

CÍNTIA TARABAL OLIVEIRA

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA,
DETERMINAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO E
OBTENÇÃO DE EXTRUSADOS DE GRÃOS E
FARINHAS DE TREMOÇO BRANCO (*Lupinus
albus*)

Faculdade de Farmácia da UFMG
Belo Horizonte
2013

CÍNTIA TARABAL OLIVEIRA

CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA,
DETERMINAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO E
OBTENÇÃO DE EXTRUSADOS DE GRÃOS E
FARINHAS DE TREMOÇO BRANCO (*Lupinus
albus*)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientador: Profa. Raquel Linhares Bello de Araújo

Faculdade de Farmácia da UFMG
Belo Horizonte, MG
2013

Oliveira, Cíntia Tarabal

O48c Caracterização bioquímica, determinação do perfil lipídico e obtenção de extrusados de grãos e farinhas de tremoço branco (*Lupinus albus*) / Cíntia Tarabal Oliveira. – 2012.

119 f. : il.

Orientadora: Raquel Linhares Bello de Araújo.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos.

1. *Lupinus albus* - Teses. 2. Tremoço branco - Tratamento térmico - teses. 3. Tremoço branco - Composição química - Teses. 4. Tremoço branco - Perfil Lipídico – Teses. 5. Tremoço branco - Métodos de extração e esterificação – Teses. 6. Tremoço branco – Extrusão. I. Araújo, Raquel Linhares Bello de. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD: 664



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS -PPGCA

CÍNTIA TARABAL OLIVEIRA

“CARACTERIZAÇÃO BIOQUÍMICA, DETERMINAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO
E OBTENÇÃO DE EXTRUSADOS DE GRÃOS E FARINHAS DE
TREMOÇO BRANCO (*Lupinus albus*)”

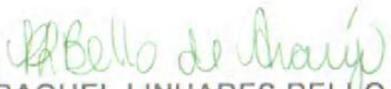
APROVADA EM 18 DE FEVEREIRO DE 2013

COMISSÃO EXAMINADORA


Profa. Dra. ÉRIKA MARIA ROEL GUTIERREZ


Profa. Dra. MÁRCIA REGINA PEREIRA MONTEIRO


Profa. Dra. MARIA BEATRIZ DE ABREU GLÓRIA


Profa. Dra. RAQUEL LINHARES BELLO DE ARAÚJO
Orientadora e Presidente da Comissão

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida e saúde, por me amparar nos momentos mais difíceis e me dar força interior para a realização de mais essa etapa.

Aos meus pais Lunardy e Denise, os quais amo muito, pelo apoio e incentivo nos estudos, sendo exemplo para mim de força e determinação.

Ao João Paulo, pelo amor, incentivo e pela contribuição no desenvolvimento deste trabalho.

Às minhas irmãs Fabiana e Natália pelo afeto e amizade.

Meu muito obrigado à minha orientadora Profa. Dra. Raquel Linhares Bello de Araújo por aceitar me orientar, pela amizade, pela paciência, pela dedicação, pelos conhecimentos transmitidos e confiança depositada na realização deste trabalho.

Aos amigos e colegas do laboratório de Bromatologia/ALM/FAFAR, Renata Gandra, Ázula, Carol, Gabriela, Ana Luiza e Pedro pelas inúmeras ajudas, conversas, almoços, risadas e, principalmente pela amizade de vocês.

Aos funcionários do laboratório de Bromatologia/ALM/FAFAR, Marcão e Ronália, por toda ajuda, pela alegria e boa vontade sempre!

Às equipes dos Laboratórios de Tecnologia de Alimentos, Microbiologia, Bioquímica de Alimentos, todos do ALM/FAFAR, Farmacognosia do PFA/FAFAR e Biocombustíveis do Departamento de Engenharia Mecânica e ao Centro de Microscopia da UFMG por me ajudarem em várias etapas deste trabalho.

À equipe do Laboratório de Contaminantes Metálicos da Fundação Ezequiel Dias (FUNED-MG).

À Erika Gutierrez, pelas inúmeras ajudas com a cromatografia a gás, por disponibilizar parte de seu tempo no laboratório para me ajudar e, principalmente, pela amizade.

Ao Prof. Márcio Caliari, pela enorme disponibilidade, conhecimento e ajuda com o preparo dos extrusados.

Ao Jamil, do Departamento de Bioquímica e Imunologia do ICB, UFMG.

À minha grande amiga Aline Pinheiro Amorim por sempre me incentivar, dar conselhos e ainda grandes oportunidades.

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos que contribuíram muito na minha formação acadêmica, pela oportunidade de crescimento e aprendizado.

Às funcionárias do PPGCA, Úrsula e Marilene, pelo apoio e auxílio em todos os assuntos administrativos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (PPGCA) da Faculdade de Farmácia da UFMG (FAFAR – UFMG), na pessoa do Coordenador Professor Dr. Roberto Gonçalves Junqueira.

Aos membros da banca, pela prontidão, gentileza, correções e sugestões.

À CAPES, pela bolsa de estudo concedida.

À todos que direta ou indiretamente contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional.

“Avança ainda que seja por entre lágrimas. Trabalha constantemente. Edifica sempre. Ama sempre, fazendo pelos outros o melhor que possas realizar. Age auxiliando. Serve sem apego. E assim vencerás.”

Chico Xavier

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS -----	10
LISTA DE FIGURAS -----	11
LISTA DE SIGLAS -----	12
RESUMO -----	14
ABSTRACT -----	15
INTRODUÇÃO -----	17
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA-----	19
1. O TREMOÇO -----	19
2. PRODUÇÃO E MERCADO DO TREMOÇO -----	21
3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA -----	23
3.1. Análise do perfil lipídico -----	26
4. FATORES ANTINUTRICIONAIS E TRATAMENTO TÉRMICO -----	27
4.1. Alcalóides -----	29
4.2. Inibidores de Proteases -----	31
5. EXTRUSÃO DE EXTRUSÃO DE CEREAIS E LEGUMINOSAS -----	33
6. BENEFÍCIOS DO CONSUMO DO TREMOÇO -----	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	39
TRABALHO EXPERIMENTAL – APRESENTAÇÃO -----	49
CAPÍTULO 1 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE GRÃOS E FARINHAS DE TREMOÇO BRANCO (<i>Lupinus albus</i>)	
RESUMO -----	50
1. INTRODUÇÃO -----	51
2. MATERIAL E MÉTODOS -----	52
2.1. MATERIAL -----	52
2.2. MÉTODOS -----	52
2.2.1. Preparo das farinhas de tremoço -----	52
2.2.2. Preparo da amostra de conserva de tremoço -----	53
2.2.3. Determinação da composição química do grão, farinhas e conserva de tremoço -----	53
2.2.4. Determinação de minerais -----	54

2.2.5. Determinação da atividade inibitória de tripsina -----	55
2.2.6. Determinação de proteína solúvel -----	56
2.2.7. Extração e Detecção de alcaloides -----	57
2.3. Análise estatística -----	57
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	58
4. CONCLUSÃO -----	68
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	69
CAPÍTULO 2 DETERMINAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO DO TREMOÇO BRANCO (<i>Lupinus albus</i>) E ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E ESTERIFICAÇÃO	
RESUMO -----	74
1. INTRODUÇÃO -----	75
2. MATERIAL E MÉTODOS -----	76
2.1. MATERIAL -----	76
2.2. MÉTODOS -----	76
2.2.1 Preparo das farinhas de tremoço e da conserva de tremoço -----	76
2.2.1.1. Liofilização da amostra conserva de tremoço -----	76
2.2.2. Determinação do perfil lipídico do grão, farinhas e conserva de tremoço-----	77
2.2.2.1. Extração a frio -----	77
2.2.2.2. Extração a quente -----	77
2.2.2.3. Metilação descrita por Hartman & Lago (1973) (HL) -----	77
2.2.2.4. Metilação descrita por Bannon <i>et al.</i> , (1982) (BA) -----	78
2.2.2.5. Análise cromatográfica dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos -----	78
2.3. Análise estatística -----	79
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	80
4. CONCLUSÃO -----	90
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	91
CAPÍTULO 3 DESENVOLVIMENTO DE EXTRUSADOS DE TREMOÇO BRANCO (<i>Lupinus albus</i>) E QUIRERA DE ARROZ	
RESUMO -----	94
1. INTRODUÇÃO -----	95
2. MATERIAL E MÉTODOS -----	96
2.1. MATERIAL -----	96
2.2. MÉTODOS -----	96

2.2.1 Análises realizadas em amostra de grãos crus de tremoço branco -----	97
2.2.1.1. Determinação de açúcares totais (reduzidos e não reduzidos) e amido-	97
2.2.1.2. Determinação do teor de aminoácidos -----	97
2.2.2. Granulometria das matérias-primas -----	97
2.2.3. Análises realizadas em amostras extrusadas -----	98
2.2.3.1. Índice de Expansão (IE) -----	98
2.2.3.2. Índice de Absorção de Água (IAA) -----	98
2.2.3.3. Índice de Solubilidade em Água (ISA) -----	99
2.2.3.4. Determinação da dureza e fraturabilidade -----	99
2.2.3.5. Cor -----	100
2.2.3.6. Microscopia -----	100
2.3. Análise estatística -----	100
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO -----	101
4. CONCLUSÃO -----	114
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS -----	116
CONCLUSÃO INTEGRADA -----	119

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Produção mundial de tremoço no ano de 2011
- Tabela 2 – Composição centesimal de diferentes cereais e leguminosas
- Tabela I.1 – Composição química em base seca das amostras de tremoço (*Lupinus albus*)
- Tabela I.2 – Teores de fibras solúvel, insolúvel e alimentar total presentes nas quatro diferentes amostras de tremoço (*Lupinus albus*)
- Tabela I.3 – Teores de microminerais (mg/kg) em quatro diferentes amostras de tremoço (*Lupinus albus*)
- Tabela I.4 – Teor de proteína solúvel ($\mu\text{m}/\text{mg}$) e unidades de tripsina inibidas por mg de proteínas solúveis (UTI/mg PTN) e mg de amostra (UTI/mg amostra) para as quatro amostras de tremoço estudadas
- Tabela II.1 – Teor de ácidos graxos (g/100g de amostra) em amostras de tremoço branco (*Lupinus albus*)
- Tabela II.2 – Percentual e teores de ácidos graxos saturado, monoinsaturado e poliinsaturado em amostras de tremoço branco (*Lupinus albus*)
- Tabela II.3 – Avaliação entre os métodos de extração e esterificação e efeitos de interação entre as variáveis estudadas para todos os ácidos graxos quantificados
- Tabela III.1 – Teor de aminoácidos presentes em amostras de tremoço branco (*Lupinus albus*)
- Tabela III.2 – Teor de aminoácidos essenciais em amostras de quirera de arroz e tremoço moído em diferentes concentrações
- Tabela III.3 – Percentual (%) de quirera de arroz (QA) e tremoço moído (TM) retidos em cada peneira
- Tabela III.4 – Índice de absorção de água (IAA) e Índice de solubilidade em água (ISA) dos extrusados
- Tabela III.5 – Dureza e fraturabilidade de amostras extrusadas
- Tabela III.6 – Características de cor $L^*a^*b^*$ de matérias-primas e amostras de extrusados

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1 – Tremoço branco (*Lupinus albus*), tremoço azul (*Lupinus angustifolius*) e tremoço amarelo (*Lupinus luteus*)

Figura 2 – Vagem e semente de tremoço branco (*Lupinus albus*)

Figura 3 – Estrutura química de alcaloides do tipo quinolozodínicos presentes no tremoço branco (*Lupinus albus*)

Figura I.1 – Placa de alumínio coberta com sílica gel utilizada para CCD para detecção de alcaloides nas quatro amostras de tremoço branco estudadas

Figura II.1 – Teor de ácidos graxos nas quatro amostras de tremoço branco variando o tipo e esterificação utilizados

Figura II.2 – Teor de ácidos graxo palmítico em dois tipos de esterificação

Figura II.3 – Efeito de interação entre tipo de esterificação e tipo de amostra para o ácido palmítico

Figura III.1 – Quirera de arroz (QA) e tremoço moído (TM) utilizados para o processo de extrusão

Figura III.2 – Amostras de extrusados preparados empregando quirera de arroz e diferentes concentrações de tremoço moído

Figura III.3 – Microscopia eletrônica de varredura de quirera de arroz e tremoço e suas farinhas

Figura III.4 – Microscopia eletrônica de varredura das amostras extrusadas

LISTA DE SIGLAS

ANOVA	- Análise de variância
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC	- Association of Official Analytical Chemists
BSA	- Albumina Bovina
CCD	- Cromatografia em camada delgada
CCK	- Colecistoquinina
CG	- Cromatografia gasosa
CLAE	- Cromatografia líquida de alta eficiência
Dm	- Distância entre a origem e a linha de chegada da fase móvel
DNA	- Ácido desoxirribonucleico
DRI	- Dietary Reference Intake
Ds	- Distância percorrida pela mancha
EMAG	- Ésteres metílicos de ácidos graxos
FAO	- Food and Agriculture Organization
HDLc	- High Density liprotein cholesterol
IAL	- Instituto Adolfo Lutz
IAA	- Índice de Absorção de Água
IAPAR	- Instituto Agrônomo do Paraná
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ICP-OES	- Espectrômetro de emissão óptica por plasma de argônio indutivamente acoplado
IE	- Índice de Expansão
IOM	- Institute of Medicine
ISA	- Índice de Solubilidade em Água
LDLc	- Low density liprotein cholesterol
MUFA	- Ácido graxo monoinsaturado

PUFA	- Ácidos graxo poliinsaturado
Rf	- Valor de retenção
SFA	- Ácido graxo saturado
UPAA	- Unidade de Pesquisa em Análise de Alimentos
TACO	- Tabela Brasileira de Composição Centesimal
TCA	- Ácido tricloro acético
TCL	- Triglicerídeos de cadeia longa
UT	- Unidades de tripsina
UTI	- Unidades de tripsina inibidas
VLDLc	- Very low density liprotein cholesterol
WHO/FAO	- World and Health Organization/Food and Agriculture Organization

RESUMO

Neste trabalho foram preparadas farinhas de tremoço branco para o consumo humano variando-se o tempo (30 e 60 min) e temperatura de torra (100 °C e 150 °C) a fim de se avaliar a inativação dos fatores antinutricionais e comparar sua composição com amostras de tremoço cru e conserva de tremoço. Foram determinadas a composição centesimal (umidade, lipídeos, cinzas totais e minerais, fibra alimentar solúvel e insolúvel), inibidores de tripsina e a presença de alcaloides e o perfil lipídico por CG, após o emprego de dois diferentes métodos de extração (a frio e a quente) e esterificação (catalise ácida e básica) da fração lipídica. Produtos extrusados à base de amostras de grãos de tremoço moídas (TM) associando-os à quirera de arroz (QA) foram preparados avaliando os IE, IAA, ISA, textura, cor e aparência geral por microscopia eletrônica de varredura, e nas matérias-primas avaliou-se o perfil de aminoácidos, açúcares totais e amido do TM e granulometria da QA e do TM. Os resultados obtidos indicaram que, as amostras apresentaram elevados teores de proteínas (34,14 %), lipídeos (10,6 %), e fibra alimentar (34 %). O maior teor do micronutriente sódio foi determinado na conserva de tremoço (8744,0 mg/kg). Foram encontradas quantidades traço de inibidores de tripsina e detectou-se alcaloides em todas as mostras estudadas. O perfil lipídico foi constituído de nove ácidos graxos com predomínio do ácido oleico (63 %). Não foi possível determinar qual extração obteve maior quantificação dos ácidos graxos. Entretanto, o emprego da esterificação via catálise ácida promoveu teores mais elevados de ácidos graxos. Ao se avaliar os extrusados, observou-se um aumento do teor de aminoácidos essenciais à medida que a proporção de tremoço aumentou nas amostras. Observou-se uma elevação da luminosidade, redução nos valores de IE, ISA e IAA e no parâmetro de cor a^* , com o acréscimo desta leguminosa na mistura. Identificou-se uma redução de grânulos de amido após o processo de extrusão provenientes da gelatinização do amido. O estudo mostrou que devido à alteração estrutural e redução do índice de expansão de extrusados contendo tremoço, o uso como *snacks* não seria o mais ideal, no entanto, tais amostras poderiam ser utilizadas como farinhas pré-gelatinizadas em diversos produtos instantâneos como sopas e macarrão criando produtos com melhores perfis protéicos.

Palavras-chave: tremoço branco, tratamento térmico, composição química, perfil lipídico, métodos de extração e esterificação, extrusão.

ABSTRACT

BIOCHEMICAL CHARACTERIZATION, DETERMINATION OF LIPID PROFILE AND OBTAINING EXTRUDED GRAIN AND FLOUR OF WHITE LUPINE

In this work it was developed few steps in the process of obtaining and characterization of nutritionally adequate lupine flour for human consumption. Initially, two flours were prepared (1 and 2) from *Lupinus albus* grain, varying time (30 min and 60 min) and temperature (100 ° C to 150 ° C) conditions in roasting process in order to assess whether what is the best heat treatment to inactivate the antinutritional factors. It was determined the chemical composition (moisture, lipids, total ash and minerals, soluble and insoluble dietary fiber), trypsin inhibitors and the presence of alkaloids, given that the method applied for the latter two were spectrophotometry and thin layer chromatography respectively. These analyzes were also performed for the raw grain and the pickled lupine sold in stores. Next, the lipid profile of these samples was evaluated by GC after using two different extraction methods (hot and cold) and esterification (acid and base catalysis) of the lipid fraction. Samples of grinded lupine (GL) were then used in the preparation of extruded, associating them with broken rice (BR), in the ratios of 10:90 and 20:80 of TM: QA. The traits analyzed were extruded in IE, IAA, ISA, texture, color and overall appearance by scanning electron microscopy and the raw materials were evaluated by the profile of amino acids, total sugars and the GL starch. The GL and BR grain size were also evaluated. The results indicated that the samples presented high levels of protein (34.14%), lipids (10.6%), and dietary fiber (34%). The greatest amount of the sodium micronutrient was determined in pickled lupine (8744.0 mg / kg), a value much higher than the other samples (451.9 mg / kg). In the case of antinutritional factors it was found amounts of trypsin inhibitors and alkaloids in all the samples studied. Regarding the lipid profile, it consisted of nine fatty acids, there was a predominance of oleic acid (63%). It is also noteworthy that, for all samples, in the methodologies used in lipid extraction, it wasn't possible to determine significant differences in the quantification of fatty acids. However, through the use of acid catalysis esterification, it was obtained the higher rates of fatty acids. Finally, to evaluate the nutritional properties of the extrudates, it was observed an increase in the content of essential amino acids as the lupine ratio increased in samples. Besides, regarding the technological characteristics, it was observed an increase in the brightness, a reduction in the amounts of IE, ISA and IAA and the color parameter a *

with the addition of larger quantities of this leguminous plant to the mixture. The evaluation of the raw material by scanning electron microscopy identified intact starch granules or pellets, while the extruded samples exhibited a compact mass, amorphous and without apparent starch granules. The study showed that due to the structural modification and the reducing rate of expansion of extrudates containing lupine, its use as snacks would be the ideal, however, such samples could be used as pre-gelatinized flour in various products such as instant noodles and soups creating products with better protein profiles.

Keywords: White Lupin, heat treatment, chemical composition, lipid profile, methods of extraction and esterification, extrusion

INTRODUÇÃO

As leguminosas são consideradas alimentos fonte de nutrientes como proteínas, fibras, oligossacarídeos, minerais, além de compostos bioativos, como por exemplo as saponinas (MANN & TRUSWELL, 2011). O consumo de alimentos contendo estes nutrientes como parte integrante de uma alimentação saudável podem proporcionar benefícios à saúde humana tais como a redução da incidência de dislipidemias e diabetes tipo 2 e melhoria das manifestações clínicas da síndrome metabólica (HERMSDORFF, 2008).

O conteúdo de lipídeos presente na maioria das leguminosas varia entre 1 a 3 %, com predomínio de ácidos graxos poliinsaturados, cujo consumo está relacionado à redução da hipercolesterolemia, atuando em mudanças na composição das lipoproteínas, na produção de LDL, na produção de VLDL pelo fígado e na atividade dos receptores da LDL (MORAES & COLLA, 2006). As fibras alimentares, presentes em elevados teores contribuem para a redução do colesterol, além de agirem positivamente no controle glicêmico e na sensibilidade à insulina, sendo capazes de aumentarem a saciedade e melhorarem a função intestinal (ANJO, 2004). Ressalta-se ainda, o reduzido teor de sódio e excelentes teores de cálcio, cobre, ferro, magnésio, fósforo, potássio e zinco, os quais podem contribuir para a redução do risco de hipertensão arterial (HERMSDORFF, 2008).

O tremoço (*Lupinus ssp.*) é uma leguminosa amplamente utilizada como planta forrageira e na alimentação animal principalmente em países de clima frio (BALLESTER *et al.*, 1980; HALL *et al.*, 2004; VAN BARNEVELD, 1999). No Brasil é empregada principalmente como adubo verde, sendo seu cultivo mais comum na Região Sul do país.

O *Lupinus ssp.* apresenta uma composição nutricional rica e variada (VAN BARNEVELD, 1999). Possui altos teores de oligossacarídeos, como a rafinose e estaquiose e elevadas quantidades de ácidos graxos oléico e linoléico, que correspondem a 80% do total de lipídeos (MARTINEZ-VILLALUENGA *et al.*, 2006). Em relação às proteínas, o tremoço, assim como as demais leguminosas, possui quantidade significativa desse nutriente, em média 40% e 41% (FRANCO, 2004; NEVES *et al.*, 2001), sendo que estas apresentam propriedades funcionais de interesse econômico e tecnológico no mercado alimentício como ação espumante, emulsificante e capacidade sacietógena (VAN BARNEVELD, 1999).

Em relação aos benefícios do tremoço à saúde humana, muito se discute sobre sua ação antioxidante e capacidade de reduzir os níveis de colesterol sérico (HALL *et al.*, 2004; YOSHIE-STARK *et al.*, 2004). A ingestão de produtos alimentícios como farinhas e isolados proteicos contendo tremoço tem sido associada à diminuição do risco de doenças como a obesidade, diabetes e doenças cardiovasculares (FONTANARI, 2010; HALL *et al.*, 2004; VOLEK & MAROUNEK, 2011).

Apesar de todos estes benefícios do consumo do tremoço, há uma grande dificuldade na inserção desta leguminosa na alimentação humana devido à presença dos fatores antinutricionais, como alcaloides e inibidores de proteases. Essas substâncias interferem negativamente na digestibilidade protéica de forma que um grande conteúdo destas pode implicar em menor biodisponibilidade da proteína no momento da absorção intestinal (MONTEIRO *et al.*, 2010).

Considerando que a agricultura é um setor da economia de alta produtividade no país e que a produção de leguminosas é relativamente alta, em torno de 71 milhões de toneladas por anos (IBGE, 2012), pode-se inferir que um direcionamento da produção dessa leguminosa para o consumo humano seria interessante não somente devido aos benefícios econômicos do cultivo deste grão, mas também pela sua utilização como uma fonte alimentar de alto valor nutricional, podendo se tornar uma excelente opção como fonte protéica vegetal para a população brasileira.

No entanto, por ser um alimento rico em proteínas, a maioria dos trabalhos estão direcionados para a quantificação e emprego das propriedades funcionais destes nutrientes, havendo a necessidade de estudar profundamente os outros constituintes como os lipídeos, fibras e minerais, que também exercem efeitos benéficos ao organismo humano (CASTILHO *et al.*, 2008; CHEW *et al.*, 2003; DURANTI *et al.*, 2008; EL-ADAWY *et al.*, 2001; FONTANARI, 2010).

Assim, este trabalho teve como objetivo geral a obtenção de uma farinha integral de tremoço adequada nutricionalmente para o consumo humano. Neste sentido, os seguintes objetivos específicos foram traçados: obter dois tipos de farinha integral de tremoço *Lupinus albus* variando-se as condições de tempo e temperatura de torra do grão, e determinar a composição química do grão cru integral, do grão em conserva e das farinhas de tremoço produzidas em laboratório; avaliar o tratamento térmico empregado quanto à eficiência na inativação de fatores antinutricionais; avaliar e comparar o perfil lipídico das amostras, empregando-se diferentes metodologias analíticas no processo de extração e estratificação dos constituintes lipídicos presentes no grão de tremoço branco (*Lupinus albus*) e desenvolver produtos extrusados que

empregam diferentes concentrações deste grão, associados à quirera de arroz como fonte de amido.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. O TREMOÇO

O tremoço (*Lupinus ssp.*) é uma leguminosa cultivada há quase 4000 anos, apresenta cerca de 400 espécies catalogadas sendo todas elas provenientes do Mediterrâneo e da região andina (CROWLING, 1982, RIBEIRO, 2006).

Entre 400 e 356 a.C. Hipócrates referiu-se ao tremoço caracterizando-o como um vegetal de interesse na alimentação humana juntamente com a lentilha, o feijão e a ervilha. Povos originários da Península Ibérica atribuíram ao grão diversas funções como o emprego em jogos, moeda simbólica, uso na alimentação animal e também na dieta da população mais pobre (TESSITORES, 2008).

Quanto à etiologia, o tremoço pertence ao gênero *Lupinus*, da classe *Genisteeae* da família *Leguminosae*, sendo as principais espécies cultivadas de tremoço o *L. albus* (tremoço branco), *L. angustifolius* (tremoço azul), *L. luteus* (tremoço amarelo), *L. mutabilis* e *L. polyphillus* (BOTARO, 2010; HUYGHE, 1997; RIBEIRO, 2006).

É uma planta herbácea, anual, ereta, chegando a medir 45cm de altura, sendo mais encontrada em regiões frias (BRAGA *et al.*, 2006). As folhas são compostas de sete folículos na mesma altura do pecíolo, alongadas e de coloração verde. As flores podem ser brancas, azuis ou amarelas, formadas em inflorescência (Figura 1) (BOTARO, 2010).



FIGURA 1. Tremçoço branco (*Lupinus albus*), tremçoço azul (*Lupinus angustifolius*) e tremçoço amarelo (*Lupinus luteus*).

Fonte: Agrária, 2011.

Os frutos são do tipo vagem com pelos e com semente em seu interior (Figura 2) (BOTARO, 2010). Pode-se observar que o tremçoço branco (*Lupinus albus*) apresenta forma circular, casca (tegumento) cor areia, com o cotilédone amarelo, tendo os seus percentuais em peso divididos da seguinte maneira: 2,4% de embrião, 17,3% de tegumento (casca) e 80,3% de cotilédone (RIBEIRO, 2006).



FIGURA 2. Vagem e semente de tremçoço branco (*Lupinus albus*)

Fonte: Braga *et al.* 2006.

2. PRODUÇÃO E MERCADO DO TREMOÇO

No Brasil, o tremoço é empregado principalmente como adubo verde devido à sua propriedade de fixar o nitrogênio do ar e produzir muita massa verde (BOTARO, 2010). De acordo com Barradas *et al.*, (2001), independente das condições de fertilidade do solo, as espécies de tremoço branco destacam-se quanto à produção de fitomassa seca e ao acúmulo de nitrogênio no solo. Benassi & Abrahão (1991) também registraram grande produção de fitomassa e fixação de nitrogênio no solo promovido pelo tremoço branco, sendo o cultivo do mesmo uma opção de cultura de inverno que se destaca na rotação com o milho (AHRENS & KRZYZANOWSKI, 1998).

Entretanto, o tremoço tem recebido atenção no cenário internacional como potencial ingrediente para produção de alimentos direcionados ao consumo humano (HALL *et al.*, 2004; MARTINEZ-VILLALUENGA, 2006). Isto se justifica pelo seu alto conteúdo protéico, decorrente de sua capacidade de fixação de nitrogênio atmosférico e por serem plantas de fácil adaptação ao clima e solos de cultivo (AHRENS & KRZYZANOWSKI, 1998; BARRADAS *et al.*, 2001; BENASSI & ABRAHÃO, 1991).

As espécies de tremoços branco e azul, também chamados de tremoço doce, são os mais utilizados na alimentação humana por possuírem teores reduzidos de alcaloides e demais fatores antinutricionais (JUL *et al.*, 2003; RIBEIRO, 2006; SCHINDLER *et al.*, 2011).

Dentre as várias formas de consumo, o tremoço apresenta grande potencial de consumo *in natura* ou como processado sob a forma de conserva ou *snacks*, isolados e concentrados protéicos (BADER *et al.*, 2011; MOLINA, 2010) ou como ingrediente de produtos alimentícios podendo citar produtos de panificação, molho para saladas e espaguete (DOXASTAKIS *et al.*, 2007; MARTINEZ-VILLALUENGA *et al.*, 2009; WAESCHE *et al.*, 2001).

Neste sentido, a produção de uma farinha integral a partir do tremoço a fim de que possa ser introduzida na alimentação humana e incorporada em pães e massas, promoverá o aumento do valor nutricional dos alimentos além de incrementar suas propriedades funcionais (RIBEIRO, 2006).

Ei-Adawy *et al.* (2001) avaliaram o potencial nutricional e as propriedades funcionais do isolado protéico dos tremoços doces e amargos. Ambos demonstraram excelente solubilidade proteica (80%), elevadas concentrações de aminoácidos essenciais como leucina, isoleucina e aminoácidos aromáticos e altos teores de ácido glutâmico, aspártico e argina, estes últimos aminoácidos não essenciais. Quanto à

capacidade de emulsificação, as duas variedades de tremçoço apresentaram em torno de 169mg óleo/g proteína e capacidade espumante de 106%.

Já Ribeiro (2006) desenvolveu um produto tipo *shake* utilizando uma mistura de farinha de tremçoço doce (*Lupinus albus*) cv Multolupa, descorticada e desengordurada com maltodextrina e leite em pó integral. Neste estudo, relatou-se a presença de um sabor amargo que foi mascarado quando se utilizou formulações com maior quantidade de leite em pó integral.

Waesche *et al.* (2001), empregaram isolados proteicos de tremçoço no preparo de vários produtos de panificação e molhos para salada, explorando desta forma, a característica funcional das proteínas alimentares desta leguminosa.

Doxastakis *et al.* (2007) ao desenvolverem um espaguete substituindo-se parcialmente a semolina da formulação por isolado proteico de tremçoço, obtiveram um produto satisfatório quanto à qualidade do cozimento, coloração e adequadas características nutricionais.

Estes estudos ampliam as perspectivas de aproveitamento industrial do tremçoço como fonte protéica alternativa e de baixo custo , promovendo o desenvolvimento de produtos nutritivos, versáteis e saborosos.

A Tabela 1 apresenta os principais países produtores mundiais de tremçoço no ano de 2011.

