



DESENVOLVIMENTO DE PRODUTOS PLANT BASED: HIDÓLISE ENZIMÁTICA DA FARINHA DE GIRASSOL

Vitória Caroline da Silva da **Costa**¹; Thomaz Antonio Andrade **Moreira**²; Fabiana Andrea Barrera **Galland**³; Janaíne Chaves da **Silva**⁴; Maria Teresa Bertoldo **Pacheco**⁵.

Nº 22209

RESUMO – *O girassol é uma oleaginosa com produtividade elevada no Brasil e no mundo. O óleo proveniente do girassol, ao ser extraído gera subprodutos de elevado teor proteico, com alta qualidade nutricional e funcional. Em razão de suas propriedades, o girassol se mostra uma matriz com grande potencial para ser empregado na elaboração de alimentos, podendo atender o crescimento da demanda de proteína vegetal. A hidrólise enzimática é uma eficiente técnica para conversão de matérias primas ou produtos. Fazendo o uso de uma pequena quantidade de enzimas é possível reduzir o teor de fibras e obter maior rendimento proteico. Para que o melhor rendimento seja alcançado, é necessário que a reação esteja em condições favoráveis à atividade enzimática, e o estudo dessas condições deve ser feito, considerando a sensibilidade das enzimas a fatores como pH, temperatura, tempo de duração da reação e concentração de substrato. O presente estudo tem como objetivo avaliar qual a melhor condição para hidrólise enzimática da farinha de girassol, contribuindo para o desenvolvimento de novos produtos da indústria de alimentos. Foram realizados ensaios em diferentes pH's e diluições com duas enzimas diferentes. A enzima que obteve melhores resultados foi a Viscozyme nos pH's 4 e 5 sob diluição 1:15. O acompanhamento foi realizado através da quantificação dos carboidratos liberados e proteína solúvel da fase líquida, e na fase sólida, foram feitas as determinações da proteína, fibra alimentar e teor de água incorporada, além extração e quantificação dos compostos fenólicos.*

Palavras-chaves: Girassol, proteína vegetal, hidrólise enzimática.

ABSTRACT – *Sunflower is an oilseed with high productivity in Brazil and in the world. After sunflower oil extraction is generated a by-products of high protein content with high nutritional and functional*

1 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Engenharia de Alimentos, UNICAMP, Campinas-SP; vitoriacscosta@gmail.com

2 Autor, Bolsista CNPq (PIBIC): Graduação em Engenharia de, USP, -SP;

3 Co-orientador: Graduação em Ciências Biológicas, UFRG, Porto Alegre- RS

4 Colaborador, Bolsista Treinamento Técnico 3 Fapesp: Graduação em Nutrição, Centro Universitário Unimetrocamp, Campinas-SP

5. Pesquisador ITAL, Campinas-SP; mtb@ital.sp.gov.br



quality. Regarding these properties, the sunflower is appointed as matrix with high potential to use in food, which it can to attend the vegetal protein demand. Enzymatic hydrolysis is an efficient technique for converting raw materials or products. It possible to use a small quantity of enzymes to reduce of fibers and growing the proteins content. For the best yield to be achieved, it is necessary that the reaction occurs under favorable conditions for enzymatic activity and, the study of these conditions must be carried out, considering the sensitivity of enzymes to factors such as pH, temperature, reaction time and substrate concentration. The present study aims to evaluate the best condition for enzymatic hydrolysis of defatted sunflower flour, contributing to the development of new products for the food industry. Assays were performed at different pH's and dilutions with two different enzymes (Celluclast 1.5 L® e Viscozyme®). The enzyme that obtained the best results was Viscozyme at pH's 4 and 5 under dilution 1:15. Monitoring was performed through the quantification of carbohydrates released and soluble protein from the liquid phase, after hydrolysis reation. In the solid phase, determinations of protein, dietary fiber and incorporated water content were carried out, in addition to extraction and quantification of phenolic compounds.

