UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

ALIMENTOS À BASE DE PLANTAS: UMA ABORDAGEM METABOLÔMICA PARA AVALIAR A COMPOSIÇÃO E O IMPACTO DE TECNOLOGIAS DE PROCESSAMENTO

Victória Hermes de Vargas

Porto Alegre
2026

VICTÓRIA HERMES DE VARGAS

ALIMENTOS À BASE DE PLANTAS: UMA ABORDAGEM METABOLÔMICA PARA AVALIAR A COMPOSIÇÃO E O IMPACTO DE TECNOLOGIAS DE PROCESSAMENTO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutora em Engenharia Química.**

Orientadora: Profª. Drª. Ligia Damasceno Ferreira Marczak
Co-orientadora: Profª. Drª. Giovana Domeneghini Mercali
Colaborador: Prof. Dr. Eliseu Rodrigues

Porto Alegre
2026

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese *"Alimentos à base de plantas: uma abordagem metabolômica para avaliar a composição e o impacto de tecnologias de processamento",* elaborada por Victória Hermes de Vargas, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutora em Engenharia Química.

Comissão Examinadora:

_____

Profª. Drª. Ana Paula Dionísio
PPGCTA / UFC

_____

Prof. Dr. Eric de Castro Tobaruela
DECAN / UNICAMP

_____

Profª. Drª. Julia Ribeiro Sarkis
PPGEQ / UFRGS

RESUMO

Alimentos à base de plantas têm ganhado destaque como alternativas sustentáveis aos produtos tradicionais, impulsionados por fatores sociais, éticos e ambientais. Dentre esses produtos, destacam-se os análogos cárneos e as bebidas vegetais, cujos atributos de qualidade dependem fortemente da formulação e das condições de processamento. A compreensão das transformações químicas associadas às diferentes matrizes proteicas e às tecnologias de preparo torna-se, portanto, essencial para o desenvolvimento de produtos com propriedades sensoriais e nutricionais adequadas. Nesse contexto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da formulação e do processamento nas propriedades físico-químicas e no perfil metabolômico de alimentos à base de plantas. Para isso, foram conduzidos quatro estudos complementares. O primeiro estudo caracterizou a diversidade química de hambúrgueres *plant-based* comercializados no mercado brasileiro, revelando elevada heterogeneidade e a presença de múltiplas classes de metabólitos, como compostos fenólicos, lipídios, ácidos orgânicos e aminoácidos. As análises multivariadas indicaram que a fonte proteica contribui para padrões químicos globais; contudo, o grau de processamento das proteínas e a seleção de ingredientes exercem papel determinante na composição química de produtos de uma mesma matriz, com formulações menos processadas apresentando maiores abundâncias relativas de compostos fenólicos característicos. O segundo estudo investigou a relação entre composição química e comportamento físico-químico durante a cocção, por meio da comparação entre hambúrgueres à base de plantas (PB) e de origem animal (MB) submetidos a diferentes tecnologias, incluindo *air fryer*, *grill*, forno e micro-ondas. Os métodos de preparo influenciaram parâmetros como perda de massa, umidade, textura e cor, com efeitos mais pronunciados no micro-ondas. Entretanto, as principais diferenças foram atribuídas ao tipo de hambúrguer, refletindo distinções intrínsecas entre as matrizes vegetal e animal. No terceiro estudo, avaliou-se de forma mais aprofundada o impacto das tecnologias de cocção sobre o metaboloma dos hambúrgueres PB. As análises evidenciaram transformações químicas relevantes após o cozimento, incluindo a degradação de compostos termolábeis, como lipídios e flavonoides, bem como o aumento relativo de alguns compostos fenólicos. Entre os métodos avaliados, o *grill* promoveu as alterações mais expressivas, enquanto o micro-ondas apresentou menor impacto, preservando melhor lipídios e fenólicos específicos. Por fim, o quarto estudo ampliou o escopo do trabalho para bebidas vegetais e tecnologias inovadoras de processamento, avaliando os efeitos do tratamento térmico brando (TC40), da pasteurização convencional (TC72), do processamento por alta pressão (HPP) e da tecnologia de ultra-cisalhamento (UST) na

composição química de uma bebida à base de amêndoas. As diferentes tecnologias induziram perfis químicos distintos, refletindo o balanço entre degradação e liberação de metabólitos. Enquanto a pasteurização convencional preservou, em maior medida, a composição da matriz *in natura*, o tratamento térmico brando promoveu maior degradação de compostos fenólicos e lipídios. Por outro lado, o HPP e a UST favoreceram a extração de alguns flavonoides, embora também tenham promovido a degradação de metabólitos mais sensíveis. Essas observações destacam o potencial de tecnologias inovadoras para modular de forma direcionada a composição química de bebidas vegetais. De forma integrada, os estudos realizados evidenciam a complexidade dos alimentos à base de plantas e a importância da formulação e do processamento na definição de suas características físico-químicas. Ademais, os resultados oferecem uma base científica para a avaliação e o aprimoramento de análogos cárneos e bebidas vegetais, contribuindo para o desenvolvimento de alimentos alinhados às expectativas dos consumidores e às demandas de um mercado em constante expansão.

Palavras-chave: hambúrguer vegetal; bebida à base de plantas; métodos de cocção; tecnologias inovadoras; caracterização físico-química; compostos bioativos.

ABSTRACT

Plant-based foods have emerged as sustainable alternatives to conventional products, driven by social, ethical, and environmental factors. Among these products, meat analogues and plant-based beverages stand out, with quality attributes that are strongly influenced by formulation and processing conditions. Understanding the chemical transformations associated with different protein matrices and processing technologies is therefore essential for developing products with appropriate sensory and nutritional properties. In this context, the aim of the present work was to evaluate the effects of formulation and processing strategies on the physicochemical properties and metabolomic profile of plant-based foods. To this end, four complementary studies were conducted. The first study characterized the chemical diversity of plant-based burgers commercially available on the Brazilian market, revealing high heterogeneity and the presence of multiple classes of metabolites, such as phenolic compounds, lipids, organic acids, and amino acids. Multivariate analyses indicated that protein source contributes to global chemical patterns; however, processing degree and ingredient selection play a dominant role in shaping the chemical composition of products within the same matrix, with higher relative abundances of specific phenolic compounds observed in less processed formulations. The second study investigated the relationship between chemical composition and physicochemical behavior during cooking by comparing plant-based (PB) and meat-based (MB) burgers prepared using different methods, including air frying, oven baking, grilling, and microwaving. Cooking methods significantly affected parameters such as cooking loss, moisture content, texture, and color, with more pronounced effects observed in microwave-prepared samples. Nevertheless, the main differences were attributed to burger type, reflecting intrinsic distinctions between plant and animal matrices. In the third study, the impact of cooking technologies on the metabolome of PB burgers was examined in greater depth. The analyses revealed relevant chemical transformations after cooking, including the degradation of thermolabile compounds, such as lipids and flavonoids, as well as a relative increase in certain phenolic compounds. Among the evaluated methods, grilling induced the most pronounced metabolic alterations relative to raw samples, whereas microwave cooking had the least impact, better preserving specific lipids and phenolic compounds. Finally, the fourth study expanded the scope to plant-based beverages and innovative processing technologies, evaluating the effects of mild thermal treatment (TC40), short-time pasteurization (TC72), high-pressure processing (HPP), and ultra-shear technology (UST) on the chemical composition of an almond-based beverage. The different technologies induced distinct

chemical profiles, reflecting a balance between metabolite degradation and release. TC72 largely preserved the native matrix composition, whereas TC40 resulted in greater degradation of phenolic compounds and lipids. By contrast, HPP and UST favored the extraction of specific flavonoids, although degradation was also observed for more susceptible compounds. These observations highlight the potential of innovative technologies to selectively modulate the chemical composition of plant-based beverages. Taken together, these studies demonstrate the complexity of plant-based foods and the role of formulation and processing in shaping their physicochemical properties. Moreover, these findings provide a scientific basis for evaluating and improving meat analogues and plant-based beverages, supporting the development of products that meet consumer expectations and the demands of a rapidly expanding market.

Keywords: meat analogue; plant-based milk, cooking methods; innovative technologies; physicochemical characterization; bioactive compounds.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Hambúrgueres à base de plantas disponíveis do mercado brasileiro. 24
Figura 2 – Curva típica do perfil de textura. 32
Figura 3 – Transferência de calor em um alimento cozido em forno. 34
Figura 4 – Esquema representativo de uma *air fryer*. 35
Figura 5 – Componentes de um forno micro-ondas. 37
Figura 6 – Processo típico de produção de bebidas à base de plantas. 43
Figura 7 – Sistema típico do processamento a alta pressão. 47
Figura 8 – Esquema representativo de um sistema de ultra-cisalhamento. 51
Figura 9 – Funcionamento de uma válvula de cisalhamento. 51
Figura 10 – Fluxograma de trabalho da análise metabolômica. 55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Exemplos de hambúrgueres à base de plantas disponíveis no Brasil. 25

SUMÁRIO

Capítulo 1 – Introdução 13

Capítulo 2 – Objetivos 16

2.1 Objetivo geral 16

2.2 Objetivos específicos 16

Capítulo 3 – Fundamentação teórica e revisão bibliográfica 17

3.1 Alimentos à base de plantas 17

3.1.1 Expansão da dieta à base de plantas 17

3.1.2 Definição e legislação dos produtos *plant-based* 19

3.1.3 Alimentos *plant-based* análogos à carne 22

3.1.3.1 Mercado de análogos cárneos 22

3.1.3.2 Formulação de hambúrgueres à base de plantas 26

3.1.3.3 Propriedades e atributos de qualidade 28

3.1.3.4 Tecnologias de cocção 32

3.1.4 Alimentos *plant-based* análogos ao leite 40

3.1.4.1 Bebida à base de plantas 41

3.1.4.2 Processo produtivo de bebidas vegetais 43

3.1.4.3 Tecnologias de pasteurização 45

3.2 Análise metabolômica 53

3.2.1 Definição 53

3.2.2 Etapas da análise metabolômica 55

3.2.2.1 Planejamento experimental e preparo das amostras 55

3.2.2.2 Aquisição dos dados metabolômicos 57

3.2.2.3 Controle de qualidade 58

3.2.2.4 Processamento dos dados e análise estatística 59

3.2.2.5 Anotação dos metabólitos e interpretação biológica 61

3.2.3 Aplicações da metabolômica na área de alimentos 62

3.2.3.1 Metabolômica no processamento de alimentos 64

Capítulo 4 – Artigos científicos 67

Artigo 1 – Beyond nutritional labels: uncovering chemical diversity in commercial plant-based burgers through metabolomic profiling 68

Abstract 68

1 Introduction 69

2 Materials and methods 71

3 Results and discussion 74

4 Conclusions 89

5 Next steps and future directions 90

Supplementary material 101

References 107

Artigo 2 – Chemical composition and cooking-induced physicochemical changes in plant-based and meat burgers 112

Abstract 112

1 Introduction 113

2 Materials and methods 115

3 Results and discussion 120

4 Conclusions 138

Supplementary material 140

References 144

Artigo 3 – Metabolomic insights into the impact of cooking technologies on plant-based burger composition 148

Abstract 148

1 Introduction 149

2 Materials and methods 150

3 Results and discussion 155

4 Conclusions 168

Supplementary material 174
References 181
Artigo 4 – Chemical profile changes in almond milk induced by thermal, high-pressure and ultra-shear treatments 185
Abstract 185
1 Introduction 186
2 Materials and methods 188
3 Results and discussion 195
4 Conclusions 213
Supplementary material 221
References 227
Capítulo 5 – Discussão geral e considerações finais 234
Capítulo 6 – Perspectivas futuras 238
Referências bibliográficas 239

Capítulo 1 – Introdução

A indústria alimentícia vem desempenhando um papel fundamental na produção de alimentos seguros, acessíveis, convenientes e saborosos, o que contribuiu para a redução da fome e da desnutrição global ao longo do último século. No entanto, os padrões alimentares contemporâneos, caracterizados pelo elevado consumo de produtos de origem animal, têm sido associados a impactos ambientais expressivos e ao aumento da incidência de doenças crônicas não transmissíveis. Diante desse cenário, alternativas alimentares à base de plantas têm ganhado crescente relevância, impulsionadas por motivações que incluem o bem-estar animal, a sustentabilidade ambiental e a busca por opções percebidas como mais saudáveis. Além disso, tendo em vista o aumento significativo da população global, estimada para alcançar 10 bilhões em 2050 (United Nations, 2024), e a provável falta de recursos para a produção de proteína animal, torna-se primordial a busca por fontes alternativas de proteína.

Os alimentos alternativos à base de plantas (do inglês, *plant-based foods*) são formulados exclusivamente a partir de ingredientes vegetais e desenvolvidos para mimetizar as características de produtos de origem animal, como carnes e laticínios, incluindo aparência, textura, sabor e funcionalidade. Em resposta às novas tendências de consumo, a indústria alimentícia tem combinado métodos tradicionais com inovações para ampliar a variedade e disponibilidade desses produtos. Segundo dados publicados pelo *The Good Food Institute*, em 2024 o mercado global de alimentos *plant-based* arrecadou aproximadamente U$ 28,6 bilhões, com crescimento de cerca de 5 % em relação ao ano anterior, abrangendo categorias como análogos de carne e frutos do mar e alternativos lácteos (Battle *et al.*, 2025). Esse cenário reflete não apenas a expansão comercial do setor, mas também o aumento do interesse científico e tecnológico no desenvolvimento de produtos à base de plantas, impulsionando avanços nas áreas de formulação, processamento e caracterização desses alimentos.

Entre os análogos à carne, os hambúrgueres à base de plantas figuram entre os produtos mais consumidos pela população brasileira. Sua formulação envolve a combinação de diferentes proteínas, lipídios e polissacarídeos, além de aditivos como corantes, estabilizantes e aromatizantes, visando reproduzir as características sensoriais e estruturais da carne animal. A diversidade de matrizes proteicas e estratégias de formulação resulta em elevada heterogeneidade química entre os produtos disponíveis no mercado. Embora o apelo associado à origem vegetal frequentemente sugira uma composição rica em compostos característicos das matérias-primas botânicas, esses atributos dependem fortemente da seleção dos ingredientes e do grau de processamento e não são plenamente refletidos na rotulagem nutricional. Nesse

contexto, torna-se relevante realizar uma análise crítica e comparativa da composição de hambúrgueres à base de plantas comercializados no mercado brasileiro, com ênfase na identificação de compostos associados às diferentes matrizes proteicas.

Diante dessa variabilidade química, a forma como esses produtos são submetidos à cocção também assume um papel central na definição de suas características finais. Assim como os hambúrgueres convencionais, os hambúrgueres *plant-based* são consumidos após o cozimento, etapa indispensável para assegurar a segurança microbiológica. No entanto, a cocção pode promover alterações nas propriedades físico-químicas e na composição química dos alimentos, cuja magnitude depende do método e da intensidade do tratamento térmico aplicado. Tais transformações impactam diretamente parâmetros de qualidade, incluindo retenção de umidade, textura, cor e estabilidade de compostos. Dessa forma, a avaliação de diferentes métodos de cocção torna-se essencial para compreender a interação entre o processamento térmico e a matriz alimentar, bem como para orientar estratégias que visem à otimização do preparo desses produtos.

Além dos análogos cárneos, os substitutos de laticínios vêm ganhando crescente popularidade, especialmente entre consumidores com intolerância à lactose ou alergia às proteínas do leite. Dentre esses produtos, destacam-se as bebidas à base de plantas, popularmente conhecidas como “leites” vegetais. Para garantir a estabilidade e prolongar a vida útil desses alimentos, a pasteurização térmica tem sido o método mais amplamente empregado. No entanto, a exposição a temperaturas elevadas pode resultar em alterações indesejáveis na composição química e nas propriedades sensoriais, o que tem impulsionado a busca por estratégias alternativas de processamento. Nesse contexto, tecnologias inovadoras baseadas em mecanismos não térmicos, como o processamento por alta pressão (*high-pressure processing*, HPP) e a tecnologia de ultra-cisalhamento (*ultra-shear technology*, UST), vêm sendo investigadas como alternativas ao tratamento térmico convencional, com o objetivo de conciliar segurança microbiológica e preservação dos atributos de qualidade.

De forma geral, tecnologias convencionais e inovadoras apresentam mecanismos físicos e químicos próprios e distintos entre si, que podem desencadear diversas reações na matriz dos alimentos, levando à degradação, formação ou retenção de diferentes compostos químicos. Sendo assim, alimentos processados por diferentes métodos podem apresentar diferentes composições químicas e/ou diferentes características físico-químicas. Compreender as modificações causadas por cada tecnologia é essencial para estabelecer relações entre processo, estrutura e composição, auxiliando na escolha dos métodos mais vantajosos para produzir produtos de alta qualidade. Nesse contexto, a análise metabolômica é uma ferramenta analítica

robusta que pode ser utilizada para identificar e associar as alterações químicas sofridas no processamento às características do produto final.

A metabolômica é uma ciência ômica dedicada ao estudo de moléculas de baixa massa molecular presentes em organismos, tecidos ou células em um determinado momento e sob condições específicas. Essa abordagem permite a investigação de metabólitos primários, como aminoácidos, carboidratos, lipídios e ácidos orgânicos, bem como de metabólitos secundários, incluindo fitoquímicos e compostos orgânicos voláteis. Ao fornecer uma visão abrangente das alterações químicas associadas às vias metabólicas, a metabolômica possibilita a avaliação de respostas a diferentes estímulos e condições, tais como estados fisiológicos, exposição a agentes externos e processamento de alimentos. Do ponto de vista metodológico, a metabolômica é geralmente classificada em abordagens direcionadas e não direcionadas. A estratégia direcionada concentra-se em um conjunto previamente definido de compostos e geralmente permite sua quantificação, enquanto a abordagem não direcionada busca mapear e identificar o espectro mais amplo possível de metabólitos presentes em uma amostra, sendo particularmente adequada para estudos exploratórios.

Em suma, à medida que aumenta a conscientização sobre os impactos associados ao consumo de produtos de origem animal, o aprimoramento da qualidade, da segurança e do valor nutricional dos alimentos à base de plantas torna-se uma prioridade. Nesse cenário, tanto a formulação quanto os métodos de processamento aplicados exercem papel central na definição das propriedades físico-químicas e da composição química desses produtos. A análise metabolômica não direcionada, por sua vez, destaca-se como uma abordagem abrangente para a caracterização dessas matrizes, permitindo a identificação de alterações químicas associadas a diferentes ingredientes, níveis de processamento e tecnologias de preparo. Diante do exposto, no presente trabalho são desenvolvidos quatro estudos complementares voltados à investigação da composição química e das propriedades físico-químicas de alimentos à base de plantas submetidos a diferentes estratégias de formulação e processamento, utilizando a metabolômica como ferramenta central.

O presente texto está estruturado em capítulos. O **Capítulo 2** descreve o objetivo geral e os objetivos específicos do trabalho. O **Capítulo 3** apresenta a fundamentação teórica e a revisão bibliográfica, abordando dois eixos principais: alimentos à base de plantas e análise metabolômica. O **Capítulo 4** reúne a metodologia e os resultados da tese, organizados na forma de quatro artigos científicos. No **Capítulo 5** são apresentadas as considerações finais e, por fim, o **Capítulo 6** discute as perspectivas futuras.

Capítulo 2 – Objetivos

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral da presente tese é avaliar os efeitos da composição e de diferentes estratégias de processamento sobre as propriedades físico-químicas e o perfil metabolômico de alimentos à base de plantas.

2.2 Objetivos específicos

Os objetivos específicos são:

- realizar um levantamento de mercado para identificar os hambúrgueres à base de plantas comercializados no Brasil e caracterizar sua diversidade química por meio da análise metabolômica não direcionada;
- caracterizar o perfil químico de hambúrgueres à base de plantas e de origem animal e avaliar como diferentes tecnologias de cocção (*air fryer*, forno elétrico, *grill* elétrico e micro-ondas) afetam suas propriedades físico-químicas;
- investigar as alterações no perfil metabolômico de hambúrgueres à base de plantas submetidos a distintos métodos de cocção, com ênfase na estabilidade, degradação e liberação de metabólitos de interesse;
- avaliar o efeito de tecnologias de processamento térmicas e não térmicas, incluindo tratamento térmico convencional, processamento por alta pressão e tecnologia de ultra-cisalhamento, sobre o perfil metabolômico de uma bebida vegetal à base de amêndoas.

Capítulo 3 – Fundamentação teórica e revisão bibliográfica

Este capítulo apresenta a fundamentação teórica de dois eixos centrais deste trabalho: alimentos à base de plantas e análise metabolômica. No contexto dos alimentos *plant-based*, são discutidas as motivações associadas à expansão dessa dieta, bem como sua definição e a legislação aplicável. Em seguida, o capítulo aprofunda-se nos alimentos análogos à carne, abordando a formulação de hambúrgueres à base de plantas, suas propriedades físico-químicas e as principais tecnologias de cocção empregadas no preparo desses produtos. Adicionalmente, são discutidos os alimentos análogos ao leite, com foco nas bebidas à base de plantas, contemplando sua definição, composição, processos produtivos e tecnologias de pasteurização. No segundo eixo, dedicado à análise metabolômica, são apresentados os conceitos fundamentais dessa abordagem, as etapas envolvidas no fluxo analítico e suas principais aplicações na área de alimentos.

3.1 Alimentos à base de plantas

3.1.1 Expansão da dieta à base de plantas

Nos últimos anos, o consumo excessivo de produtos de origem animal tem sido associado a diversos problemas ambientais e de saúde pública. A indústria da carne bovina, em particular, é uma das principais causadoras do desmatamento e das emissões de gases de efeito estufa, além de ser uma das principais fontes de contaminação por antibióticos e hormônios. (Poore; Nemecek, 2018; Springmann *et al.*, 2018). Nesse cenário, observa-se um crescimento expressivo da adoção de dietas à base de plantas, consideradas uma alternativa mais sustentável dentro dos sistemas alimentares. De acordo com dados da Sociedade Vegetariana Brasileira, cerca de 1,1% da população mundial se declara vegana, o que equivale a aproximadamente 88 milhões de pessoas. No Brasil, em 2018, 14% da população se declarou vegetariana, o que representa um aumento de 75% em relação à pesquisa realizada em 2012 (IBOPE, 2018).

A literatura revela um debate complexo sobre as razões que levam à adoção de dietas à base de plantas, acompanhando preocupações ambientais, éticas, de saúde e tendências de mercado (Karlsson Potter; Röös, 2021). As principais motivações incluem: i) preocupações éticas em relação ao tratamento dos animais na indústria alimentícia; ii) considerações ambientais sobre o impacto da pecuária no clima e nos ecossistemas; iii) benefícios à saúde associados às dietas vegetarianas e veganas; e iv) valores pessoais, espirituais ou religiosos (Rosenfeld; Burrow, 2017). Há ainda outros fatores que atuam como facilitadores, contribuindo

positivamente para a adesão de dietas à base de vegetais, como o sentimento de pertencimento a uma comunidade, o apoio da família e dos relacionamentos interpessoais, além da construção de uma identidade (Santini *et al.*, 2025).

Em termos de impactos ambientais, o sistema alimentar atual é responsável por mais de um terço das emissões globais diretas e indiretas de gases de efeito estufa, além de contribuir de forma expressiva para o esgotamento da terra, da água e de outros recursos naturais. Desse total, cerca de 57% das emissões são atribuídas à produção de alimentos de origem animal, principalmente em função da liberação de dióxido de carbono, metano e óxido nitroso. Os alimentos à base de plantas respondem por aproximadamente 29% das emissões, enquanto os 14% restantes decorrem de outras fontes (Leiserowitz *et al.*, 2021). Por outro lado, estudos de avaliação do ciclo de vida (Costa *et al.*, 2020; Porto Costa *et al.*, 2023; Simon; Copena; Pérez-Neira, 2023; Springmann *et al.*, 2023; Takacs *et al.*, 2022) indicam que dietas veganas e à base de alimentos integrais, como vegetais e leguminosas, geram impactos significativamente menores em categorias-chave, como aquecimento global, eutrofização da água doce, acidificação do solo e potencial de exaustão hídrica, quando comparadas às refeições vegetarianas e à base de carne.

No âmbito da saúde, o consumo excessivo de carnes vermelhas e, sobretudo, de carnes processadas tem sido consistentemente associado ao aumento do risco de doenças crônicas não transmissíveis, incluindo diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e determinados tipos de câncer, como o colorretal e o gástrico (Hu; Otis; McCarthy, 2019). A Agência Internacional para Pesquisa sobre o Câncer (*International Agency for Research on Cancer*, IARC) da Organização Mundial da Saúde, após uma revisão abrangente das evidências epidemiológicas, classificou as carnes processadas (como salsichas, bacon e cachorros-quentes) como carcinogênicas para o câncer colorretal, enquanto as carnes vermelhas não processadas (como carne suína e bovina) foram classificadas como “provavelmente carcinogênicas” para os seres humanos. Além desses efeitos, a produção intensiva de carne também levanta outras preocupações, como o risco de transmissão de doenças de origem animal para humanos, bem como o uso extensivo de antibióticos na produção pecuária, associado ao desenvolvimento de resistência antimicrobiana (Hu; Otis; McCarthy, 2019).

Por outro lado, estudos clínicos sugerem que a adesão a dietas à base de plantas bem planejadas e balanceadas trazem benefícios à saúde, atribuídos à diminuição do consumo de gorduras saturadas e colesterol, presentes principalmente em produtos de origem animal (Jafari *et al.*, 2022; Salehin *et al.*, 2023; Wang, Yeli *et al.*, 2023). Alimentos à base de plantas geralmente são caracterizados por altos níveis de fibras, vitaminas, antioxidantes e minerais

(Miao *et al.*, 2022). Porém, é importante observar que uma dieta à base de plantas não é necessariamente superior nutricionalmente a uma dieta onívora. Alimentos de origem animal, como carne, leite e ovos, contêm micronutrientes, como vitamina D, cálcio e zinco, que podem faltar em uma alimentação exclusivamente vegetal. Por isso, muitos alimentos à base de plantas precisam ser enriquecidos com esses micronutrientes (McClements; Grossmann, 2021).

Alimentos à base de plantas oferecem uma vantagem adicional ao fornecer opções alternativas a alérgenos comuns encontrados em produtos de origem animal, como o leite. Cerca de 65% da população mundial apresenta baixos níveis de produção de lactase durante a vida adulta (Bocker; Silva, 2022). Isso significa que esses indivíduos não absorvem efetivamente a lactose e podem apresentar reações adversas ao consumir leite de origem animal. Apesar da existência de alérgenos vegetais, a diversidade dentro do universo à base de plantas oferece uma infinidade de opções que atendem a diversas necessidades e restrições dietéticas, proporcionando soluções personalizadas para indivíduos com intolerância à lactose e alergias a laticínios e ovos (Boukid, 2024). Isso destaca os benefícios multifacetados das dietas à base de plantas, combinando considerações de saúde, consciência nutricional e inclusão de alérgenos. Como resultado, o setor de alimentos à base de plantas está se expandindo rapidamente para atender à demanda crescente de consumidores.

3.1.2 Definição e legislação dos produtos *plant-based*

Embora atualmente não exista uma definição legal, os produtos *plant-based* (também chamados de análogos, substitutos ou alternativas à base de plantas) incluem alimentos minimamente ou ultraprocessados formulados exclusivamente com ingredientes de origem vegetal. Esses produtos são desenvolvidos para reproduzir as características dos alimentos tradicionais de origem animal, não apenas em termos nutricionais, mas também em seus atributos físicos e sensoriais, como textura, aparência, aroma e sabor. Essa categoria inclui alimentos análogos à carne, como tiras, pedaços, hambúrgueres, produtos similares à carne moída, nuggets, bifes e salsichas, além de substitutos ao leite animal, como bebidas à base de plantas, creme vegetal para uso culinário, queijos vegetais, entre outros (ANVISA, 2022). Produtos vegetais integrais, como leguminosas, nozes e sementes, geralmente não estão inclusos nessa definição (Pingali *et al.*, 2023).

No Brasil os alimentos *plant-based* são atualmente regulados pela Lei nº 9.972/2000 e pelo Decreto nº 6.268/2007, que abordam de forma geral a classificação de produtos vegetais, subprodutos e resíduos de valor econômico. No entanto, até o momento, não há uma legislação

específica direcionada aos produtos análogos aos de origem animal, principalmente no que diz respeito aos padrões de identificação e nomenclatura (Pereira *et al.*, 2024). A falta de legislação específica gera desafios como ambiguidades nas definições, dificuldades na rotulagem, concorrência desleal e impactos negativos na exportação, além de conflitos legais e confusão para os consumidores. Nos últimos anos, a regulamentação dos alimentos *plant-based* vem sendo discutida pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Em junho de 2023, através da Portaria nº 831, o MAPA iniciou uma consulta pública com o objetivo de estabelecer requisitos mínimos de qualidade para produtos à base de plantas, bem como definir diretrizes para identidade visual e critérios de rotulagem. A Portaria nº 831/2023 marcou o início do marco regulatório para os produtos *plant-based*, buscando preencher a lacuna normativa no setor. De acordo com a proposta normativa, esses produtos deverão atender a requisitos de qualidade específicos, incluindo o uso de ingredientes autorizados por legislação, isenção de substâncias nocivas à saúde, conformidade com padrões microbiológicos estabelecidos e produção de acordo com boas práticas de fabricação, além de estarem livres de odores estranhos. A proposta atual permite o uso de termos como “carne”, “queijo” e “leite” nos rótulos, desde que acompanhados da expressão “análogo vegetal de”. Além disso, deve-se informar que o produto não substitui o análogo animal em termos nutricionais ou funcionais, sendo proibido o uso de termos, imagens ou representações que induzam o consumidor ao erro.

Enquanto o poder Executivo debate propostas de regulamentação, o poder Legislativo analisa diversos projetos de lei relacionados ao tema. O PL 10.556/2018, apresentado pela então deputada Tereza Cristina (DEM/MS), busca restringir o uso da palavra "leite" exclusivamente para “produtos provenientes da secreção mamária de fêmeas mamíferas, obtida de uma ou mais ordenhas, sem adições ou extrações”. Além disso, foram apresentados outros projetos, como o PL 5.344/2020, que proíbe o uso de termos como "queijo" e "requeijão" para produtos sem leite animal, e os PLs 2.876/2019, 353/2022, 508/2022 e 2.098/2024, que propõem restringir o uso de palavras como "carne", "leite", "mel" e "ovos" a produtos de origem exclusivamente animal.

No cenário mundial, as discussões sobre os alimentos à base de plantas também geram divergências e, até o momento, não há um consenso universal sobre a rotulagem dos produtos. Dessa forma, países e regiões individuais têm tentado impor diferentes níveis de restrições ao setor. Nos Estados Unidos, por exemplo, não há uma regulamentação federal específica para a rotulagem de produtos *plant-based*, permitindo, em nível nacional, o uso de termos tradicionalmente associados a carnes e laticínios. Entretanto, essa falta de regulamentação se

aplica apenas a nível federal, já que os estados, individualmente, podem impor suas próprias regras (Buxton, 2024). Em 2023, contrariando a expectativa de alguns setores da indústria americana, a agência *Food and Drug Administration* (FDA) divulgou um rascunho regulatório que permite que bebidas vegetais continuem usando o termo "leite" em seus rótulos, desde que identifiquem claramente a fonte vegetal, como "leite de soja" ou "leite de aveia". A agência esclareceu que esses produtos não confundem os consumidores americanos, que entendem se tratar de bebidas vegetais e não de origem animal. A postura da FDA demonstra uma visão voltada para o futuro e para a evolução do mercado (GFI Brasil, 2022a).

Ao contrário dos EUA, a Europa possui regulamentações rigorosas para a rotulagem de alimentos *plant-based*. Atualmente, os produtos à base de plantas não podem ser rotulados como "leite" ou "iogurte", mas podem ser descritos como "alternativa ao iogurte", por exemplo. Em 2020, a União Europeia (UE) considerou proibir o uso de termos como "hambúrguer" e "salsicha", mas a proposta foi derrotada por 48 votos após pressão de grupos como o *The Good Food Institute Europe* e *ProVeg International*. Por outro lado, uma proposta para restringir embalagens e descrições de alternativas lácteas quase avançou, mas foi bloqueada em 2021, com apoio de campanhas lideradas por celebridades como Greta Thunberg. Apesar disso, países como França e Itália têm tentado implementar suas próprias proibições, embora, na França, uma decisão judicial tenha interrompido a medida em 2022. A justificativa recorrente para essas restrições na UE é evitar a "confusão do consumidor" (Buxton, 2024).

As alegações de que consumidores compram produtos *plant-based* por engano, devido a nomes ou imagens similares aos de origem animal, são contraditas por pesquisas. Termos como “hambúrguer de ervilha” ou “salsicha vegetal” ajudam a comunicar com clareza a função e o sabor do produto, enquanto termos alternativos, como “disco de ervilha” ou “tubo vegetal”, geram confusão. No Brasil, uma pesquisa realizada em 2022 pelo *The Good Food Institute Brasil* (GFI Brasil) revelou que apenas 3% dos consumidores compraram produtos *plant-based* acreditando que fossem de origem animal. No restante do mundo, estudos reforçam que a confusão é rara. Pesquisas realizadas nos EUA, Holanda e Austrália entre 2020 e 2022 apontam que entre 91% e 96% dos consumidores nunca compraram produtos vegetais por engano, enquanto é mais comum que consumidores buscando opções vegetais comprem produtos com ingredientes animais devido a embalagens enganosas (Gallon & Gadelha, 2022).

3.1.3 Alimentos *plant-based* análogos à carne

A carne é amplamente reconhecida como uma excelente fonte de proteína de alta qualidade, fornecendo todos os aminoácidos essenciais necessários ao organismo. Além disso, é rica em micronutrientes fundamentais, como ferro, zinco, cobre, fósforo, potássio, magnésio e vitamina B12 (Vallikkadan *et al.*, 2023). De acordo com a definição da *World Cancer Research Fund International* (2022), a carne vermelha inclui os músculos de animais como bovinos, suínos, equinos, ovinos e caprinos, entre outros. A carne processada, por sua vez, refere-se à carne vermelha que passa por processos como cura, fermentação, defumação ou salga, com o objetivo de realçar o sabor ou melhorar a conservação. Exemplos comuns de carnes processadas incluem salsichas, salames e presunto.

Os análogos à carne, por sua vez, são definidos como produtos alimentícios que simulam as características estéticas, organolépticas e químicas dos produtos cárneos tradicionais (Kumar *et al.*, 2017). Esses alimentos são elaborados a partir de ingredientes de origem vegetal, que podem ser nutrientes isolados (como proteínas, carboidratos, lipídeos, vitaminas ou minerais) ou materiais integrais e complexos (como soja, ervilha, arroz, trigo, entre outros). Atualmente, a extrusão é uma das técnicas mais amplamente aplicadas e estudadas para alcançar a funcionalidade desejada nesses produtos (Cornet *et al.*, 2022). Durante esse processo, as matérias-primas hidratadas são submetidas a estresses térmicos e mecânicos capazes de induzir modificações estruturais nas proteínas, como desnaturação, desdobramento, reticulação e alinhamento, resultando na formação de uma estrutura fibrosa que imita as características dos tecidos musculares (Wittek *et al.*, 2021). Os análogos cárneos podem ser obtidos em diferentes tamanhos e formatos, incluindo folhas, hambúrgueres, discos, pedaços e tiras.

3.1.3.1 Mercado de análogos cárneos

A indústria de substitutos cárneos tem experimentado uma expansão significativa nos últimos anos. Em 2024, o mercado global foi avaliado em US$ 7,24 bilhões e espera-se que alcance US$ 16,13 bilhões até 2032, com uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 10,78% durante esse período. Dentre os principais produtos, os hambúrgueres à base de plantas lideram o mercado, seguidos pelas almôndegas e carne moída vegetal. Em termos regionais, a Europa dominou com 42,27% de participação no mercado global, seguida pela América do Norte, Ásia-Pacífico, América Latina, Oriente Médio e África. No futuro, espera-se que a Ásia

seja a principal impulsionadora da expansão do mercado de análogos cárneos devido ao crescimento populacional na região (Fortune Business Insights, 2024).

No contexto latino-americano, o Brasil se destaca como o protagonista do mercado, seguido pelo México, Chile e Argentina (Bini, 2023). No país, o segmento ganhou visibilidade a partir do lançamento do hambúrguer vegetal "Futuro Burger", em 2019, pela startup Fazenda Futuro, que rapidamente se consolidou como líder no mercado nacional (GFI Brasil, 2022b). A crescente demanda e a evolução do mercado rapidamente atraíram grandes corporações do segmento de proteínas, como BRF, JBS e Marfrig. A Marfrig, uma das maiores empresas de carne bovina do mundo, iniciou seus investimentos em proteínas vegetais em 2019. Posteriormente, firmou uma parceria com a ADM, uma das maiores processadoras de produtos agrícolas do mundo, criando a marca *PlantPlus Foods*. Em 2021, a empresa lançou sua primeira linha de produtos 100% vegetais no varejo brasileiro (CNA, 2025).

Atualmente, o mercado brasileiro de produtos à base de plantas conta com cerca de 130 empresas, que exportam para mais de 25 países. Entre as principais empresas dedicadas ao setor *plant-based* e que atuam no mercado nacional, destacam-se a Fazenda Futuro, Urban Farmcy, NotCo, The New Foods, Plan Plus Foods, D+ Vegan Food, Goshen, Vegabom, Veggy Deli, Veggie Roots, Mr. Veggy, Tensei, Gerônimo Foods, Sora, Soja Mania, Meta Foods e Hollu. Além disso, companhias consolidadas no setor de alimentos cárneos também têm investido no desenvolvimento de linhas exclusivas de alimentos à base de plantas. Como exemplos, tem-se a linha "Incrível" desenvolvida pela Seara, e a linha "Veg&Tal" desenvolvida pela Sadia. Entre as opções de produtos, os hambúrgueres à base de plantas destacam-se como a categoria com maior diversidade e demanda (**Figura 1**).

Figura 1 – Hambúrgueres à base de plantas disponíveis do mercado brasileiro.



Fonte: Elaborado pela autora, 2026 (imagens disponíveis no google).

A **Tabela 1** apresenta exemplos de hambúrgueres *plant-based* disponíveis no Brasil, evidenciando a diversidade de formulações, ingredientes e perfis nutricionais adotados pelas diferentes marcas. Observa-se que a formulação desses produtos é bastante diversificada, com diferentes fontes proteicas, como soja, ervilha e grão-de-bico, além de alternativas mais recentes, como proteínas de lentilha e arroz. Esses ingredientes são combinados com óleos, amidos e aditivos com o objetivo de conferir textura e sabor semelhantes aos do hambúrguer de origem animal. Embora as formulações variem entre as marcas, os hambúrgueres *plant-based* são desenvolvidos para proporcionar uma experiência sensorial próxima à da carne, incorporando corantes naturais e especiarias para reproduzir características visuais e sensoriais típicas desses produtos. Dessa forma, configuram-se como uma alternativa atrativa tanto para consumidores veganos quanto para aqueles que buscam reduzir o consumo de carne. Do ponto de vista nutricional, esses produtos geralmente apresentam elevado teor de proteínas de origem vegetal, além de quantidades consideráveis de gorduras (incluindo gorduras saturadas), seguidas por teores intermediários de carboidratos e fibras.

Tabela 1 – Exemplos de hambúrgueres à base de plantas disponíveis no Brasil.

Empresa	**Produto**	**Ingredientes**	**Informações nutricionais do rótulo (por 100g)**
Fazenda Futuro	Futuro Burger	Água, proteína texturizada de soja, proteína isolada de soja, proteína de ervilha, farinha de grão de bico, gordura de coco, óleo de canola, aroma natural, metilcelulose, sal, beterraba em pó.	Proteínas – 11g Carboidratos – 6,3g Gorduras totais – 9,4g Gorduras sat. – 7,4g Fibras – 4,5g
Urban Farmcy	Farmcy Burguer	Cogumelo portobello, proteína de soja, cebola, arroz vermelho, feijão, beterraba, amêndoa, óleo de coco sem sabor, água, coco, óleo de girassol, alho, castanha de caju, sal marinho, fibra de psyllium, páprica defumada, pimenta preta, extrato de levedura, tomilho espessante natural goma guarda e emulsificante natural lecitina de soja.	Proteínas – 13g Carboidratos – 13g Gorduras totais – 14g Gorduras sat. – 4g Fibras – 5,8g
NotCo	Not Burger	Água, proteína de ervilha, óleo de coco, óleo de girassol, fibra de bambu, cacau em pó, proteína de arroz, sal, suco de beterraba em pó, chia desengordurada em pó, espinafre em pó, minerais (Ferro e Zinco), vitamina A, vitamina B9, vitamina B12, metilcelulose e aromas naturais	Proteínas – 14g Carboidratos – 2,2g Gorduras totais – 16g Gorduras sat. – 1,8g Fibras – 5,8g
Seara	Incrível Burger	Água, proteína de soja, óleo vegetal, gordura vegetal, glúten, proteína de ervilha, sal, extrato de malte, cebola, alho, ferro, vitamina B12, metilcelulose, aromatizantes, corante vermelho de beterraba.	Proteínas – 12g Carboidratos – 4g Gorduras totais – 13g Gorduras sat. – 4,6g Fibras – 4,3g
Sadia	Veg Burger Veg & Tal	Água, proteína de soja, óleo de palma, cebola, proteína de ervilha, óleo de girassol, sal, fibra de milho, suco concentrado de beterraba, extrato de malte, açúcar, alho, pimenta preta, espessante metilcelulose, aromatizantes: aromas naturais e aromas idênticos aos naturais.	Proteínas – 9,6g Carboidratos – 4,4g Gorduras totais – 9,6g Gorduras sat. – 3,9g Fibras – 0,8g

Fonte: Elaborado pela autora, 2026.

Diante dessa ampla oferta e variedade de produtos, especialmente na categoria de hambúrgueres à base de plantas, torna-se relevante compreender os princípios tecnológicos que orientam sua formulação, bem como os ingredientes empregados para reproduzir as características sensoriais, estruturais e nutricionais dos hambúrgueres tradicionais.

3.1.3.2 Formulação de hambúrgueres à base de plantas

Do ponto de vista regulatório, o termo "hambúrguer" é definido pela Portaria nº 724 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (2022) como um produto cárneo industrializado, obtido a partir da carne moída de animais de açougue, podendo incluir ou não tecido adiposo e outros ingredientes. O produto é moldado na forma de disco ou oval e submetido a um processo tecnológico adequado. Os ingredientes e aditivos alimentares permitidos pela legislação incluem água, condimentos, aromas, especiarias, gordura animal e vegetal, maltodextrina, mono e dissacarídeos, proteínas de origem vegetal e animal, e sal. Dessa forma, apesar de não haver uma legislação específica que regulamente os produtos *plant-based*, entende-se por "hambúrgueres à base de plantas" os produtos análogos que reproduzem visualmente as características dos hambúrgueres tradicionais.

Os atributos de qualidade dos hambúrgueres *plant-based*, como consistência, sabor e cor, dependem diretamente da escolha dos ingredientes. Esses produtos contêm, em média, de 50 a 80% de água, de 4 a 20% de proteínas não texturizadas, de 10 a 25% de proteínas vegetais texturizadas, de 3 a 10% de aditivos para realçar o sabor, de 0 a 15% de gorduras, de 0 a 5% de corantes e de 1 a 15% de agentes de ligação (Ahmad *et al.*, 2022). A combinação desses componentes confere aos análogos cárneos as características sensoriais e de textura desejadas. O elevado teor de água não apenas contribui para a redução de custos, mas também promove a suculência, atuando como um amaciador e facilitando a emulsificação durante o processamento (Kyriakopoulou; Keppler; van der Goot, 2021).

As proteínas vegetais são um dos componentes mais importantes nos hambúrgueres à base de plantas, devido aos seus atributos funcionais, como solubilidade, emulsificação, viscosidade, gelificação, texturização e capacidade de espessamento, além de serem uma fonte importante de aminoácidos essenciais (Meade; Reid; Gerrard, 2005). Essas proteínas podem ser obtidas de diversas fontes, como leguminosas (soja, feijão e ervilha), oleaginosas (girassol, gergelim e linhaça), folhas verdes (alfafa e rúcula), nozes (noz, amêndoa e castanha de caju), cereais (milho, trigo e arroz), pseudo-cereais (chia, amaranto e quinoa) e outras fontes (Caporgno *et al.*, 2020; Issa Khan *et al.*, 2011; Ming-Min; Ismail-Fitry, 2023; Stephan *et al.*, 2018; Twarogowska; Van Droogenbroeck; Fraeye, 2022). A funcionalidade das proteínas

depende de sua origem biológica, bem como das alterações sofridas durante os processos de isolamento e purificação (Friedman, 1996).

Historicamente, a proteína de soja tem sido a mais utilizada na formulação de produtos análogos à carne, em função de sua ampla disponibilidade, baixo custo, versatilidade e consistência de propriedades, além de apresentar elevado valor nutricional, com um perfil de aminoácidos essenciais relativamente completo (Bakhsh *et al.*, 2021). Adicionalmente, a proteína texturizada de soja oferece vantagens tecnológicas relevantes, sendo capaz de mimetizar estruturas fibrosas semelhantes às de carnes de aves, como o frango (Chiang *et al.*, 2019). Entretanto, preocupações relacionadas a alergênicos, sustentabilidade e aceitação do consumidor têm impulsionado a diversificação das fontes proteicas vegetais. Nesse contexto, proteínas provenientes de leguminosas, como ervilha e grão-de-bico, destacam-se por apresentarem boas capacidades de emulsificação, estabilização de espuma e formação de gel, tornando-se alternativas promissoras para a substituição parcial ou total da proteína de soja em substitutos cárneos (Aydemir; Yemenicioğlu, 2013; Boye *et al.*, 2010).

Além das proteínas, os ingredientes lipídicos (gorduras/óleos) são frequentemente empregados na formulação dos hambúrgueres à base de plantas, como uma fonte de ácidos graxos insaturados. Dentre os ingredientes lipídicos utilizados em produtos modernos estão os óleos de canola, de coco, de girassol, de milho e de gergelim, além de manteiga de cacau e diversas outras fontes de óleos vegetais (Bohrer, 2019). Gorduras e óleos desempenham um papel fundamental, contribuindo para a suculência, maciez, textura e sabor. Além disso, durante a extrusão de carnes vegetais, gorduras e óleos atuam como lubrificantes, reduzindo o atrito entre a máquina e o material (Wang, Yi *et al.*, 2023).

A carne *in natura* geralmente não contém carboidratos, exceto quando ingredientes ricos nesse macronutriente são adicionados durante o processamento, o que é comum em produtos cárneos processados. Em contraste, os análogos cárneos sempre contêm carboidratos, provenientes principalmente de amidos, farinhas e gomas, utilizados para melhorar textura, estabilidade e estrutura. Amidos como os de milho e trigo são amplamente empregados devido à sua elevada capacidade de absorção de água, contribuindo para a coesão da matriz e para a estabilidade do processo de extrusão (Kyriakopoulou; Keppler; van der Goot, 2021).

Corantes também desempenham papel essencial na formulação dos análogos cárneos, uma vez que o apelo visual influencia fortemente a aceitação do consumidor (Ishaq *et al.*, 2022). Pigmentos naturais e termicamente estáveis são preferencialmente utilizados para reproduzir colorações características de produtos cárneos. A coloração da carne vermelha, por exemplo, é obtida pela adição de legemoglobina, extratos de urucum, suco de beterraba ou licopeno

(Schreuders *et al.*, 2019). A aceitação sensorial desses produtos também depende fortemente do sabor e do aroma, uma vez que proteínas vegetais apresentam *off-flavors* inerentes, o que demanda a aplicação de pré-tratamentos e o uso de ingredientes flavorizantes, como especiarias, ervas, extrato de levedura salgada, páprica e açúcar (He *et al.*, 2021). Adicionalmente, compostos como açúcares redutores, aminoácidos, vitaminas, nucleotídeos e complexos de ferro têm sido empregados para simular o sabor característico da carne (Bakhsh *et al.*, 2021).

3.1.3.3 Propriedades e atributos de qualidade

O padrão de qualidade de produtos cárneos e de seus análogos está intimamente associado a um conjunto de propriedades físicas, térmicas, mecânicas e sensoriais. Entre essas, as propriedades sensoriais desempenham papel central na avaliação de alimentos cozidos, influenciando de forma decisiva a percepção de qualidade pelo consumidor. Em análogos à carne, a aceitação depende da capacidade de reproduzir características sensoriais e físicas semelhantes às da carne convencional, incluindo textura fibrosa, suculência e aparência visual, de modo a proporcionar uma experiência de consumo comparável (Pathare; Roskilly, 2016). A seguir, serão apresentadas as principais propriedades físico-químicas empregadas na avaliação da qualidade de produtos cárneos e de seus análogos.

3.1.3.3.1 Perda de massa pela cocção e encolhimento

A perda de massa pela cocção resulta da combinação de líquidos e substâncias solúveis perdidas pelo alimento durante o processo de cozimento. Essa perda é um fator crítico na indústria da carne, estando intimamente relacionada com a suculência do alimento e com o rendimento tecnológico do processo de cocção. Do ponto de vista nutricional, a cocção resulta na redução de proteínas solúveis, vitaminas e outros nutrientes (Dall Aaslyng *et al.*, 2003). A perda de massa pela cocção é calculada como a diferença percentual de massa entre as amostras frescas e cozidas em relação à massa das amostras frescas. Esse processo normalmente começa a se manifestar em torno de 40 °C (Pathare; Roskilly, 2016).

As perdas de massa na carne cozida ocorrem porque a água pode ser evaporada devido ao aumento da temperatura e/ou à redução da pressão. Além disso, a água é retida pelas proteínas miofibrilares dentro do músculo. Em temperaturas entre 40 e 90 °C, as proteínas miofibrilares são desnaturadas e encolhem. Ademais, na faixa de 56–62 °C, o tecido conjuntivo perimisial é contraído, o que comprime os feixes de fibras musculares, levando à liberação da água e consequente perda de massa (den Hertog-Meischke; van Laack; Smulders, 1997). As discrepâncias na perda durante o cozimento afetam a maciez da carne e de seus análogos.

Durante o cozimento em temperaturas elevadas, a evaporação de água e a perda de massa podem resultar em alterações estruturais do alimento conhecidas como encolhimento (Gómez; Ibañez; Beriain, 2019).

O encolhimento é calculado pela diferença entre as dimensões do alimento cru e cozido, podendo ser utilizadas as dimensões lineares, como diâmetro e espessura, a área ou volume. Recentemente, essa propriedade tem sido mensurada por meio do registro de imagens coloridas de amostras de carne cruas e cozidas (Póltorak *et al.*, 2015; Wyrwisz *et al.*, 2012). No entanto, a estimativa pode ser feita de maneira manual, utilizando diferentes equipamentos de medição, como um paquímetro, por exemplo. O encolhimento é frequentemente percebido pelos consumidores como um indicativo de baixa qualidade da carne. De acordo com Tornberg (2005), o encolhimento da carne é proporcional ao aumento da temperatura, resultando em perdas significativas de água. Dessa forma, para minimizar os efeitos do encolhimento, podem ser aplicados tratamentos térmicos a baixas temperaturas por períodos prolongados.

3.1.3.3.2 pH, umidade e capacidade de retenção de água

O pH é uma das propriedades físicas mais importantes que influenciam as características de qualidade da carne cozida. Esse parâmetro é afetado por diversos fatores, destacando-se o manejo do animal antes do abate, o teor de glicogênio muscular, seu consumo e o consequente acúmulo de ácido lático na etapa pré-abate (Kadim *et al*., 2006). Em carnes vermelhas, os valores de pH geralmente variam entre 5,5 e 6,6, sendo observados valores mais elevados em animais jovens e valores relativamente mais baixos em animais adultos, em função do menor teor de glicogênio disponível (García-Segovia; Andrés-Bello; Martínez-Monzó, 2007). De modo geral, o pH de análogos à base de plantas tende a ser maior que o pH da carne bovina, devido ao uso de ingredientes alcalinos, como proteína de soja e ervilha, de modo que o pH final desses produtos pode variar em função da formulação adotada (Bakhsh *et al.*, 2022).

Outro componente significativo na carne e seus análogos é a água. A suculência, percebida durante a mastigação, é influenciada fortemente pelo teor de umidade, que desempenha um papel essencial na liberação de compostos de sabor, transmitindo agradabilidade ao consumidor. Carnes com menor teor de umidade tendem a ser menos suculentas, resultando em uma sensação de aspereza nas fibras musculares e transmitindo uma impressão de dureza, independentemente de sua maciez real (Alfaifi *et al.*, 2023). Ao longo do processo de cocção, ocorre a transferência simultânea de calor e de massa, em decorrência das diferenças de temperatura e de teor de umidade entre o alimento e o ar circundante, resultando

na evaporação da água presente na superfície do produto. Como consequência, a umidade do alimento após a cocção é inferior à do produto fresco (Chang; Chen; Wang, 1998).

A capacidade de retenção de água (CRA) refere-se à habilidade da carne de manter água em sua matriz durante a aplicação de forças externas, como corte, aquecimento e prensagem (Pearce *et al.*, 2011). Em músculos magros, a maior parte da água está presente na forma de água livre, que desempenha papel central no processamento e na determinação da CRA, enquanto uma fração menor encontra-se quimicamente ligada às proteínas musculares. Após o abate, as alterações na estrutura bioquímica do músculo diminuem sua capacidade de retenção de água (Zhang; Mittal; Barbut, 1995). A CRA também tem sido muito avaliada na pesquisa de análogos à carne, visto que essa propriedade varia consideravelmente entre as diferentes fontes de proteínas vegetais e é fortemente afetada pelo processamento (Cornet *et al.*, 2021; Gómez; Ibañez; Beriain, 2019; Mattice; Marangoni, 2020; Wi *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2022).

3.1.3.3.3 Propriedades ópticas

A cor da carne é uma propriedade física essencial que influencia a percepção de qualidade e atratividade do produto pelo consumidor, sendo amplamente utilizada como indicador de frescor e do grau de cozimento. Essa característica pode ser afetada por diversos fatores, incluindo raça, idade e dieta do animal, tipo de fibras musculares, concentração de mioglobina, teor de gordura e método de cocção empregado (Mancini & Hunt, 2005). Para mimetizar as propriedades visuais da carne, diferentes corantes alimentícios têm sido incorporados a produtos análogos à base de plantas, como extratos de beterraba e cenoura, legemoglobina de soja e licopeno (Bohrer, 2019). Dessa forma, a cor também assume papel determinante na aceitação visual e na percepção de qualidade dos produtos *plant-based*.

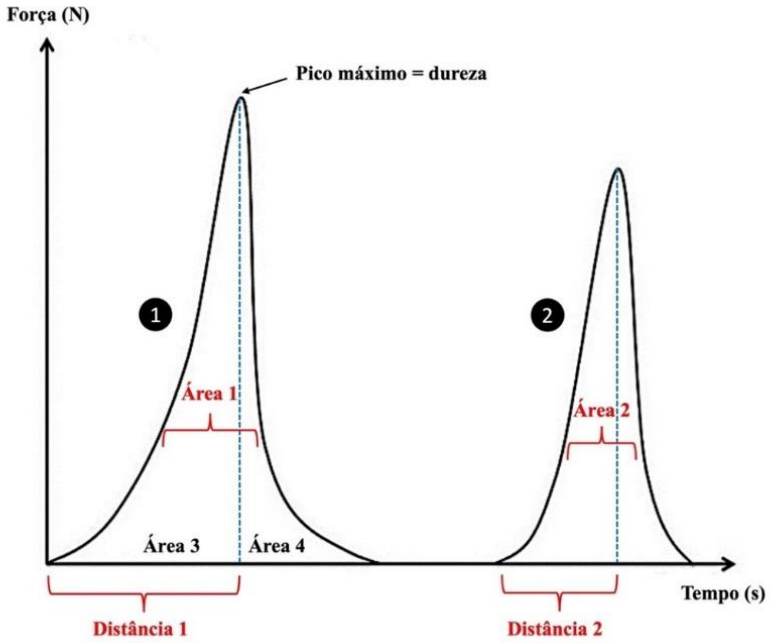
As escalas de cor HunterLab L^*, a^*, b^* e o sistema CIE modificado, chamado CIELAB, são amplamente utilizados para a medição da cor em alimentos. O parâmetro a^* assume valores positivos para tonalidades avermelhadas e negativos para esverdeadas, enquanto b^* é positivo para cores amareladas e negativo para cores azuladas. Já o L^* representa a luminosidade, variando de 0 (preto) a 100 (branco). Para a medição, são utilizados colorímetros instrumentais, que iluminam a amostra com um feixe de luz padronizado. A luz refletida pela superfície é captada por fotocélulas e convertida em coordenadas no espaço de cor (Pathare; Opara; Al-Said, 2013). Os parâmetros de cor estão associados a determinados atributos de qualidade, como a presença de compostos fundamentais na carne, o pH e a sua capacidade de retenção de água (Pathare; Roskilly, 2016).