TABELA 1
Produção mundial de tremçoço no ano 2011

Rank	País	Produção (U\$1000)	Produção (Tolenadas)
1	Austrália	2.803	807.673
2	Chile	2.692	44.189
3	Peru	1.899	11.337
4	Egito	504	3.167
5	Polônia	409	78.462
6	Equador	257	1.619
7	Espanha	220	5.400
8	Rússia	182	21.070
9	África do Sul	55	16.000
10	Argentina	26	152
11	Grécia	21	140
12	Itália	19	5.500
13	Líbano	17	103
14	República Árabe da Síria	2	17

Fonte: FAO, 2011.

A produção mundial de tremoço em 2011 foi de aproximadamente 994 mil toneladas, sendo o maior produtor a Austrália, seguida pelo Chile, Peru e Egito (FAO, 2011). Quanto ao Brasil, a média produzida encontra-se em torno de 30 a 40 toneladas de massa verde por hectare (INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS, 2012). Por serem plantas de clima mais ameno, seu cultivo é realizado principalmente nos estados de temperaturas mais baixas como Santa Catarina e Paraná (TESSITORE, 2008).

3. COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO TREMOÇO

O tremoço destaca-se, dentre as leguminosas, como o grão com maior teor de proteínas (40%), elevados teores de gorduras totais (10%) com predomínio de ácidos graxos insaturados, sendo estes inferiores apenas aos da soja (NEVES *et al.*, 2001; 2006) e teores consideráveis de vitaminas e minerais (MARTINEZ-VILLALUENGA *et al.*, 2009).

A Tabela 2 apresenta dados da composição centesimal de diferentes cereais e leguminosas.

TABELA 2
Composição centesimal de diferentes cereais e leguminosas

		Trigo	Ervilha	Ervilhaca Comum	Grão de bico	Tremoço Azul	Tremoço Branco	Tremoço Amarelo	Soja
Componentes (% extrato seco)	Proteína	12	24	28	22	34	38	42	39
	Amido	69	51	43	41	0	0	0	0
	Gordura	1,7	1,1	1,6	6,1	5,9	9,5	6,1	20
	Cinzas	1,8	3,5	4	3,2	3,8	3,9	3,8	5,9
	Fibra Bruta	2,5	6	4,5	10	16	13	18	5,9

Fonte: Guidelines for growing grain legumes in Europe, 2005

Além do alto teor de fibras, o tremoço apresenta em sua composição proteínas cujas importantes propriedades emulsionantes contribuem para a estabilização das partículas de gordura, em sistemas de emulsão de produtos cárneos, com boa aceitabilidade sensorial, como avaliado por Castilho *et al.* (2009) ao estudarem a aplicação da proteína de tremoço branco como emulsionante em produtos cárneos tipo fiambre.

As proteínas do tremoço possuem ainda propriedades funcionais de interesse no mercado alimentício, como ação espumante e alto poder de saciedade (VAN

BARNEVELD, 1999), e outras relacionadas à saúde humana, como ação inibitória da enzima conversora de angiotensina, como antioxidante e capacidade de diminuição dos níveis de colesterol sérico (HALL *et al.*, 2004; YOSHIE-STARK *et al.*, 2004).

Em relação ao perfil de aminoácidos, em um estudo do extrato protéico de tremoço azul (*Lupinus angustifolius*), foram observados teores elevados de glutamato, arginina e aspartato (EL-ADAWY *et al.*, 2001). No entanto, esta leguminosa assim como qualquer outra apresentou baixas concentrações de aminoácidos sulfurados (SCHINDLER *et al.*, 2011) e valor limitante para a metionina (RIBEIRO, 2006).

Quanto à composição das frações protéicas da farinha de tremoço (*Lupinus albus*) observou-se que a mesma apresentou 11,33% de albumina, 41,37% de globulina, 19,24% de glutelina e 7,66% de globulina sobrenadante (MOLINA, 2010).

Segundo Pires *et al.* (2006) as proteínas são moléculas essenciais para aos organismos animais, devendo, portanto, estarem presentes na alimentação em quantidades adequadas. Além do aspecto quantitativo deve-se levar em conta o aspecto qualitativo, isto é, seu valor nutricional, que dependerá de sua composição, digestibilidade, biodisponibilidade de aminoácidos essenciais, ausência de toxicidade e de fatores antinutricionais.

Quanto aos carboidratos, o açúcar mais abundante no grão do tremoço branco é a sacarose (70,7% do total de açúcares), seguida da galactose, glicose, maltose, frutose e xilose nesta ordem. A quantidade de mono e dissacarídeos no grão apresenta-se em torno de 5,82% (ERBAS *et al.*, 2005).

Já para o teor de vitaminas, a niacina apresenta-se em maior quantidade e a tiamina em menor teor, o que é observado também nas demais leguminosas (ERBAS *et al.*, 2005).

Botaro (2010) ao comparar a composição nutricional entre uma farinha integral de tremoço branco e uma descortçada, observou que, apesar dos teores de proteínas e lipídeos terem aumentando para a farinha descortçada, passando de 32% para 42% e de 11% para 14%, respectivamente, os teores de fibra bruta reduziram de 9% para 0,94% bem como os de cinzas diminuíram de 3,17% para 3%. Ribeiro (2006) também encontrou as mesmas alterações quanto à composição centesimal entre farinha integral e farinha descortçada, observando um aumento para as proteínas (33% - 40%) e redução na quantidade de fibras alimentares (40% - 38%) e cinzas (3,16% - 2,5%) para a farinha descortçada.

As alterações observadas entre os teores de nutrientes de grãos de mesma espécie podem ser explicadas pelos diferentes tipos de solo, condições climáticas e

técnicas agronômicas empregadas (RIBEIRO, 2006). Acrescenta-se que, de acordo com Duenas *et al.* (2009) o processo de germinação pode contribuir para elevar os níveis de aminoácidos livres, carboidratos, fibras alimentares, componentes bioativos, além vitamina C, E e tocoferóis.

Outro nutriente importante cuja presença no tremoço também apresenta variações é o lipídeo. Este ocorre nos vegetais, com maior frequência nas sementes, frutos, folhas e, em menor proporção, nas raízes, caules e flores (MELLO, 2008).

Embora a composição de ácidos graxos da fração lipídica varie de espécie para espécie, os ácidos láurico, palmítico, esteárico, oléico, linoléico e linolênico geralmente ocorrem em maior quantidade, podendo compor até 60% da massa de algumas sementes oleaginosas (MELLO, 2008).

Quanto à composição de ácidos graxos no grão de tremoço branco cru, o mesmo apresenta 13,5% de saturados, 55,4% de monoinsaturados e 31,1% de poliinsaturados (BOSCHIN *et al.*, 2008; ERBAS *et al.*, 2005).

Em um estudo realizado por Jacobsen & Mujica (2006), o grão de tremoço branco apresentou um perfil lipídico composto de 40,4% de ácido oleico, 37% de linoléico e 13% de ácido palmítico.

Erbas *et al.* (2005) ao determinarem o perfil lipídico do tremoço branco também concluiu que a presença de monoinsaturados foi predominante, sendo 55% do total de óleo extraído sob a forma de ácido oleico. Quanto aos poliinsaturados determinados, houve predomínio do ácido linoleico (22,4%) seguido do ácido linolênico (8,7%). O percentual de ácidos saturados foi de 12,5%, provenientes de ácido palmítico e esteárico.

Em um estudo conduzido por Schindler *et al.* (2011), foi observado que os teores de ácidos graxos para o extrato protéico de tremoço azul (*Lupinus angustifolius*) foram de 32,1% de saturados, 40,1% de monoinsaturados e 27,9% de poliinsaturados.

O consumo excessivo de alimentos com alto teor de gordura está associado ao risco de incidência de várias doenças (BRASIL, 2005). A grande ingestão de gorduras saturadas influenciam diretamente os níveis lipídicos plasmáticos, podendo ocasionar danos para a saúde como a hipercolesterolemia (SPOSITO *et al.*, 2007), além de aumentar o risco de desenvolvimento de doenças coronarianas (MONTEIRO, *et al.*, 2000).

No entanto, estudos têm demonstrado que alguns tipos de ácidos graxos essenciais (linolênico e linoléico), presentes nas gorduras insaturadas, são fatores de proteção à saúde. O ácido graxo ômega-3, por exemplo, está associado com a redução

do risco de doenças cardiovasculares, alguns tipos de câncer e no tratamento de doenças inflamatórias como artrite reumatoide (BRASIL, 2005) .

Assim, o conhecimento do perfil lipídico dos alimentos é fundamental para se alcançar a segurança nutricional, já que devido à proporção dos mesmos, um alimento pode ser mais aterogênico, com alto teor de gorduras saturadas ou hipocolesterolêmico, com maior teor de ácidos graxos insaturados (MORAES & COLLA, 2006).

3.1. Análise do perfil lipídico

A técnica mais utilizada para análise do perfil em ácidos graxos dos lipídios é a cromatografia gasosa (CG) (LIMA & ABDALLA, 2002). Os ácidos graxos são encontrados nos alimentos como triacilgliceróis e em menor quantidade como ácidos graxos livres, sendo necessário convertê-los em substâncias com maior volatilidade a fim de reduzir a adsorção de solutos no suporte e superfície da coluna e melhorar a separação dos compostos (DROZD, 1975; GUTNIKOV, 1995).

Neste processo de determinação de ácidos graxos em alimentos faz-se necessário o preparo da amostra que envolve diversas etapas, sendo duas delas fundamentais para obtenção dos ácidos graxos esterificados.

A primeira etapa é a extração do óleo presente na amostra. A extração lipídica para determinação do perfil de ácidos graxos pode ser realizada empregando-se diferentes metodologias, como por exemplo o uso de solventes a quente citados por Uzun *et al.* (2007) utilizando método de Soxhlet e éter de petróleo para extração; Boschin *et al.* (2008) utilizando método de Soxhlet e hexano para extração; ou a frio realizados por Garcia-Lopes *et al.* (2001) utilizando uma mistura de metanol:clorofórmio:cloridrato de sódio (2:1:0,8); Erbas *et al.* (2005) utilizando uma mistura de metanol:benzeno:2,2dimetoxipropano:hexano (37:20:5:2); Schindler *et al.* (2011) utilizando butanol como solvente extrator. No entanto, temperaturas elevadas podem provocar degradação nos diferentes tipos de ácido graxo alterando a composição deste componente no alimento (MARQUES *et al.*, 2009).

A segunda etapa consiste no processo de esterificação, no qual os ácidos graxos são convertidos em compostos mais voláteis, como os ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG) (MILINSK, 2007). Os métodos mais comuns usados para análise em CG envolvem a transesterificação dos acilgliceróis e a esterificação dos ácidos graxos livres a ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG). Este processo de

conversão também pode ser chamado de metilação (BRONDZ, 2002; MEIER *et al.*, 2006; SHANTA & NAPOLITANO, 1992).

Existe na literatura uma grande variedade de métodos de esterificação que se dividem em duas categorias: reagentes de catálise ácida e de catálise básica.

Os reagentes mais usados para esterificação por catálise ácida são ácido clorídrico (HCl), ácido sulfúrico (H₂SO₄) e trifluoreto de boro (BF₃) em metanol. Todos eles são utilizados para esterificação de acilgliceróis e de ácidos graxos livres. No entanto, nenhum desses procedimentos ocorre à temperatura ambiente. Além disso, dentre esses métodos o BF₃ em metanol tem sido amplamente usado para esterificação, porém é extremamente tóxico (MILINSK, 2007).

Quanto aos reagentes utilizados para esterificação de ácidos graxos empregando catálise básica, encontram-se o hidróxido de sódio (NaOH) ou potássio (KOH) em metanol e metóxido de sódio (NaOCH₃) em metanol. Os métodos de esterificação empregando estes reagentes são rápidos e podem ser realizados a temperatura ambiente. No entanto tem como desvantagem não conseguirem converter os ácidos graxos livres em ésteres metílicos de ácidos graxos (BANNON *et al.*, 1982; GUTNIKOV, 1995).

Em todas as metodologias citadas acima, esses procedimentos podem afetar diretamente os resultados quantitativos devido a vários fatores como: conversão incompleta dos lipídios a EMAG, mudança na composição dos ácidos graxos durante a esterificação, formação de artefatos que podem ser erroneamente identificados como ácidos graxos, contaminação da coluna cromatográfica com traços do reagente de esterificação, extração incompleta de EMAG ou ainda, perda de ésteres metílicos de cadeia curta e muito volátil (BRONDZ, 2002; SHANTA & NAPOLITANO, 1992).

Desta forma, surge a necessidade de avaliar a diferença entre os métodos de extração e métodos de metilação a fim de se verificar possíveis degradações ou conversões inadequadas dos ácidos graxos acarretando quantificação inadequada dos mesmos.

4. FATORES ANTINUTRICIONAIS E TRATAMENTO TÉRMICO

Apesar dos elevados teores de proteínas e lipídeos, há uma grande dificuldade em se inserir o tremoço na alimentação humana devido à presença de fatores antinutricionais como os alcalóides e taninos, inibidores de protease e os alfa-galactosídeos (rafinose, estaquiase) responsáveis pela ocorrência de flatulência e

distensão abdominal (BOTARO, 2010). Essas substâncias interferem negativamente na digestibilidade protéica e um grande conteúdo destas pode implicar em menor biodisponibilidade da proteína (MONTEIRO *et al.*, 2010).

Em experimentação animal, a presença desses fatores antinutricionais na dieta, provenientes do consumo de leguminosas cruas, levou à inibição do crescimento e desenvolvimento de cobaias, além da diminuição da digestibilidade da proteína ingerida, hipertrofia e hiperplasia pancreáticas e, por fim, morte (MANDARINO, 2008).

Muitas investigações têm sido realizadas para se desenvolver novos tratamentos que reduzam ou removam tais fatores antinutricionais com o objetivo de melhorar a qualidade nutricional do tremoço. Alguns destes tratamentos aplicados diretamente na semente consistem na fermentação, germinação, adição de enzimas, descascamento, maceração e cozimento (SIRTORI *et al.*, 2010).

A aplicação de calor é um dos principais métodos para se eliminar os fatores antinutricionais já que os mesmos são termolábeis. Diferentes técnicas podem ser utilizadas como a extrusão, autoclavagem, tostagem com ar quente ou com vapor, cozimento e aplicação de microondas. Embora atuem de formas diferentes, todas elas baseiam-se na aplicação de calor sob o alimento, resultando em desnaturação protéica de lectinas, inibidores de proteases (MACHADO *et al.*, 2008; WHITE *et al.*, 2000; WIRIYAUMPAIWONG *et al.*, 2004) e inativação de ácido fítico (MARTINO *et al.*, 2007).

Tessitore (2008) com o objetivo de eliminar e inibir os fatores antinutricionais do tremoço empregando-se diferentes tratamento térmico, verificou que um tratamento térmico aquoso em temperatura de 100 °C durante 12 h, diminuiu consideravelmente o sabor amargo do extrato aquoso do tremoço causado pela presença de alcaloides.

Botaro (2010) também com o intuito de reduzir o teor de alcaloides presentes no *Lupinus albus*, realizou diversas etapas de imersão do grão em água aquecida à temperatura de 50 °C com posterior retorno à temperatura ambiente. Este procedimento foi realizado três vezes ao dia, durante cinco dias, sendo que ao final de cada dia, as sementes eram aquecidas até 80 °C e mantidas a temperatura ambiente “overnight”. O procedimento aplicado não apenas resultou na diminuição do teor de alcaloides, como também no aumento do conteúdo de proteína.

Monteiro *et al.* (2010) aplicaram dois binômios tempo-temperatura, 100 °C por 60 min e 150 °C por 30 min, e compararam a capacidade de inativação dos fatores antinutricionais em tremoço branco. A eficácia do tratamento empregado foi avaliado pela determinação da atividade da enzima urease a partir da diferença de pH antes e após o tratamento térmico, já que tal enzima é inativada nas mesmas temperaturas em

que os fatores antinutricionais são destruídos. Assim sendo, a inativação da urease por tratamento térmico, sugere a destruição também dos fatores antinutricionais. Pode-se observar neste trabalho, que a aplicação do tratamento térmico foi suficiente para inativar a atividade enzimática, podendo considerar que os fatores antinutricionais também foram inativados sem afetar a solubilidade. Além disso, após o tratamento térmico foi observado um aumento na digestibilidade protéica.

Assim como o tremoço, a soja é uma leguminosa que apresenta altos teores de inibidores de tripsina.

Machado (2008) ao avaliar o tratamento térmico na inativação dos fatores antinutricionais em grãos de soja, empregou a autoclave a 121 °C durante 5, 10, 15 e 25 min, e observou que estes procedimentos foram eficazes na inativação da maioria dos fatores antinutricionais, como inibidores de tripsina e lectinas sem comprometer a qualidade protéica.

A ingestão de soja crua acarreta alterações na digestão e absorção de proteínas, causando hipertrofia seguida de hiperplasia das células exócrinas do pâncreas em animais experimentais. Assim, o valor nutritivo da proteína de soja, oferecida a ratos, melhorava quando a mesma era submetida ao tratamento térmico (LIENER, 1994).

Entretanto, se o tratamento térmico for inadequado e excessivo haverá perda da qualidade nutritiva das leguminosas, uma vez que elevadas temperaturas podem provocar reações químicas com alguns aminoácidos, que afetarão sua absorção e solubilidade (MONTEIRO *et al.*, 2010).

4.1. Alcaloides

Os alcaloides podem ser definidos como sendo bases nitrogenadas orgânicas encontradas principalmente em plantas, porém em menor extensão em animais e microorganismos (SOUZA, 2008).

Estes são classificados de acordo com a natureza da estrutura que contém o átomo de nitrogênio podendo ser pirrolidínicos, piperidínicos, quinolínicos, isoquinolínicos, indólicos, entre outros (VAZ, 2008).

De acordo com um estudo feito por Chludil *et al.* (2009), o tremoço apresenta alcaloides do tipo quinolizidinos, identificados como lupanina, esparteína, lupinina, isolupanina, angustifolina e L-17-hidroxlupanina, sendo que os dois primeiros são os mais tóxicos e o último é aproximadamente dez vezes menos tóxico (TESSITORE,

2008). Do ponto de vista da toxicidade, estes alcaloides são sem dúvida o principal composto antinutritivo no tremoço (SANTOS *et al.*, 2009). Podem ainda atribuir ao grão um gosto amargo, sendo que a cada 100 g de tremoços pode-se encontrar cerca de 2 g de alcaloides.

A Figura 3 apresenta a estrutura química de dois principais alcaloides presentes em grãos de tremoço branco.

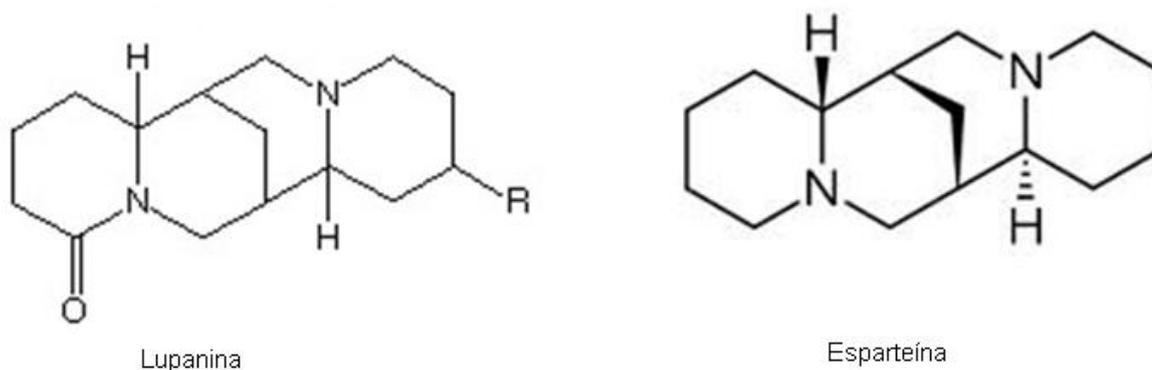


FIGURA 3. Estrutura química de alcalóides do tipo quinolizodínicos presentes no tremoço branco (*Lupinus albus*).

Devido à alta toxicidade dos alcaloides, diversos estudos foram realizados entre as décadas de 20 e 30 na Europa na tentativa de selecionar variedades de tremoço “livre de alcaloides”, desenvolvendo-se assim, o tremoço doce (*Lupinus albus*). Este apresenta baixo teor de alcaloides (0,01 – 0,05%), taninos e inibidores de tripsina, o que reduz a sua toxicidade, melhora o sabor, e possibilita sua introdução na alimentação humana (JUL *et al.*, 2003; RIBEIRO, 2006; SCHINDLER *et al.*, 2011).

De acordo com Ribeiro (2006) o teor de alcalóides no tremoço doce é em torno de 0,035%, sendo este valor dentro do limite aceitável (0,05 e 0,01%) para ser consumido tanto por animais como por seres humanos. Já em outro estudo conduzido por Przybylak *et al.* (2005), ao determinarem o teor de alcalóides de seis espécies selvagens de tremoço encontrou-se um teor entre 2,0 e 3,5%, sendo o principal deles a lupanina.

A seleção das variedades de tremoço doces (livres de alcalóides) associada ao conhecimento do elevado teor de proteínas presente neste alimento ampliou a possibilidade da utilização do grão de tremoço tanto na alimentação humana quanto no animal. Várias empresas na Europa já começaram a produzir alimentos como massas,

pães e carnes utilizando o tremçoço como um dos ingredientes em substituição à proteína animal ou farinha de cereais (BOSCHIN *et al.*, 2008).

Entretanto, Zdunczyk *et al.* (1998) ao avaliarem os teores de alcaloides presentes em dois cultivares de tremçoço branco (*Lupinus albus*) observaram que em um deles a quantidade de alcalóides se mostrou bastante elevada. Os cultivares estudados foram *Lupinus albus* variedade Bardo e *Lupinus albus* variedade Bac e os teores de alcaloides encontrados em cada um foi de 8,3 g/kg de amostra para a variedade Bac e 0,5 g/kg de amostra para a variedade Bardo. Admitindo que os limites aceitáveis para o teor de alcaloides em alimentos está entre 0,05 e 0,01%, o tremçoço branco variedade Bac apresentou teores bem acima dos limites adequados.

Assim, apesar da tentativa de selecionar variedades livres de alcaloides criando o tremçoço branco, algumas variedades desta espécie ainda contém quantidades consideráveis de alcaloides que podem ser prejudiciais a saúde. Logo, é necessário o emprego de tratamentos térmicos em tremçoços brancos antes do consumo, ou ainda assim determinar a presença de alcaloides no mesmo para avaliar se a variedade a ser consumida é livre ou não de fatores antinutricionais.

4.2. Inibidores de Proteases

Os inibidores de proteases são proteínas de ampla distribuição no reino vegetal, capazes de inibir as atividades da tripsina, quimotripsina, amilase e carboxipeptidase. A pesquisa de inibidores de proteases foi centrada, principalmente, nos inibidores de tripsina encontrados nas sementes de leguminosas, mais especificamente na soja, os quais foram supostamente responsabilizados pelo baixo valor nutritivo de leguminosas cruas (MONTEIRO *et al.*, 2004; SILVA & SILVA, 2000).

Os efeitos nocivos dos inibidores de proteases em animais alimentados com leguminosa crua são complexos. Muitos estudos com animais monogástricos têm relacionado alterações metabólicas do pâncreas (aumento da secreção enzimática, hipertrofia e hiperplasia) e redução da taxa de crescimento com a presença de inibidores de tripsina na alimentação à base de leguminosas (AL-WESALI *et al.*, 1995).

Com a finalidade de minimizar a presença dos fatores antinutricionais nas leguminosas, sobretudo a presença dos inibidores de tripsina, vários estudos foram sendo realizados envolvendo principalmente a utilização do tratamento térmico, visando à inativação ou destruição dos fatores antinutricionais de forma a melhorar a digestibilidade da proteína da soja. Porém, não é um método satisfatório, pois se for

usado de forma inadequada, proporcionará a perda de alguns aminoácidos diminuindo seu valor nutritivo (CARDOSO *et al.*, 2007).

O calor excessivo pode afetar a qualidade das proteínas pela oxidação do enxofre da cistina e metionina e pela formação de reação de Maillard entre o grupo amino da lisina e carboidratos, tornando a lisina indisponível para absorção (CARDOSO *et al.*, 2007).

Os inibidores de proteases aceleram a secreção de enzimas por um mecanismo de “feedback” por meio da colecistoquinina (CCK). Normalmente, a quantidade de enzimas secretadas pelo pâncreas é regulada pelo teor de proteínas existente no lúmen intestinal. A tripsina se liga a proteínas até que esteja em excesso; quando isso acontece, a tripsina livre envia um sinal ao pâncreas para reduzir a síntese de tripsinogênio. Porém, quando o inibidor se liga à tripsina, a secreção pelo pâncreas do tripsinogênio é maior. Isso resulta em hipertrofia do pâncreas, uma resposta biológica reversível que não ocasiona dano ao órgão ou à sua função (DUARTE *et al.*, 2010).

Apesar de experimentos que utilizaram altas concentrações de inibidores em curtos períodos de tempo indicarem alterações na função normal do pâncreas, ainda permanece a questão se a ingestão crônica de baixas concentrações de inibidores constituiria em um risco à saúde humana, principalmente, para determinados grupos da população como crianças e vegetarianos (LIENER, 1994).

Antunes & Sgarbieri (1980) obtiveram inativação total de inibidor de tripsina em feijões (*Phaseolus vulgaris*) embebidos em água destilada por uma noite e submetidos a temperatura de 97°C por 7,5 min.

No entanto, as lectinas e inibidores da protease, que como já dito anteriormente podem reduzir a digestibilidade da proteína, encontram-se em níveis mais baixos em tremoço do que em muitos outros legumes (PETTERSON *et al.*, 1998).

Guillamon *et al.* (2008) ao determinarem a atividade inibitória de tripsina em diferentes leguminosas concluíram que os grão de tremoço apresentaram teores insignificantes de inibidores de proteases.

Martinez-Villaluenga *et al.* (2006) aplicaram diversos tratamentos térmicos com calor úmido com o objetivo de inativar os fatores antinutricionais e encontraram os seguintes valores para inibidores de tripsina. Para a espécie *Lupinus luteus* var. 4492 antes do tratamento térmico foi encontrado 2,76 UIT/mg de amostra, enquanto que depois do tratamento foi encontrado um teor de 2,29. Entretanto, para a espécie *Lupinus albus* var. Multolupa (tremoço branco doce) não foram encontradas, tanto para

o grão cru quanto para o processado, quantidades significativas de inibidores de tripsina.

Assim, a partir do surgimento de novas variedades de tremçoço doce, como *Lupinus albus*, as sementes produzidas apresentam baixo teor de lectinas e inibidores de tripsina. Vicenti *et al.* (2009) encontraram para grãos de *Lupinus albus* conteúdos de fatores antinutricionais muito baixos, sendo eles 0,61mg/g de taninos e 6,39mg/g de polifenóis.

5. PROCESSO DE EXTRUSÃO DE CEREAIS E LEGUMINOSAS

Um dos processos industriais que tem se mostrado eficiente na obtenção de produtos alimentícios a base de amido é a extrusão. Este processo promove a gelatinização do amido, o que resulta em grande absorção de água, possibilitando a obtenção de uma variedade de produtos como *snacks*, farinhas pré-gelatinizadas, cereais pré-cozidos, alimentos infantis e sopas instantâneas (BORBA *et al.*, 2005; CAMARGO *et al.*, 2008; CARVALHO *et al.*, 2010; SOARES Jr. *et al.*, 2011).

Farinhas e amidos pré-gelatinizados produzidos a partir de extrusão são utilizados também para obter espessamento ou retenção de água sem emprego do calor, por exemplo em pudins, misturas lácteas instantâneas e alimentos para desjejum; para preparar misturas prontas panificáveis, no qual o aumento da absorção e retenção de água melhora a qualidade do produto (CLERICE & EL-DASH, 2008).

O princípio básico da extrusão consiste na conversão de um material sólido em fluido pela aplicação de calor e trabalho mecânico e forçar sua passagem por meio de uma matriz formando, assim, um produto com características físicas e geométricas pré-determinadas. Este processo promove a transformação das características químicas, físicas e nutricionais dos alimentos destacando-se a hidratação de amidos e proteínas, a homogeneização da mistura, a liquefação de gorduras, a desnaturação de proteínas, a inativação de enzimas, a diminuição da população microbiana, a plastificação e a expansão do material processado, a fim de criar novas formas e texturas (BORBA *et al.*, 2005; LEORO, 2007; TEBA *et al.*, 2009).

Além de possuir os benefícios usuais de um processo térmico convencional, a extrusão oferece a possibilidade de melhorar as propriedades funcionais e sensoriais, bem como diminuir a quantidade de fatores antinutricionais (WANG *et al.*, 2009) e destruir a maior parte das substâncias tóxicas de leguminosas pela inativação ou destruição pelo calor (SOARES Jr. *et al.*, 2011).

Atualmente a extrusão termoplástica tem sido explorada como processo alternativo às modificações químicas tradicionais. É uma tecnologia vantajosa de alta versatilidade e eficiência, de baixo custo, alta produtividade e curto tempo de reação (MOURA *et al.*, 2011).

Embora o processo de extrusão seja basicamente uma simples operação tecnológica, seu controle é complexo, devido às inúmeras variáveis envolvidas durante a operação. Outro fator a se considerar é a complexa natureza do sistema alimentar, no qual várias mudanças químicas e físicas ocorrem simultaneamente durante o processo de extrusão (BORBA *et al.*, 2005).

Mudanças nos percentuais de ingredientes como açúcar, sal e fibra, ou parâmetros como velocidade e temperatura do equipamento, podem afetar as variáveis do sistema de extrusão e as características do produto como: textura, estrutura, grau de expansão, índice de solubilidade e absorção de água e atributos sensoriais, como cor e sabor (CAMARGO *et al.*, 2008). O produto final elaborado deve garantir homogeneidade com completa interação entre os componentes sólidos e a água (MOURA *et al.*, 2011).

Segundo Borba *et al.* (2005), as propriedades físicas e sensoriais dos extrusados também dependem fortemente das mudanças que ocorrem na fração amido dos alimentos durante a extrusão, sendo a extensão da degradação deste polímero, a principal delas.

Durante o processo de extrusão, o amido participa de diversas interações eletrostáticas do tipo ligação de hidrogênio que ocorrem entre as hidroxilas das macromoléculas de amilose e amilopectina. Essas interações são responsáveis pela formação da rede tridimensional que confere estrutura ao produto. A regularidade e a frequência com que ocorrem permitem uma alta expansão do produto na saída do equipamento. Dada às suas características, essas interações são facilmente rompidas por água, fazendo com que produtos altamente expandidos contendo predominantemente amido desintegram-se facilmente quando umedecidos (ARÊAS, 1996).