Keywords: Sunflower, vegetable protein, enzymatic hydrolysis, plant based.

1. INTRODUÇÃO

Nos dias atuais, o crescimento do mercado de proteína vegetal tem apresentado destaque, e a previsão é que haja aumento de 9,1% de 2020 a 2027 no mercado de ingredientes proteicos (IBOPE, 2020). A cada dia, os consumidores conscientes têm almejado a qualidade de vida, e saúde e sustentabilidade por meio da alimentação. Estima-se que no Brasil, cerca de 7,6 milhões de pessoas sejam vegetarianas ou veganas (RIBEIRO, 2019). Devido ao aumento da demanda de proteína vegetal, tem-se buscado inserir novas matrizes como fontes protéicas e assim, otimizar a utilização das mesmas. O girassol é um produto que apresenta grande potencial tanto por possibilitar a extração de um óleo de excelente qualidade, como por ser fonte de proteínas, uma vez que seu teor proteico bruto presente na torta pode variar de 45% a 50% (EMBRAPA, 1996). Apesar de apresentar grande teor de proteínas, o girassol apresenta também grande teor de fibras insolúveis, que afetam o rendimento proteico, e por isso sua redução se torna necessária (LATIF; ANWAR, 2009). O girassol também contém elevado teor de compostos fenólicos, que apesar de possuir importância biológica, como antioxidante, em alimentos, causam alterações indesejáveis na cor, sabor e digestibilidade proteica (ALEXANDRINO et al., 2017).



A hidrólise enzimática é uma técnica de baixo impacto ambiental que utiliza as enzimas, biomoléculas que na presença de água e condições favoráveis, realizam uma série de reações que envolvem modificações estruturais do substrato onde atuam. Cada complexo enzimático apresenta atividade máxima em determinadas condições, uma vez que as biomoléculas possuem grande sensibilidade com relação a pH, temperatura, relação de substrato solvente, concentração de enzima e tempo de reação. Portanto tais fatores influenciam o tipo de reação (RABELO et al., 2010).

A estratégia de obter maior conteúdo proteico por meio de carboidrases comerciais, tais como: Celluclast® e Viscozyme®, já foi usada na extração de proteínas do farelo de arroz (Ansharullah et al. 1997), assim como para aumentar conteúdo proteico do farelo da colza (RODRIGUES et al, 2014). A Celluclast® também já foi usada na avaliação da eficiência da hidrólise de grãos de cervejaria sob diferentes tratamentos (MUSSATO et al, 2008). A determinação das melhores condições da hidrólise enzimática de fibras foi feita com o cotilédone da soja (SEIBEL; BELÉIA, 2009) e com subprodutos do arroz (TURINI et al., 2021).

Diante do exposto, este trabalho objetivou a avaliação da eficácia das enzimas comerciais Celluclast® e Viscozyme® em hidrolisar as fibras presentes na farinha de girassol, bem como encontrar a condição ótima de reação.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Matéria-prima

Na primeira etapa do projeto, para realização do estudo da melhor condição de hidrólise, foi utilizado a farinha de girassol desengordurada da empresa Veris Óleos Vegetais Ltda-ME, Vinhedo/SP (Brasil). Na etapa em que se fez a repetição da hidrólise na melhor condição obtida, utilizou-se a farinha de girassol da empresa Sunbloom.

Enzimas e Padrões

As enzimas utilizadas foram, as enzimas comerciais foram Celluclast 1.5 L® e Viscozyme® produzidas pela Novozymes. A Viscozyme® é um complexo multi enzimático contendo atividade de celulase, xilanase e hemicelulase. Hidrolisa ligações β -D-glucanas. A Celluclast® é um complexo enzimático que catalisa a quebra das ligações β -D-glicosídica e β -D-Glucanas da celulose em glicose, glicose oligomérica e celobiose. Para determinação da glicose liberada a partir do método GOD-PAP, utilizou-se o kit GOD-PAP *Liquide Stable* da empresa Labor Lab. Na determinação de



proteínas solúveis foi utilizado como padrão a albumina de soro bovino (CAS-9048-46-8) proveniente da empresa Sigma-Aldrich Brasil Ltda.

