação isoeletrica, ou seja, a proteína passa a ser isolada por precipitação isoeletrica com o ajuste do pH no PI da proteína. Este é um dos métodos mais usuais para a obtenção de produtos proteicos a partir de vegetais, além de se obter bons resultados (Boye et al, 2010, Fonseca, 2019).

O uso do ultrassom é um método bastante utilizado para extração de proteínas vegetais por aumentar a biodisponibilidade desses compostos devido ao seu efeito degradativo, que é causado pela cavitação acústica. É um processo que acontece quando a pressão estática cai abaixo da pressão de vapor do líquido, ocorrendo a formação e crescimento de bolhas de vapor que, no subsequente pico de pressão colapsam violentamente levando à degradação das células (Gordalina et al, 2021).

Estima-se que esse processo cria microrregiões de condições extremas, com temperaturas que podem chegar a 5000 °C e pressão de 100 MPa (Günerken et al, 2015). Além disso, outras forças também estão por trás da ruptura celular na extração

assistida por ultrassom. Ondas acústicas de alta frequência se propagam no meio provocando choque entre as células e o meio circundante, causando a ruptura das células. A fonte das ondas ultrassônicas também causa a termólise da água resultando em radicais livres altamente reativos que reagem com as células (Günerken et al, 2015).

2.5 Mucilagem

As mucilagens possuem grande quantidade de hidrocolóides, quimicamente chamados de polissacarídeos e popularmente conhecidas como gomas, podendo ser usado na formulação de alimentos, pois possuem características espessantes, geleificantes, emulsificantes e estabilizantes, propriedades importantes na elaboração de alimentos (Lise, 2021).

Este polissacarídeo é solúvel em água, com elevada viscosidade e capacidade de formar géis, presente em diversas plantas, como chia, linhaça, quiabo e ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata*). Ainda que seja valorizada por suas propriedades tecnológicas, como espessamento, estabilização e formação de biofilmes (Conceição et al., 2014).

A ora-pro-nóbis apresenta elevado conteúdo de mucilagem em suas folhas e caules. A mucilagem da espécie é composta principalmente pelo biopolímero arabinogalactana e se caracteriza por uma composição química com altos níveis de carboidratos e proteínas, variando de 10,47% a 19%. Essa composição confere ao material uma expressiva capacidade emulsificante (Lima Junior et al., 2013; Martin et al., 2017; Souza, 2024), apresentando desafios nos processos de extração de proteínas vegetais.

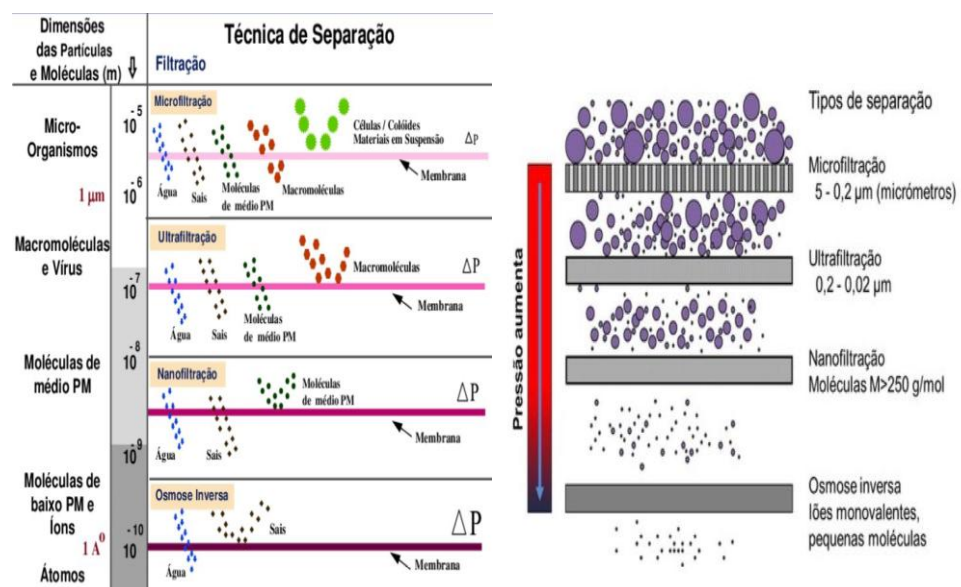
2.6 Métodos de concentração de proteínas

Os métodos de concentração proteínas, são essenciais para elevar o teor de proteínas obtido nas soluções no processo de extração, sendo usados para essa finalidade as membranas e o processo de liofilização.

2.6.1 Processo de Separação por Membranas (PSM)

O Processo de Separação por Membrana (PSM) tem sido muito utilizado em diversas áreas, incluindo purificação de produtos, concentração, dessalinização, clarificação, entre outras. Neste processo a membrana é uma barreira seletiva importante, com a finalidade de concentrar ou purificar espécies de diferentes tamanhos e características, apresentando como vantagem a operação com fluidos termolábeis e um menor consumo energético. Dentre os processos envolvidos pode-se destacar a micro, ultra, nanofiltração e osmose reversa para a concentração (Figura 2), pois possui a característica de preservar a atividade funcional e apresentar uma ótima seletividade, além de não necessitar o uso de solventes ou reagentes químicos tóxicos (Habert et al 2006).

Figura 2 - Características das técnicas PSM.



Fonte: Habert, 1997; André 2016

Apesar de serem processos com um menor gasto energético eles apresentam problemas relacionados à perda de fluxo devido ao depósito de materiais sobre a sua superfície que podem reduzir o fluxo pela formação de incrustações e biofilme que produz a polarização por concentração. Nestes casos, são necessários o controle das variáveis do processo como ajuste do pH, temperatura, pressão, concentração dos solutos no fluido de alimentação do sistema, tipo de membrana, etc. (Habert et al 2006).

2.6.2 Liofilização

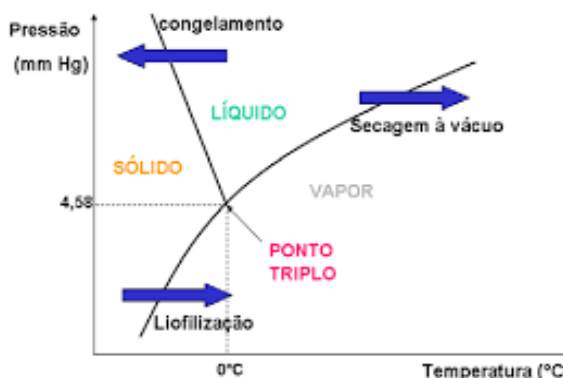
A liofilização pode ser definida como um processo de secagem de um produto previamente congelado em que a maior parte da água é removida por sublimação (mudança direta do estado sólido para o gasoso), utilizando-se baixas temperaturas de secagem à pressão reduzida. Sua utilização é extremamente relevante em processos que se pretendem manter a viabilidade ou atividade biológica na condição de desidratação (Pitombo, 2005; Silva, 2022). Este processo envolve várias etapas que necessitam de ajuda de equipamentos para serem controladas para que garantam a preservação físicas e químicas das substâncias. Como a sublimação permite a evaporação da água e a concentração do soluto, isto minimiza os danos térmicos e químicos às proteínas, evitando sua desnaturação, agregação ou degradação enzimática (Rosa et al, 2019), trazendo benefícios na preservação original das estruturas e menor volume.

O processo de liofilização passa por três etapas: A primeira etapa consiste no congelamento inicial, onde o produto é resfriado a temperaturas muito baixas, com o objetivo de cristalizar toda a água da amostra. Na segunda etapa ocorre a sublimação, que é a principal da liofilização, fase em que o gelo é removido diretamente por sublimação com ajuda de uma bomba a vácuo, onde a pressão é reduzida para facilitar a sublimação da água. Por fim, a terceira etapa é o processo conhecido como a dessorção, conhecido também como secagem, tem o objetivo de remover a água residual da amostra, a qual ainda se encontra em quantidades mínimas. Nesta fase, a temperatura é ligeiramente aumentada, de forma moderada, para remover a umidade restante que está ligada de forma física (Brasil⁵, 2024, Silva, 2022), garantindo um produto que mantém suas características originais. Entretanto, além do custo elevado do procedimento, o tempo de processamento pode levar muitas horas.