O amido presente no alimento, após a extrusão, apresenta elevada solubilidade em água e capacidade de absorção da mesma, formando uma pasta à temperatura ambiente, sem necessidade de aquecimento. Este aumento da solubilidade ocasionado pela gelatinização do amido torna-se a base para a confecção de alimentos amiláceos instantâneos. Acrescenta-se, ainda, que, após a extrusão, as farinhas de alguns

cereais são desidratadas e comercializadas como farinhas pré-gelatinizadas (BORBA, 2005).

O produto extrusado passa a ter uma textura que é de grande importância para sua qualidade, pois afeta diretamente a aceitabilidade pelos consumidores e as vendas. O que se deseja em *snacks* com boas características é que os valores de dureza sejam baixos (BORBA *et al.*, 2005).

O índice de solubilidade em água está relacionado à quantidade de sólidos solúveis em uma amostra seca, permitindo verificar o grau de severidade do tratamento, em função da degradação, gelatinização, dextrinização e consequente solubilização do amido.

Quanto à coloração dos extrusados, a formação de compostos de cor durante o processo de extrusão permite conhecer a intensidade do tratamento térmico aplicado, sendo ocasionada por reações de caramelização e de Maillard (BORBA *et al.*, 2005).

A extrusão contribui para a obtenção de produtos com melhores valores nutricionais, uma vez que viabiliza a mistura de diferentes matérias-primas e outros nutrientes. Essa técnica permite maior facilidade na produção de misturas alimentícias destinadas ao consumo humano, produzindo uma variedade de produtos, além de permitir o enriquecimento do alimento com vitaminas ou minerais, por meio da suplementação, estimulando o consumo do produto (CARVALHO *et al.*, 2010).

As proteínas de origem animal são consideradas completas, contendo todos os aminoácidos essenciais de que os seres humanos necessitam para o crescimento e a manutenção do corpo, mas que o organismo não é capaz de produzir. Já os alimentos de origem vegetal podem ser ricos em proteínas, mas as mesmas são incompletas, ou seja, não possuem todos os aminoácidos essenciais ou na quantidade adequada às necessidades do ser humano. No entanto há algumas combinações de alimentos que complementam entre si os aminoácidos ou suas quantidades, tornando a combinação de proteínas de alto valor biológico (BRASIL, 2005). Por exemplo, as refeições que combinam grãos de cereais e leguminosas são fontes completas de proteínas de alto valor biológico (BRASIL, 2005; TEBA *et al.*, 2009).

Os cereais e leguminosas são relativamente mais baratos que a carne, quando integrais, em geral, são altamente nutritivos e, ao contrário da carne, têm baixos teores de gorduras e teor muito baixo de gorduras saturadas. A mistura arroz e feijão constitui a base da dieta da população brasileira, sendo responsável por fornecer uma importante complementação protéica (PINHEIRO, 2005).

Produtos alimentícios de boa qualidade podem ser obtidos quando se utiliza o arroz como matéria-prima e quando são empregadas tecnologias que exploram as propriedades funcionais do amido (ORMENESE & CHANG, 2002). Além disso, misturas em proporções adequadas de cereais e leguminosas podem suprir os aminoácidos essenciais exigidos pela dieta, e tem como característica uma alta digestibilidade proteica.

O arroz branco polido apresenta 87% de amido total, 8,9% de proteína, 0,3% de lipídeos e 2,8% de fibra alimentar total, dividida em 1,0% de insolúvel e 1,8% de solúvel (STORCK, 2004).

As leguminosas são deficientes em aminoácidos sulfurados e ricas em lisina, enquanto o arroz é deficiente em lisina e relativamente rico em aminoácidos sulfurados, sendo, portanto, considerados complementares. A mistura de leguminosas e cereais supre os aminoácidos essenciais e tem digestibilidade de 80%. Assim, o desenvolvimento de extrusados e massas alimentícias pré-cozidas, à base de cereais e leguminosas, pode oferecer vantagens em relação à qualidade nutricional deste tipo de alimento, que, de modo geral, constituem apenas boas fontes energéticas, podendo ser comercializadas como alimentos instantâneos (SILVA *et al.*, 2010; TEBA *et al.*, 2009).

Além disso, por não conter glúten, estas massas podem ser consumidas também por celíacos, constituindo uma nova alternativa de consumo para os mesmos, tendo em vista que no mercado há carência de massas diferenciadas para esta população (TEBA *et al.*, 2009).

6. BENEFÍCIOS DO CONSUMO DO TREMOÇO

Além da presença de macro e micronutrientes essenciais, os alimentos de origem vegetal e animal apresentam outros compostos biologicamente ativos que podem conferir benefícios significativos à saúde, se incorporados à dieta, seja como parte integral de um alimento ou como um suplemento (SETCHELL, 1998).

Para alguns autores, várias são as substâncias responsáveis por estes efeitos, como compostos químicos bioativos, principalmente os fitoquímicos. Nas leguminosas, e portanto, no tremoço, além da presença destes, outros nutrientes, como óleo, proteína, fibras e saponinas, também podem ser responsáveis por reduzir o risco de doenças crônicas (DURANTI *et al.*, 2008; SIRTORI *et al.*, 2010).

As fibras alimentares, somente a partir da década de 70, começaram a ter valor quanto aos aspectos de saúde (VAN DOKKUM, 2008). Estas substâncias têm a

capacidade de alterar o trânsito intestinal, reduzindo metabólitos tóxicos, prevenindo a diarreia ou constipação intestinal e alterando a microflora colônica. Além disso, diminuem o risco de câncer de cólon, reduzem os níveis de colesterol e triglicérides e controlam a pressão arterial reduzindo o risco de obesidade e diabetes insulino-dependente e a intolerância à lactose (ANJO, 2004; FONTANARI, 2010).

Quanto aos ácidos graxos, os poliinsaturados apresentam ação hipocolesterolêmica bem estabelecida. Os mecanismos de ação incluem a inibição da síntese endógena e da esterificação do colesterol, o aumento da secreção de colesterol na bile e síntese de sais biliares (LEITE & ROSA, 2008).

Além de todos os componentes descritos acima, existem ainda alguns minerais com propriedades antioxidantes.

O zinco apresenta diversas funções no organismo, dentre elas, explicadas em parte pelo papel catalítico e/ou estrutural em mais de 200 enzimas e pela sua ação na estabilização de domínios de proteínas que interagem com DNA ou de proteínas com papel estrutural ou de sinalização (FERREIRA *et al.*, 2010).

O cálcio, de todos os minerais do organismo, é de longe o que aparece em maior quantidade, sendo grande parte armazenada em ossos e dentes. Este mineral é fundamental para o crescimento fazendo parte de diversas reações orgânicas. O mesmo está diretamente relacionado à formação de ossos e dentes, apresentando participação no crescimento, sendo considerado cofator/regulador em várias reações químicas, além de fator dependente na coagulação sanguínea e liberação de energia para contração muscular (BELARMINO *et al.*, 2005).

Com relação ao ferro, o mesmo encontra-se associado a duas categorias de componentes: aquela que tem função enzimática ou metabólica e aquela relacionada ao armazenamento. Dentre os componentes funcionais, pode-se citar a hemoglobina e a mioglobina e várias outras proteínas que atuam no transporte, armazenamento e utilização de oxigênio. O ferro também participa de vários processos bioquímicos, como o transporte de elétrons na mitocôndria, metabolismo das catecolaminas e síntese de DNA. A falta deste nutriente pode ocasionar sérios danos à saúde humana como por exemplo a anemia ferropriva (OLIVEIRA & OSORIO, 2005).

Diversos estudos *in vitro*, ensaios em humanos e animais e epidemiológicos indicam que dietas a base de vegetais podem reduzir o risco de doenças crônicas como hiperglicemia e hipercolesterolemia (FONTANARI *et al.*, 2010).

A ingestão de produtos alimentícios como farinhas e isolados proteicos contendo tremço tem sido associada à prevenção de doenças como a obesidade,

diabetes e doenças cardiovasculares (FONTANARI, 2010; HALL *et al.*, 2004; VOLEK & MAROUNEK, 2011).

Hall *et al.* (2004) avaliaram os níveis séricos de colesterol total, HDLc, triglicérides, glicose e insulina em dois grupos de homens saudáveis. O primeiro grupo recebeu uma dieta pobre em fibras e o segundo grupo uma dieta rica em fibras, proveniente do tremoço azul (LKfibre – Lupinus kernel fibre). Ao final de 28 dias do consumo das dietas foi feita uma análise sanguínea e observado que a dieta rica em fibras de tremoço reduziu os níveis de triglicérides, LDLc, triglicérides:HDLc., e LDLc:HDLc, reduzindo em 9% os riscos de doenças coronarianas. Os autores concluíram que as fibras do tremoço apresentam um potencial como agente hipocolesterolêmico devendo as mesmas serem incorporadas na dieta com o objetivo de reduzir os riscos de doenças coronarianas.

Já Fontanari (2010) avaliou o consumo de tremoço branco integral e seu isolado protéico no metabolismo do colesterol de hamsters. Este estudo concluiu que tanto o tremoço quanto seu isolado foram eficientes na redução de colesterol total. De acordo com o autor, a proteína é o componente do grão que apresenta maior efeito hipocolesterolizante, no entanto, há um sinergismo entre outros componentes do grão integral, como as fibras, saponinas e fitoesteróis que potencializam esse efeito hipocolesterolizante.

Volek & Marounek (2011) avaliaram o uso de tremoço branco como ração para filhotes de coelho, analisando para isto, o perfil lipídico, as características da carne e da gordura peritoneal de 20 animais durante 42 dias. A análise dos resultados permitiu concluir que esta alimentação promoveu uma alteração benéfica no perfil lipídico sanguíneo além de aumentar a quantidade de ácidos graxos monoinsaturados na gordura peritoneal dos coelhos. Conclui-se que o consumo da carne de coelhos alimentados com tremoço pode apresentar importantes benefícios nutricionais à saúde humana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AREAS, J.A. Extrusion of food protein. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 32 (4), p.365-392, 1992.
- AGRARIA. Disponível em: <<http://www.agraria.org/coltivazionierbacee/lupino.htm>>. Acesso em: 12 set. 2011.
- AHRENS, D.C. & KRZYZANOWSKI, F.C. Efeito do beneficiamento de sementes de tremoço azul sobre suas qualidades física, fisiológica e sanitária. **Sci. agric.** v. 55 n. 2, 1998.
- AL-WESALI, M.; LAMBERT, N.; WELHAM, T.; DOMONEY, C. The influence of pea seed trypsin inhibitors on the in vitro digestibility of casein. **J. Sci. Food Agric.**, v.68, n.4, p.431-437, 1995.
- ANJO, D.F.C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **J. Vasc. Br.**, v.3 (2), p. 145-54, 2004.
- ANTUNES, P.L.; SGARBIERI, V.C. Effect of Heat Treatment on the Toxicity and Nutritive Value of Dry Bean (*Phaseolus vulgaris* var. Rosinha G2) Proteins. **J. Agric. Food Chem.**, v. 28, p. 935-938, 1980.
- BADER, S.; OVIEDO, J.P.; PICKARDT, C.; EISNER P. Influence of different organic solvents on the functional and sensory properties of lupin (*Lupinus angustifolius* L.) proteins. **Food Sci. Techn.** v.44 p.1396 a1404, 2011.
- BALLESTER D.; YAÑES E.; GARCIA R.; ERAZO S.; LÓPEZ F. Chemical composition, nutritive value, and toxicological evaluation of two species of sweet lupine (*Lupinus albus* and *Lupinus luteus*). **J. Agric. Food Chem.** v.28, p.402-405, 1980.
- BANNON, C. D.; BREEN, G. J.; CRASKE, J. D.; HAI, N. T.; HARPER, N. L.; O'ROURKE, K. L. Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability. III. Literature review of and investigations into the development of rapid procedures for the methoxide-catalysed methanol of fats and oils. **J. Chromat.**, v. 247, p. 71-89, 1982.
- BARRADAS, C.A.A.; FREIRE, L.R.; ALMEIDA, D.L.; DE-POLLI, H. Comportamento de adubos verdes de inverno na região serrana fluminense. **Pesq. agropec. bras.** v. 36, n. 12, p. 1461-1468, 2001.

- BELARMINO, A.C.; GRAVENA, C.; POMPONIO, D.F.; CARNEIRO, A.C. Avaliação do consumo de cálcio em mulheres saudáveis. **Rev. Uniara**, n.16, p. 203-212, 2005.
- BENASSI, A.C. & ABRAHÃO, J.T.M. Épocas de semeadura e espaçamentos sobre a produção de fitomassa de tremoço. **Pesq. Agropec. Brás**, v.26(9), p. 1517-1522, 1991.
- BORBA, A.M.; SARMENTO, S.B.S.; LEONEL, G. Efeito dos parâmetros de extrusão sobre as propriedades funcionais de extrusados da farinha de batata-doce. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.25, n.4, p. 835-843, 2005.
- BOSCHIN, G.; D'AGOSTINA, A.; ANNICCHIARICO, P.; ARNOLDI, A. Effect of genotype and environment on fatty acid composition of *Lupinus albus* L. seed. **Food Chem.**, v.108 p.600–606, 2008.
- BOTARO, J.A. **Otimização para a obtenção de extrato aquoso de tremoço branco (*Lupinus albus* L.) adicionado de suco de pitanga**. 2010. 101f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP. São Paulo, 2010.
- BRAGA, N. R.; WUTKE, E. B.; AMBROSANO, E. J.; BULISANI, E. A. **Tremoço branco ou amargo (*Lupinus albus* L.)**. Instituto Agrônomo – IAC. Publicado em 13/07/2006. Disponível em: <<http://www.iac.sp.gov.br/Tecnologias/Tremoco/Tremoco.htm>>. Acesso em: 12 jul. 2011.
- BRASIL. Guia Alimentar para a População Brasileira. Promovendo a Alimentação Saudável. **Ministério da Saúde**. 2005. 217p.
- BRONDZ, I. Development of fatty acid analysis by high-performance liquid chromatography, gas chromatography, and related techniques. **Analytica Chimica Acta**, v.465, p.1-37. 2002.
- CAMARGO, K.F.; LEONEL, M.; MISCHAN, M.M. Produção de biscoitos extrusados de polvilho azedo com fibras: efeito de parâmetros operacionais sobre as propriedades físicas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v28 (3), p.586-591, 2008.
- CARDOSO, L.R.L; OLIVEIRA, M.G.S.; MENDES, F.G.; PIRES, C.V.; RIBEIRO, F.R.; SANT'ANA, R.C.O, MOREIRA, M.A. Atividade de inibidores de proteases em linhagens de soja geneticamente melhoradas. **Alim. Nutr.**, v.18 (1), p.19-26, 2007.

- CARVALHO, A.V.; VASCONCELOS, M.A.M.; SILVA, P.A.; ASSIS, J.T.; ASCHERI, J.L.R. Caracterização tecnológica de extrusados de terceira geração à base de farinhas de mandioca e pupunha. **Ciênc. agrotec.**, v. 34 (4), p. 995-1003, 2010.
- CASTILHO, F.; FONTANARI, G.G.; BATISTUTI, J.P. Avaliação de algumas propriedades funcionais das farinhas de tremçoço doce (*Lupinus albus*) e feijão guandu (*Cajanus cajan* (L) Mill sp) e sua utilização na produção de fiambre. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, 2009.
- CHEW, O.G.; CASEY, A.J.; JOHNSON, S.K. V Protein quality and physico-functionality of Australian sweet lupin (*Lupinus angustifolius* cv. Gungurru) protein concentrates prepared by isoelectric precipitation or ultrafiltration. **Food Chem.**, v. 83, p. 575–583, 2003.
- CHLUDIL, H.D.; VILARINO, M.A.P.; FRANCO, M.L.; LEICACH, L.R. Changes in *Lupinus albus* and *Lupinus angustifolius* Alkaloid Profiles in Response to Mechanical Damage. **J. Agric. Food Chem.** v. 57, p. 6107–6113, 2009.
- CLERICI, M.T.P.S. & EL-DASH, A.A. Características tecnológicas de farinhas de arroz pré-gelatinizadas obtidas por extrusão termoplástica. **Ciênc. agrotec.**, v. 32, (5) p. 1543-1550, 2008.
- CROWLING, W. **Lupins (*Lupinus L.*)**. In: MAXTED, N; BENNET, S.J. Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 1982, 390p.
- DOXASTAKIS, G.; PAPAGEORGIOU, M.; MANDALOU, D.; IRAKLI, M.; PAPALAMPROU, E.; D'AGOSTINA, A.; RESTA, D.; BOSCHIN, G.; ARNOLDI, A. Technological properties and non-enzymatic browning of white lupin protein enriched spaghetti. **Food Chem.**, v.101 p.57–64, 2007.
- DROZD, J. Chemical derivatization in gas chromatography. **J. Chromat.**, v. 113, p.303-356, 1975.
- DUARTE, M.S.L.; PEREIRA, C.A.S.; SOUZA, E.C.G.; CONCEIÇÃO, L.L.; Determinação da atividade in vitro de inibidores de tripsina em feijão (*Phaseolus vulgaris* L.) preto, albumina e globulina. **Alim. Nutr.**, v. 21(3), p. 373-376, 2010.
- DUENAS, M.; HERNANDEZ, T.; ESTRELLA, I.; FERNANDEZ, D. Germination as a process to increase the polyphenol content and antioxidant activity of lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.). **Food Chem.** v.117, p.599–607, 2009.
- DURANTI, M.; CONSONNI, A.; MAGNI, C.; SESSA, F; SCARAFONI, A. The major proteins of lupin seed: characterisation and molecular properties for use as

- functional and nutraceutical ingredients. **Trends Food Sci. Technol**, v. 19, p. 624-633, 2008.
- EL-ADAWY, T.A. RAHMA, E.H.; EL-BEDAWEY, A.A.;GAFAR, E.F. Nutritional potential and functional properties of sweet and bitter lupin seed protein isolates. **Food Chem.** v. 74 p. 455-462, 2001.
- ERBAS, M.; CERTEL, M.; USLU, M.K. Some chemical properties of white lupin seeds (*Lupinus albus* L.) **Food Chem.** . v. 89, p. 341-345, 2005.
- FAO/WHO. **Food and Agricultural commodities production**. Geneva, World Health Organization, 2011. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>, Acesso em: janeiro/2013.
- FERREIRA, R.M.A.; FERNANDES, P.L.O.; FONTES, L.O.; RODRIGUES, A.P.M.S.; SILVA, L.T. Antioxidantes e sua importância na alimentação. **Rev. Verde** v.5 (5), p. 26 – 30, 2010.
- FONTANARI, G.G.; MOLINA, J.P.; BATISTUTI, J.; FERTONANI, F.L. Caracterização térmica das frações protéicas albumina e globulina de grão de bico (*Cicer arietinum*) e tremoço (*Lupinus albus*). In: **Congresso brasileiro de análise térmica e calorimetria**. 7, 2010, São Paulo. Resumo expandido. Araraquara: Universidade Estadual Paulista, 2010.
- FRANCO G. **Tabela de Composição Química dos Alimentos**. 9ª edição; Ed Atheneu, São Paulo, 2004. 148p.
- GARCIA-LOPEZ, P.M.; MUZQUIZ, M.; RUIZ-LOPEZ, M.A.; ZAMORA-NATERA, J.F.; BURBANO, C.; PEDROSA, M.M.; CUADRADO, C.; MORA, P.G. Chemical Composition and Fatty Acid Profile of Several Mexican Wild Lupins. **J. Food Compos. Analy.**, v. 14, p.645-651, 2001.
- GUIDELINES FOR GROWING GRAIN LEGUMES IN EUROPE. GL-Pro. 2005.
- GUILLAMON, E.; PEDROSA, M.M.; BURBANO, C.; CUADRADO, C.; CORTES, M.; MUZQUIZ, M. The trypsin inhibitors present in seed of different grain legume species and cultivar. **Food Chem.**, v.107, p. 68–74, 2008.
- GUTNIKOV, G. Fatty acid profiles of lipid samples. **J. Chrom. B**, v. 671, p. 71-89, 1995.
- HALL R.S.; JOHNSON S.K.; BAXTER A.L.; BALL M.J. Lupin kernel fibre-enriched foods beneficially modify serum lipids in men. **Eur. J. Clinical Nutr.** v.59, p.325–333, 2004.

- HERMSDORFF, H.H.M. Alimentos funcionais e síndrome metabólica. In: COSTA, N.M.B.; ROSA, C.O.R. (Ed.) **Alimentos funcionais – benefícios para a saúde**. Viçosa. 2008, p.55-80.
- HUYGHE, C. White Lupin (*Lupinus albus* L.). **Field Crops Research**, v. 53, p.147-160, 1997.
- IBGE. **Levantamento sistemático da produção agrícola – LSPA**. Brasil, 2012, 88p.
- INSTITUTO AGRONÔMICO DE CAMPINAS - São Paulo – IAC. Citado em: <http://www.guirra.com.br/az/tremoço/htm> [acessado em 16 de julho de 2012].
- JACOBSEN, S.E.; MUJICA, A.I. El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet.) y sus parientes silvestres. **Bot. Econom. Andes Centrales**. p. 458-482, 2006.
- JUL, L.B.; FLENGMARK, P.; GYLLING, M.; ITENO, K. Lupin seed (*Lupinus albus* and *Lupinus luteus*) as a protein source for fermentation use. **Indust. Crops and Products**. V. 18 p.199-211, 2003.
- LEITE, J.I.A. & ROSA, C.O.B. Alimentos funcionais e dislipidemias In: COSTA, N.M.B.; ROSA, C.O.R. (Ed.) **Alimentos funcionais – benefícios para a saúde**. Viçosa. 2008, p.161-184.
- LEORO, M. G. V. **Desenvolvimento de Cereal Matinal Extrudado Orgânico à Base de Farinha de Milho e Farelo de Maracujá**. 2007. 123 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos), Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.
- LIENER, I.E. Implications of antinutritional components in soybean foods. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v. 34, p. 31-67, 1994.
- LIMA, E.S.; & ABDALLA, D.S.P. High-performance liquid chromatography of fatty acids in biological samples. **Anal. Chimica Acta**, v. 465, p. 81-91, 2002.
- MACHADO, F. P. P.; QUEIROZ, J.H.; OLIVEIRA, M.G.A.; PIOVESAN, N.D.; PELUZIO, M.C.G. COSTA, M.N.B.; MOREIRA, M.A. Effects of heating on protein quality of soybean flour devoid of Kunitz inhibitor and lectin. **Food Chem.**, v. 107, p 649–655, 2008.
- MANDARINO, J.M.G. Compostos antinutricionais da Soja: Caracterização e Propriedades funcionais. In: COSTA, N.M.B.; ROSA, C.O.R. (Ed.) **Alimentos funcionais – benefícios para a saúde**. Viçosa. 2008, p.55-80.
- MANN, J. & TRUSWELL, A.S. **Nutrição Humana**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan LTDA. 2011, 663p.

- MARQUES, A.C.; VALENTE, T.B.; ROSA, C.S. Formação de toxinas durante o processamento de alimentos e as possíveis conseqüências para o organismo humano. **Rev. Nutr.**, v. 22(2), p.283-293, 2009.
- MARTÍNEZ-VILLALUENGA C.; FRÍAS J.; VIDAL-VALVERDE C. Functional lupin seeds (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) after extraction of a-galactosides. **Food Chem.** v.98 (2), p.291-9, 2006.
- MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; ZIELINSKI, H.; FRIAS, J.; PISKULA, M.K.; KOZLOWSKA, H.; VIDAL-VALVERDE, C. Antioxidant capacity and polyphenolic content of high-protein lupin products. **Food Chem.** v.112 p. 84-88, 2009.
- MARTINO, H.S.D.; MARTIN, B.R.; WEAVER, C.M.; BRESSAN, J.; ESTEVES, E.A.; COSTA, M.N.B. Zinc and iron bioavailability of genetically modified soybeans in rats. **J. Food Sci.**, v. 72 (9), p. 689-695, 2007.
- MEIER, S.; MJOS, S. A.; JOENSEN, H.; GRAHL-NIELSEN, O. Validation of a one-step extraction/methylation method for determination of fatty acids and cholesterol in marine tissues. **J. Chromat. A**, v. 1104, p. 291-298, 2006.
- MELLO, J.I.O. **Compostos de Reserva de Sementes e suas Relações com Diferentes Níveis de Sensibilidade à Dessecação e ao Congelamento.** 2008, 126p. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2008.
- MILINSK, M.C. **Análise comparativa entre oito métodos de esterificação na determinação quantitativa de ácidos graxos em óleo vegetal.** 2007, 188p. Tese (Doutorado em Química), Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá. 2007.
- MOLINA, J.P. **Fracionamento da proteína e estudo termoanalítico das leguminosas: Grão de Bico (*Cicer arietinum*), variedade Cícero e Tremoço Branco (*Lupinus albus* L.).** 2010, 68p. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição) Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP. Ararquara 2010.
- MONTEIRO, C.A.; MONDINIB, L.; COSTA, R.B.L. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-1996). **Rev. Saúde Pública**, v.34, n. 3, p. 251-258, 2000.
- MONTEIRO, M.R.P.; COSTA, N.M.B.; OLIVEIRA, M.G.A.; PIRES, C.V.; MOREIRA, M.A. Qualidade protéica de linhagens de soja com ausência do Inibidor de Tripsina Kunitz e das isoenzimas Lipoxigenases. **Rev. nutr.** v17, n.2, 2004.
- MONTEIRO, M.R.P.; OLIVEIRA, C.T.; SILVA, L.S.; MENDES, F.Q.; SANT'ANA R.C.O. Efeito do tratamento térmico na digestibilidade, solubilidade e índice de atividade

- de urease em tremoço (*Lupinus albus* e *Lupinus angulifolius*). **Alim. Nutr.**, v. 21 (3), p. 487-493, 2010.
- MORAES, F.P.; & COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Rev. Eletr.Farmácia**, v. 3 (2), p.109-122, 2006.
- MOURA, L.S.M.; ASCHERI, J.L.R.; SILVA, C.C.O.; MORO, T.M.A.; CARVALHO, J.L.V. NUTTI, M.R. Propriedades de absorção e solubilização de extrudados de farinha mista de feijão, milho e arroz biofortificados. **IV Reunião de Fortificação**. Teresina, 2011.
- NEVES, V.A.; LOURENÇO E.J.; SILVA, M.A. Extração, isolamento e fracionamento da proteína de tremoço (*Lupinus albus*) var. Multolupa. **Alim. Nutri.**, São Paulo, v.12, p. 115-130, 2001.
- NEVES, V.A.; SILVA, S.I.; SILVA, M.A. Isolamento da globulina majoritária, digestibilidade in vivo e in vitro das proteínas do tremoço-doce (*Lupinus albus* L.) var. Multolupa. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.26(4), p.832-840, 2006.
- OLIVEIRA, M.A.A. & OSÓRIO, M.M. Consumo de leite de vaca e anemia ferropriva na infância. **J. Pediatria**, v.81 (5), p.361-7 2005.
- ORMENESE, R.C.S.C.; CHANG, W.K. Massas alimentícias de arroz: uma revisão. **B.Ceppa**. v. 20 (2), p. 175-190, 2002
- PETTERSON, D.S. Composition an food uses of lupins. Lupines as a crop plants biology, production and utilization. **South Perth: CAB International**, p. 353-379, 1998.
- PINHEIRO, B.S. Arroz e feijão: Propriedades nutricionais e benefícios a saúde. **Embrapa estudos e capacitação**. Ministério da Agricultura Agropecuária e Abastecimento, Brasil, 2005.
- PIRES, C.V.; OLIVEIRA, M.G.A.; ROSA, J.C.; COSTA, N.M.B.; Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes proteicas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 26 (1), p.179-187, 2006.
- PRZYBYLAK, J.K.; CIESIOŁKA, D.; WYSOCKA, W.; GARCIA-LÓPEZ, P.M.; RUIZ-LÓPEZ, M.A.; WYSOCKI, W.; GULEWICZ,K. Alkaloid profiles of Mexican wild lupin and an effect of alkaloid preparation from *Lupinus exaltatus* seeds on growth and yield of paprika (*Capsicum annum* L.). **Industrial Crops and Products**, v.21 p.1–7, 2005.
- RIBEIRO, A.G. **Desenvolvimento de produto tipo Shake utilizando farinha de tremoço doce (*Lupinus albus*) cv multolupa, descorticada e**

- desengordurada**. 2006, 84p.(Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2006.
- SANTOS, P.R.; TIBURSKI NETO, A.; DANETTI, S.; MACK, J.M.; LINARES, C.E.B.; SILVA, U.F.; FLORES, E.M.N. Análise química e farmacológica dos alcaloides quinolizidínicos das partes aéreas de *Lupinus paranensis* Bent. **XVII Encontro de Química da Região Sul**. 2009.
- SCHINDLER, S.; WITTIG M.; ZELENA, K.; KRINGS U.; BEZ, J.; EISNER P.; BERGER, R. Lactic fermentation to improve the aroma of protein extracts of sweet lupin (*Lupinus angustifolius*). **Food Chem.**, v.128, p.330–337, 2011.
- SETCHELL, K. Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of soy isoflavones. **Am. Jour. Clin. Nutr.**, v. 68, p. 1333-1346, 1998.
- SHANTA, N. C. & NAPOLITANO, G. E. Gas chromatography of fatty acids. **J. Chromat. B**, v. 624, p. 37-51, 1992.
- SILVA, M.R. & SILVA, M.A.A.P. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas. **Rev. Nutr.**, v. 13, n. 1, p. 3-9, 2000.
- SILVA, E.M.; ASCHERI, J.L.R.; CARVALHO, C.W.P.; ASCHERI, D.P.R.; TAKEITI, C.Y.; CARVALHO, J.L.R.; NUTTI, M.R.; MOURA, L.S.M. Efeito da umidade e adição de feijão nas propriedades de pasta de extrudados a base de milho utilizados para a elaboração de sopas. **II International Symposium of Food Extrusion**. Rio de Janeiro, 2010.
- SIRTORI, E. RESTA, D.; ARNOLDI, A.; SAVELKOUL, J.F.J.; WICHERS, H.J.; The effects of various processing conditions on a protein isolate from *Lupinus angustifolius*. **Food Chem.** v. 120, p. 496–504, 2010.
- SOARES Jr., M.S.; SANTOS, T.P.B.; PEREIRA, G.F.; MINAFRA, C.S.; CALIARI, M.; SILVA, F.A. Desenvolvimento de salgadinhos extrudados a partir de fragmentos de arroz e de feijão. **Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, p. 191-200, 2011.
- SOUZA, W.M. **Estudo Químico e das Atividades Biológicas dos Alcalóides Indólicos de *Himatanthus Lancifolius* (Muell. Arg.) Woodson, Apocynaceae – (Agoniada)**. 2008, 152f., Tese (Doutorado em Ciência da Saúde) Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008.
- SPOSITO, A.C.; CARAMELLI, B.; FONSECA, F.A.H.; BERTOLAMI, M.C.; IV DIRETRIZ BRASILEIRA SOBRE DISLIPIDEMIAS E PREVENÇÃO DA ATEROSCLEROSE. Sociedade Brasileira de Cardiologia, departamento de aterosclerose, **Arq. Bras. Cardio.** - v 88, suplemento I, 118p. 2007.