2.2. Métodos

2.2.1. Determinação da Melhor Condição de Hidrólise

2.2.1.1. Hidrólise da Farinha de Girassol Desengordurada

Para realização do estudo da melhor condição de hidrólise, em erlenmeyer de 50 mL, a farinha de girassol desengordurada foi dispersa em água em três diferentes relações soluto-solvente, sendo elas 1:10, 1:15 e 1:20. A hidrólise foi realizada em pH's, que variaram de 4, 5 e 6, e para promover o ajuste de pH em cada dispersão foi utilizado solução de HCl 10 mM/L. As enzimas foram então adicionadas na quantidade de 42,6 mg de enzima por mL. Em seguida, os erlenmeyer foram tampados e colocados em Banho Dubnoff TE-053 (Tecnal) a 50°C durante 5 horas, sob agitação. As reações foram feitas em duplicata, sendo no total realizados 36 ensaios.

Para conhecer a cinética da hidrólise enzimática, foram coletadas amostras a cada 1 hora, as quais foram submetidas a centrifugação de 3000 rpm/10 minutos. Desta forma foi o precipitado, e o sobrenadante, que posteriormente foram utilizados para determinação de concentração de proteínas e glicose solúveis.

2.2.1.2. Determinação da Concentração de Glicose e Proteínas Solúveis (Método GOD-PAP e Lowry)

A concentração de glicose liberada foi determinada pelo método GOD-PAP, utilizando o Leitor de Microplacas Multimodal Varioskan Lux (Thermo Scientific) para realização da leitura das absorbâncias a 505 nm em duplicata (HENRY, 1974).

Para determinação das proteínas solúveis por Lowry, foi construída uma curva de calibração, utilizando como padrão a albumina de soro bovino (BSA/1 mg/ml). Em seguida, as amostras foram diluídas a 1:25, 1:50 e 1:100, adicionadas de água, reagente de Lowry e reagente de Folin e as absorbâncias foram lidas a 750, fazendo o uso do Leitor de Microplacas Multimodal Varioskan Lux (Thermo Scientific) (LOWRY, 1951).

2.2.1.3. Determinação do Rendimento

O rendimento da hidrólise dos carboidratos foi calculado pela Equação 1 (modificada de Turini et al, 2021).

$$\eta = \frac{[Gli]}{[Fib]} \times 100$$

Onde: $[Gli]$ – Concentração de Glicose; $[Fib]$ – Concentração de Fibras Totais

2.2.2. Condição Otimizada da Hidrólise da Farinha de Girassol

2.2.2.1. Hidrólise da Farinha de Girassol

A partir dos resultados da hidrólise em diferentes condições reacionais, foi realizado uma repetição do procedimento na melhor condição. Assim, em béquer de 500 mL, 20 g da farinha de girassol foi dispersa em água na relação de soluto-solvente 1:10, e em seguida, submetida a agitação por 30 minutos. A hidrólise foi realizada em pH 5, e o ajuste do pH foi promovido utilizando solução de HCl 10 mM/L. A enzima utilizada nesta etapa foi a Viscozyme®, e foi adicionado a dispersão 8,52 g da mesma, seguindo a proporção de 42,6 mg de enzima por mL. Em seguida, os bequeres foram colocados em Banho Dubnoff TE-053 (Tecnal) a 40°C durante 5 horas, sob agitação.

Após a finalização da hidrólise enzimática, o hidrolisado foi submetido a uma centrifugação durante 10 minutos, a 3000 rpm, obtendo-se o precipitado e o sobrenadante. No precipitado, foi determinado o teor de água incorporada (umidade), fibras totais, proteínas e compostos fenólicos, enquanto no sobrenadante foi determinado a concentração de proteínas e glicose solúveis.