A liofilização é habitualmente usada para desidratação de produtos, seja ele farmacêuticos, biotecnológicos ou produtos alimentícios limitados, tais como: café, especiarias, carnes, ingredientes alimentícios, frutas e folhas. Esta técnica é realizada em baixa temperatura, na qual preserva-se a funcionalidade, a viabilidade celular e os valores nutricionais mesmo após a remoção da água no processo de desidratação. Indústrias que lidam com produtos de origem biológica, especialmente aquelas com alta margem de lucro, consideram a liofilização uma boa opção de desidratação para produzir produtos de alta qualidade, proporcionando melhor retenção de ingredientes

ativos, propriedades de textura e preservação da cor (Caballero et al, 2016; Hua et al, 2010).

Figura 3 - Diagrama de fases da água no ponto triplo.



Fonte: Metta et al, 2012.

Estudos recentes também mostram que a liofilização potencializa a recuperação proteica em matrizes como leite, soro de leite e proteínas vegetais. Souza e colaboradores (2020), ao trabalharem com isolados proteicos de feijão, verificaram que a liofilização preservou a solubilidade e a capacidade emulsificante das proteínas, enquanto métodos de secagem convencionais reduziram significativamente essas propriedades. Já em pesquisas com polpas de frutas e extratos vegetais, a liofilização foi considerada a técnica mais eficiente para retenção de proteínas, antioxidantes e minerais, mesmo em longo período de armazenamento (Silva et al., 2019).

Assim, a liofilização se destaca não apenas como método de conservação, mas também como estratégia para obtenção de concentrados proteicos de alta qualidade, na qual impede a deterioração e o crescimento microbiano, além de manter a estrutura e atividade biológica das proteínas, representando uma ferramenta essencial na pesquisa e no desenvolvimento de alimentos funcionais e ingredientes de origem vegetal (Brasil⁵, 2024; Karunnanithy et al, 2024).

2.7 Método de Kjeldahl para determinação de proteínas

Exposto no ano de 1883, em uma reunião da sociedade dinamarquesa de química, pelo químico dinamarquês Johan Gustav Christoffer Thorsager Kjeldahl (1849-1900), o método baseia-se na determinação do nitrogênio orgânico total de uma

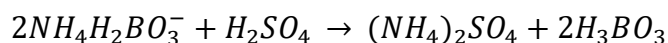
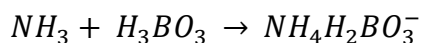
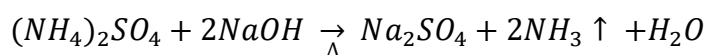
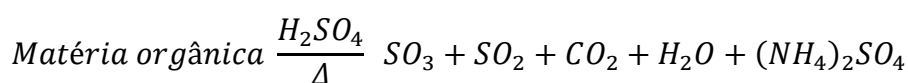
amostra biológica, sendo este um dos procedimentos mais usados atualmente. O método original foi criado para a indústria cervejeira no intuito de acompanhar mudanças no teor de proteínas em grãos durante a germinação e fermentação (Costa, 2022), trazendo a ideia de um método simples, de fácil aplicação e preciso.

Em todos esses anos de utilização, houve algumas modificações. O método consiste em três etapas: digestão da amostra, destilação e titulação. A primeira fase é a digestão, na qual a amostra juntamente com ácido sulfúrico e uma mistura catalítica (usada para acelerar o processo de reação), é aquecida até que o carbono e o hidrogênio sejam oxidados a CO_2 e H_2O . Ocorrendo a conversão do nitrogênio da amostra em íons NH_4^+ que reage com o H_2SO_4 resultando em sulfato de amônio. A digestão precisa conter H_2SO_4 residual para reter o NH_3 como NH_4^+ (Costa, 2022).

Em seguida, destilação, a água e uma solução alcalina (hidróxido de sódio) são adicionados no recipiente e, ocorre a transformação do íon NH_4^+ em NH_3 . A solução segue para destilação com o objetivo de se coletar o NH_3 . A destilação direta à vapor diminui drasticamente o tempo necessário para o processo (Costa, 2022).

Já na etapa titulação, é usado o ácido bórico (H_3BO_3) para reagir com a amônia. Posteriormente, uma solução padrão de HCl de concentração conhecida é adicionada ao meio até que a cor da solução mude de verde para violeta. A quantificação de nitrogênio total na amostra se dá pelo cálculo estequiométrico, no qual um mol de NH_3 requer um mol de HCl (Costa, 2022), como podemos observar na Equação 1.

Equação 1- Processo de reação para determinação de Nitrogênio.



Fonte: Mello, 2020

Após o processo para determinação de nitrogênio, o teor de proteína é determinado indiretamente utilizando-se um fator de conversão, como demonstrado através das equações (2), (3) e (4) abaixo.

$$N_{aliquota} = FC * V_{g-b} * 0,0014 \quad (\text{Eq. 2})$$

$$N(\%) = \frac{N_{aliquotas}}{M_{amostra}} * 100 \quad (\text{Eq. 3})$$

$$P(\%) = N(\%) * FC \quad (\text{Eq. 4})$$

Onde, FC = fator de correção; V_{g-b} = volume de ácido gasto na titulação da amostra (mL) – volume de ácido gasto na titulação do branco (mL); 0,0014 = constante que representa a massa de nitrogênio (em g) correspondente a 1 mL de ácido 1 N; $N_{aliquota}$ = quantidade de nitrogênio obtida na titulação (g); $M_{amostra}$ = massa da amostra analisada (mg ou g, conforme padronização do cálculo); $N(\%)$ = porcentagem de nitrogênio total; $P(\%)$ = proteína bruta.

3 METODOLOGIA

3.1 Materiais

As folhas da OPN foram obtidas na cidade de Patos de Minas, no estado de Minas Gerais. Após o processo de coleta das folhas, as mesmas passaram por um processo de higienização, onde foram lavadas folha por folha em solução clorada 1% com 20 ml hipoclorito de sódio em 1000 ml de água e armazenadas a -56°C durante 24 h para que estas fossem secas e transformadas em farinha. Para obtenção da farinha, as folhas da OPN foram submetidas a liofilização por um período de 24 h. Em seguida, as folhas foram trituradas em um mini mixer elétrico Lelong e liquidificador industrial. A farinha obtida foi armazenada a temperatura ambiente. Os reagentes utilizados foram de grau analítico (Adaptado de Costa, 2022; Souza, 2022).

3.2 Metodologia Experimental

3.2.1 Caracterização das folhas da OPN

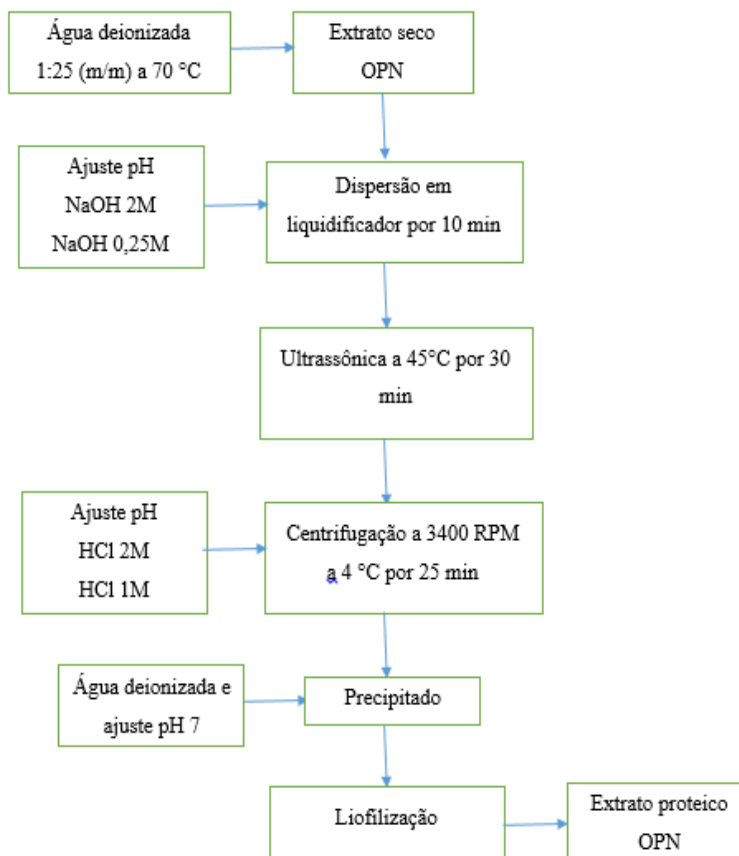
Para caracterizar as folhas e a farinha da OPN, foram realizadas as seguintes análises: teor de umidade (Cecchi, 2003), cinzas (Lutz, 1985) e proteínas por Kjeldahl com o fator de correção de 6,25 (Souza, 2022).