- STORCK, C.R. **Variação na composição química em grãos de arroz submetidos a diferentes beneficiamentos**. 2004, 111f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Curso de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria., Santa Maria, 2004.
- TEBA, C.S.; ASCHERI, J.L.R.; CARVALHO, C.W.P. Efeito dos parâmetros de extrusão sobre as propriedades de pasta de massas alimentíciaspré-cozidas de arroz e feijão. **Alim. Nutr.**,v.20, (3), p. 411-426, 2009.
- TESSITORE, M.T. **Obtenção de extrato aquoso solúvel de tremoço amargo (*Lupinus campestris*)**. 2008, 81f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2008.
- UZUN, B.; ARSLAN, C.; KARHAN, M.; TOKER, C. Fat and fatty acids of white lupin (*Lupinus albus* L.) in comparison to sesame (*Sesamum indicum* L.) **Food Chem.**, v.102, p. 45–49, 2007.
- VAN BARNEVELD D.R.J. Understanding the nutritional chemistry of lupin (*Lupinus* spp.) seed to improve livestock production efficiency. **Nutrition Research Reviews** v.12, 1999.
- VAN DOKKUM, W. Propriedades funcionais das fibras alimentares, amido resistente e oligossacarídeos In: COSTA, N.M.B.; ROSA, C.O.R. (Ed.) **Alimentos funcionais – benefícios para a saúde**. Viçosa. p.81-102. 2008.
- VAZ, N.P. **Alcalóides Esteroidais dos Frutos Maduros de *Solanum caavurana* Vell.** 2008, 84f. Dissertação (Mestrado em Química) Departamento de Química. Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2008.
- VICENTI, A. TOTEDA, F.; DI TURI, L.; COCCA, C.; PERRUCCI, M.; MELODIA, L.; RAGNI, M.; Use of sweet lupin (*Lupinus albus* L. var. Multitalia) in feeding for Podolian young bulls and influence on productive performances and meat quality traits. **Meat Science** v. 82 pp. 247–251, 2009.
- VOLEK, Z. & MAROUNEK, M. Effect of feeding growing–fattening rabbits a diet supplemented with whole white lupin (*Lupinus albus* cv. Amiga) seeds on fatty acid composition and indexes related to human health in hind leg meat and perirenal fat. **Meat Science**, v.87, p.40–45, 2011.
- YOSHIE-STARK Y.; BEZ J.; WADA Y.; WÄSCHE A. Funcional properties, lipoxigenase activity, and health aspects of *Lupinus albus* protein isolates. **J. agric. Food Chem.** v. 52 (25), p. 7681-9, 2004.

- WAESCHE, A.; MUELLER, K.; KNAUF, U. New processing of lupin protein isolates and functional properties. **Nahrung**, v.45 (6), p. 393-395, 2001.
- WANG, S.H.; BATISTA, G.S.; NASCIMENTO, T.P.; NASCIMENTO, K.O.; NASCIMENTO, M.R.F. Efeitos dos parâmetros de extrusão na absorção de água e absorção de gordura de farinhas extrusadas de trigo e soja. **Alim. Nutr.**, v.20 (4) p. 641-647, 2009.
- WHITE, C.E.; CAMPBELL, D.R.; MCDOWELL, L.R. Effects of dry matter content on trypsin inhibitors and urease activity in heat treated soya beans fed to weaned piglets. **Animal Feed Scie.Techn.**, v. 87, (1-2), p. 105-115, 2000.
- WIRIYAUMPAIWONG, S.; SOPONRONNARIT, S.; PRACHAYAWARAKORN, S. Comparative study of heating processes for full-fat soybeans. **J. Food Engineering**, v. 65, p. 371-382, 2004.
- ZDUNCZYK, Z. , JUSKIEWICZ, J.; FREJNAGEL, A.; GULEWICZ,K. Influence of alkaloids and oligosaccharides from white lupin seeds on utilization of diets by rats and absorption of nutrients in the small intestine. **Animal Feed Scie. Techn.**, v. 72, p.143–154, 1998.

TRABALHO EXPERIMENTAL

APRESENTAÇÃO

A parte experimental deste estudo está apresentada na forma de capítulos independentes, compreendendo um total de três.

No primeiro capítulo, foi conduzido um estudo visando caracterizar a composição química de amostras de tremoço. As amostras estudadas foram grão de tremoço cru, duas farinhas obtidas após tratamento térmico do grão e uma conserva de tremoço comercial. Realizou-se ainda a determinação dos fatores antinutricionais, dentre eles a detecção de alcaloides e quantificação de inibidores de tripsina. Ao final, foi realizado um estudo comparativo entre as amostras com o objetivo de avaliar se o tratamento térmico aplicado alterou a composição química dos grãos de tremoço.

No segundo capítulo, foi determinado o perfil de ácidos graxos das amostras estudadas. Neste estudo, foram empregadas 2 métodos de extração lipídica e de esterificação dos lipídios extraídos a fim de se avaliar se as condições analíticas empregadas no preparo das amostras interferem no perfil lipídico do grão de tremoço, das farinhas tratadas termicamente e da conserva de tremoço.

No capítulo final, grãos de tremoço cru juntamente com quirera de arroz foram submetidos a um processo de extrusão termoplástica, com o objetivo de produzir extrusados que possam ser introduzidos na alimentação, ou utilizados como matéria-prima na incorporação de alimentos instantâneos. Neste capítulo foram determinados os teores de açúcares totais, açúcares redutores, amido e perfil de aminoácidos dos grãos de tremoço cru além da granulometria de ambas as matérias-primas (quirera de arroz e tremoço moído). Já com as amostras de extrusados foi possível realizar análises para determinar os índices de expansão, índice de solubilidade em água, índice de absorção de água, colorimetria, textura e microscopia óptica.

CAPÍTULO 1

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DE GRÃOS E FARINHAS DE TREMOÇO BRANCO (*Lupinus albus*)

RESUMO

Este trabalho objetivou produzir farinhas empregando tratamento térmico aos grãos de tremoço (farinha 1: 100°C/60min; farinha 2: 150°C/30min), caracterizá-las quimicamente e compara-las com grãos de tremoço cru e uma conserva de tremoço adquirida no comércio. Para isso foi determinado a composição centesimal e a presença dos fatores antinutricionais como inibidores de tripsina e detecção de alcaloides em todas as quatro amostras. Os resultados em base seca apresentaram elevados teores de proteínas (34,14%), lipídeos na proporção de 10,1%, 9,9%, 11,5% e 8,0% respectivamente para o tremoço cru, farinha 1, farinha 2 e conserva de tremoço, além de altas concentrações de fibra alimentar (34%). A conserva foi a amostra que apresentou menores teores de lipídeos, fibras solúveis, e minerais, à exceção do sódio, cujo teor foi maior em relação às demais (451,9mg/kg e 8744,0mg/kg respectivamente para tremoço cru e conserva). Os inibidores de tripsina foram determinados em quantidades traço e os alcaloides foram detectados em todas as amostras estudadas. Pode-se concluir que o tratamento térmico a seco não reduziu os teores de fatores antinutricionais, mesmo estes tendo sido encontrados em quantidade traço, mas também não afetou o teor de nutrientes do grão. No entanto, a conserva de tremoço apresentou menores teores de nutrientes e minerais e maiores de sódio comprometendo a qualidade nutricional deste alimento.

Palavras chave: tremoço branco, fatores antinutricionais, tratamento térmico, composição centesimal.

1. INTRODUÇÃO

O tremçoço (*Lupinus ssp.*) cultivado por cerca de 4000 anos é uma leguminosa cujo interesse remota desde os primórdios da civilização. Apresenta cerca de 400 espécies catalogadas sendo todas elas provenientes do Mediterrâneo e da região Andina (CROWLING, 2001).

Atualmente, esta leguminosa tem sido empregada principalmente nos setores de zootecnia e agronomia, sendo utilizada como adubo verde, devido à sua grande capacidade de fixar nitrogênio no solo, melhorando a qualidade da terra, além de serem pouco exigentes quanto à fertilidade durante o plantio e terem excelente adaptação ao solo brasileiro (BARRADAS *et al.*, 2001). Entretanto, tem sido observada crescente participação do tremçoço no cenário internacional como potencial ingrediente para produção de alimentos direcionados ao consumo humano, como shakes, pães, cookies e aperitivos (*snacks*) (HALL *et al.*, 2004; MARTINEZ-VILLALUENGA *et al.*, 2006; POLLARD *et al.*, 2002; RIBEIRO, 2006). O tremçoço destaca-se dentre as leguminosas por possuir um grão com maior percentual de proteínas, elevadas quantidades de lipídeos, inferior apenas à soja (NEVES *et al.*, 2001; 2006), além de ser rico em vitaminas e minerais (MARTINEZ-VILLALUENGA *et al.*, 2009), e fibras alimentares (VAN BARNEVELD *et al.*, 1999).

Apesar da elevada qualidade nutricional desta leguminosa, há uma dificuldade de se inserir o tremçoço na alimentação humana devido ao fator cultural e à presença de fatores antinutricionais como alcaloides e inibidores de tripsina (BOTARO, 2010) que interferem negativamente na biodisponibilidade e digestibilidade protéica, sendo, necessário portanto, a inativação destes compostos antes do consumo do grão (MONTEIRO *et al.*, 2010).

A aplicação de calor consiste em um dos principais métodos empregados para eliminar tais fatores antinutricionais visto que os mesmos são termolábeis (MACHADO *et al.*, 2008; MARTINO *et al.*, 2007; WHITE *et al.*, 2000; WIRIYAUMPAIWONG *et al.*, 2004). Entretanto, se o tratamento térmico for inadequado e excessivo haverá perda da qualidade nutritiva das leguminosas, uma vez que elevadas temperaturas podem provocar reações químicas com alguns aminoácidos, afetando sua absorção e solubilidade (MONTEIRO *et al.*, 2010).

Assim, este trabalho teve como objetivo produzir farinhas de tremçoço branco tratadas termicamente visando a inativação dos fatores antinutricionais, caracterizá-las

quimicamente e comparar sua qualidade nutricional com grãos de tremoços cru e uma conserva de tremoço adquirida no comércio.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL

Para a realização de todas as análises foram utilizados grãos de tremoço branco (*Lupinus albus*), fornecidos pelo Instituto Agrônômico do Paraná – IAPAR e a conserva de tremoço adquirida em comércio local, observando-se sempre o mesmo lote de produção. Não foi possível identificar os cultivares das amostras utilizadas neste trabalho.

2.2. MÉTODOS

2.2.1 Preparo das farinhas de tremoço

Inicialmente, a fim de se inativar os fatores antinutricionais, empregou-se o tratamento térmico descrito por Monteiro *et al.* (2010), com algumas modificações introduzidas no Laboratório de Bromatologia – Unidade de Pesquisa em Análise de Alimentos (UPAA) da Faculdade de Farmácia da UFMG, relacionadas ao método de aplicação de calor. Para o preparo da Farinha 1, um quilo do grão integral foi distribuído em uma bandeja de aço inox e aquecido em estufa com circulação de ar (Quimis, Q31M242, Diadema, Brasil) a 100 °C durante 60 min. Já para a obtenção da Farinha 2 empregou-se, em um quilo de amostra, o binômio temperatura x tempo de 150 °C por 30 min, em mesmo equipamento. Após esta etapa, os grãos foram resfriados a 25 °C e submetidos ao processo de moagem em moinho de facas (Tecnal, TE 020, Piracicaba, Brasil) com posterior definição da granulometria de até 42 mesh por tamis, (tamis 42 mesh, Bertel Industria Metalurgica Ltda, Caieiras, Brasil). A moagem dos grãos crus de tremoço foi realizada sob as mesmas condições. As amostras foram armazenadas em frascos de vidro devidamente identificados e hermeticamente fechados, sob congelamento a -80 °C (Ultra freezer CL374-80V Sá ColdLab, Brasil) até o momento das análises.

2.2.2 Preparo da amostra de conserva de tremoço

Os frascos de conserva de tremoço foram higienizados em solução de hipoclorito de sódio 200 ppm e após abertura, verteu-se o produto sob o tamis (tamis 42 mesh, Bertel Indústria Metalúrgica Ltda, Caieiras, Brasil) para a retirada da maior parte da salmoura da conserva. Os grãos foram triturados em processador (Arno, WWBC, São Paulo, Brasil) e armazenados em frascos de vidro devidamente identificados e hermeticamente fechados, sob congelamento a -80 °C em mesmo freezer até o momento das análises.

2.2.3 Determinação da composição química do grão, farinhas e conserva de tremoço

As análises da composição química das amostras foram realizadas de acordo com os métodos descritos na AOAC (2007). O teor de umidade foi determinado pelo método de secagem em estufa ventilada (Quimis, Q31M242, Diadema, Brasil) a 105 °C, até peso constante. A determinação dos lipídeos totais foi realizada em extrator de matéria graxa (Quimis, Q308G26, Diadema, Brasil), empregando-se éter etílico como solvente extrator (IAL, 1985). Para a quantificação das proteínas totais, foi empregado o digestor (Gerhardt Bonn, TR, Alemanha) e destilador de proteínas (Marconi, MA036, Piracicaba, Brasil), seguindo a técnica de micro-kjedahl, empregando-se o fator de conversão de nitrogênio de 6,25. Na análise do teor de cinzas totais, as amostras foram incineradas em mufla (Coel, UL 1400, São Paulo, Brasil) a 550 °C. A determinação do teor de fibra alimentar solúvel e insolúvel foi realizada empregando-se a digestão enzimática (alfa-amilase termorresistente, pepsina e pancreatina) com posterior filtração e precipitação da fibra solúvel com álcool etílico. Os cadinhos utilizados na filtração foram secos em estufa ventilada (Quimis, Q31M242, Diadema, Brasil) a 105 °C overnight e pesados. Parte dos cadinhos foi incinerada em mufla (Coel, UL 1400, São Paulo, Brasil) a 550 °C e parte foi utilizada para determinação das proteínas não digeridas empregando-se a técnica de micro-kjedahl nas mesmas condições descritas acima (PROSKY *et al.*, 1992). O teor de carboidratos foi calculado por diferença percentual, subtraindo-se do total da soma de umidade, cinzas, lipídeos, proteínas e fibra alimentar.

2.2.4. Determinação de minerais

Os minerais analisados foram o cromo, ferro, manganês, sódio, cobre e zinco, utilizando-se para isto a metodologia descrita no Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2004). As análises foram realizadas no laboratório de contaminantes metálicos da Fundação Ezequiel Dias (FUNED). Inicialmente, construiu-se uma curva analítica para cada mineral partindo-se de uma solução padrão estoque de concentração 1000 mg/L (Sigma-Aldrich, St.Louis, MO), que foi utilizada para o preparo das soluções padrão de trabalho, empregadas nas concentrações de 1,00; 2,00; 5,00; 7,50 e 10,00 mg/L em solução aquosa acidificada a 10% (v/v) com ácido clorídrico. As soluções padrão dos minerais foram analisadas diretamente em espectrômetro de emissão óptica por plasma de argônio indutivamente acoplado (ICP-OES) (Perkin Elmer, mod. Optima2000DV – amostrador, mod. As90plus), na configuração Axial, 1400 kw de potência de radiofrequência, 0,60 L min⁻¹ de vazão de gás. Para a verificação da linearidade da resposta analisou-se os valores de R obtidos para cada curva de calibração construída para os minerais estudados.

As amostras de tremoço foram submetidas a um tratamento químico e térmico no intuito de preparar as cinzas e promover maior liberação dos elementos minerais na análise por ICP-OES. Assim, pesou-se, em triplicata, 2,5 g de cada amostra em balança analítica (Shimadzu, AUX 220 – com precisão de 0,01 mg), em cadinhos de porcelana previamente incinerados em mufla a 550 °C (Ney Vulcan3 – 1750 – WF tecnologia), dessecados e tarados. Os cadinhos contendo as amostras foram levados para queima direta na chapa aquecedora (Nova Técnica, modelo: NT339, Brasil) a 200 °C até completa carbonização do material. Posteriormente, os cadinhos foram levados à mufla para a incineração, obedecendo-se a rampa de aquecimento da mesma (5° C/min nas primeiras 2 h até atingir a temperatura de 250 °C e 10 °C/min nas 5 h posteriores alcançando a temperatura máxima de 530 °C). Após este período, as amostras foram retiradas da mufla, resfriadas em dessecador, e adicionadas de 2 mL de ácido nítrico com baixo teor de metais (Vetec Química Fina, Rio de Janeiro, Brasil). Após completa evaporação do reagente em placa aquecedora, estes cadinhos de porcelana retornaram para a mufla, sendo incinerados a 375 °C por 1 h. Posteriormente, realizou-se a dissolução dos elementos minerais presentes nas amostras. Para tal, adicionou-se, em cada cadinho, 1 mL de HCl concentrado com

baixo teor de metais (Vetec Química Fina, Rio de Janeiro, Brasil) e 2 mL de água MiliQ (Purificador de Água Millipore, modelo: RiOs e Gradiente, Brasil), aquecendo-se ligeiramente em placa aquecedora a 60 °C para facilitar a solubilização das amostras, transferindo-as para um balão volumétrico, completando-se o volume para 50 mL com água MiliQ. A leitura no ICP-OES foi realizada diretamente a partir deste balão, sendo que para cada mineral foram realizadas diluições diferentes. As diluições variaram de 2 a 500 vezes, de acordo com a concentração de cada mineral presente na amostra e tinham como objetivo fazer com que os valores das leituras encontrados estivessem dentro da curva padrão estabelecida.

2.2.5 Determinação da atividade inibitória de tripsina

A determinação da atividade inibitória de tripsina nas quatro amostras de tremoço foi determinada segundo metodologia proposta por Kakade *et al.* (1969) com algumas modificações.

Foi pesado 1 g de cada amostra em balança analítica (Shimadzu, AUX-220, Japão, precisão 10 mg-220 g). As amostras foram extraídas com 50 mL de solução de NaOH a 0,01 M durante 3 h em agitador magnético (Fisaton, 752A, Brasil) a temperatura ambiente. Após este período as amostras foram centrifugadas (Jouan, BR4i, França) a 5300 x g durante 20 min e o sobrenadante filtrado em papel de filtro qualitativo (J. Prolab, 150 mm). Após este procedimento, retirou-se 1 mL do filtrado com posterior diluição em 50 mL de solução tampão fosfato a 0,1 M, pH 7,6.

A partir desta diluição, foram recolhidas e transferidas alíquotas de 0,2 a 1,0 mL para tubos com tampa de rosca completando-se o volume para 1 mL com a solução de tampão fosfato a 0,1 M. Foram adicionados em cada tubo 1 mL de solução estoque de tripsina a 0,005% e 2 mL de solução de caseína a 2%, nesta ordem. Estes foram incubados em banho maria (Nova Ética, 314-8DN, Brasil) a 37 °C por 20 min, com posterior adição de 6 mL de solução de TCA a 5%. Os tubos ficaram em repouso por 1 h e o líquido presente nestes foi posteriormente filtrado. Realizou-se um teste em branco para todas as concentrações de filtrado utilizadas alterando-se apenas a ordem de adição da solução de TCA, seguindo a sequência: solução de tripsina, TCA e solução de caseína. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 280 nm (Espectrofotômetro Micronal, AJX-1900, São Paulo, Brasil).

Para a determinação da atividade inibitória da tripsina, construiu-se uma curva analítica com tripsina. Os valores obtidos foram utilizados para traçar a curva em

função da concentração de tripsina: pipetou-se, em triplicata 0,6 a 1,4 mL de solução de tripsina a 0,005% em tubos de plástico com tampa, completando-se o volume para 2 mL com solução tampão fosfato a 0,1M, pH 7,6. Adicionou-se 2 mL de solução de caseína a 2% e os tubos foram levados ao banho maria a 37 °C por 20 min. Após, adicionou-se 6 mL de solução de TCA a 5% em cada tudo, deixando-os em repouso por 1 h. Finalizando, as soluções contidas nos tubos foram filtradas e armazenadas para leitura posterior. Realizou-se um teste em branco para todas as concentrações de solução de tripsina alterando-se apenas a ordem de adição da solução de TCA, seguindo a sequência: solução de tripsina, TCA e solução de caseína. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 280 nm (Espectrofotômetro Micronal, AJX-1900, São Paulo, Brasil).

Para a determinação da expressão da atividade inibitória de tripsina padronizou-se que uma unidade de tripsina (UT) foi arbitrariamente definida como o aumento de 0,01 unidades de absorbância a 280 nm. A atividade inibitória de tripsina é definida como o número de unidades de tripsina inibidas (UTI).

2.2.6. Determinação de proteína solúvel

A UTI foi expressa pelo teor de proteína solúvel presente nas amostras. Para tal, a determinação de proteína solúvel foi feita segundo método de Lowry *et al.* (1951), modificado por Hartree (1972).

Uma alíquota de 1 mL do extrato proteico de cada amostra foi transferida para tubos de plástico com tampa de rosca com posterior adição de 0,9 mL de solução A (tartarato de sódio e potássio a 0,4% e Na₂CO₃ a 20%). Os tubos foram levados ao agitador de tubos por 1 min até homogeneização (Minishaker IKA- MS2, Estados Unidos da América) e depois ao banho-maria (Nova Ética, 314-8DN, Brasil) a 50 °C por 10 min. Após este período, os tubos foram resfriados e adicionado 0,1 mL de Solução B (tartarato de sódio e potássio a 1%, CuSO₄ a 1% e NaOH a 1 M) agitando no mesmo agitador de tubos. Os tubos ficaram em repouso por 10 min à temperatura ambiente. Depois deste período, adicionou-se 3 mL da Solução C (Água:Folin 15:1) seguindo-se de agitação vigorosa. Os tubos foram aquecidos em banho maria (Nova Ética, 314-8DN, Brasil) a 50 °C por 10 min, sendo que após o resfriamento da solução foi realizado a leitura a 650 nm, em espectrofotômetro (Espectrofotômetro Micronal, AJX-1900, São Paulo, Brasil) do teor de proteína solúvel presente nestas amostras.

Para a quantificação do teor de proteína solúvel foi construída uma curva analítica padrão baseada no teor de albumina bovina (BSA). O procedimento para o preparo das amostras contendo as soluções de BSA foi o mesmo descrito acima para as soluções proteicas, variando-se apenas o volume da solução de BSA acrescentada. Os valores obtidos foram utilizados para traçar a curva em função da concentração de BSA.

2.2.7. Extração e Detecção de alcaloides

Os alcaloides presentes nas amostras de tremoço foram extraídos segundo o procedimento preconizado na Monografia do boldo-do-chile (*Peumus boldus* Molina) da Farmacopéia Brasileira 5ª edição (FARMACOPÉIA, 2011).

Para tal, foram transferidos 0,5 g da amostra para um balão de 50 mL. Adicionou-se uma mistura de 1 mL de ácido clorídrico a 2 M e 20 mL de água ultra pura. Após homogeneização, a mistura foi aquecida em banho-maria, sob refluxo, durante 10 min. Após resfriada, a mesma foi filtrada e adicionou-se 2 mL de NH₄OH a 6 M ao filtrado.

Em um funil de separação, o filtrado foi extraído duas vezes com 20 mL de éter etílico em cada vez, com agitação moderada, para evitar a formação de emulsão. Em seguida, a solução etérea, contendo os alcalóides, foi recolhida e o solvente evaporado.

Para a detecção dos alcaloides presentes nas amostras de tremoço (grão, farinha 1 e 2 e conserva) foi empregada a técnica de Cromatografia em Camada Delgada (CCD) (FARMACOPÉIA, 2011).

Os extratos obtidos anteriormente foram dissolvidos em 1 mL de metanol. Uma pequena alíquota (15 µl) foi aplicada em uma placa de alumínio coberta com sílica gel. Essa placa foi colocada em uma cuba cromatográfica, contendo a mistura de eluentes: diclorometano: acetona: dietilamina (60:40:02). Após a eluição, cada placa foi borrifada e revelada com reagente de Dragendorff e seca ao ar frio.

2.3. Análise estatística

Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Utilizou-se a análise de variância (ANOVA fator único) e o teste de Tukey a 5% de probabilidade para comparar os valores encontrados em todas as análises. A curva padrão de tripsina foi obtida por

análise de regressão empregando-se cinco concentrações (PIMENTEL-GOMES, 1990).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados da composição química das amostras analisadas, expressos em base seca, estão apresentados na Tabela I.1. Os teores de umidade determinados para o grão cru, farinha 1, farinha 2 e conserva de tremoço foram de 8,2, 7,6, 6,6 e 69,3%, respectivamente, sendo que entre os três primeiros não foram encontradas diferenças significativas. Pode-se observar que o tremoço em conserva apresentou valores significativamente maiores para umidade, o que já era esperado pelo fato de que a cocção do grão foi realizada em calor úmido, no qual o vapor hidrata o alimento abrandando as fibras. Neste tipo de processamento, pode haver ainda perda por dissolução de alguns componentes causando importantes alterações no valor nutritivo do produto. A retenção destes nutrientes está diretamente ligada à quantidade de água utilizada, bem como ao tempo de duração desse processo (PHILIPPI, 2008).

TABELA I.1

Composição química em base seca das amostras de tremoço (*Lupinus albus*)

Composição química	Tremoço cru	Farinha 1 (100°C/60min)	Farinha 2 (150°C/30min)	Tremoço em conserva
Lipídeos totais	10,16 ^{ab} ± 0,42	9,96 ^{ab} ± 0,16	11,59 ^a ± 0,10	8,06 ^b ± 0,41
Proteínas	33,81 ^a ± 1,65	35,30 ^a ± 0,41	33,22 ^a ± 0,54	34,26 ^a ± 1,93
Cinzas	2,71 ^b ± 0,07	2,76 ^b ± 0,06	2,75 ^b ± 0,04	7,86 ^a ± 0,26
Fibra alimentar	34,03 ^b ± 0,86	36,10 ^{ab} ± 0,25	34,78 ^{ab} ± 1,34	39,67 ^a ± 2,11
Carboidratos ¹	19,28	15,86	17,65	10,13

¹ O teor de carboidratos foi calculado por diferença. Valores médios ± desvio padrão (n = 3) com subscritos iguais abc na mesma linha não diferem significativamente (p ≤ 5; teste de Tukey).

Em relação aos teores de lipídeos, não foram encontradas diferenças significativas entre as amostras de grão cru, farinha 1 e farinha 2, apresentando teor médio de 10,6%. Ressalta-se ainda, que os valores acima descritos estão de acordo com o apresentado na Tabela Brasileira de Composição Centesimal (TACO, 2011), que é de 10,3% para o grão de tremoço branco integral.

Botaro (2010) encontrou valores semelhantes de lipídeos (11,4%) para a farinha integral de tremoço obtida a partir do grão de *L. albus*. Por outro lado, em um estudo

realizado por Erbas *et al.*, (2005), o teor de lipídeos determinado para o grão cru de tremoço branco (5,9%) foi inferior ao apresentado no presente trabalho.

Em relação à análise de cinzas, o maior teor foi encontrado para a amostra de tremoço em conserva (7,9%), sendo que para as demais amostras, o valor médio foi de 2,7%, não tendo sido observadas diferenças significativas entre as mesmas. Este resultado era esperado já que no processo de imersão em salmoura, o produto a ser processado é submerso em solução salina saturada, no qual, tanto o sal quanto a água da salmoura, ao longo do armazenamento do produto, são absorvidos pelo alimento (EVANGELISTA, 2001).

Erbas *et al.* (2005), ao avaliarem os teores de cinzas do tremoço branco cru encontrou valores que corroboram com os dados encontrados no presente trabalho para o grão cru (2,5%). No entanto, Ribeiro (2006) e Botaro (2010) ao estudarem a mesma espécie de tremoço (*Lupinus albus*) encontram valores superiores de cinzas (3,2% e 3,2% respectivamente).

Na análise de quantificação de proteínas, não foram encontradas diferenças significativas entre as amostras estudadas. O grão cru de tremoço apresentou um teor protéico de 33,8%, conteúdo similar ao encontrado em estudo de Erbas *et al.* (2005) (32,2%) e menor do que o encontrado por Mubarak (2001) (34,9%) e por Sujak *et al.* (2006) (36,3%) para a mesma espécie de tremoço. Todos os estudos relatados apresentaram dados de tremoço cru integral, utilizando a mesma metodologia no presente trabalho.

Para viabilizar a comparação da amostra de conserva de tremoço com dados disponíveis na tabela TACO (2011), os teores da composição centesimal desta amostra foram transformados em base úmida. Com isso pôde-se observar 1,30%, 2,42% e 10,53% de lipídeos totais, cinzas e proteínas respectivamente para a conserva de tremoço. Ao comparar estes dados com os da tabela TACO (2011) observa-se que os teores aqui encontrados foram inferiores aos encontrados pela TACO (3,8; 5,0 e 11,1% para lipídeos totais, cinzas e proteínas respectivamente).

Segundo a Portaria nº 27 de 1998 da ANVISA (BRASIL, 1998), o tremoço cru e as duas farinhas obtidas a partir do tratamento térmico dos grãos podem ser considerados alimentos com alto teor de proteínas (BRASIL, 1998). De acordo com a classificação adotada pela legislação, um alimento que atinja no mínimo 20% da DRI de referência por 100 g de produto sólido é considerado alimento com alto teor proteico (BRASIL, 1998). A recomendação diária para proteína para um adulto saudável é de 56

g por dia (IOM, 2005), assim 20% deste valor equivale a 11,2 g. No presente estudo, em 100g de tremço encontrou-se aproximadamente 32 g de proteína.

Na Tabela I.2 estão apresentados os dados dos teores de fibra alimentar total e suas frações solúvel e insolúvel presentes nas quatro amostras estudadas.

TABELA I.2

Teores de fibras solúvel, insolúvel e alimentar total presentes em base seca presente nas quatro diferentes amostras de tremço (*Lupinus albus*)

Fibras	Tremço cru	Farinha 1 (100°C/60min)	Farinha 2 (150°C/30min)	Tremço em conserva
Fibra alimentar	34,03 ^b ± 0,86	36,10 ^{ab} ± 0,25	34,78 ^{ab} ± 1,34	39,67 ^a ± 2,11
Fibra insolúvel	29,72 ^a ± 2,4	29,50 ^a ± 0,32	28,27 ^a ± 0,93	30,91 ^a ± 1,80
Fibra solúvel	4,24 ^a ± 1,77	6,60 ^a ± 0,46	6,50 ^a ± 0,79	8,7 ^a ± 0,73

Valores médios ± desvio padrão (n = 3) com subscritos iguais abc na mesma linha não diferem significativamente (p ≤ 5; teste de Tukey).