2.2.2.2. Determinação de Água Incorporada, Proteínas (Método de Kjeldahl) e Fibras Totais

Para determinação do teor de água incorporada no precipitado, foi empregado o método da secagem direta por estufa a 105°C (IAL, 1985). Para a verificação da eficiência da hidrólise em aumentar o teor proteico, foi feito a determinação de proteínas no precipitado, fazendo o uso do Método de Kjeldahl. Para determinação da fibra alimentar total, foi utilizado a metodologia Oficial Method 985.29 da AOAC (2012). As determinações foram realizadas em duplicata.

2.2.2.4. Extração e Determinação dos Compostos Fenólicos Totais

A extração dos compostos fenólicos foi feita em solução etanólica 50%, em seguida, as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos para posterior quantificação. A metodologia utilizada foi baseado em (KIM et al., 2003).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Composição Centesimal da Farinha de Girassol



A Tabela 1 mostra a composição da farinha da empresa Veris Óleos Vegetais em base úmida (b.u) e em base seca (b.s).

Tabela 1. Composição da farinha de girassol desengordurada em base úmida (b.u) e em base seca (b.s).

Componente (g/ 100g)	Média ± DP (b.u)	Média ± DP (b.s)
Umidade	8,61 ± 0,05	---
Lipídios	0,33 ± 0,02	0,36 ± 0,02
Proteínas	57,02 ± 0,02	62,39 ± 0,02
Cinzas	8,00 ± 0,05	8,75 ± 0,05
Fibra alimentar	16,45 ± 0,51	18,00 ± 0,51

DP= Desvio Padrão, n=2. Fonte: Elaborado por Thomaz Moreira

A Tabela 2 mostra a composição da farinha da empresa Sunbloom em base úmida (b.u) e em base seca (b.s).

Tabela 2. Composição da farinha de girassol em base úmida (b.u) e em base seca (b.s).

Componente (g/ 100g)	Média ± DP (b.u)	Média ± DP (b.s)
Umidade	7,24 ± 0,04	---
Proteínas	47,54 ± 0,39	51,25 ± 0,39
Fibra alimentar	19,84 ± 0,20	21,39 ± 0,20

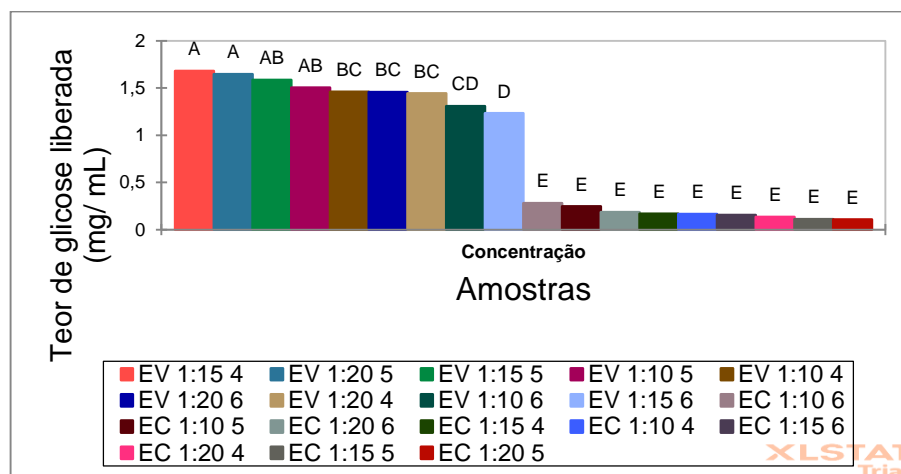
DP= Desvio Padrão, n=2. Fonte: Elaborado por Vitória Costa

3.2. Estudo da Melhor Condição de Hidrólise

3.2.1. Hidrólise Enzimática da Farinha Desengordurada de Girassol

Na Figura 1, é possível observar a evolução da concentração de glicose solúvel promovida pelas enzimas Celluclast® e Viscozyme® ao longo do tempo. As análises foram feitas de duas formas, a primeira, mantendo a diluição e variando o pH, a segunda, mantendo o pH e variando as diluições. A análise estatística foi feita no software XLSTAT. A sigla EV representa enzima Viscozyme®, enquanto EC representa Celluclast®, seguido pelos algarismos que indicam a diluição e o último numeral o pH em que a hidrólise foi conduzida.