3.3 Extração alcalina/Precipitação isoeletrica combinada com ultrassom

O método alcalino utilizado de extração foi adaptado segundo as metodologias de Costa (2022) e Souza, (2022).

Inicialmente, foi adicionada em água deionizada a 70°C, na solução de 1:25 (m/m). Em seguida, adicionou-se uma solução alcalina de NaOH (foram testadas em duas concentrações 0,25 M e 2 M) em cada amostra até obter-se o pH 10. Posteriormente, as soluções foram direcionadas à dispersão no liquidificador industrial (Metvisa) por 10 min, transferidas para béckeres e levadas para agitação por 30 min., sob temperatura de 45°C no banho ultrassônico a 40 kHz. Após a agitação, os sólidos insolúveis foram removidos por centrifugação (NT-810) a 3400 rpm a 4°C por 25 min. As proteínas solubilizadas presentes no sobrenadante foram retomadas via precipitação isoeletrica através de ajuste do pH para 3 com adição de HCl em duas concentrações (0,25M e 2M). Após a precipitação das proteínas, a solução foi centrifugada nas mesmas condições de rotação, tempo e temperatura (3400 rpm a 1599 × g a 4 °C por 25 min). O sobrenadante foi descartado e o precipitado foi ressuspenso em água deionizada e o pH da solução ajustado para 7,0. Ao final, a solução contendo as proteínas foi liofilizada e para posterior quantificação proteica do extrato seco pelo método de Kjeldahl.

Figura 4 - Processo de obtenção da proteína da OPN pelo exercício da EA+Ultrassom.

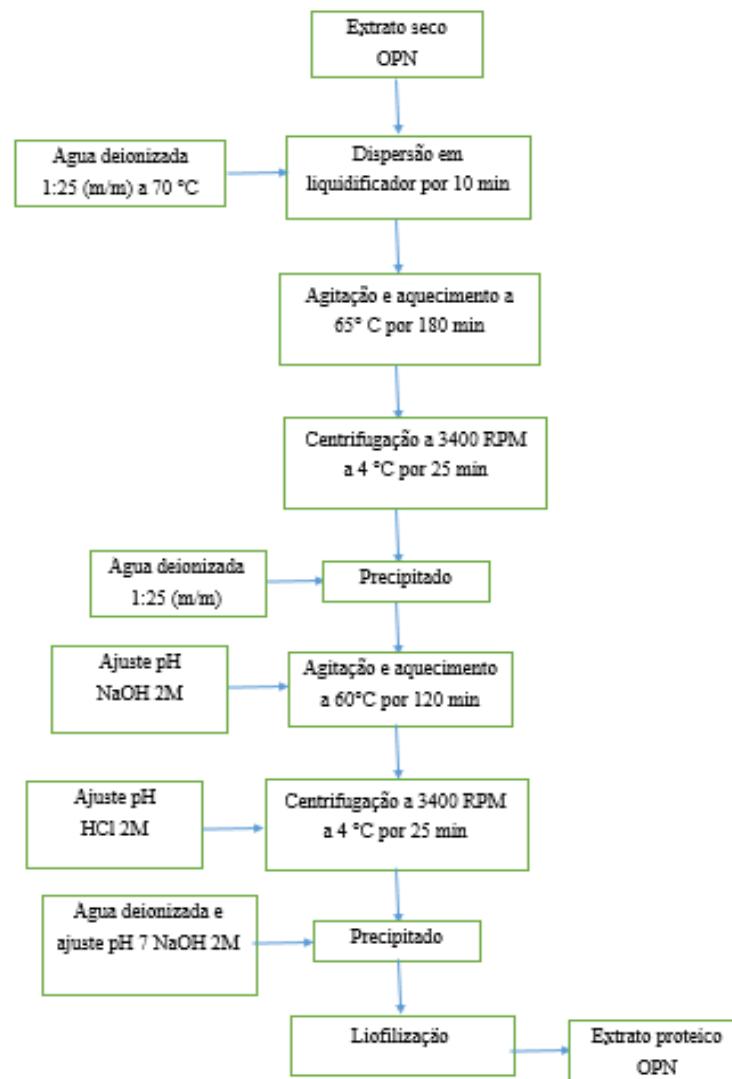


3.4 Extração alcalina/Precipitação isoelétrica

Seguindo a metodologia adaptado de Souza (2022) a farinha seca de OPN foi dispersa em água deionizada na proporção de 1:25 (m/m) em um liquidificador industrial (Metvisa) por 10 min. Em seguida agitou-se com ajuda de um peixinho em um agitador magnético à temperatura controlada de 65 °C por 180 min. Após este processo, a solução foi centrifugada na velocidade de 3400 rpm a 4 °C por 25 min para remoção da mucilagem. Ao precipitado, foi adicionada novamente a água deionizada a temperatura ambiente na mesma proporção já descrita, e o pH foi ajustado para 10 com solução de NaOH 2 M para solubilização das proteínas. A solução foi mantida sob agitação magnética a 60 °C por 120 min. Repetiu-se o processo de centrifugação nas mesmas condições de rotação, tempo e temperatura (3400 rpm a $1599 \times g$ a 4 °C por 25 min), onde as proteínas presentes no sobrenadante foram recuperadas via

precipitação isoeletrica sob o pH 3, cujo pH foi ajustado com solução de HCl 2 M. Em seguida, o precipitado foi ressuspensão em água deionizada e o pH da solução ajustado para 7,0 para posterior liofilização e quantificação proteica pelo método de *Kjeldahl*.

Figura 5 - Processo de obtenção da proteína da OPN pelo exercício da EA.



3.5 Concentração das proteínas por microfiltração

Adaptados de Fiegenbaum (2023) e Fonseca (2019). No intuito de obter-se um maior rendimento e concentrar-se a maior quantidade de proteína possível, o PSM foi usado para garantir esse potencial. Após a solubilização das proteínas, durante o processo utilizou-se uma membrana de acetato de celulose para realizar-se a ultrafiltração. O método consistia na diluição da solubilização em água destilada,

obtendo-se um volume de 400 mL que entrava como alimentação no PSM (*Cross-flow*) em uma tensão de 9 V, para que houvesse a separação do retentado e permeado a fim de garantir uma maior eficácia no processo de extração de proteínas

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise físico-química das folhas *in natura* e da farinha seca da OPN

Na tabela 3 são apresentados os resultados das análises de proteína, umidade e cinzas das folhas *in natura* e da farinha seca da OPN. Nota-se que o valor de proteína foi similar ao encontrado na literatura com valor de 17,36% na matéria seca (EMBRAPA, 2019).

Tabela 3 - Análise físico-química das folhas *in natura* e da farinha seca da OPN.

CONSTITUINTES (%)	FOLHAS IN NATURA	FARINHA SECA
PROTEÍNA	3,038 ± 0,0369	17,31 ± 0,0128
UMIDADE	88,23 ± 0,1239	14,32 ± 0,0231
CINZAS	2,78 ± 0,0281	14,94 ± 0,5621

As folhas *in natura* evidenciam dados (proteínas, umidade e cinzas) semelhantes encontradas por Taketi e colaboradores (2009), de 3,1; 89,5; 3,1. Enquanto a farinha da OPN segue a valores semelhantes (umidade e cinzas) a metodologia exibida por Almeida e colaboradores (2014) que foram de 12,46; 14,81; que utilizou-se a secagem em estufa para obter-se a farinha de ora-pro-nóbis. Ao comparar os resultados das metodologias utilizadas, percebe-se simetria quanto a secagem por liofilização.

4.2 Extração Alcalina e Extração Alcalina Combinada com Ultrassom

A extração de proteínas da OPN apresentou rendimentos distintos quando conduzida por método alcalino convencional e quando associada à aplicação de ultrassom, conforme observado na tabela 4.