As amostras de tremço apresentaram elevadas quantidades de fibra alimentar, com teores variando de 34,9% a 39,7% para o grão e suas farinhas e a conserva, respectivamente. Em todas as amostras analisadas, houve um predomínio de fibra alimentar do tipo insolúvel (29,6%), não tendo sido encontradas diferenças significativas entre as mesmas. O teor médio de fibra solúvel encontrado para as quatro amostras de tremço foi de 6,5%, sendo que tais valores não diferiram estatisticamente entre si.

De acordo com a TACO (2011) o teor de fibra alimentar para tremço cru é 32,2%, corroborando com os dados encontrados no presente trabalho.

Em um trabalho realizado por Mohamed & Rayas-Duarte (1995) analisando amostras de tremço *L. albus*, foram encontrados valores inferiores de fibra insolúvel e solúvel (21,5% e 2,2% respectivamente) quando comparado ao apresentado neste estudo. Já Ribeiro (2006) determinou para a farinha integral de tremço branco, valores maiores de fibra alimentar total (40,3%) aos aqui reportados.

Ao se comparar o teor de fibra alimentar encontrado para o tremço branco com outras leguminosas, pode-se dizer que o tremço apresentou o maior teor de fibras, visto que o feijão carioca cru apresentou 18,4%, o grão de bico cru, 12,4%, a lentilha crua 16,9% e farinha de soja 20,2% (TACO, 2011).

Devido ao elevado teor de fibras alimentares presente no tremço cru e em suas duas farinhas, os mesmos podem ser considerados alimentos com alto teor de fibras

de acordo com a Portaria nº 27 de 1998 da ANVISA (BRASIL, 1998). Tal Portaria estabelece que a presença mínima de 6 g de fibra alimentar total por 100 g de alimento o caracteriza como alto teor de fibra alimentar. Neste trabalho foi encontrado um teor maior que 30 g de fibra alimentar por 100 g de tremoço para todas as amostras estudadas, sendo então todas as amostras consideradas alimentos com alto teor de fibras.

As fibras alimentares tem recebido bastante atenção nas últimas décadas devido às suas importantes funções no organismo humano. Estas apresentam capacidade de alterar o trânsito intestinal, reduzindo metabólitos tóxicos, controlando e reduzindo a diarreia ou constipação intestinal e alterando a microflora colônica. Além disso, diminuem o risco de câncer de cólon, reduzem os níveis de colesterol e controlam a pressão arterial reduzindo o risco de obesidade e diabetes insulino-dependente e a intolerância à lactose (ANJO, 2004; FONTANARI, 2010). Segundo Melo & Laaksonen (2009) evidências convincentes, a partir de estudos epidemiológicos, suportam um papel para os produtos alimentícios à base de grãos integrais e para as fontes de fibras insolúveis na prevenção do Diabetes Melitus tipo 2.

As fibras solúveis tendem a formar géis em contato com água, aumentando a viscosidade dos alimentos parcialmente digeridos no estômago. Tais fibras diminuem a absorção de ácidos biliares e têm atividades hipocolesterolêmicas. Quanto ao metabolismo lipídico, parecem diminuir os níveis de triglicerídeos, colesterol e reduzir a insulinemia (MORAES & COLLA, 2006).

Já as fibras insolúveis permanecem intactas através de todo o trato gastrointestinal e apresentam como funções funcionais o incremento do bolo fecal e o estímulo da motilidade intestinal, o aumento da excreção de ácidos biliares e propriedades antioxidantes e hipocolesterolêmicas (MORAES & COLLA, 2006).

Quanto aos minerais, o teor de sódio encontrado foi de 451,9 mg/kg, 478,5 mg/kg, 496,6 mg/kg e 8744,0 mg/kg respectivamente para as amostras de tremoço cru, farinha 1, farinha 2 e tremoço em conserva. As três primeiras amostras não apresentam diferenças significativas entre si, tendo apresentado valores médios de 475,7 mg/kg. Já a conserva de tremoço apresentou teores significativamente maiores de sódio quando comparado às demais amostras (8744,0 mg/kg). Este elevado teor justifica-se pelo processo tecnológico aplicado à amostra, no qual o alimento é comercializado imerso em salmoura.

Não há limitação legal para o teor de sal que deve ser incorporado aos produtos alimentícios, este limite é exercido pela tolerância do paladar humano à concentração

salina (1,5 a 2,5% de NaCl). Assim, o fabricante deve controlar o teor de sal no produto, com o objetivo de atender as exigências do consumidor (EVANGELISTA, 2001).

A influência do cloreto de sódio (NaCl) na pressão arterial aumenta com a idade, e, no caso de indivíduos normotensos, com o histórico familiar de hipertensão. Embora presente naturalmente em diversos alimentos, em quantidades que atendam às recomendações humanas, a maior parte do sódio da dieta é proveniente dos compostos sódicos adicionados no processamento dos alimentos (RIQUE, *et al.*, 2002) ou, em menor escala, do sal de mesa. A WHO/FAO (2003) recomenda uma ingestão diária menor que 5 g de cloreto de sódio, o que representa 2.000 mg de sódio diariamente. Assim deve-se optar por alimentos *in natura* com baixo teor de sódio em substituição àqueles alimentos processados com alto teor de sódio como conservas, enlatados e embutidos.

A Tabela I.3 apresenta os teores de microminerais em mg/kg encontrados nas quatro amostras estudadas.

TABELA I.3

Teores de microminerais (mg/kg) em base seca em quatro diferentes amostras de tremoço (*Lupinus albus*)

Micro – minerais	Tremoço cru	Farinha 1 (100°C/60min)	Farinha 2 (150°C/30min)	Tremoço em conserva
Cromo	0,53 ^a ± 0,08	0,52 ^a ± 0,07	0,58 ^a ± 0,14	0,31 ^b ± 0,05
Cobre	13,89 ^a ± 0,56	12,99 ^a ± 1,40	12,89 ^a ± 0,15	4,05 ^b ± 0,52
Ferro	42,61 ^a ± 5,14	30,71 ^{ab} ± 4,51	27,08 ^{ab} ± 0,66	16,71 ^b ± 1,04
Manganês	1679,98 ^a ± 14,14	1893,31 ^{ab} ± 64,48	1759,98 ^b ± 77,62	70,78 ^c ± 10,09
Níquel	0,66 ^a ± 0,07	0,62 ^a ± 0,79	0,80 ^a ± 0,13	0,03 ^b ± 0,01

Valores médios ± desvio padrão (n = 3) com subscritos iguais abc na mesma linha não diferem significativamente (p ≤ 5; teste de Tukey).

O tremoço em conserva apresentou menores teores de microminerais. Fato este que se deve provavelmente à migração destes componentes para a água de cozimento dos grãos, durante o preparo da conserva (CIABOTTI *et al.*, 2006).

Em relação aos teores de cromo, cobre, ferro, manganês e níquel não foram encontradas diferenças significativas entre as amostras de tremoço cru, farinha 1 e farinha 2, tendo apresentados valores médios de 0,54, 13,25, 33,46, 1777,75, 0,69 mg/kg respectivamente.

Não foi detectada presença de chumbo nas amostras estudadas. No entanto, foi encontrada uma quantidade traço de cádmio apenas para a amostra de conserva de tremoço (média de 0,16 mg/kg).

Ao comparar estes resultados com os apresentados na TACO (2011) pode-se perceber que o tremoço em conserva também apresentou teores significativamente menores de microminerais. Nesta tabela, grãos crus de tremoço apresentam 0,79 mg/kg de cobre e 2,8 mg/kg de ferro, enquanto que a conserva apresentou para os mesmos minerais respectivamente, 0,27 mg/kg e 0,3 mg/kg.

Os elementos minerais possuem papéis essenciais no corpo humano, inclusive como íons dissolvidos em fluidos corporais e como constituintes de moléculas essenciais. Os íons nos fluidos corporais regulam atividades de muitas enzimas, mantêm o equilíbrio ácido-base e a pressão osmótica, facilitam a transferência, pela membrana, de nutrientes essenciais e outras moléculas. Em alguns casos, os íons minerais são constituintes estruturais dos tecidos corporais extracelulares, tais como ossos e dentes (MAHAN E ESCOTT-STUMP, 2005).

Foram encontrados apenas quatro trabalhos na literatura que avaliaram a presença de minerais em tremoço branco. De todos os minerais analisados nestes trabalhos, apenas alguns foram iguais aos determinados neste presente estudo.

Moss *et al.* (2001) encontraram para o tremoço branco cru, 200 mg de sódio em 1 kg de amostra analisada, valor este menor quando comparado ao encontrado neste trabalho (451,9 mg/kg).

Já Truco *et al.* (1993) ao determinar os teores de cobre e manganês em amostras de mesma espécie encontraram respectivamente 0,11 mg/kg e 32,7 mg/kg. Tais valores também se mostraram inferiores ao presente trabalho, no qual foram encontrados para os mesmos minerais teores de 13,8 e 1678,9 mg/kg respectivamente.

Em estudo de Tizazu & Emire (2010) o teor de ferro encontrado foi 1,25 mg/kg de tremoço branco, sendo tal valor inferior ao encontrado neste estudo (42 mg/kg).

Os valores encontrados para os minerais cobre, ferro e manganês em um estudo de Porres *et al.* (2007) foram respectivamente de 0,07 mg/kg, 0,38 mg/kg e 0,9 mg/kg.

Todos os dados de minerais encontrados na literatura foram inferiores aos resultados aqui encontrados. No entanto, deve-se levar em consideração que as regiões e solos, além dos tipos de cultivares variam de um estudo para o outro.

Acrescenta-se também que não foram encontrados dados na literatura relacionados à composição centesimal da conserva de tremoço.

De acordo com a Portaria nº 27 de 1998 da ANVISA (BRASIL, 1998), e com os teores de minerais encontrados, tanto o tremoço cru quanto as duas farinhas tratadas termicamente são classificados como alimentos com alto teor de ferro e teor baixo de sódio. A Portaria declara alimentos com alto teor de ferro aqueles que apresentam em sua composição no mínimo 30% da DRI de referência em 100 g de alimento sólido. A recomendação diária de ferro para um homem adulto é de 6 mg de ferro por dia (IOM, 2001). Assim 30% da recomendação de ferro são 2,4 mg. A média de ferro encontrado para as amostras de tremoço cru, farinha 1 e farinha 2 é de 3,3 mg de ferro em 100 g de amostra. Logo estas três amostras são considerados alimentos com alto teor de ferro.

Além disso, para ser considerado alimento com baixo teor de sódio, esta mesma Portaria declara um teor menor que 120 mg/100 g de produto (BRASIL, 1998). Em todas as amostras estudadas, com exceção da amostra conserva de tremoço, a média do teor de sódio encontrado foi de 47 mg de sódio por 100 g de amostra.

A análise criteriosa dos dados obtidos na determinação da composição química das amostras permitiu a observação de que as amostras submetidas ao tratamento térmico não sofreram alteração significativa nas análises realizadas quando comparadas ao grão cru, ou seja, o calor seco aplicado aos grãos não foi excessivo a ponto de alterar a composição nutricional dos mesmos.

Ao analisar tais dados encontrados e compará-los com dados encontrados na literatura, observam-se grandes variações entre os mesmos. Tais diferenças, de acordo com RIBEIRO (2006) têm sido atribuídas ao solo, condições climáticas e técnicas agrônômicas utilizadas. Em estudo conduzido por Huyghe (1997), concluiu-se que o tamanho da área sobre a qual o tremoço é naturalmente distribuído, a diversidade de solo e condições climáticas resultam em uma ampla variabilidade intraespecífica para a maioria dos caracteres morfológicos, como tamanho dos grãos e sua composição química.

Os teores de inibidores de tripsina encontrados neste trabalho para as quatro amostras de tremoço foram apresentados como UTI (Unidades de Tripsina Inibidas)/mg de amostra e UTI/mg de proteína solúvel.

A Tabela I.4, apresenta o teor de proteína solúvel e número de UTI nas quatro amostras de tremoço branco (*Lupinus albus*).

TABELA 1.4

Teores de proteína solúvel (μm)/mg e unidades de tripsina inibidas por mg de proteínas solúveis (UTI/mg PTN) e mg de amostra (UTI/mg amostra) para as quatro amostras de tremoço estudadas

Amostras	μmPTN sol./mgPTN	UTI/mg PTN	UTI/mg amostra
Tremoço cru	430,69 ^{ab} \pm 2,1	8,7 ^a \pm 0,07	3,73 ^a \pm 0,03
Farinha 1 (100°C/60min)	501,68 ^a \pm 11,0	9,1 ^a \pm 0,8	4,55 ^a \pm 0,4
Farinha 2 (150°C/30min)	404,63 ^{ab} \pm 21,6	10,4 ^a \pm 0,7	4,21 ^a \pm 0,3
Conserva de tremoço	307,58 ^b \pm 5,0	5,0 ^b \pm 0,4	1,54 ^b \pm 0,1

Valores médios \pm desvio padrão (n = 3) com subscritos iguais abc na mesma coluna não diferem significativamente ($p \leq 5$; teste de Tukey). Miligrama de proteína solúvel = mgPTN; micrograma de proteína solúvel = μmPTN

De acordo com os dados apresentados na Tabela acima o teor de proteína solúvel foi maior na farinha 1. No entanto este valor não diferiu estatisticamente do teor encontrado para o tremoço cru e farinha 2, mas foi estatisticamente maior que o teor encontrado para a amostra conserva de tremoço. As demais amostras não diferiram entre sim.

Quanto aos valores de UTI/mg de proteína solúvel encontrados não houve diferenças significativas entre os valores para as três primeiras amostras (tremoço cru, farinha 1 e farinha 2) com média de 9,39 UTI/mg de proteína solúvel. No entanto a conserva de tremoço apresentou valores significativamente menores quando comparado com as demais amostras.

O mesmo pode ser observado para os valores de UTI/mg de amostras, no qual não foi encontrado diferença entre as amostras tremoço cru, farinha 1 e farinha 2. A conserva de tremoço apresentou teores significativamente menores UTI/mg amostra ao ser comparada às demais amostras.

A estabilidade térmica dos inibidores de tripsina é bastante variada, dependendo dentre outros fatores, da temperatura, duração e forma de aquecimentos, do tamanho

das partículas, do conteúdo de umidade, da conformação estrutural do inibidor (CARVALHO *et al.*, 2002).

A resistência oferecida pelos inibidores à inativação térmica pode ser devida à sua configuração compacta, como consequência do elevado número de ligações dissulfídicas nas suas moléculas (SGARBIERI & WHITAKER, 1982).

Em alguns cultivares de feijão a atividade dos inibidores pode ser destruída em 10 minutos a 120 °C, enquanto que em outros cultivares os inibidores podem ser detectados após 60 minutos de tratamento a 100°C (SGARBIERI & WHITAKER, 1982).

Em estudo realizado por Duarte *et al.* (2010) o tratamento térmico aquoso aplicado (30 min a 80 °C) em grãos de feijão preto não foi o suficiente para inativar os inibidores de tripsina.

Guillamón *et al.* (2008) avaliaram os teores de inibidores de tripsina em várias espécies de leguminosas e conclui que dentre todas as leguminosas o tremoço foi a que apresentou os menores teores de inibidores de tripsina, tendo o tremoço branco um teor de 4,25 UTI/mg proteína, corroborando com dados encontrados neste presente estudo. Ainda em estudo de Guillamón *et al.* (2008) foi encontrado para o grão de bico uma média de 111 UTI/mg proteína, para o feijão uma média de 363 UTI/mg, para a lentilha 36 UTI/mg proteína, para a fava 56 UTI/mg proteína e para a soja 702 UTI/mg proteína.

Ruiz-Lopez *et al.* (2000) encontraram para as espécies tremoço *L. exaltatus*, *L. reflexus* e *L. mexicanus* teores em torno de 2,05 a 1,12 UTI/mg de amostra, sendo tais valores considerados desprezíveis.

Carvalho *et al.* (2002) encontraram para duas variedades de soja crua valores entre 122 a 206 UTI/mg de amostra. Neste mesmo trabalho, após tratamento térmico em água fervente por 30 min, a atividade inibitória de tripsina das mesmas amostras foi totalmente inativada.

De acordo Miura *et al.* (2005) 43 UTI/mg amostra em cultivares de soja são considerados níveis normais de inibidores de tripsina. Além disso, teores entre 33 e 28 UTI/mg de amostra são considerados cultivares com baixa atividade inibitória de tripsina.

Pode-se dizer então que apesar da conserva ter apresentado teores significativamente menores de inibidores de tripsina quando comparada as demais amostras, todas as amostras estudadas apresentaram teores muito baixos de inibidores de tripsina.

Quanto a detecção de alcaloides, a confirmação da presença dos mesmos nas amostras estudadas está representada na Figura I.1.

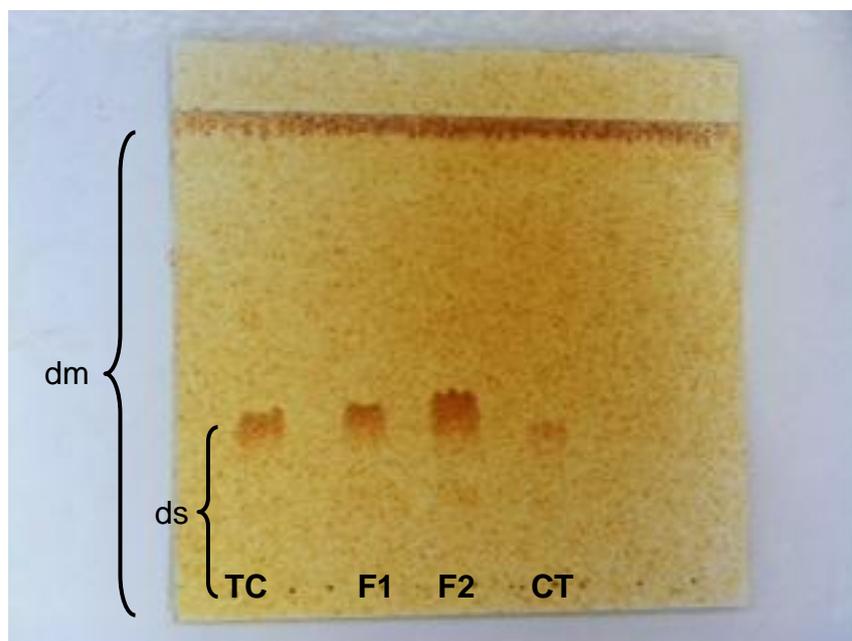


FIGURA I.1. Placa de alumínio coberta com sílica gel utilizada para CCD para detecção de alcaloides nas quatro amostras de tremço branco estudadas. Tremço cru = TC; Farinha 1 (100°C/60min) = F1; Farinha 2 (150°C/30min) = F2; Conserva de tremço = CT.

Observa-se de acordo com a placa que todas as amostras de tremço contém alcaloides. Foram observadas bandas de coloração marrom-alaranjada, após revelação com reagente Dragendorff, sendo a distância percorrida pela mancha desde a origem (ds) para cada amostra, de 2,8cm, 2,9cm, 3,3cm e 2,5 para o tremço cru, farinha 1, farinha 2 e conserva de tremço respectivamente. A distância percorrida pelo solvente deste a origem até a linha de chegada da fase móvel (dm) foi de 8,3. Logo, o valor de retenção ($R_f = ds/dm$) para cada amostra foi de 0,33; 0,34; 0,39 e 0,3 respectivamente para tremço cru, farinha 1, farinha 2 e conserva de tremço.

Pode-se observar ainda na Figura I.1 que a banda formada pela amostra de conserva de tremço apresentou uma tonalidade mais clara podendo ser indicativo de menor quantidade de alcaloide nesta amostra.

Assim, apesar da variedade *Lupinus albus*, também conhecido como tremço branco ou tremço doce, ter sofrido ao longo do tempo modificações para reduzir o teor de fatores antinutricionais e alcaloides, percebe-se pela análise acima que este grão, em sua composição, ainda apresenta alcaloides.

4. CONCLUSÃO

O tratamento térmico a seco, realizado no intuito de inativar fatores antinutricionais e tornar o grão de tremoço viável ao consumo humano, não afetou ou reduziu a qualidade nutricional do grão.

As farinhas produzidas foram consideradas segundo a legislação alimentos com alto teor de proteínas, fibras alimentares e ferro, e baixo teor de sódio. No entanto, o mesmo não pode ser observado para a conserva de tremoço, já que o calor úmido utilizado no tratamento térmico levou a perda de nutrientes e minerais e aumentou o teor de sódio devido à salmoura utilizada no processo comprometendo a qualidade nutricional do grão.

Em todas as amostras analisadas foram encontrados baixos teores de inibidores de tripsina, sendo tais valores não prejudiciais ao consumo humano. No entanto, foi detectada a presença de alcaloides em todas as amostras estudadas.

Assim, ao optar pela escolha de consumo das amostras estudadas, as farinhas de tremoço tratadas termicamente são nutricionalmente mais saudáveis que a conserva de tremoço.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANJO, D.F.C. Alimentos funcionais em angiologia e cirurgia vascular. **J. Vasc. Br.**, v.3 (2), p. 145-54, 2004.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 18th ed. Rev. 2. HORWITZ, W.; LATIMER JR., G.W. (Editors) Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2007.
- BARRADAS, C.A.A.; FREIRE, L.R.; ALMEIDA, D.L.; DE-POLLI, H. Comportamento de adubos verdes de inverno na região serrana fluminense. **Pesq. agropec. bras.** v. 36 (12), p. 1461-1468, 2001.
- BOTARO, J.A. **Otimização para a obtenção de extrato aquoso de tremoço branco (*Lupinus albus L.*) adicionado de suco de pitanga**. 2010. 101f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP. São Paulo, 2010.
- BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Regulamento Técnico referente à Informação Nutricional Complementar**. Portaria nº 27, de 13 de janeiro de 1998.
- CARVALHO, M.R.B., KIRSCHNIK, P.G.; PAIVA, K.C.; AIURA, F.S. Avaliação da atividade dos inibidores de tripsina após digestão enzimática em grãos de soja tratados termicamente. **Rev. Nutr.**, v.15, (3), p.267-272, 2002.
- CIABOTTI, S.; BARCELLOS, M.F.P.; MANDARINO, J.M.G.; TARONE, A.G. Avaliações químicas e bioquímicas dos grãos, extratos e tofus de soja comum e de soja livre de lipoxigenase. **Ciênc. agrotec.**, v. 30, (5), p. 920-929, 2006.
- CROWLING, W. **Lupins (*Lupinus L.*)**. In: Plant Genetic Resources of Legumes in the Mediterranean. MAXTED, N; BENNET, S.J. 2001. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 390p.
- DUARTE, M.S.L.; PEREIRA, C.A.S.; SOUZA, L.C.G. CONCEIÇÃO', L.L. Determinação da atividade in vitro de inibidores de tripsina em feijão(*phaseolus vulgaris* l.) preto, albumina e globulina. **Alim. Nutr.**, v. 21, (3), p. 373-376, jul./set. 2010.
- ERBAS, M.; CERTEL, M.; USLU, M.K. Some chemical properties of white lupin seeds (*Lupinus albus L.*) **Food Chem.** . v. 89, p. 341-345, 2005.
- EVANGELISTA, J. **Tecnologia de Alimentos**. Segunda Edição. Editora Atheneu, 688p. 2001.
- FARMACOPEIA BRASILEIRA, Brasil. 5 ed. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília: Anvisa, v.2, 546p., 2011.

- FONTANARI, G.G.; MOLINA, J.P.; BATISTUTI, J.; FERTONANI, F.L. Caracterização térmica das frações protéicas albumina e globulina de grão de bico (*Cicer arietinum*) e tremçoço (*Lupinus albus*). In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE ANÁLISE TÉRMICA E CALORIMETRIA**. 7, 2010, São Paulo. Resumo expandido. Araraquara: Universidade Estadual Paulista, 2010.
- GUILLAMON, E.; PEDROSA, M.M.; BURBANO, C.; CUADRADO, C.; SANCHEZ, M.C.; MUZQUIZ, M. The trypsin inhibitors present in seed of different grain legume species and cultivar. **Food Chem.**, v.107, p. 68-74, 2008.
- HALL R.S.; JOHNSON S.K.; BAXTER A.L.; BALL M.J. Lupin kernel fibre-enriched foods beneficially modify serum lipids in men. **Eur. J. Clin. Nutr.** v.59, p.325–33, 2004.
- HARTREE, E.F. Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. **Anal. Biochem.**, v. 45, p. 422-427, 1972.
- HUYGHE, C. White Lupin (*Lupin albus* L.). **Field Crops Research**, v. 53, p.147-160, 1997.
- IAL. Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz; **Métodos físicos e químicos para análise de alimentos**. Instituto Adolfo Lutz. 3ª edição. São Paulo; v. 1. p. 533, 1985.
- IAL (INSTITUTO ADOLFO LUTZ). **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. São Paulo. 2004. 4ª edição. 1032 p.
- IOM (INSTITUTE OF MEDICE), Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. **National Academy of Sciences**. 2001.
- IOM (INSTITUTE OF MEDICE), Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients). **National Academy of Sciences**. 2005.
- KAKADE, M.L.; SIMONS, N.; LIENER, I.E. An Evolutions of natural vs. Synthetic Substrates for Meansuring the antitryptic Activity of Soybean Samples. **Cereal Chemistry**, v.46, p.518-526, 1969.
- KINUPP, V.F. & BARROS, IBI. Teores de proteína e minerais de espécies nativas, potenciais hortaliças e frutas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 28 (4), p. 846-857, 2008.
- LOWRY, O.H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. **J. Biol. Chem.**, v. 193, p. 265-275, 1951.

- MACHADO, F. P. P. et al. Effects of heating on protein quality of soybean flour devoid of Kunitz inhibitor and lectin. **Food Chem.**, v. 107, p 649–655, 2008.
- MAHAN, L.K. & ESCOTT-STUMP. **Krause: Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. São Paulo: Editora Roca, 2005, 1242p.
- MARTÍNEZ-VILLALUENGA C.; FRÍAS J.; VIDAL-VALVERDE C. Functional lupin seeds (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) after extraction of α -galactosides. **Food Chem.** v.98, (2), p.291-9, 2006.
- MARTÍNEZ-VILLALUENGA, C.; ZIELINSKI, H.; FRIAS, J.; PISKULA, M.K.; KOZLOWSKA, H.; VIDAL-VALVERDE, C. Antioxidant capacity and polyphenolic content of high-protein lupin products. **Food Chem.** v.112 p. 84-88, 2009.
- MARTINO, H.S.D., et al. Zinc and iron bioavailability of genetically modified soybeans in rats. **J. Food Sci.**, v. 72 (9), p. 689-695, 2007.
- MELLO, V.D. & LAAKSONEN, D.E. Fibras na dieta: tendências atuais e benefícios à saúde na síndrome metabólica e no diabetes melito tipo 2. **Arq Bras Endocrinol Metab.** v. 53 (5), p. 509-518, 2009.
- MIURA, E.M.Y.; SILVA, R.S.S.F.; MIZUBUTI, I.Y.; IDA, E.I. Cinética de Inativação de Inibidores de Tripsina e de Insolubilização de Proteínas de Diferentes Cultivares de Soja. **R. Bras. Zootec.**, v.34 (5), p.1659-1665, 2005.
- MOHAMED, A.A. & RAYAS-DUARTE, P. Composition of *Lupinus albus*. **Cereal Chem.** v.72 (6), p. 643-647, 1995.
- MONTEIRO, M.R.P.; OLIVEIRA, C.T.; SILVA, L.S.; MENDES, F.Q.; SANT'ANA R.C.O. Efeito do tratamento térmico na digestibilidade, solubilidade e índice de atividade de urease e, tremoço (*Lupinus albus* e *Lupinus angulifolius*). **Alim. Nutr.**, Araraquara. v. 21 (3), p. 487-493, 2010.
- MORAES, F.P. & COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Rev. Eletron. Farmácia**, v. 3 (2), p.109-122, 2006.
- MOSS, A.R.; DEAVILLE, E.R.; GIVENS, D.I. The nutritive value for ruminants of lupin seeds from determinate and dwarf determinate plants. **Animal Feeds Science and Technology**, v.94, p. 187-198, 2001.
- MUBARAK, A. E. Chemical, nutritional and sensory properties of bread supplemented with lupin seed (*Lupinus albus*) products. **Nahrung**, v. 45 (4), p. 241- 245, 2001.
- NEVES, V.A.; LOURENÇO E.J.; SILVA, M.A. Extração, isolamento e fracionamento da proteína de tremoço (*Lupinus albus*) var. Multolupa. **Alim. Nutri.**, v.12, p. 115-130, 2001.

- NEVES, V.A.; SILVA, S.I.; SILVA, M.A. Isolamento da globulina majoritária, digestibilidade in vivo e in vitro das proteínas do tremço-doce (*Lupinus albus* L.) var. Multolupa. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.26(4), p.832-840, 2006.
- PHILIPPI, S.T. **Nutrição e Técnica Dietética**. Editora Manole. São Paulo. 424p. 2006.
- PIMENTEL-GOMES, P. **Curso Estatística de Estatística Experimental**. Piracicaba: Nobel S.A., 1990. 467p.
- POLLARD, N.J.; STODDARD, F.L.; POPINEAU, Y.; WRIGLEY, C.W.; MACRICHIE, F. Lupin flours as additives: dough mixing, bread making, mulsifying, and foaming. **Cereal Chem.**, Austrália, v.79, n.5, p. 662-669, 2002.
- PORRES, J.M.; ARANDA, P.; PEZ-JURADO, M.L.; URBANO, G. Nitrogen Fractions and Mineral Content in Different Lupin Species (*Lupinus albus*, *Lupinus angustifolius*, and *Lupinus luteus*). Changes Induced by the r-Galactoside Extraction Process. **J. Agric. Food Chem.** v.55, p.7445-7452, 2007.
- PROSKY *et al.*, 1992: Determination of insoluble and soluble dietary fiber in foods, food products:collaborative study. **J.AOAC Int.**, v.75, (2), p.306-7, 1992.
- RIBEIRO, A.G. **Desenvolvimento de produto tipo Shake utilizando farinha de tremço doce (*Lupinus albus*) cv multolupa, descorticada e desengordurada**. 2006, 84p.(Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2006.
- RIQUE, A. B. R.; SOARES, E. de A.; MEIRELLES, C. de M. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v. 8, (6), p. 244-254, 2002.
- RUIZ-LOEZ, M.A.; GARCIA-LOPEZ, P.M.; CASTANEDA-VAZQUEZ, H.; ZAMORA, N.J.F.; GARZOHN-DE LA MORA, P.; BANUELOS PINEDA, J.; BURBANO, C.; PEDROSA, M.M.; CUADRADO, C.; MUZQUIZ. M. Chemical Composition and Antinutrient Content of three *Lupinus* Species from Jalisco, Mexico. **J. Food Composit. Analysis** v. 13, p.193-199, 2000.
- SGARBIERI, V.C., WHITAKER, J.R. Physical, chemical, and nutritional properties of common bean (*Phaseolus*) proteins. **Advances in Food Research**, New York, v.28, p.93-166, 1982.
- SILVA, M.R. & SILVA, M.A.A.P. Fatores Antinutricionais: Inibidores de Proteases e Lectinas. **Rev. Nutr.**, v.13, n.1, p. 3-9, 2000.
- SUJAK, A.A; KOTLARZ, A.B.; WACLAW, S.C. Compositional and nutritional evaluation of several lupin seeds. **Food Chem.**, v.98 p.711-719, 2006.