3.1.3.3.4 Propriedades de textura

As propriedades de textura correspondem a um conjunto de características perceptíveis pela boca e pela visão e constituem um atributo fundamental na caracterização de produtos cárneos. A textura única da carne resulta da complexa organização do tecido muscular, composta por sarcômeros repetidos que formam as fibras musculares, envoltas por tecido conjuntivo, membranas celulares e, dependendo do tipo de carne, por tecido adiposo intramuscular (Pietsch *et al.*, 2019). Chefs e cientistas de alimentos vêm buscando imitar a estrutura única da carne há séculos, mas avanços notáveis foram alcançados recentemente graças à introdução de tecnologias inovadoras, como extrusão e cisalhamento, além do uso de novas matérias-primas. O grande desafio consiste em recriar a estrutura fibrosa característica da carne a partir de proteínas globulares e em estruturar a fase lipídica utilizando óleos e gorduras de origem vegetal (Dekkers; Boom; van der Goot, 2018).

A análise de perfil de textura (TPA) é um dos testes mecânicos mais utilizados para caracterizar a textura dos produtos cárneos e de seus análogos. O teste TPA consiste em prensar o alimento duas vezes em um movimento de vaivém, simulando a movimentação da mandíbula durante a mastigação (Nishinari; Fang; Rosenthal, 2019). A partir da curva típica gerada no ensaio (**Figura 2**), são obtidos parâmetros como dureza, coesividade, elasticidade, resiliência e mastigabilidade. A dureza corresponde ao pico de força máxima registrado durante o primeiro ciclo de pressão (primeira mordida), refletindo a força necessária para causar uma deformação específica. A coesividade expressa a resistência do produto à segunda deformação em relação à primeira, sendo calculada pela razão entre a área 2 e a área 1. A elasticidade é definida pela distância que a amostra recupera entre o final da primeira mordida e o início da segunda, determinada pela razão entre a distância 2 e a distância 1. A resiliência indica a habilidade do produto de retornar à sua altura original, sendo obtida pela razão entre a área 4 e a área 3. Por fim, a mastigabilidade descreve o comportamento do alimento durante a mastigação, combinando resistência inicial, aderência e capacidade de retornar à forma original, sendo calculada pelo produto entre dureza, coesividade e elasticidade (Johnson, 2015).

Figura 2 – Curva típica do perfil de textura.



Fonte: Elaborado pela autora, 2026.

3.1.3.4 Tecnologias de cocção

A cocção de produtos cárneos e de seus análogos tem como objetivos assegurar a segurança microbiológica e a qualidade do produto, além de influenciar suas propriedades nutricionais e estruturais. As características finais do alimento dependem do tipo e da intensidade do tratamento térmico aplicado, uma vez que a desnaturação das proteínas durante a cocção promove alterações na estrutura, textura, cor e sabor (Pathare; Roskilly, 2016). Em hambúrgueres, diferentes métodos de preparo podem ser empregados, como frigideira, forno, *grill*, *air fryer* e micro-ondas, os quais diferem quanto à temperatura superficial, ao perfil térmico interno e ao mecanismo de transferência de calor (Bejerholm; Tørngren; Aaslyng, 2014). A seguir, serão apresentadas as tecnologias de cocção utilizadas no presente trabalho.

3.1.3.4.1 Grill elétrico

O aquecimento por contato é amplamente utilizado na cocção de hambúrgueres devido à sua capacidade de proporcionar uma aparência atraente e uma textura ideal. Os métodos de aquecimento por contato incluem o cozimento de apenas um lado ou de ambos os lados simultaneamente. Esse processo pode ser realizado em diversos equipamentos, como frigideiras, *grills* elétricos, chapas aquecidas e grelhas a gás (Adhiwirawan *et al*., 2023). O funcionamento de um *grill* elétrico baseia-se principalmente na transferência de calor por

condução térmica. O equipamento é composto por placas metálicas, geralmente antiaderentes, aquecidas por resistências elétricas embutidas, que distribuem o calor de forma uniforme. A condução ocorre quando os alimentos entram em contato direto com essas placas quentes, transferindo energia térmica para as superfícies dos alimentos, o que resulta em aquecimento e cozimento (Pan; Singh, 2002).

Nos modelos com chapas onduladas, as áreas em contato direto com as superfícies elevadas aquecem-se de maneira mais intensa e rápida, resultando na formação das características marcas de grelha devido à reação de Maillard. Esse conjunto de reações químicas, também conhecido como escurecimento não enzimático, desempenha papel central na definição do sabor, do aroma e da aparência final do produto. A reação de Maillard ocorre entre grupos carbonila de açúcares redutores e grupos amino de aminoácidos, sendo desencadeada pelo calor. Como resultado, são formados compostos responsáveis por sabores complexos, aromas intensos e coloração marrom-dourada, características altamente desejáveis em alimentos grelhados (Kerth; Miller, 2015). A reação de Maillard é mais eficiente entre 140 e 165 °C; entretanto, quando essa faixa é ultrapassada, pode ocorrer a formação de compostos potencialmente carcinogênicos, como a acrilamida (Tareke *et al.*, 2002).

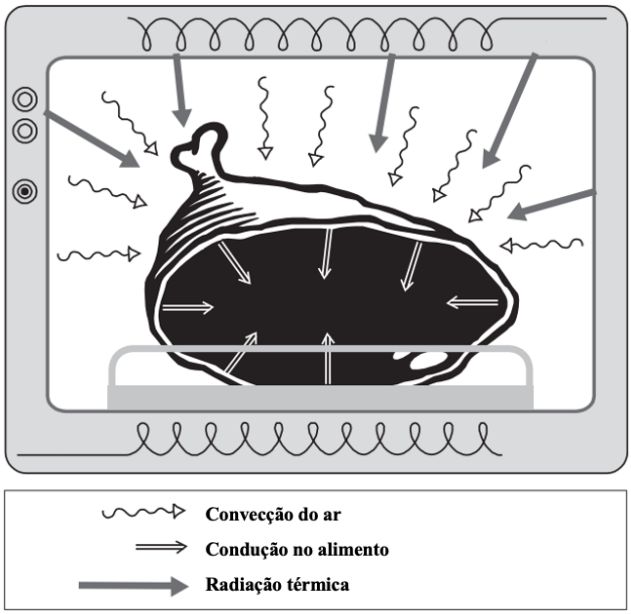
O sabor, aroma e a textura do alimento grelhado também dependem fortemente do tempo e da temperatura de cocção, bem como do teor de umidade restante após o cozimento (Wall *et al.*, 2019). Durante o processo de cocção, a água contida nos ingredientes difunde-se para a superfície externa e é transferida para o ar circundante. O vapor gerado ajuda a manter o interior do alimento úmido, enquanto as superfícies externas são douradas. Outras alterações físicas e químicas ocorrem nos alimentos durante o grelhamento, como mudanças dimensionais, derretimento de gelo e gordura, evaporação e drenagem de água com solutos e pigmentos, expulsão de gordura e desnaturação de proteínas. Essas mudanças, juntamente com a temperatura da superfície de aquecimento, podem afetar significativamente a difusividade térmica do alimento, resultando em produtos super ou subcozidos (Pan; Singh, 2002).

3.1.3.4.2 Forno elétrico

O método de cocção em forno elétrico é amplamente reconhecido como um dos métodos tradicionais para cozinhar carne, alcançando temperaturas internas de até 250 °C. Durante esse processo, a energia elétrica é convertida em energia térmica (Burlon *et al.*, 2017). Um forno elétrico típico é composto por uma fonte de calor, interruptores, sensores para controle de temperatura e tempo, além de uma grelha ou bandeja para acomodar os alimentos. A fonte consiste em resistências localizadas nas partes superior e inferior do equipamento. Dessa forma,

conforme observado na **Figura 3**, o alimento é aquecido principalmente por radiação da fonte quente e, parcialmente, pela convecção do ar aquecido. O calor radiante é então absorvido em uma camada superficial do alimento sólido, cujo interior aquece lentamente por condução (Akinyemi, 2021). Diversos fatores influenciam o processo de cocção em forno, sendo os mais importante a temperatura, o tempo de cocção, a velocidade do ar, os componentes do alimento e o percentual de vapor (Pathare; Roskilly, 2016).

Figura 3 – Transferência de calor em um alimento cozido em forno.



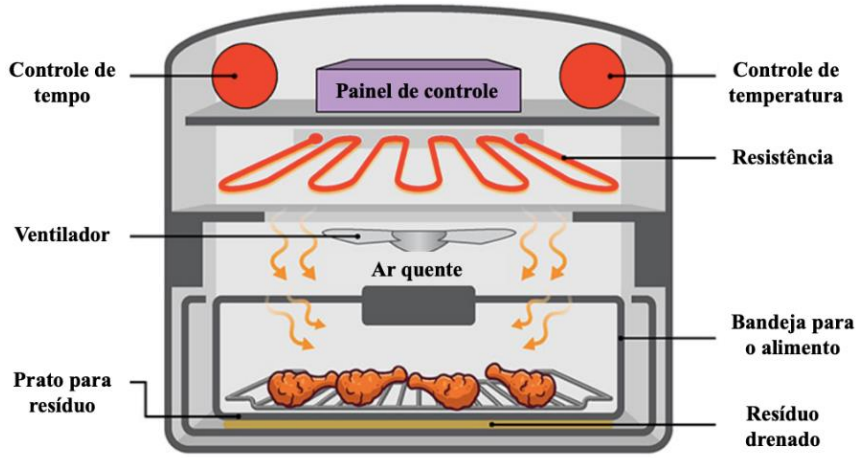
Fonte: Adaptado de Bejerholm *et al.* (2014).

O impacto da cocção em forno elétrico tem sido amplamente avaliado nas propriedades da carne vermelha. Em um estudo sobre a aplicação de diferentes temperaturas de cocção na carne bovina, Palka (2003) constatou que o assamento até uma temperatura interna de 50 °C resultou em alterações leves na estrutura da carne. No entanto, temperaturas mais altas (60–90 °C) provocaram mudanças significativas nas miofibrilas e no tecido conjuntivo intramuscular. Adicionalmente, foram identificados danos às proteínas em temperaturas superiores a 80 °C, o que aumentou a rigidez das fibras proteicas e reduziu a maciez da carne. Hobani *et al.* (2023) observaram que o pH, a perda de líquidos, a densidade relativa e os componentes de cor da carne de camelo foram significativamente impactados pelo método de cocção em forno elétrico. Os autores destacaram que este método promoveu perda de água, de minerais e de aminoácidos livres das fibras proteicas, efeito atribuído à baixa condutividade térmica do ar seco e quente utilizado no processo.

3.1.3.4.3 Air fryer

A fritura a ar quente (*air frying*) é uma técnica de cocção em que o ar quente é utilizado como meio de transferência de calor, em vez do óleo comestível (Cao *et al.*, 2020; Verma *et al.*, 2023). O princípio de funcionamento, ilustrado na **Figura 4**, baseia-se no aquecimento do ar por uma resistência elétrica e em sua circulação forçada em alta velocidade dentro de uma câmara fechada, promovendo aquecimento uniforme do alimento. Esse processo fornece energia térmica suficiente para cozinhar o produto e desidratar sua superfície, resultando na formação de uma crosta característica, semelhante à obtida na fritura convencional, porém sem imersão em óleo (Bhuiyan; Ngadi, 2024). A *air fryer* foi projetada para circular ar extremamente quente em alta velocidade, imitando o movimento e o fluxo das correntes de calor em uma panela de óleo fervente, de modo a deixar a parte externa dos alimentos crocante enquanto os cozinha internamente. Assim, a fritura a ar quente pode ser diferenciada da secagem a ar quente devido à diferença na forma como o ar flui dentro do equipamento (Téllez-Morales; Arce-Ortiz, 2024).

Figura 4 – Esquema representativo de uma *air fryer*.



Fonte: Adaptado de Air Fryer Master (2025).

O processo de cocção normalmente ocorre a temperaturas entre 150 e 200 °C, envolvendo uma combinação de transferência de calor e de massa, de maneira contrafluxo, o que pode levar à perda de água e a reações químicas na matriz do alimento. Pode-se hipotetizar que essas mudanças estão associadas ao desenvolvimento de atributos de qualidade nos produtos fritos a ar (Shaker, 2014). De acordo com Rahman *et al.* (2017), a fritura a ar quente envolve fenômenos como mudança de fase da água, formação e crescimento de bolhas de vapor na superfície do alimento, convecção natural e convecção forçada. No entanto, até o momento,

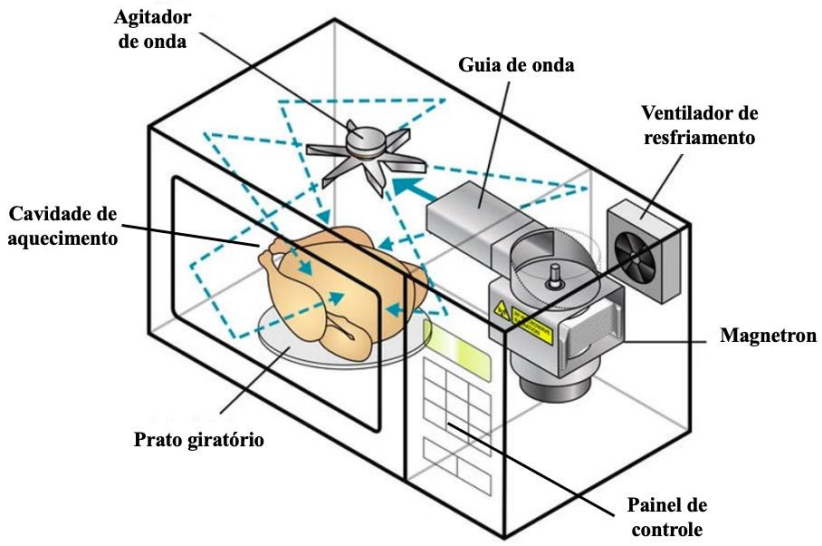
os mecanismos e a cinética da transferência de massa permanecem desconhecidos. Estudos referentes a cinética da transferência de massa e aos atributos de qualidade relacionados ao processo de cocção na *air fryer* são de suma importância para otimizar a produção de alimentos fritos com baixo teor de gordura (Verma *et al.*, 2023).

A fritura a ar vem se destacando como uma técnica emergente de preparo de alimentos, sendo aplicada para cocção de diferentes produtos, como batata (Gouyo *et al.*, 2020; Shaker, 2014; Tian *et al.*, 2017; Verma *et al.*, 2023), falafel (Fikry *et al.*, 2021), nuggets de frango (Cao *et al.*, 2020; Castro-López *et al*., 2023), surimi (Yu *et al.*, 2020), donuts (Ghaitaranpour *et al.*, 2018, 2020), aperitivos de peixe (Joshy *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2022), porco (Li *et al.*, 2024) e hambúrgueres de base vegetal e animal (Vu; Zhou; McClements, 2022). Os resultados indicam que o teor de óleo dos produtos preparados na fritadeira a ar pode ser reduzido em cerca de 70-90% em comparação com os métodos tradicionais de fritura. Além disso, estudo recente realizado por Verma *et al.* (2023) revelou que a formação de compostos carcinogênicos prejudiciais à saúde, como acrilamida e hidroximetilfurfural, é significativamente menor em batatas fritas a ar em comparação com os produtos fritos em óleo.

3.1.3.4.4 Micro-ondas

O cozimento em micro-ondas é um método muito popular, especialmente para descongelar e reaquecer alimentos pré-cozidos. As micro-ondas são uma forma de ondas eletromagnéticas com frequências que variam de 300 MHz a 300 GHz. A maioria dos fornos de micro-ondas industriais opera em frequências de 915 ou 2450 MHz, enquanto os micro-ondas domésticos operam exclusivamente na frequência de 2450 MHz (Cooper, 2020). A **Figura 5** ilustra os componentes de um forno de micro-ondas doméstico. O forno é composto por uma cavidade cercada por paredes metálicas, com uma porta frontal, além de um transformador de tensão, que converte a baixa tensão de entrada (110–220 V) em uma alta tensão de saída (3000–4000 V). Um magnetron é responsável por gerar as micro-ondas, que são direcionadas para a cavidade através de um tubo guia de onda. Adicionalmente, o forno inclui um motor de ventilação para proteger o magnetron contra superaquecimento, um prato giratório para melhorar a distribuição de calor nos alimentos e um painel de controle para operação.

Figura 5 – Componentes de um forno micro-ondas.



Fonte: Adaptado de Cooper (2020).

Diferentemente do aquecimento convencional, no qual o calor é transferido gradualmente das superfícies externas para o interior, o aquecimento por micro-ondas ocorre pela geração volumétrica de energia térmica dentro do alimento, devido a mecanismos dipolares e iônicos. Quando um alimento é colocado em um campo de micro-ondas, moléculas polares presentes no alimento, como a água, tentam constantemente alinhar suas extremidades polares com a direção do campo elétrico oscilante. Esse alinhamento resulta em intensa fricção e colisão, convertendo as ondas eletromagnéticas em energia térmica e aumentando rapidamente a temperatura (Menéndez *et al.*, 2010). A eficiência do alimento em converter energia de micro-ondas em calor pode ser explicada por suas propriedades dielétricas, que representam a capacidade de armazenar e dissipar energia eletrostática no campo elétrico. Essas propriedades são normalmente expressas em termos de constante dielétrica e perda dielétrica (Franco *et al.*, 2015). Uma das características do aquecimento por micro-ondas é a formação de zonas de aquecimento desuniformes no alimento, com pontos quentes concentrados em regiões de maior intensidade do campo eletromagnético (C. Kumar *et al*., 2016).

O tempo de cocção por micro-ondas depende da taxa de cozimento, ou seja, da potência de saída do equipamento. Além disso, diversos fatores relacionados ao alimento influenciam o processo de cocção, incluindo suas propriedades físicas (formato e composição), térmicas e dielétricas. Um componente significativo é o teor de umidade do alimento, já que a água, por ser uma molécula polar, desempenha um papel importante na geração de energia térmica. Da mesma forma, o sal, como fonte de íons dissolvidos, contribui para o aquecimento interno do

produto (Guo *et al.*, 2017). Uma vantagem significativa do uso de micro-ondas em comparação aos métodos de cocção convencionais é a geração rápida de energia térmica dentro do material. Geralmente, o tempo total de preparo é cerca de um terço em comparação ao cozimento convencional em forno.

Uma desvantagem associada ao uso do micro-ondas é que a superfície do alimento não adquire o dourado característico, uma vez que não ocorrem reações de Maillard devido à temperatura relativamente baixa da superfície do produto e do ar circundante. Outras limitações englobam o aquecimento desigual, a ausência de formação de crosta, além de alterações de textura indesejáveis. No entanto, essas limitações podem ser mitigadas ao combinar o cozimento em micro-ondas com outros métodos, como aquecimento por convecção, indução ou radiação (Alfaifi *et al.*, 2023). Em comparação com métodos de cocção convencionais, o uso do micro-ondas frequentemente resulta em maior perda de líquidos e redução da maciez, embora isso dependa da configuração utilizada, como a potência de saída (Bejerholm *et al*., 2014).

3.1.3.4.5 Impacto de tecnologias de cocção em compostos bioativos

Como discutido anteriormente, o processo de cocção exerce grande influência nas propriedades físico-químicas dos alimentos cárneos e seus análogos. Além disso, a exposição a altas temperaturas também pode impactar significativamente o perfil de compostos desses alimentos, especialmente os seus compostos bioativos. Os compostos bioativos são substâncias que interagem com o organismo humano, influenciando processos biológicos e proporcionando efeitos benéficos à saúde. Esses compostos podem atuar de diversas formas, como antioxidantes, anti-inflamatórios, anticancerígenos, ou ainda como reguladores de colesterol e pressão arterial, entre outros. Compostos fenólicos (como flavonoides e ácidos hidroxicinâmicos), carotenoides, terpenos, alcaloides e fitoesteróis são exemplos de compostos bioativos (Xavier *et al.*, 2024). Até o momento não existem estudos que avaliaram o efeito da cocção nos compostos bioativos de análogos à base de plantas, entretanto, diferentes estudos têm investigado o impacto dos métodos de cocção em alimentos vegetais *in natura* ou minimamente processados (Ismail; Marjan; Foong, 2004; Mehmood; Zeb, 2020; Mengistu; Beri, 2024; Sruthi *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2019).

Compostos fenólicos são conhecidos por serem afetados pelo processamento de alimentos, especialmente pelos tratamentos térmicos. Tian *et al.* (2016) verificaram redução significativa no conteúdo total de fenólicos da batata-roxa após cocção utilizando diferentes

métodos, como fervura, vaporização, cocção em micro-ondas, assamento e fritura. Esse resultado foi atribuído à lixiviação de fenóis solúveis para a água de cocção e às mudanças estruturais dos fenólicos que ocorrem durante o processamento térmico (Kita *et al.*, 2013). Além disso, os fenólicos podem interagir com compostos intermediários da reação de Maillard, levando à formação de novos compostos (Perla; Holm; Jayanty, 2012). Métodos de cocção como vaporização e micro-ondas são considerados mais eficientes na preservação de compostos fenólicos, uma vez que evitam o contato direto da amostra com a água, reduzindo a lixiviação de compostos hidrossolúveis. Além disso, esses métodos favorecem a inativação de enzimas oxidativas, como polifenoloxidase e peroxidase, que poderiam promover a degradação desses compostos (Vallejo; Tomás-Barberán; Garcia-Viguera, 2002; Wachtel-Galor; Wong; Benzie, 2008). De maneira geral, estudos indicam que os processos de cocção tendem a reduzir o conteúdo total de fenólicos nos alimentos (Gonçalves *et al.*, 2010; D. Zhang & Hamauzu, 2004).

Os flavonoides são compostos fenólicos que compartilham uma estrutura básica composta por 15 átomos de carbono organizados em três anéis: dois anéis benzênicos (C6) e um anel pirano (C3), formando uma estrutura em C6-C3-C6 (Gao *et al.*, 2022). Em um estudo referente à cocção de agrião, Giallourou *et al.* (2016) verificaram que o conteúdo de flavonoides foi significativamente reduzido após a cocção. A fervura por 10 min foi o método mais prejudicial, enquanto a maior retenção desses compostos foi observada no cozimento em micro-ondas, seguido pelo cozimento a vapor. De forma similar, Barakat & Rohn (2014) verificaram que todos os métodos de cocção testados causaram perda significativa de flavonoides em barras à base de brócolis. A maior redução ocorreu durante a fritura e no processo combinado de fritura seguida do uso de micro-ondas. Por outro lado, as amostras cozidas no vapor e assadas em forno apresentaram os maiores teores desses compostos. Curiosamente, alguns estudos indicam um aumento expressivo no conteúdo total de flavonoides após a fervura, variando de 9,5 a 411%. Esse fenômeno foi associado à liberação de compostos anteriormente ligados às estruturas celulares, tornando-os disponíveis para análise (Singh *et al.*, 2015).

As antocianinas representam uma das classes mais importantes de flavonoides e são reconhecidas por sua elevada instabilidade, sendo facilmente degradadas por fatores ambientais como temperatura, pH, oxigênio e luz. Diversos estudos demonstram que o processamento térmico pode afetar significativamente o teor desses compostos nos alimentos. Brown *et al.* (2008) observaram que diferentes métodos de cocção influenciaram de forma significativa o conteúdo de antocianinas em batatas de diversos genótipos. Entre os processos avaliados, a fervura e o cozimento no micro-ondas preservaram melhor esses compostos em comparação com o assamento e a fritura. De forma semelhante, Tian *et al.* (2016) identificaram maiores

perdas de antocianinas durante a fritura em wok (83,15%), fritura convencional (57,06%) e fritura a ar (44,53%), em comparação com métodos como cocção em forno (25,67%), fervura (14,66%), micro-ondas (14,01%) e vapor (7,45%). Embora a maioria dos estudos aponte para a redução do teor de antocianinas após o processamento térmico, resultados contrastantes também têm sido relatados. De Sá & Rodriguez-Amaya (2003), por exemplo, observaram aumento na concentração total desses compostos em batatas de polpa colorida após a cocção.

De maneira geral, estudos reportam efeitos distintos do cozimento sobre o conteúdo de compostos bioativos em vegetais, com relatos tanto de reduções quanto de impactos positivos, dependendo das condições de preparo. Essas variações são atribuídas, principalmente, ao método de cocção, ao tempo de exposição ao calor e às características do vegetal utilizado. Evidências da literatura indicam que o cozimento no vapor e no micro-ondas favorecem maior retenção de compostos bioativos quando comparado a métodos como fervura e fritura. Em particular, a fervura apresenta efeito adverso pronunciado, sobretudo sobre compostos hidrossolúveis, devido à sua lixiviação para o meio de cocção. Com base nesses resultados, torna-se relevante ampliar a investigação dos efeitos dos diferentes métodos de cocção para matrizes alimentares mais complexas, como os hambúrgueres à base de plantas, a fim de compreender como distintas tecnologias de preparo influenciam o perfil de compostos desses produtos.

3.1.4 Alimentos *plant-based* análogos ao leite

Além dos análogos cárneos, os produtos análogos ao leite têm ganhado destaque como uma importante categoria dentro do setor *plant-based*. O leite é uma fonte de nutrientes essenciais que fornece proteínas, lipídeos, carboidratos, vitaminas e minerais fundamentais para o crescimento e desenvolvimento humano, sendo o primeiro alimento com o qual os mamíferos têm contato após o nascimento. Além de seu alto valor nutricional, o leite e os produtos lácteos contêm outros compostos benéficos como peptídeos bioativos, bactérias probióticas, antioxidantes, oligossacarídeos, lactoferrina e ácidos orgânicos (Silva; Smetana, 2022). Embora a maioria dos mamíferos cesse o consumo de leite após o desmame, os seres humanos mantêm esse hábito ao longo da vida, sendo o leite bovino a principal fonte. No entanto, fatores como restrições alimentares, intolerâncias, preferências dietéticas e preocupações éticas e ambientais têm impulsionado a busca por alternativas ao leite de origem animal, ampliando o interesse por produtos lácteos de origem vegetal.

3.1.4.1 Bebida à base de plantas

Os produtos alternativos ao leite incluem as bebidas vegetais, também denominadas bebidas à base de plantas e popularmente conhecidas como “leites vegetais”. Essas bebidas consistem em suspensões coloidais ou emulsões formadas a partir de material vegetal disperso em meio aquoso. No entanto, a composição e o tamanho das partículas não são completamente homogêneos, sendo observada uma distribuição típica de tamanho entre 5 e 20 μm, o que confere aparência e consistência semelhantes às do leite bovino (Reyes-Jurado *et al.*, 2023). Dependendo da matriz vegetal, é possível distribuir esses produtos em cinco categorias gerais: à base de cereais (arroz e aveia), à base de leguminosas (soja e ervilha), à base de nozes (amêndoa e castanha), à base de sementes (gergelim e girassol) e à base de pseudocereais (quinoa e chia) (Sethi; Tyagi; Anurag, 2016).

A obtenção bem-sucedida de qualquer bebida vegetal depende da compreensão das propriedades composicionais, estruturais e funcionais do leite bovino. Esse conhecimento pode, então, ser utilizado para orientar a produção de bebidas vegetais com atributos desejáveis. O leite bovino é uma dispersão coloidal composicional e estruturalmente complexa, composta por pequenos glóbulos de gordura e nanopartículas proteicas (micelas de caseína) suspensos em um meio aquoso que contém vários componentes solúveis, incluindo açúcares, oligossacarídeos, proteínas e minerais (Jukkola & Rojas, 2017). Para alcançar essas características, as formulações à base de plantas combinam proteínas vegetais, óleos, água, emulsificantes e outros aditivos, os quais atuam de forma integrada na formação e estabilização do sistema coloidal (Do *et al.*, 2018).

Do ponto de vista nutricional, as bebidas à base de plantas podem oferecer compostos bioativos de interesse, como fibras alimentares, isoflavonas, antioxidantes e ácidos graxos mono e poli-insaturados, além de serem naturalmente isentas de lactose, colesterol e proteínas de origem animal (Chalupa-Krebzdak; Long; Bohrer, 2018). No entanto, esses alimentos apresentam limitações nutricionais quando comparados aos produtos lácteos, especialmente em relação ao teor e à qualidade proteica. Em geral, exibem menor concentração de proteínas, perfil menos completo de aminoácidos essenciais e menor digestibilidade proteica (Vagadia *et al.*, 2018). Adicionalmente, a presença de compostos antinutricionais, como inibidores de tripsina e ácido fítico, pode reduzir a biodisponibilidade de minerais e interferir na absorção de nutrientes (McClements *et al.*, 2019).

Entre as bebidas à base de plantas, a de soja destaca-se por apresentar teor proteico comparável ao do leite bovino, além de exibir o maior índice de aminoácidos corrigido pela digestibilidade das proteínas (PDCAAS) e o maior índice de aminoácidos indispensáveis

digestíveis (DIAAS) (Chalupa-Krebzdak; Long; Bohrer, 2018). Em função dessas características, a bebida de soja é frequentemente considerada aquela com melhor equilíbrio de macro e micronutrientes entre as alternativas vegetais. Contudo, a soja contém um alto nível de antinutrientes e proteínas que podem promover reações alérgicas, além de *off-flavors* inerentes que reduzem a aceitabilidade do produto (Morales-de la Peña *et al.*, 2011). Nesse contexto, a bebida vegetal à base de amêndoas vem se destacando como uma alternativa competitiva, especialmente devido à sua elevada aceitação sensorial e a um perfil nutricional equilibrado (Vanga; Raghavan, 2018).

3.1.4.1.1 Bebida vegetal à base de amêndoas

As bebidas à base de amêndoas têm sido consumidas tradicionalmente há séculos devido às suas propriedades sensoriais agradáveis. Nos últimos anos, no entanto, a bebida de amêndoas emergiu como um dos substitutos vegetais mais populares nos mercados da América do Norte, União Europeia e Austrália (Dhakal *et al.*, 2014). Esse crescimento é impulsionado, em grande parte, pelos diversos benefícios à saúde associados ao consumo de amêndoas. A amêndoa contém aproximadamente 25% de proteína, sendo a maior parte dessa proteína encontrada sob a forma de amandina (Sathe *et al.*, 2002). Além disso, é uma fonte rica em nutrientes e se destaca pelo alto teor de vitamina E na forma de alfa-tocoferol, a variante biologicamente ativa desse micronutriente. O alfa-tocoferol é amplamente reconhecido por suas propriedades antioxidantes, desempenhando um papel essencial na proteção das células contra os danos causados por radicais livres, ajudando a prevenir o estresse oxidativo e suas consequências no organismo (Burton; Ingold, 1989).

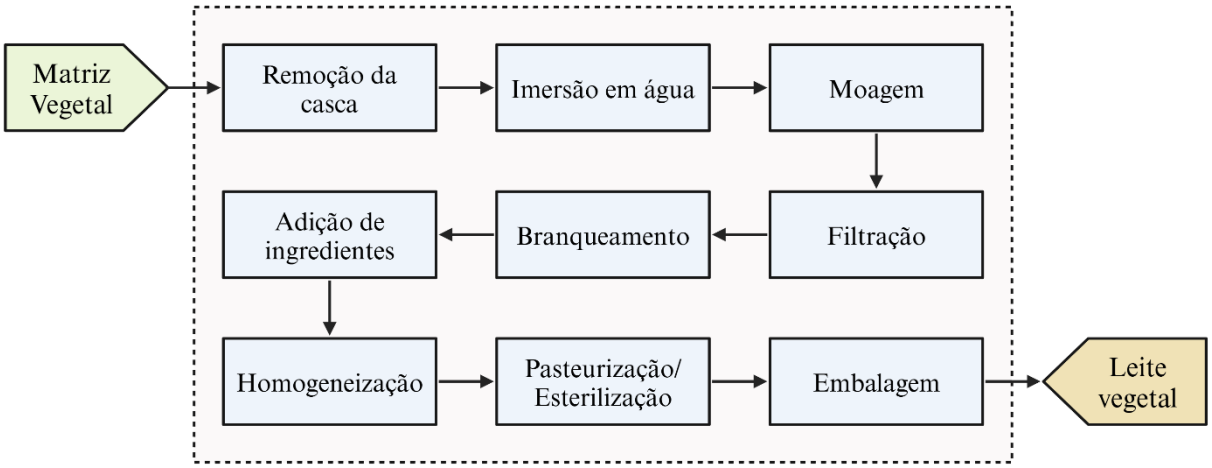
As amêndoas também são fontes ricas de diversos nutrientes essenciais, incluindo manganês, cálcio, magnésio, selênio, potássio, zinco, fósforo e cobre. Além disso, apresentam potencial efeito prebiótico, atribuído principalmente à presença de arabinose associada às pectinas da parede celular, o que pode contribuir para a saúde intestinal e para a redução dos níveis de colesterol sérico (Sethi; Tyagi; Anurag, 2016). Seu perfil lipídico representa outro diferencial nutricional, caracterizado pelo elevado teor de ácidos graxos monoinsaturados (MUFAs), amplamente reconhecidos por seus efeitos benéficos à saúde cardiovascular. Evidências indicam que os MUFAs auxiliam na redução dos níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e estão associados ao controle do peso corporal, devido à sua influência sobre a saciedade e o metabolismo energético (Grundy; Lapsley; Ellis, 2016). Adicionalmente, as amêndoas são ricas em compostos fenólicos, especialmente flavonoides, como quercetina,

isoramnetina e derivados de kaempferol, os quais têm sido associados à redução do risco de doenças cardiovasculares e de determinados tipos de câncer (Manzoor *et al.*, 2021).

3.1.4.2 Processo produtivo de bebidas vegetais

O processo de produção de bebidas à base de plantas varia de acordo com a matéria-prima empregada e as especificações do produto final; contudo, algumas etapas são comuns à maioria dos sistemas produtivos. Um esquema representativo dessas etapas é apresentado na **Figura 6**.

Figura 6 – Processo típico de produção de bebidas à base de plantas.



Fonte: Adaptado de Bocker & Silva (2022).

O tratamento inicial das matérias-primas varia de acordo com a fisiologia da matriz vegetal e tem como objetivo maximizar o rendimento do extrato solúvel (Sethi; Tyagi; Anurag, 2016). No caso de nozes e sementes, essa etapa geralmente envolve o descascamento, que pode ser realizado por imersão em água ou por tratamentos químicos com ácidos ou bases, sendo estes últimos mais rápidos e eficientes (Cui *et al.*, 2013; Maghsoudlou *et al.*, 2016). Após o tratamento, é necessária a lavagem do material para remoção de resíduos químicos. Além de facilitar a extração, o descascamento contribui para a eliminação de compostos indesejáveis ou tóxicos presentes na casca, como o ácido oxálico, melhorando o sabor e a segurança do produto final (Quasem; Mazahreh; Abu-Alruz, 2009).

A etapa de imersão em água é geralmente aplicada a soja, avelãs, arroz, amêndoas, *tigernuts*, grãos, sementes de gergelim e amendoim (Aboulfazli *et al*., 2016; Alozie & Udofia, 2015; Bernat *et al*., 2014, 2015; Briviba *et al*., 2016; Chavan *et al*., 2018; Dhakal *et al*., 2014,

2016; Kizzie-Hayford *et al*., 2016; Padma *et al*., 2018; Sethi *et al*., 2016; Vashisht *et al*., 2024). A imersão em água permite o amolecimento do grão, reduzindo assim o tempo necessário para o branqueamento. Além disso, após a imersão, a amilopectina aparente diminui e as toxinas são liberadas na água (Padma *et al.*, 2018). Estudos indicam que quando as nozes são imersas em água, o rendimento de extração do leite aumenta (Kizzie-Hayford *et al.*, 2016).

A etapa de moagem tem como objetivo reduzir o tamanho das partículas da matéria-prima, aumentando a área de contato e facilitando a extração dos compostos desejáveis. Na produção de bebidas à base de plantas, a moagem úmida é amplamente empregada, pois favorece a obtenção de emulsões mais homogêneas e estáveis, uma vez que a matéria-prima é moída na presença de água, promovendo a solubilização dos componentes (Aydar; Tutuncu; Ozcelik, 2020). Após a moagem, a filtração é realizada para separar a fração líquida (bebida vegetal) da fração sólida remanescente (bolo). Diversos materiais de filtração têm sido utilizados por pesquisadores na produção de bebidas vegetais, como *cheesecloth* de dupla camada, tecido muslin (25 μm) e papéis de filtração com diferentes tamanhos de malha (Dhakal *et al.*, 2014; Dhakal; Giusti; Balasubramaniam, 2016; Maleki; Khodaiyan; Mousavi, 2015; Wang; Jiang; Xiong, 2018).

Após a filtração, o produto é submetido ao branqueamento. Nessa etapa o material vegetal é submerso em água quente (entre 80 e 100 °C) ou exposto ao vapor quente por um curto período (de 1 a 5 min). Em seguida, o produto é rapidamente resfriado, geralmente por imersão em água fria, para interromper o processo e preservar suas características sensoriais e nutricionais. O branqueamento tem a função de reduzir a carga microbiana e inativar enzimas indesejáveis, como a lipoxigenase, associada à formação de *off-flavors* (Seow & Gwee, 1997). Após esse tratamento, podem ser adicionados antioxidantes e conservantes para aumentar a estabilidade do produto, bem como ingredientes para fortificação nutricional e ajuste sensorial, como proteínas, vitaminas, minerais, adoçantes e aromatizantes (Chalupa-Krebzdak *et al*., 2018).

A homogeneização é uma etapa fundamental para aumentar a estabilidade das bebidas à base de plantas, pois reduz o tamanho das partículas coloidais e minimiza a sedimentação e a separação de fases durante a vida útil do produto (Maghsoudlou *et al.*, 2016). Esse processo pode ser conduzido sob diferentes níveis de pressão, sendo que pressões mais elevadas tendem a aumentar a estabilidade, a clareza e o índice de brancura da bebida, sem afetar significativamente a viscosidade ou a estabilidade proteica (Bernat *et al.*, 2015; Briviba *et al.*, 2016a; Zaaboul *et al.*, 2019). Contudo, a aplicação de múltiplos ciclos de homogeneização pode

elevar a temperatura do alimento, com aumentos relatados entre 5 e 10 °C, em função da pressão aplicada (Gul *et al.*, 2018; Quasem; Mazahreh; Abu-Alruz, 2009).

A etapa final do processamento de bebidas à base de plantas envolve a pasteurização ou esterilização, tradicionalmente realizada por tratamentos térmicos com o objetivo de inativar microrganismos e enzimas. Contudo, a exposição a altas temperaturas pode comprometer atributos físicos, sensoriais e nutricionais (Bocker; Silva, 2022). Nesse contexto, tecnologias inovadoras de processamento, baseadas em processos não-térmicos (alta-pressão, ultra-cisalhamento, campo elétrico pulsado e ultrassom) ou térmicos (aquecimento ôhmico e micro-ondas), têm sido investigadas como substitutas aos processos convencionais, buscando garantir a segurança microbiológica com menor impacto na qualidade do alimento (Gul *et al.*, 2017b; Ravichandran *et al.*, 2023). Nos tópicos a seguir, serão apresentadas as tecnologias de processamento utilizadas no presente estudo: tratamento térmico convencional, processamento por alta pressão (HPP) e tecnologia de ultra-cisalhamento (UST).

3.1.4.3 Tecnologias de pasteurização

3.1.4.3.1 Tratamento térmico convencional

O processamento térmico constitui o método convencional mais amplamente empregado para a inativação de microrganismos patogênicos e deteriorantes, incluindo células bacterianas e esporos, responsáveis por riscos à segurança e à qualidade de produtos alimentícios. Embora tecnologias não térmicas venham sendo progressivamente incorporadas ao processamento de alimentos, os tratamentos térmicos permanecem predominantes em escala industrial. Esse tipo de processamento contribui para o aumento da vida útil dos alimentos, uma vez que o calor é capaz de destruir microrganismos e inativar enzimas associadas à deterioração. Adicionalmente, o tratamento térmico promove o cozimento e a modificação das características sensoriais de ingredientes originalmente crus, influenciando atributos como sabor e aroma (Ibarz; Barbosa-Cánovas, 2003). Durante o processamento térmico, a qualidade final do alimento é diretamente influenciada pelas condições de tratamento, especialmente pela combinação de temperatura e tempo de aplicação.

No contexto do processamento de leite e bebidas vegetais, os métodos tradicionais incluem a pasteurização lenta (*low-temperature long-time*, LTLT), pasteurização rápida (*high-temperature short-time*, HTST) e a esterilização UHT (*ultra-high temperature*). O processo de pasteurização é um tratamento térmico suave utilizado para inativar organismos resistentes ao

calor, como bactérias, leveduras e fungos. A pasteurização LTLT emprega temperaturas mais baixas por vários minutos, sendo tradicionalmente utilizada em sistemas em batelada e associada a maiores alterações sensoriais. Em contraste, a pasteurização HTST é realizada a temperaturas mais elevadas por poucos segundos, sendo amplamente aplicada em processos contínuos e permitindo melhor preservação das características sensoriais e nutricionais do produto (Patil *et al.*, 2019). A configuração de temperatura-tempo desses processos é baseada em estudos de tempo de morte térmica da bactéria *Coxiella burnetii*, o patógeno mais termicamente estável encontrado no leite e que não forma esporos (Enright *et al.*, 1957).

O efeito do calor sobre microrganismos fundamenta os princípios da pasteurização e envolve a inativação celular por danos a componentes essenciais, como RNA, ribossomos e a membrana citoplasmática, além da indução de estresse oxidativo mediado por espécies reativas de oxigênio, que promovem a oxidação de lipídeos, proteínas e DNA. A inativação térmica é, portanto, um fenômeno de múltiplos alvos, no qual o comprometimento de componentes críticos pode resultar em morte celular (Dash *et al.*, 2022). Embora a pasteurização elimine a maioria dos microrganismos do leite, esporos e bactérias termodúricas podem sobreviver ao tratamento, o que exige armazenamento sob refrigeração adequada (< 4 °C) durante a distribuição e o armazenamento (Azizi-Lalabadi; Moghaddam; Jafari, 2022). Do ponto de vista enzimático, o processo de pasteurização promove a inativação de diversas enzimas endógenas, contribuindo para a redução de sabores indesejáveis e para a extensão da vida útil; contudo, algumas enzimas bacterianas termorresistentes, como a plasmina, podem manter ou até intensificar sua atividade devido à inativação de seus inibidores (Deeth, 2021).

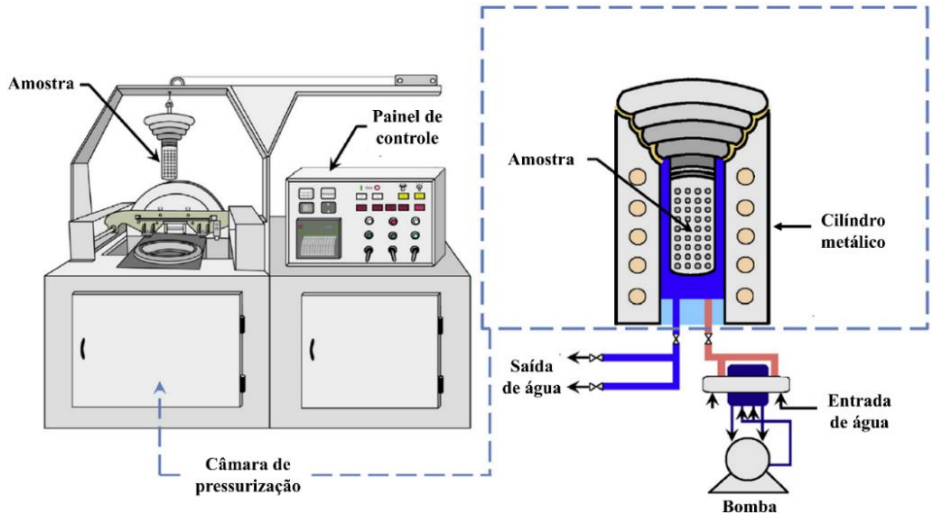
O sabor do leite pasteurizado, seja de origem animal ou vegetal, é influenciado por várias reações químicas que ocorrem durante o processamento térmico ou armazenamento, impactando também a cor do produto (Schamberger & Labuza, 2007). No leite animal, as principais alterações no sabor estão associadas a reações de Maillard (Van Boekel, 1998), degradação lipídica (Calvo; Hoz, 1992) e desnaturação térmica das proteínas do soro, como a *β*-lactoglobulina, que liberam compostos voláteis de enxofre (Mehta, 2015). Essas reações ocorrem devido à presença de lactose que, ao reagir com os grupos amino de proteínas do soro do leite, formam compostos de sabor, como aldeídos de Strecker, compostos sulfurados e nitrogenados, maltol e diacetila. Na bebida vegetal, a reação de Maillard ocorre entre os açúcares vegetais e aminoácidos presentes em proteínas como albumina e globulina, gerando compostos de sabor, mas sem formação de compostos sulfurados. Além disso, a degradação lipídica, devido à presença de lipídeos insaturados, pode gerar compostos voláteis que conferem um perfil sensorial característico (Pucci *et al.*, 2024).

3.1.4.3.2 Processamento por alta pressão

O processamento por alta pressão (*high-pressure processing*, HPP*)* é uma tecnologia inovadora não térmica, na qual pressões de 100 a 1000 MPa são aplicadas em condições refrigeradas ou à temperatura ambiente, por um curto período de tempo (< 10 min) (Balasubramaniam, 2021). Esse processamento é capaz de reduzir a carga microbiana patogênica e inativar enzimas endógenas, sem promover a degradação das ligações covalentes de proteínas, vitaminas, antioxidantes e compostos voláteis do produto processado. Dessa forma, a principal vantagem do HPP em comparação com a pasteurização convencional está associada aos impactos mínimos nas características sensoriais e nutricionais do alimento (Stinco *et al.*, 2019; Szczepańska *et al.*, 2020). A pasteurização por alta pressão foi inicialmente introduzida para a preservação de guacamole nos EUA por volta de 1997. Atualmente é um processo comercialmente viável em todo o mundo, sendo aplicada a carnes, guacamole, refeições prontas, sucos, produtos à base de frutas e vegetais, saladas e frutos do mar (Guduru; Balasubramaniam; Hatzakis, 2024).

O processamento por alta pressão ocorre em batelada, e um sistema típico (**Figura 7**) consiste dos seguintes componentes: uma câmara de pressurização fechada em ambos os lados; um mecanismo de arco para garantir a segurança do recipiente pressurizado; uma bomba e intensificador de pressão e um sistema de controle para registro e ajuste das variáveis do processo. A câmara de pressurização é composta por um recipiente cilíndrico de aço de alta resistência, com espessura variável conforme a intensidade de aplicação (Balasubramaniam *et al*., 2016).

Figura 7 – Sistema típico do processamento a alta pressão.



Fonte: Adaptado de Barba *et al.* (2016).

Durante a operação, o alimento pré-embalado e selado em embalagens flexíveis, é colocado dentro da câmara, que é então fechada. O recipiente é preenchido com o meio de transferência de pressão (geralmente água) por meio de uma bomba de baixa pressão. Em seguida, a câmara é pressurizada até a pressão desejada por compressão externa, utilizando bombas HPP robustas (Caner; Hernandez; Harte, 2004). Com o uso do princípio isostático, a pressão é distribuída de forma uniforme em todo o produto, independentemente do seu tamanho ou forma. O produto é mantido na pressão alvo por uma duração específica, e, em seguida, a câmara é rapidamente despressurizada (Verma *et al.*, 2020). Embora o HPP seja um tratamento não térmico, a fricção molecular durante a aplicação da alta pressão gera calor suficiente para aumentar a temperatura do sistema alimento-embalagem. O aquecimento adiabático ocorre na maioria dos materiais alimentares, sendo proporcional à compressibilidade do alimento. Um aumento de temperatura de 2 a 6 °C ocorre para cada compressão de 100 MPa (Ting; Balasubramaniam; Raghubeer, 2002).

A eficácia do tratamento por alta pressão é regida pelo princípio de *Le Chatelier*, que afirma que, quando um sistema em equilíbrio é sujeito a uma perturbação, o sistema ajusta-se de maneira a minimizar essa perturbação. No contexto do HPP, isso significa que reações ou transições de fase que resultam em uma diminuição de volume são favorecidas, enquanto aquelas que causam um aumento de volume são inibidas. Moléculas de baixa massa molecular, como compostos aromáticos, vitaminas e minerais, raramente são afetadas devido à baixa compressibilidade das ligações covalentes (Gross; Jaenicke, 1994). Por outro lado, o HPP pode alterar a estrutura nativa de macromoléculas, como proteínas e amido, de maneira similar aos tratamentos térmicos, causando rupturas, desdobramentos, desnaturação e agregação ou gelificação, com o consequente aumento das propriedades de textura (Rathnakumar *et al.*, 2023). As mudanças na estrutura das proteínas induzidas pela pressão podem alterar suas propriedades funcionais, como aumento da solubilidade, capacidade de retenção de água, tendência de emulsificação e formação de espuma, além da formação de géis (Martinez-Monteagudo; Rathnakumar, 2020).

O aumento da pressão também favorece a cristalização dos fosfolipídeos presentes na membrana celular dos microrganismos. Assim, a maior permeabilidade da membrana permite uma troca maior de estrutura iônica, inibindo as funções celulares ou promovendo a lise dos microrganismos. Essa é a principal ação do processamento por alta pressão na inativação de microrganismos (Evelyn; Milani; Silva, 2017; Yildiz *et al.*, 2019). O tratamento por pressão a temperaturas refrigeradas ou próximas à ambiente é eficaz na inativação de uma variedade de bactérias, leveduras, mofos e vírus, mas esporos bacterianos sobrevivem ao tratamento

(Georget *et al.*, 2015). Dessa forma, os produtos pasteurizados por pressão devem ser mantidos sob condições refrigeradas após o processamento. Bactérias Gram-positivas tendem a ter uma resistência maior à pressão do que as Gram-negativas. A eficácia microbiana do processo também é influenciada pela composição, pH e atividade de água do alimento a ser processado (Balasubramaniam, 2021).

A literatura sobre o tema indica que o HPP tem sido utilizado para avaliar uma variedade de produtos alimentícios, incluindo leite humano (Moltó-Puigmartí *et al.*, 2011), leite de origem animal (Janahar *et al.*, 2021; Voigt *et al.*, 2012), substituto lácteo à base de plantas (Dhakal *et al.*, 2014; Dhakal; Giusti; Balasubramaniam, 2016; Jung; Murphy; Sala, 2008; Toro-Funes *et al.*, 2014) e sucos diversos (Barba *et al.*, 2012; Bhattacharjee; Saxena; Dutta, 2019; Gupta *et al.*, 2010; Plaza *et al.*, 2011; Song *et al.*, 2022; Stinco *et al.*, 2019; Szczepańska *et al.*, 2020; Yildiz *et al.*, 2019). Em um estudo referente à pasteurização de suco de cenoura por HPP, Stinco *et al.* (2019) observaram maior inativação da enzima peroxidase (POD) a 600 MPa, enquanto a polifenol oxidase (PPO) foi mais inativada a 300 MPa. Além disso, foi observada uma redução clara da carga microbiana com o aumento da pressão aplicada. Em estudo referente às propriedades reológicas de bebida à base de amêndoas, Dhakal *et al.* (2016) verificaram que as pressões aplicadas (450 e 600 MPa) aumentaram o tamanho das partículas em comparação com o tratamento térmico convencional, sendo esse aumento atribuído à agregação das macromoléculas promovida pela alta pressão. Por outro lado, Janahar *et al.* (2022) observaram que o HPP não alterou o tamanho das partículas em dispersões coloidais de proteínas de leite bovino e ervilha.

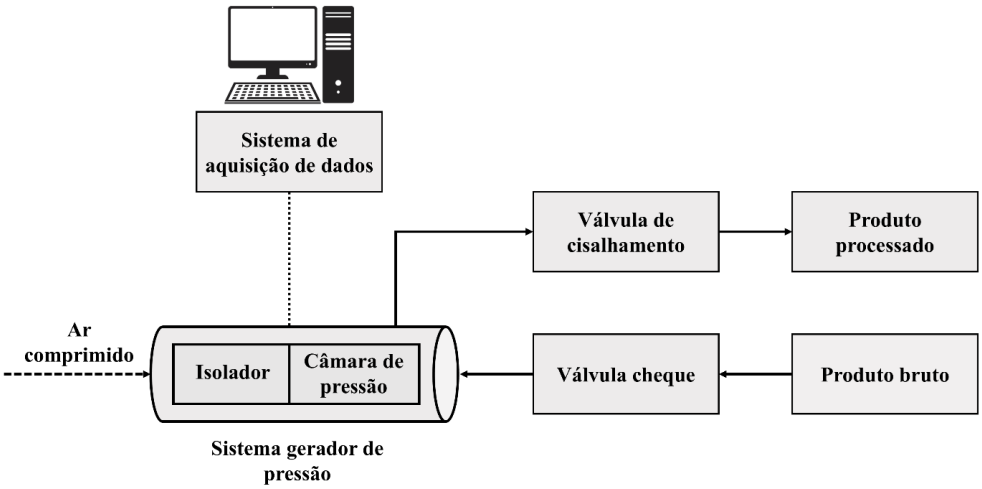
De acordo com Barba *et al.* (2015), o processamento por alta pressão também pode influenciar positivamente a bioacessibilidade e a biodisponibilidade de compostos bioativos, dependendo da estrutura e composição da matriz alimentar. Além disso, esse processamento pode aumentar a extração de compostos fenólicos, carotenoides e glucosinolatos. Um aumento no teor de flavonoides foi observado no tratamento de suco de maçã a 450 MPa (Abid *et al.*, 2014), de bebida à base de soja a 400 MPa (Rodríguez-Roque *et al.*, 2015) e de suco de laranja a 550 MPa (Vieira *et al.*, 2018). No entanto, não há uma correlação simples e direta entre a destruição da matriz induzida pelo processo e a extração e biodisponibilidade dos nutrientes. Van Buggenhout *et al.* (2010) observaram que, no caso dos carotenoides, a influência do processamento na bioacessibilidade dos nutrientes é mais complexa do que o efeito positivo que seria antecipado com base em sua ação sobre a estrutura da matriz alimentar. Sendo assim, são necessários mais estudos para compreender melhor os mecanismos de ação dessa tecnologia e, assim, avaliar seu impacto real na preservação de compostos bioativos nos alimentos.

3.1.4.3.3 Tecnologia de ultra-cisalhamento

A tecnologia de ultra-cisalhamento (*ultra-shear technology,* UST), também conhecida como homogeneização de alta pressão (*high-pressure homogenization,* HPH), é um processo contínuo de alta pressão que consiste na pressurização de alimentos líquidos até 400 MPa, seguida de uma rápida despressurização ao passar por uma abertura estreita em uma válvula de cisalhamento (Janahar *et al.*, 2022). Essa tecnologia surgiu como uma solução industrialmente relevante para fabricantes de alimentos e bebidas interessados em produzir alimentos com rótulo limpo. Com a UST, é possível processar alimentos líquidos com menor exposição térmica e tempo de tratamento, aliado ao efeito único de alta pressão e cisalhamento. Essa tecnologia oferece diversos benefícios de qualidade para bebidas líquidas, além de garantir a segurança dos alimentos. A UST é um processamento versátil que permite a obtenção de alimentos com vida útil prolongada, com texturas únicas e propriedades sensoriais desejadas pelos consumidores, sem a necessidade de aditivos sintéticos (Balasubramaniam *et al.*, 2023).

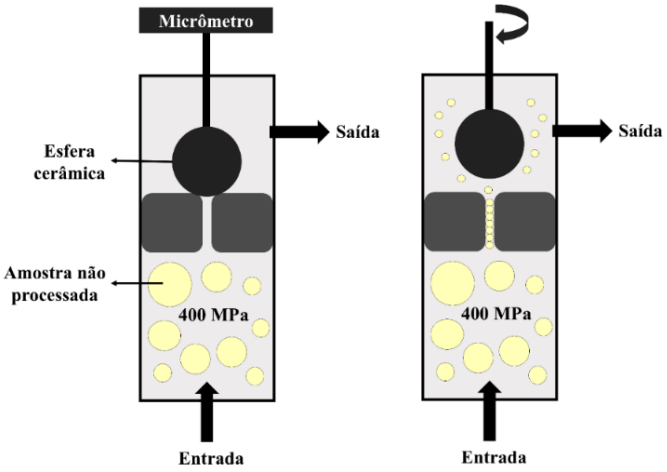
Um aparato experimental típico da UST é apresentado na **Figura 8**. Os componentes do equipamento incluem um reservatório de produto bruto, uma válvula cheque (que evita contrafluxo), um sistema gerador de pressão, uma câmara de pressurização, uma válvula de cisalhamento e um reservatório para o produto processado. O gerador de pressão geralmente utiliza ar comprimido para acionar um êmbolo, pressurizando a água que atua como fluido transmissor de pressão (Janahar *et al.*, 2021). Essa pressão é transferida à amostra por meio de um pistão móvel livre, denominado isolador. Após a pressurização, o produto é despressurizado ao atravessar a válvula de cisalhamento, constituída por uma esfera cerâmica apoiada sobre um assento circular. A força exercida pela esfera contra o assento pode ser ajustada por um micrômetro, permitindo o controle da folga de passagem do fluido. Quando a pressão supera a força aplicada pelo micrômetro, o produto escoa pela folga entre a esfera e o assento da válvula, conforme ilustrado na **Figura 9**. A pressão e a temperatura em diferentes pontos do sistema são monitoradas por um sistema de aquisição de dados. Cada operação completa corresponde a um ciclo ou passe, sendo possível, em alguns casos, recircular o produto até atingir o número de ciclos desejado (Hu *et al.*, 2023).