Tabela 4 - Média da proteína extraída (%) por método de extração alcalina/precipitação isoelétrica convencional e combinada com ultrassom, determinadas pelo método de Kjeldahl.

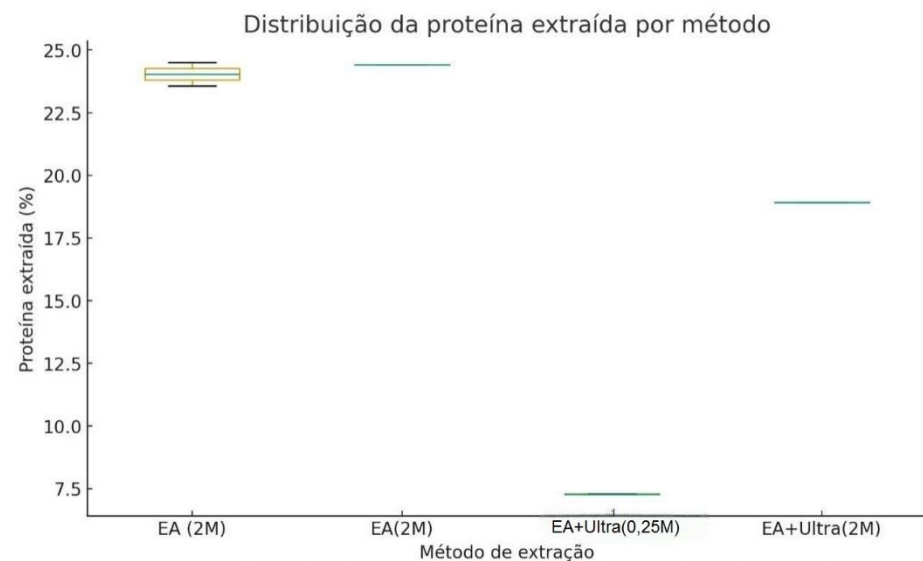
MÉTODO	PH DA PRECIPITAÇÃO ISOELÉTRICA	CONCENTRAÇÃO DE NAOH E HCL	RESULTADO (%)
EA	3	2M e 2M	24,16 ^a ± 0,4141
EA+ULTRASSOM	3	2M e 2M	18,92 ^b ± 0,0008
EA+UTRASSOM	3	0,25M e 1M	7,296 ^c ± 0,0345

**Letras sobrescritas diferente indicam diferença significativa entre os tratamentos (Turkey, $p < 0,05$).*

Os dados obtidos permitem uma análise comparativa entre os diferentes protocolos aplicados e fornecem subsídios para compreender os fatores limitantes relacionados à matriz vegetal, especialmente a influência da mucilagem característica da espécie.

A análise de variância (ANOVA) revelou efeito altamente significativo dos métodos de extração sobre o teor de proteínas extraídas; $p < 0,0001$). O teste de Tukey HSD mostrou diferenças estatísticas entre todos os pares de métodos avaliados, indicando que cada tratamento produziu rendimentos distintos. Dessa forma, pode-se concluir que a escolha do método de extração tem impacto direto e relevante na eficiência da recuperação proteica, sendo um fator determinante para a otimização do processo.

A EA apresentou rendimento médio de 24,16% em relação ao extrato seco, enquanto a EA+Ultrassom resultou em rendimento de aproximadamente 18,92% e EA+Ultrassom com concentração dissemelhante apresentou o menor resultado com média de 7,29%, como mostra os Gráficos (1 e 2).

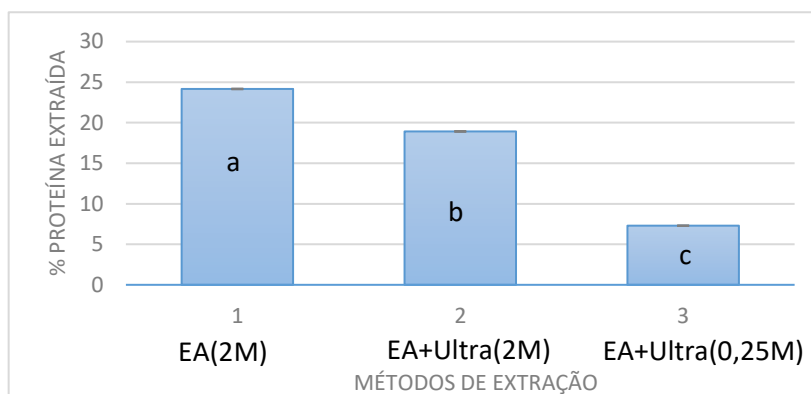
Gráfico 1 - *Boxplot* da proteína extraída por método

Fonte: Autor 2025

As análises gráficas das médias de proteína extraída pelos diferentes métodos evidenciaram variações significativas entre os tratamentos. O método de extração alcalina (EA, 2M) apresentou o maior rendimento ($24,16 \pm 0,041\%$), a caixa (box) estará posicionada mais alto no eixo y, indicando maior rendimento. Como o desvio é muito pequeno, a altura da caixa e o tamanho dos "bigodes" serão curtos, mostrando baixa variação nos dados. Seguido por EA+ULTRA (2M) ($18,92 \pm 0,0008\%$) Caixa em nível intermediário, abaixo do EA (2M), o desvio é ainda menor, indicando altíssima consistência dos resultados (quase sem variação) e, por fim, EA+ULTRA (0,25M) ($7,29 \pm 0,0345\%$) caixa mais próxima da base do gráfico (menor rendimento). Pequeno desvio também, mas com valores bem mais baixos, indicando menor eficiência do método.

A baixa sobreposição das barras de erro e a consistência dos resultados demonstram elevada reprodutibilidade dos ensaios e reforçam a confiabilidade das diferenças observadas, representadas no Gráfico 2.

Gráfico 2 - Representação de barras com letras de Tukey com média e desvio padrão da extração de proteínas por diferentes métodos



Fonte: Autor, 2025.

Dessa forma, as análises de variância (ANOVA) e o teste de comparações múltiplas de Tukey puderam ser aplicados com validade, confirmando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os métodos de extração.

No presente estudo, o uso de NaOH 2 M e HCl 2 M resultou no melhor rendimento, sendo os maiores entre os métodos testados. Essa eficiência pode ser atribuída à forte capacidade do NaOH 2 M em romper ligações na parede celular e solubilizar as proteínas, expondo-as para posterior precipitação. Mendes (2019), em estudo com folhas de OPN, relatou que soluções alcalinas de maior molaridade apresentam maior poder de extração inicial, especialmente em matrizes ricas em fibras e mucilagens.

Por outro lado, é necessário considerar que concentrações muito elevadas de NaOH podem induzir alterações irreversíveis na estrutura das proteínas. O excesso de alcalinidade pode promover hidrólise parcial de cadeias polipeptídicas e desnaturação, resultando na perda de algumas propriedades funcionais (Barros; Silva; Oliveira, 2018). Isso significa que, embora o rendimento quantitativo seja satisfatório, a qualidade funcional das proteínas deve ser analisada em estudos complementares.

A precipitação com HCl 2 M, por sua vez, promoveu a redução abrupta do pH, resultando em eficiente precipitação da fração proteica. No entanto, altas concentrações de ácido também podem levar à formação de agregados insolúveis, arrastando parte da proteína com polissacarídeos da mucilagem e interferindo na pureza do concentrado obtido (Rocha, 2022).

É notado que a utilização do ultrassom não promoveu aumento da eficiência de extração proteica, mas sim uma redução significativa do rendimento quando comparado ao método convencional. Mostrando que os dados podem refletir não apenas na eficiência dos métodos, mas também a interação entre as proteínas da OPN, a displicência e a fração mucilaginosa, que desempenha papel central no processo.