- TACO, **Tabela Brasileira de Composição Química dos Alimentos**, Campinas: NEPA/UNICAMP. 4^a ed, 2011, 104p.
- TIZAZU, H & EMIRE, S.A. Chemical Composition, Physicochemical and Functional Properties of Lupin (*Lupinus albus*) seeds Grown in Ethiopia. **Afri. J. Food Agricult. Nutr. Develop.**, v.10 (8), p.3029-3046, 2010.
- TRUCO, L.C.; DONANGELO, C.M.; DUARTE, Y.A.; TAVARES, C.L. Phytic acid and selected mineral composition seeds from wild species and cultivated varieties of lupin. **Food Chem.**, v. 47, p. 391-394, 1993.
- VAN BARNEVELD D.R.J. Understanding the nutritional chemistry of lupin (*Lupinus* spp.) seed to improve livestock production efficiency. **Nutrition Research Reviews** v.12, 1999.
- WHITE, C.E.; CAMPBELL, D.R.; MCDOWELL, L.R. Effects of dry matter content on trypsin inhibitors and urease activity in heat treated soya beans fed to weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 87, (1-2), p. 105-115, 2000.
- WHO/FAO, **Comunicado de Imprensa conjunto da OMS/FAO 32**, Roma, 2003.
- WIRIYAUMPAIWONG, S.; SOPONRONNARIT, S.; PRACHAYAWARAKORN, S. Comparative study of heating processes for full-fat soybeans. **Journal of Food Engineering**, v. 65, p. 371-382, 2004.

CAPÍTULO 2

DETERMINAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO DO TREMOÇO BRANCO (*LUPINUS ALBUS*) E ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E ESTERIFICAÇÃO

RESUMO

Visando determinar e comparar o perfil lipídico de amostras de tremoço branco (grão integral, farinhas e conserva), foi realizado um estudo empregando-se diferentes métodos de extração (a frio com metanol/clorofórmio e a quente com hexano) e esterificação (solução metanólica de NaOH com n-hexano - HL; e NaOMe e iso-octano - BA) da fração lipídica com posterior análise da influência da metodologia analítica sobre o perfil dos ácidos graxos presentes nas amostras, que foram identificados por CG com detector FID. Os resultados obtidos indicaram, para todas as amostras, um perfil lipídico composto de nove ácidos graxos, todos de cadeia longa, sendo quatro deles saturados e cinco insaturados, sendo que o ácido oleico foi determinado em maior quantidade. O tipo de extração utilizado não influenciou nos índices de ácidos graxos, entretanto, o emprego da esterificação HL contribuiu para a obtenção de quantidades mais elevadas destes compostos. Assim, pode-se concluir que as amostras de tremoço apresentaram altos teores de ácidos graxos insaturados com predomínio de monoinsaturados, apresentando ainda proporções ideais de n6-n3.

Palavras-chave: tremoço branco, extrato lipídico, esterificação, ácidos graxos.

1. INTRODUÇÃO

O tremçoço branco é uma espécie do gênero *Lupinus*, da classe *Genisteeae* da família *Leguminosae*, sendo amplamente utilizada como planta forrageira e na alimentação animal principalmente em países de clima frio (BALLESTER *et al.*, 1980; HALL *et al.*, 2004; VAN BARNEVELD, 1999).

O grão de *Lupinus ssp.* apresenta uma composição nutricional rica e variada (VAN BARNEVELD, 1999) destacando-se os teores de lipídios (10%), com predomínio de ácidos graxos insaturados, que correspondem a 80% do total de matéria graxa presente (MARTINEZ-VILLALUENGA *et al.*, 2006).

Devido à ampla variação da composição de ácidos graxos, faz-se necessário determinar o perfil lipídico do alimento estudado, utilizando para isto técnicas adequadas, como a cromatografia gasosa (CG) (LIMA & ABDALLA, 2002) que permite identificar e quantificar a proporção de ácidos graxos saturados e insaturados presentes em cada espécie (MELLO, 2008). Entretanto, os ácidos graxos são encontrados nos alimentos sob a forma de triacilgliceróis e em menor quantidade como ácidos graxos livres, sendo necessária a conversão dos mesmos em substâncias mais voláteis a fim de que possam ser analisados nos cromatógrafos a gás e carregados pela fase móvel gasosa (DROZD, 1975; GUTNIKOV, 1995).

Inicialmente, realiza-se a extração do material lipídico da amostra empregando-se solventes a quente (BOSCHIN *et al.*, 2008; UZUN *et al.*, 2007) ou a frio (ERBAS *et al.*, 2005; GARCIA-LOPES *et al.*, 2001; SCHINDLER *et al.*, 2011). Em seguida, é realizado o processo de esterificação, no qual os ácidos graxos são convertidos em compostos mais voláteis, como os ésteres metílicos de ácidos graxos (EMAG) (MILINSK, 2007). Este processo de conversão também pode ser chamado de metilação no qual utiliza-se reagentes de catálise ácida ou de catálise básica (BRONDZ, 2002; MEIER *et al.*, 2006; SHANTA & NAPOLITANO, 1992).

Independentemente da metodologia utilizada, os procedimentos analíticos podem afetar os resultados quantitativos devido a vários fatores, tais como a conversão incompleta dos lipídios a EMAG, mudança na composição dos ácidos graxos durante a esterificação, formação de artefatos que podem ser erroneamente identificados como ácidos graxos, contaminação da coluna cromatográfica com traços do reagente de esterificação, extração incompleta de EMAG ou ainda, perda de ésteres metílicos de cadeia curta e muito volátil (BRONDZ, 2002; SHANTA & NAPOLITANO, 1992).

Diante do exposto, denota-se a importância de se avaliar o emprego de diferentes métodos de extração e de esterificação e a influência destes na ocorrência de degradações ou conversões inadequadas dos ácidos graxos acarretando sub-quantificação dos mesmos.

Assim sendo, este trabalho teve como objetivo determinar e comparar o perfil lipídico de amostras de tremoço branco (grão integral, farinhas e conserva) obtidos empregando-se diferentes métodos de extração e esterificação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL

Para a realização das análises foram utilizados grãos de tremoço branco (*Lupinus albus*), fornecidos pelo Instituto Agronômico do Paraná – IAPAR e a conserva de tremoço adquirida em comércio local, observando-se sempre o mesmo lote de produção.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. Preparo das farinhas e da conserva de tremoço

As amostras foram preparadas de acordo com a metodologia apresentada nos itens 2.2.1 e 2.2.2 do Capítulo 1.

2.2.1.1. Liofilização da amostra conserva de tremoço

Após trituração da conserva de tremoço, as amostras foram congeladas e posteriormente liofilizadas em liofilizador (Labconco Free Zone, Missouri, EUA) durante 20h.

2.2.2. Determinação do perfil lipídico do grão, farinhas e conserva de tremoço

2.2.2.1. Extração a frio

Os lipídeos presentes nas amostras foram extraídos a frio empregando-se a associação dos solventes clorofórmio e metanol, conforme a metodologia descrita por Bligh & Dyer (1959) com modificações.

Para tal pesou-se em balança analítica (Shimadzu, AUX-220, Japão, precisão 10mg-220g) 10 g de cada uma das quatro amostras analisadas (tremoço, farinha 1, farinha 2 e conserva de tremoço liofilizada), separadamente, em erlenmeyer, e adicionou-se 10 mL de clorofórmio e 20 mL de metanol. Esta mistura foi agitada por 5 min em agitador mecânico (TE 424, Tecnal, Brasil) com temperatura controlada a 25 °C. Em seguida adicionou-se mais 10 mL de clorofórmio agitando-se por 20 min. Finalizando, mais 10 mL de clorofórmio foram adicionados, e as amostras foram novamente agitadas durante 10 min.

O conteúdo de cada erlenmeyer foi filtrado e este transferido para um funil de separação. Em seguida, 10 mL de uma solução de KCl a 1% foram adicionados, sob agitação cuidadosa, e depois levado ao repouso até a separação total das fases. O excesso de solvente foi evaporado em rotaevaporador a 50 °C (Fisotom, 550) e o óleo separado para a etapa seguinte de esterificação.

2.2.2.2. Extração a quente

A extração lipídica a quente foi realizada empregando-se a metodologia descrita por Boschini *et al.* (2008). Para tal, foram pesados em um cartucho de papel de filtro (J. Prolab, 150 mm) 12 g de cada uma das amostras previamente dessecadas, com posterior adição de 300 mL de hexano em um rebolite encaixando-o em um aparelho tipo Soxhlet modificado (Quimis, Q308G26, Diadema, Brasil), mantendo-se a extração durante 6 h, à temperatura de 69 °C. Finalizado o processo, o solvente foi recuperado e a fração lipídica obtida foi separada para a etapa posterior de esterificação.

2.2.2.3. Metilação descrita por Hartman & Lago (1973) (HL)

Para a realização desta análise, foram pesados em tubos de vidro com tampa de rosca 100 mg da fração lipídica extraída anteriormente, pelos dois métodos

empregados. Em seguida, adicionou-se 4 mL de reagente de saponificação (solução metanólica de NaOH a 0,5 M grau cromatográfico) agitando vigorosamente em vortex. (Minishaker IKA MS2, EUA), e levado ao banho maria (Nova Ética, 314-8DN, Brasil) a 70 °C durante 5 min. Após resfriamento dos tubos à temperatura ambiente (25 °C), adicionou-se 5 mL do reagente de esterificação (mistura de NH₄Cl, metanol grau cromatográfico e H₂SO₄). Os tubos foram novamente agitados e transferidos para o banho-maria a 70 °C durante 5 min. Após novo resfriamento, foram adicionados 10 mL de n-hexano grau cromatográfico agitando-se vigorosamente por 30 s em vortex. Finalmente, foram adicionados 5 mL de solução salina saturada e após uma agitação manual cuidadosa promoveu-se a separação das fases. A fase superior foi coletada e transferida para um segundo tubo de vidro com tampa de rosca. Adicionou-se 5 mL de água destilada e após nova separação de fases, a porção superior foi recolhida e transferida para um terceiro tubo já contendo 0,1 g de Na₂SO₄ anidro. Os tubos foram agitados por inversão e os ésteres metílicos foram coletados e armazenados em frascos de vidro, fechados a vácuo sob atmosfera de nitrogênio gasoso, e armazenados em freezer a -20 °C até o momento das análises.

2.2.2.4. Metilação descrita por Bannon *et al.* (1982) (BA)

Para a execução desta análise foram pesados 150 mg da fração lipídica extraída de cada amostra de tremoço em tubos de vidro com tampa de rosca, adicionando-se 5,0 mL de solução de NaOHCH₃ a 0,25 mol/L em metanol - dietil éter (1:1), com posterior agitação por 2 min. Em seguida foram adicionados 3,0 mL de iso-octano e 15,0 mL de solução de NaCl saturada. A mistura foi agitada vigorosamente por 15 s e após a separação das fases, foram coletados os ésteres metílicos de ácidos graxos presentes na parte superior e transferidos e armazenados em frascos de vidro, sob atmosfera de nitrogênio gasoso, fechados a vácuo e armazenados em freezer a -20 °C até o momento das análises.

2.2.2.5. Análise cromatográfica dos Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos

A leitura dos ácidos graxos foi realizada no laboratório de Bioquímica e Análise Experimental de Alimentos localizado no Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/ Universidade São Paulo – USP.

A análise cromatográfica dos ésteres metílicos provenientes dos óleos extraídos das amostras foi conduzida utilizando um cromatógrafo a gás (Shimadzu GC-2010 equipado com injetor split e detector de ionização de chama (FID)). Coluna Stabilwax (30m x 0,53mm x 1µm) com programação isotermal a 180 °C/5 min e aumento de 5°C /min para 210 °C, e mantido por 15 min. O gás de arraste utilizado foi nitrogênio. A temperatura do injetor foi mantida a 180 °C e a temperatura do detector foi de 250 °C. Foi utilizado um mix de padrão de ácidos graxos contendo ácidos saturados e insaturados entre 8 e 22 carbonos (Supelco 37 FAME Mix, Sigma, EUA).

2.3. Análise estatística

Para a realização da análise estatística a proporção encontrada no perfil lipídico de cada amostra foi convertida em teores de ácidos graxos. A conversão foi realizada segundo a equação 1 (HOLLAND *et al.*, 2002):

Equação 1:

$$Cl = \%A \times \%L \times fc/100$$

onde:

Cl = concentração do ácido graxo, expresso em g/100g

%A = % relativa do ácido graxo

%L = % lípideo no produto

fc = fator conversão (0,94)

A análise foi realizada com experimento inteiramente casualizado utilizando um delineamento misto com medidas repetidas e variáveis independentes com parcelas sub-sub divididas. A esfericidade dos dados foi testada pelo teste de Mauchly a 5% de probabilidade e as comparações entre as variáveis foi testada pelo teste t emparelhado com correções de Bonferroni a 0,05 de probabilidade (FIELD, 2009). Os testes foram realizados em programa estatístico SPSS versão 11.5.

Para análise da variável independente foi utilizado teste de Tukey a 5% de probabilidade. Todas as análises foram realizadas em triplicata (PIMENTEL-GOMES, 1990).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil de ácidos graxos das amostras de tremoço (grão cru, farinha 1, 2 e conserva) foi composto pelos ácidos: láurico, mirístico, palmítico, palmitoléico, esteárico, oléico, linoléico, linolênico e araquídico. Destes, cinco são saturados (láurico, mirístico, palmítico, araquídico e esteárico) e quatro insaturados (palmitoléico, oleíco, linoléico e linolênico), apresentando de 12 a 20 átomos de carbono, o que os caracteriza como ácidos graxos de cadeia longa (TCL). Os ácidos láurico, mirístico e palmitoléico foram encontrados apenas em quantidade traço, não sendo portanto, quantificados.

A quantificação dos ácidos graxos envolveu as etapas de extração e esterificação, e, apesar destas serem co-dependentes e simultâneas, por meio da análise estatística utilizada, foi possível avaliar cada etapa/variável independentemente das demais. Desta forma, uma parte da análise avaliou a influência dos métodos de extração (a frio e a quente) sobre os teores de ácidos graxos obtidos, independentemente da metodologia de esterificação ou tipo de amostra utilizadas. O mesmo pôde ser dito para as demais variáveis, já que foi possível avaliar também as diferenças entre a quantidade de ácidos graxos obtidos a partir dos dois métodos de esterificação da fração lipídica (HL e BA), independente do tipo de amostra ou extração utilizada, e ainda avaliou-se os teores de ácidos graxos quantificados para cada amostra sem levar em consideração quais métodos de extração e esterificação foram empregados. E finalmente, observou-se a presença de interações entre as variáveis tipo de extração, esterificação e amostra que influenciaram na determinação dos teores de ácidos graxos.

A média dos teores de ácidos graxos obtidos empregando-se diferentes métodos de extração e esterificação nas amostras analisadas estão apresentados na Tabela II.1. Ressalta-se que estes dados apresentados revelam apenas as diferenças entre as amostras estudadas, não sendo levado em consideração os tipos de extração e metilação utilizados.

TABELA II.1
Teor de ácidos graxos (g/100g de amostra) em base seca de amostras de tremço branco (*Lupinus albus*)

Ácido Graxo	Tremço Cru	Farinha 1 (100°C/60min)	Farinha 2 (150°C/30min)	Conserva de tremço
Palmítico C16:0	0,72 ^b ± 0,04	0,71 ^b ± 0,04	0,85 ^a ± 0,03	0,61 ^c ± 0,04
Estearico C18:0	0,21 ^b ± 0,01	0,20 ^b ± 0,00	0,23 ^a ± 0,00	0,15 ^c ± 0,01
Araquídico C20:0	0,43 ^b ± 0,01	0,41 ^c ± 0,01	0,46 ^a ± 0,03	0,37 ^d ± 0,03
Oléico C18:1	6,07 ^b ± 0,02	5,98 ^c ± 0,05	6,96 ^a ± 0,04	4,70 ^d ± 0,02
Linoléico C18:2	1,39 ^c ± 0,02	1,35 ^b ± 0,02	1,58 ^a ± 0,02	1,11 ^d ± 0,01
Linolênico C18:3	0,66 ^b ± 0,03	0,64 ^b ± 0,03	0,74 ^a ± 0,03	0,58 ^c ± 0,03
Total	9,51 ^b ± 0,00	9,32 ^c ± 0,00	10,84 ^a ± 0,00	7,54 ^d ± 0,00

Valores médios ± desvio padrão (n = 3) com subscritos iguais abc na mesma linha não diferem significativamente (p ≤ 5; teste de Tukey).

Pode-se observar que a farinha 2 apresentou teores significativamente maiores para todos os ácidos graxos quantificados quando comparado às demais amostras, enquanto quantidades significativamente inferiores destes compostos foram verificadas na conserva de tremço.

Dentre os ácidos graxos estudados, o ácido oléico, apresentou-se em maior quantidade (63%), seguido do ácido linoleico, cujo teor foi de 14%, evidenciando um predomínio de ácidos graxos insaturados em todas as amostras analisadas.

Avaliando-se o perfil lipídico do tremço cru, esta amostra apresentou 7,6% de ácido palmítico, 2,2% de ácido estearico, 63% de ácido oleico, 16,6% de ácido linoleico, 6,9% de ácido linolênico e 4,6% de ácido araquídico.

Boschin *et al.* (2008) ao avaliarem o perfil de ácidos graxos em tremço branco encontraram 47% de ácido oleico, 9% de linoléico 1,7% de estearico, valores estes inferiores ao aqui reportados, e 16,6% de ácido palmítico e 7,4% de linolênico sendo estes em maiores concentrações quando comparados com o presente estudo.

Já Erbas *et al.* (2005) quantificaram, para a mesma espécie de tremço branco, 11,6% de ácido palmítico, 1,9% de ácido estearico, 55,4% de ácido oleico, 22% de linoleico e 8,7% de ácido linolênico. Ao comparar estes dados com os do presente trabalho, observou-se que os ácidos estearico e oleico determinados por Erbas *et al.*,

(2005) apresentaram-se em menor proporção, enquanto que os ácidos palmíticos, linoleico e linolênico em maior quantidade.

Schindler *et al.* (2011) ao estudarem uma outra variedade de tremoço (*Lupinus angustifolius*) quantificaram 17,2% de ácido palmítico, 6,8% de esteárico, 41,8% de oleico, 28,6% de linoleico e 2,25% de linolênico. Acrescenta-se ainda, que o *Lupinus angustifolius* apresentou menor proporção de ácidos graxos insaturados e maior de ácidos saturados quando comparado com os dados obtidos do tremoço branco aqui reportado.

Vale ressaltar que o conhecimento do perfil lipídico dos alimentos é fundamental para se alcançar a segurança nutricional. De acordo com os tipos de insaturações presentes nos ácidos graxos e a proporção dos mesmos, um alimento pode ser mais aterogênico, com alto teor de gorduras saturadas ou hipocolesterolêmico, com maior percentual de ácidos graxos insaturados (MORAES & COLLA, 2006). Desta forma, é importante analisar o teor de ácidos graxos presentes nas amostras separando-os nas categorias saturado (SFA), monoinsaturado (MUFA) e poliinsaturado (PUFA), conforme apresentado na Tabela II.2.

TABELA II.2.

Percentual e teores de ácidos graxos saturado, monoinsaturado e poliinsaturado em base seca de amostras de tremoço branco (*Lupinus albus*)

	Tremoço cru (g/100g)	Farinha 1 (g/100g)	Farinha 2 (g/100g)	Conserva tremoço (g/100g)
SFA %	1,37 ^b ± 0,01 14,4	1,33 ^c ± 0,00 14,2	1,55 ^a ± 0,01 14,2	1,14 ^d ± 0,00 15,2
MUFA %	6,07 ^b ± 0,01 63,8	5,98 ^c ± 0,01 64,2	6,96 ^a ± 0,02 64,2	4,70 ^d ± 0,00 62,3
PUFA %	2,06 ^b ± 0,01 21,6	2,00 ^c ± 0,01 21,5	2,33 ^a ± 0,01 21,5	1,69 ^d ± 0,00 22,4
Total %	9,51 ^b ± 0,00 100	9,32 ^c ± 0,00 100	10,84 ^a ± 0,00 100	7,54 ^d ± 0,00 100

Valores médios ± desvio padrão (n = 3) com subscritos iguais abc na mesma linha não diferem significativamente (p ≤ 5; teste de Tukey). Ácido graxos saturado = SFA; Ácido graxo monoinsaturado = MUFA, Ácidos graxos poliinsaturado = PUFA.

Analisando os dados apresentados na Tabela II.2, pode-se inferir que os ácidos graxos saturados apresentaram-se em menor quantidade (1,37 g/100 g, 1,33 g/100 g,

1,55 g/100 g e 1,14 g/100 g no tremço cru, farinha 1, farinha 2 e conserva de tremço respectivamente), dentre todos os ácidos graxos quantificados. A conserva de tremço apresentou menor teor de ácidos graxos totais (7,54 g) e um percentual de ácido graxo saturado mais elevado quando comparada às demais amostras (15,2%).

Em relação à quantidade de ácidos graxos insaturados, constituintes das frações lipídicas analisadas, observou-se que a soma destes totalizou cerca de 90% dos ácidos quantificados, sendo os mesmos divididos em 63,8% de MUFA (63,8% de oleico) e 21,7% de PUFA (14,6% de linoleico e 7,1% de linolênico).

A amostra Farinha 2 apresentou teores significativamente maiores de MUFA, PUFA e SFA quando comparados com as demais amostras. A segunda amostra com maiores teores deste grupo de ácidos graxos foi o tremço cru, seguido da farinha 1 e conserva de tremço. Este resultado pode ser explicado, provavelmente pelo fato de que para se fazer o cálculo da quantificação dos ácidos graxos, foi utilizado a porcentagem de lipídeos totais encontrado nas amostras, e portanto, variações nestes índices implicam em alterações nos resultados finais. De acordo com os dados apresentados no Capítulo 1 deste trabalho, o percentual de lipídeos para as amostras tremço cru, farinha 1, farinha 2 e conserva de tremço foi de 10,16%, 9,96%, 11,59% e 8,06% respectivamente.

Em um estudo conduzido por Erbas *et al.* (2005) determinou-se para grãos de tremço branco cru, 13,5% de ácido graxo saturado, 55,4% de ácido monoinsaturado e 31,1% de poliinsaturado. Ao comparar estes dados com os obtidos no presente trabalho, pode-se observar que em ambos foi quantificado maiores teores de MUFA, seguidos de PUFA e SFA. No entanto, as proporções de ácidos graxos monoinsaturados aqui encontradas foram maiores, ao contrário das concentrações de saturados e poliinsaturados que foram superiores no trabalho desenvolvido por Erbas *et al.* (2005).

Em relação aos PUFA observou-se, para todas as amostras, um predomínio de ácido linoleico (14,6%) seguido do linolênico (7,1%) e do araquídico (4,5%). A análise destes dados é importante visto que a substituição isocalórica dos ácidos graxos saturados por ácidos graxos polinsaturados reduz o colesterol total e a fração LDLc, além de atuar na prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares, hipertensão, inflamações em geral, asma, artrite e vários tipos de câncer (SUAREZ-MAHECHA, *et al.*, 2002).

As famílias n-6 que compreendem o ácido linoléico e o ácido araquidônico 20:4 e n-3 (ácido linolênico, o ácido eicosapentaenoico e ácido docosahexaenóico)

apresentam diferentes funções fisiológicas e atuam em conjunto para regular os processos biológicos em membranas celulares, funções cerebrais e transmissão de impulsos nervosos (SUAREZ-MAHECHA, *et al.*, 2002).

Assim, a razão entre a ingestão diária de alimentos fontes de ácidos graxos n-6 e n-3 assume grande importância na nutrição humana, resultando em várias recomendações que têm sido estabelecidas por autores e órgãos de saúde, em diferentes países.

De acordo com a WHO/FAO (1995) a proporção ideal de n-6/n-3 deve ser de 5:1 a 10:1. Entretanto, outros autores declaram que razões de 2:1 a 3:1 têm sido recomendadas, por possibilitar uma maior conversão do ácido alfa-linolênico (MASTER, 1996).

Neste estudo, a razão n-6/n-3 determinada nas 4 amostras de tremoço branco foi de 2:1. Tal razão corrobora com os dados encontrados por Master (1996) podendo-se considerar o tremoço um alimento com uma razão adequada entre n-6 e n-3.

Ao avaliar os diferentes métodos de extração e esterificação estudado, a Figura II.1 apresenta os teores dos ácidos graxos para cada amostra variando-se os tipos de extração e esterificação.

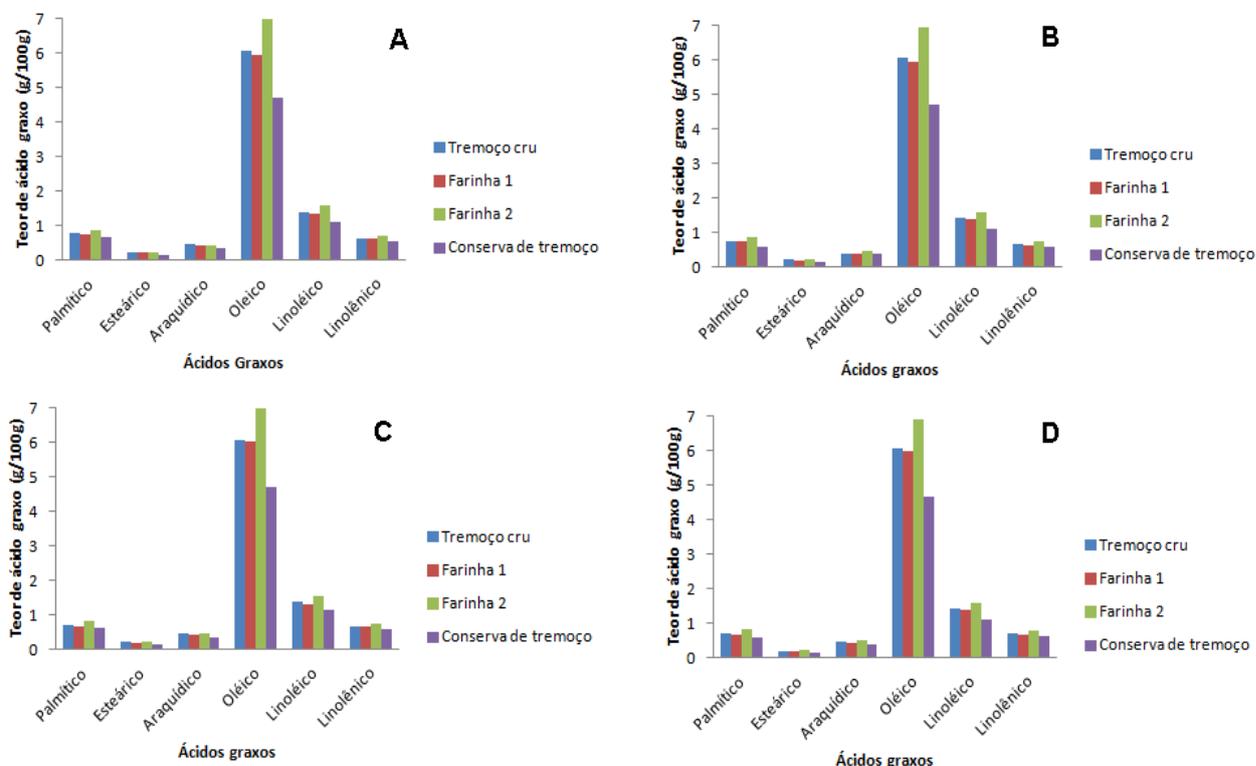


FIGURA II.1. Teor de ácidos graxos nas quatro amostras de tremoço branco variando o tipo de extração e esterificação utilizados. A = Extração a frio/Esterificação HL; B = Extração a frio/Esterificação

BA; C = Extração a quente/Esterificação HL; D = Extração a quente/Esterificação BA. Farinha 1 = tratamento a 100 °C/60 min; Farinha 2 = tratamento a 150 °C/30 min.

Observou-se para todos os métodos de extração e esterificação um predomínio de ácido oleico para todas as amostras, sendo a farinha 2 a amostra com maiores teores de ácidos graxos.

Realizou-se uma avaliação da influência dos métodos de extração e esterificação empregados sobre o teor de ácidos graxos isoladamente, independente da amostra estudada. Desta forma, foram considerados como métodos de extração e esterificação mais eficazes aqueles que proporcionaram a obtenção de quantidades mais elevadas de ácidos graxos. A utilização desta ferramenta estatística permitiu avaliar ainda se as variáveis estudadas (tipo de extração, tipo de esterificação e tipo de amostra) apresentaram alguma interação entre si.

Assim sendo, a indicação dos métodos mais adequados de extração e esterificação para cada ácido graxo, além das possíveis interações encontradas entre as variáveis estudadas estão apresentadas na Tabela II.3

TABELA II.3

Avaliação entre os métodos de extração e esterificação e efeitos de interação entre as variáveis estudadas para todos os ácidos graxos quantificados

Ácidos Graxos	Melhor extração	Melhor esterificação	Esterificação x Amostras
Palmítico C16:0	A frio	HL	Interação significativa
Esteárico C18:0	A frio	HL	Interação significativa
Araquídico C20:4	A quente	Não sig.	Não houve interação
Oleico C18:1	Não sig.	HL	Não houve interação
Linoleico C18:2	Não sig.	BA	Interação significativa
Linolênico C18:3	A quente	BA	Não houve interação

Esterificação HL: descrita por Hartman & Lago (1973); esterificação BA: descrita por Bannon *et al.* (1982); Não sig: não significativa.

De acordo com os dados apresentados na Tabela II.3, os tipos de extração utilizados influenciaram de forma significativa na quantificação da maioria dos ácidos graxos, com exceção dos ácidos oleico e linoleico, nos quais os teores quantificados para os dois tipos de extração não diferiram entre si. A extração a frio foi mais vantajosa para aos ácidos palmítico e esteárico, pois permitiu a obtenção de teores médios de 0,806 g/100 g e 0,217 g/100 g respectivamente, enquanto a extração a

quente obteve índices significativamente menores como 0,743 g/100 g para o palmítico e 0,208 g/100 g para o esteárico. Entretanto, este resultado se inverteu ao se observar a porcentagem dos ácidos linolênico e araquídico, visto que estes apresentaram teores mais elevados (0,725 g/100 g e 0,461 g/100 g, respectivamente) após a fração lipídica ter sido extraída com hexano a quente, comparando-se com os teores obtidos após a extração a frio das amostras (0,682 g/100 g e 0,440 g/100 g, respectivamente).