Figura 8 – Esquema representativo de um sistema de ultra-cisalhamento.



Fonte: Elaborado pela autora, 2026.

Figura 9 – Funcionamento de uma válvula de cisalhamento.



Fonte: Adaptado de Janahar *et al.* (2021).

Com base em seu mecanismo, a UST é considerada uma tecnologia híbrida que utiliza tanto agentes térmicos quanto não térmicos letais para a pasteurização ou esterilização comercial de alimentos (Guduru; Balasubramaniam; Hatzakis, 2024). Isso se deve ao fato de que quando a amostra é liberada da válvula de cisalhamento, a diferença de pressão significativa entre os dois lados da válvula converte a energia de pressão em energia cinética. Essa energia cinética é dissipada como calor, elevando instantaneamente a temperatura do produto (18–20 °C por 100 MPa) e gerando perda de calor para o ambiente. A energia cinética remanescente é utilizada para promover modificações físicas e estruturais na amostra (como mistura,

emulsificação, dispersão, redução do tamanho das partículas e ação enzimática e microbiana), por meio de forças mecânicas intensas, como cisalhamento, turbulência e cavitação. Assim, dependendo da temperatura inicial do produto e da pressão aplicada, o tratamento por UST pode gerar efeitos de pasteurização ou esterilização comercial, além de provocar modificações estruturais no líquido tratado (Martínez-Monteagudo *et al.*, 2017).

Ao longo dos anos, diversos estudos têm utilizado mecanismos baseados em alta pressão e cisalhamento para estabilizar sucos (Bot *et al.*, 2018; Guduru; Balasubramaniam; Hatzakis, 2024; He *et al.*, 2016; Joubran *et al.*, 2019; Suárez-Jacobo *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2019; Zhou *et al.*, 2017), produtos lácteos (Amador Espejo *et al.*, 2014; Martínez-Monteagudo *et al.*, 2017; Pereda *et al.*, 2007; Sharabi; Okun; Shpigelman, 2018), além de bebidas à base de plantas (Briviba *et al.*, 2016a, 2016b; Codina-Torrella *et al.*, 2017; Gul *et al.*, 2017b; Toro-Funes *et al.*, 2014). Nesse contexto, a UST se mostrou eficaz na inativação de enzimas e microrganismos, incluindo esporos bacterianos (Amador Espejo *et al.*, 2014; Cruz *et al.*, 2007; Georget *et al.*, 2014; H. Hu et al., 2023; Navarro *et al.*, 2014; Poliseli-Scopel *et al.*, 2012; Thiebaud *et al.*, 2003). O tratamento UST também é conhecido por provocar alterações na estrutura das proteínas do leite, com a desassociação parcial e alterações nas propriedades de coagulação (Roach; Harte, 2008; Sandra; Dalgleish, 2007; Zamora *et al.*, 2007). Janahar *et al.* (2022) também demonstraram a viabilidade do uso da UST para produzir uma dispersão coloidal estável através da mistura de proteínas do leite e ervilha, a fim de se obter bebidas mistas com diferentes concentrações de proteínas de origem vegetal e animal.

Além dos efeitos tecnológicos e estruturais, diferentes estudos indicam que o tratamento por UST também afeta positivamente a bioacessibilidade e a biodisponibilidade de compostos bioativos. Dependendo dos parâmetros do processo, a integridade celular pode ser comprometida, resultando na liberação não apenas dos compostos presentes no interior das células, mas também daqueles ligados à parede celular, o que aumenta a eficiência da extração (Carpentieri *et al.*, 2021; Yong; Song; Choo, 2021). Lukhmana *et al.* (2022) relataram que o processamento UST a 200 MPa acelerou a liberação de componentes fenólicos do purê de cereja ácida. Resultados semelhantes foram obtidos por Wellala *et al.* (2020), que aumentaram o conteúdo de polifenóis e a atividade antioxidante com o uso da UST (140 MPa, 25 °C, 1 passagem) em sucos mistos de cenoura, maçã e pêssego. Os efeitos do tratamento UST (50–200 MPa) sobre néctar de morango não filtrado e filtrado, ricos em antocianinas e ácidos fenólicos, foram investigados por Joubran *et al.* (2019). Os resultados indicaram que os compostos fenólicos totais aumentaram cerca de 15% nas amostras filtradas e cerca de 30% nas amostras não filtradas, especialmente em pressões altas.

De forma geral, tecnologias de processamento, como o processamento por alta pressão (HPP) e o ultra-cisalhamento (UST), podem induzir alterações significativas no perfil químico dos alimentos, as quais são fortemente dependentes dos parâmetros operacionais aplicados. Esses tratamentos podem afetar a liberação, a transformação e a bioacessibilidade de compostos bioativos, promovendo modificações que vão além de variações quantitativas globais e envolvem mudanças complexas na distribuição e na composição de diferentes classes moleculares. No entanto, tais efeitos frequentemente não são plenamente capturados por abordagens analíticas convencionais, baseadas em parâmetros centesimais ou em análises direcionadas. Diante desse cenário, a metabolômica se apresenta como uma abordagem estratégica e abrangente para investigar, em nível molecular, as transformações induzidas por diferentes tecnologias de processamento, permitindo uma compreensão mais profunda da relação entre processamento, composição química e qualidade dos alimentos.

3.2 Análise metabolômica

3.2.1 Definição

A metabolômica faz parte das ciências ômicas, que englobam o estudo de diferentes classes de moléculas essenciais para o desenvolvimento e manutenção dos organismos vivos, incluindo genes (genômica), proteínas (proteômica), lipídeos (lipidômica) e metabólitos (metabolômica) (Lay *et al.*, 2006). A análise metabolômica foi originalmente proposta por Jeremy Nicholson em 1999, sendo descrita como uma abordagem abrangente para a identificação e quantificação do maior número possível de metabólitos em um sistema biológico (Nicholson *et al.*, 1999). Esse campo de estudo envolve a análise qualitativa, quantitativa e dinâmica de moléculas de baixa massa molecular (tipicamente < 1500 Da) presentes em organismos, tecidos ou células em um momento específico e sob determinadas condições ambientais. Trata-se de um método de análise abrangente e sistemático, sendo possível investigar variações metabólicas em diferentes contextos, como mudanças ambientais, estados fisiológicos e condições patológicas, o que torna a metabolômica uma ferramenta amplamente aplicada em áreas como saúde, biotecnologia e ciência dos alimentos (Böhme *et al.*, 2019).

Os estudos metabolômicos têm ampliado progressivamente suas aplicações devido à sua notável capacidade de detecção e elucidação estrutural de metabolomas complexos (Wu *et al.*, 2022). O metaboloma é formalmente definido como o conjunto completo de metabólitos produzidos por um sistema biológico, representando os produtos das transformações químicas

no organismo (Antonio Blanco; Gustavo Blanco, 2017). Os metabólitos desempenham funções essenciais e podem ser classificados em duas categorias principais: primários e secundários. Os metabólitos primários são biomoléculas indispensáveis para o crescimento e desenvolvimento dos organismos, incluindo carboidratos, aminoácidos, lipídios, vitaminas e componentes dos ácidos nucleicos (Sato; Matsui, 2011). Já os metabólitos secundários são intermediários ou produtos do metabolismo primário que, embora não estejam diretamente envolvidos nos processos vitais básicos, desempenham funções cruciais na adaptação ao ambiente, resposta ao estresse e defesa contra predadores e patógenos. Entre os principais grupos de metabólitos secundários estão os compostos fenólicos, terpenos, alcaloides, glicosídeos e compostos sulfurados (Chaturvedi; Gupta, 2021).

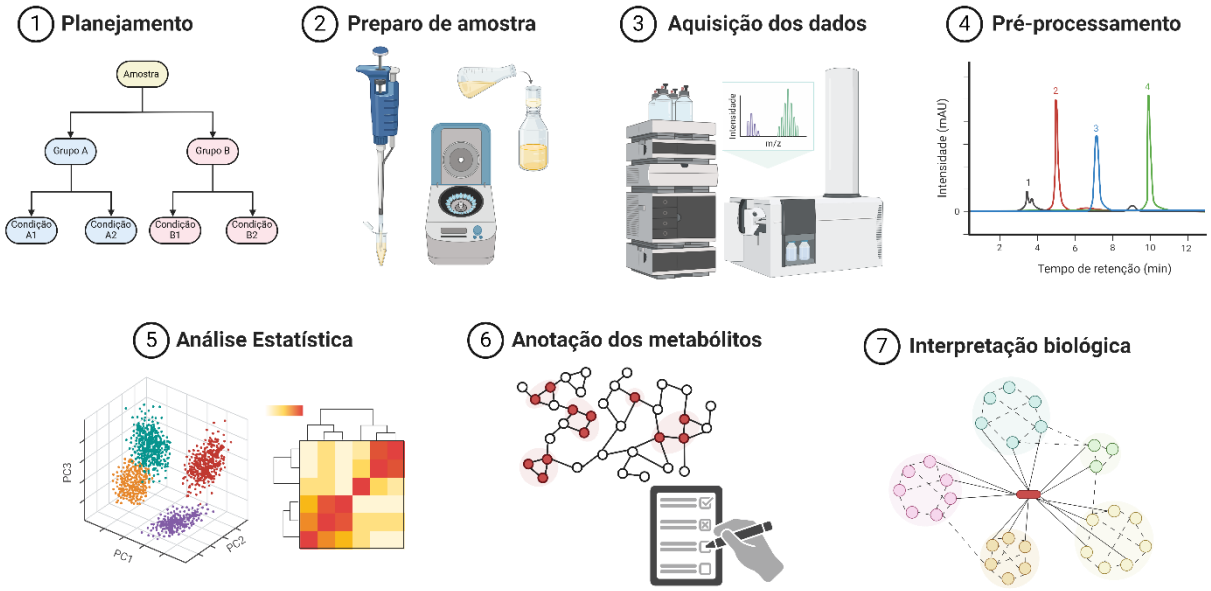
A análise metabolômica é geralmente dividida em duas principais abordagens: metabolômica direcionada (*targeted metabolomics*) e metabolômica não direcionada (*untargeted metabolomics*). A metabolômica direcionada é baseada em hipóteses, pois concentra-se em um conjunto específico de compostos e, na maioria dos casos, permite a quantificação precisa dos metabólitos. Essa abordagem é útil quando os metabólitos suscetíveis a alterações já foram previamente identificados, oferecendo, geralmente, maior sensibilidade analítica (González-Riano *et al.*, 2020; Johnson; Ivanisevic; Siuzdak, 2016). Por outro lado, a abordagem não direcionada é exploratória e tem como principal objetivo a geração de hipóteses. Essa estratégia é amplamente utilizada pois cobre uma ampla gama de moléculas e é fundamental para a identificação de novos metabólitos. Na maioria dos casos, essa abordagem permite apenas quantificações relativas (Pezzatti *et al.*, 2020). Como a metabolômica não direcionada gera grandes volumes de dados, ferramentas estatísticas eficientes, como a análise multivariada, são essenciais para reduzir a dimensionalidade dos resultados (Gika *et al.*, 2014).

Devido à complexidade das matrizes alimentares, até o momento, nenhuma plataforma analítica é capaz de abranger completamente o metaboloma de um determinado alimento, de modo que múltiplos instrumentos e abordagens metodológicas são combinados para fornecer uma "visão holística" dos metabólitos em determinadas condições (Ibáñez *et al.*, 2013). Dessa forma, fluxogramas de trabalho bem estruturados, juntamente com técnicas analíticas estabelecidas são geralmente aplicados na grande maioria dos estudos, conforme será abordado nos tópicos a seguir.

3.2.2 Etapas da análise metabolômica

O processo da análise metabolômica está intimamente relacionado à questão que a pesquisa busca responder. Na ciência dos alimentos, essa questão pode ter um caráter informativo, preditivo ou comparativo. As análises informativas têm sido realizadas principalmente para caracterizar e identificar compostos de interesse, como antioxidantes e outros compostos bioativos. A metabolômica preditiva baseia-se no uso de modelos estatísticos que consideram cada metabólito como uma variável independente para prever uma variável dependente de difícil mensuração. Já a metabolômica comparativa tem sido amplamente utilizada para identificar os metabólitos responsáveis pela classificação das amostras em diferentes grupos (Cevallos-Cevallos & Reyes-De-Corcuera, 2012). De modo geral, todos os estudos metabolômicos seguem um fluxograma de trabalho que inclui preparo da amostra, aquisição e processamento dos dados, análise estatística e interpretação biológica, conforme apresentado na **Figura 10**.

Figura 10 – Fluxograma de trabalho da análise metabolômica.



Fonte: Elaborado pela autora, 2026.

3.2.2.1 Planejamento experimental e preparo das amostras

O delineamento experimental é uma etapa essencial em estudos metabolômicos, pois garante a obtenção de conclusões robustas e evita a geração de conjuntos de dados que não atendam aos objetivos estabelecidos (Dunn *et al.*, 2012). Dependendo do campo de aplicação,

diferentes delineamentos experimentais podem ser utilizados. Em estudos laboratoriais, a análise simultânea de múltiplos fatores controlados pode ser realizada de forma sistemática por meio de delineamentos fatoriais. Uma abordagem mais simples envolve a comparação entre as amostras de interesse e um grupo controle, resultando em um estudo observacional. Independentemente do delineamento escolhido, sua estrutura impacta diretamente as fontes de variabilidade e a capacidade de avaliar relações de causa e efeito (Jacyna; Kordalewska; Markuszewski, 2019).

Após delineamento experimental, as etapas subsequentes envolvem a coleta e o preparo das amostras. Para garantir a representatividade em relação à questão biológica investigada, é essencial considerar fatores como tipo e quantidade da amostra, momento da coleta, além de assegurar a devida randomização e o balanceamento dos grupos dentro do planejamento amostral. Após a coleta, o metaboloma pode sofrer alterações devido a diversos fatores, como atividade enzimática, exposição ao oxigênio, luz UV e variações de temperatura (Pezzatti *et al.*, 2020). Portanto, a adoção de condições adequadas de transporte e armazenamento é fundamental para evitar perdas, transformações ou contaminações. Na metabolômica direcionada, o preparo da amostra é voltado para a extração seletiva do analito ou da classe de compostos de interesse. Por outro lado, na abordagem não direcionada, o preparo da amostra deve ser o menos seletivo possível, garantindo a preservação de uma ampla diversidade de metabólitos (Vuckovic, 2012).

Na maioria dos casos, o preparo das amostras se resume a uma simples extração com solvente. Misturas hidro-orgânicas contendo água, metanol, acetonitrila e/ou ácido fórmico são amplamente utilizadas, pois oferecem solubilidade suficiente para abranger metabólitos polares e semipolares (Masson *et al.*, 2010). Para a fração não polar do metaboloma, como lipídeos e compostos voláteis, a extração com solventes orgânicos hidrofóbicos, como clorofórmio ou diclorometano, mostra-se mais apropriada. Em alguns casos, aplicam-se extrações duplas para garantir a cobertura de metabólitos polares e não polares (Zeng *et al.*, 2019). Em amostras sólidas, é comum o uso de materiais liofilizados em pó ou congelados. Para favorecer uma extração mais eficiente, técnicas como agitação em vórtex e sonicação por ultrassom podem ser empregadas. Já em amostras líquidas, a homogeneização e a redução de tamanho das partículas são geralmente realizadas por meio de agitação (Castro-Puyana *et al.*, 2017).

3.2.2.2 Aquisição dos dados metabolômicos

Após preparo das amostras, dá-se sequência para a aquisição dos dados metabolômicos. Conforme mencionado anteriormente, não existe uma técnica analítica universal aplicada para detecção de metabólitos. A análise de amostras complexas e a grande diversidade de pequenas moléculas com diferentes propriedades físico-químicas que compõem o metaboloma exigem o uso de uma ampla variedade de técnicas analíticas. É altamente recomendável utilizar mais de uma plataforma para ampliar a cobertura dos compostos e obter informações mais abrangentes. Atualmente, as duas plataformas analíticas mais utilizadas na análise metabolômica são a ressonância magnética nuclear (*nuclear magnetic resonance,* NMR) e a espectrometria de massas (*mass spectrometry,* MS) (Idle; Gonzalez, 2007).

A NMR é uma técnica analítica baseada nas propriedades magnéticas dos núcleos atômicos, amplamente utilizada em abordagens metabolômicas direcionadas por fornecer dados quantitativos reprodutíveis e por sua natureza não destrutiva (Markley *et al.*, 2017). Essa abordagem permite a identificação simultânea de diferentes compostos orgânicos, a distinção entre moléculas de massas semelhantes e a elucidação estrutural e metabólica, sendo aplicada em estudos de controle de qualidade, segurança e origem geográfica de alimentos (Consonni & Cagliani, 2010; Feizi *et al.*, 2021). No entanto, limitações como baixa sensibilidade, menor resolução espectral e alto custo operacional restringem sua aplicação. Em razão disso, a espectrometria de massas (MS) tem se tornado a principal abordagem em metabolômica, devido à sua maior sensibilidade, capacidade de detectar metabólitos em baixas concentrações e melhor integração com técnicas de separação e instrumentos de alta resolução, o que resulta em maior cobertura e redução da complexidade espectral (Xu *et al.*, 2024).

Os espectrômetros de massas podem ser acoplados com diferentes técnicas de separação, como cromatografia gasosa (GC), cromatografia líquida (LC) e cromatografia líquida de ultra-alta eficiência (UHPLC). Por muitos anos, a GC-MS foi a técnica de referência para a análise de compostos voláteis devido à sua alta sensibilidade, poder de resolução e capacidade de reproduzir de forma consistente os padrões de fragmentação. No entanto, algumas desvantagens, como a necessidade frequente de derivatização das amostras, levou à substituição dessa técnica pela LC-MS como principal abordagem (Fiehn, 2016; Haggarty; Burgess, 2017). De fato, a LC pode operar em vários modos de separação, o que aumenta sua versatilidade na separação de uma ampla variedade de metabólitos. Nos últimos anos, em particular, os métodos baseados no uso do UHPLC ganharam considerável popularidade devido às vantagens que essa técnica oferece, incluindo alta eficiência, boa resolução, tempos de

análise relativamente curtos e taxas de fluxo totalmente compatíveis com a detecção por espectrometria de massas (Theodoridis *et al.*, 2012).

Para alcançar ampla cobertura do metaboloma, é comum combinar o UHPLC com diferentes mecanismos de retenção e analisadores de massas de alta resolução. A cromatografia líquida em fase reversa (RPLC) é amplamente empregada para a separação de metabólitos de baixa a média polaridade (Nielsen; Tomasi; Christensen, 2016; Randazzo *et al.*, 2017), enquanto a cromatografia de interação hidrofílica (HILIC) é mais adequada para compostos de média a alta polaridade e metabólitos carregados (Boudah *et al.*, 2014; Gallart-Ayala *et al.*, 2018). Em RPLC, colunas C18 são amplamente utilizadas para compostos apolares, enquanto fases como HSS T3, que possuem baixa densidade de ligantes octadecila, ampliam a retenção de metabólitos mais polares (Naser *et al.*, 2018). Associado à separação cromatográfica, o uso de analisadores de tempo de voo (TOF), especialmente em configurações quadrupolo-tempo-de-voo (QTOF), é particularmente vantajoso em estudos metabolômicos, pois oferece alta resolução, elevada precisão de massa e aquisição rápida de dados, facilitando a anotação e elucidação estrutural de metabólitos desconhecidos (Zhang *et al.*, 2012).

No entanto, é importante ressaltar que a MS também apresenta algumas limitações. Destaca-se o fato de que a sensibilidade é estruturalmente dependente e específica para cada analito. Além disso, fenômenos como a supressão iônica, que dependem da composição da amostra e da matriz, podem comprometer a detecção de metabólitos. Esse efeito acontece porque compostos coeluem e competem pelo processo de ionização na fonte do espectrômetro, reduzindo a eficiência da formação de íons do analito e, consequentemente, diminuindo sua detecção (Dudzik *et al.*, 2018). Outro desafio relevante é a falta de padronização de protocolos e dados, aliada à variabilidade na robustez dos sistemas e à baixa reprodutibilidade, dificultando a comparação de resultados entre diferentes estudos. Como consequência, os perfis metabolômicos gerados por espectrometria de massas nem sempre são diretamente comparáveis entre pesquisadores (González-Riano *et al.*, 2020).

3.2.2.3 Controle de qualidade

Independentemente do instrumento utilizado para a detecção dos metabólitos, estudos metabolômicos empregam ferramentas analíticas para garantir a confiabilidade dos dados. A adequação do sistema é fundamental para verificar o funcionamento do equipamento, que deve ser calibrado antes da análise. Para isso, utilizam-se misturas de padrões (*standard mix*), permitindo avaliar a forma dos picos, a estabilidade do tempo de retenção (RT) e a intensidade do sinal. Em analisadores de massa, pelo menos duas massas de referência são empregadas,

uma na faixa superior e outra na inferior de relação massa/carga (*m/z*), com pares distintos para ionização positiva e negativa (Broadhurst *et al.*, 2018). O objetivo principal da abordagem não direcionada é a análise diferencial do maior número possível de compostos entre grupos distintos, o que pode resultar em recuperações não quantitativas para todos os metabólitos. No entanto, desde que os resultados sejam reprodutíveis e o sinal varie proporcionalmente à concentração do analito na amostra, o método pode ser utilizado para comparações (Dudzik *et al.*, 2018).

Amostras em branco (*blank samples*) são utilizadas para avaliar o desempenho do processo analítico antes e durante a análise das amostras biológicas. Essas amostras correspondem a matrizes isentas de quantidades mensuráveis dos analitos de interesse e auxiliam na identificação e remoção de artefatos da matriz de dados, permitindo distinguir sinais provenientes de contaminantes, como resíduos de tubos, impurezas de solventes, aditivos ou conservantes (Godzien *et al.*, 2015). Outras amostras fundamentais são as amostras de controle de qualidade (*quality controls*, QCs), que devem representar as características qualitativas e quantitativas de todas as amostras biológicas do estudo (Dunn *et al.*, 2012). A estratégia mais utilizada para sua preparação consiste na formação de um *pool* com alíquotas iguais de todas as amostras biológicas. Os QCs são injetados no início, ao final e em intervalos regulares ao longo da sequência analítica, possibilitando o monitoramento da estabilidade, do desempenho instrumental e da reprodutibilidade do método, bem como a detecção de variações sistemáticas nos dados (Broadhurst *et al.*, 2018).

3.2.2.4 Processamento dos dados e análise estatística

A análise metabolômica, especialmente a abordagem não direcionada, gera grandes volumes de dados, provenientes de cromatogramas e espectros de massas dos instrumentos analíticos utilizados. Esses dados brutos resultam em matrizes tridimensionais (*m/z* vs. tempo vs. intensidade) para cada amostra analisada. Dessa forma, o pré-processamento tem como objetivo transformar esses dados em uma matriz bidimensional, na qual cada característica detectada, ou "*feature*", seja representada por valores de *m/z*, tempo de retenção (RT) e intensidade relativa, facilitando a análise estatística. Diferentes ferramentas podem ser utilizadas para realizar essa etapa (Lacalle-Bergeron *et al.*, 2021). As ferramentas mais utilizadas incluem softwares de código aberto, como XCMS (pacote R ou versão online), MZmine e MetAlign, além de softwares comerciais, como Mass Profiler Pro (Agilent Technologies Inc.), Progenesis QI (Non Linear Dynamics, Waters), MarkerLynx (Waters), SIEVE (Thermo Scientific) e Compound Discoverer (Thermo Scientific).

Tanto os softwares gratuitos quanto comerciais seguem, em geral, o mesmo fluxo de processamento, embora possam diferir na forma como as etapas são executadas. A etapa central e comum de todo pré-processamento é a detecção e deconvolução de picos (*peak-picking*), responsável por extrair, a partir dos dados brutos, sinais cromatográficos definidos por relação massa/carga (*m/z*), tempo de retenção e intensidade. Para distinguir sinais reais de ruído, são aplicados critérios como erro máximo de *m/z*, largura e intensidade mínima do pico e razão sinal/ruído (Wartmann *et al.*, 2024). Etapas adicionais, como o alinhamento do tempo de retenção (*RT alignment*) e a correção de lacunas (*gap filling*), são empregadas para corrigir variações entre injeções e recuperar picos que foram perdidos devido às restrições das etapas anteriores, assegurando maior consistência dos dados antes da análise estatística.

O pré-processamento dos dados permite focar nos metabólitos reais e eliminar sinais não confiáveis. Após essa etapa, aplicam-se abordagens estatísticas univariadas e multivariadas para interpretar os dados de forma mais robusta. A abordagem univariada analisa variáveis individualmente, utilizando ferramentas como o teste-t e ANOVA. Os testes univariados oferecem uma avaliação de metabólitos individuais, comparando seus níveis de abundância entre grupos experimentais e verificando a confiabilidade estatística das diferenças observadas. Dessa forma, é uma abordagem mais adequada para metabólitos previamente identificados de interesse específico (Boccard; Veuthey; Rudaz, 2010). Já a abordagem multivariada considera simultaneamente todas as variáveis, permitindo identificar padrões e correlações entre metabólitos. Essa estratégia é essencial na metabolômica não direcionada, pois possibilita a descoberta de relações potenciais entre subconjuntos de dados e a extração de informações biológicas relevantes (Saccenti *et al.*, 2014).

Entre os métodos multivariados, a análise de componentes principais (PCA) é frequentemente utilizada como etapa inicial na análise de dados metabolômicos. A PCA reduz a dimensionalidade dos dados ao gerar componentes principais não correlacionadas, que capturam a maior parte da variância por meio de combinações lineares das variáveis originais, permitindo a visualização de padrões, agrupamentos e *outliers* entre as amostras. Objetos distantes no gráfico de escores da PCA apresentam maiores diferenças em relação às combinações lineares das variáveis originais, enquanto objetos próximos compartilham padrões semelhantes de variação (Skov; Engelsen, 2013). Como um método complementar, a análise hierárquica não supervisionada (HCA), com um gráfico de mapa de calor, pode ser usada para observar agrupamentos, analisar e visualizar as diferenças no metaboloma e/ou confirmar a classificação realizada pela PCA (Llorach *et al.*, 2019).

3.2.2.5 Anotação dos metabólitos e interpretação biológica

Após a análise estatística dos dados, a etapa seguinte é a identificação e anotação dos metabólitos. O termo "anotação" refere-se ao processo de associar as *features* detectadas na análise, que contêm informações de *m/z* e tempo de retenção, a um metabólito específico. Para realizar essa associação, diferentes propriedades físico-químicas dos analitos podem ser exploradas, como massa exata, padrão de fragmentação, tempo de retenção, entre outras (Fiehn *et al.*, 2007). Devido ao elevado volume de dados, nem todos os metabólitos são anotados. De acordo com o "*Metabolomics Standards Initiative",* iniciativa que padroniza os estudos metabolômicos, há 4 níveis de confiança para a anotação de metabólitos: nível I para compostos identificados com padrões autênticos e análise de MS; nível II para compostos presumidamente anotados com base em propriedades físico-químicas ou semelhança espectral com bibliotecas; nível III para classes de compostos caracterizadas por propriedades físico-químicas ou semelhança espectral; e nível IV para compostos desconhecidos, que podem ser diferenciados e quantificados com base em dados espectrais, embora não identificados (Sumner *et al.*, 2007).

Bibliotecas externas (ou repositórios de dados) contendo informações espectrais de massas são, de longe, os recursos mais amplamente utilizados para a anotação de metabólitos, pois permitem uma anotação rápida e, geralmente, de baixo custo dos dados de MS, além de possibilitar o compartilhamento de informações entre laboratórios (Pezzatti *et al.*, 2020). Alguns dos bancos de dados mais utilizados incluem METLIN, *Human Metabolome Database* (HMDB), *National Institute of Standards and Technology* (NIST), FooDB, Chemspider, PubChem, MassBank, entre outros. A plataforma gratuita GNPS (*Global Natural Products Social Networking*) também é amplamente utilizada nos estudos metabolômicos, especialmente na construção de redes moleculares, que organizam de maneira eficaz o conjunto de dados de espectrometria de massa, integrados a informações de metadados das amostras.

Após identificação e anotação dos metabólitos, a etapa final do estudo consiste na interpretação biológica dos dados, visando associar os metabólitos a processos fisiológicos e patológicos relevantes. No entanto, esse processo é altamente complexo, e a extração de informações biológicas significativas a partir de parâmetros estatísticos nem sempre é direta. Dessa forma, a contextualização dos resultados torna-se essencial para uma interpretação adequada (Booth; Weljie; Turner, 2013). Uma abordagem eficaz para interpretar padrões metabólicos alterados é a utilização de metadados de metabólitos armazenados em bancos de dados, permitindo a associação de vias metabólicas específicas a subconjuntos de metabólitos com níveis modificados. Para essa etapa, são geralmente utilizadas ferramentas como KEGG, MetaCyc, MetaboLights, entre outras (Lacalle-Bergeron *et al.*, 2021).

3.2.3 Aplicações da metabolômica na área de alimentos

A ciência e tecnologia de alimentos tem evoluído constantemente de abordagens tradicionais para estudos mais complexos e sistêmicos, com as "ômicas alimentares" desempenhando um papel crucial. Definida em 2009, a *foodomics* explora os alimentos e a nutrição por meio de tecnologias ômicas avançadas, com o objetivo de melhorar a saúde, o bem-estar e a confiança dos consumidores. A *foodomics* concentra-se principalmente nos constituintes dos alimentos, envolvendo análises qualitativas e quantitativas (Capozzi; Bordoni, 2013). Dentro das ômicas alimentares, a metabolômica tem sido aplicada com sucesso em várias frentes de estudos, incluindo: i) análise de componentes alimentares; ii) autenticidade e rastreabilidade de alimentos; iii) segurança dos alimentos e detecção de contaminantes; iv) impacto da dieta na saúde humana; v) efeito do processamento sobre a qualidade dos alimentos, entre outras (Mahato *et al.*, 2024).

Tradicionalmente, a análise dos componentes dos alimentos envolve a identificação e classificação dos constituintes alimentares em categorias muito amplas, como proteínas, gorduras, carboidratos, fibras, vitaminas e cinzas. No entanto, a análise metabolômica permite “desconstruir” quimicamente alimentos e bebidas em seus constituintes, possibilitando a compreensão dos detalhes moleculares responsáveis pelo sabor, textura, aroma e cor característicos de determinados produtos (Wishart, 2008). Nesse contexto, a metabolômica desempenha um papel essencial na compreensão da presença, biodisponibilidade e características biológicas de moléculas-chave em diferentes matrizes alimentares. Uma quantidade substancial de literatura já foi publicada sobre a avaliação da composição dos alimentos por meio de estratégias metabolômicas, com a maioria dos estudos focados em frutas, sucos de frutas, leite, vinho, mel e vinagre (Hew *et al.*, 2024).

Em relação à autenticidade de alimentos, diversos estudos têm empregado abordagens metabolômicas para a identificação de marcadores capazes de discriminar amostras quanto à sua origem geográfica, como demonstrado em produtos como mel (Li *et al.*, 2017), alho (Hrbek *et al.*, 2018), feijão (Kim *et al.*, 2020) e camarão (Chatterjee *et al.*, 2019). Além disso, padrões de diferentes práticas agrícolas foram avaliados em cenouras (Cubero-Leon; De Rudder; Maquet, 2018), variedades de leguminosas (Llorach *et al.*, 2019), batata (Claassen; Kuballa; Rohn, 2019) e amêndoas (Gil Solsona *et al.*, 2018). A caracterização de produtos alimentícios por abordagens não direcionadas também é determinante para prevenir práticas fraudulentas, como a produção de sucos de frutas adulterados (Jandrić *et al.*, 2017) e a produção de uísque escocês falsificado (Stupak *et al.*, 2018).

Estudos metabolômicos aplicados à segurança dos alimentos têm sido amplamente utilizados para a detecção de contaminantes microbiológicos, compostos alergênicos, toxinas naturais e contaminantes ambientais, bem como para a avaliação da qualidade dos produtos ao longo da cadeia de suprimento. Nesse contexto, a rastreabilidade alimentar assume papel fundamental, permitindo o monitoramento contínuo dos alimentos e a identificação de marcadores associados às diferentes etapas de processamento e distribuição (Lacalle-Bergeron *et al.*, 2021). Outra abordagem importante é a identificação de marcadores relacionados ao tempo de armazenamento, visto que a qualidade dos alimentos tende a se deteriorar com o tempo. Exemplos de aplicação incluem a identificação de novos marcadores de envelhecimento de ovos (Cavanna *et al.*, 2018) e a observação de diferenças significativas na composição da carne de frango após diferentes períodos de conservação (Wen; Liu; Yu, 2020).

No campo da epidemiologia nutricional, a metabolômica tem ampliado a identificação de biomarcadores de ingestão alimentar (BFIs), fornecendo medidas mais objetivas da ingestão dietética. Estudos intervencionais têm utilizado abordagens não direcionadas para identificar metabólitos derivados de alimentos específicos, como banana (Vázquez-Manjarrez *et al.*, 2019), ervilha (Sri Harsha *et al.*, 2018), produtos lácteos fermentados (Pimentel *et al.*, 2018), variedades de tomates (Cichon *et al.*, 2017) e suco de tomate (Hövelmann *et al.*, 2020). A identificação de biomarcadores relacionados à ingestão de suplementos com potenciais benefícios à saúde também tem se consolidado como um campo de pesquisa crescente. Vários estudos intervencionais foram realizados com alimentos bioativos e suplementos, incluindo alho (Fernández-Ochoa *et al.*, 2018), vinho de kiwi (Kozlowska; Mizera; Mroz, 2020), suco de beterraba (Kozlowska; Mizera; Mroz, 2020) e extrato de grão de café verde (Peron *et al.*, 2018).

Ao oferecer uma visão abrangente da ingestão dietética e refletir o estado biológico atual do indivíduo, a metabolômica tem sido amplamente utilizada para investigar as complexas relações entre exposição nutricional, saúde e desenvolvimento de doenças (Guasch-Ferre; Bhupathiraju; Hu, 2018; Picó *et al.*, 2019). As informações obtidas não apenas possibilitam um monitoramento preciso da dieta e do estilo de vida, mas também podem contribuir para o desenvolvimento de estratégias que manipulem o estado fisiológico, com o objetivo final de melhorar a saúde do indivíduo por meio de intervenções personalizadas (Braconi *et al.*, 2018; Mancano; Mora-Ortiz; Claus, 2018). Estudos experimentais têm demonstrado alterações metabólicas associadas a dietas específicas, tanto em humanos quanto em modelos animais, bem como a relação entre padrões alimentares e o desenvolvimento de doenças (Licha *et al.*, 2019; Shi *et al.*, 2018; Tovar *et al.*, 2017; Weng *et al.*, 2019).

3.2.3.1 Metabolômica no processamento de alimentos

O processamento de alimentos pode ser definido como a transformação química e/ou física de alimentos crus para gerar produtos que possam ser armazenados por períodos mais longos e facilmente preparados pelo consumidor. Além disso, processos industriais são aplicados para fornecer produtos com sabores, cores e texturas alternativas, ou para aprimorar suas propriedades nutricionais. Como as tecnologias de processamento frequentemente impactam os valores nutricionais e os atributos sensoriais dos alimentos, uma análise detalhada dos metabólitos é crucial para entender a relação entre a qualidade dos alimentos e os efeitos do processamento (Diez-Simon; Mumm; Hall, 2019; Kamiloglu; Van Camp; Capanoglu, 2018). Nesse contexto, o uso da análise metabolômica para avaliar transformações em alimentos tem apresentado grande potencial devido à sua capacidade de examinar amostras de alta complexidade, detectar milhares de *features* e identificar metabólitos desconhecidos (Castro-Puyana *et al.*, 2017).

No entanto, a abordagem metabolômica para avaliar o impacto do processamento também apresenta algumas limitações. Na prática, os objetivos dessa técnica são difíceis de serem alcançados devido principalmente à considerável variabilidade química dos metabólitos presentes nas matrizes alimentares. Alimentos processados, em geral, têm um perfil bioquímico mais complexo em comparação aos alimentos frescos devido à adição de outros ingredientes para melhorar sua aparência, odor, sabor e estabilidade (Utpott *et al.*, 2022). Além disso, o processamento pode promover modificações químicas específicas, relacionadas ao mecanismo de ação da tecnologia aplicada, o que dificulta a identificação de certos compostos. Assim, é necessário adotar múltiplos métodos para identificar diferentes classes químicas, bem como utilizar diferentes plataformas analíticas (Rocchetti *et al.*, 2018). Alimentos minimamente processados ou que foram submetidos a métodos tradicionais da indústria alimentícia, como aquecimento, secagem, concentração, maturação e fermentação, já foram avaliados por estudos metabolômicos (Utpott *et al.*, 2022).

Estudos recentes têm demonstrado o potencial da metabolômica para elucidar os efeitos do processamento térmico sobre a composição química de diferentes matrizes alimentares. Li *et al.* (2021) investigaram as alterações metabolômicas em filés de tilápia submetidos a distintos métodos de cocção, incluindo cozimento a vapor, fervura e fritura a ar. O processamento térmico influenciou significativamente a qualidade dos filés, com aminoácidos, fosfolipídeos e nucleotídeos desempenhando um papel central entre os metabólitos diferenciais, impactando de forma relevante o sabor e o valor nutricional. Em outro estudo, Zhang *et al.* (2024) utilizaram a análise metabolômica para avaliar o perfil de compostos do óleo de noz obtido em diferentes

temperaturas de torra (30 e a 180 °C). Os resultados indicaram que os conteúdos de glicerolipídeos, esfingolipídeos e glicerofosfolipídeos diminuíram com o aumento da temperatura de torra, enquanto os ácidos graxos oxidados e os triglicerídeos aumentaram. As principais classes de micronutrientes apresentaram uma tendência de aumento nas temperaturas de torra de 120 e 140 °C, seguido de uma diminuição a 160 e 180 °C.

Atualmente, tecnologias inovadoras de processamento, tanto térmicas (como aquecimento ôhmico, radiação infravermelha e micro-ondas) quanto não térmicas (como ultrassom, alta pressão, cisalhamento e plasma frio), estão ganhando destaque na indústria alimentícia; essas tecnologias apresentam diversas vantagens em relação aos métodos tradicionais, como a redução do tempo de processamento, maior preservação da qualidade do alimento, aumento da eficiência, baixo consumo energético e sustentabilidade ambiental. A maioria desses processos ainda se encontra em estágio inicial de pesquisa ou implementação (Nobile *et al.*, 2025). Nesse contexto, estudos metabolômicos aplicados à avaliação de tecnologias inovadoras têm demonstrado de forma promissora a eficácia desses tratamentos na inativação de microrganismos ou enzimas. Além disso, o impacto dessas tecnologias sobre os compostos bioativos presentes nas matrizes alimentares pode ser melhor compreendido por meio da metabolômica, utilizando abordagens direcionadas e não direcionadas.

Betoret *et al.* (2017) investigaram o processo de homogeneização em alta pressão em sucos de tangerina utilizando uma abordagem metabolômica baseada em NMR. O aumento das pressões de homogeneização resultou em uma menor degradação dos compostos bioativos durante o armazenamento, e a adição de trealose também contribuiu para a redução da perda de flavonoides. Os efeitos dessa tecnologia sobre os aspectos microbiológicos foram elucidados por meio da identificação das moléculas-chave responsáveis pela evolução do perfil microbiológico ao longo do período de armazenamento. Li *et al.* (2019) avaliaram o uso da tecnologia de plasma frio na preservação de frutas e vegetais. A análise metabolômica indicou que esse tratamento melhorou a biossíntese de metabólitos e de dois tipos de hormônios vegetais, além de promover o acúmulo de flavonoides e antocianinas em morangos cortados frescos. Além disso, o plasma contribuiu para o aumento da capacidade antioxidante dos morangos. Os resultados sugeriram que o plasma de descarga de barreira dielétrica a 45 kV por 1 min preservou as propriedades de textura e inibiu o crescimento microbiano.

Guduru *et al.* (2024) avaliaram o impacto do processamento por alta pressão (HPP) e da tecnologia de ultra-cisalhamento (UST) sobre os metabólitos do suco de beterraba e compararam com a pasteurização por processamento térmico (TP). Sete metabólitos (leucina, alanina, valina, glutamina, ácido gama-aminobutírico, frutose e glicose) foram identificados

como potenciais biomarcadores induzidos pelo processamento. Aminoácidos como leucina, valina, ácido gama-aminobutírico e glutamina foram os menos alterados pela HPP e os mais alterados pelo TP. Por outro lado, a alanina apresentou maior concentração nas amostras processadas em comparação com a amostra *in natura*. De forma geral, a análise de componentes principais indicou que tanto fatores extrínsecos, como parâmetros de processamento (temperatura, pressão, taxa de cisalhamento e tempo de retenção), quanto fatores intrínsecos, como a origem da beterraba, influenciaram as diferenças observadas entre os grupos.

Mais recentemente, Mercali *et al.* (2025) aplicaram a abordagem metabolômica não direcionada para investigar os efeitos do campo elétrico moderado (MEF) e da tensão de cisalhamento (SS) sobre o perfil químico de um suco misto de frutas e vegetais. As amostras foram processadas sob três condições distintas: tratamento térmico brando (40 °C), aplicação isolada de MEF e combinação de MEF com SS. Os resultados indicaram que os tratamentos com MEF, isolado ou combinado com SS, promoveram alterações significativas na composição metabolômica em comparação ao suco fresco e ao tratamento térmico brando. Entre os principais efeitos observados, destaca-se a degradação das antocianinas e o aumento de ácidos fenólicos, sugerindo efeitos não térmicos associados à liberação e transformação de compostos bioativos. Esses resultados indicam que o MEF induz efeitos não térmicos significativos, contribuindo para a degradação ou liberação de metabólitos-chave.

Capítulo 4 – Artigos científicos

A metodologia e os resultados da presente tese estão organizados na forma de quatro artigos científicos, que abordam de maneira complementar os efeitos da composição e de diferentes tecnologias de processamento sobre as propriedades físico-químicas e o perfil metabolômico de alimentos à base de plantas. Em conjunto, os estudos exploram a aplicação de abordagens metabolômicas integradas a análises físico-químicas e estatísticas multivariadas, com o objetivo de investigar as transformações induzidas pelo processamento e suas implicações para a qualidade, a funcionalidade e o potencial nutricional dos produtos avaliados.

Os três primeiros estudos concentram-se na análise de hambúrgueres à base de plantas, considerando os efeitos da composição e do comportamento desses produtos frente à cocção. O quarto estudo, por sua vez, foi desenvolvido durante o período de doutorado sanduíche realizado entre maio e outubro de 2024 na *The Ohio State University* (Columbus, OH, EUA), sob a orientação da professora Jessica Cooperstone e com a colaboração do professor V. M. Balasubramaniam. Essa experiência permitiu ampliar o escopo da tese, ao incluir a avaliação de bebidas à base de plantas e de tecnologias inovadoras baseadas em mecanismos não térmicos.

A seguir, são apresentados os artigos que compõem esta tese, acompanhados de seus respectivos títulos:

i) *Beyond nutritional labels: uncovering chemical diversity in commercial plant-based burgers through metabolomic profiling*

ii) *Chemical composition and cooking-induced physicochemical changes in plant-based and meat burgers*

iii) *Metabolomic insights into the impact of cooking technologies on plant-based burger compounds*

iv) *Chemical profile changes in almond milk induced by thermal, high-pressure and ultra-shear treatments*

Artigo 2 – Chemical composition and cooking-induced physicochemical changes in plant-based and meat burgers

Artigo publicado na revista "Food Research International"

https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.118292

Abstract

The present study combined chemical and physicochemical analyses to investigate plant-based (PB) and meat-based (MB) burgers. Raw samples were profiled by HPLC-MS/MS, and the effects of different cooking methods (air frying, oven baking, grilling, and microwaving) were assessed through measurements of cooking loss, shrinkage, pH, moisture content, water-holding capacity, color, and texture. MB samples were characterized by amino acids, dipeptides, and phospholipids related to protein metabolism and membrane integrity, which may account for their greater structural strength. In contrast, PB formulations were dominated by flavonoids, phenolic acids, and organic acids, metabolites that contribute to antioxidant activity but provide limited support for structural network formation. Cooking methods significantly influenced physicochemical properties, with the most pronounced effects observed in microwave-cooked samples, which exhibited greater cooking loss, increased thickness variation, reduced moisture content, and texture modifications, including enhanced hardness, chewiness, and resilience. Principal component analysis, however, indicated that the main source of variation was between burger types (mainly PB and MB) driven by their intrinsic compositional differences. MB burgers showed lower pH, reduced water-holding capacity, higher cooking losses, and markedly firmer textures, with hardness and chewiness up to ten times greater than PB patties. Overall, the combined chemical and physicochemical analyses provide a comprehensive understanding of how formulation drives cooking behavior and highlight the ongoing challenge for PB products to effectively replicate the textural and structural attributes of meat.

Keywords: meat analogue; cooking loss; texture; air frying; microwaving.

1 Introduction

The growing controversy surrounding meat production stems from its economic, environmental, and health implications. Ethical concerns regarding animal welfare, such as confinement and slaughtering practices, further intensify the debate (Kolbe, 2018). Compared to plant-based foods, the meat industry consumes more water and land resources while contributing to higher greenhouse gas emissions (Bakhsh, Lee, Lee, Hwang, et al., 2021; Ishaq et al., 2022). Excessive meat consumption has also been linked to several health risks, such as cardiovascular diseases, foodborne infections, and colorectal cancer, as well as concerns about the transmission of diseases from animals to humans due to the overuse of antibiotics in animal farming (Hu et al., 2019). In this scenario, there has been significant interest in the development of plant-based foods to replace traditional meat products. The projected global population growth, expected to reach 10 billion by 2050 (Pingali et al., 2023), further drives the demand for alternative protein sources.

Plant-based meat, also known as meat alternatives or meat analogs, consists of plant-derived products designed to replicate the appearance, texture, flavor, and functionality of conventional meat (Boukid, 2021). In response to shifting consumer preferences, the food industry has integrated traditional processing methods with innovations to expand the availability of these products in the market. In 2024, the global meat substitutes market was valued at USD 7.24 billion and is projected to reach around USD 16 billion by 2032, with a compound annual growth rate (CAGR) of approximately 11% over the forecast period (Fortune Business Insights, 2025). Despite challenging market conditions, this industry has experienced rapid growth and significant advancements in the field of research and development. Among meat analogs, plant-based burgers are the most widely consumed products. Their formulation involves a combination of proteins, lipids, and polysaccharides, along with plant-based colorants and flavoring agents, all processed to mimic the textural, sensory, and nutritional attributes of animal meat (Bohrer, 2019).

The cooking process of plant-based burgers plays a crucial role in the microbiological safety, ensuring pathogen elimination and directly affecting their quality. The physicochemical properties of food are highly influenced by the type and intensity of the thermal treatment (Pathare & Roskilly, 2016). The cooking method influences three main factors: surface temperature, temperature profile throughout the food, and heat transfer mechanism. The surface temperature and the heat transfer mechanism affect color, odor, and flavor, while the temperature gradient influences the rate and extent of protein structural changes (Bejerholm et

al., 2014). Consumers generally choose a cooking method based on the pursuit of a high-quality product with desirable texture and flavor (Alfaifi et al., 2023).

The impact of different cooking methods on the properties of meat products has already been extensively evaluated, covering beef steaks (García-Segovia et al., 2007; Jouquand et al., 2015; Lee et al., 2021; Oz et al., 2017; Palka, 2003; Póltorak et al., 2015), ground meat (Pan & Paul Singh, 2001), foal meat (Domínguez et al., 2014; Lorenzo et al., 2015), camel meat (Hobani et al., 2023), rabbit meat (Abdel-Naeem et al., 2021), pork (Ángel-Rendón et al., 2020; Dall Aaslyng et al., 2003; Kurp et al., 2022), chicken (Choi et al., 2016; Kassama & Ngadi, 2005; Murphy et al., 2001), and chicken nuggets (Castro-López et al., 2023). For instance, Lorenzo et al. (2015) reported that microwave cooking led to higher dehydration, mass loss, and increased hardness in foal meat. In contrast, Lee et al. (2021) found that grilling produced juicier and more tender samples compared to other techniques. Meanwhile, Wen et al. (2022) observed that both air frying and oven baking promoted crust formation and moisture loss due to exposure to hot air. Overall, these findings demonstrate that the cooking process has a significant impact on product properties. By optimizing both the material formulation and cooking method, it is possible to achieve products with the desired textural qualities.

As far as we know, few studies have investigated the effects of cooking methods on the physicochemical characteristics of meat analogs. Since the quality standards of these products are closely linked to their physicochemical properties, evaluating how different cooking methods influence these characteristics is essential for optimizing their preparation. Furthermore, the resemblance of plant-based products to their animal-based counterparts plays a key role in consumer acceptance. In this context, this study aimed to establish the chemical profile of raw plant-based and meat-based burgers using HPLC-MS/MS and to evaluate the impact of four common cooking technologies (air fryer, electric oven, electric grill, and microwave) on their physicochemical properties. This combined approach provides a more comprehensive understanding of the intrinsic differences between burger types and how these differences influence cooking behavior. Such understanding is crucial for optimizing the formulation of high-quality plant-based foods that closely mimic the properties of animal-based products.

2 Materials and methods

2.1 Samples

This study evaluated three types of burgers: a commercial plant-based burger (PB1), a homemade plant-based burger (PB2), and a meat-based burger (MB). PB1 was a commercially available product weighing 115 g with a diameter of 10 cm. To represent plant-based burgers commonly prepared at home, a homemade version (PB2) was formulated using chickpeas, beetroot, carrot, oat flour, sour starch, and seasonings. Vegetables were processed to a homogeneous consistency and then combined with the dry ingredients. The resulting mixture was further homogenized and shaped into 115 g patties using a 10 cm diameter mold. The meat-based burger (MB) was manually prepared from ground beef of the Brazilian "Alcatra" cut. To ensure comparability, all burgers were standardized in weight and size to match PB1. Detailed ingredient compositions are provided in **Table 1**. Prior to cooking, all samples were stored at –20 °C and thawed under refrigeration at 4 °C for 24 h.

Table 1 – Detailed composition of commercial plant-based burgers (PB1), homemade plant-based burgers (PB2), and meat-based burgers (MB).

Sample	Ingredients*
PB1	Water, textured soy protein, isolated soy protein, pea protein, chickpea flour, coconut fat, canola oil, natural flavor, methylcellulose, salt, beetroot powder
PB2	Chickpea (42%), beetroot (12%), carrot (12%), oat flour (12%), sour tapioca starch (7%), onion (7%), garlic (2%), parsley (2%), olive oil (1%), salt (1%), sweet paprika (0.7%), oregano (0.2%), black pepper (0.1%)
MB	Ground beef (100%)

*PB1: The exact composition was not disclosed by the manufacturer.

2.2 Proximate composition

Proximate composition of raw plant-based and meat burgers was determined according to AOAC (2005) methods. Moisture (925.10) was measured gravimetrically by oven-drying at 105 °C to constant weight (TE-394/2, Tecnal, Brazil). Lipids (920.39) were quantified by Soxhlet extraction with petroleum ether (ST 255 Soxtec, Foss, Denmark). Protein (2001.11) content was determined by the Kjeldahl method using a conversion factor of 6.25. Ash content (923.03) was obtained by incineration in a muffle furnace at 550 °C for 12 h (312.6SO ML1729, Elektro Therm Linn, Germany). Total carbohydrates were calculated by difference.

2.3 Metabolite profiling of raw samples by HPLC-MS/MS

2.3.1 Reagents and standards

LC-MS grade acetonitrile, methanol, and formic acid were purchased from J.T. Baker (Phillipsburg, USA). Ultrapure water was obtained from a Milli-Q® purification system (Millipore, France). A set of thirty-two analytical standards, all supplied by Sigma-Aldrich (St. Louis, USA), was employed: apigenin, caffeic acid, catechin, daidzein, ellagic acid, epicatechin, epigallocatechin, gallic acid, gallocatechin, gallocatechin gallate, hydroxybenzoic acid, kaempferol, luteolin, *m*-coumaric acid, myricetin, naringenin, *p*-coumaric acid, procyanidin dimer A2, procyanidin dimer B1, procyanidin trimer C1, pyrogallol, quercetin, quercetin-3-*O*-glucoside, resveratrol, rutin, sinapic acid, 2,5-dihydroxybenzoic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid, 5-*O*-caffeoylquinic acid, theogallin, *trans*-ferulic acid, and vanillic acid. The mobile phases were filtered using cellulose acetate membranes for the aqueous phase and hydrophilic PTFE membranes for the organic phase.

2.3.2 Extraction of metabolites

Compound extraction was performed according to a protocol adapted from Rodrigues et al. (2013). In brief, 0.25 g of freeze-dried sample was mixed with 1.5 mL of methanol/water (8:2, v/v) containing 0.35% formic acid. The mixture was vortexed at 3800 rpm for 3 min (AP56, Phoenix Luferco, Brazil) and centrifuged at 10,000 *g* for 5 min at room temperature (20–25°C) (MiniSpin, Eppendorf, Germany). The supernatant was collected and stored at −80 °C until further analysis. All samples were filtered through hydrophilic PTFE syringe filters (0.22 μm) prior to data acquisition.

2.3.3 Data acquisition

LC-MS/MS analyses were performed using a high-performance liquid chromatography (HPLC) system (1260 Infinity III, Agilent, USA) coupled to a quadrupole time-of-flight mass spectrometer (QTOF-MS, TripleTOF 5600-1, AB Sciex, USA). Samples were injected in randomized order onto an InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 column (3.0 × 50 mm, 2.7 μm particle size; Agilent, USA). The mobile phase consisted of solvent A (0.1% formic acid in water) and solvent B (0.1% formic acid in acetonitrile). The gradient program was as follows: 0–1 min, isocratic at 10% B; 1–2 min, linear increase to 20% B; 2–9 min, linear increase to 60% B; 9–10 min, linear increase to 90% B; 10–11 min, isocratic at 90% B; 11–12 min, linear decrease to 10% B; and 12–15 min, isocratic at 10% B. The flow rate was 0.4 mL min^{-1}, the

column temperature was maintained at 40 °C, and the injection volume was 5 µL. The HPLC system was coupled to the QTOF-MS via an electrospray ionization (ESI) source operated in both positive and negative ionization modes. Mass spectrometer parameters were set as follows: gas temperature at 325 °C, drying gas flow at 10 L min^{-1}, nebulizer pressure at 4.5 bar, and mass scan range *m/z* of 100–1500. MS2 data were acquired using the same conditions in auto MS/MS mode with a collision energy of 10 eV.

2.3.4 Metabolite annotation

Metabolite annotation was conducted following the Metabolomics Standards Initiative (MSI) guidelines, applying different levels of identification confidence (Sumner et al., 2007). Level 1 identifications were achieved by matching metabolites against an in-house standard library (Phenolic Lab Brazil) using both retention time and spectral data (MS1 and MS2). For Level 2 annotation, MS2 fragmentation spectra were compared against publicly available spectral libraries, including the Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS) database (Aron et al., 2020). Classical Molecular Networking was performed using a precursor ion mass tolerance of 0.02 Da, a minimum of four matched fragment peaks, and a cosine similarity score greater than 0.7. Complementary databases, such as HMDB, MoNA, and the NIST Mass Spectral Search Program, were also consulted to verify fragmentation patterns of compounds of interest.

2.3.5 Dataset availability

The MS/MS dataset supporting this study is publicly available in the GNPS MassIVE repository under accession number MSV000099279 (Wang et al., 2016).