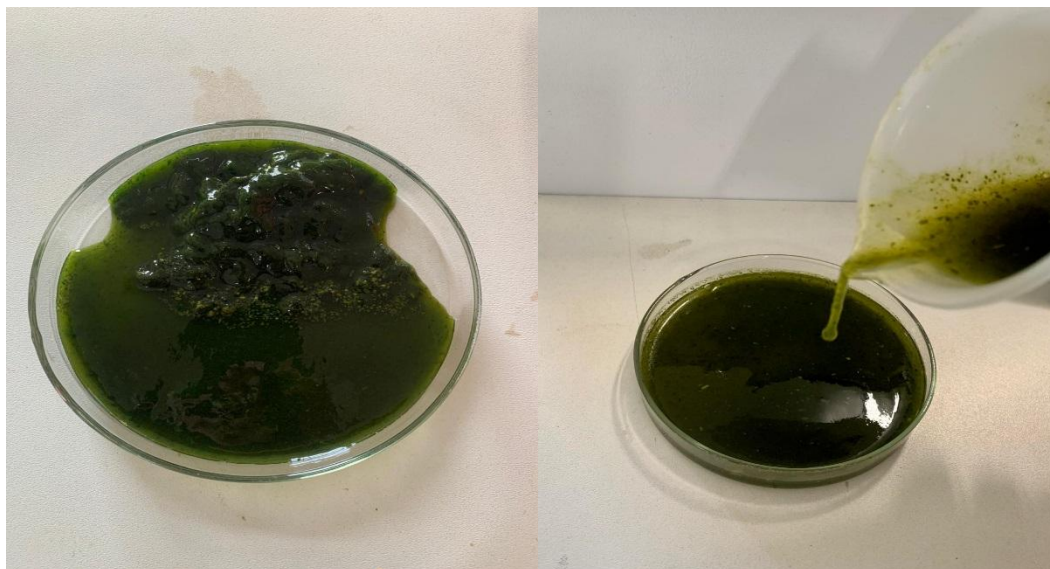
Em teoria, a aplicação do ultrassom favorece a extração por meio do fenômeno de cavitação acústica, que gera microbolhas e rupturas localizadas na parede celular, aumentando a difusão do solvente e liberando compostos intracelulares (Jadhav et al., 2021). Estudos com outras matrizes vegetais, como chia e amaranto, relataram aumentos significativos no rendimento proteico quando se utilizou ultrassom associado à extração alcalina (Zhu; Zhang; Yang, 2019).

No entanto, no caso da OPN, o rendimento foi inferior. Esse resultado pode estar relacionado à presença de mucilagem, cuja alta viscosidade reduz a eficiência da cavitação e, conseqüentemente, da liberação de proteínas.

De acordo com Santos (2021), a mucilagem da OPN interage fortemente com proteínas por meio de ligações de hidrogênio e interações eletrostáticas, formando complexos que reduzem a recuperação proteica. Nesse contexto, o ultrassom, ao invés de auxiliar, pode ter promovido a formação de agregados insolúveis proteína-mucilagem, diminuindo o rendimento da precipitação.

Os aspectos estruturais da matriz foliar da OPN, em especial a presença de mucilagem, interfere significativamente na recuperação da fração proteica, uma vez que ao entrar em contato com um pH com maior alcalinidade, a formação da mucilagem era instantânea, formada por grumos como mostra a Figura 6. E devido o tempo que a solução passava em contato a esse pH, o gel formado ia ficando mais espesso, levando a perda de proteínas que ficava retida nesse gel.

Figuras 6 - Formação de grumos e gel do extrato em contato com pH alcalino.



Fonte: Autor 2025

Outra condição avaliada foi o resultado da extração alcalina combinada com ultrassom na solução de NaOH 0,25 M, seguida de precipitação isoelétrica com HCl 1 M que resultou em rendimento inferior aos demais testes, com média de 7,29%. Esse resultado pode estar relacionado à concentração do reagente (NaOH 0,25 M) que pode ter limitado a solubilização inicial das proteínas, gerando perda da mesma. Outro aspecto a considerar é que a precipitação com HCl 1 M, embora menos agressiva que a com HCl 2 M, pode não ter sido suficientemente eficaz para dissociar todos os complexos formados, resultando em menor recuperação proteica final.

Os rendimentos obtidos neste estudo (18,92% e 24,16%) estão em consonância com dados da literatura sobre OPN e outras espécies vegetais. Mendes (2019) relatou valores entre 22% e 25% para extração alcalina de *Pereskia aculeata* utilizando condições moderadas de pH. Costa (2022) ao expender seus dados obteve-se resultados entre 21% a 27%. Souza (2022) apresentou 31% de rendimento. Rocha (2022) observou que a associação entre extração alcalina e precipitação isoelétrica pode elevar o rendimento para até 30% quando as condições de pH são cuidadosamente ajustadas.

Em outras fontes vegetais, como amaranto e quinoa, Barros et al. (2018) reportaram rendimentos variando entre 22% e 28% em condições similares, enquanto na soja valores superiores a 40% são frequentemente registrados (Li; Chen; Zhang,

2020). Tais comparações evidenciam que a OPN revela um potencial como fonte proteica, embora a presença de mucilagem represente um desafio adicional.

Dessa forma, o valor de 24,16%, obtido na EA convencional deve ser interpretado como resultado de um processo que maximiza a solubilização, mas pode comprometer parcialmente a integridade das proteínas extraídas.

Quanto ao experimento conduzido no uso das membranas na tentativa de concentração das proteínas da ora-pro-nóbis este falhou em atingir a concentração esperada devido à formação de mucilagem gelificada que causou *fouling* severo da membrana e declínio abrupto do fluxo. Resultando na perda da membrana e a não filtração para seleção do macronutriente.

4.3 Influência da mucilagem na extração proteica

Se tratando de um biopolímero encontrando nas folhas de plantas, a mucilagem é um atributo marcante das folhas de OPN, representando até 20% da matéria seca (Lima et al., 2020). Esse polissacarídeo solúvel possui elevada viscosidade e capacidade de formar géis em meio aquoso, o que impacta diretamente a eficiência da extração de proteínas.

Durante a extração alcalina, a mucilagem tende a se solubilizar juntamente com as proteínas, aumentando a viscosidade da solução e dificultando a separação por centrifugação. Além disso, há a formação de complexos proteína-polissacarídeo, que reduzem a quantidade de proteína disponível para precipitação isoelétrica (Capitani et al., 2013).

Esse fenômeno explica a diferença entre os rendimentos obtidos. Nas condições de NaOH 2 M e HCl 2 M, tanto convencional, quanto combinada ao ultrassom a força das soluções foi capaz de romper parte dessas interações, resultando em maiores recuperações. Já na condição de NaOH 0,25 M e HCl 1 M associada ao ultrassom, a combinação da viscosidade da mucilagem e a menor força das soluções reduziu a eficiência do processo, resultando em rendimento inferior.

As perdas associadas à mucilagem são consistentes com estudos em outras espécies vegetais mucilaginosas. Ramos et al. (2019) destacaram que em sementes de chia e linhaça, a co-precipitação de proteínas com mucilagem reduziu em até 30% o rendimento proteico, mesmo após otimização do pH.

A extração prévia da mucilagem é uma opção para viabilizar com a extração de proteínas da OPN, ainda que a mucilagem possa conter pequenas quantidades de proteína ligada a sua cadeia, Além de melhorar o rendimento da extração de proteínas, a retirada prévia da mucilagem no processo favorece a sua aplicação em sistemas alimentares, o que se deve sobretudo ao seu efeito estabilizante e emulsificante (Conceição et al., 2014).

4.4 Implicações tecnológicas

A extração de proteínas vegetais envolve desafios tecnológicos devido à presença de polissacarídeos, fenóis, entre outros compostos, que dificultam a solubilização e a purificação. Do ponto de vista tecnológico, método de extração como: alcalino, isoeletrico, enzimático, fisico-assistido por ultrassom ou micro-ondas, impacta diretamente no rendimento e na funcionalidade das proteínas (solubilidade, emulsificação, formação de espuma e gelificação) (Silva; Coelho; Oliveira, 2018; Lima et al., 2020).

A remoção de interferentes (mucilagem, taninos, clorofila) é crucial para se obter uma proteína com melhor pureza e propriedades tecnológicas. A escolha de solventes, pH e força iônica influencia a estrutura conformacional das proteínas, afetando digestibilidade e bioatividade (Chandran, 2024; Hewage *et al*, 2022; Pérez *et al*, 2019).

Técnicas inovadoras, como ultrassom, altas pressões hidrostáticas e membranas de ultrafiltração estão sendo aplicadas para aumentar o rendimento e preservar as propriedades funcionais. Segundo Day (2013), o aproveitamento das proteínas vegetais depende de processos que mantenham suas funcionalidades tecnológicas para aplicação na indústria de alimentos, em especial como substitutos da proteína animal.