Figura 1. Teores de glicose liberada após 5 horas de hidrólise com a enzima Viscozyme (EV).



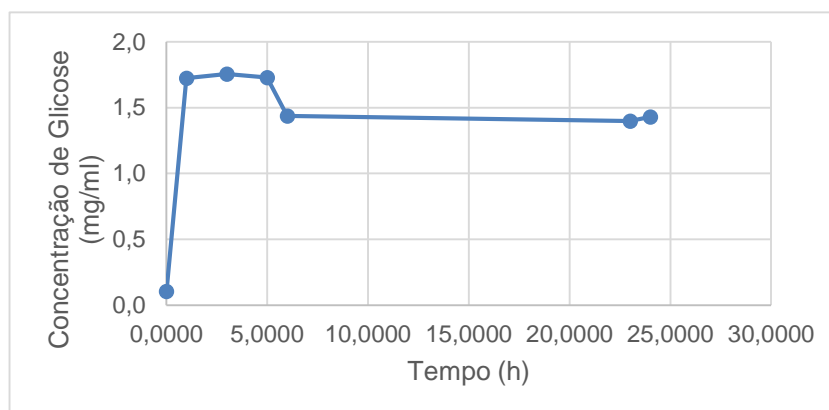
Fonte: Elaborado por Thomaz Moreira

Ao observar a figura é possível inferir que as reações promovidas com a enzima Viscozyme® liberam maior concentração de glicose que as reações com a Celluclast®.

3.2.2. Determinação da Glicose Liberada na Condição Otimizada da Hidrólise

A Figura 2 mostra a evolução da concentração de glicose liberada durante a hidrólise promovida pela enzima Viscozyme® durante 24 horas de reação na razão de soluto solvente de 1:15.

Figura 2. Concentração de glicose liberada ao longo de 24 horas de hidrólise com a enzima Viscozyme® (EV) em diluição 1:15.



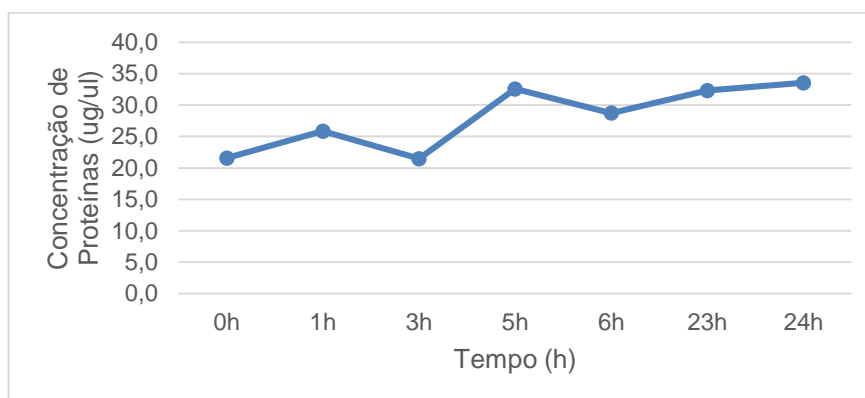
Fonte: Elaborado por Thomaz Moreira

Observou-se que a concentração de glicose obtida no tempo zero foi quase nula, o que difere dos ensaios realizados com 5 horas de reação. Esta diferença ocorreu, pois foi feita uma coleta da amostra antes da adição da enzima. Isso demonstra a rápida ação deste catalisador. Pode ser observado também um platô, estabilidade da reação, depois de atingido 1,75 mg/ml de concentração, fato que possivelmente explica-se pelo uso da solução tampão que mantém o pH constante.