2.4 Cooking methods

The burgers were cooked in triplicate using four different technologies: air fryer (AF-3, Mondial New Pratic, Brazil), electric oven (FE4222BR, Suggar, Brazil), electric grill (BPE01, Britânia, Brazil), and microwave (MDC212B, Menumaster, USA). Except for the microwave, all appliances were preheated for 10 min, and the samples were cooked at 180 °C until they reached an internal temperature of 71 °C, as recommended by the Brazilian Health Regulatory Agency (ANVISA) for safe consumption. The internal temperature of all samples was continuously monitored using a fiber optic thermometer (TS3, Weidmann Optocon, Germany) inserted into the center of the burgers. For oven cooking, the samples were placed on a baking

tray, and both the upper and lower heating elements were activated to ensure uniform heat distribution. In the air fryer and oven, the samples were flipped every 5 min, while on the grill, they were flipped every 3 min. Due to the microwave significantly faster heating process, the samples reached 71 °C without developing the typical cooked appearance. Therefore, based on preliminary tests, a fixed cooking time of 8 min was established to ensure they reached the required safe temperature while maintaining a suitable texture. Microwaving was performed at 960 W (30% of the maximum power) and the samples were not flipped during the cooking process. After cooking, excess moisture was removed from the surface of the samples, and they were cooled to room temperature (20–25°C) before physicochemical characterization.

2.5 Physicochemical characterization

2.5.1 Cooking loss

Cooking loss was determined as the percentage weight reduction of the cooked sample compared to the raw sample, according to Ko et al. (2021). Raw samples were analyzed after thawing, while cooked samples were analyzed after cooling to room temperature. Cooking loss (ΔW) was calculated using Equation (1).

$$\Delta W\ (\%) = \left(\frac{W_i - W_f}{Wi}\right) \cdot 100 \quad (1)$$

where W_i (g) and W_f (g) are the sample weight before and after cooking, respectively.

2.5.2 Shrinkage

Shrinkage was evaluated by measuring changes in patty diameter and thickness after cooking, using a caliper (530-104, Mitutoyo, Japan), in accordance with Wen et al. (2022). The mean of three measurements per sample was used to calculate diameter (ΔD) and thickness (ΔL) reductions using Equations (2) and (3), respectively.

$$\Delta D\ (\%) = \left(\frac{D_i - D_f}{D_i}\right) \cdot 100 \quad (2)$$

where D_i (g) and D_f (g) are the sample diameter before and after cooking, respectively.

$$\Delta L\ (\%) = \left(\frac{L_i - L_f}{L_i}\right) \cdot 100 \quad (3)$$

where L_i (g) and L_f (g) are the sample thickness before and after cooking, respectively.

2.5.3 Moisture content

Moisture content of raw and cooked samples was determined following the official AOAC oven air-drying method (925.10) (AOAC, 2005). To prevent potential caramelization of the samples due to high temperatures, the samples (3 g) were homogenized with pre-dried sand before being oven-dried at 105 °C for 24 h.

2.5.4 Water holding capacity

Water holding capacity of cooked samples was determined using a simple low-speed centrifugation method, as described by Zhou et al. (2022). A filter paper was placed at the bottom of a centrifuge tube to absorb water released during centrifugation. A 5 g sample was weighed, placed on the filter paper, and the tube was sealed before centrifugation at 1500 *g* for 15 min. The water holding capacity (WHC) was then calculated using Equation (4).

$$\mathrm{WHC}\ (\%) = \left(\frac{W_f}{W_i}\right) \cdot 100 \tag{4}$$

where W_i (g) and W_f (g) are the sample weight before and after centrifugation, respectively.

2.5.5 pH

The pH values of raw and cooked samples were determined using a digital pH meter (MP230, Mettler Toledo, Switzerland), following an adapted method from Bakhsh, Lee, Lee, Sabikun, et al. (2021). For each measurement, 5 g of sample was manually homogenized in 50 mL of distilled water using a glass rod, and left to stand for 10 min before pH determination.

2.5.6 Instrumental color

The color of the samples was evaluated using a colorimeter (Chroma Meter CR-300, Minolta, Japan), based on CIELab color parameters: L* (lightness), a* (redness/greenness) and b* (yellowness/blueness), as described by Vu et al. (2022). Measurements were taken at three different points on each sample, and the mean values were used. The color difference between raw and cooked samples (ΔE) was calculated using Equation (5).

$$\Delta E = \sqrt{(L^* - {L_0}^*)^2 + (a^* - {a_0}^*)^2 + (b^* - {b_0}^*)^2} \tag{5}$$

where L_0*, a_0*, and b_0* are the color parameters of the raw sample, and L*, a*, and b* are the color parameters of the cooked sample.

2.5.7 Texture profile analysis

The impact of cooking on the textural characteristics of the patties was assessed using a double compression test. Measurements were performed using a texture analyzer (TA-XT PlusC, Stable Micro Systems, UK) equipped with a 36 mm diameter probe, following the adapted methodology of Ko et al. (2021). Samples were cut into 1 cm^3 cubes with smooth edges, placed in the measurement cell, and subjected to two compression-decompression cycles at a constant speed of 2 $mm \cdot s^{-1}$, with a final deformation of 50% and a trigger force of 5.0 *g*. The force-time data, automatically recorded by the device's software, were used to calculate the parameters of the texture profile analysis (TPA), including hardness, chewiness, cohesiveness, springiness, and resilience.

2.6 Statistical analyses

The statistical analyses were performed using R software (R Core Team, 2024) with the agricolae package (De Mendiburu, 2021). Statistical differences between treatments were evaluated through analysis of variance (ANOVA), followed by the Tukey HSD post-hoc test for multiple comparisons of means ($p < 0.05$). The results were expressed as mean ± standard deviation.

3 Results and discussion

3.1 Chemical composition of raw burgers

The proximate composition of the three burger samples showed marked differences that reflected their formulation, as detailed in **Table 2**. The commercial plant-based burger (PB1) exhibited the highest protein content among the plant-based samples due to the inclusion of concentrated protein sources. Its fat content was relatively high, likely attributable to the added coconut fat and canola oil. PB1 also showed the highest ash content, mainly due to the presence of salt, chickpea flour, and additives such as methylcellulose and protein isolates, which may contribute inorganic residues. The homemade plant-based burger (PB2) had a considerably lower protein and fat contents, corresponding to the absence of concentrated protein sources and minimal added fats. Its ash content was intermediate, reflecting the natural mineral contribution of ingredients such as chickpea, beetroot, and the small amount of added salt. In contrast, carbohydrates dominated PB2, consistent with the high proportion of vegetables (chickpea, beetroot, carrot, onion) and starch-based ingredients (oat flour and sour tapioca

starch). The meat-based burger (MB) exhibited the highest protein content overall, reflecting the high protein content of ground beef, while fat content was moderate. The lowest ash values were observed for MB, consistent with its composition of pure ground beef, which naturally contains lower levels of inorganic matter compared to plant-based formulations. Carbohydrates were also minimal, as expected in a product composed almost exclusively of meat.

Table 2 – Proximate composition of commercial plant-based burgers (PB1), homemade plant-based burgers (PB2), and meat-based burgers (MB).

Component	PB1 (%)	PB2 (%)	MB (%)
Protein	39.6 ± 0.8^{b}	13.4 ± 0.1^{c}	83.3 ± 0.5^{a}
Fat	13.2 ± 0.4^{a}	0.31 ± 0.03^{c}	3.99 ± 0.02^{b}
Ash	7.87 ± 0.04^{a}	5.0 ± 0.2^{b}	4.06 ± 0.02^{c}
Carbohydrates	39.4 ± 0.5^{b}	81.3 ± 0.2^{a}	8.7 ± 0.3^{c}

Values are represented as mean ± standard deviation.

Values are expressed on a dry basis. Carbohydrates were calculated by difference.

Different superscript letters in the same row indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

A total of 84 compounds were annotated in the raw burgers, encompassing several chemical classes, such as flavonoids, phenolic acids, organic acids, lipids, amino acids, carbohydrates, peptides, and nucleosides (**Table 3**). As depicted in the molecular network (**Figure 1**), some metabolites were common to all burger types, representing a core metabolic profile. These included amino acids (L-phenylalanine and L-tryptophan), nucleosides (valyltyrosine), and structural lipids, such as lysophosphatidylethanolamines (LPEs; e.g., LPE(16:0), LPE(16:1), LPE(18:1), LPE(18:2), and LPE(18:3)) and lysophosphatidylglycerols (LPGs; e.g., LPG(16:0), and LPG(18:1)). The presence of these shared metabolites reflects fundamental biochemical pathways common to both plant and animal-derived ingredients.

Beyond this shared metabolic core, the three burger types displayed distinctive profiles that reflected their formulation and raw materials. PB2 exhibited a greater diversity of phenolic compounds, particularly phenolic acids (e.g., hydroxybenzoic acid, dihydroxybenzoic acid, gentisic acid 5-*O*-β-glucoside, coumaric acid O-glucoside, and 3-*O*-feruloylquinic acid) and flavonoids (e.g., biochanin A, formononetin, luteolin, apigenin, quercetin, kaempferide, taxifolin, and their glycosylated or glucuronidated derivatives). This broader phenolic profile is likely attributable to the inclusion of vegetables and spices, which are naturally rich in polyphenols (Manach et al., 2004). Organic acids, such as malic and citric acids, were also more

abundant in PB2, consistent with its higher proportion of vegetables (beetroot, carrot, and onion) (Hounsome et al., 2008). In addition, PB2 presented sulfur-containing peptides, such as N-γ-glutamyl-S-allylcysteine, in agreement with the presence of garlic in its formulation (Lanzotti, 2006).

PB1, mainly composed of processed plant proteins (soy, pea, and chickpea), oils, and additives, showed a more restricted phenolic profile compared to PB2, but retained the presence of characteristic soy-derived isoflavonoids (daidzein, genistein, daidzin and genistin), in addition to carbohydrates, such as sucrose. This lower abundance of phenolic compounds in PB1 may also be attributed to the higher degree of processing of soy during the production of protein concentrates, a process that often leads to the loss of bioactive compounds when compared to less processed, more natural products such as those added to PB2.

The meat-based burger (MB), in turn, was distinguished by the higher relative abundance of amino acids (L-glutamine, L-glutamic acid, L-arginine, and L-carnitine), peptides (carnosine and Diprotin A), and lipid species derived from LPEs (LPE(17:1), LPE(18:0), LPE(20:3), LPE(20:4), LPE(20:5), and LPE(22:4)). Notably, the prevalence of long-chain and polyunsaturated LPEs is consistent with their role as structural components of muscle cell membranes and with the typical lipid composition of beef, which is rich in phospholipid-derived species (Kraft et al., 2008). This lipid profile, therefore, reflects the characteristic membrane architecture and fatty acid metabolism of animal tissues.

Overall, the comparative analysis highlights that PB2 exhibited the richest and most diverse metabolite profile, dominated by phenolics and plant-derived organic acids, PB1 presented a more restricted profile centered on soy isoflavonoids, and MB was characterized by the presence of amino acids, peptides, and structural lipids. These compositional differences reflect the distinct nutritional and functional contributions of plant- versus meat-based ingredients.

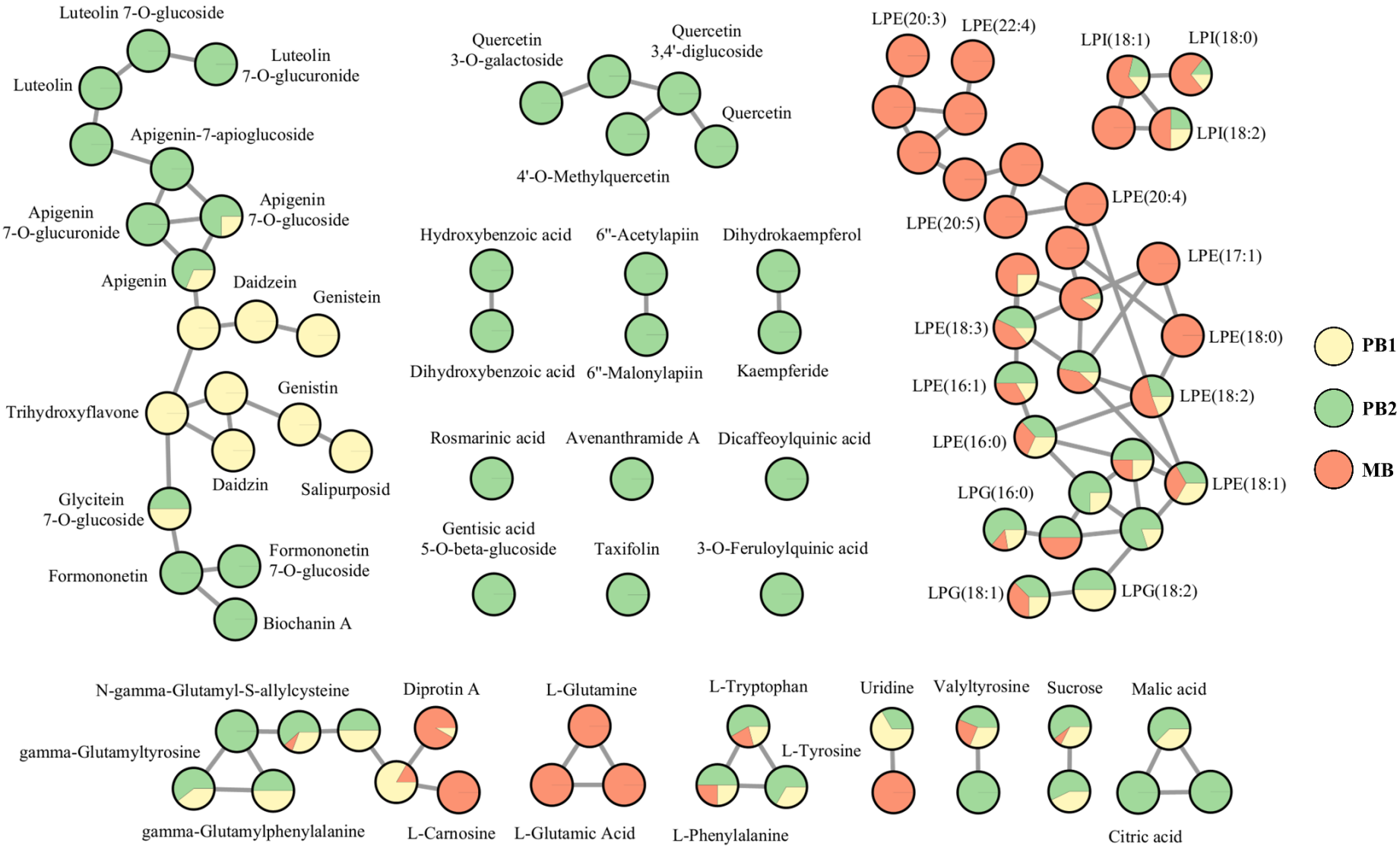


Figure 1 – Molecular network generated from LC-MS/MS data in negative ionization mode of raw samples: commercial plant-based burger (PB1), homemade plant-based burger (PB2), and meat-based burger (MB).

3.2 Physicochemical changes induced by cooking

3.2.1 Cooking loss and shrinkage

Cooking loss refers to the mixture of water and soluble substances lost from food during cooking. This process is influenced by various factors, including cooking temperature, cooking time, presence of connective tissue components and muscle fibers. In the meat industry, cooking loss is a crucial parameter, as it directly impacts product juiciness and the technological yield of the cooking process. From a nutritional perspective, cooking loss leads to a reduction in soluble proteins, vitamins, and other nutrients (Dall Aaslyng et al., 2003). When exposed to high temperatures, water evaporation and mass loss can cause structural changes in the food, such as diameter and thickness reduction, commonly known as shrinkage (Gómez et al., 2019). **Figure 2** illustrates the (a) cooking loss (ΔW), (b) diameter reduction (ΔD), and (c) thickness reduction (ΔL) observed in the plant-based and meat-based burgers subjected to different cooking methods. The corresponding mean values and standard deviations can be found in **Table S1** (**Supplementary Material**).

Cooking loss was significantly ($p < 0.05$) affected by cooking method. Grilled samples showed the lowest cooking losses, followed by those cooked in the air fryer and oven. In contrast, the highest losses were recorded for samples prepared using the microwave. The lower cooking loss in grilled samples can be attributed to the surface searing effect caused by direct contact with the grill. This searing forms a protective barrier that minimizes moisture loss, helping to retain the product juiciness. These findings are consistent with those of Domínguez et al. (2014), who reported lower cooking losses when grilling foal meat compared to cooking methods such as microwave and oven baking. Similarly, Lee et al. (2021) found that beef cooked on a grill at 230 °C had a higher juiciness score than oven-roasted beef, attributing this to reduced moisture loss and the sealing effect on the meat surface. On the other hand, microwave cooking resulted in the highest cooking loss, which can be explained by its unique heating mechanism. Unlike conventional methods, where heat is transferred gradually from the surface to the core, microwaves penetrate into the food and generate heat internally by exciting polar molecules, particularly water (Menéndez et al., 2010). As these molecules rapidly vibrate in response to the oscillating electromagnetic field, frictional heat is generated, leading to intense water evaporation. Since this process occurs throughout the entire food volume rather than just at the surface, moisture is lost more uniformly and at a faster rate, resulting in greater dehydration and, consequently, higher cooking losses. The greater mass loss observed in

microwave-cooked samples is consistent with findings from other studies (Alfaia et al., 2010; Lorenzo et al., 2015; Serrano et al., 2007).

The compositional differences among the three burger types (**Figure 1**) are also reflected in their physicochemical behavior during cooking. For each cooking method, cooking loss was significantly higher ($p < 0.05$) in MB patties compared to PB1 and PB2. Cooking loss in beef is mainly a result of protein denaturation and transformations in the muscle fibers induced by heat. Collagen, found in the connective tissue, exists in a rigid triple-helix structure at ambient temperatures, providing mechanical strength to the meat. However, when heated collagen undergoes a helix-to-coil transition, leading to the softening of muscle tissues. Additionally, the denaturation of actin and myosin within the muscle fibers results in shrinkage and aggregation of the protein filaments, which causes less water to be entrapped within the protein structures held by capillary forces (Purslow et al., 2016; Vaskoska et al., 2021). The prevalence of long-chain and polyunsaturated LPEs in MB, while reflective of its lipid-rich profile, also explains the enhanced release of fat during cooking, contributing to greater mass loss. In contrast, the protein network in plant-based patties remains stable during heating, as the proteins are already denatured and aggregated during processing, preventing further structural collapse. This helps the product to maintain its structure and retain more fluid. Plant-based patties also contain ingredients such as methylcellulose and starch, which are known to bind and retain water by forming porous networks (Vu et al., 2022). The significantly lower cooking loss observed in the homemade plant-based burgers (PB2) (6.4–17.5%) compared to PB1 (23.9–34.7%) and MB (26.4–40.8%) can be attributed to its chemical composition, particularly its lower lipid content and higher carbohydrate levels (**Table 2**). Since PB2 contains less fat, there is a reduced amount available for loss, leading to more efficient mass retention. Additionally, the higher carbohydrate content, derived from ingredients such as starches and oat flour, also enhance water retention within the product matrix, minimizing liquid release during thermal processing.

All samples exhibited diameter and thickness reduction after cooking, indicating a shrinkage process. During cooking, beef undergoes both transverse and longitudinal shrinkage of muscle fibers, along with the contraction of the connective tissue network. Structural changes include protein denaturation, myofibril coagulation, collagen solubilization, and gelatin formation. Myosin begins to denature at approximately 40 °C, leading to a reduction in filament diameter. As the temperature rises to 66–71 °C, actin denatures, leading to muscle contraction and water loss, which contribute to overall shrinkage (Vaskoska et al., 2020). Similarly, meat analogs shrink due to cohesive forces acting at their centers, accompanied by moisture loss

(Wen et al., 2022). When comparing the cooking technologies, no significant differences were observed in diameter reduction (ΔD), which may be attributed to the high standard deviation. Since the samples were not perfectly circular after cooking, diameter measurements were compromised. On the other hand, thickness reduction (ΔL) was significantly affected by the cooking method, with the highest values observed in microwave-cooked samples, aligning with their greater mass loss (ΔW).

3.2.2 pH and water-related properties

The pH and water-related properties of beef and plant-based burgers undergo changes after cooking due to various molecular and physicochemical processes triggered by heat. These include protein denaturation and aggregation, water evaporation, fat crystal melting, and chemical reactions (Zhou et al., 2022). **Figure 3** illustrates the (a) moisture content, (b) pH, and (c) water-holding capacity (WHC) of the burger samples prepared using the four evaluated cooking technologies. The corresponding mean values and standard deviations can be found in **Table S2** (**Supplementary Material**).

The moisture content of raw meat (72.7%) was significantly higher ($p < 0.05$) compared to raw plant-based burgers (PB1 = 65.9% e PB2 = 61.5%). This difference is expected, as meat naturally contains myofibrillar proteins, which have a strong water-binding capacity, whereas plant-based formulations incorporate proteins and fibers with different hydration properties (McClements & Grossmann, 2021). After cooking, all samples exhibited a significant reduction in moisture content, which can be attributed to the heat and mass transfer processes that occur during cooking. These processes are driven by temperature and moisture gradients between the product and its surrounding environment. Consequently, moisture evaporates from the surface of the product, contributing to mass loss. In meat, as previously discussed, myofibrillar proteins help retain water within the muscle. However, as the temperature increases, protein denaturation and muscle fiber shrinkage take place, leading to water loss. As seen in **Figure 3**, the cooking method had a significant impact on the final moisture content of the samples. Grilled samples retained the highest moisture levels (PB1 = 60.5%, PB2 = 59.3%, and MB = 68.2%), while microwaved samples had the lowest ones (PB1 = 52.7%, PB2 = 51.2%, and MB = 54.8%). This result aligns with the findings discussed in Section 3.1, as samples that exhibited greater cooking losses also had lower moisture content, and vice versa.

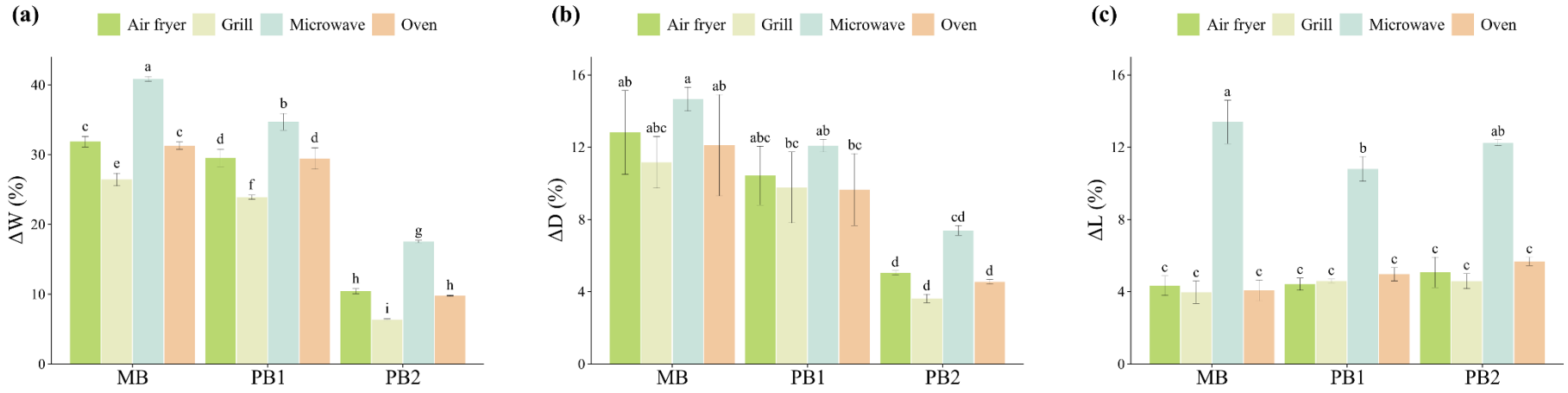


Figure 2 – (a) Cooking loss (ΔW); (b) diameter reduction (ΔD); and (c) thickness reduction (ΔL) of commercial plant-based burgers (PB1), homemade plant-based burgers (PB2), and meat-based burgers (MB) prepared using different cooking methods. Different superscript letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

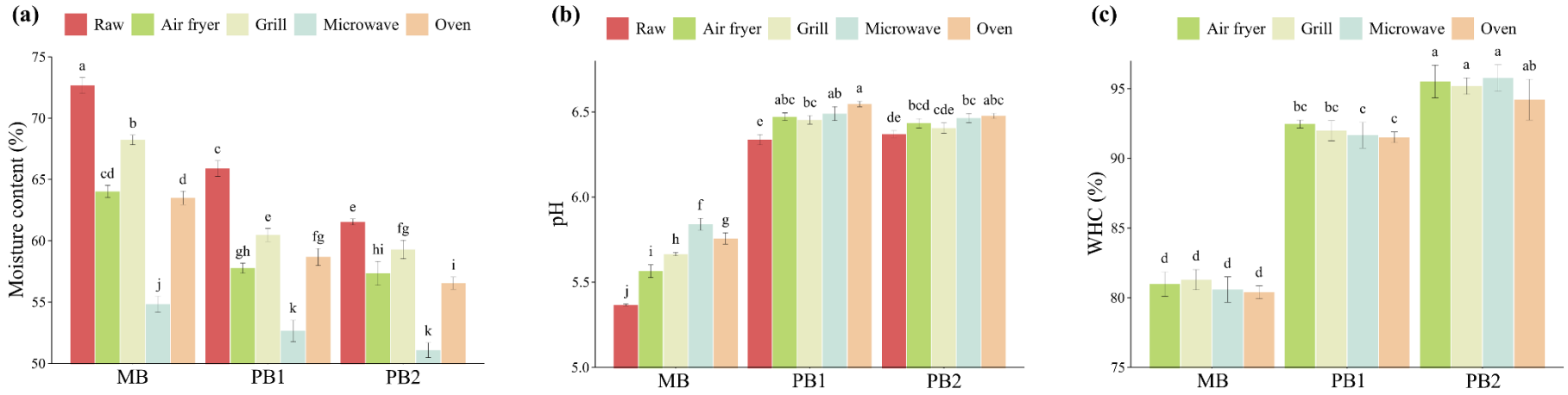


Figure 3 – (a) Moisture content; (b) pH; and (c) water-holding capacity (WHC) of commercial plant-based burgers (PB1), homemade plant-based burgers (PB2), and meat-based burgers (MB) before and after cooking using different methods. Different superscript letters indicate significant differences ($p < 0.05$).

The pH of meat is one of the most important physical properties influencing its quality after cooking. Several factors affect this parameter, with the most significant being pre-slaughter animal handling, the glycogen storage percentage in the muscles, the glycogen consumption, and the accumulation of lactic acid in the pre-slaughtering stage (Kadim et al., 2006). In this study, the pH of the meat-based (MB) burgers ranged from 5.37 to 5.84, aligning with values reported in the literature for red meat (García-Segovia et al., 2007; Oz et al., 2017). In contrast, plant-based burgers (PB1 and PB2) exhibited a higher pH (6.34–6.55), which can be attributed to the slight alkalinity of plant proteins and other ingredients used in their formulation (Bakhsh et al., 2022). After cooking, all samples exhibited a significant increase in pH. In meat, this effect can be primarily attributed to protein denaturation and the cleavage of chemical bonds, which can lead to reduced solubility and changes in charge distribution. The release of amino groups and modifications involving imidazole, sulfhydryl, and hydroxyl groups may also contribute to pH elevation after cooking (Fletcher et al., 2000; Liao et al., 2010; Oz et al., 2017). For plant-based analogs, the increase in pH can be explained by the reduction in available carboxyl groups during cooking, as well as the release of calcium and magnesium ions, which interact with acidic residues and influence the overall pH balance (Gómez et al., 2019). Cooking methods significantly affected the pH of MB samples, possibly due to differences in moisture content resulting from each technique. However, this effect was not observed in plant-based samples (PB1 and PB2).

Water holding capacity (WHC) refers to the material ability to retain water when exposed to external forces, such as centrifugation. This property is critical for assessing the functionality of protein components in meat analogs. To mimic the juiciness of the real meat, plant-based meat must effectively retain water (Pennells et al., 2024). The WHC of the PB burgers (91 ± 4%) was significantly higher than that of the beef burgers (80 ± 2%), suggesting that water was more tightly bound within the PB matrix, in agreement with previous findings (Zhou et al., 2022). The molecular network (**Figure 1**) supports this physicochemical pattern: PB1 and PB2 contain flavonoids, isoflavones, phenolic acids, sugars, and plant-derived metabolites, as well as likely added polysaccharides and fibers. These compounds provide numerous polar binding sites and promote gel-forming or entangling structures (Siemińska-Kuczer et al., 2022), which may enhance water retention capacity and explain the superior WHC observed in plant-based formulations. However, no significant differences in WHC were observed among the different cooking methods. While it was expected that samples with greater mass loss and lower moisture content, specifically those processed in the microwave, would exhibit lower WHC, other factors, such as protein structural changes and the presence of fibers

or lipids, may have mitigated the moisture loss, resulting in similar WHC across cooking methods. These results contrast with those observed by Lorenzo et al. (2015), who reported that camel meat subjected to microwave cooking, which experienced greater mass loss, exhibited the lowest WHC values (30.9%), whereas the highest WHC values were found in the samples cooked on the grill (40.0%). According to the authors, these differences suggest that microwave and grilling treatments induce varying degrees of actin denaturation, likely due to differences in heating rates. Consequently, differences in protein aggregation and crosslinking may influence water retention within the myofibrils, leading to variations in WHC.

3.2.3 Appearance and instrumental color

The appearance and color of food are essential quality attributes that influence consumer perception and desirability, serving as indicators of freshness and doneness. Meat color can be affected by various factors, including the animal breed, age, diet, muscle fiber type, myoglobin pigment concentration in the muscles, fat content, and cooking method (Mancini & Hunt, 2005). To fully mimic the properties and characteristics of meat, food colorants are often added to plant-based analogs. Therefore, evaluating and comparing the optical properties of plant-based burgers with those of meat burgers is crucial to understand their visual appeal and consumer acceptance. The visual appearance of raw and cooked samples prepared using different cooking methods is shown in **Figure 4**, while their color parameters (L*, a*, and b*) are presented in **Table 4**.

As seen in **Figure 4**, the raw samples exhibited distinct colors. PB1 displayed a uniform reddish-brown coloration, while PB2 showed a pinkish hue. In contrast, MB exhibited an intense red color and an irregular texture, characteristic of raw ground meat. The color observed in the PB1 sample is attributed to the addition of beetroot powder, whereas the color of PB2 results from the use of fresh beetroot and carrots (**Table 1**). Additionally, the green specks observed in PB2 are due to the presence of seasonings, such as parsley. Upon cooking, all samples underwent noticeable visual changes, including darkening, loss of shine, and significant shrinkage. The MB samples developed a brownish-gray color, while the PB samples exhibited a reddish-brown hue, making them visually distinct. Additionally, the PB samples retained a circular shape, whereas the MB samples developed a more irregular form. This difference may be related to the distinct structural modifications of plant and animal proteins during heating, influenced by factors such as denaturation and water holding capacity.

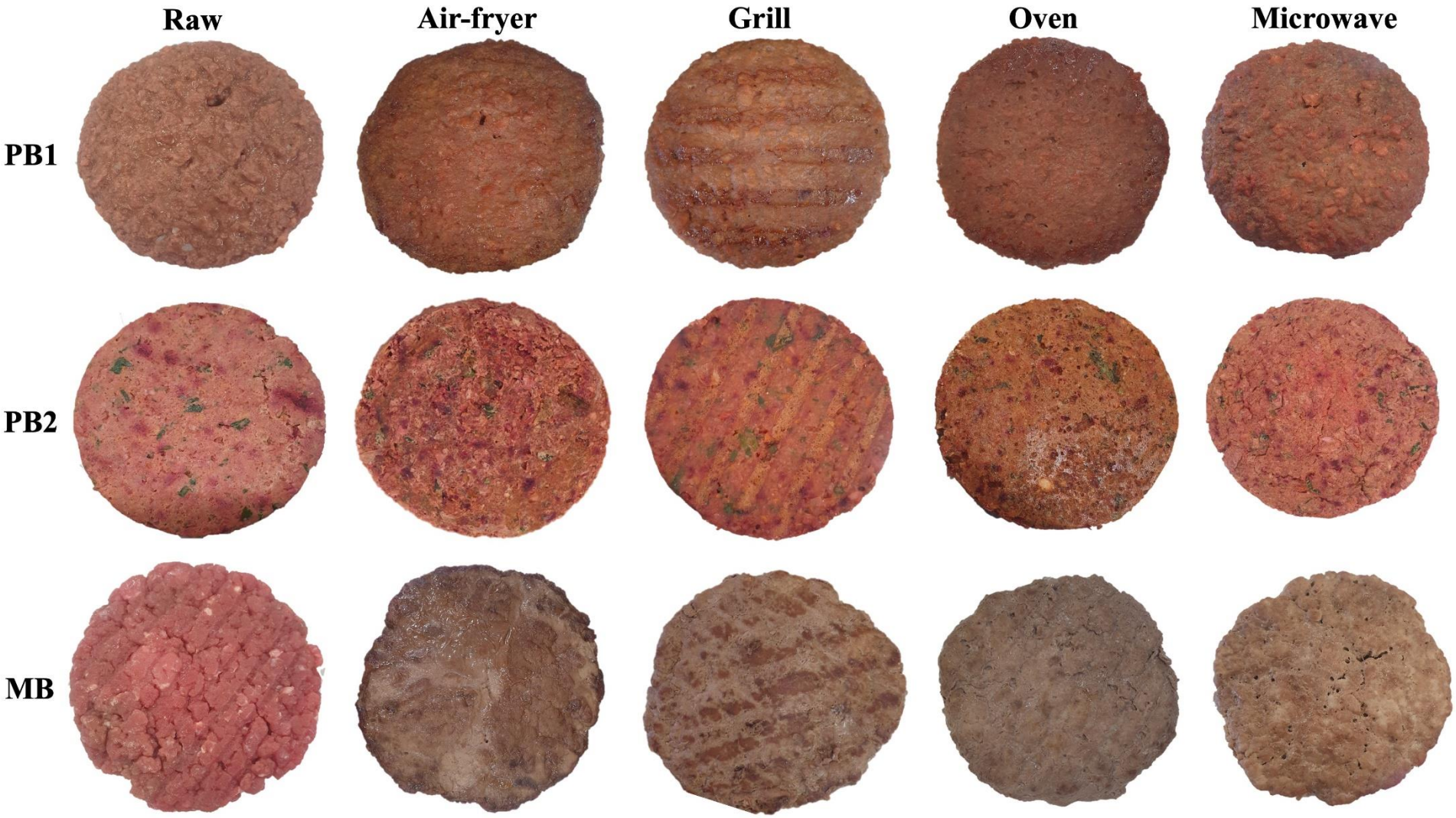


Figure 4 – Visual appearance of commercial plant-based burgers (PB1), homemade plant-based burgers (PB2), and meat-based burgers (MB) before and after cooking using different methods.

The cooking methods also influenced the appearance and color of the samples. The air-fried samples developed a characteristic crispy crust, particularly along the edges. Similarly, the PB samples cooked in the electric oven also exhibited crust formation. This effect can be attributed to the exposure to hot air during air-frying and oven-baking. In these processes, the surface temperature of the food is higher than its internal temperature, while the internal moisture content is greater than that of the outer layers, creating opposing temperature and moisture gradients. These conditions promote surface dehydration and protein denaturation followed by aggregation, leading to the formation of a compact layer on the surface of the food (Wen et al., 2022). The grill-cooked samples had the most visually appealing appearance, with characteristic grill marks. This likely helped seal the surface, reducing mass loss and preserving higher moisture content, as previously discussed. In contrast, microwave cooking produced samples with a visibly dry surface. Notably, PB2 and MB exhibited surface cracks, indicating dehydration and increased moisture loss. Among the different sample types, PB1 maintained a relatively uniform appearance across cooking methods, whereas PB2 presented notable variations in color and texture. Compared to MB, PB1 samples were the most similar, although still visually distinct.

The color parameters of the raw burgers were significantly different from one another ($p < 0.05$). The PB2 sample exhibited the highest values for lightness (L*), redness (a*), and yellowness (b*), followed by MB and PB1 (**Table 4**). After cooking, all patties showed a significant decrease in L* and a* values, which is consistent with their darker and less reddish appearance (**Figure 4**). Similar findings have been reported in previous studies on plant-based and meat-based products (Bakhsh, Lee, Lee, Sabikun, et al., 2021; Ilic et al., 2022; Vu et al., 2022; Zhou et al., 2022). All cooked samples exhibited high total color differences ($\Delta E > 3$) compared to the raw counterparts, indicating that the color changes were visually discernible (Pathare et al., 2013). The most pronounced color variation in PB1 and PB2 samples occurred in those cooked in the oven, primarily due to the reduction in lightness (L*), likely associated with crust formation. Conversely, MB samples exhibited the highest color variation after air fryer cooking, resulting from a significant reduction in all color parameters (L*, a*, and b*). These findings suggest that, beyond the impact of cooking methods on the appearance and color of the samples, significant differences were also observed between burger types, which can be attributed to the distinct composition and structural properties of each sample matrix.

Table 4 – Color parameters (L*, a*, and b*) and color difference (ΔE) of commercial plant-based burgers (PB1), homemade plant-based burgers (PB2), and meat-based burgers (MB) prepared using air-fryer (AF), grill (G), oven (O), and microwave (MW).

Sample	L*	a*	b*	ΔE
PB1-raw	36.9 ± 0.3^{ef}	12.0 ± 0.6^{d}	10.2 ± 0.2^{ef}	-
PB1-AF	29.7 ± 0.4^{i}	8.5 ± 0.4^{fg}	8.9 ± 0.2^{fg}	8.1 ± 0.4^{ef}
PB1-G	32.2 ± 0.2^{gh}	10.8 ± 0.3^{de}	11.3 ± 0.4^{de}	5.0 ± 0.4^{h}
PB1-O	26.8 ± 0.5^{j}	11.1 ± 0.7^{de}	9.8 ± 0.2^{ef}	10.2 ± 0.5^{d}
PB1-MW	30.2 ± 0.2^{i}	9.5 ± 0.3^{ef}	9.4 ± 0.2^{ef}	7.2 ± 0.3^{fg}
PB2-raw	46.4 ± 1.7^{a}	25.3 ± 1.1^{a}	17.5 ± 1.2^{c}	-
PB2-AF	38.0 ± 0.5^{de}	22.4 ± 1.4^{b}	19.1 ± 0.9^{bc}	9.1 ± 0.6^{de}
PB2-G	39.5 ± 0.3^{cd}	22.6 ± 1.0^{b}	20.1 ± 0.9^{b}	8.0 ± 0.7^{ef}
PB2-O	36.2 ± 0.5^{f}	18.8 ± 0.7^{c}	23.0 ± 0.5^{a}	13.3 ± 0.1^{c}
PB2-MW	41.3 ± 0.5^{b}	21.3 ± 0.5^{b}	17.8 ± 1.5^{c}	6.7 ± 0.8^{g}
MB-raw	39.8 ± 0.1^{bc}	20.8 ± 0.5^{b}	13.0 ± 0.4^{d}	-
MB-AF	31.2 ± 0.2^{hi}	7.1 ± 0.3^{gh}	6.6 ± 0.4^{h}	17.4 ± 0.4^{a}
MB-G	33.8 ± 0.3^{g}	6.2 ± 0.3^{h}	8.1 ± 0.4^{gh}	16.6 ± 0.3^{ab}
MB-O	36.3 ± 0.4^{f}	9.3 ± 0.1^{ef}	6.6 ± 0.3^{h}	13.6 ± 0.1^{c}
MB-MW	37.5 ± 0.3^{ef}	6.1 ± 0.2^{h}	8.0 ± 0.4^{gh}	15.7 ± 0.2^{b}

Values are represented as mean ± standard deviation.

Different superscript letters in the same column indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

The modifications in food color parameters after cooking can be attributed to several factors, including structural changes, pigment degradation, and the formation of new pigments (McClements et al., 2021). During cooking, the number and size of structural heterogeneities change, affecting light absorption and scattering, especially on the surface of the product. Additionally, some of the original pigments, such as myoglobin in beef patties and leghemoglobin in plant-based patties, undergo chemical changes during cooking that affect their color (Hughes et al., 2020). In beef patties, the decrease in redness (a* value) can be explained by the gradual degradation of myoglobin. When this globular protein is heated beyond its thermal denaturation temperature, it undergoes a conformational change that alters the structure of the heme group, resulting in a color change from red to brown (Hunt et al., 1999; King & Whyte, 2006). Similarly, the reduction in red color in plant-based patties during cooking is attributed to the degradation of leghemoglobin. In addition to changes in the heme proteins, the brownish color of the patties after cooking is also a result of the Maillard reaction, a chemical process that occurs between reducing sugars and amino acids when exposed to heat. This reaction leads to the production of complex brown-colored polymers known as

melanoidins**,** which are responsible for the characteristic brown hues in cooked foods. The formation of these brown pigments also reduces the amount of light scattered from the product surfaces, thereby decreasing their lightness (Xu et al., 2020). In addition to contributing to the appearance of foods, the Maillard reaction also plays a key role in the development of flavors and aromas, thus enhancing the overall sensory properties of roasted products (Kerth & Miller, 2015).

3.2.4 Texture profile analysis

The ability to replicate the characteristic texture of meat is fundamental for plant-based alternatives to be perceived as appealing substitutes. Moreover, cooking methods have a significant impact on the texture of these products, as heat-induced changes can affect attributes, such as hardness, chewiness, and moisture retention. Understanding how different cooking techniques alter the texture of meat analogs is essential for optimizing their sensory properties and ensuring they meet consumer expectations. Through texture profile analysis (TPA), the textural attributes of plant-based (PB1 and PB2) and meat-based (MB) burgers prepared using different cooking methods were evaluated. **Figure 5(a–e)** presents the results for hardness, chewiness, springiness, cohesiveness, and resilience. The corresponding mean values and standard deviations can be found in **Table S3** (**Supplementary Material**).

As shown in **Figure 5**, significant differences ($p < 0.0.5$) were observed between PB and MB samples for all textural parameters. Hardness, defined as the peak force recorded during the first compression cycle, was more than ten times higher in MB patties. The hardness values obtained for PB (2.39–7.80 N) and MB (32.75–38.02 N) samples are consistent with those reported by other authors for cooked patties (Bakhsh et al., 2022; Lorenzo et al., 2015; Póltorak et al., 2015; Vu et al., 2022). Springiness (the ability of the food to return to its original shape after compression) and resilience (the ability to recover shape without losing its properties) were also significantly lower in PB burgers compared to MB ones. Consequently, chewiness, which is calculated as the product of hardness, cohesiveness, and springiness, was also higher in MB samples**.** These differences can be attributed to the distinct structural and molecular interactions within the protein matrices of MB and PB samples. Myofibrillar proteins, such as myosin and actin, are the main structural components in MB, forming an intricate and stable network upon heat-induced denaturation and aggregation (Kamani et al., 2019). This well-organized protein network enhances the mechanical strength, elasticity, and overall structural integrity of MB patties. In line with this, the molecular network revealed that MB samples contain free amino acids, dipeptides, and membrane-associated phospholipids

(LPE, LPI, LPG), which are directly associated with muscle protein metabolism and structural stability. These metabolites not only reflect the abundance of functional proteins in MB but also contribute to stronger intermolecular interactions and crosslinking during cooking. In contrast, PB formulations rely on plant-derived metabolites, which exhibit weaker intermolecular interactions and lower gelation capacity, leading to a softer, less cohesive texture. Zhou et al. (2022) highlight that the mechanical properties of these products are largely influenced by the number, strength, and type of crosslinks between structural components. A higher crosslink density typically leads to greater hardness, as observed in MB samples.

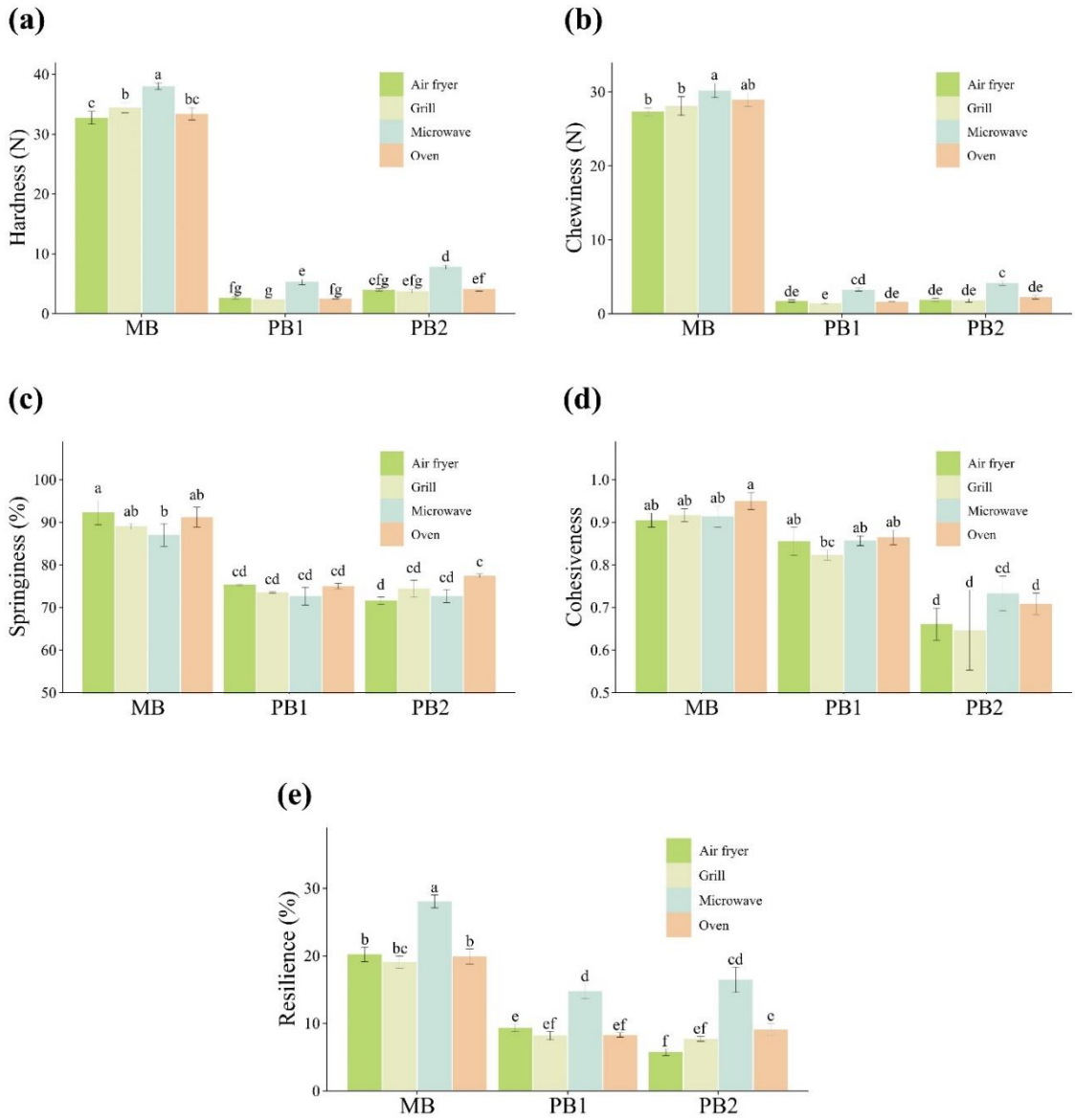


Figure 5 – Textural attributes of commercial plant-based burgers (PB1), homemade plant-based burgers (PB2), and meat-based burgers (MB) prepared using different cooking methods: (a) Hardness; (b) Chewiness, (c) Springiness; (d) Cohesiveness; and (e) Resilience. Different superscript letters indicate significant statistical differences ($p < 0.05$).

When comparing the two plant-based burgers, PB2 exhibited lower cohesiveness. This can be attributed to the absence of methylcellulose and other additives in the homemade formulation. Methylcellulose, commonly used in commercial PB products, acts as a gelling agent, enhancing the cohesion of the protein matrix and providing a more stable structure during chewing. Other additives, such as emulsifiers and stabilizers, also contribute to improved cohesiveness by enhancing water retention and structural integrity (Bohrer, 2019).

Among the cooking methods, microwaving had the most significant impact on the texture parameters. Overall, the PB and MB burgers prepared using this technology exhibited a significant increase ($p < 0.05$) in hardness, chewiness, and resilience values. This effect can be primarily attributed to the greater mass loss and shrinkage observed in these samples, as previously discussed in section 3.1. The substantial loss of moisture from the food matrix leads to structural compaction, resulting in a denser and firmer texture. These findings align with those of Lorenzo et al. (2015), who reported greater mass losses and increased hardness in foal meat cooked in the microwave compared to grilled, oven-roasted, and deep-fried samples. The authors attributed these effects to the rapid and uneven heating characteristic of microwave cooking, which induces a higher degree of protein denaturation and aggregation. In both meat and plant-based matrices, this process strengthens intermolecular interactions, reinforcing the structural rigidity of the final product. Thus, the pronounced textural modifications in microwaved samples can be linked to both moisture depletion and intensified protein network formation. Similarly, Póltorak et al. (2015) observed increased hardness in beef muscle processed in the microwave at maximum power (100%). However, when the microwave intensity was reduced to 30%, the tenderness of the final product improved, with cooking loss and shrinkage levels comparable to those of conventional roasting at 180 °C. These findings suggest that exploring different microwave power settings could provide valuable insights into optimizing cooking conditions and improving the texture of both meat and plant-based alternatives.

3.3 Major factors affecting variations in burger properties

Principal Component Analysis (PCA) was performed to assess variations in the overall physicochemical characteristics of the cooked samples. The dataset comprised 12 samples, representing the three burger types prepared using the four cooking methods, each characterized by 15 physicochemical parameters. A total of 13 principal components were extracted, cumulatively accounting for the entire variance in the dataset. The variance explained by each

principal component and the loadings representing the contribution of each physicochemical parameter are provided in **Tables S4** and **S5** (**Supplementary Material**), respectively. The first two principal components (PC1 and PC2) accounted for 91.57% of the total variance and were therefore selected for further interpretation. **Figure 6a** presents the score plot of PC1 and PC2, whereas **Figure 6b** shows the contribution of each physicochemical parameter to these components.

The scores plot reveals a clear distinction between meat-based (MB) and plant-based (PB) burgers, as evidenced by their separation along the PC1 axis, which accounts for 77% of the total variance. All MB samples are clustered in the negative domain of PC1, whereas PB1 and PB2 samples are positioned in the positive domain. This finding indicates that the evaluated physicochemical attributes effectively differentiate between PB and MB burgers. Furthermore, a distinction between PB1 and PB2 is observed along the PC2 axis, with PB2 samples displaying positive values and PB1 samples negative ones, suggesting compositional or structural differences between the two plant-based formulations. However, this separation was less pronounced, as PC2 explains only 14.5% of the total variance. Notably, MB samples are positioned closer to the origin of the PC2 axis, lying between the PB1 and PB2 clusters. Regarding the different cooking methods, sample triplicates formed well-defined clusters, indicating good data reproducibility. However, the separation between cooking methods was not as pronounced. Burgers cooked using the grill (G), oven (O), and air fryer (AF) tended to cluster together, particularly for MB and PB2 samples. In contrast, microwave-cooked (MW) burgers exhibited greater separation from the other treatments, suggesting that this cooking method induces distinct changes in the assessed attributes compared to the others, corroborating with the findings discussed in this study.

As shown in **Figure 6b**, textural attributes, such as hardness, chewiness, springiness, and resilience, were the most significant factors contributing to the differences observed in PC1, effectively distinguishing PB and MB samples. This result aligns with **Figure 5**, as MB samples exhibited textural parameters up to ten times higher than those of PB samples. PC2, in turn, was mainly influenced by cooking loss (ΔW) and color parameters (L*, a*, and b*). Once again, this is consistent with previous findings, as PB2 samples exhibited significantly lower cooking losses than PB1, which was attributed to differences in formulation. Overall, the PCA results clarify that, while some differentiation is observed among samples prepared using different cooking methods, most notably in microwave cooking, the primary source of variation stems from the different types of burgers due to compositional distinctions in protein matrices, especially between plant-based and animal-derived sources. MB samples, characterized by the

predominant presence of amino acids, dipeptides, and membrane phospholipids, aligned with stronger textural attributes, reinforcing their protein-rich structural matrix. In contrast, PB1 and PB2 samples were dominated by flavonoids, phenolic acids, and organic acids, metabolites that contribute to antioxidant activity but provide limited support for structural network formation. This result indicates a degree of versatility in food preparation, as different cooking methods did not lead to substantial alterations in physicochemical properties. However, it also highlights a critical challenge for PB samples in effectively mimicking the characteristics of meat, particularly regarding texture, a crucial aspect for consumer acceptance of plant-based products as viable substitutes for animal-based foods.

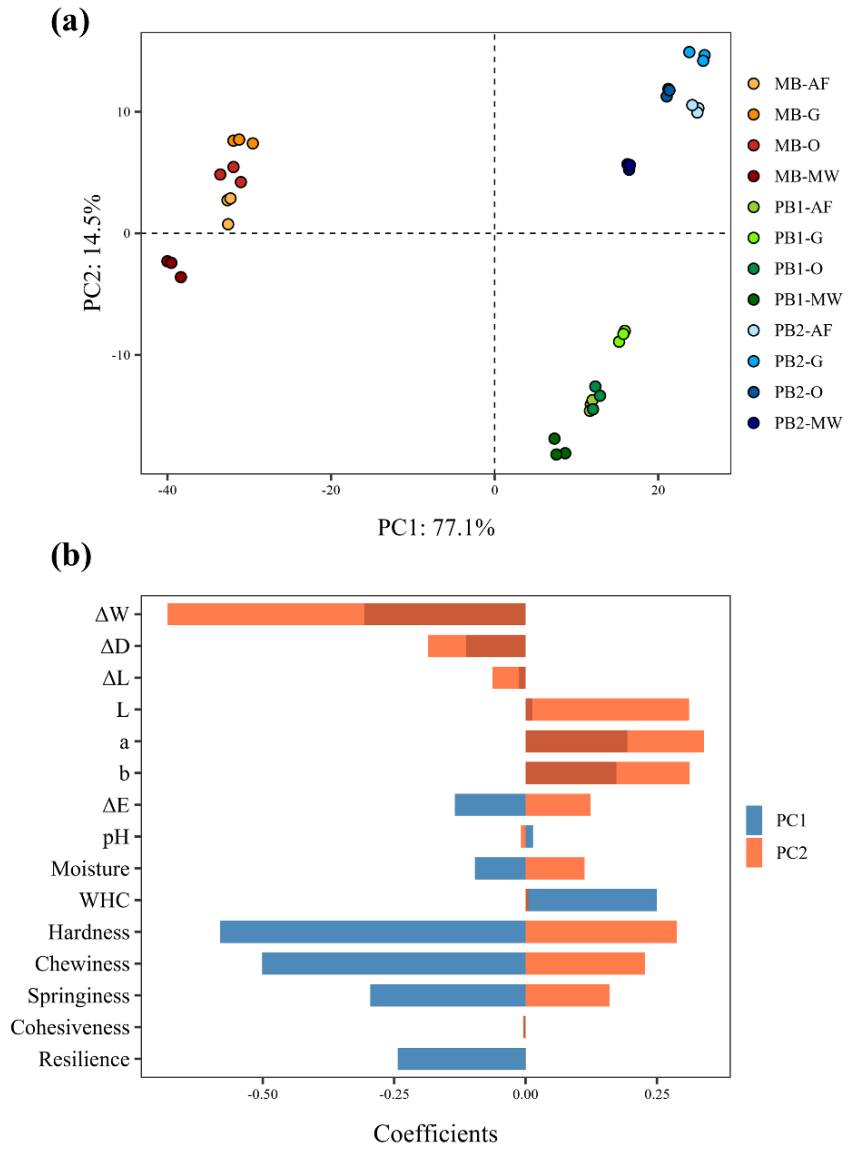


Figure 6 – Principal component analysis of commercial plant-based burgers (PB1), homemade plant-based burgers (PB2), and meat-based burgers (MB) prepared using different methods: (a) scores plot of the first two principal components (PC1 and PC2); (b) coefficients of all properties for PC1 and PC2.

4 Conclusions

This study characterized the chemical profiles of raw plant-based (PB) and meat-based (MB) burgers using HPLC-MS/MS and assessed the effects of different cooking methods on their physicochemical properties. MB samples contain mainly amino acids, dipeptides, and phospholipids, supporting stronger structural integrity. In contrast, PB burgers were dominated by flavonoids, phenolic acids, and organic acids. The homemade burger (PB2) exhibited the highest diversity of phenolic compounds, reflecting the wide variety of vegetables and seasonings used in its preparation. Cooking significantly altered all samples, leading to mass loss, shrinkage, pH increase, and reduced moisture, along with marked color changes driven by protein denaturation and Maillard reactions. Among the cooking methods, grilling favored moisture retention and lower cooking losses, whereas microwave cooking caused the greatest mass loss and textural changes. However, the most pronounced distinctions were consistently observed between PB and MB burgers, particularly in texture, reflecting their intrinsic compositional differences. The combined chemical and physicochemical analyses offer an integrated perspective on how formulation influences cooking behavior and also underscore a significant challenge for plant-based products in accurately replicating meat-like attributes, especially in terms of texture, a key factor in consumer acceptance of plant-based alternatives. Future work will focus on how cooking technologies further influence the chemical composition of PB burgers, with emphasis on nutritional quality, bioactive compound retention, the formation of undesirable compounds, and overall product stability.