Boschin *et al.* (2008) ao avaliarem o perfil de ácidos graxos em tremoço branco utilizou n-hexano para a extração realizada a quente e esterificação com metóxido de sódio/metanol encontrando menores teores de ácido de oleico (47%), esteárico (1,7%) e linoléico (9,4%) e maiores quantidades de ácido palmítico (16,6%), e linolênico (7,4%), quando comparado com o presente estudo.

Já Erbas *et al.* (2005) extraíram os lipídeos em equipamento tipo Soxhlet, no qual não foi informado o solvente utilizado e a esterificação do mesmo consistiu de uma mistura de metanol, benzeno, 2,2-dimetoxipropano e n-hexano. Ao comparar a proporção de ácidos graxos com os encontrados neste estudo, observou-se que os ácidos esteárico e oleico identificados por Erbas *et al.*, (2005) apresentaram-se em menor quantidade enquanto o ácidos palmíticos, linoleico e linolênico apresentaram-se maior proporção.

Os lipídeos, por apresentarem uma faixa relativamente grande de hidrofobicidade, é quase inviável a utilização de um único solvente durante a extração dos mesmos (PIMENTEL & ZENEBON, 2009). Os solventes usados para extração de lipídios devem solubilizar todos os compostos lipídicos e serem suficientemente polares para promoverem as dissociações das membranas celulares ou com lipoproteínas sem que ocorra reação química (TONIAL *et al.*, 2009).

Segundo Brum *et al.* (2009) os procedimentos clássicos nos quais as amostras são submetidas à extração a quente em aparelho do tipo Soxhlet devem ser evitados, pois podem favorecer o surgimento de reações de peroxidação e de hidrólise podendo comprometer alguns resultados analíticos posteriores como por exemplo os de quantificação de componentes da fração lipídica. Este mesmo autor relata que um dos procedimentos de extração mais versáteis e efetivos, é a metodologia de Bligh & Dyer, no qual utiliza-se uma mistura a frio de clorofórmio e metanol.

Outra vantagem apresentada pelos métodos baseados na mistura binária clorofórmio e metanol é a capacidade de extraírem tanto os lipídios neutros quanto os lipídios polares eficientemente. Diversos estudos mostraram que, dependendo do tipo

de amostra que será analisada, a escolha do método de extração influencia significativamente no resultado final (PIMENTEL & ZENEBON, 2009).

Em um trabalho realizado por Manirakiza *et al.* (2001), os autores verificaram que a utilização de diferentes solventes em método de Soxhlet, foi conveniente para extração da fração lipídica de amostras sólidas que continham alto teor de lipídios, tais como chocolate em pó, margarina, leite em pó e ração para frango. Já o método de Bligh e Dyer foi mais adequado para extração de amostras líquidas, tais como leite, ovos e plasma humano.

Brum *et al.* (2009) ao compararem métodos de extração a frio e a quente em peito de frango e aveia em flocos, observaram, que as amostras extraídas a quente com n-hexano foram encontrados proporções muito maiores de peróxidos do que as amostras extraídas a frio pelo método de Bligh & Dyer, concluindo que quando as frações lipídicas forem extraídas para uso posterior, deve-se utilizar a metodologia de Bligh e Dyer, tanto para amostras de origem vegetal como animal.

Em relação ao processo de extração lipídica foram encontrados trabalhos que enfatizaram a importância do uso de solventes à frio (BRUM *et al.*, 2009), assim como trabalhos que utilizaram solventes à quente (ERBAS *et al.*, 2005), obtendo-se teores diferentes de ácidos graxos. De maneira semelhante, foi observado no presente trabalho que alguns ácidos graxos foram quantificados em maior grau quando se empregou a metodologia de extração lipídica a quente enquanto para outros, a extração dos lipídios a frio promoveu a obtenção de índices mais elevados de ácidos graxos, não sendo possível optar por um método único e definitivo.

Quanto à influência do tipo de esterificação sobre os teores de ácidos graxos, a metodologia HL contribuiu para que 3 dos 6 ácidos graxos identificados fossem quantificados em maior porcentagem, sendo eles o ácido palmítico, o esteárico e o oléico com teores médios de 0,785 g/100 g, 0,215 g/100 g e 6,32 g/100 g respectivamente

Já o emprego da esterificação BA promoveu maior quantificação para os ácidos linoleico e linolênico com teores médios de 1,45 g/100 g e 0,723 g/100 g respectivamente. Apenas o ácido araquídico não apresentou diferenças significativas ao comparar seus teores empregando-se diferentes métodos de esterificação.

Não foram encontrados estudos que abordassem a influência do emprego de diferentes métodos de esterificação sob o perfil lipídico das amostras de tremço. Assim, os dados obtidos no presente trabalho foram discutidos com aqueles encontrados para outras matrizes alimentícias.

Milinsk (2007) com o objetivo de avaliar qual método de esterificação é o mais adequado, considerando-se a frequência analítica, consumo e toxicidade dos reagentes utilizados, relação custo benefício e o teor de ésteres metílicos de ácidos graxos determinados nos óleos vegetais analisados (soja, canola, linhaça, azeite de oliva e dendê) concluiu que o emprego de BF_3 em metanol, NaOH em metanol e finalmente o NaOMe em metanol foram os mais vantajosos, sendo que este último método foi um dos empregados no presente trabalho.

Neste trabalho também foi avaliado a esterificação segundo a metodologia proposta por Hartman e Lago (1972), utilizando catálise ácida com H_2SO_4 , no entanto o mesmo não se mostrou tão eficiente quanto aos demais métodos estudados. Neste estudo não foi observado similaridade com os dados encontrados no presente trabalho, já que a esterificação HL foi considerada melhor que a esterificação BA nas amostras de tremoço enquanto Milinsk (2007) encontrou melhores resultados para esterificação BA quando comparado à HL.

Avaliando as possíveis interações entre as variáveis, apenas a relação esterificação X amostra influenciou significativamente nos teores dos ácidos graxos palmítico, esteárico e linoléico. Como exemplo, pode-se dizer que, para o ácido palmítico, ao considerar apenas o tipo de esterificação, o método HL foi significativamente melhor que o BA, promovendo maior quantificação deste ácido graxo (0,738 e 0,718 g/100 g, respectivamente, sendo estes valores médios obtidos entre todas as amostras estudadas), conforme apresentado na Figura II.1.

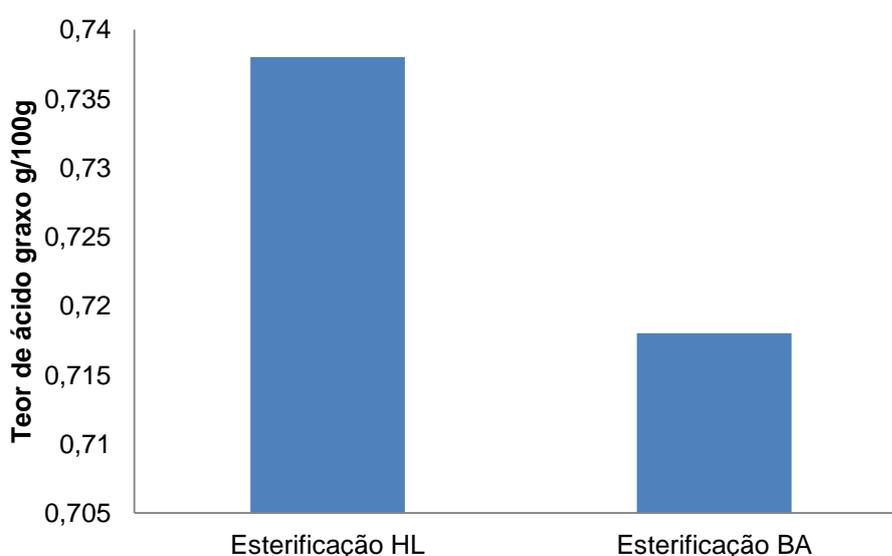


FIGURA II.2. Teor de ácido graxo palmítico em dois tipos de esterificação.

Por outro lado, ao interagir os tipos de esterificação com as amostras estudadas não foi possível observar esta mesma tendência, conforme pode ser visualizado na Figura II.2.

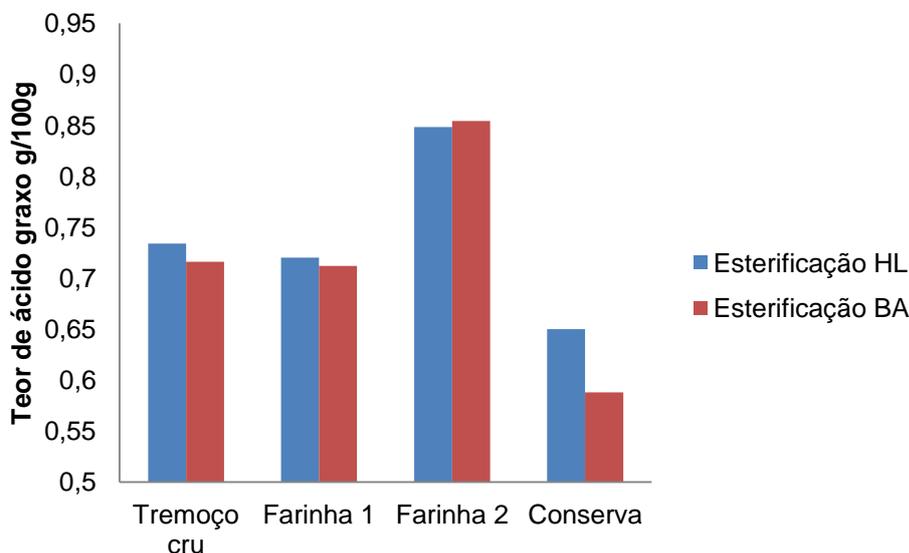


FIGURA II.3. Efeito de interação entre tipo de esterificação e tipo de amostra para o ácido palmítico.

As amostras de tremoço cru, farinha 1 e conserva de tremoço apresentaram a mesma tendência quanto ao tipo de esterificação, isto é, o emprego da esterificação HL possibilitou a obtenção de teores mais elevados de ácidos graxos do que quando estas foram submetidas a esterificação BA. Entretanto, no caso da amostra farinha 2, índices mais elevados de ácidos graxos foram obtidos após o emprego do método de esterificação BA.

Em relação ao ácido esteárico, as amostras grão cru e farinhas 1 e 2 apresentaram maiores teores deste composto quando utilizada a esterificação HL, e para a conserva de tremoço, melhores resultados foram obtidos empregando-se a metodologia BA. Resultados contrários foram observados para o ácido linoléico, visto que sua maior quantificação foi possível após o emprego da esterificação BA para a maioria das amostras, com exceção da conserva de tremoço, cujo maior teor foi obtido empregando-se a HL.

Não foram observados outros efeitos de interação entre as demais variáveis.

4. CONCLUSÃO

Na amostra farinha 2 quantificou-se maiores teores para todos os ácidos graxos analisados já que a mesma apresentou maior teor de lipídeos totais, seguida do tremoço cru, farinha 1 e conserva de tremoço. Todas as amostras analisadas apresentaram elevadas quantidades de ácidos graxos moniinsaturados e baixo de saturados, sendo que a conserva de tremoço caracterizou-se por apresentar maior proporção de saturados comparando-se com as demais amostras.

Foi observada uma razão adequada entre os ácidos linoleico e linolênico, presente nas amostras de tremoço indicando adequada conversão do ácido alfa-linolênico, necessários para manter sob condições normais, as membranas celulares, as funções cerebrais e a transmissão de impulsos nervosos.

Não foi possível determinar qual o método de extração promoveu, isoladamente, a maior quantificação dos ácidos graxos. Por outro lado, a esterificação HL contribuiu para a obtenção de maiores teores de ácidos graxos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALLESTER D.; YAÑES E.; GARCIA R.; ERAZO S.; LÓPEZ F. *et al.* Chemical composition, nutritive value, and toxicological evaluation of two species of sweet lupine (*Lupinus albus* and *Lupinus luteus*). **J. Agric. Food Chem.** v.28, p.402-5, 1980.
- BANNON, C. D.; BREEN, G. J.; CRASKE, J. D.; HAI, N. T.; HARPER, N. L.; O'ROURKE, K. L. Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability. III. Literature review of and investigations into the development of rapid procedures for the methoxide-catalysed methanol of fats and oils. **Journal of Chromat.**, v. 247, p. 71-89, 1982.
- BLIGH, E. G., DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian J. Biochem. Phys.**, v. 37 (18), p. 911-917, 1959.
- BOSCHIN, G.; D'AGOSTINA, A.; ANNICCHIARICO, P.; ARNOLDI, A. Effect of genotype and environment on fatty acid composition of *Lupinus albus* L. seed. **Food Chem.** v.108 p.600–606, 2008.
- BRONDZ, I. Development of fatty acid analysis by high-performance liquid chromatography, gas chromatography, and related techniques. **Anal. Chimica Acta**, v.465, p.1-37, 2002.
- BRUM, A.A.S.; ARRUDA, L.F.; REGITANO-D'ARCE, M.A.B. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Quim. Nova**, v. 32 (4), p.849-854, 2009.
- DROZD, J. Chemical derivatization in gas chromatography. **Journal of Chromat.**, v. 113, p.303-356, 1975.
- ERBAS, M.; CERTEL, M.; USLU, M.K. Some chemical properties of white lupin seeds (*Lupinus albus* L.) **Food Chem.** v. 89, p. 341-345, 2005.
- FIELD, A. **Descobrimo a estatística usando o SPSS**. Sage Publications, Segunda Edição. London, 816p. 2005
- GARCIA-LOPEZ, P.M.; MUZQUIZ, M.; RUIZ-LOPEZ, M.A.; ZAMORA-NATERA, J.F.; BURBANO, C.; PEDROSA, M.M.; CUADRADO, C.; MORA, P.G. Chemical Composition and Fatty Acid Profile of Several Mexican Wild Lupins. **J. Food Composit. Analysis**, v. 14, p.645-651, 2001.
- GUTNIKOV, G. Fatty acid profiles of lipid samples. **Journal of Chromat. B**, v. 671, p. 71-89, 1995.

- HALL R.S.; JOHNSON S.K.; BAXTER A.L.; BALL M.J. Lupin kernel fibre-enriched foods beneficially modify serum lipids in men. **Eur. J. Clin. Nutr.** v.59, p.325–33, 2004.
- HARTMAN, L. & LAGO, R.C.A. **Lab. Practices**, 1973.
- HOLLAND, McCance and Widdowson's. **The Composition of Foods**. p 9 -10. 2002.
- LIMA, E.S.; & ABDALLA, D.S.P. High-performance liquid chromatography of fatty acids in biological samples. **Analytica Chimica Acta**, v. 465, p. 81-91, 2002.
- MANIRAKIZA, P.; COVACI, A.; SCHEPENS, P.; **J. Food Compos. Analysis**, v.14, p.93-100, 2001.
- MARTÍNEZ-VILLALUENGA C.; FRÍAS J.; VIDAL-VALVERDE C. Functional lupin seeds (*Lupinus albus* L. and *Lupinus luteus* L.) after extraction of α -galactosides. **Food Chem.** v.98 (2), p.291-9, 2006.
- MASTERS, C. N-3 Fatty acids and the peroxisome. **Mol Cell Biochem.**, v. 165, (2), p. 83-93, 1996.
- MEIER, S.; MJOS, S. A.; JOENSEN, H.; GRAHL-NIELSEN, O. Validation of a one-step extraction/methylation method for determination of fatty acids and cholesterol in marine tissues. **Journal of Chromat A**, v. 1104, p. 291-298, 2006.
- MELLO, J.I.O. **Compostos de Reserva de Sementes e suas Relações com Diferentes Níveis de Sensibilidade à Dessecação e ao Congelamento**. 2008, 126p. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente). Instituto de Botânica da Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, 2008.
- MILINSK, M.C. **Análise comparativa entre oito métodos de esterificação na determinação quantitativa de ácidos graxos em óleo vegetal**. 2007, 188p. Tese (Doutorado em Química), Departamento de Química, Universidade Estadual de Maringá. 2007.
- MORAES, F.P.; & COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Rev. Eletr. Farmácia**, v. 3 (2), p.109-122, 2006.
- PIMENTEL-GOMES, P. **Curso Estatística de Estatística Experimental**. Piracicaba: Nobel S.A., 1990. 467p.
- PIMENTEL, S.A.; ZENEON, O. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v.68 (2), 2009.
- SCHINDLER, S.; WITTIG M.; ZELENKA, K.; KRINGS U.; BEZ, J.; EISNER P.; BERGER, R. Lactic fermentation to improve the aroma of protein extracts of sweet lupin (*Lupinus angustifolius*). **Food Chem.**, v.128, p.330–337, 2011.
- SHANTA, N. C. & NAPOLITANO, G. E. Gas chromatography of fatty acids. **J. Chromat. B**, v. 624, p. 37-51, 1992.

- SUÁREZ-MAHECHA, H.; FRANCISCO, A.; BEIRÃO, L.H.; BLOCK, J.M.; SACCOL, A.; PARDO-CARRASCO, S. Importância de ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes de Cultivo e de ambiente natural para a nutrição humana. A importância dos ácidos graxos poliinsaturados presentes em peixes. **B. Inst. Pesca**, v. 28 (1), p. 101 - 110, 2002.
- TONIAL, I.B.; MATSUSHITA, M.; SOUZA, N.E.; PERINI, J.A.L.; MORAIS, D.R.; BANI, F.A.; VISENTAINER, J.V. Avaliação de diferentes métodos de extração lipídica sobre a composição de ácidos graxos poliinsaturados em leite de vaca. **Arch. Latinoamericanos de Nutricion**, v. 59 (1), p.78-81, 2009.
- UZUN, B.; ARSLAN, C.; KARHAN, M.; TOKER, C. Fat and fatty acids of white lupin (*Lupinus albus* L.) in comparison to sesame (*Sesamum indicum* L.) **Food Chem.**, v.102, p. 45–49, 2007.
- VAN BARNEVELD D.R.J. Understanding the nutritional chemistry of lupin (*Lupinus* spp.) seed to improve livestock production efficiency. **Nutrition Research Reviews** v.12, 1999.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Joint Consultation: fats and oils in human nutrition. **Nutr Rev.**, v.53 (7), p.202-5, 1995.

CAPÍTULO 3

DESENVOLVIMENTO DE EXTRUSADOS DE TREMOÇO BRANCO (*LUPINUS ALBUS*) E QUIRERA DE ARROZ

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo desenvolver produtos extrusados constituídos de diferentes proporções de quirera de arroz e tremoço avaliando suas características físicas e químicas. Para isso, foi determinado o teor de aminoácidos, açúcares totais e amido do tremoço cru, granulometria e microscopia de varredura das matérias-primas, e parâmetros como Índice de Expansão (IE), Índice de Solubilidade em Água (IAA), Índice de Absorção de água (ISA), textura, colorimetria e microscopia de varredura dos extrusados. Os resultados obtidos demonstraram aumento nos teores de aminoácidos essenciais ao se adicionar tremoço na amostra de quirera de arroz. Em relação aos extrusados, observou-se uma redução nos valores de IE, ISA e IAA, um aumento da luminosidade e uma redução do parâmetro de cor a^* , à medida que se aumentou a concentração do tremoço na mistura. A avaliação das matérias-primas pelo microscópio eletrônico de varredura permitiu identificar grânulos de amido soltos ou aglomerados, porém íntegros, enquanto que as amostras extrusadas apresentaram uma massa compacta, amorfa e sem grânulos de amido aparente. Devido à alteração estrutural e a redução do índice de expansão de extrusados preparados com a mistura quirera de arroz e tremoço, o uso destes como *snacks* não seria adequado, no entanto, poderiam ser utilizadas como farinhas pré-gelatinizadas na formulação de diversos produtos instantâneos incrementando seu valor protéico.

Palavras chave: tremoço branco, arroz branco, extrusão termoplástica, amido, aminoácidos, parâmetros físicos e tecnológicos

1. INTRODUÇÃO

O tremçoço (*Lupinus ssp.*), cultivado por cerca de 4000 anos, é uma leguminosa que apresenta uma composição nutricional rica e variada (VAN BARNEVELD, 1999), que no entanto não é muito utilizado na alimentação humana devido a presença de fatores antinutricionais (BOTARO, 2010) que devem ser eliminados antes do consumo deste grão (MONTEIRO *et al.*, 2010).

A aplicação de calor consiste em um dos principais métodos empregados para eliminar estes fatores antinutricionais (MACHADO *et al.*, 2008; MARTINO *et al.*, 2007; WIRIYAUMPAIWONG *et al.*, 2004; WHITE *et al.*, 2000) sendo que diferentes técnicas podem ser utilizadas como a extrusão, autoclavagem, tostagem com ar quente ou com vapor, cozimento e aplicação de microondas (MACHADO *et al.*, 2008; WHITE *et al.*, 2000; WIRIYAUMPAIWONG *et al.*, 2004).

A extrusão termoplástica baseia-se em um tratamento térmico sob elevadas temperaturas e de curta duração no qual os materiais amiláceos e/ou proteínáceos com capacidade de expansão são plastificados e cozidos, pela combinação de umidade, pressão, temperatura e cisalhamento mecânico, promovendo a transformação das características químicas, físicas e nutricionais dos alimentos (TEBA *et al.*, 2009), como gelatinização do amido e desnaturação das proteínas, além de promover a inativação de compostos antinutricionais e de enzimas (WANG *et al.*, 2009).

Dentre os fatores que influenciam a natureza dos produtos extrusados pode-se citar as propriedades reológicas da matéria-prima, como o teor de umidade, estado físico e composição química, particularmente a quantidade e o tipo de amido, proteínas, gorduras e açúcares, e as condições de operação do extrusor (FELLOWS, 2006).

Desta forma, para a produção de alimentos extrusados de boa qualidade é necessário a utilização de matérias-primas com teores elevados de amido para que o mesmo possa ser gelatinizado e expandido proporcionando as características físicas e químicas desejadas (FERNANDES *et al.*, 2002). No entanto, não só o tremçoço, mas também outras leguminosas como a soja, possuem teores muito baixos de amido (RIBEIRO, 2006; WANG *et al.*, 2007), inviabilizando seu uso isolado em processos de extrusão. Logo, torna-se necessário a mistura de leguminosas com outros alimentos ricos em amido, como exemplo, os cereais, para se obter produtos extrusados de qualidade (WANG *et al.*, 2009).

Segundo Teba, *et al.* (2009), as misturas entre cereais e leguminosas resultam em produtos com maior teor de proteínas de alto valor biológico. Enquanto as leguminosas são deficientes em aminoácidos sulfurados e ricas em lisina, os cereais são deficientes em lisina e relativamente ricos em aminoácidos sulfurados, sendo, portanto, considerados complementares, oferecendo vantagens em relação à qualidade nutricional.

Assim, este estudo teve como objetivo a obtenção de produtos extrusados utilizando percentuais de tremoço em substituição à quirera de arroz avaliando as matérias-primas e os extrusados quanto às suas características físicas e químicas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. MATERIAL

Para a realização das análises foram utilizados grãos de tremoço branco (*Lupinus albus*), fornecidos pelo Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR e quirera de arroz branco polido, doada pela empresa Arroz Cristal Ltda., localizada em Aparecida de Goiânia, Goiás, Brasil.

2.2. MÉTODOS

As análises foram divididas em duas etapas. Primeiramente (Etapa 1) foram realizadas as análises com os grãos crus de tremoço branco e a quirera de arroz, dentre elas a determinação de açúcares totais, amido, perfil de aminoácidos, granulometria e microscopia eletrônica de varredura.. Em um segundo momento (Etapa 2) após a obtenção dos extrusados com as misturas em diferentes percentuais de tremoço e quirera de arroz, estes foram submetidos às análises de índice de expansão, solubilidade em água, absorção de água, textura, colorimetria e microscopia eletrônica de varredura.

Etapa 1

2.2.1. Análises realizadas em amostra de grãos crus de tremço branco

Inicialmente, as amostras foram moídas em moinho de facas (Tecnal, TE 020, Piracicaba, Brasil) com posterior definição da granulometria de até 42 mesh por tamis, (tamis 42 mesh, Bertel Industria Metalurgica Ltda, Caieiras, Brasil)

2.2.1.1. Determinação de açúcares totais (reduzores e não reduzores) e amido

Estas análises foram executadas apenas para os grãos de tremço cru moído, visando quantificar o teor de amido existente no mesmo com o intuito de definir a proporção adequada entre a leguminosa e o cereal para a obtenção dos produtos extrusados.

A determinação de açúcares totais (reduzores e não reduzores) foi realizada homogeneizando-se a amostra na proporção de 30 g:200 mL (amostra:água) (Ultraturrax IKA T25 BASIC, EUA) com posterior filtração, adição de clarificantes (25 mL de ferrocianeto de potássio a 15% e 25 mL de acetato de zinco a 30%) e titulação com solução de Fehling A e B. Para determinação do teor de amido, foram realizadas duas digestões em autoclave (Autoclave vertical, Fanem – 415, BRASIL), a primeira básica (10 gotas de NaOH a 10%) e a segunda ácida (5 mL HCl concentrado) seguindo-se após o mesmo procedimento descrito acima. Todas as titulações foram realizadas em aparelho Redutec (Tecnal, TE 086, Piracicaba, Brasil) (AOAC, 2007).

2.2.1.2. Determinação do teor de aminoácidos

O teor de aminoácidos foi determinado empregando-se a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), segundo metodologia da AOAC (2007), tendo sido realizado pelo laboratório Centro de Qualidade Analítica (CQA) em Campinas, São Paulo.

2.2.2. Granulometria das matérias-primas

A granulometria foi realizada nas amostras de quirera de arroz e tremço moído. Foi utilizado um jogo de peneiras de 4, 6, 9, 16 e 35 MESH (Bertel Industria Metalurgica Ltda, Caieiras, Brasil). Estas peneiras foram pesadas separadamente e empilhadas na

ordem crescente de abertura da malha, colocando-se 100 g de amostra sob a peneira superior e o conjunto levado ao agitador (Vibratest, São Paulo, Brasil) por 10 min na velocidade máxima. Após este período, as peneiras foram pesadas e a porcentagem de amostra retida em cada uma delas foi calculada por diferença de peso.

Etapa 2

No processo de extrusão foram utilizados três tratamentos, sendo um controle com 100% de quirera de arroz (100QA) a 12% de umidade e os demais com substituição de 10% (90QA10TM) e 20% (80QA20TM) de quirera de arroz por tremoço moído, mantendo-se a umidade das misturas uniformizadas em 12%.

Na elaboração dos extrusados utilizou-se a extrusora termoplástica (Imbramaq, PQ30, Ribeirão Preto, Brasil) de rosca única, com taxa de compressão da rosca de 3:1, taxa de alimentação de 350 g.min.^{-1} , abertura da matriz circular de 4 mm de diâmetro, temperatura na primeira, segunda e terceira zona de aquecimento do extrusor de 40 °C, 60 °C e 90 °C, respectivamente e rotação da rosca a 250 rpm.

2.2.3. Análises realizadas em amostras extrusadas

As análises foram realizadas tanto em amostras de extrusados íntegros quanto em extrusados moídos (farinha do extrusado). Para produção das farinhas de extrusados, os mesmos foram triturados em moinho de facas (Tecnal, TE 020, Piracicaba, Brasil) até obtenção destas farinhas.

2.2.3.1. Índice de expansão (IE)

O IE foi calculado pela relação entre o diâmetro da amostra do extrusado em paquímetro digital (Mitutoyo, M/P/E-103, Brasil) e o diâmetro da matriz, conforme metodologia proposta por Fabion & Hosney (1982)

2.2.3.2. Índice de Absorção de Água (IAA)

O IAA foi determinado segundo metodologia de Anderson *et al.* (1969). Em um tubo de centrífuga previamente tarado foram colocados aproximadamente 2,5 g de farinha extrusada e 30 mL de água ultra pura. Os tubos foram agitados por 30 min em

agitador mecânico e em seguida, centrifugados a $2200 \times g$ por 10 min em centrífuga (Jouan, BR4i, França). O líquido sobrenadante foi escorrido cuidadosamente em placa de petri previamente tarada. A placa de petri foi levada por 1h em banho maria (Nova Ética, 314-8DN, Brasil) e posteriormente levada para estufa por 3 h a $105 \text{ }^\circ\text{C}$, sendo pesada em balança analítica logo em seguida (Shimadzu, AUX-220, Japão, precisão 10 mg-220 g). O material remanescente do tubo da centrífuga foi pesado na mesma balança e o IAA foi calculado segundo a Equação 1:

Equação 1:

$$IAA = PRC/PA - PRE$$

onde:

PRC = peso do resíduo da centrifugação (g)

PA = peso da amostra em base seca (g)

PRE = peso do resíduo de evaporação (g)

2.2.3.3. Índice de Solubilidade em Água (ISA)

O ISA, determinado segundo metodologia de Anderson *et al.* (1969), foi calculado pela relação entre o peso do resíduo de evaporação e o peso seco da amostra conforme a Equação 2:

Equação 2:

$$\% ISA = PRE/PA \times 100$$

onde:

PRE = peso do resíduo de evaporação (g)

PA = peso da amostra em base seca (g)

2.2.3.4. Determinação da dureza e fraturabilidade

Foi realizado o teste de força e compressão para avaliar o grau de dureza e fraturabilidade das amostras extrusadas. Esta análise foi realizada em analisador de textura (TA-xT2i Texture Analyser), de carga máxima de 25 Kg, com dispositivo de sonda do tipo guilhotina. Os parâmetros utilizados para a avaliação das amostras

foram: velocidade pré-teste de 3,0 mm/s, velocidade teste de 1,0 mm/s e pós-teste de 5,0 mm/s.

2.2.3.5. Cor

As análises colorimétricas foram realizadas nas matérias-primas (quirera de arroz e tremço moído) e nas três amostras extrusadas (100QA; 90QA10TM; 80QA20TM). Foi utilizado para leitura um colorímetro tristimulus (Hunterlab Colorflex 45/0 Spectrophotometer, Hunter Laboratories, VA, EUA) utilizando ângulo de observação de 10° e iluminante padrão D65 (luz diurna). As medidas de cor foram baseadas no sistema cartesiano tridimensional (xyz), representado pelas variáveis CIE L^* , a^* , b^* , em que a luminosidade (L^*) apresenta escala de 0 (preto) a 100 (branco), que corresponde ao eixo z; o parâmetro a^* corresponde ao posicionamento da cor no eixo x que representa as variações de cor dentro da escala vermelho-verde; e, por fim, o parâmetro b^* corresponde ao posicionamento da cor no eixo y que representa as variações de cor dentro da escala amarelo-azul.