Os resultados obtidos pelo presente estudo têm implicações diretas para o aproveitamento da proteína de OPN como complemento de fonte alternativa de proteína vegetal para uso em formulações alimentícias. A condição de NaOH 2 M e HCl 2 M apresentou maior rendimento, mas deve ser avaliada quanto à preservação das propriedades funcionais da proteína. Por outro lado, a condição de NaOH 0,25 M e HCl 1 M com ultrassom, embora tenha resultado em menor rendimento, pode gerar

proteínas com menor degradação química, o que pode ser vantajoso em aplicações sensíveis.

Além disso, a presença de mucilagem no concentrado proteico pode ser explorada tecnologicamente, uma vez que esse polissacarídeo confere propriedades espessantes e estabilizantes. Dessa forma, concentrados proteicos de OPN podem apresentar aplicação em produtos funcionais, bebidas enriquecidas e alimentos estruturados.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo evidenciam que a *ora-pro-nóbis* (*Pereskia aculeata* Mill.) apresenta relevante potencial como complemento a fonte proteica à base de proteína vegetal, tanto pelo teor intrínseco de proteína em suas folhas (17,31% na matéria seca) quanto pelos rendimentos alcançados nos diferentes métodos de extração avaliados. A extração alcalina convencional, utilizando soluções de NaOH 2 M e HCl 2 M, apresentou o maior rendimento (24,16%), confirmando a eficiência desse protocolo em romper a matriz celular e solubilizar as proteínas. Entretanto, é necessário ponderar que concentrações elevadas de reagentes podem comprometer a integridade estrutural das proteínas, o que merece atenção em estudos futuros.

A associação da extração alcalina ao ultrassom, ao contrário do esperado, não promoveu ganhos de rendimento, resultando em valores inferiores (7,29% e 18,92%). Esse desempenho pode ser explicado pela interação entre a mucilagem característica da espécie e as proteínas, uma vez que a elevada viscosidade e a capacidade de formar complexos proteína-polissacarídeo reduzem a eficiência da precipitação isoeletrica. Assim, a mucilagem mostrou-se um fator determinante no processo, tanto como limitante da recuperação proteica quanto como possível aliada em aplicações tecnológicas, devido às suas propriedades espessantes e estabilizantes.

Comparações com a literatura demonstram que os rendimentos obtidos neste trabalho estão de acordo com os relatados para a OPN e outras espécies vegetais mucilaginosas, ainda que abaixo dos valores clássicos encontrados para culturas consolidadas, como a soja. Tal fato reforça a necessidade de otimização dos protocolos de extração e, possivelmente, da remoção ou modificação da fração mucilaginosa para melhorar a recuperação proteica.

Do ponto de vista tecnológico, as evidências confirmam que a escolha das condições de extração — incluindo concentração de reagentes, pH e método físico associado — impacta diretamente na qualidade e na aplicabilidade da proteína isolada. Nesse sentido, a proteína da OPN pode ser explorada em formulações alimentícias funcionais, bebidas enriquecidas e produtos *plant-based*, especialmente se conciliado o aproveitamento sinérgico da proteína e da mucilagem.

Quanto ao PSM apresentou limitações significativas devido à intensa formação de mucilagem, característica intrínseca da matriz vegetal. Para avanço do uso da microfiltração, recomenda-se fortemente um pré-tratamento para remoção ou degradação da mucilagem (enzimáticos ou físico-químicos), assim como testar membranas alternativas.

Este estudo contribui, portanto, para o avanço do conhecimento sobre a extração de proteínas de OPN, apontando tanto as barreiras impostas pela matriz vegetal quanto as oportunidades tecnológicas de sua utilização, reforçando o potencial da espécie como fonte sustentável e alternativa de proteína vegetal.

6 REFERÊNCIAS

AGOSTINI-COSTA T.S.; WONDRACEK D. C.; ROCHA W. S.; SILVA D. B.. Perfil de carotenóides e polifenóis totais em frutos de *Pereskia aculeata* Miller. *Rev Bras Fruitic*, 34(1): p 234–238, 2012.

ALMEIDA; M. E. F.; JUNQUEIRA, A. M. B.; SIMÃO, A. A.; CORRÊA, A. D. Caracterização química das hortaliças não-convencionais conhecidas como ora-pro-nobis. *Bioscience Journal*, v. 30, n. 1, p. 431-439, 2014.

ANDRÉ, J. O maravilhoso mundo das membranas. Delito de Opinião (blog), 05 jul. 2016. Disponível em: <https://delitodeopinioao.blogs.sapo.pt/o-maravilhoso-mundo-das-membranas-2-6824695>. Acesso em: 28 set. 2025

BARBALHO, S.M.; GUIGUER, É.L.; MARINELLI, P.S.; DO SANTOS BUENO, P.C.; PESPININI-SALZEDAS, L.M.; DOS SANTOS, M.C.B.; OSHIIWA, M.; MENDES, C.G.; DE MENEZES, M.L.; NICOLAU, C.C.T.; ET AL. *Pereskia aculeata* Miller Flour: Metabolic Effects and Composition. *J. Med. Food* 19, p. 890–894, 2016.

BARROS, F. A. R.; SILVA, L. R.; OLIVEIRA, P. S. Extração e caracterização de proteínas de folhas de amaranto (*Amaranthus* sp.). *Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais*, v. 20, n. 3, p. 213-225, 2018.

BARROS, V. R. C. et al. Functional properties of protein isolates from amaranth and quinoa. *Food Hydrocolloids*, v. 31, n. 2, p. 279-285, 2018.

BOYE, J. I.; AKSAY, S.; ROUFIK, S.; RIBÉREAU, S.; MONDOR, M.; FARNWORTH, E.; RAJAMOHAMED, S. H. *Comparison Of The Functional Properties Of Pea, Chickpea And Lentil Protein Concentrates Processed By Ultrafiltration And Isoelectric Precipitation. Food Research International* 43, p. 537–546, 2010.

BRASIL¹, 2023. Aminoácidos e Proteínas. Disponível em: <http://www2.fct.unesp.br/docentes/edfis/ismael/nutricao/Amino%E1cidos%20e%20prote%E1nas%20pgs%209%20a%2013%20e%2017.pdf>. Acesso em: 23 de dezembro, 2022.

BRASIL², 2023. Entenda o boom do mercado de proteína plant-based. Disponível em: <https://exame.com/negocios/boom-do-mercado-de-proteina-plant-based/>. Acesso em: 01 de janeiro de 2023.

BRASIL³, 2023. Plantas Alimentícias não Convencionais (PANCs), BRASIL ESCOLA. Disponível em: <https://brasilescola.uol.com.br/saude/plantas-alimenticias-nao-convencionais-pancs.htm>. Acesso em: 23 de dezembro, 2022.

BRASIL⁴, 2023. Proteínas Animais e Vegetais Tipos e Funções. Disponível em: https://aditivosingredientes.com/upload_arquivos/201604/2016040557579001459880082.pdf. Acesso em: 01 de janeiro de 2023.

BRASIL⁵. LIOFILIZAÇÃO – Técnica de Desidratação Empregada na Indústria. Set, 2024. Disponível em: https://www.splabor.com.br/blog/guia-do-comprador/lioofilizacao-tecnica-de-desidratacao-e-empregada-na-industria-farmaceutica-e-alimenticia/#elementor-toc__heading-anchor-4.

BRIZ, S.L.; MARTÍNEZ-AYALA, A.L.; MILLÁN, F.; DAVILA-ORTÍZ, G. *Composition and Functional Properties of Lupinus campestris Protein Isolates*. **Plant Foods for Human Nutrition**, e. 60, p. 99-107, 2005.

CABALLERO, B.; FINGLAS, P. M.; TOLDRÁ, F. *Encyclopedia Food and Health*. Capítulo: *Freeze Drying: Effects on Sensory and Nutritional Properties*, 2016.

CAPITANI, M. I. et al. Rheological properties of chia (*Salvia hispanica* L.) seed mucilage in aqueous dispersions. **Journal of Food Engineering**, v. 116, p. 308-314, 2013.

CHANDRAN, D. *Effect of extraction methods on functional properties of plant proteins: A review*. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 59, n. 1, p. 1-15, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/efd2.151>.