Table 3 – Annotated compounds identified in raw plant-based and meat-based burgers by high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-QTOF-MS/MS).

Compound	t_R (min)[a]	Molecular formula	Chemical Class	Mode	[M-H]- or [M+H]+ (m/z)[b]	Error (ppm)	MS/MS (m/z)	ID[c]
L-Carnitine	0.70	$C_7H_{15}NO_3$	Amino acid	ESI+	162.1123	1.05	162.1123 (100), 204.1232 (88), 162.4422 (33), 200.0683 (32)	2
L-Carnosine	0.70	$C_9H_{14}N_4O_3$	Peptide	ESI-	451.2050[2M-H]-	2.00	225.1230 (100), 154.0920 (23), 110.0820 (8), 226.0130 (7)	2
Sucrose	0.80	$C_{12}H_{22}O_{11}$	Carbohydrate	ESI-	341.1093	-1.10	179.0574 (100), 341.1065 (58), 161.0444 (33), 119.0363 (31)	2
			.					
			.					
			.					
			.					
			.					

[a]Retention time on the InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 column and solvent: gradient of 0.1 % formic acid in water and 0.1 % formic acid in acetonitrile.

[b]Some compounds ionized as chloride adduct [M+Cl]- and/or formate adduct [M+HCOO]-.

[c]Identification confidence level according to Schymanski et al. (2014).

A tabela está disponível integralmente no artigo publicado, acessível em: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.118292

Supplementary material - Chemical composition and cooking-induced physicochemical changes in plant-based and meat burgers

Table S1 – Cooking loss (ΔW), diameter reduction (ΔD), and thickness reduction (ΔL) of commercial plant-based burgers (PB1), homemade plant-based burgers (PB2), and meat-based burgers (MB) prepared using air-fryer (AF), grill (G), microwave (MW), and oven (O).

Sample	ΔW (%)	ΔD (%)	ΔL (%)
PB1-AF	29.5 ± 1.2^{d}	10.4 ± 1.6^{abc}	4.4 ± 0.3^{c}
PB1-G	23.9 ± 0.3^{f}	9.8 ± 2.0^{bc}	4.6 ± 0.1^{c}
PB1-MW	34.7 ± 1.2^{b}	12.1 ± 0.3^{ab}	10.8 ± 0.7^{b}
PB1-O	29.4 ± 1.5^{d}	9.7 ± 2.0^{bc}	5.0 ± 0.4^{c}
PB2-AF	10.4 ± 0.4^{h}	5.0 ± 0.1^{d}	6.2 ± 0.5^{c}
PB2-G	6.4 ± 0.1^{i}	3.6 ± 0.2^{d}	4.6 ± 0.4^{c}
PB2-MW	17.5 ± 0.2^{g}	7.4 ± 0.3^{cd}	12.2 ± 0.2^{ab}
PB2-O	9.8 ± 0.1^{h}	4.5 ± 0.1^{d}	5.7 ± 0.2^{c}
MB-AF	31.9 ± 0.8^{c}	12.8 ± 2.3^{ab}	4.3 ± 0.5^{c}
MB-G	26.4 ± 0.9^{e}	11.2 ± 1.4^{abc}	4.0 ± 0.6^{c}
MB-MW	40.8 ± 0.4^{a}	14.7 ± 0.7^{a}	13.4 ± 1.2^{a}
MB-O	31.3 ± 0.5^{c}	12.1 ± 2.8^{ab}	4.1 ± 0.6^{c}

Values are represented as mean ± standard deviation.

Different superscript letters in the same column indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

Table S2 – Moisture content, pH, and water-holding capacity (WHC) of commercial plant-based burgers (PB1), homemade plant-based burgers (PB2), and meat-based burgers (MB) prepared using air-fryer (AF), grill (G), microwave (MW), and oven (O).

Sample	Moisture content (%)	pH	WHC (%)
PB1-raw	65.9 ± 0.6^{c}	6.34 ± 0.03^{e}	-
PB1-AF	57.8 ± 0.4^{gh}	6.47 ± 0.02^{abc}	92.5 ± 0.3^{bc}
PB1-G	60.5 ± 0.5^{e}	6.45 ± 0.03^{bc}	92.0 ± 0.7^{bc}
PB1-MW	52.7 ± 0.9^{k}	6.49 ± 0.04^{ab}	91.7 ± 0.9^{c}
PB1-O	58.7 ± 0.7^{fg}	6.55 ± 0.02^{a}	91.5 ± 0.4^{c}
PB2-raw	61.5 ± 0.3^{e}	6.37 ± 0.02^{de}	-
PB2-AF	57.3 ± 1.0^{hi}	6.43 ± 0.03^{bcd}	95.5 ± 1.2^{a}
PB2-G	59.3 ± 0.8^{fg}	6.40 ± 0.03^{cde}	95.2 ± 0.6^{a}
PB2-MW	51.2 ± 0.6^{k}	6.46 ± 0.03^{bc}	95.8 ± 1.0^{a}
PB2-O	56.6 ± 0.5^{i}	6.48 ± 0.02^{abc}	94.2 ± 1.5^{ab}
MB-raw	72.7 ± 0.7^{a}	5.37 ± 0.01^{j}	-
MB-AF	64.0 ± 0.5^{cd}	5.57 ± 0.04^{i}	81.0 ± 0.9^{d}
MB-G	68.2 ± 0.4^{b}	5.66 ± 0.01^{h}	81.3 ± 0.7^{d}
MB-MW	54.8 ± 0.7^{j}	5.84 ± 0.04^{f}	80.6 ± 0.9^{d}
MB-O	63.5 ± 0.6^{d}	5.76 ± 0.03^{g}	80.4 ± 0.5^{d}

Values are represented as mean ± standard deviation.

Different superscript letters in the same column indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

Table S3 – Textural attributes of commercial plant-based burgers (PB1), homemade plant-based burgers (PB2), and meat-based burgers (MB) prepared using air-fryer (AF), grill (G), microwave (MW), and oven (O).

Sample	Hardness (N)	Chewiness (N)	Springiness (%)	Cohesiveness	Resilience (%)
PB1-AF	2.7 ± 0.2^{fg}	1.7 ± 0.2^{de}	75.3 ± 0.2^{cd}	0.86 ± 0.03^{ab}	9.3 ± 0.6^{e}
PB1-G	2.4 ± 0.1^{g}	1.5 ± 0.1^{e}	73.6 ± 0.2^{cd}	0.82 ± 0.01^{bc}	8.2 ± 0.6^{ef}
PB1-MW	5.3 ± 0.5^{e}	3.3 ± 0.2^{cd}	72.7 ± 2.1^{cd}	0.86 ± 0.01^{ab}	14.7 ± 1.1^{d}
PB1-O	2.5 ± 0.1^{fg}	1.6 ± 0.1^{de}	75.0 ± 0.6^{cd}	0.86 ± 0.02^{ab}	8.3 ± 0.3^{ef}
PB2-AF	4.0 ± 0.2^{efg}	1.89 ± 0.2^{de}	71.6 ± 0.8^{d}	0.66 ± 0.04^{d}	5.7 ± 0.5^{f}
PB2-G	3.8 ± 0.3^{efg}	1.81 ± 0.2^{de}	74.5 ± 1.9^{cd}	0.65 ± 0.09^{d}	7.7 ± 0.4^{ef}
PB2-O	4.1 ± 0.3^{ef}	4.16 ± 0.3^{c}	72.7 ± 1.5^{cd}	0.73 ± 0.04^{cd}	16.5 ± 1.9^{cd}
PB2-MW	7.8 ± 0.3^{d}	2.25 ± 0.2^{de}	77.5 ± 0.4^{c}	0.71 ± 0.03^{d}	9.1 ± 0.9^{e}
MB-AF	32.8 ± 1.1^{c}	27.3 ± 0.5^{b}	92.3 ± 2.9^{a}	0.9 ± 0.02^{ab}	20.2 ± 1.1^{b}
MB-G	34.4 ± 0.8^{b}	28.1 ± 1.3^{b}	89.0 ± 0.7^{ab}	0.92 ± 0.02^{ab}	19.1 ± 0.9^{bc}
MB-MW	38.0 ± 0.6^{a}	30.2 ± 0.9^{a}	87.0 ± 2.6^{b}	0.91 ± 0.03^{ab}	28.0 ± 1.0^{a}
MB-O	33.4 ± 1.0^{bc}	28.9 ± 0.9^{ab}	91.2 ± 2.3^{ab}	0.95 ± 0.02^{a}	19.9 ± 1.1^{b}

Values are represented as mean ± standard deviation.

Different superscript letters in the same column indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

Table S4 – Proportion of variance and cumulative variance explained by each principal component.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8	PC9	PC10	PC11	PC12	PC13
Proportion of variance (%)	77.06	14.51	6.06	1.01	0.44	0.36	0.19	0.18	0.09	0.05	0.04	0.02	0.01
Cumulative proportion (%)	77.06	91.57	97.63	98.64	99.07	99.43	99.62	99.80	99.89	99.94	99.98	99.99	100.00

Table S5 – Loadings of physicochemical variables on the principal components derived from PCA.

Variable	Coefficients												
	PC1	**PC2**	**PC3**	**PC4**	**PC5**	**PC6**	**PC7**	**PC8**	**PC9**	**PC10**	**PC11**	**PC12**	**PC13**
ΔW	-0.3072	-0.6813	-0.1741	-0.0283	0.1570	-0.3008	0.2244	-0.1187	-0.1373	0.1195	-0.3300	0.2830	-0.0904
ΔD	-0.1128	-0.1851	-0.0439	0.1200	-0.1962	0.1068	-0.8709	-0.1901	-0.1389	0.2398	0.0362	0.1161	-0.0247
ΔL	-0.0124	-0.0634	-0.4663	-0.0954	-0.1744	0.1104	0.1638	0.1615	0.3965	0.5859	0.3499	0.1040	0.1989
L	0.0126	0.3113	-0.3424	0.3678	0.1936	0.1660	0.1367	-0.4457	-0.1920	-0.1503	0.1430	0.5269	0.0943
a	0.1939	0.3395	-0.2106	0.1267	0.2816	-0.6204	-0.2682	0.3363	0.1705	0.0955	-0.2542	0.1813	-0.0424
b	0.1727	0.3122	-0.1663	-0.4007	-0.2010	0.1276	0.0745	-0.3844	-0.0612	0.3052	-0.5816	-0.0724	-0.1846
ΔE	-0.1349	0.1239	0.0981	-0.6202	-0.3314	-0.2782	-0.0572	0.0203	-0.0929	-0.2638	0.2039	0.4620	0.2159
pH	0.0141	-0.0091	-0.0078	-0.0046	-0.0013	-0.0005	0.0135	-0.0168	0.0044	-0.0003	-0.0226	0.0547	0.0848
Moisture	-0.0967	0.1125	0.5463	0.2949	-0.2290	0.2104	0.1372	0.2678	0.0811	0.2904	-0.2931	0.4744	0.0509
WHC	0.2496	0.0053	-0.1163	-0.0277	-0.0255	0.0350	0.0954	0.3952	-0.8243	0.2502	0.1170	-0.0176	-0.0002
Hardness	-0.5809	0.2874	-0.1193	0.1412	-0.2747	-0.1557	0.0979	0.0743	-0.0782	0.0261	0.1716	-0.0959	-0.6153
Chewiness	-0.5012	0.2272	-0.0132	0.1241	-0.0077	-0.1612	0.0227	-0.0780	-0.1751	0.1208	-0.1763	-0.3410	0.6732
Springiness	-0.2956	0.1600	0.2392	-0.3779	0.7132	0.2037	-0.0913	-0.0007	-0.0256	0.2881	0.1575	0.0807	-0.1150
Cohesiveness	-0.0034	-0.0047	0.0025	-0.0006	0.0033	0.0047	-0.0011	-0.0013	-0.0107	0.0100	-0.0124	0.0077	0.0622
Resilience	-0.2431	0.0008	-0.4097	-0.1152	0.0471	0.4925	-0.1357	0.4732	0.0529	-0.3809	-0.3419	0.0780	0.0413

References

Abdel-Naeem, H. H. S., Sallam, K. I., & Zaki, H. M. B. A. (2021). Effect of different cooking methods of rabbit meat on topographical changes, physicochemical characteristics, fatty acids profile, microbial quality and sensory attributes. *Meat Science*, *181*. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108612

Alfaia, C. M. M., Alves, S. P., Lopes, A. F., Fernandes, M. J. E., Costa, A. S. H., Fontes, C. M. G. A., Castro, M. L. F., Bessa, R. J. B., & Prates, J. A. M. (2010). Effect of cooking methods on fatty acids, conjugated isomers of linoleic acid and nutritional quality of beef intramuscular fat. *Meat Science*, *84*(4), 769–777. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.11.014

Alfaifi, B. M., Al-Ghamdi, S., Othman, M. B., Hobani, A. I., & Suliman, G. M. (2023). Advanced Red Meat Cooking Technologies and Their Effect on Engineering and Quality Properties: A Review. *Foods*, *12*(13). https://doi.org/10.3390/foods12132564

Ángel-Rendón, S. V., Filomena-Ambrosio, A., Hernández-Carrión, M., Llorca, E., Hernando, I., Quiles, A., & Sotelo-Díaz, I. (2020). Pork meat prepared by different cooking methods. A microstructural, sensorial and physicochemical approach. *Meat Science*, *163*. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108089

Aron, A. T., Gentry, E. C., McPhail, K. L., Nothias, L. F., Nothias-Esposito, M., Bouslimani, A., Petras, D., Gauglitz, J. M., Sikora, N., Vargas, F., van der Hooft, J. J. J., Ernst, M., Kang, K. Bin, Aceves, C. M., Caraballo-Rodríguez, A. M., Koester, I., Weldon, K. C., Bertrand, S., Roullier, C., … Dorrestein, P. C. (2020). Reproducible molecular networking of untargeted mass spectrometry data using GNPS. *Nature Protocols*, *15*, 1954–1991. https://doi.org/10.1038/s41596-020-0317-5

Bakhsh, A., Lee, E. Y., Bakry, A. M., Rathnayake, D., Son, Y. M., Kim, S. W., Hwang, Y. H., & Joo, S. T. (2022). Synergistic effect of lactoferrin and red yeast rice on the quality characteristics of novel plant-based meat analog patties. *LWT*, *171*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114095

Bakhsh, A., Lee, S.-J., Lee, E.-Y., Hwang, Y.-H., & Joo, S.-T. (2021). Traditional Plant-based Meat Alternatives, Current, and Future Perspective: A Review. *Journal of Agriculture & Life Science*, *55*(1), 1–11. https://doi.org/10.14397/jals.2021.55.1.1

Bakhsh, A., Lee, S.-J., Lee, E.-Y., Sabikun, N., Hwang, Y.-H., & Joo, S.-T. (2021). A Novel Approach for Tuning the Physicochemical, Textural, and Sensory Characteristics of Plant-Based Meat Analogs with Different Levels of Methylcellulose Concentration. *Foods*, *10*(3). https://doi.org/10.3390/foods10030560

Bejerholm, C., Tørngren, M. A., & Aaslyng, M. D. (2014). Cooking of Meat. In *Encyclopedia of Meat Sciences* (pp. 370–376). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00187-2

Bohrer, B. M. (2019). An investigation of the formulation and nutritional composition of modern meat analogue products. *Food Science and Human Wellness*, *8*(4), 320–329. https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.11.006

Boukid, F. (2021). Plant-based meat analogues: from niche to mainstream. *European Food Research and Technology*, *247*, 297–308. https://doi.org/10.1007/s00217-020-03630-9

Castro-López, R., Mba, O. I., Gómez-Salazar, J. A., Cerón-García, A., Ngadi, M. O., & Sosa-Morales, M. E. (2023). Evaluation of chicken nuggets during air frying and deep-fat frying at different temperatures. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, *31*. https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100631

Choi, Y. S., Hwang, K. E., Jeong, T. J., Kim, Y. B., Jeon, K. H., Kim, E. M., Sung, J. M., Kim, H. W., & Kim, C. J. (2016). Comparative study on the effects of boiling, steaming, grilling, microwaving and superheated steaming on quality characteristics of marinated chicken steak. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, *36*(1), 1–7. https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.1.1

Dall Aaslyng, M., Bejerholm, C., Bertram, H. C., & Andersen, H. J. (2003). Cooking loss and juiciness of pork in relation to raw meat quality and cooking procedure. *Food Quality and Preference*, *14*(4), 277–288. https://doi.org/10.1016/S0950-3293(02)00086-1

De Mendiburu, F. (2021). *Agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R Package Version 1.3-5.* https://CRAN.R-project.org/package=agricolae

Domínguez, R., Gómez, M., Fonseca, S., & Lorenzo, J. M. (2014). Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of volatile compounds in foal meat. *Meat Science*, *97*(2), 223–230. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.01.023

Fletcher, D. L., Qiao, M., & Smith, D. P. (2000). The Relationship of Raw Broiler Breast Meat Color and pH to Cooked Meat Color and pH. *Poultry Science*, *79*(5), 784–788. https://doi.org/10.1093/ps/79.5.784

Fortune Business Insights. (2025). *Meat Substitutes Market Size, Share & Industry Analysis, By Source, By Product Type, By Type, By Distribution Channel, By Storage Outlook, and Regional Forecast, 2025-2032*. https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/meat-substitutes-market-100239

García-Segovia, P., Andrés-Bello, A., & Martínez-Monzó, J. (2007). Effect of cooking method on mechanical properties, color and structure of beef muscle (M. pectoralis). *Journal of Food Engineering*, *80*(3), 813–821. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2006.07.010

Gómez, I., Ibañez, F. C., & Beriain, M. J. (2019). Physicochemical and sensory properties of sous vide meat and meat analog products marinated and cooked at different temperature-time combinations. *International Journal of Food Properties*, *22*(1), 1693–1708. https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1666869

Hobani, A. I., Othman, M. B., Fickak, A. A., & Suliman, G. M. (2023). Effects of the Sous Vide and Conventional Electric Oven Cooking Methods on the Physio-Sensory Quality Attributes of Arabian Camel (Camelus dromedarius) Meat. *Processes*, *11*(1). https://doi.org/10.3390/pr11010182

Hounsome, N., Hounsome, B., Tomos, D., & Edwards-Jones, G. (2008). Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. *Journal of Food Science*, *73*(4), 48–65. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00716.x

Hu, F. B., Otis, B. O., & McCarthy, G. (2019). Can Plant-Based Meat Alternatives Be Part of a Healthy and Sustainable Diet? *JAMA - Journal of the American Medical Association*, *322*(16), 1547–1548. https://doi.org/10.1001/jama.2019.13187

Hughes, J. M., Clarke, F. M., Purslow, P. P., & Warner, R. D. (2020). Meat color is determined not only by chromatic heme pigments but also by the physical structure and achromatic light scattering properties of the muscle. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *19*(1), 44–63. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12509

Hunt, M. C., Sørheim, O., & Slinde, E. (1999). Color and Heat Denaturation of Myoglobin Forms in Ground Beef. *Journal of Food Science*, *64*(5). https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb15925.x

Ilic, J., Tomasevic, I., & Djekic, I. (2022). Influence of boiling, grilling, and sous-vide on mastication, bolus formation, and dynamic sensory perception of wild boar ham. *Meat Science*, *188*. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108805

Ishaq, A., Irfan, S., Sameen, A., & Khalid, N. (2022). Plant-based meat analogs: A review with reference to formulation and gastrointestinal fate. *Current Research in Food Science*, *5*, 973–983. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.06.001

Jouquand, C., Tessier, F. J., Bernard, J., Marier, D., Woodward, K., Jacolot, P., Gadonna-Widehem, P., & Laguerre, J. C. (2015). Optimization of microwave cooking of beef burgundy in terms of nutritional and organoleptic properties. *LWT*, *60*(1), 271–276. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.038

Kadim, I. T., Mahgoub, O., Al-Marzooqi, W., Al-Zadjali, S., Annamalai, K., & Mansour, M. H. (2006). Effects of age on composition and quality of muscle Longissimus thoracis of the Omani Arabian camel (Camelus dromedaries). *Meat Science*, *73*(4), 619–625. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.03.002

Kamani, M. H., Meera, M. S., Bhaskar, N., & Modi, V. K. (2019). Partial and total replacement of meat by plant-based proteins in chicken sausage: evaluation of mechanical, physico-chemical and sensory characteristics. *Journal of Food Science and Technology*, *56*(5), 2660–2669. https://doi.org/10.1007/s13197-019-03754-1

Kassama, L. S., & Ngadi, M. O. (2005). Pore development and moisture transfer in chicken meat during deep-fat frying. *Drying Technology*, *23*(4), 907–923. https://doi.org/10.1081/DRT-200054239

Kerth, C. R., & Miller, R. K. (2015). Beef flavor: A review from chemistry to consumer. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *95*(14), 2783–2798. https://doi.org/10.1002/jsfa.7204

King, N. J., & Whyte, R. (2006). Does it look cooked? A review of factors that influence cooked meat color. *Journal of Food Science*, *71*(4). https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2006.00029.x

Ko, H. J., Wen, Y., Choi, J. H., Park, B. R., Kim, H. W., & Park, H. J. (2021). Meat analog production through artificial muscle fiber insertion using coaxial nozzle-assisted three-dimensional food printing. *Food Hydrocolloids*, *120*. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106898

Kolbe, K. (2018). Why Milk Consumption is the Bigger Problem: Ethical Implications and Deaths per Calorie Created of Milk Compared to Meat Production. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, *31*(4), 467–481. https://doi.org/10.1007/s10806-018-9740-9

Kraft, J., Kramer, J. K. G., Schoene, F., Chambers, J. R., & Jahreis, G. (2008). Extensive analysis of long-chain polyunsaturated fatty acids, CLA, trans-18:1 isomers, and plasmalogenic lipids in different retail beef types. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(12), 4775–4782. https://doi.org/10.1021/jf8001813

Kurp, L., Danowska-oziewicz, M., & Kłębukowska, L. (2022). Sous Vide Cooking Effects on Physicochemical, Microbiological and Sensory Characteristics of Pork Loin. *Applied Sciences*, *12*(5). https://doi.org/10.3390/app12052365

Lanzotti, V. (2006). The analysis of onion and garlic. *Journal of Chromatography A*, *1112*, 3–22. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.12.016

Lee, D., Lee, H. J., Yoon, J. W., Ryu, M., & Jo, C. (2021). Effects of cooking conditions on the physicochemical and sensory characteristics of dry- and wet-aged beef. *Animal Bioscience*, *34*(10), 1705–1716. https://doi.org/10.5713/AB.20.0852

Liao, G. Z., Wang, G. Y., Xu, X. L., & Zhou, G. H. (2010). Effect of cooking methods on the formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and duck breast. *Meat Science*, *85*(1), 149–154. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.12.018

Lorenzo, J. M., Cittadini, A., Munekata, P. E., & Domínguez, R. (2015). Physicochemical properties of foal meat as affected by cooking methods. *Meat Science*, *108*, 50–54. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.05.021

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, *79*(5), 727–747. https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727

Mancini, R. A., & Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, *71*(1), 100–121. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.03.003

McClements, D. J., & Grossmann, L. (2021). The science of plant-based foods: Constructing next-generation meat, fish, milk, and egg analogs. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *20*(4), 4049–4100. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12771

McClements, D. J., Weiss, J., Kinchla, A. J., Nolden, A. A., & Grossmann, L. (2021). Methods for testing the quality attributes of plant-based foods: Meat-and processed-meat analogs. *Foods*, *10*(2). https://doi.org/10.3390/foods10020260

Menéndez, J. A., Arenillas, A., Fidalgo, B., Fernández, Y., Zubizarreta, L., Calvo, E. G., & Bermúdez, J. M. (2010). Microwave heating processes involving carbon materials. *Fuel Processing Technology*, *91*(1), 1–8. https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2009.08.021

Murphy, R. Y., Johnson, E. R., Duncan, L. K., Clausen, E. C., Davis, M. D., & March, J. A. (2001). Heat Transfer Properties, Moisture Loss, Product Yield, and Soluble Proteins in Chicken Breast Patties During Air Convection Cooking. *Poultry Science*, *80*(4), 508–514. https://doi.org/10.1093/ps/80.4.508

Oz, F., Aksu, M. I., & Turan, M. (2017). The Effects of Different Cooking Methods on Some Quality Criteria and Mineral Composition of Beef Steaks. *Journal of Food Processing and Preservation*, *41*(4). https://doi.org/10.1111/jfpp.13008

Palka, K. (2003). The influence of post-mortem ageing and roasting on the microstructure, texture and collagen solubility of bovine semitendinosus muscle. *Meat Science*, *64*(2), 191–198. https://doi.org/10.1016/S0309-1740(02)00179-1

Pan, Z., & Paul Singh, R. (2001). Physical and thermal properties of ground beef during cooking. *LWT*, *34*(7), 437–444. https://doi.org/10.1006/fstl.2001.0762

Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A. J. (2013). Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, *6*, 36–60. https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9

Pathare, P. B., & Roskilly, A. P. (2016). Quality and Energy Evaluation in Meat Cooking. *Food Engineering Reviews*, *8*(4), 435–447. https://doi.org/10.1007/s12393-016-9143-5

Pennells, J., Trigona, L., Patel, H., & Ying, D. (2024). Ingredient Functionality of Soy, Chickpea, and Pea Protein before and after Dry Heat Pretreatment and Low Moisture Extrusion. *Foods*, *13*(14). https://doi.org/10.3390/foods13142168

Pingali, P., Boiteau, J., Choudhry, A., & Hall, A. (2023). Making meat and milk from plants: A review of plant-based food for human and planetary health. *World Development*, *170*. https://doi.org/10.1016/j.worlddev.2023.106316

Półtorak, A., Wyrwisz, J., Moczkowska, M., Marcinkowska-Lesiak, M., Stelmasiak, A., Rafalska, U., Wierzbicka, A., & Sun, D. W. (2015). Microwave vs. convection heating of bovine Gluteus Medius muscle: Impact on selected physical properties of final product and cooking yield. *International Journal of Food Science and Technology*, *50*(4), 958–965. https://doi.org/10.1111/ijfs.12729

Purslow, P. P., Oiseth, S., Hughes, J., & Warner, R. D. (2016). The structural basis of cooking loss in beef: Variations with temperature and ageing. *Food Research International*, *89*, 739–748. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.09.010

Rodrigues, E., Mariutti, L. R. B., & Mercadante, A. Z. (2013). Carotenoids and phenolic compounds from Solanum sessiliflorum, an unexploited amazonian fruit, and their scavenging capacities against reactive oxygen and nitrogen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(12), 3022–3029. https://doi.org/10.1021/jf3054214

Schymanski, E. L., Jeon, J., Gulde, R., Fenner, K., Ruff, M., Singer, H. P., & Hollender, J. (2014). Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: Communicating confidence. *Environmental Science and Technology*, *48*(4), 2097–2098. https://doi.org/10.1021/es5002105

Serrano, A., Librelotto, J., Cofrades, S., Sánchez-Muniz, F. J., & Jiménez-Colmenero, F. (2007). Composition and physicochemical characteristics of restructured beef steaks containing walnuts as affected by cooking method. *Meat Science*, *77*(3), 304–313. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.017

Siemińska-Kuczer, A., Szymańska-Chargot, M., & Zdunek, A. (2022). Recent advances in interactions between polyphenols and plant cell wall polysaccharides as studied using an adsorption technique. *Food Chemistry*, *373*. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131487

Sumner, L. W., Amberg, A., Barrett, D., Beale, M. H., Beger, R., Daykin, C. A., Fan, T. W. M., Fiehn, O., Goodacre, R., Griffin, J. L., Hankemeier, T., Hardy, N., Harnly, J., Higashi, R., Kopka, J., Lane, A. N., Lindon, J. C., Marriott, P., Nicholls, A. W., … Viant, M. R. (2007). Proposed minimum reporting standards for chemical analysis: Chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI). *Metabolomics*, *3*, 211–221. https://doi.org/10.1007/s11306-007-0082-2

Vaskoska, R., Ha, M., Naqvi, Z. B., White, J. D., & Warner, R. D. (2020). Muscle, ageing and temperature influence the changes in texture, cooking loss and shrinkage of cooked beef. *Foods*, *9*(9). https://doi.org/10.3390/foods9091289

Vaskoska, R., Vénien, A., Ha, M., White, J. D., Unnithan, R. R., Astruc, T., & Warner, R. D. (2021). Thermal denaturation of proteins in the muscle fibre and connective tissue from bovine muscles composed of type I (masseter) or type II (cutaneous trunci) fibres: DSC and FTIR microspectroscopy study. *Food Chemistry*, *343*. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128544

Vu, G., Zhou, H., & McClements, D. J. (2022). Impact of cooking method on properties of beef and plant-based burgers: Appearance, texture, thermal properties, and shrinkage. *Journal of Agriculture and Food Research*, *9*. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100355

Wen, Y., Kim, H. W., & Park, H. J. (2022). Effects of transglutaminase and cooking method on the physicochemical characteristics of 3D-printable meat analogs. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *81*. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103114

Xu, Z., Leong, S. Y., Farid, M., Silcock, P., Bremer, P., & Oey, I. (2020). Understanding the frying process of plant-based foods pretreated with pulsed electric fields using frying models. *Foods*, *9*(7). https://doi.org/10.3390/foods9070949

Zhou, H., Vu, G., Gong, X., & McClements, D. J. (2022). Comparison of the Cooking Behaviors of Meat and Plant-Based Meat Analogues: Appearance, Texture, and Fluid Holding Properties. *ACS Food Science and Technology*, *2*(5), 844–851. https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.2c00016

Artigo 3 – Metabolomic insights into the impact of cooking technologies on plant-based burger composition

Artigo publicado na revista "Food Chemistry"
https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.147755

Abstract

This study evaluated the impact of different cooking methods (air frying, grilling, oven baking, and microwave cooking) on the metabolite profile of chickpea-based burgers using untargeted metabolomics. The results revealed that the primary source of variation was the thermal treatment, with raw samples clearly separating from cooked ones. Notably, heat-sensitive compounds such as lipids and several flavonoids were degraded across all cooking methods. In contrast, some phenolic acids (caffeic acid and hydroxycinnamic acid) and flavonoids (apigenin, luteolin, apigenin-7-apioglucoside, and apigenin-7-*O*-glucoside) increased after cooking. Among the evaluated techniques, grilling induced the most pronounced metabolic alterations compared to raw samples, whereas microwave cooking had the least impact, showing better preservation of certain lipids and phenolic compounds. These findings demonstrate that cooking methods can significantly modulate the metabolomic composition of plant-based products, with microwave cooking standing out as the gentlest approach for maintaining nutritional quality.

Keywords: plant-based meat analogue; air frying; microwaving; untargeted metabolomics; bioactive compounds.

1 Introduction

The food industry has ensured the supply of safe, affordable, convenient, and palatable foods, contributing significantly to the reduction of global hunger and malnutrition over the past century. Nevertheless, current food production practices, primarily centered on meat, have been associated with an increased prevalence of chronic non-communicable diseases and considerable environmental degradation (Boukid, 2024; Su et al., 2024). In response, plant-based foods have emerged as a promising alternative, supporting more sustainable food systems. These products are formulated exclusively with plant-based ingredients and are designed to mimic the appearance, texture, flavor, and nutritional profile of their animal-based counterparts (Bocker & Silva, 2022; McClements & Grossmann, 2021). Among meat analogues, plant-based burgers have gained particular relevance due to their widespread consumer acceptance, achieved through carefully engineered formulations that combine proteins, lipids, polysaccharides, and functional additives (Andreani et al., 2023; He et al., 2020).

Cooking plays a fundamental role in the preparation of plant-based foods, ensuring microbiological safety while improving sensory attributes, such as texture, flavor, and appearance. Thermal processing can enhance digestibility, improve flavor through the Maillard reaction, and inactivate undesirable enzymes or microorganisms (Khalid et al., 2023). On the other hand, it may also degrade heat-sensitive nutrients and bioactive compounds, promote lipid oxidation, and potentially generate harmful compounds depending on the conditions applied (V. Verma et al., 2023). The specific effects of cooking depend on heat and mass transfer mechanisms, which influence thermal distribution and how chemical transformations occur within the food matrix (Alfaifi et al., 2023). As a result, different cooking methods can lead to distinct nutritional and chemical outcomes (Hailemariam & Wudineh, 2020; Ilic et al., 2022; Liu et al., 2023; Wu et al., 2024; Zhao et al., 2019). These transformations are mainly relevant for plant-based products due to the complex interactions between plant proteins, dietary fiber, lipids, and phytochemicals.

Although recent studies have explored the impact of cooking methods on the sensory and textural characteristics of plant-based burgers (Vu et al., 2022; Wen et al., 2022; Zhou et al., 2022), their impact on chemical composition remains underexplored. In this context, metabolomics emerges as a powerful tool for comprehensively characterizing food systems. This relatively recent branch of the "omics" sciences focuses on the systematic study of low-molecular-weight compounds present in biological matrices under defined environmental and

temporal conditions (Singh et al., 2025). In food science, metabolomics has been primarily applied to investigate the effects of diet on human health and to understand how processing and transformation influence food composition (Lacalle-Bergeron et al., 2021). For example, J. J. Zhang et al. (2024) employed an untargeted metabolomic approach to assess changes in the metabolite profile of walnut oil subjected to roasting at various temperatures. Their results revealed decreases in glycerolipids, sphingolipids, and glycerophospholipids with increasing temperature, while oxidized fatty acids and triglycerides increased. Additionally, they identified lipophilic amino acids for the first time in walnut oil, demonstrating the profound impact of thermal processing on food chemistry. Similarly, applying metabolomics to plant-based foods can provide valuable insights into the retention or degradation of nutritional and bioactive compounds, as well as the formation of novel metabolites resulting from cooking-induced transformations.

To the best of our knowledge, no previous study has applied metabolomic analysis to assess the impact of different cooking methods on the metabolite profile of plant-based burgers. This gap is particularly relevant given the growing interest in optimizing the nutritional and functional properties of meat analogues. The present study aims to investigate how common cooking techniques, including air frying, grilling, oven baking, and microwaving, affect the metabolomic profile of chickpea-based burgers. Using an untargeted UHPLC-QTOF-MS approach, this work seeks to characterize the chemical alterations induced by thermal processing, with particular attention to the stability of lipids, phenolic compounds, and other bioactive metabolites. The findings are expected to provide valuable insights into how cooking influences the nutritional and functional quality of plant-based burgers, offering guidance for both consumers and the food industry in selecting cooking methods that preserve beneficial compounds while ensuring product quality and safety.

2 Materials and methods

2.1 Sample preparation

Chickpea-based burgers were developed for this study. This protein source was selected due to its high phenolic content and its capacity to contribute to desirable texture and flavor. Canned natural chickpeas (Fugini, São Paulo, Brazil) were used as the main ingredient. To mimic the appearance of commercial plant-based burgers, vegetables such as beetroot and carrot were incorporated to provide a pinkish color. Oat flour and sour starch were included as binding agents, while additional ingredients were added for seasoning. The complete

formulation is detailed in **Table S1** (**Supplementary Material**). Raw vegetables (beetroot, carrot, garlic, and onion) were blended in a food processor until a homogeneous mixture was obtained. Drained chickpeas were then added and gently pulsed to incorporate them without overprocessing (to avoid excess moisture). The mixture was transferred to a bowl, where the dry ingredients (oat flour, sour starch, and seasonings) were added. All components were thoroughly mixed until a uniform consistency was achieved. Burgers were manually shaped using a 10 cm diameter mold, with an average weight of 115 g each. The proximate composition (%) of the samples, determined using official AOAC analytical methods, is as follows: protein (13.38 ± 0.15), fat (0.31 ± 0.03), ash (4.98 ± 0.22), carbohydrates (81.33 ± 0.16) and moisture (62.25 ± 0.19). The samples were stored at -20 °C and thawed under refrigeration (4 °C) for 24 h prior to the cooking experiments.

2.2 Cooking methods

Samples were cooked using four distinct cooking technologies: air fryer (AF-3, Mondial New Pratic, Brazil), electric oven (FE4222BR, Suggar, Brazil), electric grill (BPE01, Britânia, Brazil), and microwave (MDC212B, Menumaster, USA). Four replicates were prepared for each method. Except for the microwave, all appliances were preheated for 10 min, and cooking was carried out at 180 °C until the samples reached an internal temperature of 71 °C. This threshold was adopted as a conservative benchmark for microbial safety, following the guidelines established by the Brazilian Health Regulatory Agency (ANVISA) for meat products and supported by USDA food-safety recommendations. For oven cooking, the samples were placed on a baking tray with both upper and lower heating elements activated to ensure uniform heat distribution. In the electric oven and the air fryer, samples were flipped every 5 min, whereas on the grill, they were turned every 3 min. Due to the considerably faster heating mechanism of the microwave, samples reached the target temperature without acquiring the typical cooked appearance. Based on preliminary trials, a fixed cooking time of 8 min was established to ensure food safety while maintaining an appropriate texture. Microwave cooking was conducted at 960 W (30% of the device maximum power), and the samples were not flipped during the process. Throughout cooking, internal temperature was continuously monitored using a fiber optic thermometer (TS3, Weidmann Optocon, Germany) inserted into the center of each sample. The temperature profiles for all methods are provided in the **Supplementary Material** (**Figure S1**). After cooking, the samples were freeze-dried, ground into a fine powder, and stored at -20 °C until further analysis.

2.3 Untargeted metabolomics

2.3.1 Reagents and standards

LC-MS grade acetonitrile, methanol, and formic acid were obtained from J.T. Baker (Phillipsburg, USA). Ultrapure water (Milli-Q®) was produced using a Millipore System (Molsheim, France). Mobile phases were filtered using cellulose acetate membranes for the aqueous phase and hydrophilic polytetrafluoroethylene (PTFE) membranes for the organic phase. A total of thirty-two analytical standards, all sourced from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), were used: apigenin, caffeic acid, catechin, daidzein, ellagic acid, epicatechin, epigallocatechin, gallic acid, gallocatechin, gallocatechin gallate, hydroxybenzoic acid, kaempferol, luteolin, *m*-coumaric acid, myricetin, naringenin, *p*-coumaric acid, procyanidin dimer A2, procyanidin dimer B1, procyanidin trimer C1, pyrogallol, quercetin, quercetin-3-*O*-glucoside, resveratrol, rutin, sinapic acid, 2,5-dihydroxybenzoic acid, 3,4-dihydroxybenzoic acid, 5-*O*-caffeoylquinic acid, theogallin, *trans*-ferulic acid, and vanillic acid.

2.3.2 Extraction of metabolites

Compound extraction was carried out following a protocol adapted from Martins et al. (2025). Briefly, 0.25 g of the freeze-dried sample was extracted using 1.5 mL of a methanol/water solution (8:2, v/v) acidified with 0.35% formic acid. This solvent system was chosen for its well-established efficiency in extracting polar low-molecular-weight metabolites (Gil-martín et al., 2022; Mallmann et al., 2023, 2026; Martins et al., 2023). The mixture was vortexed (AP56, Phoenix Luferco, Brazil) for 3 min, followed by centrifugation (MiniSpin, Eppendorf, Germany) at 10,000 *g* for 5 min. The resulting extract was collected and stored at -80 °C until further analysis.

To monitor data quality and ensure analytical consistency, quality control (QC) procedures were implemented in accordance with Broadhurst et al. (2018). A pooled QC sample was generated by mixing equal aliquots (200 μL) from each extract. Blank samples were also included to identify potential sources of contamination. Process blanks were prepared by following the entire extraction procedure using water instead of the sample material, allowing for the detection of background signals from consumables and reagents. Solvent blanks, consisting of the same extraction solvent (methanol:water 8:2, v/v), were used to detect possible contaminants present in the solvent system. All samples were filtered through hydrophilic PTFE syringe filters (0.22 μm) prior to metabolomic data acquisition.

2.3.3 Data acquisition

Untargeted full-scan metabolomic data were acquired using an ultra-high-performance liquid chromatography (UHPLC) system (Nexera X2, Shimadzu, Japan) coupled to a quadrupole time-of-flight mass spectrometer (QTOF-MS) (Impact II, Bruker, USA). Sample injections were performed in randomized order onto an ACQUITY UPLC HSS T3 column (2.1 × 50 mm, 1.8 µm particle size; Waters, USA). The mobile phase consisted of solvent A (0.1% formic acid in water) and solvent B (0.1% formic acid in acetonitrile). The gradient elution program, adapted from Mercali et al. (2025), was as follows: 0–0.5 min, isocratic at 0% B; 0.5–8 min, linear gradient to 100% B; 8–9 min, isocratic at 100% B; 9–10 min, linear return to 0% B; and 10–11 min, isocratic at 0% B. The flow rate was set to 0.5 mL min^{-1}, the column temperature was maintained at 40 °C, and the injection volume was 5 µL. The UHPLC system was interfaced with the QTOF-MS via an electrospray ionization (ESI) source operating in both positive and negative ionization modes to ensure broad metabolite coverage. Mass spectrometer settings were as follows: gas temperature at 200 °C, drying gas flow at 10 L min^{-1}, nebulizer pressure at 4.5 bar, and a mass scan range *(m/z)* of 50-1000. MS2 data were acquired using the same MS settings, employing auto MS/MS scanning mode with a collision energy of 10 eV.

2.3.4 Data pre-processing and analysis

Data obtained from the UHPLC-QTOF-MS analysis were processed using the open-source software MZMine 3.9.0 (Schmid et al., 2023) for peak detection and deconvolution. The software groups mass spectral features based on expected isotope patterns, adducts, and charge states, and aligns them across all samples. The processing workflow included the following steps: MS1 mass detection, chromatogram building, chromatogram deconvolution, isotope grouping, feature alignment, gap filling, isotope pattern filtering and removal of duplicate features. All parameter settings are provided in the Supplementary Material (Tables S2 and S3). Finally, the feature tables were exported for data analysis (Tables S4 and S5 of the Supplementary Material).

Data filtering and statistical analysis were conducted in R (version 4.4.1), following the methodology described by Dzakovich et al. (2024). First, the data were normalized according to the moisture content of each sample (Table S6, Supplementary Material). A correction factor was calculated as the ratio between the highest moisture value and the moisture of each individual sample, and all feature intensities were multiplied by this factor. Subsequently, only features detected in 100% of the quality control (QC) samples and exhibiting a coefficient of variation below 30% in QCs were retained. Features that did not show at least a 10-fold higher

intensity in QCs compared to process blanks were also excluded. Missing values were imputed using half of the minimum peak intensity detected in the dataset. Data were then clustered using the notame R package (Klåvus et al., 2020) to collapse ions resulting from the same metabolite. The final feature tables for positive and negative ionization modes are available in Supplementary Tables S7 and S8, respectively. All data were log_2-transformed and median-centered prior to statistical analysis. Differential abundance analysis was conducted using unpaired *t*-tests ($p \leq 0.05$), with multiple testing correction applied using the Benjamini–Hochberg false discovery rate method (rstatix package). Principal component analysis (PCA) was performed for data visualization (ggplot2 package). Significantly different features ($p \leq 0.05$ after FDR multiple testing correction) were visualized using heatmaps with hierarchical clustering (Euclidean distance, Ward's linkage method).

2.3.5 Metabolite annotation

Metabolite annotation was performed according to the Metabolomics Standards Initiative guidelines (MSI) employing different levels of identification confidence (Sumner et al., 2007). For Level 1 identification, metabolites were matched against an in-house library of standards (Phenolic Lab Brazil) based on both retention time and spectral data (MS1 and MS2). Manual inspection was also performed for compounds included in the library.

For Level 2 annotation, MS2 fragmentation spectra were compared to publicly available spectral libraries, including the Global Natural Products Social Molecular Networking (GNPS) (Aron et al., 2020). Classical Molecular Networking was performed with the following parameters: precursor ion mass tolerance of 0.02 Da, a minimum of four matched fragment peaks, and a cosine similarity score above 0.7. Additional databases, such as HMDB, MoNA, and the NIST Mass Spectral Search Program, were also used to compare fragmentation patterns of compounds of interest.

2.3.6 Dataset availability

Raw MS data are deposited in MetaboLights (MTBLS12849) (Yurekten et al., 2024), and the MS/MS data are available in GNPS's MassIVE repository (MSV000098813) (M. Wang et al., 2016). All code used for the metabolomics analyses is available at https://github.com/Food-Metabolomics-Research-group-UFRGS/Project--metabolomics--plant-based-burgers.

3 Results and discussion

3.1 Suitability of input data for untargeted metabolomics

After data pre-processing in MZmine, a total of 6858 and 1381 features were detected in positive and negative ionization modes, respectively. Subsequent filtering and clustering steps retained 3829 features for positive and 916 features for negative mode. Boxplots of the log2-transformed feature intensities are shown in **Figures S2** and **S3** (**Supplementary Material**) for both ionization modes. In these figures, (a) shows features grouped by treatment type and (b) presents samples plotted according to run order. Raw samples correspond to uncooked burgers, while AF (air-fryer), G (grill), O (oven), and MW (microwave) denote the respective cooking processing treatments, all represented by four replicates. These plots revealed consistent abundance distributions across the replicates and demonstrated high analytical reproducibility, as evidenced by the stable behavior of quality control (QC) samples throughout the analytical run. Furthermore, no systematic trends were observed in feature intensities with respect to injection order, indicating that no instrumental drift or performance issues occurred over the course of the run.

To further evaluate data structure and quality, principal component analysis (PCA) was performed using all retained features and samples, including QCs. **Figures S4a** and **S4b** (**Supplementary Material**) display the PCA results for the positive and negative ionization modes, respectively. In both cases, the clear clustering of replicates within each treatment group and the overlap of pooled QC samples demonstrate the robust performance of the mass spectrometer and the reliability of the data preprocessing workflow. These results confirm the reproducibility of the measurements and the absence of significant batch effects, supporting the validity of subsequent multivariate and univariate analyses.

3.2 The chemical landscape of the plant-based burgers before and after cooking

The PCA scores plots without QC samples for all features are presented in **Figure 1** for (a) positive and (b) negative ionization modes. In positive ionization mode, principal component 1 (PC1) explains about 41% of the total variance, while principal component 2 (PC2) accounts for around 14% (**Figure 1a**). In negative mode, PC1 accounts for about 44% of the variance and PC2 explains around 12% (**Figure 1b**). Together, the two principal components capture a substantial portion of the total variance in both ionization modes, enabling a reliable visualization of sample distribution. Overall, both ionization modes yielded

broadly similar patterns. In both cases, raw samples were positioned in the positive domain of PC1 and remained close to the origin along PC2. Moreover, the scores plots show a clear separation along PC1 between raw and cooked samples prepared using different technologies. This consistent distribution across modes suggests that the primary differences in the dataset are driven by the cooking process, rather than to differences among the cooking methods. An additional separation along PC2 was observed in the positive mode, particularly distinguishing grill-cooked (G) samples from those prepared using air fryer (AF), oven (O), and microwave (MW) methods. This indicates that grilling induces unique metabolomic alterations not shared by the other methods. In contrast, in the negative ionization mode, microwave-treated samples formed a distinct cluster along PC2, suggesting that microwave cooking also produces a characteristic metabolic signature not shared by the other cooking techniques.

A PCA including only cooked samples (**Figure S5**, **Supplementary Material**) was performed to better explore the relationships among cooking methods, as the pronounced variation between raw and cooked samples masked the differences between treatments. In positive ionization mode (**Figure S5a**) a clear separation was observed among all cooking methods. Grilled samples (G) clustered in the positive domain of PC1, while samples prepared via air frying (AF), oven baking (O), and microwaving (MW) were distributed in the negative domain, forming separate clusters along PC2. Notably, microwaved samples appeared clearly separated from the other treatments in the lower quadrant, indicating a distinct metabolite profile. However, this distinction between cooking methods was not evident in the negative ionization mode (**Figure S5b**). Furthermore, samples analyzed in positive mode formed more compact clusters, reflecting higher consistency among replicates and better separation between treatments. Based on these observations, and considering that the positive mode provided a substantially higher number of detected features, the subsequent analyses were primarily based on the positive ionization data. Results from the negative mode are still referenced when relevant to the discussion.

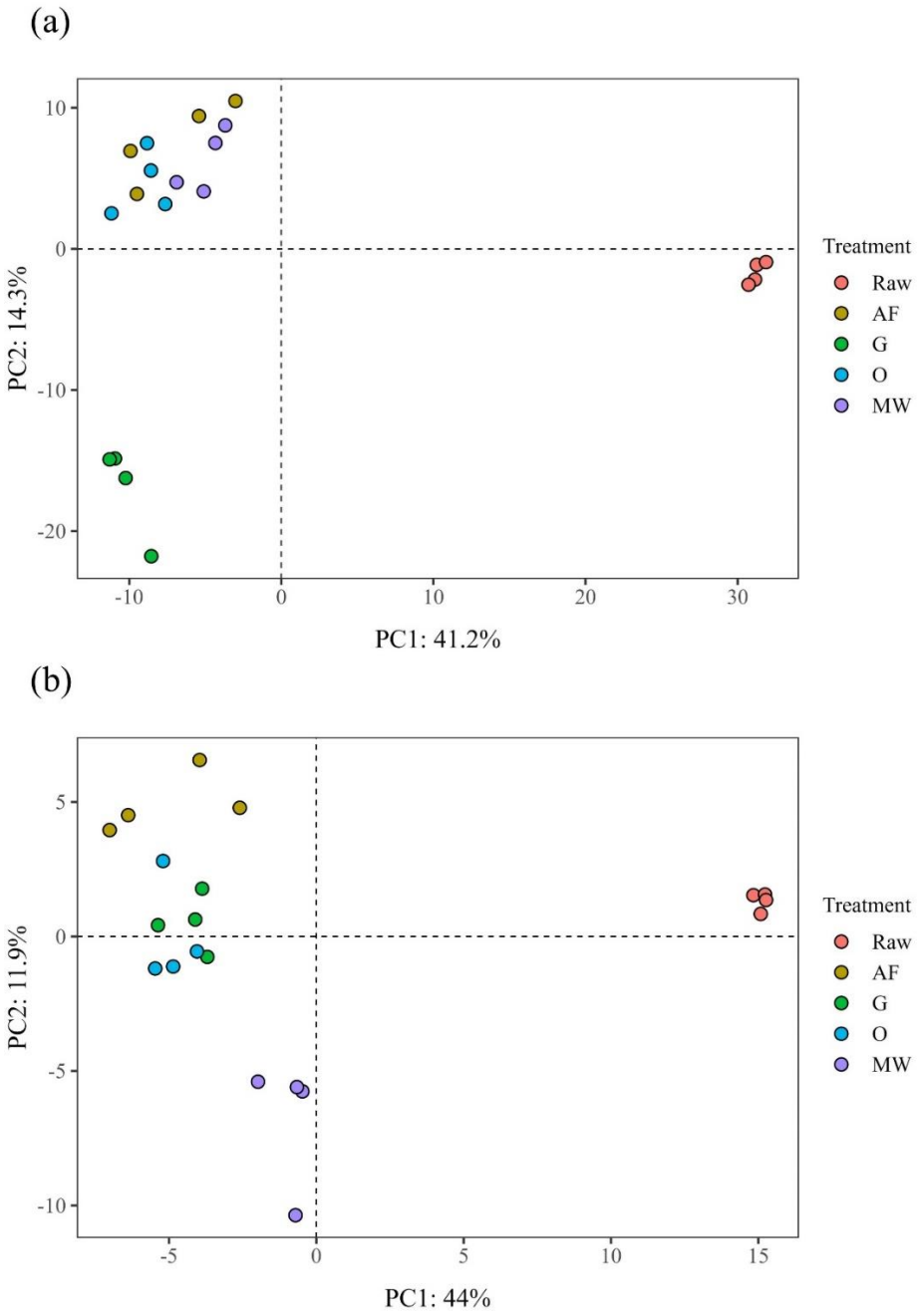


Figure 1 – PCA score plots of the MS1 feature table: (a) positive ionization mode; and (b) negative ionization mode. Treatments: Raw (uncooked), AF (air-fryer), G (grill), O (oven), and MW (microwave).

Figure 2 displays a heatmap of significantly different features (p-value ≤ 0.05) detected in positive ionization mode. Both samples (rows) and features (columns) were clustered using hierarchical clustering. This analysis provides a visual overview of the data, revealing the clustering of replicates according to their respective treatments and the presence of two main clusters: one comprising the raw samples and the other encompassing the cooked burgers

prepared using different cooking methods. This result is consistent with the PCA score plots (**Figure 1**), indicating that the primary effect is due to cooking, with thermal processing having a substantial impact on the metabolite profile of the plant-based burgers. Raw samples (Raw1–Raw4) are grouped together and display generally higher intensities for many features, particularly concentrated on the left side of the heatmap. This suggests the presence of heat-sensitive compounds that degrade or transform during cooking. Conversely, features with higher relative intensities in cooked samples (right side of the heatmap) are likely released or generated as a result of the degradation of other compounds, occurrence of heat-induced reactions, such Maillard reaction, or enzymatic activity induced by heat. Within the cooked cluster, the analysis reveals a distinct separation of the microwave-treated samples (MW1–MW4), which form a clearly isolated subgroup, indicating a unique metabolic response to microwave heating. Notably, the microwave group exhibits higher intensities for most metabolites, standing out from the remaining cooked treatments. In contrast, air-frying (AF1–AF4), grilling (G1–G4), and oven baking (O1–O4) display greater similarity to one another and cluster together, forming a broader subgroup within the cooked samples. These relationships illustrate the influence of cooking technique on the metabolic composition of the plant-based burgers. The overall heatmap pattern reinforces that the primary source of metabolic variation stems from the application of heat, with additional differentiation based on the specific cooking method.

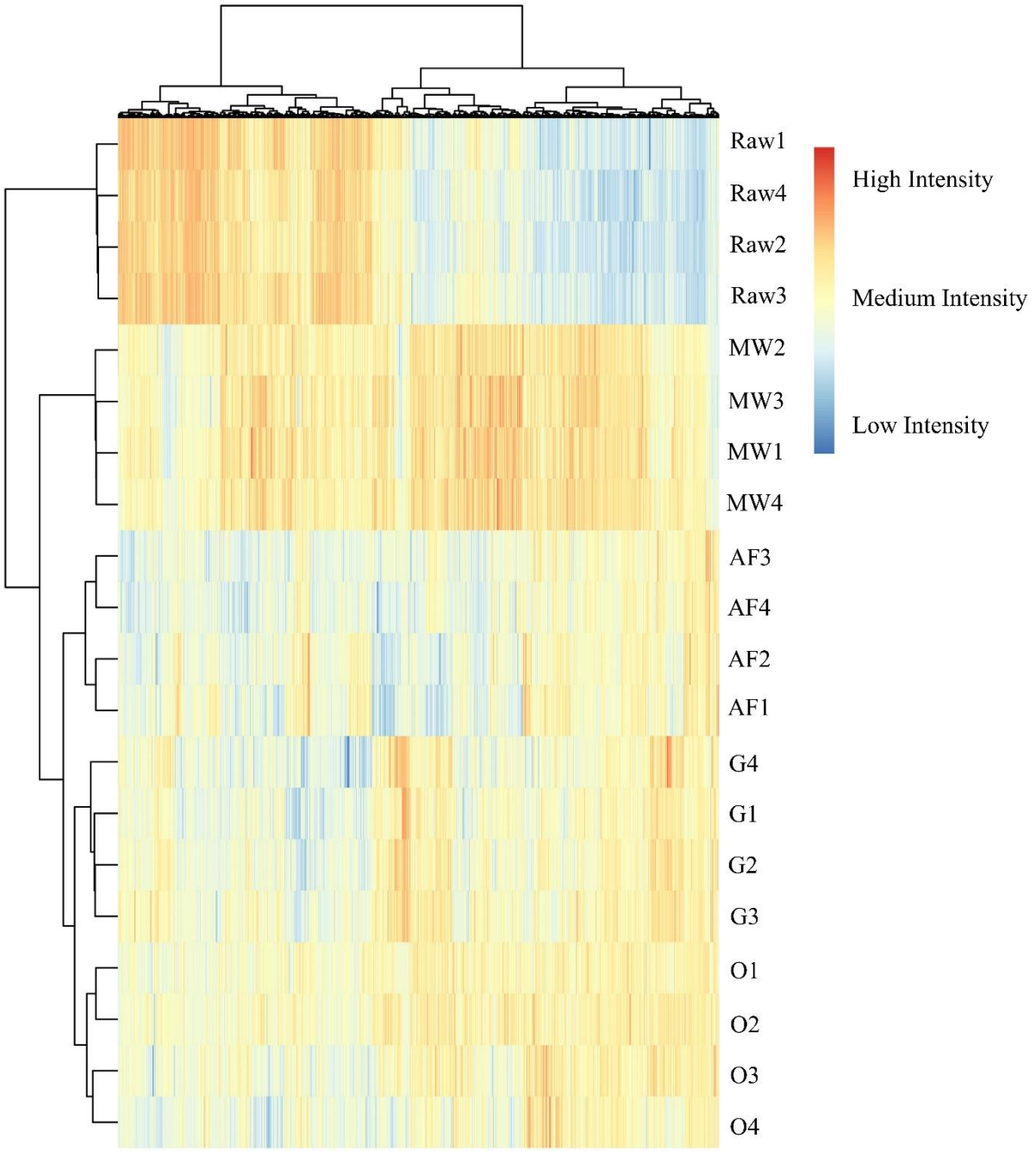


Figure 2 – Heatmap of all significantly different features in positive ionization mode. Treatments: Raw (uncooked), AF (air-fryer), G (grill), O (oven), and MW (microwave).