3.2.3. Determinação de Proteínas no Sobrenadante

Para esta análise foi feita uma curva de diluição da amostra para ajuste a curva de calibração, sendo selecionada a diluição de 1:25. Os resultados da Figura 3 mostram uma tendência de aumento da concentração de proteínas ao longo do tempo.

Figura 3. Concentração de proteína na fase líquida ao longo de 24 horas de hidrólise com a enzima Viscozyme (EV) em diluição 1:15 e posterior diluição de 1:25 da amostra.



Fonte: Elaborado por Thomaz Moreira

Comparando-se o tempo 0 e a concentração na vigésima quarta hora, houve um aumento de 55 % na concentração de proteínas solubilizada.

3.2.4. Rendimento da Hidrólise Enzimática dos Carboidratos da Farinha de Girassol

A Tabela 3 e a Tabela 4 mostram os resultados dos rendimentos obtidos ao final das hidrólises com as enzimas Viscozyme® e Celluclast®, respectivamente.

Tabela 3. Rendimento dos ensaios com a enzima Viscozyme®.

Ensaio	Tempo (h)	Diluição	pH	η (%)
1	5	1: 10	4	13,48
2	5	1: 10	5	13,71
3	5	1: 10	6	12,07
4	5	1: 15	4	14,83
5	5	1: 15	5	14,97
6	5	1: 15	6	11,28
7	5	1: 20	4	13,64
8	5	1: 20	5	15,41
9	5	1: 20	6	13,22
10	24	1: 15	5	13,02

Fonte: Elaborado por Thomaz Moreira

Tabela 4. Rendimento dos ensaios com a enzima Celluclast®.

Ensaio	Tempo (h)	Diluição	pH	η (%)
1	5	1: 10	4	1,493
2	5	1: 10	5	2,246
3	5	1: 10	6	2,561
4	5	1: 15	4	1,529
5	5	1: 15	5	0,9981
6	5	1: 15	6	1,766
7	5	1: 20	4	1,220
8	5	1: 20	5	0,9772
9	5	1: 20	6	1,690

Fonte: Elaborado por Thomaz Moreira

Para a enzima Viscozyme®, os resultados mostraram que a melhor condição foi do ensaio 8, com pH 5, diluição 1: 20, e tempo de reação de 5 horas, que apresentou um rendimento de 15,41%. Embora a enzima Celluclast® tenha sido submetida as mesmas condições reacionais que a enzima Viscozyme®, os rendimentos obtidos foram muito inferiores.

3.3. REPETIÇÃO DA MELHOR CONDIÇÃO DA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DA FARINHA DE GIRASSOL

3.3.1. Hidrólise da Farinha de Girassol

Nesta etapa, foi realizada a repetição da melhor condição da hidrólise enzimática, com diluição de 1:10, pH 5,0 e reação com duração de 4 horas. A Tabela 4 compara o teor de proteínas, fibras totais e compostos fenólicos, antes e depois da hidrólise, bem como o acréscimo obtido com a reação.

Tabela 5. Comparação entre a farinha de girassol original e a farinha hidrolisada.

Componente	Farinha Original	Farinha Hidrolisada	% Acréscimo (+)/ redução (-)
Proteína	47,54	55,84	+14,86
Fibra alimentar	19,84	10,38	-47,68
Compostos fenólicos	1,26	0,009	-99,28

Fonte: Elaborado por Vitória Costa

A partir dos resultados apresentados, é possível observar que houve uma redução do teor de fibra alimentar, e acréscimo do teor proteico, como era esperado, mostrando que a enzima atuou de maneira eficiente na reação de hidrólise. Além disso, a extração dos compostos fenólicos do hidrolisado em solução etanólica 50% foi satisfatória, uma vez que a redução foi quase completa.