Conceição, M. C., Junqueira, L. A., Silva, K. C. G., Prado, M. E. T., & Resende, J. V. (2014). Thermal and microstructural stability of a powdered gum derived from *Pereskia aculeata* Miller leaves. *Food Hydrocolloids*, 40, 104-114. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.02.015>.

CONCEIÇÃO, M. N. Caracterização e aplicação tecnológica de mucilagens vegetais na indústria de alimentos. *Revista de Ciências Agrárias*, v. 37, n. 2, p. 180-188, 2014.

COSTA, R. L. Extração e caracterização de proteínas da *Pereskia aculeata* Mill. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2022.

Day, D. V. (2013). Training and developing leaders: Theory and research, in Rumsey, M. G. (Ed.), *The Oxford handbook of leadership*, (pp. 76-93). New York, USA: Oxford University Press.

EMBRAPA. Estudo comparativo da composição proteica e do perfil de aminoácidos em cinco clones de ora-pro-nóbis. Revista: Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento. Nº 196. Brasília, setembro de 2019.

FAO – Food and Agriculture Organization. *Dietary protein quality evaluation in human nutrition: Report of an FAO Expert Consultation*. Rome: FAO, 2013.

FERREIRA, H. Nutritional quality and digestibility of chickpea protein isolates. *Food Chemistry*, v. 323, p. 126822, 2020.

FERREIRA, L. C.; PIRES, R. C.; CHINA, P. W. D. M.; NICO, C. G. F.; BOTAZINI, E.; SOUZA, F.O. Análise de ferro e cálcio presente na planta *pereskia aculeata miller*. Encontro Nacional de Tecnologia Química. Vitória/ES, de 09 a 11 de Setembro de 2015.

FIEGENBAUM, T. I. CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS DO SORO DE QUEIJO POR ULTRAFILTRAÇÃO EM PLANTA PILOTO. Monografia (Graduação em Engenharia Química) Universidade do Vale do Taquari – Univates, Lajeado-RS, 2023.

FILHO, G. A. B.; RENOSTO, N. F.; BALESTRIN, T. da S. Produção de suplemento (whey protein) concentrado e isolado a partir do soro de leite. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS: 2021. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/21755/BRZOZOVSKI_FILHO_GILBERTO_RENOSTO_NATALIA_BALESTRIN_TOMAS_2021_TCC.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 01 out. 2024.

FILHO, M. B. G. Análise da implementação do sistema de membranas ultrafiltrantes em uma ETA de ciclo completo a partir do estudo de caso da ETA Meia Ponte. Monografia (Graduação em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 2017. Disponível em: <https://eeca.ufg.br/p/23209-trabalho-de-conclusao-de-curso-engenharia-civil-2017-2>. Acesso em: 04 ago. 2024.

FOOD CONNECTION. Crescimento da proteína vegetal na população brasileira, 2024. Disponível em: <https://www.foodconnection.com.br/artigos/crescimento-da-proteina-vegetal-na-alimentacao-brasileira/>

FONSECA, E. P. **Métodos de extração de proteínas em leguminosas**. Trabalho de Conclusão de Curso da Universidade Federal de Uberlândia – UFU, Patos de Minas – MG, 2019.

GARCIA, J. A. A.; CORRÊA, R. C. G.; BARROS, L.; PEREIRA, C.; ABREU, R. M. V.; ALVES, M. J.; CALHELHA, R. C.; BRACHT, A.; PERALTA, R. M.; FERREIRA, C. F. R. *Phytochemical profile and biological activities of leaves of 'Ora-pro-nobis' (Pereskia aculeata Miller), an underexplored superfood from the Atlantic Forest*. Rev. Elsevier: **Química Alimentar**, nº 294, p. 302-308, 2019.

GIACOMELLI, F. O.; PINTON, M. B.; SILVA, S. B. S.; THIEL, S. R.; CAMPAGNOL, P. C. B. *Alternative Protein Innovation: A Review About Plant- Based Food*. **Congresso Internacional da Agro Indústria**, setembro, 2020.

GORDALINA, M.; PINHEIRO, H. M.; MATEUS, M.; FONSECA, M. M. R.; CESÁRIO, M. T. Microalgae as protein sources – A review of protein bioactivity, extraction, purification and characterization. 2021.

GRANDE, S. C. **Estudo da extração das proteínas dos farelos de oleaginosas através de métodos químico e enzimático**. Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Escola de Engenharia da Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, outubro de 2016.

GÜNERKEN, E. et al. Cell disruption for microalgae biorefineries. *Biotechnology Advances*, v.33, n.2, p.243-260, 2015. doi: 10.1016/j.biotechadv.2015.01.008.

HABERT, A. C.; BORGES, C. P.; NOBREGA, R. **Processos de Separação por Membranas. E-papers**. Série Escola Piloto de Eng. Química, 2006.

HEWAGE, A.; OLATUNDE, O. O.; NIMALARATNE, C.; MALALGODA, M.; ALUKO, R. E.; BANDARA N. Novel extraction technologies for developing plant protein ingredients with improved functionality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 128, p. 90-105, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.09.006>

HUA, T-C.; LIU, B-L.; ZHANG, H. *Freeze-Drying of Pharmaceutical and Food Products. Capítulo: Equipment for Freeze-drying*, 2010.

JADHAV, A. J. *Ultrasound assisted extraction of biomolecules: Principles, mechanisms and applications*. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 70, p. 105267, 2021.

JESUS, B. B. S.; SANTANA, K. S. L.; OLIVEIRA V. J. S.; CARVALHO, M. J. S.; ALMEIDA, W. A. B. PANCS - plantas alimentícias não convencionais, benefícios nutricionais, potencial economico e resgate da cultura: uma revisão sistemática, **ENCICLOPÉDIA BIOSFERA**, Centro Científico Conhecer – Jandaia-GO, v.17 n.33; p. 309 2020.

JESUS, M. V. Uso de membranas de microfiltração e ultrafiltração para recuperação e concentração de amilase produzida em resíduo agroindustrial (manipueira) como substrato. 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Sergipe, SE: 2019

KARUNNANITHY, V.; RAHMAN, N. H. B. A.; ABDULLAH, N. A. H.; FAUZI, M. B.; LOKANATHAN, Y.; HWEI, A. N. M.; MAAROF, M. *Effectiveness of Lyoprotectants in*

Protein Stabilization During Lyophilization. Pharmaceutics, v. 16, n. 10, p. 1346, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16101346>

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. **Plantas Alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil**: guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. Instituto Plantarum de Estudos da Flora, São Paulo, p.768, 2014.

LI DAY. *Proteins from land plants – Potential resources for human nutrition and food security. Trends in Food Science & Technology*, Volume 32, Issue 1, maio de 2013, páginas 25–42.

LI, H.; CHEN, G.; ZHANG, W. *Effect of ultrasound-assisted alkaline extraction on functional properties of soybean proteins. Food Chemistry*, v. 315, p. 126–134, 2020.

LIBERATO, P. S.; LIMA, D. V. T.; SILVA, G. M. B. PANCs - plantas alimentícias não convencionais e seus benefícios nutricionais. **Rev. Environmental Smoke**, nº 2, p. 102-111, 2019.

LIMA, R. A. Caracterização nutricional e funcional das folhas de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 22, n. 1, p. 11-19, 2020.

LIMA JUNIOR, F. A., CONCEIÇÃO, M. C., RESENDE, J. V., JUNQUEIRA, L. A., PEREIRA, C. G., & PRADO, M. E. T. *Response surface methodology for optimization of the mucilage extraction process from Pereskia aculeata* Miller. *Food Hydrocolloids*, 33(1), 38-47. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.02.012>

LISE, C. C. Mucilagem da ora-pro-nóbis (*Pereskia Aculeata* MILLER): aplicação em emulsionado cárneo e avaliação das propriedades funcionais mediante diferentes condições de secagem. Dissertação de Mestrado do curso de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), 2021.

LUTZ, A. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. 3. Ed. Instituto Adolfo Lutz: São Paulo, 1985. p 27-28.

MARTIN, A. A.; FREITAS, R. A.; SASSAKI, G. L.; EVANGELISTA, P. H. L.; SIERAKOWSKI, M. R. *Chemical structure physical-chemical Properties of the mucilage of the leaves of Pereskia Aculeata*. Rev. Elsevier: **Alimentos Hidrocolóides**, nº 70, p. 20-28, 2017.