For a feature-wise analysis, the results of univariate *t*-tests comparing treatments are visually represented as volcano plots. **Figure 3** presents the pairwise comparisons between each cooked sample (AF, G, O, and MW) and the raw sample (Raw). The x-axis displays the relative intensity fold change in $\log_2$ scale, while the y-axis shows the p-value in $\log_{10}$ scale, reflecting the statistical significance of the differences. The vertical and horizontal dotted lines indicate the thresholds for fold change (± 2) and multiple testing-adjusted p-value (≤ 0.05), respectively.

Features significantly more abundant in raw samples (fold change ≥ 2 and adjusted p-value ≤ 0.05) are shown in red, whereas those more abundant in the cooked samples (fold change ≤ -2 and adjusted p-value ≤ 0.05) are shown in blue. Features that did not meet these criteria are shown in black.

Among the cooking methods, grilling induced the most pronounced alterations in the metabolite profile compared to the raw samples (**Figure 3b**), with 342 statistically significant features (fold change ≥ 2 or fold change ≤ -2), of which 200 were more abundant in the grilled samples and 142 in raw samples. This finding aligns with the PCA results, where grilled samples formed a distinct cluster from the other cooking methods. The oven method also led to considerable changes (**Figure 3c**), with 312 significant features with a fold change greater than 2 or lower than -2. Comparing AF and Raw (**Figure 3a**), 296 statistically significant features were observed, of which 150 were more abundant in the Raw group and 146 in air-fried samples. Among all methods, microwave cooking caused the fewest differences relative to the raw condition (**Figure 3d**), with 272 significant features, 181 more abundant in the microwave-cooked samples and 91 in raw samples. These differences likely reflect the thermal degradation of certain compounds (red dots) or the formation and release of new metabolites (blue dots) during the cooking process.

The volcano plots displaying pairwise comparisons between cooking methods are shown in **Figure S6** (Supplementary Material). Notably, the number of significant features with a fold change greater than 2 or less than -2 was much lower than in comparisons involving the raw samples. The greatest metabolic differences were observed in comparisons involving the grill method. Specifically, when compared to the air fryer (**Figure S6a**), oven (**Figure S6c**), and microwave (**Figure S6e**), grilled samples consistently exhibited a higher number of features with increased intensity. These results are consistent with the PCA score plots, where samples from the grill treatment form a distinct cluster, clearly separated from the other methods. Conversely, the smallest metabolic differences were observed between the air fryer and oven (**Figure S6b**), with only five features presenting a fold change greater than 2.

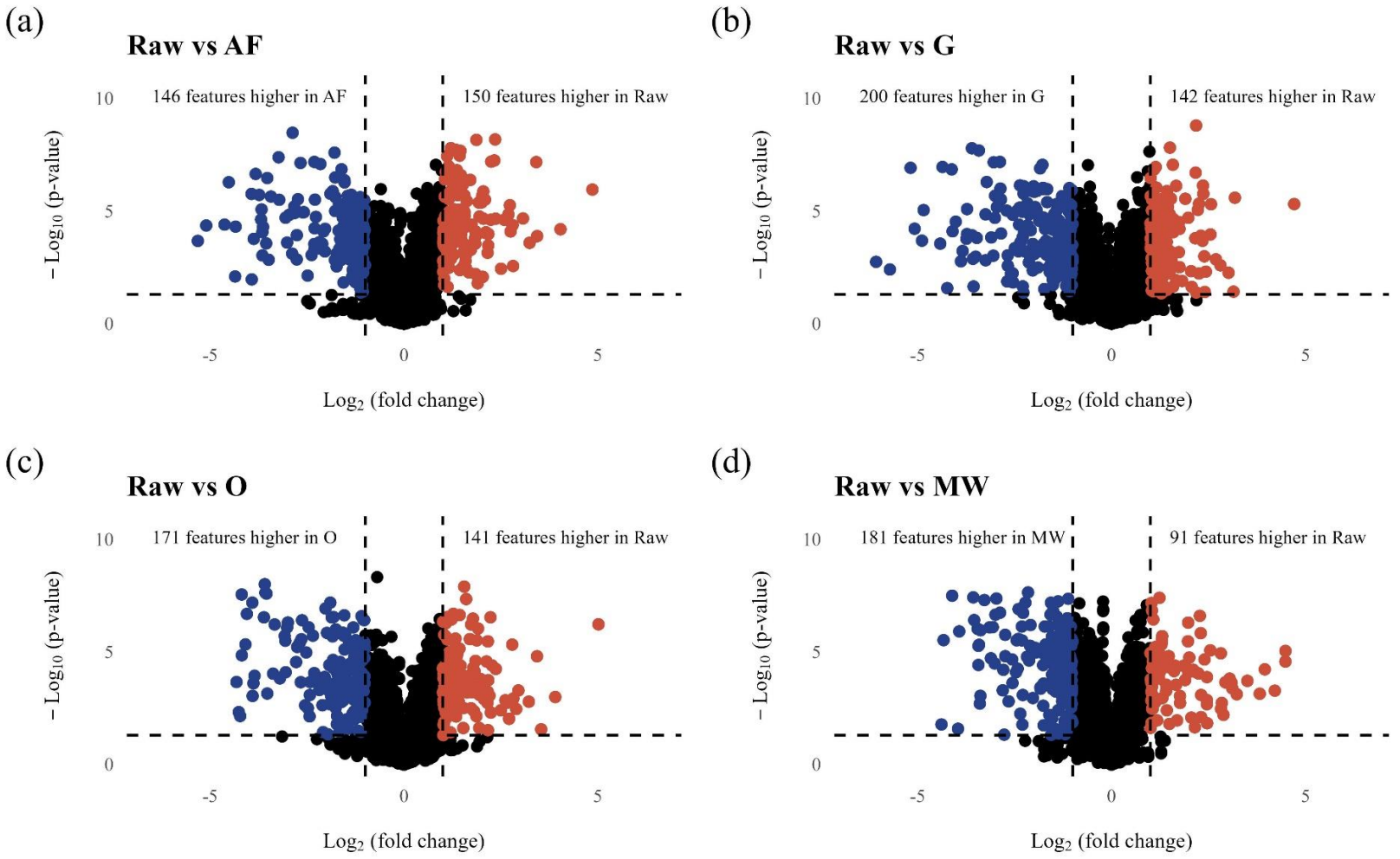


Figure 3 – Volcano plots of features in positive ionization mode comparing: (a) Raw vs AF; (b) Raw vs G; (c) Raw vs O; and (d) Raw vs MW. Features with a BH-adjusted p-value ≤ 0.05 and fold change ≤ -2 are shown in blue. Features with a BH-adjusted p-value ≤ 0.05 and fold change ≥ 2 are shown in red. Treatments: Raw (uncooked), AF (air-fryer), G (grill), O (oven), and MW (microwave).

3.3 Effect of cooking methods on annotated compounds

A total of **66 metabolites** were annotated in the plant-based burgers, including phenolic acids, flavonoids, organic acids, amino acids, peptides, alkaloids, nucleic acid derivatives, carbohydrates, and lipids (**Table 1**). Among the identified amino acids, compounds such as L-tyrosine**,** L-tryptophan**,** and L-phenylalanine are commonly associated with legumes, particularly chickpeas (Xavier et al., 2024), which constitute the main ingredient of the formulation. These aromatic amino acids are precursors in the biosynthesis of flavor-related volatiles through Maillard reactions during cooking, contributing to desirable sensory properties (El Hosry et al., 2025). Organic acids, including malic acid**,** citric acid**,** and pyroglutamic acid, are typical intermediates of primary plant metabolism and are widely found in vegetables such as beetroot, carrot, and onion (Gippert et al., 2022). Phenolic acids (e.g., caffeic acid**,** hydroxybenzoic acid**,** coumaric acid O-glucoside**)** and flavonoids (e.g., luteolin**,** apigenin**,** kaempferide**,** and their glycosylated or glucuronidated derivatives) can be attributed to ingredients like parsley, oregano, and sweet paprika, all recognized for their high polyphenol content (Ali et al., 2021; Khorsand et al., 2022). Additionally, sulfur-containing peptides, such as N-gamma-glutamyl-S-allylcysteine are characteristic of garlic, contributing to its recognized bioactivity (de Almeida et al., 2025). The detection of various lysophospholipids (e.g., LPC, LPE, LPA, LPI) aligns with the use of olive oil and the inherent lipid fraction of chickpeas and oats (Mathew & Shakappa, 2022). These lipid-derived compounds are not only structural components of cell membranes but also play roles in emulsification, texture formation, and flavor release in plant-based matrices (Y. Wang et al., 2023). A wide range of nucleotide-related compounds, including adenosine, guanosine, uridine, guanine, adenosine cyclic monophosphate, and guanosine monophosphate, likely originates from chickpeas, which are rich in nucleic acid derivatives due to their high cellular activity and protein content (Begum et al., 2023). Overall, the formulation exhibited a diverse and metabolite-rich composition, comprising multiple chemical classes with nutritional, functional, and sensory relevance, reflecting the synergistic contribution of its varied plant-based ingredients.

Among the identified metabolites, lipids represent an important class, accounting for approximately 30% of the annotated compounds. Given their nutritional relevance and their known susceptibility to processing-induced alterations, the behavior of lipid species was further investigated. **Figure 4** shows boxplots of selected annotated lipids that exhibited statistically significant differences among treatments, as determined by ANOVA ($\alpha = 0.05$) followed by Tukey's test. As observed, cooking led to a marked reduction in the relative abundance of most

lipid species compared to raw samples. This effect is particularly evident for compounds such as 16-hydroxypalmitic acid, glyceryl monolinoleate, linolenic acid, as well as various lysophospholipids (LPE (16:0), LPE (18:1), LPE (18:2), LPA (18:1), LPA (18:2), LPC (18:0), LPI (18:1), and LPI (18:2)). These compounds represent some of the features that exhibited a fold change greater than 2 in raw samples relative to cooked ones, as highlighted by the red dots in the volcano plots (**Figure 3**). The lower concentration of lipids in cooked samples is a widely reported phenomenon, primarily attributed to physical fat loss during cooking, along with thermal degradation and oxidative processes (Geng et al., 2023; Liu et al., 2023). In general, all cooking methods cause disruption of cellular membranes, facilitating oxidative reactions. This membrane breakdown promotes the release of membrane lipids, increasing their exposure to pro-oxidant agents, such as oxygen, enzymes, and metals, thereby accelerating lipid oxidation. Phospholipids, which are integral components of plant cell membranes, are particularly vulnerable to oxidation due to their higher proportion of unsaturated fatty acids compared to other lipid classes (Dyall et al., 2022). Importantly, by employing an untargeted metabolomics approach, it was possible to investigate the behavior of a wide range of individual lipid molecules, rather than assessing only the total lipid content, which represents a key advantage and a distinguishing feature of this study.

In contrast to the general trend of lipid reduction, a significant increase in the relative abundance of 9-HODE (9-hydroxyoctadecadienoic acid) was observed in cooked burgers compared to the raw samples (**Figure 4**), reinforcing the occurrence of lipid oxidation during thermal processing. This compound is a well-established marker derived from the oxidation of linoleic acid (C18:2), through either lipoxygenase activity or non-enzymatic oxidation mediated by free radicals (Li et al., 2025). The increase in 9-HODE levels indicates that heat treatment promotes the oxidative degradation of linoleic acid, which may originate both from endogenous pools and from the hydrolysis of membrane lysophospholipids such as LPA(18:2)**,** LPC(18:2)**,** and LPE(18:2). Under thermal conditions, these lipids can release free linoleic acid, thereby increasing its availability as a substrate for oxidation. This process is illustrated in **Figure S7** (Supplementary Material), which presents a simplified pathway: thermal hydrolysis of LPA(18:2) liberates linoleic acid, which undergoes oxidative transformation to form 9-HODE. The mechanism involves the abstraction of a hydrogen atom from linoleic acid, producing a lipid radical that reacts with molecular oxygen to generate 9-HpODE (9-hydroperoxy-octadecadienoic acid), an unstable hydroperoxide intermediate. This intermediate is then reduced to 9-HODE through either enzymatic pathways (e.g., glutathione peroxidases) or non-enzymatic means (Domínguez et al., 2019; Mercola & D'Adamo, 2023). This mechanism

highlights how membrane disruption and phospholipid degradation not only reduce native lipid content but also increase the formation of oxidized lipid species under cooking conditions.

The results obtained in the present study are consistent with previous findings showing that cooking processes markedly influence lipid composition. Giuffrè et al. (2020) demonstrated that cooking techniques affect the oxidative stability of vegetable oils (including extra virgin olive oil, pomace olive oil, palm oil, and soybean oil), leading to changes in oxidation-related compounds. Additionally, the volatile profile was significantly influenced by cooking temperature and time. Aldehydes, olefinic aldehydes, and dienaldehydes were identified as the most characteristic volatile compounds formed during thermal processing. Multari et al. (2019) reported a significant reduction in the polyunsaturated fatty acid (PUFA) content of hemp seed oil after frying (180 °C for 60 min), while soybean oil exhibited the highest formation of lipid peroxides under similar conditions. Furthermore, baking (180 °C for 10 min) was shown to significantly increase free fatty acid levels in sesame oil while decreasing its PUFA content. However, these trends are not universal across all plant-based systems. He et al. (2021), for example, observed no significant changes in the fatty acid composition of commercial plant-based burgers, with raw and cooked samples showing highly similar profiles. According to the authors, this stability likely reflects the dominant influence of the formulated lipid ingredients, primarily canola and coconut oils, combined with short cooking times and the protective effect of the product matrix. These findings indicate that although lipid degradation during cooking is well documented across many food systems, its extent in plant-based burgers can vary markedly depending on formulation and processing conditions.

When comparing the different cooking methods (**Figure 4**), a broadly similar impact on the lipid content of plant-based burgers was observed, with all methods generally leading to a reduction in the relative abundance compared to raw samples. Nonetheless, microwave cooking appeared to promote greater retention of certain lipids. For instance, relative to raw samples, glyceryl monolinoleate retained 80.9%, LPE (16:0) 77.4%, LPE (18:1) 63.5%, LPE (18:2) 95.6%, LPA (18:2) 50.7%, and LPC (18:0) 58.1%. Detailed retention values for these compounds across all cooking treatments are provided in Supplementary Material (Table S9). This behavior may be explained by the distinct mechanisms involved in each cooking process. Conventional cooking methods based on conduction and convection heat transfer, such as air frying, oven baking, and grilling, typically promote significant fat loss due to the melting and dripping of lipids. In addition, the combination of high surface temperatures and exposure to oxygen tends to accelerate lipid oxidation, hydrolysis, and thermal degradation (Alfaifi et al., 2023). In contrast, microwave cooking relies on volumetric heating that generates heat

internally within the food matrix without creating excessively high surface temperatures. Furthermore, the absence of direct contact with hot surfaces and the limited exposure to circulating hot air likely reduces both fat exudation and lipid oxidation (D. K. Verma et al., 2024; J. Zhang & Luan, 2024). These conditions together could contribute to the better preservation of structural lipids, such as lysophospholipids, when microwave cooking is applied. According to Liu et al. (2023), compared to conventional cooking methods, emerging technologies such as vacuum low-temperature cooking, ultrasonic-assisted cooking, infrared cooking, and microwave cooking are more effective in delaying lipid oxidation. This is primarily attributed to their higher heat and mass transfer efficiency combined with reduced oxygen exposure during cooking, ultimately minimizing lipid degradation and preserving lipid quality.

Phenolic compounds also represent a class of metabolites significantly affected by cooking. These compounds are widely recognized for their sensitivity to food processing, particularly thermal treatments. **Figure 5** shows boxplots of selected annotated phenolic compounds, especially flavonoids, that exhibited a statistically significant reduction in relative abundance after cooking. Flavonoids are a major class of polyphenols characterized by a typical core structure composed of three rings (A, B, and C) arranged in a C6–C3–C6 pattern. This class includes flavonols, flavones, isoflavones, flavanones, flavan-3-ols, and anthocyanidins. Flavonoids are predominantly found in fruits, vegetables, cereals, and legumes, and are associated with several health-promoting properties, including anti-inflammatory, anti-aging, antioxidant, and antidiabetic activities (Watkins et al., 2025; Zheng et al., 2025). The reduction in flavonoid content after cooking is mainly attributed to the thermal degradation of glycosidic bonds and oxidation of the flavonoid core structure, mechanisms widely documented in thermally treated plant matrices (Mehmood & Zeb, 2020; Zhao et al., 2019). Additionally, phenolic compounds can interact with Maillard reaction intermediates, leading to the formation of new complexes, which further contributes to their reduced abundance (Bork et al., 2024). Notably, compounds such as luteolin *O*-glucuronide and apigenin *O*-glucuronide showed a uniform decrease across all cooking methods (**Figure 5**), suggesting a high thermal sensitivity of *O*-glucuronide conjugates, which are known to be less stable than other phenolic forms under heat (Gao et al., 2022). Similarly, quercetin *O*-glycoside and *O*-diglycoside significantly decreased, particularly under air-frying conditions, which may be due to the combination of high temperatures and intense air circulation, which enhanced oxidation. Additionally, malonylated flavonoids, such as 6"-malonylapiin, showed a strong decline under air frying and grilling, which could be attributed to the thermal lability of malonyl groups. These esterified

forms decarboxylate easily at elevated temperatures, leading to degradation (Siemińska-Kuczer et al., 2022).

Among the different methods, microwave cooking appeared to be the most effective method for retaining certain flavonoids, including 6''-Acetylapiin (79.05 %) and 6''-malonylapiin (73.88%). According to Vallejo et al. (2002), cooking methods such as steaming and microwaving are considered the most suitable for preserving high levels of phenolic compounds. This is mainly because the samples are not in direct contact with water, and the inactivation of oxidative enzymes during these methods helps prevent the degradation of phenolic compounds. This aligns with Liu et al. (2015), who reported that microwave blanching accelerates enzyme degradation, minimizes browning, and preserves bioactive compounds, despite slightly lower moisture content compared with steam or hot water treatments. Microwave-blanched samples also required less time for subsequent dehydration and retained the highest anthocyanin content (59.34%). Similarly, Kamal & Golshany (2024) found that steaming maximized total polyphenols (4.28 mg GAE/g DW), while microwaving retained the most carotenoids (527.35 μg BCE/g DW) in orange-fleshed sweet potatoes; both methods also enhanced antioxidant activity compared with boiling. These results highlight that low-water cooking methods, effectively preserve heat-sensitive phytochemicals in plant-based foods. Several other studies have demonstrated that microwaving effectively preserves soluble and hydrolyzable polyphenols, as well as antioxidant activity, in products such as squash, broccoli, carrot, kale, cabbage, tomato, and green beans (Ardiansyah et al., 2023; Chin et al., 2022; de Castro et al., 2021; Narwojsz et al., 2020; Rana et al., 2021; Sharma et al., 2022; Y. Zhang et al., 2022). Nevertheless, contradictory findings have also been reported, with reductions in total phenolic content (TPC) and antioxidant activity in peanut sprouts and spinach leaves microwaved at lower power levels (850 W), suggesting that treatment intensity and matrix composition critically influence the outcome (Czarnowska-Kujawska et al., 2022; L. Zhang et al., 2023).

Despite most compounds underwent thermal degradation during cooking, an increase in the relative abundance of certain hydroxycinnamic acids and simple phenolics, such as hydroxybenzoic acid, caffeic acid, apigenin and luteolin, was also observed (**Figure 6**). Similarly, some apigenin derivatives, specifically apigenin-7-apioglucoside and apigenin-7-*O*-glucoside, showed a significant increase in cooked samples compared to raw ones. This phenomenon can be attributed to the thermal breakdown of complex phenolic structures, such as glycosides, esters, or compounds bound to the cell wall matrix. Heating promotes the hydrolysis of ester and glycosidic bonds, resulting in the release of free phenolic acids from

their conjugated forms. Additionally, the disruption of cell wall integrity during cooking may further facilitate the liberation of bound phenolics, enhancing their potential bioaccessibility (Nayak et al., 2015). The increase in phenolic content after cooking has also been reported in previous studies. Faller and Fialho (2009) reported substantial rises in total phenolics in potatoes after boiling (81.4%), steaming (22.8%), and microwaving (80.8%), while Blessington et al. (2010) found similar enhancements following baking (36.4%), frying (46.1%), and microwaving (47.5%). Likewise, Cattivelli et al. (2021) demonstrated that baking and frying significantly increased the phenolic content of both yellow- and red-skinned onions, with bioaccessibility reaching up to 80.2% in baked red onions. In line with these findings, Mehmood & Zeb (2023) observed that TPC of spinach was markedly enhanced by different cooking and processing methods, with the highest values recorded in samples microwaved for 15 min, followed by frying for 5 min and sonication for 20 min. These findings indicate that the stability and extractability of phenolic compounds during cooking are strongly influenced by their structural characteristics, particularly glycosyl, malonyl, or glucuronyl groups, as well as by the specific thermal dynamics of each treatment. Overall, controlled thermal processing appears to be an effective strategy to enhance the bioaccessibility of phenolic compounds across diverse plant-based matrices, supporting its use to improve the nutritional quality of foods, including meat analogues.

Thermal processing also significantly affected the levels of nucleosides (adenosine, guanosine, and uridine), nucleotides (adenosine cyclic monophosphate and guanosine monophosphate), and the nitrogenous base guanine in plant-based burgers (**Figure 7**). These nucleotide-related compounds are not only degradation products of nucleic acids but also play a key role in the development of flavor, particularly in enhancing umami and savory notes, which are critical attributes for plant-based meat analogs (Hernandez et al., 2023; Schmidt & Mouritsen, 2022). As illustrated in **Figure 7**, cooking promoted the release and accumulation of these compounds. For most of them, grilled samples exhibited the highest relative abundance, followed by oven and microwave treatments, while air frying generally resulted in moderate increases. The increase in nucleotide-related compounds has also been reported in previous studies, particularly in animal-based foods, such as beef and pork (Ismail et al., 2020; X. Wang et al., 2022). Elevated levels of compounds like guanosine monophosphate and adenosine cyclic monophosphate not only serve as markers of heat-induced molecular transformations but also contribute to flavor enhancement, ultimately improving the sensory quality of plant-based products. These findings highlight the dual role of nucleotide-derived metabolites as both indicators of processing intensity and flavor precursors in meat analog formulations.

Overall, the findings of this study demonstrate that thermal processing exerts compound-specific effects on the metabolite profile of plant-based burgers. Lipid species were generally reduced across all cooking methods, reflecting physical fat loss and oxidation processes, whereas certain lysophospholipids and glyceryl derivatives were better preserved under microwave cooking, likely due to its volumetric heating and reduced exposure to oxygen. Phenolic compounds and flavonoids displayed variable responses, with thermolabile *O*-glucuronide and malonylated derivatives showing marked decreases, while simpler phenolics and some hydroxycinnamic acids increased, indicating enhanced extractability and liberation from conjugated or cell wall-bound forms. Nucleotide-related compounds, including nucleosides and nucleotides, were elevated upon cooking, particularly under grilling, contributing to potential flavor enhancement through umami-related pathways. Collectively, these findings underscore the interplay between formulation, ingredient composition, and cooking method in determining metabolite stability, nutritional quality, and sensory attributes. The study highlights microwave cooking as a promising approach to minimize lipid degradation and preserve specific bioactive compounds.

4 Conclusions

This study evaluated the impact of four cooking technologies (air frying, electric grilling, oven baking, and microwave cooking) on the metabolite profile of plant-based burgers using untargeted metabolomics. Thermal processing substantially influenced the chemical composition of the samples, with clear metabolomic differentiation between raw and cooked treatments. All cooking methods led to significant degradation of thermolabile compounds, particularly lipids and flavonoids. On the other hand, some phenolic compounds and nucleotide-related metabolites exhibited increased intensities. Among the evaluated techniques, grilling induced the most pronounced alterations compared to the raw samples, while microwave cooking generally promoted better retention of specific lipids and phenolic compounds. Although each cooking strategy induced specific metabolic changes, no severe loss of essential nutrient groups was detected. These findings indicate that all evaluated approaches are suitable for preparing plant-based burgers, offering flexibility for consumers to choose their preferred method without compromising the product chemical integrity. Future studies integrating sensory evaluation with metabolomic data will be essential to establish direct links between chemical changes and flavor development.

Table 1 – Annotated compounds identified in raw and cooked plant-based burgers by ultra-high-performance liquid chromatography coupled with quadrupole time-of-flight mass spectrometry (UHPLC-QTOF-MS/MS).

Compound	t_R (min)[a]	Molecular formula	Chemical Class	Mode	[M-H]- or [M+H]+ (m/z)[b]	Error (ppm)	MS/MS (m/z)	ID[c]
Betaine	0.30	$C_5H_{11}NO_2$	Amino acid derivative	ESI+	118.0864	-1.23	58.0652 (100), 70.0648 (6), 59.0717 (4), 56.0498 (2)	2
Trigonelline	0.30	$C_7H_7NO_2$	Alkaloid	ESI+	138.0552	-1.78	94.0649 (100), 92.0497 (94), 51.0228 (87), 65.0383 (87)	2
Malic acid	0.40	$C_4H_6O_5$	Organic acid	ESI-	133.0148	-4.16	115.0036 (100), 133.0147 (35), 71.0130 (16), 72.9930 (14)	2
					341.1093	-1.10	179.0574 (100), 341.1065 (58), 161.0444 (33), 119.0363 (31)	
Sucrose	0.40	$C_{12}H_{22}O_{11}$	Carbohydrate	ESI-	377.0862 [M+Cl]-	-3.04	341.1099 (100), 377.0854 (41), 179.0560 (24), 342.1130 (14)	2
					387.1152 [M+HCOO]-	-3.48	341.1093 (100), 179.0564 (23), 342.1131 (14), 161.0461 (5)	
			.					
			.					
			.					
			.					
			.					

[a]Retention time on the ACQUITY UPLC T3 column and solvent: gradient of 0.1 % formic acid in water and acetonitrile with 0.1 % formic acid.

[b]Some compounds ionized as chloride adduct [M+Cl]- and/or formate adduct [M+HCOO]-.

[c]Identification confidence level according to Schymanski et al. (2014).

n.d.: not detected.

A tabela está disponível integralmente no artigo publicado, acessível em: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2025.147755

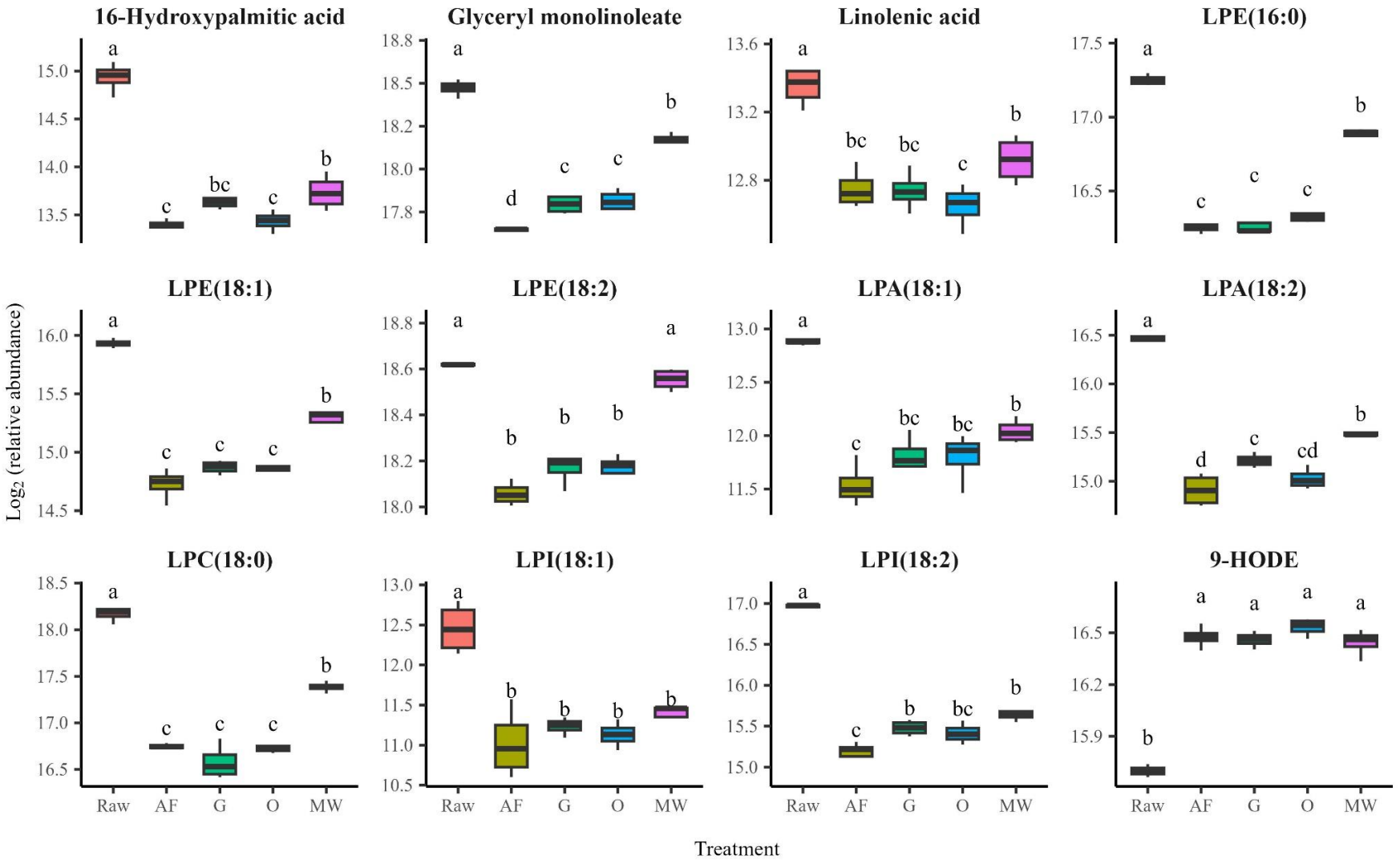


Figure 4 – Boxplots of annotated lipids that exhibited a decrease after cooking, while 9-HODE, a marker of lipid oxidation, increased. Data are log_2-transformed relative abundances. Different letters indicate statistically significant differences. Treatments: Raw (uncooked), AF (air-fryer), G (grill), O (oven), and MW (microwave).

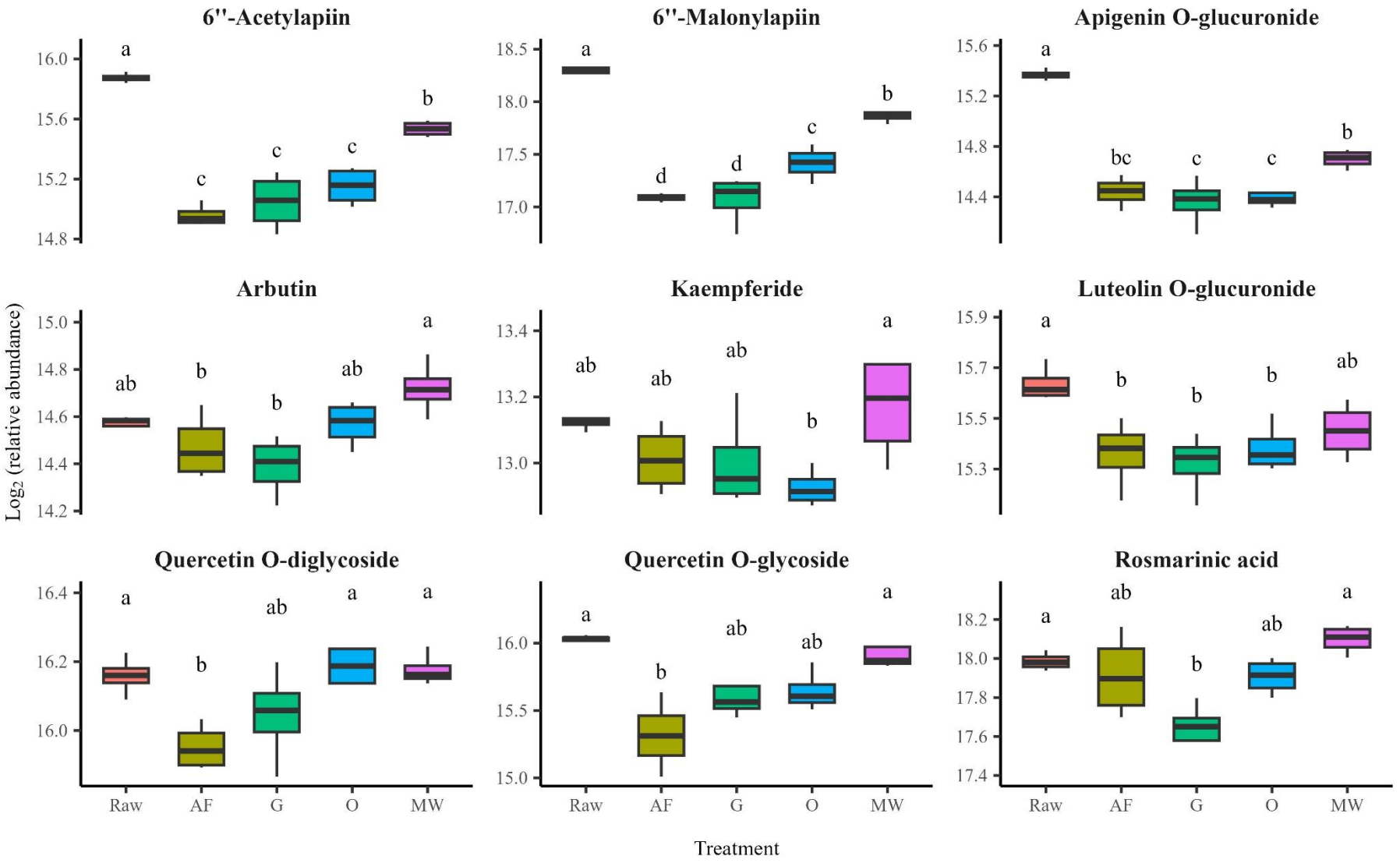


Figure 5 – Boxplots of annotated phenolics that exhibited a decrease after cooking. Data are log_2-transformed relative abundances. Different letters indicate statistically significant differences. Treatments: Raw (uncooked), AF (air-fryer), G (grill), O (oven), and MW (microwave).

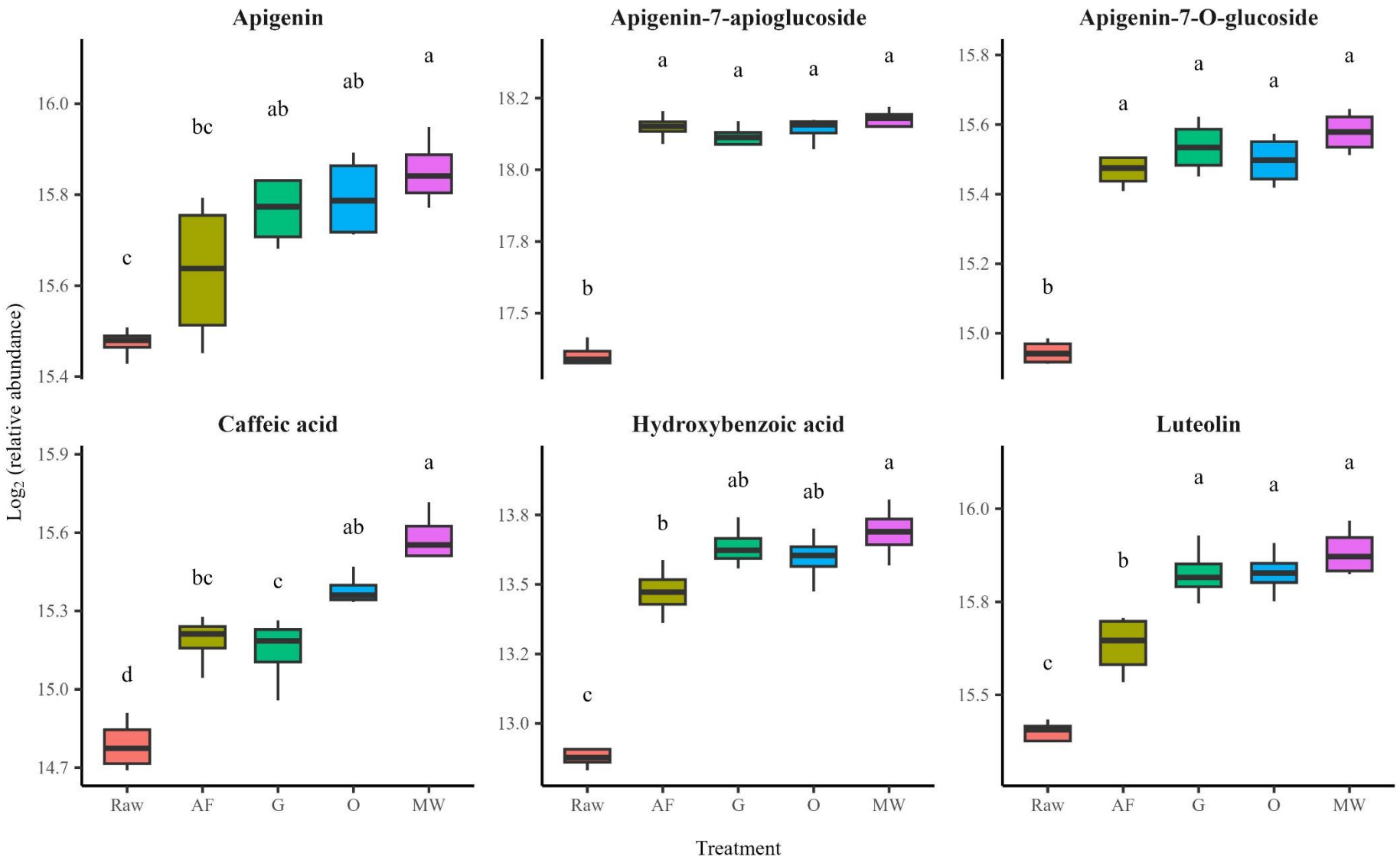


Figure 6 – Boxplots of annotated phenolics that exhibited an increase after cooking. Data are log_2-transformed relative abundances. Different letters indicate statistically significant differences. Treatments: Raw (uncooked), AF (air-fryer), G (grill), O (oven), and MW (microwave).

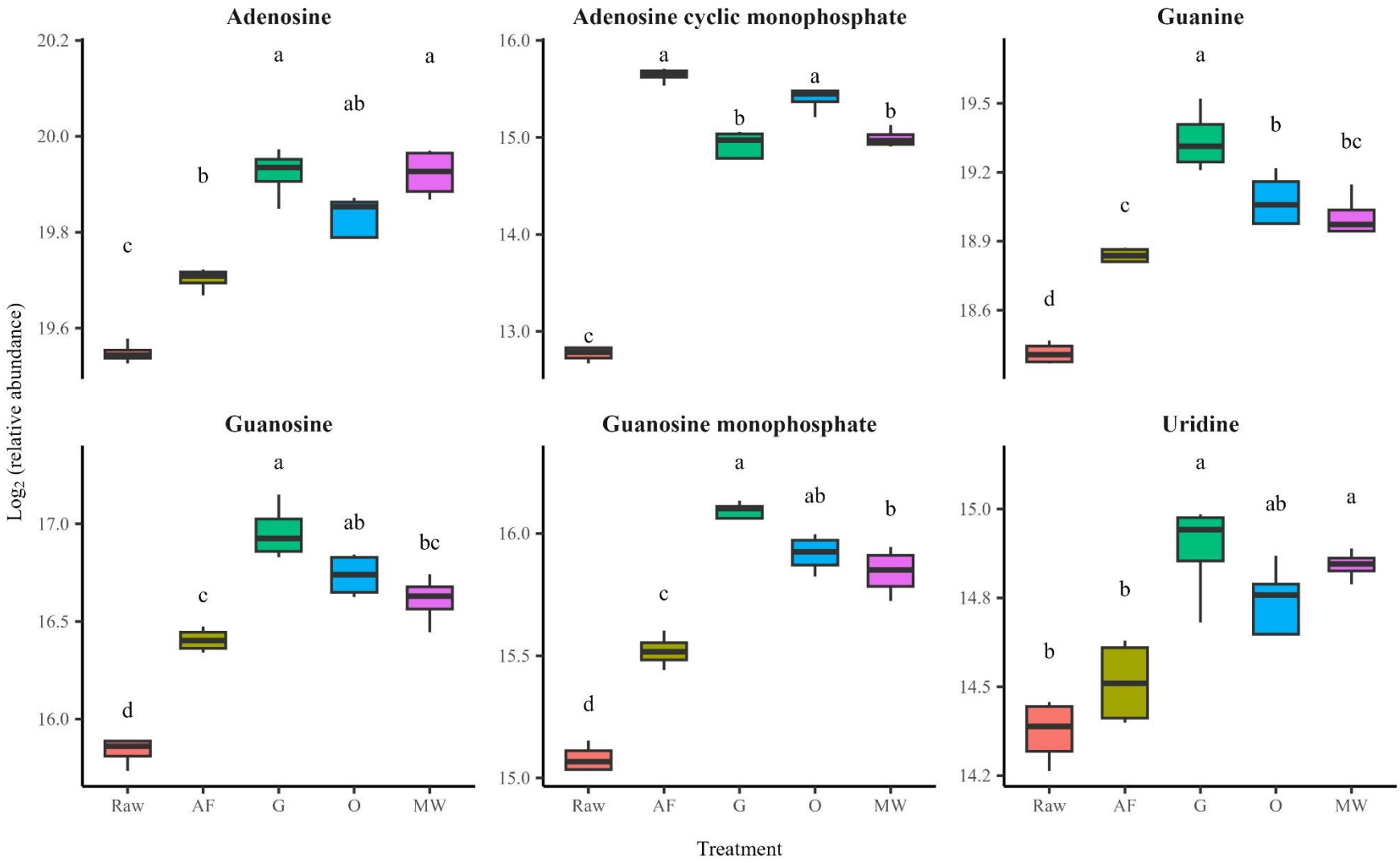


Figure 7 – Boxplots of nucleotide-related compounds that exhibited an increase after cooking. Data are log_2-transformed relative abundances. Different letters indicate significant statistically differences. Treatments: Raw (uncooked), AF (air-fryer), G (grill), O (oven), and MW (microwave).

Supplementary material – Metabolomic insights into the impact of cooking technologies on plant-based burger composition

Table S1 – Formulation of the plant-based burgers.

Ingredient	Content (g 100 g^{-1} sample)
Chickpeas	42.4
Beetroot	11.8
Carrot	11.8
Oat flour	11.8
Sour starch	7.1
Onion	7.1
Garlic	2.4
Parsley	2.4
Olive oil	1.2
Salt	1.2
Sweet paprika	0.7
Oregano	0.2
Black pepper	0.1

Figure S1 – Representative internal temperature profiles of patties cooked using different methods: air-fryer (AF), grill (G), oven (O), and microwave (MW).

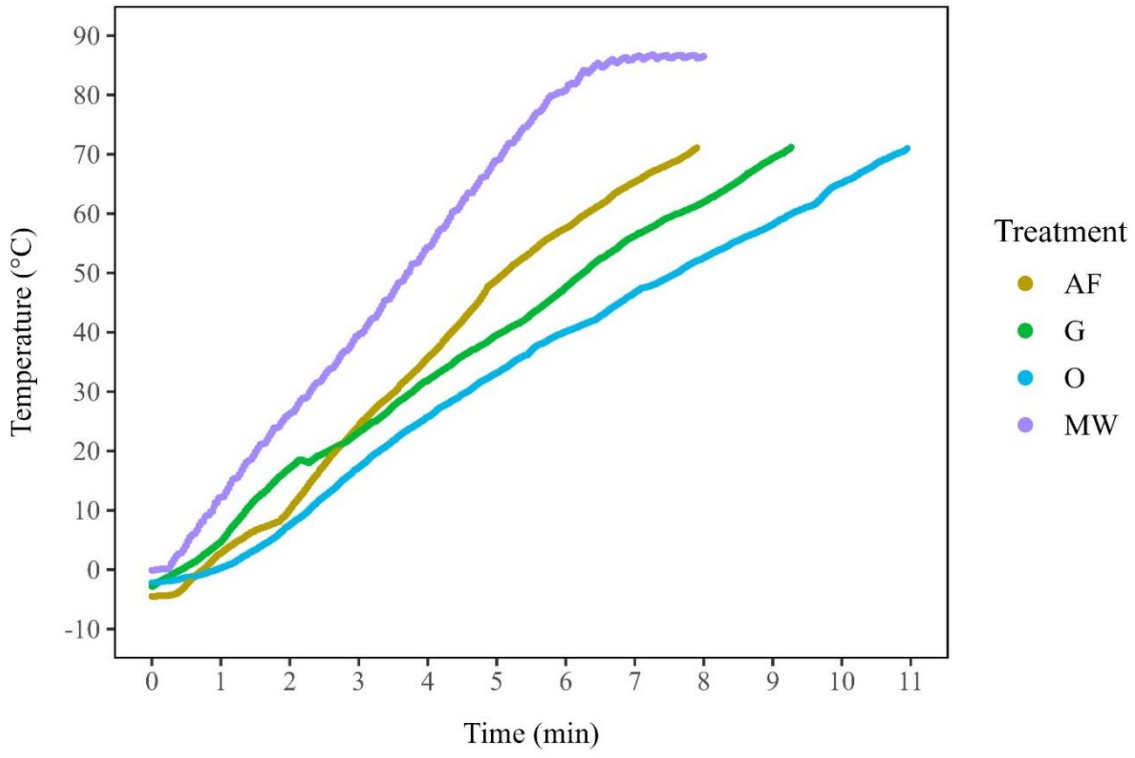


Figure S2 – Boxplots of log_2 transformed data in positive ionization mode: (a) grouped by treatment; (b) plotted according to run order. Treatments: Raw (uncooked), AF (air-fryer), G (grill), O (oven), MW (microwave), and QC (quality control).

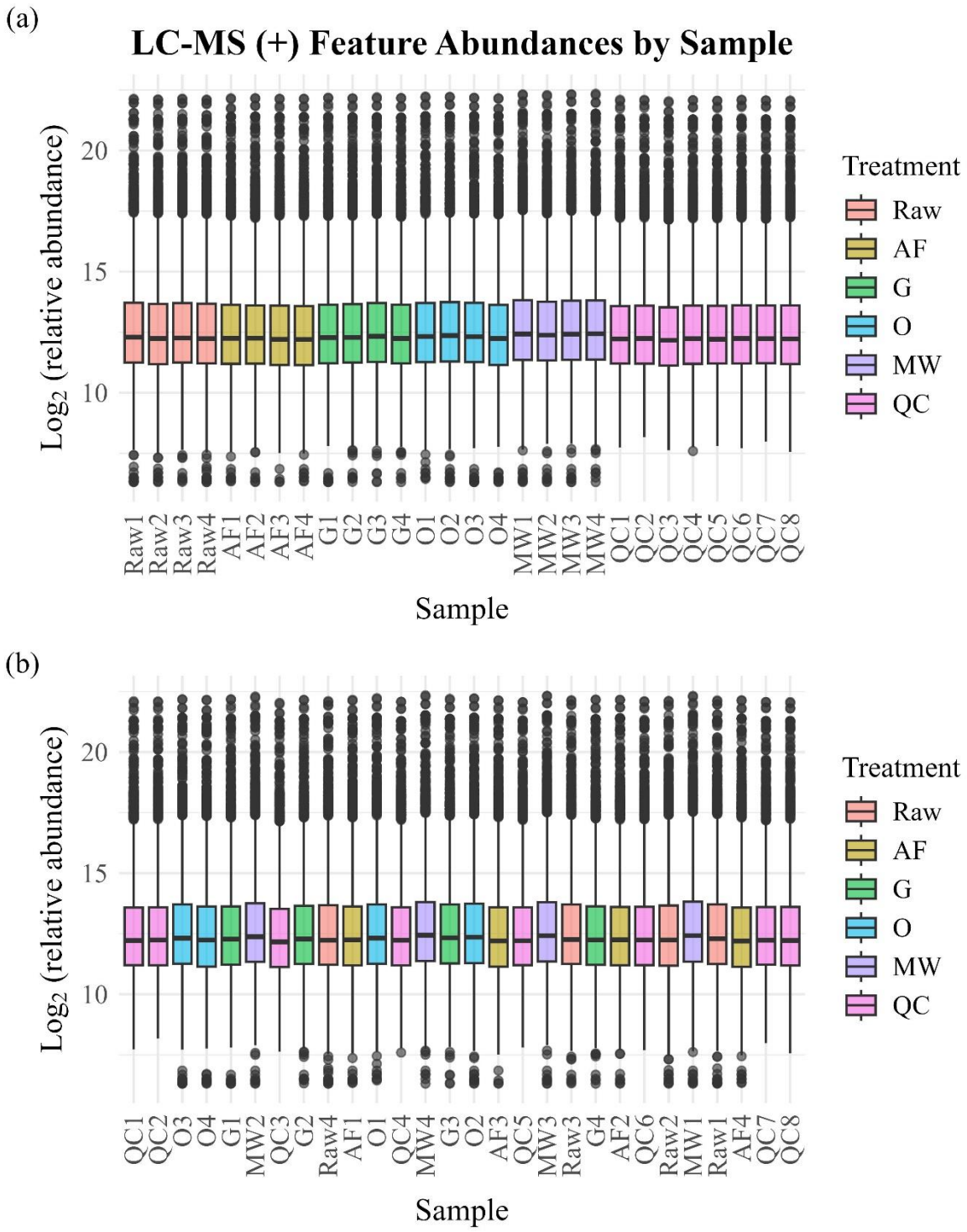


Figure S3 – Boxplots of log_2 transformed data in negative ionization mode: (a) grouped by treatment; (b) plotted according to run order. Treatments: Raw (uncooked), AF (air-fryer), G (grill), O (oven), MW (microwave), and QC (quality control).

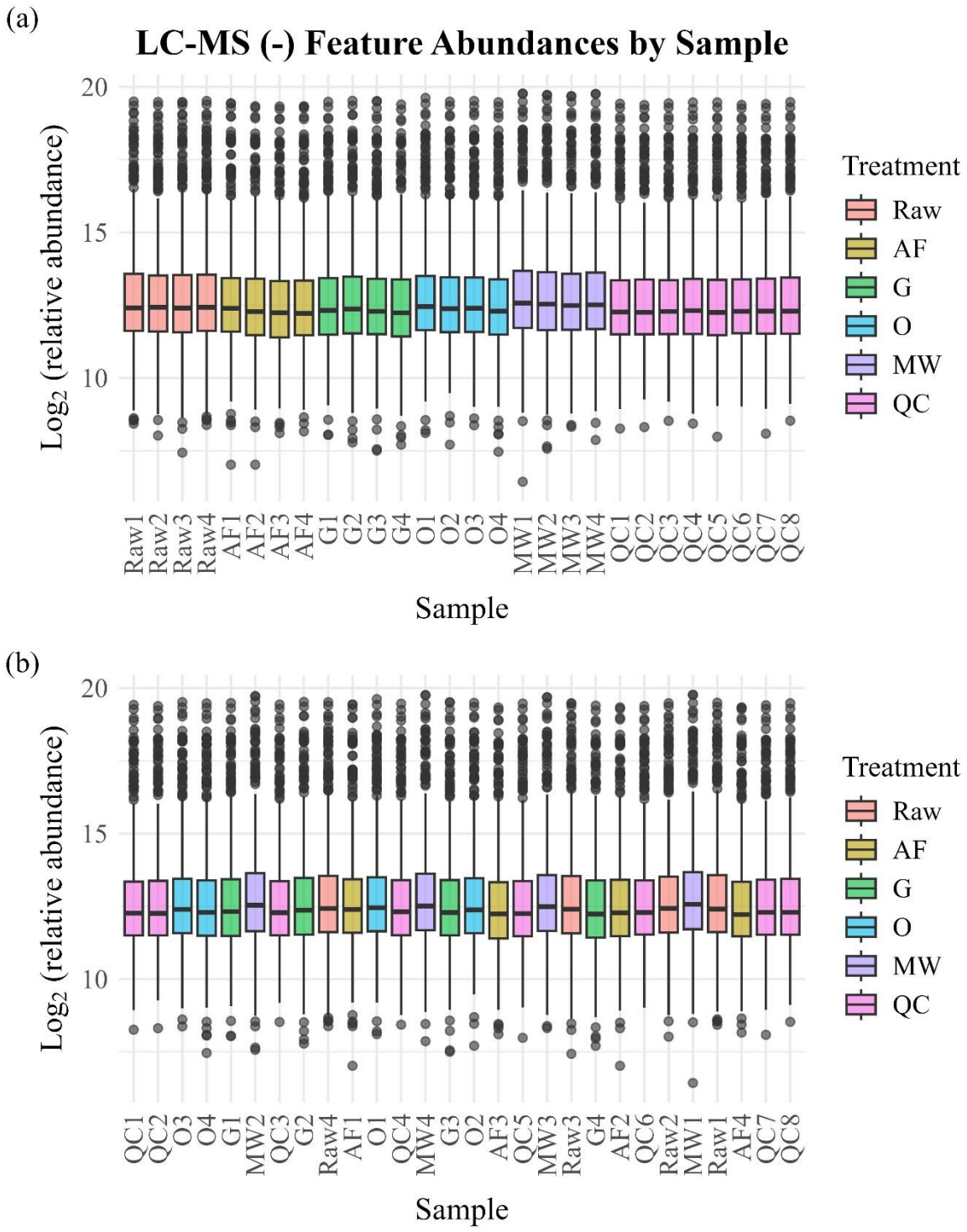


Figure S4 – PCA score plots of the MS1 feature table, including QC samples: (a) positive ionization mode; and (b) negative ionization mode. Treatments: Raw (uncooked), AF (air-fryer), G (grill), O (oven), MW (microwave), and QC (quality control).