3.3.2. Determinação de Água Incorporada (Umidade)

Foi determinado o teor de umidade antes e depois da hidrólise enzimática. As análises revelaram uma média do teor de umidade de $7,24\% \pm 0,04$ para a farinha de girassol original. Quando analisado o precipitado obtido a partir da reação de hidrólise, foi obtido uma média de teor de água incorporada de $81,12\% \pm 0,05$. Houve portanto, elevada incorporação de água pelo precipitado.

3.3.3. Determinação da Concentração de Glicose e Proteínas Solúveis

A Tabela 5 mostra os teores obtidos nas análises de glicose solúvel, e de proteína solúvel, determinada pelo método de Lowry no sobrenadante obtido a partir da reação de hidrólise enzimática.

Tabela 6. Teores de glicose e proteínas solúveis.

Componente (g/ 100 mL)	Média ± DP
Proteínas solúveis	0,01 ± 0,05
Glucose solúvel	0,185 ± 0,07

DP= Desvio Padrão, n=2.Fonte: Elaborado por Vitória Costa

3.3.4. Determinação do Rendimento

Realizando os cálculos a partir da equação abaixo, encontrou-se o seguinte rendimento.

$$\eta (\%) = \frac{[Gli]}{[Fib]} \times 100 = \frac{[1,85]}{[10,38]} \times 100 = 17,82$$

Foi observado um aumento do rendimento em relação aos primeiros ensaios realizados. Apesar disso, o valor obtido na hidrólise da farinha de girassol ainda se encontra bem abaixo do rendimento encontrado da hidrólise enzimática de suspensão de soja, que foi de 33,04% (ROSSET, 2011).

4. CONCLUSÃO

A condição de reação (diluição 1:10, pH 5,0 e 4 horas) de reação e a enzima (Viscozyme) selecionada foi efetiva em reduzir o teor de fibra e elevar a concentração proteica. Nestas condições,



houve um acréscimo de 14,86% no teor proteico, com rendimento final de hidrólise 17,82 %. Além do mais, extração com etanol resultou na redução de 99,28% dos compostos fenólicos, que minimiza alterações de sabor e cor que estes compostos podem gerar nos alimentos. Em trabalhos futuros, será realizada a ultrafiltração do hidrolisado para concentração das proteínas, com o intuito de iniciar o desenvolvimento de produtos tendo como base a proteína obtida da hidrólise.

5. AGRADECIMENTOS

Agradeço ao CNPq pela bolsa concedida; o CCQA, pela oportunidade de realizar este trabalho; a Fapesp Proj 12546-1 pelo financiamento do projeto, a orientadora Dra. Maria Teresa Bertoldo Pacheco, por todo aprendizado e incentivo; a Janaíne Chaves da Silva, pelo auxílio ao longo de toda a pesquisa.

6. REFERÊNCIAS

ALEXANDRINO, Thaís Dolfini; FERRARI, R. A.; DE OLIVEIRA, L.A M; ORMENESE, C. R.; PACHECO, M.T.B. Fractioning of the sunflower flour components: Physical, chemical and nutritional evaluation of the fractions. *LWT-Food Science and Technology*. 84:426 - 432, 2017

CARVALHO, Mirella Lucas de. Estudo cinético da hidrólise enzimática de celulose de bagaço de cana-de-açúcar. 2011

CASTRO, C., LEITE, R.M.V.B.C, Main aspects of sunflower production in Brazil. **Oilseeds & fats Crops and Lipids**, v. 25(1), p.1-11, 2018. <https://doi.org/10.1051/ocl/2017056>.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Disponível em: <https://portaldeinformacoes.conab.gov.br/>

DA SILVA TURINI, Camila et al. Enzymatic hydrolysis of carbohydrates in by-products of processed rice/Hidrolise enzimática de carboidratos em coprodutos do arroz beneficiado. **Ciencia Rural**, v. 51, n. 11, p. 1-10, 2021.