MELLO, J. A. B. Mapa Mental sobre Análise de Proteínas - Método Kjeldahl. Disponível em: <https://www.goconqr.com/mapamental/25303055/analise-de-proteinas-metodo-kjedahl>. Acesso em: 10/09/2025.

MENDES, M. C. Extração e caracterização de proteínas da **Pereskia aculeata** Mill. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2019.

METTA, F. I. K.; AYROSA, A. M. I.; PALETTA, F. C. O papel da liofilização na conservação de alimentos pelo controle da umidade. In: *XII Safety, Health and Environment World Congress (SHEWC 2012)*, São Paulo, 2012. Anais São Paulo: COPEC, 2012.

MULDER, M., “*Basic Principles of Membrane Technology*”, Kluwer Academic Publishers, second edition, 1996.

MUNE, M. A. M.; BOUBA, A. A.; MINKA, S. R. *Effects of Extraction Conditions on Functional Properties of Bambara Bean Protein Concentrates*. **Rev. Food Eng.**, nº 12, p. 195-201, 2016.

NAVRUZ-VARLI, S.; SANLIER, N. Nutritional and health benefits of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Journal of Cereal Science*, v. 69, p. 371–376, 2016.

NICHELE, S. **Tendência Do Consumo De Proteínas Vegetais E A Eficiência Na Síntese Proteica Muscular: Uma Revisão Global**. Trabalho de Conclusão de Curso, Florianópolis-SC, 2021.

OTTO, T.; BAIK, B.; CZUCHAJOWSKA, Z. *Wet Fractionation of Garbanzo Bean and Pea Flours*. *Cereal Chemistry*, v. 74, n. 2, p. 141-146, 1997.

PACHÁ, C.; CHIKUSA, E.; LUZ, F. N.; CUNHA, F. **Proteínas Alternativas**. Trabalho de Conclusão de Curso Executivo, Centro de Agronegócio Global do Insper e a Fundação Alexandre de Gusmão (FUNAG), junho de 2021.

PEREIRA, D. F.; SOUSA, E. C. *Lentils as a protein source: composition and digestibility*. *Plant Foods for Human Nutrition*, v. 73, p. 112–119, 2018.

PERÉZ, B.; JAVIER, G.; ENADARA, A.; LANDÁZURI, A. C.; CÁRDENAS, L. R. *Optimization of the extraction and precipitation process of a leaf protein concentrate from *Moringa oleifera* Lam.* **Industrial Crops and Products**, v. 132, p. 488-495, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.03.058>

PITOMBO, R. N. M. Liofilização. In: PESSOA Jr, A.; KILIKIAN, B. V. *Purificação de Produtos Biotecnológicos*. Barueri, SP: Manole, p. 332-347, 2005.

PREECEA, K. E.; HOOSHYARB, N.; SOUTHAMC, N. J. *Soy integral protein extraction processes: a review*. **Rev. Innovative Food Science and Emerging Technologies**, nº 43, p. 163-172, 2017.

QUIAOYUIN, C.; XINGHONG, N.; LIANG, Z.; ZHENG, T.; JIN, L.; KANG, S.; XUAN, C.; XINGHUI, L. *Optimization of protein extraction and decoloration conditions for*

tea residues. Horticultural Plant Journal, v. 3, n. 4, p. 172-176, 2017.

QUIRONGA, A. L. B. Proteínas. **Dossiê Proteínas**, *Food Ingredients Brasil*, Nº 28 – 2014.

RIBEIRO, A. J. M. **Proteína**. *Revista de Ciência Elementar*, V2(3):229, setembro de 2014.

RIBEIRO, L. M.; SILVA, M. G. R.; FRANCO, E. P. D.; **Proteína animal e vegetal e sua importância para o consumo humano**. Trabalho acadêmico de nutrição, 2021.

ROCHA, D. R. Potencial nutricional e tecnológico das proteínas da ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.). Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2022.

RODRÍGUEZ, A. M.; RAMOS, C. L.; FERREIRA, I. M. P. L. V. O.; FERREIRA, E. *Impact of dietary fibers on protein extraction processes in plant matrices*. **Food Research International**, v. 121, p. 13-22, 2019.

RODRIGUES, S.; MARINELLI, P. S.; OTOBONI, A. M. M. B.; TANAKA, A. Y.; OLIVEIRA, A. S. **Caracterização química e nutricional da farinha de ora-pro-nóbis** (*Pereskia aculeata* Mill.). 2013.

ROSA, C. O. B. Influence of freeze-drying on bioactive compounds and proteins from vegetables: a review. *Journal of Food Science and Technology*, v. 56, p. 4151-4163, 2019.

SANTOS, A. C. Avaliação de métodos de extração de proteínas de folhas de ora-pro-nóbis (*Pereskia aculeata* Mill.). Dissertação (Mestrado em Ciências de Alimentos) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2021.

SHEWRY, P. R.; HEY, S. J. The contribution of wheat to human diet and health. *Food and Energy Security*, v. 4, n. 3, p. 178–202, 2015.

SILVA, E. K. *Ultrasound-assisted freeze-drying of fruit extracts: effects on physicochemical properties and bioactive compounds*. *Food Research International*, v. 121, p. 200-209, 2019.

SILVA, L. A.; ALVES, E. S.; SAQUETI, B. H. F.; SILVA, D. M. B.; RASPE, D. T.; ARTILHA, C. A. F. Proteínas Vegetais Como Alimentos Funcionais – Revisão. Encontro Internacional de Produção Científica, out. de 2009.

SILVA, R. L. G. Nota técnica: Liofilização e Operacionalização do Equipamento. Dissertação de Mestrado da Escola Superior de Ensino do Instituto Butantan Programa de Pós-graduação Lato Sensu Mestrado em Biotecnologia e Bioprocessos. São Paulo, 2022.

SILVA, V. L. O. Plantas alimentícias não convencionais (pancs) da região nordeste do Brasil: uma revisão integrativa, Monografia do Centro Universitário AGES, Paripiranga-BA, 2021.

SOUZA, A. S. *Pereskia aculeata*: Uso alimentar e terapêutico. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia.) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2023.

SOUZA, L. M. C. A. Mucilagem de ora-pro-nóbis (*Pereskia Aculeata* MILLER) como material para a encapsulação de óleo de peixe por liofilização. Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal de Lavras, 2024.

SOUZA, T. A. de et al. Effect of freeze-drying on protein isolates from beans: functional and nutritional properties. *Journal of Food Science and Technology*, v. 57, n. 11, p. 3765–3774, 2020.

STANGLER, A.; LAMMERS, P.; HAYES, M. Pea protein: properties, extraction and functional applications. *Food Hydrocolloids*, v. 117, p. 106732, 2021.

TAKEITI, C. Y.; ANTONIO, G. C.; MOTTA, E. M. P.; COLLRES-QUEIROA, F. P.; PARK, K. J. *Nutritive vegetable (Pereskia aculeata* Mill). *Internacional Journal of Food Sciences and Nutrition*, v. 60, n. 1, p. 1-13, 2009.

The Good Food Institute. Pesquisa de consumidor: Mercado de proteínas alternativas no Brasil, 2022. Disponível em: <https://gfi.org.br/wp-content/uploads/2022/10/Pesquisa-de-consumidor-mercado-de-proteinas-alternativas-no-brasil.pdf>

TORRES, T. M. S.; GUEDES, J. A. C.; BRITO, E. S.; MAZZUTTI, S.; FERREIRA, S. R. S. *High pressure biorefining of ora-pro-nobis (Pereskia aculeata)*. Rev. Elsevier: *The Journal of Supercritical Fluids*, nº 181, 2022.

VITOR, I. F. **Influência do pré-tratamento na cor de folhas de ora-pronóbis (pereskia aculeata miller) em pó desidratadas por micro-ondas a vácuo**. Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Tecnológico da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC, 2022.

WU, G. *Amino acids: Biochemistry and Nutrition*. Boca Raton: CRC Press, 2016.

ZHU, Y.; ZHANG, J.; YANG, B. *Ultrasound-assisted protein extraction from chia seeds: Process optimization and characterization*. *Food Hydrocolloids*, v. 89, p. 551-559, 2019.

ZOTARELLI, M. F. **Processos de Conservação de Alimentos (Métodos de Conservação de Alimentos: processos de separação por membranas)**. Notas de aula, 2022.