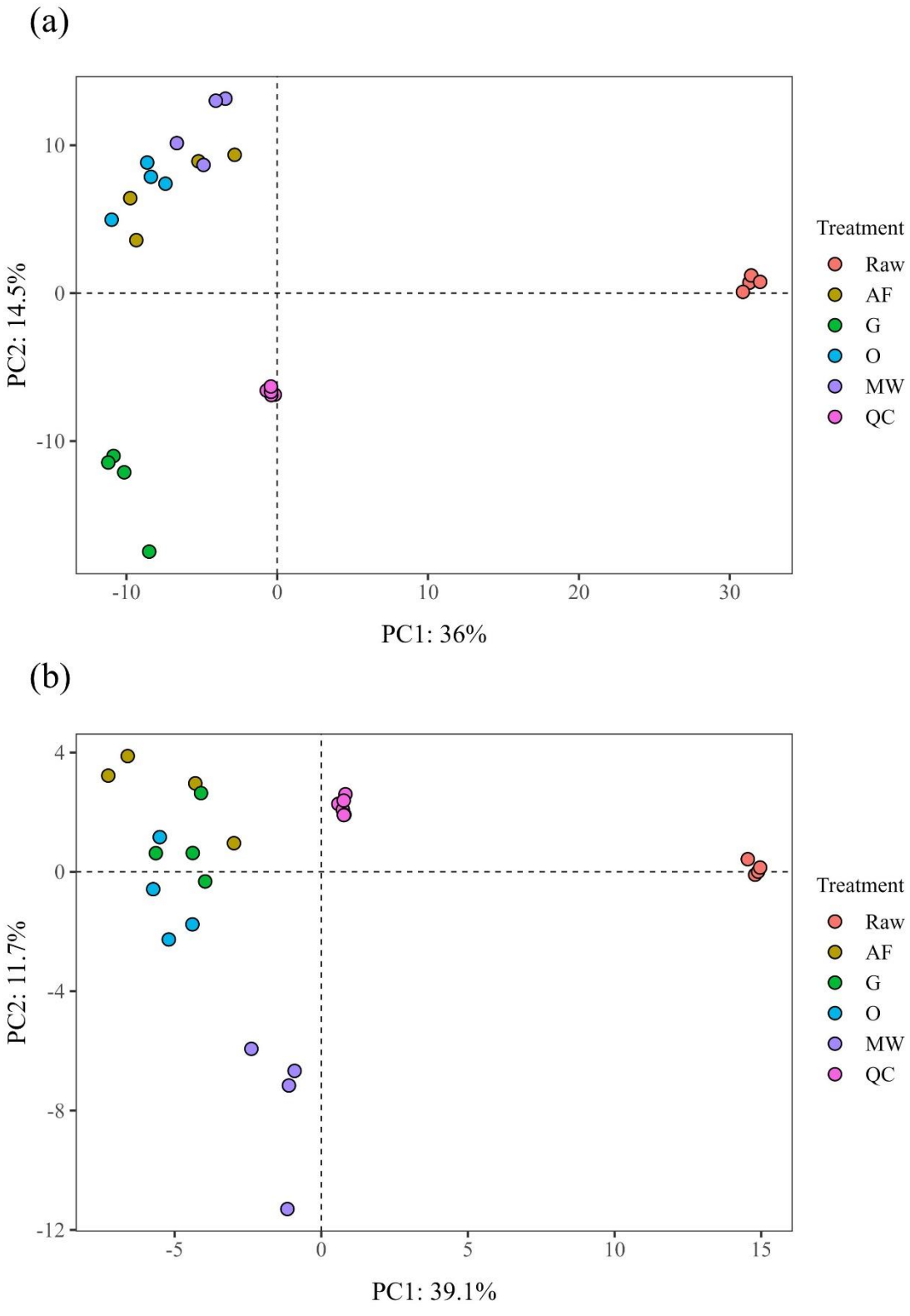


Figure S5 – PCA score plots of only cooked samples: (a) positive ionization mode; and (b) negative ionization mode. Treatments: AF (air-fryer), G (grill), O (oven), and MW (microwave).

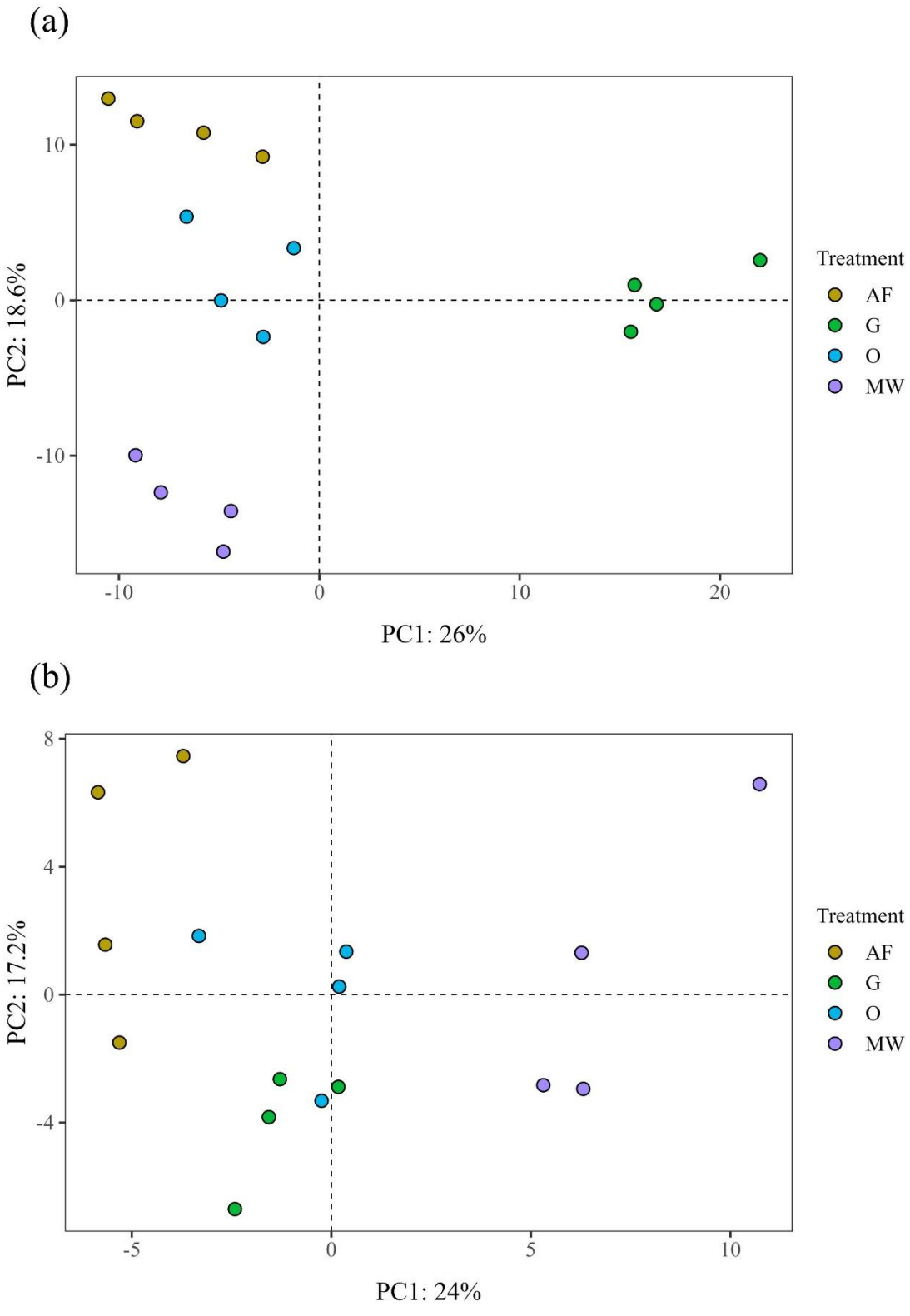


Figure S6 – Volcano plots of features in positive mode comparing: (a) AF versus G; (b) O versus AF; (c) O versus G; (d) MW versus AF; (e) MW versus G; and (f) MW versus O. Features with a BH-adjusted p-value ≤ 0.05 and fold change ≤ -2 are shown in blue. Features with a BH-adjusted p-value ≤ 0.05 and fold change ≥ 2 are shown in red. Treatments: AF (air-fryer), G (grill), O (oven), and MW (microwave).

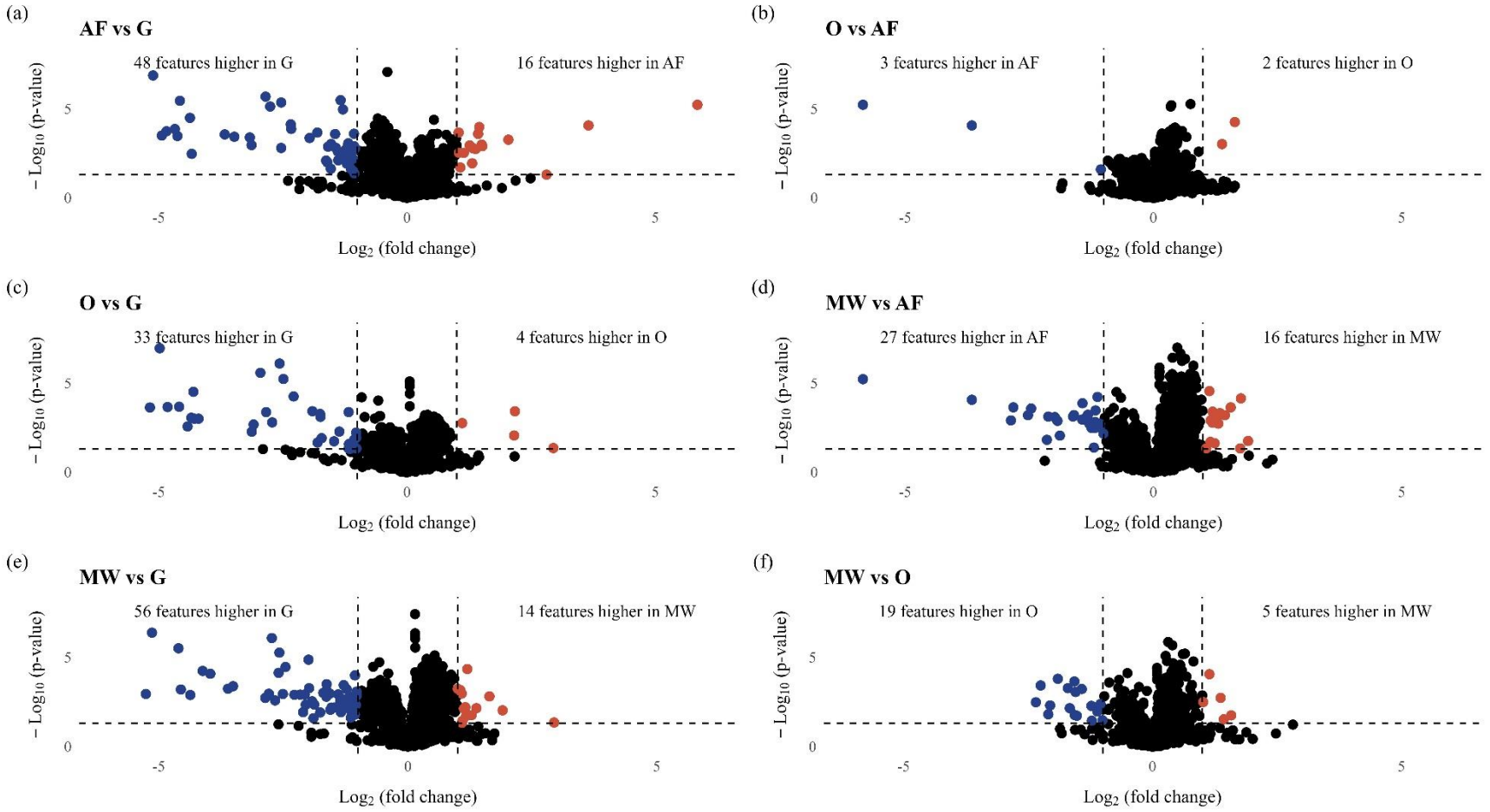
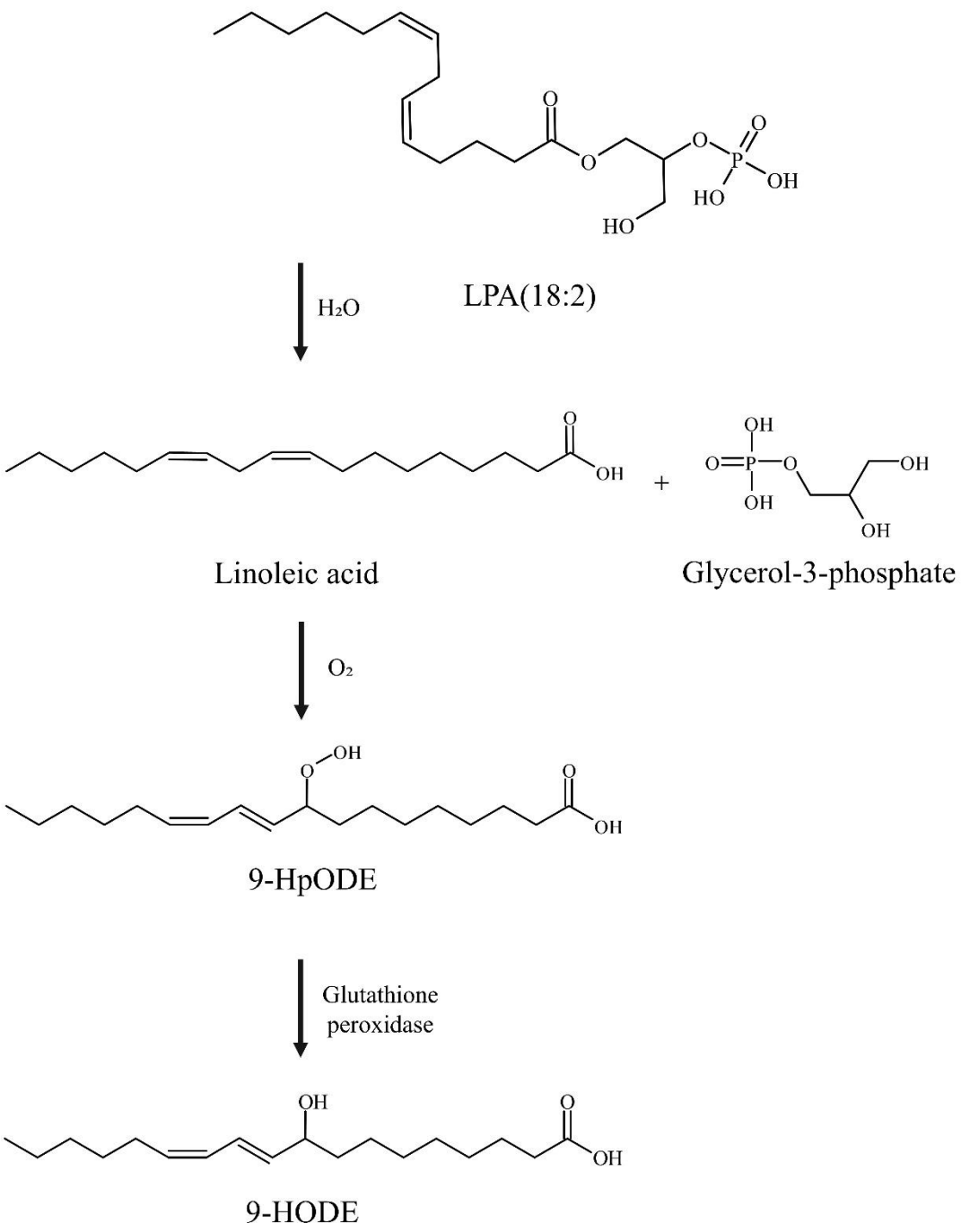


Figure S7 – Simplified pathway for the formation of 9-HODE from LPA(18:2) via thermal hydrolysis and subsequent lipid oxidation. Adapted from Ramsden *et al.*, (2012).



References

Aguiar, C. L., Haddad, R., Eberlin, M. N., Carrão-Panizzi, M. C., Tsai, S. M., & Park, Y. K. (2012). Thermal behavior of malonylglucoside isoflavones in soybean flour analyzed by RPHPLC/DAD and eletrospray ionization mass spectrometry. *Lwt*, *48*(1), 114–119. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.02.017

Alfaifi, B. M., Al-Ghamdi, S., Othman, M. B., Hobani, A. I., & Suliman, G. M. (2023). Advanced Red Meat Cooking Technologies and Their Effect on Engineering and Quality Properties: A Review. *Foods*, *12*(13). https://doi.org/10.3390/foods12132564

Andreani, G., Sogari, G., Marti, A., Froldi, F., Dagevos, H., & Martini, D. (2023). Plant-Based Meat Alternatives: Technological, Nutritional, Environmental, Market, and Social Challenges and Opportunities. *Nutrients*, *15*(2). https://doi.org/10.3390/nu15020452

Aron, A. T., Gentry, E. C., McPhail, K. L., Nothias, L. F., Nothias-Esposito, M., Bouslimani, A., Petras, D., Gauglitz, J. M., Sikora, N., Vargas, F., van der Hooft, J. J. J., Ernst, M., Kang, K. Bin, Aceves, C. M., Caraballo-Rodríguez, A. M., Koester, I., Weldon, K. C., Bertrand, S., Roullier, C., … Dorrestein, P. C. (2020). Reproducible molecular networking of untargeted mass spectrometry data using GNPS. *Nature Protocols*, *15*(6), 1954–1991. https://doi.org/10.1038/s41596-020-0317-5

Barakat, H., & Rohn, S. (2014). Effect of different cooking methods on bioactive compounds in vegetarian, broccoli-based bars. *Journal of Functional Foods*, *11*(C), 407–416. https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.009

Blessington, T., Nzaramba, M. N., Scheuring, D. C., Hale, A. L., Reddivari, L., & Miller, J. C. (2010). Cooking Methods and Storage Treatments of Potato: Effects on Carotenoids, Antioxidant Activity, and Phenolics. *American Journal of Potato Research*, *87*(6), 479–491. https://doi.org/10.1007/s12230-010-9150-7

Bocker, R., & Silva, E. K. (2022). Innovative technologies for manufacturing plant-based non-dairy alternative milk and their impact on nutritional, sensory and safety aspects. *Future Foods*, *5*. https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100098

Boukid, F. (2024). Holistic benefits of plant-based foods for sustainable agrifood systems. *Current Opinion in Food Science*, *58*. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2024.101184

Broadhurst, D., Goodacre, R., Reinke, S. N., Kuligowski, J., Wilson, I. D., Lewis, M. R., & Dunn, W. B. (2018). Guidelines and considerations for the use of system suitability and quality control samples in mass spectrometry assays applied in untargeted clinical metabolomic studies. *Metabolomics*, *14*(6). https://doi.org/10.1007/s11306-018-1367-3

Broncano, J. M., Petrón, M. J., Parra, V., & Timón, M. L. (2009). Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of free cholesterol oxidation products (COPs) in Latissimus dorsi muscle of Iberian pigs. *Meat Science*, *83*(3), 431–437. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2009.06.021

Cevallos-Cevallos, J. M., & Reyes-De-Corcuera, J. I. (2012). Metabolomics in Food Science. In *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 67, p. 1–24). Academic Press Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394598-3.00001-0

Chandrasekaran, S., Ramanathan, S., & Basak, T. (2013). Microwave food processing-A review. *Food Research International*, *52*(1), 243–261. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.02.033

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, *15*(10), 7313–7352. https://doi.org/10.3390/molecules15107313

Datta, A. K., & Rakesh, V. (2013). Principles of Microwave Combination Heating. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *12*(1), 24–39. https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2012.00211.x

Domínguez, R., Gómez, M., Fonseca, S., & Lorenzo, J. M. (2014). Effect of different cooking methods on lipid oxidation and formation of volatile compounds in foal meat. *Meat Science*, *97*(2), 223–230. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.01.023

Domínguez, R., Pateiro, M., Gagaoua, M., Barba, F. J., Zhang, W., & Lorenzo, J. M. (2019). A comprehensive review on lipid oxidation in meat and meat products. *Antioxidants*, *8*(10), 1–31. https://doi.org/10.3390/antiox8100429

Dzakovich, M. P., Goggans, M. L., Thomas-Ahner, J. M., Moran, N. E., Clinton, S. K., Francis, D. M., & Cooperstone, J. L. (2024). Transcriptomics and Metabolomics Reveal Tomato Consumption Alters Hepatic Xenobiotic Metabolism and Induces Steroidal Alkaloid Metabolite Accumulation in Mice. *Molecular Nutrition and Food Research*, *68*(4). https://doi.org/10.1002/mnfr.202300239

Faller, A. L. K., & Fialho, E. (2009). The antioxidant capacity and polyphenol content of organic and conventional retail vegetables after domestic cooking. *Food Research International*, *42*(1), 210–215. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2008.10.009

Gao, Y., Xia, W., Shao, P., Wu, W., Chen, H., Fang, X., Mu, H., Xiao, J., & Gao, H. (2022). Impact of thermal processing on dietary flavonoids. *Current Opinion in Food Science*, *48*, 100915. https://doi.org/10.1016/j.cofs.2022.100915

Gippert, A. L., Madritsch, S., Woryna, P., Otte, S., Mayrhofer, M., Eigner, H., Garibay-Hernández, A., D'Auria, J. C., Molin, E. M., & Mock, H. P. (2022). Unraveling metabolic patterns and molecular mechanisms underlying storability in sugar beet. *BMC Plant Biology*, *22*(1), 1–18. https://doi.org/10.1186/s12870-022-03784-6

Giuffrè, A. M., Capocasale, M., Macrì, R., Caracciolo, M., Zappia, C., & Poiana, M. (2020). Volatile profiles of extra virgin olive oil, olive pomace oil, soybean oil and palm oil in different heating conditions. *Lwt*, *117*. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108631

Hailemariam, G. A., & Wudineh, T. A. (2020). Effect of Cooking Methods on Ascorbic Acid Destruction of Green Leafy Vegetables. *Journal of Food Quality*, *2020*. https://doi.org/10.1155/2020/8908670

Hounsome, N., Hounsome, B., Tomos, D., & Edwards-Jones, G. (2008). Plant metabolites and nutritional quality of vegetables. *Journal of Food Science*, *73*(4), 48–65. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2008.00716.x

Idle, J. R., & Gonzalez, F. J. (2007). Metabolomics. *Cell Metabolism*, *6*(5), 348–351. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.10.005

Ilic, J., Tomasevic, I., & Djekic, I. (2022). Influence of boiling, grilling, and sous-vide on mastication, bolus formation, and dynamic sensory perception of wild boar ham. *Meat Science*, *188*. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2022.108805

Ismail, I., Hwang, Y. H., & Joo, S. T. (2020). Low-temperature and long-time heating regimes on non-volatile compound and taste traits of beef assessed by the electronic tongue system. *Food Chemistry*, *320*. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126656

JH, C. (2016). Lipid Oxidation in Meat. *Journal of Nutrition & Food Sciences*, *06*(03), 12–14. https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000494

Jukanti, A. K., Gaur, P. M., Gowda, C. L. L., & Chibbar, R. N. (2012). Nutritional quality and health benefits of chickpea (Cicer arietinum L.): A review. *British Journal of Nutrition*, *108*(SUPPL. 1). https://doi.org/10.1017/S0007114512000797

Klåvus, A., Kokla, M., Noerman, S., Koistinen, V. M., Tuomainen, M., Zarei, I., Meuronen, T., Häkkinen, M. R., Rummukainen, S., Babu, A. F., Sallinen, T., Kärkkäinen, O., Paananen, J., Broadhurst, D., Brunius, C., & Hanhineva, K. (2020). "Notame": Workflow for non-targeted LC-MS metabolic profiling. *Metabolites*, *10*(4), 1–35. https://doi.org/10.3390/metabo10040135

Kumar, S., & Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, *2013*. https://doi.org/10.1155/2013/162750

Lacalle-Bergeron, L., Izquierdo-Sandoval, D., Sancho, J. V., López, F. J., Hernández, F., & Portolés, T. (2021). Chromatography hyphenated to high resolution mass spectrometry in untargeted metabolomics for investigation of food (bio)markers. *Trends in Analytical Chemistry*, *135*. https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116161

Lanzotti, V. (2006). The analysis of onion and garlic. *Journal of Chromatography A*, *1112*, 3–22. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.12.016

Liu, W., Luo, X., Huang, Y., Zhao, M., Liu, T., Wang, J., & Feng, F. (2023). Influence of cooking techniques on food quality, digestibility, and health risks regarding lipid oxidation. *Food Research International*, *167*. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112685

Lorenzo, J. M., Cittadini, A., Munekata, P. E., & Domínguez, R. (2015). Physicochemical properties of foal meat as affected by cooking methods. *Meat Science*, *108*, 50–54. https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.05.021

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, *79*(5), 727–747. https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727

Mathew, S. E., & Shakappa, D. (2022). A review of the nutritional and antinutritional constituents of chickpea (Cicer arietinum) and its health benefits. *Crop and Pasture Science*, *73*(4), 401–414. https://doi.org/10.1071/CP21030

McClements, D. J., & Grossmann, L. (2021). A brief review of the science behind the design of healthy and sustainable plant-based foods. *npj Science of Food*, *5*(1). https://doi.org/10.1038/s41538-021-00099-y

Mehmood, A., & Zeb, A. (2020). Effects of different cooking techniques on bioactive contents of leafy vegetables. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, *22*. https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100246

Mercali, G. D., Rodrigues, E., Quiroz-Moreno, C. D., Sastry, S. K., & Cooperstone, J. (2025). Impact of shear stress and moderate electric field on the global metabolic profile of a blended fruit and vegetable juice. *Food Research International*, *209*. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2025.116299

Miglio, C., Chiavaro, E., Visconti, A., Fogliano, V., & Pellegrini, N. (2008). Effects of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(1), 139–147. https://doi.org/10.1021/jf072304b

Mottram, D. S. (1998). Flavour formation in meat and meat products: A review. *Food Chemistry*, *62*(4), 415–424. https://doi.org/10.1016/S0308-8146(98)00076-4

Multari, S., Marsol-Vall, A., Heponiemi, P., Suomela, J. P., & Yang, B. (2019). Changes in the volatile profile, fatty acid composition and other markers of lipid oxidation of six different vegetable oils during short-term deep-frying. *Food Research International*, *122*(April), 318–329. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.04.026

Nayak, B., Liu, R. H., & Tang, J. (2015). Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits, Vegetables, and Grains—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *55*(7), 887–918. https://doi.org/10.1080/10408398.2011.654142

Nicoli, M. ., Anese, M., & Parpinel, M. (1999). Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, *10*, 94–100.

Perla, V., Holm, D. G., & Jayanty, S. S. (2012). Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers. *LWT*, *45*(2), 161–171. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.08.005

Rodrigues, E., Mariutti, L. R. B., & Mercadante, A. Z. (2013). Carotenoids and phenolic compounds from Solanum sessiliflorum, an unexploited amazonian fruit, and their scavenging capacities against reactive oxygen and nitrogen species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(12), 3022–3029. https://doi.org/10.1021/jf3054214

Rotola-Pukkila, M. K., Pihlajaviita, S. T., Kaimainen, M. T., & Hopia, A. I. (2015). Concentration of umami compounds in pork meat and cooking juice with different cooking times and temperatures. *Journal of Food Science*, *80*(12), C2711–C2716. https://doi.org/10.1111/1750-3841.13127

Ruiz-Rodriguez, A., Marín, F. R., Ocaña, A., & Soler-Rivas, C. (2008). Effect of domestic processing on bioactive compounds. *Phytochemistry Reviews*, *7*(2), 345–384. https://doi.org/10.1007/s11101-007-9073-1

Schmid, R., Heuckeroth, S., Korf, A., Smirnov, A., Myers, O., Dyrlund, T. S., Bushuiev, R., Murray, K. J., Hoffmann, N., Lu, M., Sarvepalli, A., Zhang, Z., Fleischauer, M., Dührkop, K., Wesner, M., Hoogstra, S. J., Rudt, E., Mokshyna, O., Brungs, C., … Pluskal, T. (2023). Integrative analysis of multimodal mass spectrometry data in MZmine 3. *Nature Biotechnology*, *41*(4), 447–449. https://doi.org/10.1038/s41587-023-01690-2

Schymanski, E. L., Jeon, J., Gulde, R., Fenner, K., Ruff, M., Singer, H. P., & Hollender, J. (2014). Identifying small molecules via high resolution mass spectrometry: Communicating confidence. *Environmental Science and Technology*, *48*(4), 2097–2098. https://doi.org/10.1021/es5002105

Song, L., & Thornalley, P. J. (2007). Effect of storage, processing and cooking on glucosinolate content of Brassica vegetables. *Food and Chemical Toxicology*, *45*(2), 216–224. https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.07.021

Su, T., Le, B., Zhang, W., Bak, K. H., Soladoye, P. O., Zhao, Z., Zhao, Y., Fu, Y., & Wu, W. (2024). Technological challenges and future perspectives of plant-based meat analogues: From the viewpoint of proteins. *Food Research International*, *186*. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114351

Sumner, L. W., Amberg, A., Barrett, D., Beale, M. H., Beger, R., Daykin, C. A., Fan, T. W. M., Fiehn, O., Goodacre, R., Griffin, J. L., Hankemeier, T., Hardy, N., Harnly, J., Higashi, R., Kopka, J., Lane, A. N., Lindon, J. C., Marriott, P., Nicholls, A. W., … Viant, M. R. (2007). Proposed minimum reporting standards for chemical analysis: Chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI). *Metabolomics*, *3*(3), 211–221. https://doi.org/10.1007/s11306-007-0082-2

Tian, J., Chen, J., Lv, F., Chen, S., Chen, J., Liu, D., & Ye, X. (2016). Domestic cooking methods affect the phytochemical composition and antioxidant activity of purple-fleshed potatoes. *Food Chemistry*, *197*, 1264–1270. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.11.049

Turkmen, N., Sari, F., & Velioglu, Y. S. (2005). The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*, *93*(4), 713–718. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.038

Vallejo, F., Tomás-Barberán, F. A., & Garcia-Viguera, C. (2002). Glucosinolates and vitamin C content in edible parts of broccoli florets after domestic cooking. *European Food Research and Technology*, *215*(4), 310–316. https://doi.org/10.1007/s00217-002-0560-8

van Boekel, M., Fogliano, V., Pellegrini, N., Stanton, C., Scholz, G., Lalljie, S., Somoza, V., Knorr, D., Jasti, P. R., & Eisenbrand, G. (2010). A review on the beneficial aspects of food processing. *Molecular Nutrition and Food Research*, *54*(9), 1215–1247. https://doi.org/10.1002/mnfr.200900608

Verma, V., Singh, V., Chauhan, O. P., & Yadav, N. (2023). Comparative evaluation of conventional and advanced frying methods on hydroxymethylfurfural and acrylamide formation in French fries. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *83*. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103233

Vu, G., Zhou, H., & McClements, D. J. (2022). Impact of cooking method on properties of beef and plant-based burgers: Appearance, texture, thermal properties, and shrinkage. *Journal of Agriculture and Food Research*, *9*. https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100355

Wang, X., Feng, T., Wang, X., Xia, S., Yu, J., & Zhang, X. (2022). Microwave heating and conduction heating pork belly: Non-volatile compounds and their correlation with taste characteristics, heat transfer modes, and matrix microstructure. *Meat Science*, *192*.

Wang, Y., Lyu, B., Fu, H., Li, J., Ji, L., Gong, H., Zhang, R., Liu, J., & Yu, H. (2023). The development process of plant-based meat alternatives: Raw material formulations and processing strategies. *Food Research International*, *167*. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112689

Wen, Y., Kim, H. W., & Park, H. J. (2022). Effects of transglutaminase and cooking method on the physicochemical characteristics of 3D-printable meat analogs. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *81*. https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103114

Wu, Y., Liu, Y., Jia, Y., Feng, C. H., Zhang, H., Ren, F., & Zhao, G. (2024). Effects of thermal processing on natural antioxidants in fruits and vegetables. *Food Research International*, *192*(July), 114797. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114797

Yamaguchi, S., & Ninomiya, K. (2000). Umami and food palatability. *Journal of Nutrition*, *130*(4 SUPPL.), 921S-926S. https://doi.org/10.1093/jn/130.4.921s

Zhang, J. J., Xu, X., Zeng, Q., Li, C., Xi, B. N., Shu, Y., Ma, T., Dong, H., & Shen, Y. (2024). Lipidomics and metabolomics reveal the molecular mechanisms underlying the effect of thermal treatment on composition and oxidative stability of walnut oil. *Food Research International*, *191*. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2024.114695

Zhao, C., Liu, Y., Lai, S., Cao, H., Guan, Y., San Cheang, W., Liu, B., Zhao, K., Miao, S., Riviere, C., Capanoglu, E., & Xiao, J. (2019). Effects of domestic cooking process on the chemical and biological properties of dietary phytochemicals. *Trends in Food Science and Technology*, *85*, 55–66. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.01.004

Zhou, H., Vu, G., Gong, X., & McClements, D. J. (2022). Comparison of the Cooking Behaviors of Meat and Plant-Based Meat Analogues: Appearance, Texture, and Fluid Holding Properties. *ACS Food Science and Technology*, *2*(5), 844–851. https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.2c00016

Capítulo 5 – Discussão geral e considerações finais

Alimentos à base de plantas têm se consolidado como alternativas promissoras aos produtos tradicionais, ao conciliarem benefícios à saúde, respeito ao bem-estar animal, sustentabilidade ambiental e adaptação às novas tendências de consumo. Entre os análogos à carne, os hambúrgueres vegetais destacam-se pela ampla aceitação entre os consumidores e pela diversidade de produtos disponíveis. De forma semelhante, os alternativos lácteos, em especial as bebidas à base de plantas, também vêm ganhando espaço no mercado, impulsionados pela busca por opções livres de lactose e de proteínas de origem animal. No entanto, os alimentos *plant-based* não constituem uma categoria homogênea, uma vez que apresentam elevada complexidade composicional, resultante da combinação de diferentes matérias-primas vegetais, ingredientes funcionais e distintos graus de processamento.

A cocção aplicada aos análogos cárneos e os tratamentos empregados no processamento de bebidas vegetais emergem, portanto, como fatores determinantes para a qualidade final desses produtos, uma vez que influenciam aspectos microbiológicos, nutricionais e sensoriais por meio de diferentes mecanismos físicos e químicos. Nesse contexto, a análise metabolômica não direcionada, associada a análises convencionais, apresenta-se como uma abordagem robusta e abrangente para investigar as transformações químicas induzidas por processos térmicos e não térmicos, permitindo identificar a degradação, a liberação e a formação de metabólitos relevantes para a qualidade dos produtos à base de plantas.

Considerando o exposto, o objetivo geral da presente tese foi avaliar, de maneira integrada, como a matriz alimentar, as estratégias de formulação e as condições de processamento influenciam os atributos de qualidade e o perfil metabolômico de alimentos à base de plantas, com ênfase em análogos cárneos submetidos a diferentes métodos de cocção e em bebidas vegetais processadas por tecnologias térmicas e inovadoras. Para isso, os resultados foram organizados em quatro artigos científicos.

O primeiro artigo, intitulado "*Beyond nutritional labels: uncovering chemical diversity in commercial plant-based burgers through metabolomic profiling"*, estabelece a base composicional dos hambúrgueres *plant-based* comercializados no mercado brasileiro e demonstra que essa categoria é marcada por elevada heterogeneidade química, composta por diferentes classes de compostos como fenólicos, lipídeos, ácidos orgânicos, aminoácidos, peptídeos, carboidratos, nucleosídeos e vitaminas. Essa variabilidade manifesta-se, em primeiro lugar, entre hambúrgueres formulados a partir de diferentes matrizes proteicas e, adicionalmente, entre distintas formulações dentro de uma mesma matriz. Os resultados

indicam que a fonte proteica contribui para padrões globais de diferenciação, especialmente no caso de compostos característicos, como isoflavonas em produtos à base de soja ou flavonoides metilados em formulações com grão-de-bico. No entanto, o grau de processamento e a seleção de ingredientes exercem papel predominante na definição do perfil metabolômico de produtos de uma mesma fonte proteica. A variabilidade observada entre hambúrgueres formulados com leguminosas integrais e aqueles baseados em isolados proteicos ou proteínas texturizadas sugere que as múltiplas etapas de processamento das proteínas tendem a reduzir ou modificar o conteúdo de metabólitos nativos, particularmente os compostos fenólicos. Essas observações evidenciam as limitações da rotulagem nutricional para capturar a complexidade química desses produtos e posicionam a metabolômica não direcionada como uma ferramenta essencial para avaliações comparativas mais aprofundadas dos alimentos à base de plantas.

A partir dessa caracterização inicial, o segundo artigo, *"Chemical composition and cooking-induced physicochemical changes in plant-based and meat burgers"*, avança ao integrar a composição química e o comportamento físico-químico durante a cocção, por meio da comparação entre hambúrgueres à base de plantas e de origem animal. Os resultados demonstram que as diferenças entre os dois tipos de produtos são majoritariamente determinadas por sua composição intrínseca, refletida em perfis químicos distintos. Hambúrgueres cárneos, ricos em aminoácidos, dipeptídeos e fosfolipídios, apresentam maior integridade estrutural e resultam em produtos mais firmes após o cozimento. Em contraposição, hambúrgueres *plant-based*, caracterizados pela predominância de flavonoides, ácidos fenólicos e ácidos orgânicos, exibem menor capacidade de formação de redes estruturais, o que se traduz em atributos de textura significativamente inferiores, especialmente em termos de dureza e mastigabilidade. No que se refere aos métodos de cocção, o preparo em micro-ondas promove maiores perdas de massa e umidade, além de alterações mais pronunciadas na textura, enquanto o uso do *grill* favorece maior retenção de umidade e melhor aparência. Ainda assim, a análise multivariada indica que a principal fonte de variação está associada ao tipo de matriz, evidenciando um desafio central para o desenvolvimento de análogos cárneos: a necessidade de conciliar perfis químicos ricos em compostos bioativos com atributos estruturais e sensoriais comparáveis aos da carne.

O terceiro artigo, *"Metabolomic insights into the impact of cooking technologies on plant-based burger composition"*, aprofunda a discussão sobre o processamento térmico ao isolar o efeito das diferentes tecnologias de cocção sobre o metaboloma dos hambúrgueres *plant-based*. A clara separação entre amostras cruas e cozidas indica que a cocção promove transformações químicas substanciais, incluindo a degradação de compostos termolábeis, como

lipídeos e determinados compostos fenólicos. Por outro lado, o aumento relativo de alguns ácidos fenólicos e flavonoides após o cozimento sugere a ocorrência simultânea da liberação de metabólitos previamente ligados à matriz vegetal e de transformações químicas induzidas pelo calor. As diferenças observadas entre os métodos de preparo indicam que os distintos mecanismos de transferência de calor influenciam de maneira específica a estabilidade dos metabólitos. Entre as técnicas avaliadas, o *grill* é responsável pelas transformações químicas mais pronunciadas. Já o micro-ondas demonstra maior capacidade de preservar determinados lipídeos e compostos fenólicos, possivelmente em função de seu mecanismo particular de aquecimento, que minimiza o superaquecimento superficial e reduz o estresse oxidativo. Em consonância com os resultados do segundo artigo, esses achados reforçam que o método de cocção influencia simultaneamente as propriedades físico-químicas e o perfil metabolômico dos hambúrgueres à base de plantas. Dessa forma, a escolha da tecnologia de preparo configura-se como um fator estratégico, de acordo com o objetivo tecnológico e as características de qualidade desejadas para o produto final. Nesse contexto, o *grill* pode ser empregado para a obtenção de produtos com maior suculência e apelo visual, enquanto o micro-ondas se mostra mais adequado para a retenção de determinados compostos bioativos e para o aprimoramento da textura.

Por fim, o quarto artigo, intitulado *"Chemical profile changes in almond milk induced by thermal, high-pressure and ultra-shear treatments"*, amplia o escopo da tese para bebidas à base de plantas e tecnologias inovadoras de processamento, demonstrando que os princípios observados para análogos cárneos também se aplicam a outras matrizes vegetais. A avaliação do impacto de tratamentos térmicos e não térmicos em bebidas à base de amêndoas evidencia que diferentes tecnologias, incluindo a pasteurização térmica convencional, o processamento por alta pressão (*high-pressure processing*, HPP) e a tecnologia de ultra-cisalhamento (*ultra-shear technology*, UST), induzem perfis metabolômicos distintos, refletindo o balanço entre a liberação e a degradação de compostos químicos. Enquanto a pasteurização convencional (72 °C por 15 s) resulta em um perfil químico mais próximo ao da matriz *in natura*, o tratamento térmico brando (40 °C por 5 min) caracteriza-se por degradação mais acentuada de compostos fenólicos e lipídeos, indicando que a duração prolongada da exposição ao calor pode ser determinante para a perda de metabólitos sensíveis. O HPP e a UST, por sua vez, promovem maior extração de flavonoides e outros compostos bioativos, embora também estejam associados à degradação de metabólitos mais instáveis à pressão. Esses resultados evidenciam o potencial de tecnologias inovadoras para modular, de forma direcionada, a composição

química de bebidas vegetais, oferecendo alternativas promissoras ao processamento térmico convencional.

Considerados em conjunto, os quatro estudos demonstram que alimentos à base de plantas constituem sistemas complexos, nos quais a formulação e as condições de processamento desempenham papel central na definição de suas características físico-químicas. Do ponto de vista de aplicação, os resultados indicam que o desenvolvimento de análogos cárneos e de bebidas vegetais pode se beneficiar de decisões mais fundamentadas quanto à seleção de ingredientes e aos métodos de processamento, visando não apenas a segurança e a estabilidade, mas também a preservação de compostos bioativos e de atributos de qualidade. Dessa forma, esta tese contribui para uma compreensão mais integrada dos fatores que governam a qualidade de alimentos à base de plantas e oferece subsídios científicos para o avanço do setor em direção a produtos com composição nutricional adequada e atributos sensoriais alinhados às expectativas dos consumidores.

Capítulo 6 – Perspectivas futuras

Como perspectivas futuras, os estudos desenvolvidos nesta tese abrem diferentes possibilidades de aprofundamento e expansão dos resultados obtidos. No contexto do primeiro artigo, conforme mencionado anteriormente, análises adicionais, como a avaliação de fenólicos totais livres e ligados, a quantificação direcionada de metabólitos discriminantes entre as fontes vegetais e a construção de redes moleculares específicas, podem contribuir para um refinamento da caracterização química das diferentes matrizes proteicas.

Em particular, os resultados do quarto artigo levantam hipóteses consistentes sobre a possível inativação enzimática promovida pelo processamento por alta pressão (HPP) e pela tecnologia de ultra-cisalhamento (UST). Contudo, a ausência de ensaios enzimáticos diretos limita a comprovação desses mecanismos, indicando a necessidade de investigações adicionais voltadas à avaliação específica da atividade de enzimas relevantes para a estabilidade química e sensorial de bebidas vegetais. Adicionalmente, a investigação sistemática do efeito de diferentes níveis de pressão (100 a 600 MPa) e de distintos tempos de aplicação (0 e 5 min) no HPP, cujos dados experimentais já foram obtidos, representa uma oportunidade para compreender, de forma mais detalhada, a relação entre a intensidade do processamento e as alterações metabolômicas observadas.

Por fim, a integração de análises sensoriais aos dados físico-químicos e metabolômicos, de forma complementar aos diferentes produtos e tecnologias avaliados, constitui um passo fundamental para estabelecer conexões mais diretas entre transformações moleculares, percepção sensorial e aceitação do consumidor, contribuindo para o desenvolvimento de alimentos à base de plantas com desempenho tecnológico e sensorial mais consistente.

Referências bibliográficas

ABID, M. *et al.* Synergistic impact of sonication and high hydrostatic pressure on microbial and enzymatic inactivation of apple juice. **LWT**, [*s. l.*], vol. 59, no. 1, pp. 70–76, 2014.

ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas). NBR *ISO 23662. Definições e critérios técnicos para alimentos e ingredientes alimentares adequados para vegetarianos ou veganos e para rotulagem e alegações.* Rio de Janeiro, ABNT, 2021.

ABOULFAZLI, F.; SHORI, A. B.; BABA, A. S. Effects of the replacement of cow milk with vegetable milk on probiotics and nutritional profile of fermented ice cream. **LWT**, [*s. l.*], vol. 70, pp. 261–270, 2016.

ADHIWIRAWAN, E. *et al.* Heat transfer analysis of traditional Balinese satay grilling process. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, [*s. l.*], vol. 32, 2023.

AHMAD, M. *et al.* Plant-based meat alternatives: Compositional analysis, current development and challenges. **Applied Food Research**, [*s. l.*], vol. 2, no. 2, 2022.

AIR FRYER MASTER. *What Does An Air Fryer Do?* 2025. Disponível em: < https://www.airfrymaster.com/what-does-an-air-fryer-do/>. Acesso em: 29 de nov. de 2024.

AKINYEMI, A. O. Design and Construction of an Electric Oven. **The International Journal of Engineering and Science**, [*s. l.*], vol. 10, 2021.

ALFAIFI, B. M. *et al.* Advanced Red Meat Cooking Technologies and Their Effect on Engineering and Quality Properties: A Review. **Foods**, [*s. l.*], vol. 12, no. 13, 2023.

ALOZIE, Y. E.; UDOFIA, U. S. Nutritional and Sensory Properties of Almond (Prunus amygdalu Var. Dulcis) Seed Milk. **World Journal of Dairy & Food Sciences**, [*s. l.*], vol. 10, no. 2, pp. 117–121, 2015.

AMADOR ESPEJO, G. G. *et al.* Inactivation of Bacillus spores inoculated in milk by Ultra High Pressure Homogenization. **Food Microbiology**, [*s. l.*], vol. 44, pp. 204–210, 2014.

ANTONIO BLANCO; GUSTAVO BLANCO. Metabolism. *In*: MEDICAL BIOCHEMISTRY. [*S. l.*]: Academic Press, 2017. pp. 275–281.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). *Alimentos plant-based. Relatório das oficinas virtuais para identificação do problema regulatório e dos agentes afetados.* 2022.

AYDAR, E. F.; TUTUNCU, S.; OZCELIK, B. Plant-based milk substitutes: Bioactive compounds, conventional and novel processes, bioavailability studies, and health effects. **Journal of Functional Foods**, [*s. l.*], vol. 70, 2020.

AYDEMIR, L. Y.; YEMENICIOĜLU, A. Potential of Turkish Kabuli type chickpea and green and red lentil cultivars as source of soy and animal origin functional protein alternatives. **LWT**, [*s. l.*], vol. 50, no. 2, pp. 686–694, 2013.

AZIZI-LALABADI, M.; MOGHADDAM, N. R.; JAFARI, S. M. Pasteurization in the food industry. *In*: THERMAL PROCESSING OF FOOD PRODUCTS BY STEAM AND HOT WATER: UNIT OPERATIONS AND PROCESSING EQUIPMENT IN THE FOOD INDUSTRY. [*S. l.*]: Elsevier, 2022. pp. 247–273.

BAKHSH, A. *et al.* Synergistic effect of lactoferrin and red yeast rice on the quality characteristics of novel plant-based meat analog patties. **Lwt**, [*s. l.*], vol. 171, no. October, p. 114095, 2022.

BAKHSH, A. *et al.* Traditional Plant-based Meat Alternatives, Current, and Future Perspective: A Review. **Journal of Agriculture & Life Science**, [*s. l.*], vol. 55, no. 1, pp. 1–11, 2021.

BALASUBRAMANIAM, V. M. *et al.* Ultra-shear: A transformative technology. **Food Technology**, [*s. l.*], vol. 77, no. 11, pp. 56–59, 2023.

BALASUBRAMANIAM, V. M. Process development of high pressure-based technologies for food: research advances and future perspectives. **Current Opinion in Food Science**, [*s. l.*], vol. 42, pp. 270–277, 2021.

BALASUBRAMANIAM, V. M.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; LELIEVELD, H. L. M. High-pressure processing equipment for the food industry. *In*: FOOD ENGINEERING SERIES. [*S. l.*]: Springer, 2016. pp. 39–65.

BARAKAT, H.; ROHN, S. Effect of different cooking methods on bioactive compounds in vegetarian, broccoli-based bars. **Journal of Functional Foods**, [*s. l.*], vol. 11, pp. 407–416, 2014.

BARBA, F. J. *et al.* Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. **Trends in Food Science and Technology**, vol. 49, pp. 96–109, 2016.

BARBA, F. J. *et al.* New opportunities and perspectives of high pressure treatment to improve health and safety attributes of foods. A review. **Food Research International**, vol. 77, pp. 725–742, 2015.

BARBA, F. J. *et al.* Study of Antioxidant Capacity and Quality Parameters in An Orange Juice-Milk Beverage After High-Pressure Processing Treatment. **Food and Bioprocess Technology**, [*s. l.*], vol. 5, no. 6, pp. 2222–2232, 2012.

BATTLE, M. *et al.* **2024 State of the industry: Plant-based meat, seafood, eggs, dairy, and ingredients**. [*S. l.*]: [*s. d.*], 2025.

BEJERHOLM, C.; TØRNGREN, M. A.; AASLYNG, M. D. Cooking of Meat. *In*: ENCYCLOPEDIA OF MEAT SCIENCES. [*S. l.*]: Elsevier Inc., 2014. pp. 370–376.

BERNAT, N. *et al.* Effect of high pressure homogenisation and heat treatment on physical properties and stability of almond and hazelnut milks. **LWT**, [*s. l.*], vol. 62, no. 1, pp. 488–496, 2015.

BERNAT, N. *et al.* Hazelnut milk fermentation using probiotic Lactobacillus rhamnosus GG and inulin. **International Journal of Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 49, no. 12, pp. 2553–2562, 2014.

BETORET, E. *et al.* Metabolomic studies after high pressure homogenization processed low pulp mandarin juice with trehalose addition. Functional and technological properties. **Journal of Food Engineering**, [*s. l.*], vol. 200, pp. 22–28, 2017.

BHATTACHARJEE, C.; SAXENA, V. K.; DUTTA, S. Novel thermal and non-thermal processing of watermelon juice. **Trends in Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 93, pp. 234–243, 2019.

BHUIYAN, M. H. R.; NGADI, M. O. Air-frying of meat analog based parfried frozen batter coated foods. **Journal of Food Engineering**, [*s. l.*], vol. 367, 2024.

BINI, Tina. 2023. Sem carne! Brasil é o principal país da América Latina no consumo de produtos plant-based. Disponível em < https://www.cnnbrasil.com.br/viagemegastronomia/gastronomia/sem-carne-brasil-e-principal-pais-da-america-latina-no-consumo-de-produtos-plant-based/>. Acesso em: 24 de jan. de 2025.

BOCCARD, J.; VEUTHEY, J. L.; RUDAZ, S. Knowledge discovery in metabolomics: An overview of MS data handling. **Journal of Separation Science**, [*s. l.*], vol. 33, no. 3, pp. 290–304, 2010.

BOCKER, R.; SILVA, E. K. Innovative technologies for manufacturing plant-based non-dairy alternative milk and their impact on nutritional, sensory and safety aspects. **Future Foods**, [*s. l.*], vol. 5, 2022.

BÖHME, K. *et al.* Recent applications of omics-based technologies to main topics in food authentication. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [*s. l.*], vol. 110, pp. 221–232, 2019.

BOHRER, B. M. An investigation of the formulation and nutritional composition of modern meat analogue products. **Food Science and Human Wellness**, [*s. l.*], vol. 8, no. 4, pp. 320–329, 2019.

BOOTH, S. C.; WELJIE, A. M.; TURNER, R. J. Computational tools for the secondary analysis of metabolomics experiments. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, [*s. l.*], vol. 4, no. 5, p. e201301003, 2013.

BOT, F. *et al.* Study on high pressure homogenization and high power ultrasound effectiveness in inhibiting polyphenoloxidase activity in apple juice. **Journal of Food Engineering**, [*s. l.*], vol. 221, pp. 70–76, 2018.

BOUDAH, S. *et al.* Annotation of the human serum metabolome by coupling three liquid chromatography methods to high-resolution mass spectrometry. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, [*s. l.*], vol. 966, pp. 34–47, 2014.

BOUKID, F. Holistic benefits of plant-based foods for sustainable agrifood systems. **Current Opinion in Food Science**, vol. 58, 2024.

BOYE, J. I. *et al.* Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. **Food Research International**, [*s. l.*], vol. 43, no. 2, pp. 537–546, 2010.

BRACONI, D. *et al.* Foodomics for human health: current status and perspectives. **Expert Review of Proteomics**, vol. 15, no. 2, pp. 153–164, 2018.

BRASIL. Portaria SDA/MAPA nº 327, de 11 de junho de 2021. *Tomada pública de subsídios - produtos plant-based*. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2021.

BRASIL. Portaria SDA/MAPA nº 724, de 23 de dezembro de 2023. *Aprova o Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade do hambúrguer*. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2023.

BRASIL. Portaria SDA/MAPA nº 831, de 28 de junho de 2023. *Regulamenta os produtos análogos de base vegetal*. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2023.

BRASIL. Lei nº 6.268, de 22 de novembro de 2007. Regulamenta a Lei no 9.972. Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2007.

BRASIL. Lei nº 9.972, de 25 de maio de 2000. *Institui a classificação de produtos vegetais, subprodutos e resíduos de valor econômico, e dá outras providências.* Brasília, DF: Diário Oficial da União, 2000.

BRIVIBA, K. *et al.* Ultra high pressure homogenization of almond milk: Physico-chemical and physiological effects. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 192, pp. 82–89, 2016a.

BRIVIBA, K. *et al.* Ultra high pressure homogenization of almond milk: Physico-chemical and physiological effects. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 192, pp. 82–89, 2016b.

BROADHURST, D. *et al.* Guidelines and considerations for the use of system suitability and quality control samples in mass spectrometry assays applied in untargeted clinical metabolomic studies. **Metabolomics**, [*s. l.*], vol. 14, no. 6, 2018.

BROWN, C. R. *et al.* Variability of phytonutrient content of potato in relation to growing location and cooking method. **Potato Research**, [*s. l.*], vol. 51, no. 3–4, pp. 259–270, 2008.

BURLON, F. *et al.* Transient model of a Professional Oven. **Energy Procedia**, vol. 126, pp. 2–9, 2017.

BURTON, G. W.; INGOLD, K. U. Vitamin E as an in Vitro and in Vivo Antioxidant. **Annals New York Academy of Sciences**, [*s. l.*], vol. 570, no. 1, pp. 7–22, 1989.

BUXTON, Amy. 2023. *Plant-Based Labeling Globally: Where Consumers and Companies Currently Stand*. Disponível em: <https://plantbasedworldpulse.com/plant-based-labeling-globally-where-consumers-and-companies-currently-stand/>. Acesso em: 16 de dez. de 2024.

CALVO, M. M.; HOZ, L. de la. Flavour of Heated Milks. A Review. **International Dairy Journal**, [*s. l.*], vol. 2, pp. 69–81, 1992.

CANER, C.; HERNANDEZ, R. J.; HARTE, B. R. High-pressure processing effects on the mechanical, barrier and mass transfer properties of food packaging flexible structures: A critical review. **Packaging Technology and Science**, [*s. l.*], vol. 17, no. 1, pp. 23–29, 2004.

CAO, Y. *et al.* A Comparative Study of Physicochemical and Flavor Characteristics of Chicken Nuggets during Air Frying and Deep Frying. **JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society**, [*s. l.*], vol. 97, no. 8, pp. 901–913, 2020.

CAPORGNO, M. P. *et al.* Extruded meat analogues based on yellow, heterotrophically cultivated Auxenochlorella protothecoides microalgae. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 59, 2020.

CAPOZZI, F.; BORDONI, A. Foodomics: A new comprehensive approach to food and nutrition. **Genes and Nutrition**, [*s. l.*], vol. 8, no. 1, pp. 1–4, 2013.

CARPENTIERI, S. *et al.* Emerging green techniques for the extraction of antioxidants from agri-food by-products as promising ingredients for the food industry. **Antioxidants**, [*s. l.*], vol. 10, no. 9, 2021.

CASTRO-PUYANA, M. *et al.* Application of mass spectrometry-based metabolomics approaches for food safety, quality and traceability. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [*s. l.*], vol. 93, pp. 102–118, 2017.

CAVANNA, D. *et al.* Egg product freshness evaluation: A metabolomic approach. **Journal of Mass Spectrometry**, [*s. l.*], vol. 53, no. 9, pp. 849–861, 2018.

CEVALLOS-CEVALLOS, J. M.; REYES-DE-CORCUERA, J. I. Metabolomics in Food Science. *In*: ADVANCES IN FOOD AND NUTRITION RESEARCH. [*S. l.*]: Academic Press Inc., 2012. vol. 67, pp. 1–24.

CHALUPA-KREBZDAK, S.; LONG, C. J.; BOHRER, B. M. Nutrient density and nutritional value of milk and plant-based milk alternatives. **International Dairy Journal**, [*s. l.*], vol. 87, pp. 84–92, 2018.

CHANG, P.-S.; CHEN, L.-J.; WANG, Y.-C. The effect of ultraviolet irradiation, heat, pH, ozone, salinity and chemical disinfectants on the infectivity of white spot syndrome baculovirus. **Aquaculture**, [*s. l.*], vol. 166, pp. 1–17, 1998.

CHATTERJEE, N. S. *et al.* Simultaneous authentication of species identity and geographical origin of shrimps: Untargeted metabolomics to recurrent biomarker ions. **Journal of Chromatography A**, [*s. l.*], vol. 1599, pp. 75–84, 2019.

CHATURVEDI, S.; GUPTA, P. Plant secondary metabolites for preferential targeting among various stressors of metabolic syndrome. *In*: STUDIES IN NATURAL PRODUCTS CHEMISTRY. [*S. l.*]: Elsevier B.V., 2021. vol. 71, pp. 221–261.

CHAVAN, M. *et al.* Development of non-dairy fermented probiotic drink based on germinated and ungerminated cereals and legume. **LWT**, [*s. l.*], vol. 91, pp. 339–344, 2018.

CHIANG, J. H. *et al.* Effects of soy protein to wheat gluten ratio on the physicochemical properties of extruded meat analogues. **Food Structure**, [*s. l.*], vol. 19, 2019.

CICHON, M. J. *et al.* Plasma Metabolomics Reveals Steroidal Alkaloids as Novel Biomarkers of Tomato Intake in Mice. **Molecular Nutrition and Food Research**, [*s. l.*], vol. 61, no. 12, 2017.