DELIENS, Tom; MULLIE, Patrick; CLARYS, Peter. **Padrões alimentares baseados em plantas em adultos flamengos: uma análise de tendência de 10 anos**. *European Journal of Nutrition*, p. 1-5, 2021.

Dossiê proteínas. *Food Ingredients Brasil*. v. 28, p. 1-51. 2014. Disponível em: https://revista-fi.com/upload_arquivos/201606/2016060879641001464957906.pdf

FARRANCE I. *Clin. Biochem. Reviews* (1987). 8 p. 55 to 68.

HENRY, R. J. *Clinical Chemistry, Principles and Techniques*, 2. ed. New York, 1974. P. 1288.

IBOPE, **O consumidor brasileiro e o mercado plant-based**, 2021 <disponível em: <<https://gfi.org.br/wp-content/uploads/2021/02/O-consumidor-brasileiro-e-o-mercado-plantbased.pdf>>

INSTITUTO ALDOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do instituto Adolfo Lutz**. v. 1: *Métodos químicos e físicos para análise de alimentos*, 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. p. 21-22.



KIM, D.O.; Jeong, S.; Lee, C. Capacity phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. *FOOD CHEMISTRY*, v. 81, p.321-326, 2003.

LATIF, Sajid; ANWAR, Farooq. Effect of aqueous enzymatic processes on sunflower oil quality. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 86, n. 4, p. 393-400, 2009.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L; RANDALL, R. J. **Protein measurement with the Folin-Phenol reagent**. The Journal of Biological Chemistry, v. 193, p; 265-276, 1951.

MUSSATTO, Solange I. et al. Effect of hemicellulose and lignin on enzymatic hydrolysis of cellulose from brewer's spent grain. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 43, n. 2, p. 124-129, 2008.

OGEDA, Thais Lucy e Petri, Denise F. S.Hidrólise Enzimática de Biomassa. *Química Nova* [online]. 2010, v. 33, n. 7 [Acessado 12 Janeiro 2022] , pp. 1549-1558. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000700023>>. Epub 27 Set 2010. ISSN 1678-7064. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000700023>.

PEREIRA, E. S.; PIMENTEL, P. G.; BOMFIM, M. A. D.; CARNEIRO, M. S. S.; CÂNDIDO, M. J. D.; Torta de girassol em rações de vacas em lactação: produção microbiana, produção, composição e perfil de ácidos graxos do leite. **Maringá**, v. 33, n. 4, p. 387-394, 2011. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v33i4.11327>.

QUINTERO, Julián et al. **Vegetable proteins: encapsulating agents that do not sensitize bioactive compounds**. London, United Kingdom: In Tech, p. 43-65, 2017.

RABELO, Sarita Cândida et al. Avaliação e otimização de pré-tratamentos e hidrólise enzimática do bagaço de cana-de-açúcar para a produção de etanol de segunda geração. **2010**.

RIBEIRO, Ursula Leite.A ascensão do consumo ético de produtos vegetarianos e veganos no mercado brasileiro. *Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana*, p. 1-7, Julho. 2019. Disponível em: <https://www.eumed.net/rev/oel/2019/07/consumo-productos-vegetarianos.html>

RODRIGUES, Ivo Manuel Mira Abreu; CARVALHO, M. Graça Videira Sousa; ROCHA, Jorge Manuel Santos. Increasing the protein content of rapeseed meal by enzymatic hydrolysis of carbohydrates. **BioResources**, v. 9, n. 2, p. 2010-2025, 2014.

ROSSET, Michele. Hidrólise enzimática de carboidratos de soja [*Glycine Max (L.) Merrill*] e efeitos em tofu tipo Silken. **2011**.

STRÖHER, Raquel. **Hidrólise enzimática da proteína do farelo de soja**. 2010. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Maringá.

TZIVA, M. et al. **Understanding the Protein Transition: The Rise of Herbal Meat Substitutes** . *Environmental Innovation and Societal Transitions*, v. 35, p. 217-231, 2020.