CLAASSEN, C.; KUBALLA, J.; ROHN, S. Polar lipids in starch-rich commodities to be analyzed with LC-MS-based metabolomics—optimization of ionization parameters and high-throughput extraction protocols. **Metabolites**, [*s. l.*], vol. 9, no. 8, 2019.

CNA. Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil. 2023. Indústria à base de plantas entra no radar do agro. Disponível em: <https://www.cnabrasil.org.br/noticias/industria-a-base-de-plantas-entra-no-radar-do-agro.> Acesso em: 02 de jan. de 2024.

CODINA-TORRELLA, I. *et al.* Potential application of ultra-high pressure homogenization in the physico-chemical stabilization of tiger nuts' milk beverage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 40, pp. 42–51, 2017.

CONSONNI, R.; CAGLIANI, L. R. Nuclear Magnetic Resonance and Chemometrics to Assess Geographical Origin and Quality of Traditional Food Products. *In*: ADVANCES IN FOOD AND NUTRITION RESEARCH. [*S. l.*]: Academic Press Inc., 2010. vol. 59, pp. 87–165.

COOPER, N. S. Microwave ovens. *In*: DEVELOPMENT OF PACKAGING AND PRODUCTS FOR USE IN MICROWAVE OVENS, SECOND EDITION. [*S. l.*]: Elsevier, 2020. pp. 177–199.

CORNET, S. H. V. *et al.* Enhancing the water holding capacity of model meat analogues through marinade composition. **Journal of Food Engineering**, [*s. l.*], vol. 290, 2021.

CORNET, S. H. V. *et al.* **Thermo-mechanical processing of plant proteins using shear cell and high-moisture extrusion cooking**. [*S. l.*]: Taylor and Francis Ltd., 2022.

COSTA, M. P. *et al.* Representing crop rotations in life cycle assessment: a review of legume LCA studies. **International Journal of Life Cycle Assessment**, [*s. l.*], vol. 25, no. 10, pp. 1942–1956, 2020.

CRUZ, N. *et al.* Ultra high pressure homogenization of soymilk: Microbiological, physicochemical and microstructural characteristics. **Food Research International**, [*s. l.*], vol. 40, no. 6, pp. 725–732, 2007.

CUBERO-LEON, E.; DE RUDDER, O.; MAQUET, A. Metabolomics for organic food authentication: Results from a long-term field study in carrots. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 239, pp. 760–770, 2018.

CUI, X. H. *et al.* Fermentation conditions of walnut milk beverage inoculated with kefir grains. **LWT**, [*s. l.*], vol. 50, no. 1, pp. 349–352, 2013.

DALL AASLYNG, M. *et al.* Cooking loss and juiciness of pork in relation to raw meat quality and cooking procedure. **Food Quality and Preference**, [*s. l.*], vol. 14, no. 4, pp. 277–288, 2003. Disponível em: Acesso at: 2 Apr. 2025.

DASH, K. K. *et al.* A comprehensive review on heat treatments and related impact on the quality and microbial safety of milk and milk-based products. **Food Chemistry Advances**, [*s. l.*], vol. 1, 2022.

DE SÁ, M. C.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Carotenoid composition of cooked green vegetables from restaurants. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 83, no. 4, pp. 595–600, 2003.

DEETH, H. C. Heat-induced inactivation of enzymes in milk and dairy products. A review. **International Dairy Journal**, [*s. l.*], vol. 121, 2021.

DEKKERS, B. L.; BOOM, R. M.; VAN DER GOOT, A. J. Structuring processes for meat analogues. **Trends in Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 81, pp. 25–36, 2018.

DEN HERTOG-MEISCHKE, M. J. A.; VAN LAACK, R. J. L. M.; SMULDERS, F. J. M. The water-holding capacity of fresh meat. **Veterinary Quarterly**, [*s. l.*], vol. 19, no. 4, pp. 175–181, 1997.

DHAKAL, S. *et al.* Effect of high pressure processing on the immunoreactivity of almond milk. **Food Research International**, [*s. l.*], vol. 62, pp. 215–222, 2014.

DHAKAL, S.; GIUSTI, M. M.; BALASUBRAMANIAM, V. M. Effect of high pressure processing on dispersive and aggregative properties of almond milk. **Journal of the science of food and agriculture**, [*s. l.*], vol. 96, no. 11, pp. 3821–3830, 2016.

DIEZ-SIMON, C.; MUMM, R.; HALL, R. D. Mass spectrometry-based metabolomics of volatiles as a new tool for understanding aroma and flavour chemistry in processed food products. **Metabolomics**, [*s. l.*], vol. 15, no. 3, 2019.

DO, D. T. *et al.* **Biomimetic plant foods: Structural design and functionality**. [*S. l.*]: Elsevier Ltd, 2018.

DUDZIK, D. *et al.* Quality assurance procedures for mass spectrometry untargeted metabolomics. a review. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [*s. l.*], vol. 147, pp. 149–173, 2018.

DUNN, W. B. *et al.* The importance of experimental design and QC samples in large-scale and MS-driven untargeted metabolomic studies of humans. **Bioanalysis**, [*s. l.*], vol. 4, no. 18, pp. 2249–2264, 2012.

ENRIGHT, J. B.; SADLER, W. W.; THOMAS, R. C. **Thermal Inactivation of Coxiella Burnetii in Milk**. [*S. l.*]: [*s. d.*], 1957.

EVELYN; MILANI, E.; SILVA, F. V. M. Comparing high pressure thermal processing and thermosonication with thermal processing for the inactivation of bacteria, moulds, and yeasts spores in foods. **Journal of Food Engineering**, [*s. l.*], vol. 214, pp. 90–96, 2017.

FEIZI, N. *et al.* Recent trends in application of chemometric methods for GC-MS and GC×GC-MS-based metabolomic studies. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [*s. l.*], vol. 138, 2021.

FERNÁNDEZ-OCHOA, Á. *et al.* A fingerprinting metabolomic approach reveals deregulation of endogenous metabolites after the intake of a bioactive garlic supplement. **Journal of Functional Foods**, [*s. l.*], vol. 49, pp. 137–145, 2018.

FIEHN, O. *et al.* The metabolomics standards initiative (MSI). **Metabolomics**, [*s. l.*], vol. 3, no. 3, pp. 175–178, 2007.

FIEHN, O. Metabolomics by gas chromatography-mass spectrometry: Combined targeted and untargeted profiling. **Current Protocols in Molecular Biology**, [*s. l.*], vol. 2016, 2016.

FORTUNE BUSINESS INSIGHTS. 2025. *Meat Substitutes Market Size, Share & Industry Analysis, By Source, By Product Type, By Type, By Distribution Channel, By Storage Outlook, and Regional Forecast, 2025-2032*. Disponível em: <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/meat-substitutes-market-100239>. Acesso em: 21 de jan. de 2025.

FRANCO, A. P. *et al.* Dielectric properties of green coconut water relevant to microwave processing: Effect of temperature and field frequency. **Journal of Food Engineering**, [*s. l.*], vol. 155, pp. 69–78, 2015.

FRIEDMAN, M. REVIEWS Nutritional Value of Proteins from Different Food Sources. A Review. **Journal of Agricultural and Food Chemistr**, [*s. l.*], vol. 44, 1996. Disponível em: https://pubs.acs.org/sharingguidelines.

GALLART-AYALA, H. *et al.* A global HILIC-MS approach to measure polar human cerebrospinal fluid metabolome: Exploring gender-associated variation in a cohort of elderly cognitively healthy subjects. **Analytica Chimica Acta**, [*s. l.*], vol. 1037, pp. 327–337, 2018.

GALLON, Vinícius; GADELHA, Victória. *Rotulagem plant-based: veja análise do GFI sobre Nota Técnica do Mapa*. 2022. Disponível em: https://gfi.org.br/rotulagem-plant-based-veja-analise-do-gfi-sobre-nota-tecnica-do-mapa/. Acesso em: 17 dez. 2024.

GAO, Y. *et al.* Impact of thermal processing on dietary flavonoids. **Current Opinion in Food Science**, [*s. l.*], vol. 48, p. 100915, 2022.

GARCÍA-SEGOVIA, P.; ANDRÉS-BELLO, A.; MARTÍNEZ-MONZÓ, J. Effect of cooking method on mechanical properties, color and structure of beef muscle (M. pectoralis). **Journal of Food Engineering**, [*s. l.*], vol. 80, no. 3, pp. 813–821, 2007.

GEORGET, E. *et al.* Bacterial spore inactivation by ultra-high pressure homogenization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 26, pp. 116–123, 2014.

GEORGET, E. *et al.* Inactivation of microorganisms by high isostatic pressure processing in complex matrices: A review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 27, pp. 1–14, 2015.

GFI BRASIL. 2022a. *Para FDA, leite vegetal pode ser chamado de leite.* Disponível em: < https://gfi.org.br/para-fda-leite-vegetal-pode-ser-chamado-de-leite/>. Acesso em: 17 dez. 2024.

GFI BRASIL. 2022b. Em crescimento, mercado de carnes vegetais ganha novas marcas no Brasil. Disponível em: <https://gfi.org.br/em-crescimento-mercado-de-carnes-vegetais-ganha-novas-marcas-no-brasil/> Acesso em: 27 de jan. de 2025.

GHAITARANPOUR, A. *et al.* An agent-based coupled heat and water transfer model for air frying of doughnut as a heterogeneous multiscale porous material. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 61, 2020.

GHAITARANPOUR, A. *et al.* Effect of deep fat and hot air frying on doughnuts physical properties and kinetic of crust formation. **Journal of Cereal Science**, [*s. l.*], vol. 83, pp. 25–31, 2018.

GIALLOUROU, N.; ORUNA-CONCHA, M. J.; HARBOURNE, N. Effects of domestic processing methods on the phytochemical content of watercress (Nasturtium officinale). **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 212, pp. 411–419, 2016.

GIKA, H. G. *et al.* Current practice of liquid chromatography-mass spectrometry in metabolomics and metabonomics. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [*s. l.*], vol. 87, pp. 12–25, 2014.

GIL SOLSONA, R. *et al.* The classification of almonds (Prunus dulcis) by country and variety using UHPLC-HRMS-based untargeted metabolomics. **Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment**, [*s. l.*], vol. 35, no. 3, pp. 395–403, 2018.

GODZIEN, J. *et al.* Controlling the quality of metabolomics data: new strategies to get the best out of the QC sample. **Metabolomics**, [*s. l.*], vol. 11, no. 3, pp. 518–528, 2015.

GOIÁS. Projeto de Lei PL 353/2022. *Institui a proibição de que estabelecimentos comerciais e fabricantes utilizem a expressão "carne" e outras para se referir a produtos que especifica, e fixa sanções para o seu descumprimento.* Assembleia Legislativa, 2022.

GÓMEZ, I.; IBAÑEZ, F. C.; BERIAIN, M. J. Physicochemical and sensory properties of sous vide meat and meat analog products marinated and cooked at different temperature-time combinations. **International Journal of Food Properties**, [*s. l.*], vol. 22, no. 1, pp. 1693–1708, 2019.

GONZÁLEZ-RIANO, C. *et al.* Recent developments along the analytical process for metabolomics workflows. **Analytical Chemistry**, [*s. l.*], vol. 92, no. 1, pp. 203–226, 2020.

GOUYO, T. *et al.* Assessment of acoustic-mechanical measurements for texture of French fries: Comparison of deep-fat frying and air frying. **Food Research International**, [*s. l.*], vol. 131, 2020.

GROSS, M.; JAENICKE, R. Proteins under pressure: The influence of high hydrostatic pressure on structure, function and assembly of proteins and protein complexes. **European Journal of Biochemistry**, [*s. l.*], vol. 221, no. 2, pp. 617–630, 1994.

GRUNDY, M. M. L.; LAPSLEY, K.; ELLIS, P. R. A review of the impact of processing on nutrient bioaccessibility and digestion of almonds. **International Journal of Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 51, no. 9, pp. 1937–1946, 2016.

GUASCH-FERRE, M.; BHUPATHIRAJU, S. N.; HU, F. B. Use of metabolomics in improving assessment of dietary intake. **Clinical Chemistry**, [*s. l.*], vol. 64, no. 1, pp. 82–98, 2018.

GUDURU, S. S.; BALASUBRAMANIAM, V. M.; HATZAKIS, E. Impact of thermal, high-pressure and ultra-shear pasteurisation technologies on beetroot juice metabolites using untargeted nuclear magnetic resonance spectroscopy. **International Journal of Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 59, no. 8, pp. 5754–5766, 2024.

GUL, O. *et al.* Effect of high pressure homogenization (HPH) on microstructure and rheological properties of hazelnut milk. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 41, pp. 411–420, 2017a.

GUL, O. *et al.* Effect of high pressure homogenization (HPH) on microstructure and rheological properties of hazelnut milk. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 41, pp. 411–420, 2017b.

GUL, O. *et al.* Effect of multi-pass high pressure homogenization on physicochemical properties of hazelnut milk from hazelnut cake: An investigation by response surface methodology. **Journal of Food Processing and Preservation**, [*s. l.*], vol. 42, no. 5, 2018.

GUO, Q. *et al.* Microwave processing techniques and their recent applications in the food industry. **Trends in Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 67, pp. 236–247, 2017.

GUPTA, R. *et al.* Storage stability of lycopene in tomato juice subjected to combined pressure-Heat treatments. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 58, no. 14, pp. 8305–8313, 2010.

HAGGARTY, J.; BURGESS, K. E. Recent advances in liquid and gas chromatography methodology for extending coverage of the metabolome. **Current Opinion in Biotechnology**, [*s. l.*], vol. 43, pp. 77–85, 2017.

HE, J. *et al.* Fatty acids and volatile flavor compounds in commercial plant-based burgers. **Journal of Food Science**, [*s. l.*], vol. 86, no. 2, pp. 293–305, 2021.

HE, Z. *et al.* High pressure homogenization processing, thermal treatment and milk matrix affect in vitro bioaccessibility of phenolics in apple, grape and orange juice to different extents. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 200, pp. 107–116, 2016.

HEW, P. S. *et al.* Quality and safety of food product – Current assessment, issues, and metabolomics as a way forward. **Food Chemistry Advances**, [*s. l.*], vol. 4, 2024.

HOBANI, A. I. *et al.* Effects of the Sous Vide and Conventional Electric Oven Cooking Methods on the Physio-Sensory Quality Attributes of Arabian Camel (Camelus dromedarius) Meat. **Processes**, [*s. l.*], vol. 11, no. 1, 2023.

HÖVELMANN, Y. *et al.* Identification of potential human urinary biomarkers for tomato juice intake by mass spectrometry-based metabolomics. **European Journal of Nutrition**, [*s. l.*], vol. 59, no. 2, pp. 685–697, 2020.

HRBEK, V. *et al.* Authenticity assessment of garlic using a metabolomic approach based on high resolution mass spectrometry. **Journal of Food Composition and Analysis**, [*s. l.*], vol. 67, pp. 19–28, 2018.

HU, F. B.; OTIS, B. O.; MCCARTHY, G. Can Plant-Based Meat Alternatives Be Part of a Healthy and Sustainable Diet?. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, [*s. l.*], vol. 322, no. 16, pp. 1547–1548, 2019.

HU, H. *et al.* Synergistic effects of pressure, temperature, shear, and their interactions on Clostridium sporogenes PA3679 spore inactivation during ultra-shear processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 90, 2023.

IBÁÑEZ, C. *et al.* Novel MS-based approaches and applications in food metabolomics. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [*s. l.*], vol. 52, pp. 100–111, 2013.

IBARZ, Albert.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. . **Unit operations in food engineering**. [*S. l.*]: CRC Press, 2003.

IBOPE (Instituto Brasileiro de Opinião Pública e Estatística). *Pesquisa de opinião pública sobre vegetarianismo*. 2018.

IDLE, J. R.; GONZALEZ, F. J. Metabolomics. **Cell Metabolism**, [*s. l.*], vol. 6, no. 5, pp. 348–351, 2007.

ISHAQ, A. *et al.* Plant-based meat analogs: A review with reference to formulation and gastrointestinal fate. **Current Research in Food Science**, [*s. l.*], vol. 5, pp. 973–983, 2022.

ISMAIL, A.; MARJAN, Z. M.; FOONG, C. W. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 87, no. 4, pp. 581–586, 2004.

ISSA KHAN, M. *et al.* Development of texturized vegetable protein using indigenous sources. **Pakistan Journal of Food Sciences**, [*s. l.*], vol. 21, no. 4, pp. 33–44, 2011. Disponível em: Acesso at: 18 Jun. 2025.

JACYNA, J.; KORDALEWSKA, M.; MARKUSZEWSKI, M. J. Design of Experiments in metabolomics-related studies: An overview. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [*s. l.*], vol. 164, pp. 598–606, 2019.

JAFARI, S. *et al.* Plant-based diets and risk of disease mortality: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [*s. l.*], vol. 62, no. 28, pp. 7760–7772, 2022.

JANAHAR, J. J. *et al.* Effects of pressure, shear, temperature, and their interactions on selected milk quality attributes. **Journal of Dairy Science**, [*s. l.*], vol. 104, no. 2, pp. 1531–1547, 2021.

JANAHAR, J. J. *et al.* Pressure, shear, thermal, and interaction effects on quality attributes of pea–dairy protein colloidal dispersions. **Food Hydrocolloids**, [*s. l.*], vol. 131, 2022.

JANDRIĆ, Z. *et al.* Authentication of Indian citrus fruit/fruit juices by untargeted and targeted metabolomics. **Food Control**, [*s. l.*], vol. 72, pp. 181–188, 2017.

JOHNSON, C. H.; IVANISEVIC, J.; SIUZDAK, G. Metabolomics: Beyond biomarkers and towards mechanisms. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, [*s. l.*], vol. 17, no. 7, pp. 451–459, 2016.

JOHNSON, Marc. 2015. *Overview of Texture Profile Analysis*. Texture Technologies Corporation Web Site. Disponível em: < https://texturetechnologies.com/resources/texture-profile-analysis>. Acesso em: 02 de dez. de 2024.

JOSHY, C. G. *et al.* Optimizing air-frying process conditions for the development of healthy fish snack using response surface methodology under correlated observations. **Journal of Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 57, no. 7, pp. 2651–2658, 2020.

JOUBRAN, A. M. *et al.* The effect of pressure level and cycling in high-pressure homogenization on physicochemical, structural and functional properties of filtered and non-filtered strawberry nectar. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 57, 2019.

JUKKOLA, A.; ROJAS, O. J. Milk fat globules and associated membranes: Colloidal properties and processing effects. **Advances in Colloid and Interface Science**, [*s. l.*], vol. 245, pp. 92–101, 2017.

JUNG, S.; MURPHY, P. A.; SALA, I. Isoflavone profiles of soymilk as affected by high-pressure treatments of soymilk and soybeans. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 111, no. 3, pp. 592–598, 2008.

KADIM, I. T. *et al.* Effects of age on composition and quality of muscle Longissimus thoracis of the Omani Arabian camel (Camelus dromedaries). **Meat Science**, [*s. l.*], vol. 73, no. 4, pp. 619–625, 2006.

KAMILOGLU, S.; VAN CAMP, J.; CAPANOGLU, E. Black carrot polyphenols: effect of processing, storage and digestion—an overview. **Phytochemistry Reviews**, [*s. l.*], vol. 17, no. 2, pp. 379–395, 2018.

KARLSSON POTTER, H.; RÖÖS, E. Multi-criteria evaluation of plant-based foods –use of environmental footprint and LCA data for consumer guidance. **Journal of Cleaner Production**, [*s. l.*], vol. 280, 2021.

KERTH, C. R.; MILLER, R. K. Beef flavor: A review from chemistry to consumer. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [*s. l.*], vol. 95, no. 14, pp. 2783–2798, 2015.

KIM, T. J. *et al.* Discrimination of adzuki bean (Vigna angularis) geographical origin by targeted and non-targeted metabolite profiling with gas chromatography time-of-flight mass spectrometry. **Metabolites**, [*s. l.*], vol. 10, no. 3, 2020.

KITA, A. *et al.* The effect of frying on anthocyanin stability and antioxidant activity of crisps from red- and purple-fleshed potatoes (Solanum tuberosum L.). **Journal of Food Composition and Analysis**, [*s. l.*], vol. 32, no. 2, pp. 169–175, 2013.

KIZZIE-HAYFORD, N. *et al.* Effects of protein enrichment on the microbiological, physicochemical and sensory properties of fermented tiger nut milk. **LWT**, [*s. l.*], vol. 74, pp. 319–324, 2016.

KOZLOWSKA, L.; MIZERA, O.; MROZ, A. An untargeted metabolomics approach to investigate the metabolic effect of beetroot juice supplementation in fencers—a preliminary study. **Metabolites**, [*s. l.*], vol. 10, no. 3, 2020.

KUMAR, C. *et al.* Mathematical Modelling of Heat and Mass Transfer during Intermittent Microwave-Convective Drying (IMCD) of Food Materials. **Agricultural and Food Sciences, Engineering, Mathematics**, [*s. l.*], 2016.

KUMAR, P. *et al.* Meat analogues: Health promising sustainable meat substitutes. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, [*s. l.*], vol. 57, no. 5, pp. 923–932, 2017.

KYRIAKOPOULOU, K.; KEPPLER, J. K.; VAN DER GOOT, A. J. Functionality of ingredients and additives in plant-based meat analogues. **Foods**, [*s. l.*], vol. 10, no. 3, 2021.

LACALLE-BERGERON, L. *et al.* Chromatography hyphenated to high resolution mass spectrometry in untargeted metabolomics for investigation of food (bio)markers. **Trends in Analytical Chemistry**, [*s. l.*], vol. 135, 2021.

LAY, J. O. *et al.* Problems with the "omics." **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [*s. l.*], vol. 25, no. 11, pp. 1046–1056, 2006.

LEISEROWITZ, A. *et al.* **Climate Change and The American Diet**. New Haven: [*s. d.*], 2021.

LI, J. *et al.* Unraveling the formation mechanism of aroma compounds in pork during air frying using UHPLC-HRMS and Orbitrap Exploris GC–MS. **Food Research International**, [*s. l.*], vol. 192, 2024.

LI, M. *et al.* Physiological and Metabolomic Analysis of Cold Plasma Treated Fresh-Cut Strawberries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 67, no. 14, pp. 4043–4053, 2019.

LI, R. *et al.* Application of UHPLC-Q-TOF-MS/MS metabolomics approach to investigate the taste and nutrition changes in tilapia fillets treated with different thermal processing methods. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 356, 2021.

LI, Y. *et al.* Strategy for comparative untargeted metabolomics reveals honey markers of different floral and geographic origins using ultrahigh-performance liquid chromatography-hybrid quadrupole-orbitrap mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, [*s. l.*], vol. 1499, pp. 78–89, 2017.

LICHA, D. *et al.* Untargeted metabolomics reveals molecular effects of ketogenic diet on healthy and tumor xenograft mouse models. **International Journal of Molecular Sciences**, [*s. l.*], vol. 20, no. 16, 2019.

LLORACH, R. *et al.* Comparative metabolite fingerprinting of legumes using LC-MS-based untargeted metabolomics. **Food Research International**, [*s. l.*], vol. 126, 2019.

LUKHMANA, N.; KONG, F.; SINGH, R. K. Micronization enhanced extractability of polyphenols and anthocyanins in tart cherry puree. **Food Bioscience**, [*s. l.*], vol. 50, 2022.

MAGHSOUDLOU, Y. *et al.* Optimization of Ultrasound-Assisted Stabilization and Formulation of Almond Milk. **Journal of Food Processing and Preservation**, [*s. l.*], vol. 40, no. 5, pp. 828–839, 2016.

MAHATO, D. K. *et al.* Foodomics: A sustainable approach for the specific nutrition and diets for human health. **Food Chemistry: X**, [*s. l.*], vol. 24, 2024.

MALEKI, N.; KHODAIYAN, F.; MOUSAVI, S. M. Antioxidant activity of fermented Hazelnut milk. **Food Science and Biotechnology**, [*s. l.*], vol. 24, no. 1, pp. 107–115, 2015.

MANCANO, G.; MORA-ORTIZ, M.; CLAUS, S. P. Recent developments in nutrimetabolomics: from food characterisation to disease prevention. **Current Opinion in Food Science**, [*s. l.*], vol. 22, pp. 145–152, 2018.

MANCINI, R. A.; HUNT, M. C. Current research in meat color. **Meat Science**, [*s. l.*], vol. 71, no. 1, pp. 100–121, 2005.

MANZOOR, M. F. *et al.* Thermosonication effect on bioactive compounds, enzymes activity, particle size, microbial load, and sensory properties of almond (Prunus dulcis) milk. **Ultrasonics Sonochemistry**, [*s. l.*], vol. 78, 2021.

MARKLEY, J. L. *et al.* The future of NMR-based metabolomics. **Current Opinion in Biotechnology**, [*s. l.*], vol. 43, pp. 34–40, 2017.

MARTÍNEZ-MONTEAGUDO, S. I. *et al.* Improvements in emulsion stability of dairy beverages treated by high pressure homogenization: A pilot-scale feasibility study. **Journal of Food Engineering**, [*s. l.*], vol. 193, pp. 42–52, 2017.

MARTINEZ-MONTEAGUDO, S. I.; RATHNAKUMAR, K. High-Pressure Processing: Fundamentals, Misconceptions, and Advances. *In*: INNOVATIVE FOOD PROCESSING TECHNOLOGIES: A COMPREHENSIVE REVIEW. [*S. l.*]: Elsevier, 2020. pp. 19–38.

MASSON, P. *et al.* Optimization and evaluation of metabolite extraction protocols for untargeted metabolic profiling of liver samples by UPLC-MS. **Analytical Chemistry**, [*s. l.*], vol. 82, no. 18, pp. 7779–7786, 2010.

MATO GROSSO DO SUL. Projeto de Lei PL 10.556/2018. *Dispõe sobre a utilização da palavra "leite" nas embalagens e rótulos de alimentos.* Assembleia Legislativa, 2018.

MATO GROSSO. Projeto de Lei PL 2.876/2019. *Dispõe sobre a utilização da palavra "carne" e seus sinônimos nas embalagens, rótulos e publicidade de alimentos.* Assembleia Legislativa, 2019.

MATTICE, K. D.; MARANGONI, A. G. Comparing methods to produce fibrous material from zein. **Food Research International**, [*s. l.*], vol. 128, 2020.

MCCLEMENTS, D. J.; GROSSMANN, L. A brief review of the science behind the design of healthy and sustainable plant-based foods. **npj Science of Food**, [*s. l.*], vol. 5, no. 1, 2021.

MCCLEMENTS, D. J.; NEWMAN, E.; MCCLEMENTS, I. F. Plant-based Milks: A Review of the Science Underpinning Their Design, Fabrication, and Performance. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, [*s. l.*], vol. 18, no. 6, pp. 2047–2067, 2019.

MEADE, S. J.; REID, E. A.; GERRARD, J. A. The Impact of Processing on the Nutritional Quality of Food Proteins. **JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL**, [*s. l.*], vol. 88, 2005. Disponível em: https://academic.oup.com/jaoac/article-abstract/88/3/904/5657537.

MEHMOOD, A.; ZEB, A. Effects of different cooking techniques on bioactive contents of leafy vegetables. **International Journal of Gastronomy and Food Science**, [*s. l.*], vol. 22, 2020.

MEHTA, B. M. Chemical Composition of Milk and Milk Products. *In*: HANDBOOK OF FOOD CHEMISTRY. [*S. l.*]: Springer Berlin Heidelberg, 2015. pp. 511–553.

MENÉNDEZ, J. A. *et al.* Microwave heating processes involving carbon materials. **Fuel Processing Technology**, [*s. l.*], vol. 91, no. 1, pp. 1–8, 2010.

MENGISTU, H. K.; BERI, G. B. Cooking effect on bioactive compounds and antioxidant capacity of red pepper (Capsicum annuum L.). **Heliyon**, [*s. l.*], vol. 10, no. 17, 2024.

MERCALI, G. D. *et al.* Impact of shear stress and moderate electric field on the global metabolic profile of a blended fruit and vegetable juice. **Food Research International**, [*s. l.*], vol. 209, 2025.

MIAO, Z. *et al.* Gut microbiota signatures of long-term and short-term plant-based dietary pattern and cardiometabolic health: a prospective cohort study. **BMC Medicine**, [*s. l.*], vol. 20, no. 1, 2022.

MING-MIN, W.; ISMAIL-FITRY, M. R. Physicochemical, rheological and microstructural properties of chicken meat emulsion with the addition of Chinese yam (Dioscorea polystachya) and arrowroot (Maranta arundinacea) as meat substitutes. **Future Foods**, [*s. l.*], vol. 7, 2023.

MOLTÓ-PUIGMARTÍ, C. *et al.* Effects of pasteurisation and high-pressure processing on vitamin C, tocopherols and fatty acids in mature human milk. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 124, no. 3, pp. 697–702, 2011.

MORALES-DE LA PEÑA, M. *et al.* Impact of high intensity pulsed electric fields or heat treatments on the fatty acid and mineral profiles of a fruit juice-soymilk beverage during storage. **Food Control**, [*s. l.*], vol. 22, no. 12, pp. 1975–1983, 2011.

NASER, F. J. *et al.* Two complementary reversed-phase separations for comprehensive coverage of the semipolar and nonpolar metabolome. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [*s. l.*], vol. 410, no. 4, pp. 1287–1297, 2018.

NAVARRO, J. L. *et al.* Effect of pH, temperature and maturity on pectinmethylesterase inactivation of citrus juices treated by high-pressure homogenization. **LWT**, [*s. l.*], vol. 57, no. 2, pp. 785–788, 2014.

NICHOLSON, J. K.; LINDON, J. C.; HOLMES, E. "Metabonomics": understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. **Xenobiotica**, [*s. l.*], vol. 29, no. 11, pp. 1181–1189, 1999.

NIELSEN, N. J.; TOMASI, G.; CHRISTENSEN, J. H. Evaluation of chromatographic conditions in reversed phase liquid chromatography-mass spectrometry systems for fingerprinting of polar and amphiphilic plant metabolites. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [*s. l.*], vol. 408, no. 21, pp. 5855–5865, 2016.

NISHINARI, K.; FANG, Y.; ROSENTHAL, A. Human oral processing and texture profile analysis parameters: Bridging the gap between the sensory evaluation and the instrumental measurements. **Journal of Texture Studies**, [*s. l.*], vol. 50, no. 5, pp. 369–380, 2019.

NOBILE, M. *et al.* Metabolomic and volatilome profiling of milk to assess the application of infrared radiation processing. **Food Control**, [*s. l.*], vol. 171, 2025.

NUPENS USP. 2025. *A Classificação NOVA*. Disponível em: https://www.fsp.usp.br/nupens/a-classificacao-nova/. Acesso em: 05 de jan. de 2025.

PADMA, M. *et al.* Physico-Chemical Analysis of Milk Prepared from Broken Rice. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, [*s. l.*], vol. 7, no. 2, pp. 426–428, 2018.

PALKA, K. The influence of post-mortem ageing and roasting on the microstructure, texture and collagen solubility of bovine semitendinosus muscle. **Meat Science**, [*s. l.*], vol. 64, no. 2, pp. 191–198, 2003. Disponível em: Acesso at: 2 Apr. 2025.

PAN, Z.; SINGH, R. P. Heating surface temperature and contact-heat transfer coefficient of a clam-shell grill. **LWT**, [*s. l.*], vol. 35, no. 4, pp. 348–354, 2002.

PATHARE, P. B.; OPARA, U. L.; AL-SAID, F. A. J. Colour Measurement and Analysis in Fresh and Processed Foods: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, [*s. l.*], vol. 6, pp. 36–60, 2013.

PATHARE, P. B.; ROSKILLY, A. P. Quality and Energy Evaluation in Meat Cooking. **Food Engineering Reviews**, [*s. l.*], vol. 8, no. 4, pp. 435–447, 2016.

PATIL, S. *et al.* Effect of different methods of pasteurization on bactericidal action of human milk: A prospective observational study. **Indian Journal of Medical Research**, [*s. l.*], vol. 150, no. 5, pp. 504–507, 2019.

PEARCE, K. L. *et al.* Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes - A review. **Meat Science**, [*s. l.*], vol. 89, no. 2, pp. 111–124, 2011.

PEREDA, J. *et al.* Effects of ultra-high pressure homogenization on microbial and physicochemical shelf Life of milk. **Journal of Dairy Science**, [*s. l.*], vol. 90, no. 3, pp. 1081–1093, 2007.

PEREIRA, C. G. *et al.* Plant-based products: Analysis of international regulations and strategies used for designation and labeling in Brazil. **Lwt**, [*s. l.*], vol. 200, no. February, 2024.

PERLA, V.; HOLM, D. G.; JAYANTY, S. S. Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers. **LWT**, [*s. l.*], vol. 45, no. 2, pp. 161–171, 2012.

PERON, G. *et al.* Urine metabolomics shows an induction of fatty acids metabolism in healthy adult volunteers after supplementation with green coffee (Coffea robusta L.) bean extract. **Phytomedicine**, [*s. l.*], vol. 38, pp. 74–83, 2018.

PEZZATTI, J. *et al.* Implementation of liquid chromatography–high resolution mass spectrometry methods for untargeted metabolomic analyses of biological samples: A tutorial. **Analytica Chimica Acta**, [*s. l.*], vol. 1105, pp. 28–44, 2020.

PICÓ, C. *et al.* Biomarkers of nutrition and health: New tools for new approaches. **Nutrients**, [*s. l.*], vol. 11, no. 5, 2019.

PIETSCH, V. L. *et al.* High moisture extrusion of soy protein concentrate: Influence of thermomechanical treatment on protein-protein interactions and rheological properties. **Journal of Food Engineering**, [*s. l.*], vol. 251, pp. 11–18, 2019.

PIMENTEL, G. *et al.* Metabolic footprinting of fermented milk consumption in serum of healthy men. **Journal of Nutrition**, [*s. l.*], vol. 148, no. 6, pp. 851–860, 2018.

PINGALI, P. *et al.* Making meat and milk from plants: A review of plant-based food for human and planetary health. **World Development**, [*s. l.*], vol. 170, 2023.

PLAZA, L. *et al.* Carotenoid and flavanone content during refrigerated storage of orange juice processed by high-pressure, pulsed electric fields and low pasteurization. **LWT**, [*s. l.*], vol. 44, no. 4, pp. 834–839, 2011.

POLISELI-SCOPEL, F. H. *et al.* Comparison of ultra high pressure homogenization and conventional thermal treatments on the microbiological, physical and chemical quality of soymilk. **LWT**, [*s. l.*], vol. 46, no. 1, pp. 42–48, 2012.

PÓLTORAK, A. *et al.* Microwave vs. convection heating of bovine Gluteus Medius muscle: Impact on selected physical properties of final product and cooking yield. **International Journal of Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 50, no. 4, pp. 958–965, 2015.

POORE, J.; NEMECEK, T. Reducing food's environmental impacts through producers and consumers. **Science**, [*s. l.*], vol. 360, pp. 987–992, 2018. Disponível em: Acesso at: 18 Jun. 2025.

PORTO COSTA, M. *et al.* Environmental and land use consequences of replacing milk and beef with plant-based alternatives. **Journal of Cleaner Production**, [*s. l.*], vol. 424, 2023.

PUCCI, M. *et al.* Investigation of Maillard reaction products in plant-based milk alternatives. **Food Research International**, [*s. l.*], vol. 198, 2024.

QUASEM, J. M.; MAZAHREH, A. S.; ABU-ALRUZ, K. Development of Vegetable Based Milk from Decorticated Sesame (Sesamum Indicum) 1. **American Journal of Applied Sciences**, [*s. l.*], vol. 6, no. 5, pp. 888–896, 2009.

RAHMAN, N. A. A. *et al.* Response surface optimization for hot air-frying technique and its effects on the quality of sweet potato snack. **Journal of Food Process Engineering**, [*s. l.*], vol. 40, no. 4, 2017.

RAMSDEN, C. E. *et al.* Lowering dietary linoleic acid reduces bioactive oxidized linoleic acid metabolites in humans. **Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, [*s. l.*], vol. 87, no. 4–5, pp. 135–141, 2012.

RANDAZZO, G. M. *et al.* Enhanced metabolite annotation via dynamic retention time prediction: Steroidogenesis alterations as a case study. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, [*s. l.*], vol. 1071, pp. 11–18, 2017.

RATHNAKUMAR, K. *et al.* Impact of emerging food processing technologies on structural and functional modification of proteins in plant-based meat alternatives: An updated review. **Journal of Texture Studies**, [*s. l.*], vol. 54, no. 4, pp. 599–612, 2023.

RAVICHANDRAN, C. *et al.* Influence of high pressure pasteurization on nutritional, functional and rheological characteristics of fruit and vegetable juices and purees-an updated review. **Food Control**, [*s. l.*], vol. 146, 2023.

REYES-JURADO, F. *et al.* Plant-Based Milk Alternatives: Types, Processes, Benefits, and Characteristics. **Food Reviews International**, [*s. l.*], vol. 39, no. 4, pp. 2320–2351, 2023.

ROACH, A.; HARTE, F. Disruption and sedimentation of casein micelles and casein micelle isolates under high-pressure homogenization. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 9, no. 1, pp. 1–8, 2008.

ROCCHETTI, G.; GIUBERTI, G.; LUCINI, L. Gluten-free cereal-based food products: the potential of metabolomics to investigate changes in phenolics profile and their in vitro bioaccessibility. **Current Opinion in Food Science**, [*s. l.*], vol. 22, pp. 1–8, 2018.

RODRÍGUEZ-ROQUE, M. J. *et al.* Impact of food matrix and processing on the in vitro bioaccessibility of vitamin C, phenolic compounds, and hydrophilic antioxidant activity from fruit juice-based beverages. **Journal of Functional Foods**, [*s. l.*], vol. 14, pp. 33–43, 2015.

ROSENFELD, D. L.; BURROW, A. L. The unified model of vegetarian identity: A conceptual framework for understanding plant-based food choices. **Appetite**, [*s. l.*], vol. 112, pp. 78–95, 2017.

SACCENTI, E. *et al.* Reflections on univariate and multivariate analysis of metabolomics data. **Metabolomics**, [*s. l.*], vol. 10, no. 3, pp. 361–374, 2014.

SALEHIN, Salman *et al.* Plant Based Diet and Its Effect on Cardiovascular Disease. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, [*s. l.*], vol. 20, no. 4, 2023.

SANDRA, S.; DALGLEISH, D. G. The effect of ultra high-pressure homogenization (UHPH) on rennet coagulation properties of unheated and heated fresh skimmed milk. **International Dairy Journal**, [*s. l.*], vol. 17, no. 9, pp. 1043–1052, 2007.

SANTA CATARINA. Projeto de Lei PL 2.098/2024. *Dispõe sobre a denominação, produção, comercialização de produtos cuja origem seja de proteína vegetal ou proteína animal sintética e dá outras providências*. Assembleia Legislativa, 2024.

SANTINI, M. H. *et al.* The role of nutrition background on motivations, barriers, and adherence to a vegan diet: A qualitative study of the vegan eating habits and nutritional evaluation survey (VEGAN-EatS). **Food Quality and Preference**, vol. 125, 2025.

SATHE, S. K. *et al.* Biochemical characterization of amandin, the major storage protein in almond (Prunus Dulcis L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 50, no. 15, pp. 4333–4341, 2002.

SATO, F.; MATSUI, K. Engineering the biosynthesis of low molecular weight metabolites for quality traits (essential nutrients, health-promoting phytochemicals, volatiles, and aroma compounds). *In*: PLANT BIOTECHNOLOGY AND AGRICULTURE: PROSPECTS FOR THE 21ST CENTURY. [*S. l.*]: Elsevier, 2011. pp. 443–461.

SCHAMBERGER, G. P.; LABUZA, T. P. Effect of green tea flavonoids on Maillard browning in UHT milk. **LWT**, [*s. l.*], vol. 40, no. 8, pp. 1410–1417, 2007.

SCHREUDERS, F. K. G. *et al.* Comparing structuring potential of pea and soy protein with gluten for meat analogue preparation. **Journal of Food Engineering**, vol. 261, pp. 32–39, 2019.

SEOW, C. C.; GWEE, C. N. Coconut milk: chemistry and technology. **International Journal of Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 32, no. 3, pp. 189–01, 1997.

SETHI, S.; TYAGI, S. K.; ANURAG, R. K. Plant-based milk alternatives an emerging segment of functional beverages: a review. **Journal of Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 53, no. 9, pp. 3408–3423, 2016.

SHAKER, M. A. Air Frying a New Technique for Produce of Healthy Fried Potato Strips. **Journal of Food and Nutrition Sciences**, [*s. l.*], vol. 2, no. 4, p. 200, 2014.

SHARABI, S.; OKUN, Z.; SHPIGELMAN, A. Changes in the shelf life stability of riboflavin, vitamin C and antioxidant properties of milk after (ultra) high pressure homogenization: Direct and indirect effects. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 47, pp. 161–169, 2018.

SHI, L. *et al.* Plasma metabolites associated with healthy Nordic dietary indexes and risk of type 2 diabetes - A nested case-control study in a Swedish population. **American Journal of Clinical Nutrition**, [*s. l.*], vol. 108, no. 3, pp. 564–575, 2018.

SILVA, B. Q.; SMETANA, S. Review on milk substitutes from an environmental and nutritional point of view. **Applied Food Research**, [*s. l.*], vol. 2, no. 1, p. 100105, 2022.

SIMON, X.; COPENA, D.; PÉREZ-NEIRA, D. Assessment of the diet-environment-health-cost quadrilemma in public school canteens. an LCA case study in Galicia (Spain). **Environment, Development and Sustainability**, [*s. l.*], vol. 25, no. 11, pp. 12543–12567, 2023.

SINGH, S. *et al.* Changes in phytochemicals, anti-nutrients and antioxidant activity in leafy vegetables by microwave boiling with normal and 5% NaCl solution. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 176, pp. 244–253, 2015.

SKOV, T.; ENGELSEN, S. B. CHEMOMETRICS, MASS SPECTROMETRY, AND FOODOMICS. *In*: FOODOMICS: ADVANCED MASS SPECTROMETRY IN MODERN FOOD SCIENCE AND NUTRITION. [*S. l.*]: Wiley & Sons, Inc., 2013. Disponível em: Acesso at: 18 Jun. 2025.

SONG, Q. *et al.* The effect of high-pressure processing on sensory quality and consumer acceptability of fruit juices and smoothies: A review. **Food Research International**, [*s. l.*], vol. 157, 2022.

SPRINGMANN, M. *et al.* Options for keeping the food system within environmental limits. **Nature**, [*s. l.*], vol. 562, no. 7728, pp. 519–525, 2018.

SPRINGMANN, M. *et al.* The global and regional air quality impacts of dietary change. **Nature Communications**, [*s. l.*], vol. 14, no. 1, 2023.

SRI HARSHA, P. S. C. *et al.* A metabolomics approach to the identification of urinary biomarkers of pea Intake. **Nutrients**, [*s. l.*], vol. 10, no. 12, 2018.

SRUTHI, N. U. *et al.* An overview of conventional and emerging techniques of roasting: Effect on food bioactive signatures. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 348, 2021.

STEPHAN, A. *et al.* Edible mushroom mycelia of Pleurotus sapidus as novel protein sources in a vegan boiled sausage analog system: functionality and sensory tests in comparison to commercial proteins and meat sausages. **European Food Research and Technology**, [*s. l.*], vol. 244, no. 5, pp. 913–924, 2018.

STINCO, C. M. *et al.* Effect of high-pressure processing on carotenoids profile, colour, microbial and enzymatic stability of cloudy carrot juice. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 299, 2019.

STUPAK, M. *et al.* A novel approach to assess the quality and authenticity of Scotch Whisky based on gas chromatography coupled to high resolution mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, [*s. l.*], vol. 1042, pp. 60–70, 2018.

SUÁREZ-JACOBO, Á. *et al.* Aseptically packaged UHPH-Treated apple juice: Safety and quality parameters during storage. **Journal of Food Engineering**, [*s. l.*], vol. 109, no. 2, pp. 291–300, 2012.

SUMNER, L. W. *et al.* Proposed minimum reporting standards for chemical analysis: Chemical Analysis Working Group (CAWG) Metabolomics Standards Initiative (MSI). **Metabolomics**, [*s. l.*], vol. 3, no. 3, pp. 211–221, 2007.

SZCZEPAŃSKA, J. *et al.* High pressure processing of carrot juice: Effect of static and multi-pulsed pressure on the polyphenolic profile, oxidoreductases activity and colour. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 307, 2020.

TAKACS, B. *et al.* Comparison of environmental impacts of individual meals - Does it really make a difference to choose plant-based meals instead of meat-based ones?. **Journal of Cleaner Production**, [*s. l.*], vol. 379, 2022.

TAREKE, E. *et al.* Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 50, no. 17, pp. 4998–5006, 2002.

TÉLLEZ-MORALES, J. A.; ARCE-ORTIZ, A. Advances in the quality characteristics of fried potato products with air frying technology: a mini review. **Sustainable Food Technology**, [*s. l.*], 2024.

THEODORIDIS, G. A. *et al.* Liquid chromatography-mass spectrometry based global metabolite profiling: A review. **Analytica Chimica Acta**, [*s. l.*], vol. 711, pp. 7–16, 2012.

THIEBAUD, M. *et al.* High-pressure homogenisation of raw bovine milk. Effects on fat globule size distribution and microbial inactivation. **International Dairy Journal**, [*s. l.*], vol. 13, no. 6, pp. 427–439, 2003.

TIAN, J. *et al.* Domestic cooking methods affect the phytochemical composition and antioxidant activity of purple-fleshed potatoes. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 197, pp. 1264–1270, 2016a.

TIAN, J. *et al.* **Health benefits of the potato affected by domestic cooking: A review**.: Elsevier Ltd, 2016b.

TIAN, J. *et al.* Microstructure and digestibility of potato strips produced by conventional frying and air-frying: An in vitro study. **Food Structure**, [*s. l.*], vol. 14, pp. 30–35, 2017.

TING, E.; BALASUBRAMANIAM, V. M.; RAGHUBEER, E. Determining thermal effects in high-pressure processing. **Food Technology**, 2002. Disponível em: Acesso at: 18 Jun. 2025.

TORNBERG, E. Effects of heat on meat proteins - Implications on structure and quality of meat products. 2005. **Meat Science**. [*S. l.*]: Elsevier Ltd, 2005. pp. 493–508.

TORO-FUNES, N. *et al.* Effect of ultra high pressure homogenization treatment on the bioactive compounds of soya milk. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 152, pp. 597–602, 2014.

TOVAR, J. *et al.* Reduction in cardiometabolic risk factors by a multifunctional diet is mediated via several branches of metabolism as evidenced by nontargeted metabolite profiling approach. **Molecular Nutrition and Food Research**, [*s. l.*], vol. 61, no. 2, 2017.

TWAROGOWSKA, A.; VAN DROOGENBROECK, B.; FRAEYE, I. Application of Belgian endive (Cichorium intybus var. foliosum) dietary fiber concentrate to improve nutritional value and functional properties of plant-based burgers. **Food Bioscience**, vol. 48, 2022.

UNITED NATIONS. **World Population Prospects 2024: Summary of Results**. New York: [*s. d.*], 2024.

UTPOTT, M. *et al.* Metabolomics: An analytical technique for food processing evaluation. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 366, 2022.

VAGADIA, B. H. *et al.* Comparison of conventional and microwave treatment on soymilk for inactivation of trypsin inhibitors and in vitro protein digestibility. **Foods**, [*s. l.*], vol. 7, no. 1, 2018.

VALLEJO, F.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GARCIA-VIGUERA, C. Glucosinolates and vitamin C content in edible parts of broccoli florets after domestic cooking. **European Food Research and Technology**, [*s. l.*], vol. 215, no. 4, pp. 310–316, 2002.

VALLIKKADAN, M. S. *et al.* Meat Alternatives: Evolution, Structuring Techniques, Trends, and Challenges. **Food Engineering Reviews**, [*s. l.*], vol. 15, no. 2, pp. 329–359, 2023.

VAN BOEKEL, M. A. J. S. Effect of heating on Maillard reactions in milk. **Food Chemistry**, vol. 62, no. 4, 1998.

VAN BUGGENHOUT, S. *et al.* In vitro approaches to estimate the effect of food processing on carotenoid bioavailability need thorough understanding of process induced microstructural changes. **Trends in Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 21, no. 12, pp. 607–618, 2010.

VANGA, S. K.; RAGHAVAN, V. How well do plant based alternatives fare nutritionally compared to cow's milk? **Journal of Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 55, no. 1, pp. 10–20, 2018.

VASHISHT, P. *et al.* Comparative review of nutri-functional and sensorial properties, health benefits and environmental impact of dairy (bovine milk) and plant-based milk (soy, almond, and oat milk). **Food and Humanity**, [*s. l.*], vol. 2, p. 100301, 2024.

VÁZQUEZ-MANJARREZ, N. *et al.* Discovery and Validation of Banana Intake Biomarkers Using Untargeted Metabolomics in Human Intervention and Cross-sectional Studies. **Journal of Nutrition**, [*s. l.*], vol. 149, no. 10, pp. 1701–1713, 2019.

VERMA, D. K. *et al.* High Pressure Processing (HPP): Fundamental Concepts, Emerging Scope, and Food Application. *In*: EMERGING THERMAL AND NONTHERMAL TECHNOLOGIES IN FOOD PROCESSING. [*S. l.*]: Apple Academic Press, 2020. pp. 225–257.

VERMA, V. *et al.* Comparative evaluation of conventional and advanced frying methods on hydroxymethylfurfural and acrylamide formation in French fries. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 83, 2023.

VIEIRA, F. N. *et al.* Long-term effect on bioactive components and antioxidant activity of thermal and high-pressure pasteurization of orange juice. **Molecules**, [*s. l.*], vol. 23, no. 10, 2018.

VOIGT, D. D. *et al.* Effect of high-pressure treatment of milk for cheese manufacture on proteolysis, lipolysis, texture and functionality of Cheddar cheese during ripening. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 13, no. JANUARY, pp. 23–30, 2012.

VU, G.; ZHOU, H.; MCCLEMENTS, D. J. Impact of cooking method on properties of beef and plant-based burgers: Appearance, texture, thermal properties, and shrinkage. **Journal of Agriculture and Food Research**, [*s. l.*], vol. 9, 2022.

VUCKOVIC, D. Current trends and challenges in sample preparation for global metabolomics using liquid chromatography-mass spectrometry. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [*s. l.*], vol. 403, no. 6, pp. 1523–1548, 2012.

WACHTEL-GALOR, S.; WONG, K. W.; BENZIE, I. F. F. The effect of cooking on Brassica vegetables. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 110, no. 3, pp. 706–710, 2008.

WALL, K. R. *et al.* Grilling temperature effects on tenderness, juiciness, flavor and volatile aroma compounds of aged ribeye, strip loin, and top sirloin steaks. **Meat Science**, [*s. l.*], vol. 150, pp. 141–148, 2019.

WANG, L. *et al.* Physicochemical and sensory properties of a tilapia skin-based ready-to-eat snack prepared by infrared drying and air frying. **Applied Food Research**, [*s. l.*], vol. 2, no. 2, 2022.

WANG, Q.; JIANG, J.; XIONG, Y. L. High pressure homogenization combined with pH shift treatment: A process to produce physically and oxidatively stable hemp milk. **Food Research International**, [*s. l.*], vol. 106, pp. 487–494, 2018.

WANG, Yeli *et al.* **Associations between plant-based dietary patterns and risks of type 2 diabetes, cardiovascular disease, cancer, and mortality – a systematic review and meta-analysis**. [*S. l.*]: BioMed Central Ltd, 2023.

WANG, Yi *et al.* The development process of plant-based meat alternatives: Raw material formulations and processing strategies. **Food Research International**, [*s. l.*], vol. 167, 2023.

WARTMANN, Y. *et al.* Impact of three different peak picking software tools on the quality of untargeted metabolomics data. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [*s. l.*], vol. 248, 2024.

WELLALA, C. K. D. *et al.* Effect of high pressure homogenization combined with juice ratio on water-soluble pectin characteristics, functional properties and bioactive compounds in mixed juices. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 60, 2020.

WEN, D.; LIU, Y.; YU, Q. Metabolomic approach to measuring quality of chilled chicken meat during storage. **Poultry Science**, [*s. l.*], vol. 99, no. 5, pp. 2543–2554, 2020.

WENG, Y. J. *et al.* Correlation of diet, microbiota and metabolite networks in inflammatory bowel disease. **Journal of Digestive Diseases**, [*s. l.*], vol. 20, no. 9, pp. 447–459, 2019.

WI, G. *et al.* Evaluation of the physicochemical and structural properties and the sensory characteristics of meat analogues prepared with various non-animal based liquid additives. **Foods**, [*s. l.*], vol. 9, no. 4, 2020.

WISHART, D. S. Metabolomics: applications to food science and nutrition research. **Trends in Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 19, no. 9, pp. 482–493, 2008.

WITTEK, P. *et al.* Morphology development and flow characteristics during high moisture extrusion of a plant-based meat analogue. **Foods**, [*s. l.*], vol. 10, no. 8, 2021.

WORLD CANCER RESEARCH FUND INTERNATIONAL. 2015. Red meat and bowel cancer risk – how strong is the evidence? Disponível em: < https://www.wcrf.org/about-us/news-and-blogs/red-meat-and-bowel-cancer-risk-how-strong-is-the-evidence/>. Acesso em: 03 de jan. de 2025.

WU, W. *et al.* Emerging applications of metabolomics in food science and future trends. **Food Chemistry: X**, [*s. l.*], vol. 16, 2022.

WYRWISZ, J. *et al.* The impact of heat treatment methods on the physical properties and cooking yield of selected muscles from Limousine breed cattle. **Animal Science Papers and Reports**, [*s. l.*], pp. 339–351, 2012. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/259219549.

XAVIER, J. R. *et al.* Bioactive compounds of foods: Phytochemicals and peptides. **Food and Humanity**, [*s. l.*], vol. 3, p. 100354, 2024.

XU, D. *et al.* Mass spectrometry for biomarkers, disease mechanisms, and drug development in cerebrospinal fluid metabolomics. **TrAC - Trends in Analytical Chemistry**, [*s. l.*], vol. 173, 2024.

YILDIZ, S. *et al.* Identification of equivalent processing conditions for pasteurization of strawberry juice by high pressure, ultrasound, and pulsed electric fields processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 57, 2019.

YONG, S. X. M.; SONG, C. P.; CHOO, W. S. Impact of High-Pressure Homogenization on the Extractability and Stability of Phytochemicals. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, [*s. l.*], vol. 4, 2021.

YU, X. *et al.* Effect of air-frying conditions on the quality attributes and lipidomic characteristics of surimi during processing. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, [*s. l.*], vol. 60, 2020.

ZAABOUL, F. *et al.* The impact of roasting, high pressure homogenization and sterilization on peanut milk and its oil bodies. **Food Chemistry**, [*s. l.*], vol. 280, pp. 270–277, 2019.

ZAMORA, A. *et al.* Effects of ultra-high pressure homogenization on the cheese-making properties of milk. **Journal of Dairy Science**, [*s. l.*], vol. 90, no. 1, pp. 13–23, 2007.

ZENG, Q. *et al.* Health effects of kiwi wine on rats: An untargeted metabolic fingerprint study based on GC-MS/TOF. **RSC Advances**, [*s. l.*], vol. 9, no. 24, pp. 13797–13807, 2019.

ZHANG, A. *et al.* Modern analytical techniques in metabolomics analysis. **Analyst**, vol. 137, no. 2, pp. 293–300, 2012.

ZHANG, J. J. *et al.* Lipidomics and metabolomics reveal the molecular mechanisms underlying the effect of thermal treatment on composition and oxidative stability of walnut oil. **Food Research International**, [*s. l.*], vol. 191, 2024.

ZHANG, M.; MITTAL, G. S.; BARBUT, S. Effects of Test Conditions on the Water Holding Capacity of Meat by a Centrifugal Method. **LWT**, [*s. l.*], vol. 28, no. 1, pp. 50–55, 1995.

ZHANG, W. *et al.* High pressure homogenization versus ultrasound treatment of tomato juice: Effects on stability and in vitro bioaccessibility of carotenoids. **LWT**, [*s. l.*], vol. 116, 2019.

ZHAO, C. *et al.* Effects of domestic cooking process on the chemical and biological properties of dietary phytochemicals. **Trends in Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 85, pp. 55–66, 2019.

ZHOU, H. *et al.* Comparison of the Cooking Behaviors of Meat and Plant-Based Meat Analogues: Appearance, Texture, and Fluid Holding Properties. **ACS Food Science and Technology**, [*s. l.*], vol. 2, no. 5, pp. 844–851, 2022.

ZHOU, L. *et al.* Change of the rheological properties of mango juice by high pressure homogenization. **LWT**, [*s. l.*], vol. 82, pp. 121–130, 2017.