2.2.3.6. Microscopia

O aspecto geral das matérias-primas (quirera de arroz, tremço moído e suas farinhas) e dos extrusados foi avaliado ao microscópio eletrônico de varredura (Mev, Fed, Quanta 200FEI). A montagem das amostras foi feita em suportes (stubs) com fita adesiva dupla face, onde as amostras foram fixadas e cobertas com uma fina camada de ouro em metalizador.

2.3. Análise estatística

Todos os experimentos foram realizados em triplicata. Utilizou-se a análise de variância (ANOVA fator único) e o teste de Tukey a 5% de probabilidade (PIMENTEL-GOMES, 1990).

1. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao avaliar inicialmente apenas as amostras de tremoço cru, observou-se que após análise da determinação de açúcares redutores, não redutores, totais e amido, grande parte dos açúcares encontrados nas amostras de tremoço cru estava sob a forma de açúcares não redutores, apresentando concentração reduzida de amido. A quantidade de açúcares totais encontradas foi 14%, divididos em 0,84% de açúcar redutores, 1,7% de amido e o restante proveniente de açúcares não redutores.

Erbas *et al.* (2005), encontraram para a mesma espécie de tremoço estudada, 5,82% de mono e dissacarídeos, sendo a sacarose, açúcar não redutor, em maior abundância (70,7%).

Os teores dos aminoácidos determinados para a amostra de grãos de tremoço cru estão apresentados na Tabela III.1. De acordo com os dados apresentados pode-se inferir a presença de elevados teores de L-leucina, L-ácido glutâmico, L-arginina e L-ácido aspártico (2740 mg/100 g; 8641mg/100 g; 3874 mg/100 g; 3917 mg/100 g respectivamente) na amostra de tremoço branco estudada. Este mesmo grão apresenta, no entanto, menor quantidade de aminoácidos como L-cisteína, L-cistina, L-metionina e L-triptofano (413 mg/100 g; 414 mg/100 g, 260 mg/100 g, 292 mg/100 g respectivamente).

Em um estudo realizado por Jul *et al.* (2003) para a mesma espécie de tremoço, ao se determinar o perfil de aminoácidos, observou-se predomínio de L-arginina (23,3%), L-lisina (5,6%), L-leucina (4,7%) e valina (3,1) e uma deficiência de L-triptofano (0,78%) e metionina/cistina (1,54%), corroborando com os dados apresentados no presente trabalho.

Quanto à composição nutricional de grãos de arroz branco polido, sabe-se que este cereal apresenta um alto teor de amido total (87%), 0,3% de lipídeos, 2,8% de fibra alimentar total (1,0% de insolúvel e 1,8% de solúvel), 8,9% de proteína caracterizada por baixos teores dos aminoácidos lisina e treonina e elevadas concentrações de aminoácidos sulfurados como metionina e cistina. Quanto aos micronutrientes, este cereal apresenta baixos teores das vitaminas tiamina e riboflavina e concentrações elevadas de niacina (RUIZ, *et al.*, 2003).

TABELA III.1

Teor de aminoácidos presente em amostras de tremço branco (*Lupinus albus*).

Aminoácido	Teor (mg/100 g de amostra)
Lecitina	3,43
L-serina	1850
L-triptofano	292
L-alanina	1296
L-fenilalanina	1435
L-cistina	441
L-metionina	260
L-isoleucina	1617
L-leucina	2740
L-tirosina	1360
L-ácido glutâmico	8641
L-prolina	1483
L-arginina	3874
Glicina	1547
L-valina	1486
L-lisina	1917
L-cisteína	413
L-treonina	1364
L-ácido aspártico	3917

Assim, ao combinar diferentes misturas de grãos de arroz e tremço, pode-se desenvolver produtos alimentícios com uma composição nutricional mais adequada, e com alto valor biológico já que a composição de aminoácidos de ambos se complementam. Além disso, a composição rica em amido proveniente dos grãos de arroz favorece sua utilização em diversos alimentos como massas, panificáveis e produtos extrusados.

Acrescentando-se, por exemplo, 10% de grãos de tremço branco em amostras de quirera de arroz pôde-se observar uma redução de 10% de amido, e um aumento de 27% de proteínas, elevando-se assim o teor de arginina, glicina isoleucina, leucina, lisina e de ácido aspártico em 45%, 29%, 39%, 25%, 39% e 47%, respectivamente, na mistura final obtida.

A Tabela III.2 apresenta o teor de aminoácidos essenciais em amostras de quirera de arroz e misturas de quirera de arroz/grãos de tremço em diferentes concentrações.

TABELA III.2

Teor de aminoácidos essenciais em amostras de quirera de arroz e tremço moído em diferentes concentrações

Aa essenciais (mg/100g de amostra)	QA	90% QA 10% TM	80% QA 20% TM
Histidina	230	200	180
Isoleucina	330	450	580
Leucina	770	960	1160
Lisina	390	540	690
Metionina + Cisteína	220	260	300
Fenilalanina + Tirosina	360	590	840
Treonina	330	430	530
Triptofano	100	110	130
Valina	480	580	680

Quirera de arroz = QA; Tremço moído = TM

Segundo as recomendações diárias de ingestão de aminoácidos essenciais, um adulto de 60 kg deve ingerir 840 mg, 1149 mg, 2520 mg, 2280 mg, 1140 mg, 1980 mg, 1200 mg, 300 mg e 240 mg de histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina/cisteína, fenilalanina/tirosina, treonina, triptofano e valina, respectivamente (IOM, 2005).

Assim, ao se consumir uma porção de 100 g de uma mistura de 80% QA com 20% TM há uma ingestão de 21%, 50%, 46%, 30%, 26%, 42%, 44%, 43% e 283% da necessidade diária de histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina/cisteína, fenilalanina/tirosina, treonina, triptofano e valina respectivamente, indicando um aumento significativo de aminoácidos essenciais ao se adicionar tremço em amostras de arroz.

A Figura III.1 apresenta as matérias-primas quireras de arroz e tremço utilizadas no processo de extrusão.

Ressalta-se que as matérias-primas QA e TM não sofreram nenhum processamento térmico antes de serem utilizadas no processo de extrusão.



FIGURA III.1. Quirera de arroz (QA) e tremoço moído (TM) - matérias-primas utilizados para o processo de extrusão.

A Tabela III.3 apresenta a granulometria das amostras de quirera de arroz (QA) e tremoço moído (TM).

TABELA III.3

Percentual (%) de quirera de arroz (QA) e tremoço moído (TM) retidos em cada peneira

Abertura da peneira (Mesh)	QA	TM
4	0	0
6	0	5
9	0	54
16	97,5	33
35	1,25	5
Coletor final	1,25	3

QA = quirera de arroz; TM = tremoço moído.

Observa-se que 97% da amostra QA ficaram retidas na peneira de 16 MESH enquanto que 87% do tremoço moído ficaram retidas nas peneiras de 9 e 16 MESH (54% na peneira de 9 MESH e 33% na de 16MESH).

Para se determinar o tamanho em mm das amostras utilizadas na granulometria é necessário conhecer a milimetragem das peneiras. As peneiras de 6, 9, 16 e 35 MESH apresentam respectivamente 3,3 mm; 2,0 mm; 1 mm e 0,4 mm. Assim pode-se dizer que 97% das quireras de arroz apresentaram entre 2 mm e 1 mm enquanto que

87% do tremoço moído apresentaram entre 3,3 mm e 1 mm (54% entre 3,3mm e 2mm e 33% entre 2 mm e 1 mm). Estes dados sugerem que a QA apresentou granulometria inferior quando comparada com a amostra TM,

A composição da matéria-prima, seu teor de umidade e tamanho de suas partículas influenciam a viscosidade do produto no extrusor. Partículas pequenas, como as farinhas, são hidratadas mais facilmente e cozidas mais rapidamente que partículas maiores, alterando a qualidade final do produto (BORBA, 2005), o que justifica, em parte a menor granulometria da QA, que é a amostra que apresenta maior teor de amido.

A Figura III.2 apresenta a aparência dos extrusados e o impacto da adição de diferentes concentrações de tremoço nas misturas com quirera de arroz.

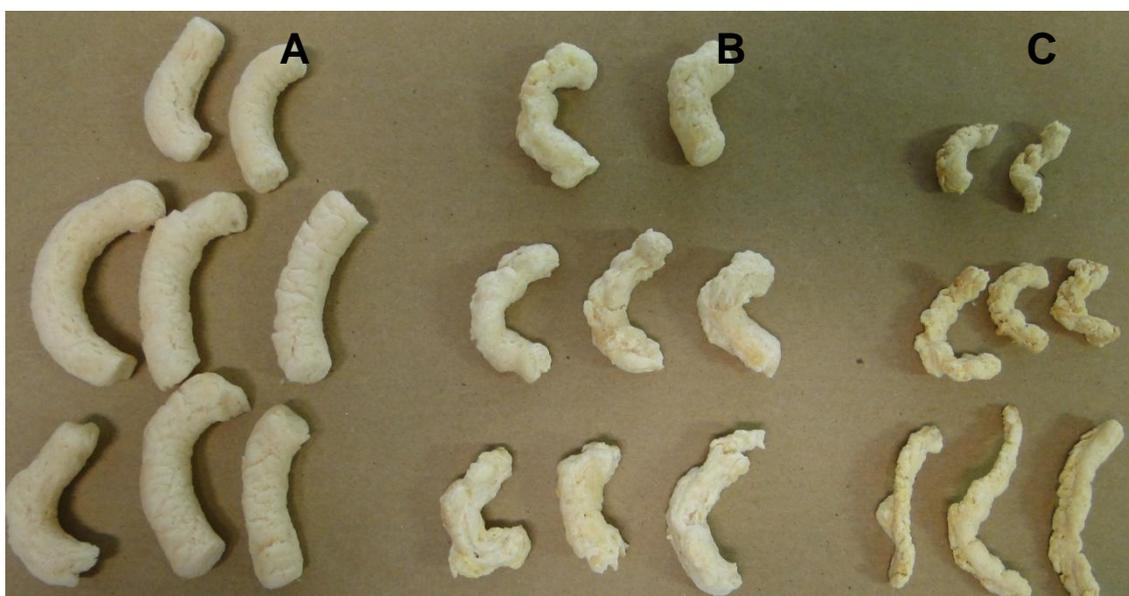


FIGURA III.2. Amostras de extrusados preparadas empregando empregando diferentes concentrações de quirera de arroz e tremoço moído. Amostra A: 100% quirera de arroz (100QA); Amostra B: 90% quirera de arroz, 10% de tremoço moído (90QA10TM); Amostra C: 80% quirera de arroz, 20% de tremoço moído (80QA20TM).

De acordo com o apresentado na Figura III.2, as amostras 90QA10TM e 80QA20TM apresentaram menor grau de expansão e formatos mais irregulares em relação à amostra 100QA. Este fato pode ser explicado pelo aumento no teor de proteína e redução no teor de amido ao se adicionar o tremoço nas amostras de quireras de arroz para obtenção dos extrusados. Pode-se observar ainda, que na amostra 80QA20TM ocorreram maiores alterações no formato, devido ao fato de apresentar em sua composição maior teor de proteína e teor reduzido de amido.

Em relação ao índice de expansão (IE) dos extrusados de quierera de arroz e tremoço moído as amostras 100QA, 90QA10TM e 80QA20TM apresentaram respectivamente 3,04%; 2,04% e 1,67%. Pode-se observar uma redução no índice de expansão à medida que acrescentou-se tremoço moído nas amostras extrusadas. O valor médio encontrado para as duas primeiras amostras (100QA e 90QA10TM) foi de 2,54%, não tendo sido encontradas diferenças significativas entre as mesmas. Entretanto, houve uma redução significativa deste índice para 1,67% quando se aumentou o teor de proteínas, como se observa na amostra 20QA80TM.

Não foram encontrados dados na literatura que avaliaram extrusados preparados a partir de misturas de quierera de arroz e tremoço, assim os dados aqui encontrados foram comparados com os obtidos a partir de misturas de outros cereais e leguminosas. Apenas um trabalho foi encontrado com amostras de tremoço extrusado, no entanto este extrusado foi preparado a partir de 100% de tremoço, não sendo adicionando no mesmo nenhum cereal.

Em estudo realizado por Fernandes *et al.* (2002) com extrusados em diferentes concentrações de canjiquinha:soja (80:20 e 70:30) concluiu-se que o conteúdo de leguminosas foi negativamente correlacionado com a expansão, concordando com o encontrado neste trabalho, já que o aumento da concentração de tremoço reduziu o IE dos extrusados.

Soares Jr. *et a.*, (2011) ao avaliarem o IE em extrusados empregando-se diferentes concentrações de farinhas de arroz e feijão (farinha de arroz:farinha de feijão; 0:100; 25:75; 50:50; 75:25; 100:0) observaram que este índice aumentou à medida que a concentração de farinha de arroz elevou-se e a de farinha de feijão foi reduzida, de forma semelhante ao observado no presente trabalho, entretanto para a mistura quierera de arroz/tremoço. Em ambos, os índices de expansão foram maiores nas amostras de extrusados que apresentaram uma maior concentração de arroz, ou seja, maior teor de amido. O IE neste estudo variou de 2,0 a 3,9, sendo o maior índice atribuído ao extrusado que apresentou 75% de farinha de arroz e 25% de farinha de feijão. Ainda segundo estes autores, a determinação do grau de expansão é um fator importante a ser monitorado na produção de salgadinhos extrusados, principalmente devido a sua influência no peso e volume das embalagens finais.

Quanto aos índices de absorção e solubilidade em água (IAA e ISA, respectivamente) das três amostras de extrusados estudadas, os valores determinados podem ser observados na Tabela III.4.

TABELA III.4

Índice de absorção de água (IAA) e Índice de solubilidade em água (ISA) em extrusados obtidos a partir de diferentes concentrações de quirera de arroz (QA) e tremoço moído (TM)

Amostras	100QA	90QA10TM	80QA20TM
IAA	8,96 ^a ± 0,04	7,09 ^b ± 0,11	6,30 ^c ± 0,04
ISA	54,46 ^a ± 1,18	16,83 ^b ± 0,07	10,47 ^c ± 0,25

Valores médios ± desvio padrão (n = 3) com subscritos iguais abc na mesma linha não diferem significativamente (p ≤ 5; teste de Tukey). 100% quirera de arroz = 100QA; 90% quirera de arroz 10% de tremoço moído = 90QA10TM; 80% quirera de arroz e 20% de tremoço moído = 80QA20TM; IAA = Índice de absorção de água; ISA = Índice de solubilidade em água

Em relação a estes índices, a amostra 100QA apresentou valores significativamente maiores tanto para o IAA (8,96) como para ISA (54,46) comparando-se com as demais amostras. Os índices encontrados para a amostra 90QA10TM também foram maiores (7,09 e 16,83 pra IAA e ISA respectivamente) quando comparado com o extrusado 80QA20TM (6,30 para IAA e 10,47 para ISA). Observa-se que a amostra com maior teor de amido apresentou maiores índices, sendo estes parâmetros reduzidos a medida que a concentração de tremoço aumentou.

Lampart-szczapa *et al.* (2006) ao avaliarem os IAA e ISA em extrusados com 100% tremoço branco encontraram valores de 14% para IAA e 15,9% para ISA. Quanto às condições do equipamento, estes autores utilizaram temperaturas de 95°C para a primeira zona e 130°C para a última, fixando a umidade em 35%, o que difere do presente trabalho, já que no mesmo as temperaturas das zonas foram menores. Assim sendo, os valores de IAA e ISA para os extrusados preparados com 100% de tremoço foram superiores aos obtidos no presente trabalho, o que pode ser justificado, provavelmente pela diferença na concentração de tremoço presente nas amostras e condições do equipamento.

O valor do IAA encontrado para o extrusado 100QA (8,96%) foi semelhante ao valor obtido em um estudo realizado por Clerici & Al-Dashi (2008), no qual este índice para farinhas pré-gelatinizadas obtidas a partir de extrusados preparados com 100% de quirera de arroz e sob condições diferentes (20% de umidade inicial, taxa de compreensão de rosca 3:1, temperatura da primeira zona 80°C, temperatura final 180°C), foi de 8,31%.

Já Moura *et al.* (2011) determinaram para extrusados preparados com arroz, milho e feijão (concentrações de 35%, 30% e 35% respectivamente) valores de 7%

para IAA e 10,21% de ISA. As condições utilizadas neste trabalho foram de 21% de umidade inicial, temperatura da terceira zona 126°C e taxa de compressão de rosca 3:1. Apesar de diferentes condições do equipamento e matrizes de alimentos utilizadas, tais valores de IAA e ISA foram semelhantes aos valores encontrados para os extrusados 90QA10TM e 80QA80TM.

Maia *et al.* (1999) observaram em extrusados preparados com farinha de arroz e soja, uma redução do IAA com o aumento do teor de farinha de soja, o que foi atribuído ao maior conteúdo de proteínas, corroborando com os dados encontrados no presente trabalho.

Carvalho *et al.* (2010), descreveram que tais alterações observadas nos ISA e IAA em produtos extrusados podem ser interpretados com base nas interações amido-água, que governam a estrutura da fase sólida no processamento de amiláceos. Além disso, a determinação de tais parâmetros auxilia no conhecimento da intensidade de gelatinização e fragmentação, favorecendo a escolha correta de produtos a serem fabricados a partir de extrusados, já que a capacidade de absorção de água deve ser específica para cada produto fabricado (CARVALHO *et al.*, 2010; MOURA, *et al.*, 2011).

A textura de produtos extrusados é de grande importância para sua qualidade, afetando diretamente a aceitabilidade pelos consumidores e as vendas (BORBA, *et al.*, 2005). A Tabela III.5 apresenta os valores de textura encontrados nas amostras extrusadas com diferentes concentrações de quirera de arroz e tremoço moído.

TABELA III.5

Dureza e fraturabilidade de amostras extrusadas

Amostras	n° de picos	Força (N)
100QA	3,3 ^c ± 1,3	44,01 ^b ± 4,29
90QA10TM	10,2 ^a ± 1,6	38,87 ^b ± 4,28
80QA20TM	7,4 ^b ± 1,9	83,26 ^a ± 21,77

Valores médios ± desvio padrão (n = 3) com subscritos iguais abc na mesma linha não diferem significativamente (p ≤ 5; teste de Tukey). 100% quirera de arroz = 100QA; 90% quirera de arroz 10% de tremoço moído = 90QA10TM; 80% quirera de arroz e 20% de tremoço moído = 80QA20TM

Para a determinação da textura, quanto maior o número de picos maior a fraturabilidade e crocância do produto. Além disso, quanto menor a força de cisalhamento, menor a dureza do extrusado.

Quanto ao número de picos, a amostra 90QA10TM apresentou maior número de picos (10,2) dentre os três extrusados analisados. Já o extrusado 80QA20TM obteve um valor (7,4) intermediário, visto que o mesmo foi menor que a amostra 90QA10TM (10,2) e maior comparando-se com a amostra 100QA (3,3).

Em relação à força de cisalhamento empregada, foi necessário o uso de maior força (N) para efetuar a ruptura dos extrusados 80QA20TM (62,0), seguida das amostras 100QA (48,4) e 90QA10TM (37,9), não tendo sido observado diferenças significativas entre as medidas de força obtidas.

Um fator que determina a aceitabilidade de extrusados pelo consumidor é a textura, que deve apresentar baixos valores de dureza (ALVES & GROSSMAN, 2002; BORBA, *et al.*, 2005).

Assim, a amostra 90QA10TM foi a que apresentou maior fraturabilidade e menor força e, portanto, menor dureza e maior crocância.

Chen *et al.* (1991) relataram que a crocância, dureza e mastigação de extrusados estão associados com o índice de expansão dos mesmos. Em geral, a expansão dos produtos relaciona-se diretamente com a textura, sendo produtos com grande expansão mais crocantes.

Ao avaliar simultaneamente os dados de expansão e dureza dos produtos extrusados, percebeu-se que dentre as amostras com maior IE (100QA e 90QA10TM), a que apresentou maior crocância foi a 90QA10TM.

Outro parâmetro importante na avaliação da qualidade do produto extrusado é a determinação da cor das amostras antes e após o processo de extrusão. Assim na Tabela III. 6 estão apresentados os valores dos parâmetros de cor da escala CIE (L*, a*, b*) encontrados para os extrusados 100QA, 90QA10TM e 80QA20TM.

Quanto aos valores de luminosidade, pode-se observar que a matéria-prima quirera de arroz apresentou elevados valores deste parâmetro. Após o processo de extrusão, a luminosidade da amostra relacionada (100QA) reduziu significativamente ao comparar com a amostra de quirera de arroz cru, passando de 91,14 para 81,14, respectivamente. Ressalta-se ainda, que, os valores de luminosidade da amostra 100QA foram os menores quando comparados com todas as outras amostras estudadas (QA, TM, 90QA10Tm e 80QA20TM).

TABELA III.6
Características de cor CIE L*a*b* c* h* de matérias-primas e amostras de extrusados

Amostras	L*	a*	b*	c*	h*
QA	91,14 ^a ± 0,03	0,11 ^e ± 0,0	8,14 ^e ± 0,02	8,14 ^e ± 0,02	89,22 ^a 0,00
TM	84,31 ^d ± 0,06	4,03 ^b ± 0,04	32,08 ^a ± 0,15	32,33 ^a ± 0,15	82,82 ^d 0,07
100QA	81,14 ^e ± 0,05	5,02 ^a ± 0,02	20,73 ^c ± 0,05	21,32 ^c ± 0,04	76,36 ^e 0,09
90QA10TM	85,08 ^c ± 0,02	2,19 ^c ± 0,01	20,02 ^d ± 0,05	20,14 ^d ± 0,05	83,75 ^c 0,04
80QA20TM	86,24 ^b ± 0,08	1,65 ^d ± 0,03	22,21 ^b ± 0,08	22,27 ^b ± 0,08	85,73 ^b 0,10

O parâmetro L* indica luminosidade e a* e b* são as coordenadas de cromaticidade e indicam vermelho (+a*), verde (-a*), amarelo (+b*) e azul (-b*); c* indica a intensidade da cor; h* indica a tonalidade. Valores médios ± desvio padrão (n = 3) com subscritos iguais abc na mesma coluna não diferem significativamente (p ≤ 5; teste de Tukey). Quirera de arroz cru = QA; Tremoço moído = TM; 100% quirera de arroz = 100QA; 90QA10QT = 90% quirera de arroz 10% quirera de tremoço; 80QA20QT = 80% quirera de arroz e 20% quirera de tremoço.

Observou-se ainda, um aumento significativo deste parâmetro L* ao se elevar a concentração de tremoço nas amostras extrusadas, passando de 81,14 (100QA) para 85,08 na amostra 90QA10QT e finalmente para 86,24 na amostra 80QA20TM.

Para o parâmetro a*, percebeu-se uma relação inversa, pois estes valores reduziram à medida que a concentração de tremoço moído aumentou nas amostras extrusadas, passando de 5,02 na amostra 100QA (mais avermelhada) para 2,19 e 1,65 para as amostras 90QA10TM e 80QA20TM respectivamente. Além disso, parâmetros índices de a* aumentaram ao submeter as amostras de arroz ao processo de extrusão, visto que a quirera de arroz apresentou menores valores de a* ao se comparar com a amostra extrusada 100QA.

Quanto aos valores do parâmetro b*, não foi possível estabelecer uma relação com o acréscimo de tremoço nas misturas de quirera de arroz/tremoço moído. A amostra TM apresentou valores maiores para este parâmetro (32,08) quando comparado com as demais amostras, enquanto que a amostra QA apresentou os menores índices (8,14), indicando uma coloração mais amarelada para a amostra TM. Os valores determinados para 80QA20TM foram superiores (22,21) às demais amostras extrusadas, indicando maior grau de amarelo, o que seria esperado, visto que esta é a amostra extrusada que apresenta maior concentração de tremoço cru. A amostra 100QA apresentou valores intermediários (20,73) e significativamente maiores que a amostra 90QA10TM (20,02).

Quanto à intensidade da cor, observa-se que os valores de c^* foram maiores para a amostra TM e menores para a amostra QA, indicando que o tremoço moído apresentou maior intensidade de cor quando comparado com as demais amostras enquanto que a quirera de arroz apresentou menor intensidade.

Já os valores h^* indicam as tonalidades das amostras. Valores próximos de 0 indicam tonalidade vermelho, próximos de 90 amarelo, 180, verde e 270, azul. Assim, os valores encontrados para todas as amostras sugerem tonalidades próximas do amarelo, sendo observado aumento da tonalidade amarela a medida que se aumentou a concentração de tremoço nas amostras extrusadas.

Segundo Teba (2009) a formação da cor durante o processo de extrusão proporciona importante informação a respeito do grau de tratamento térmico, e está diretamente relacionada com a composição da formulação.

Estas alterações das cores observadas nos produtos extrusados podem ser devido à caramelização ou à reação de Maillard, principalmente em materiais que apresentam teores relativamente altos de açúcares redutores, favorecidos pelas condições de processamento ocorrendo escurecimentos dos produtos extrusados (BORBA *et al.*, 2005).

O aumento da luminosidade nos extrusados pode ser justificado pela redução do teor de amido nas amostras extrusadas ao adicionar tremoço moído. Como já dito anteriormente os grãos de tremoço apresentam teores muito baixos de açúcares redutores (0,86%) e amido (1,7%). Logo, estes grãos são pouco afetados pelas reações de caramelização e de Maillard. Assim ao aumentar a concentração de tremoço nas amostras de extrusados e diminuir a de arroz, reduz-se também o teor de amido e açúcares redutores dos extrusados, e por consequente, as reações de caramelização e de Maillard são minimizadas, justificando elevadas medidas do parâmetro luminosidade nos extrusados que contêm tremoço em sua composição.

Além disso, foram observados tons mais avermelhados na amostra 100QA e mais amarelados nas amostras que contem tremoço. Esta diferença na coloração era esperada visto que os grãos de tremoço branco apresentam uma coloração amarelada enquanto que o arroz apresentou uma coloração mais branca.

Não foram encontrados na literatura trabalhos que avaliaram a coloração de extrusados preparados a base de misturas de arroz e tremoço, entretanto, os resultados aqui obtidos não foram comparados com outros estudos que avaliaram matrizes alimentícias diferentes já que estas interferem significativamente nos parâmetros de cor.

O aspecto geral das matérias-primas e dos extrusados pôde ser avaliado pelas micrografias em microscópio eletrônico de varredura.

As imagens apresentadas na Figura III.3 são de matérias primas, quirera de arroz e tremoço moído antes de serem submetidas ao processo de extrusão.

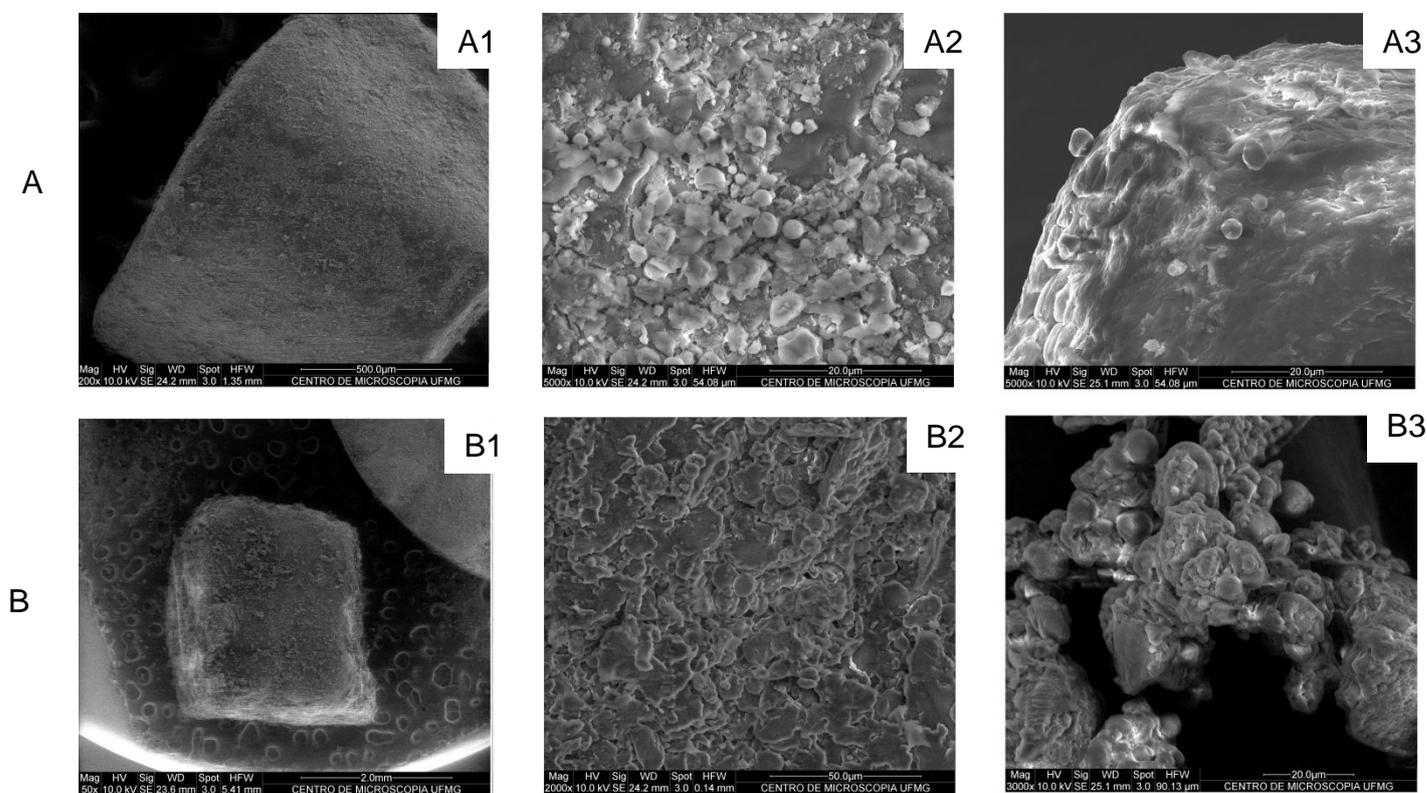


FIGURA III.3. Microscopia eletrônica de varredura de quirera de arroz e tremoço e suas respectivas farinhas. A = matriz arroz; A1 = quirera de arroz, 200x; A2 = superfície quirera de arroz, 5000x; A3 = farinha de arroz, 5000x. B = matriz tremoço; B1 = quirera de tremoço, 50x; B2 = superfície quirera de tremoço, 2000x; B3 = quirera de tremoço 3000x.

Percebe-se na Figura III.3 pequenos grânulos de amido nas superfícies das amostras de arroz (A2 e A3). Observa-se ainda que as amostras apresentaram-se estratificadas com espaços entre as partículas.

Já a Figura III.4 apresenta as imagens obtidas em microscópio eletrônico de varredura das amostras após o processo de extrusão.

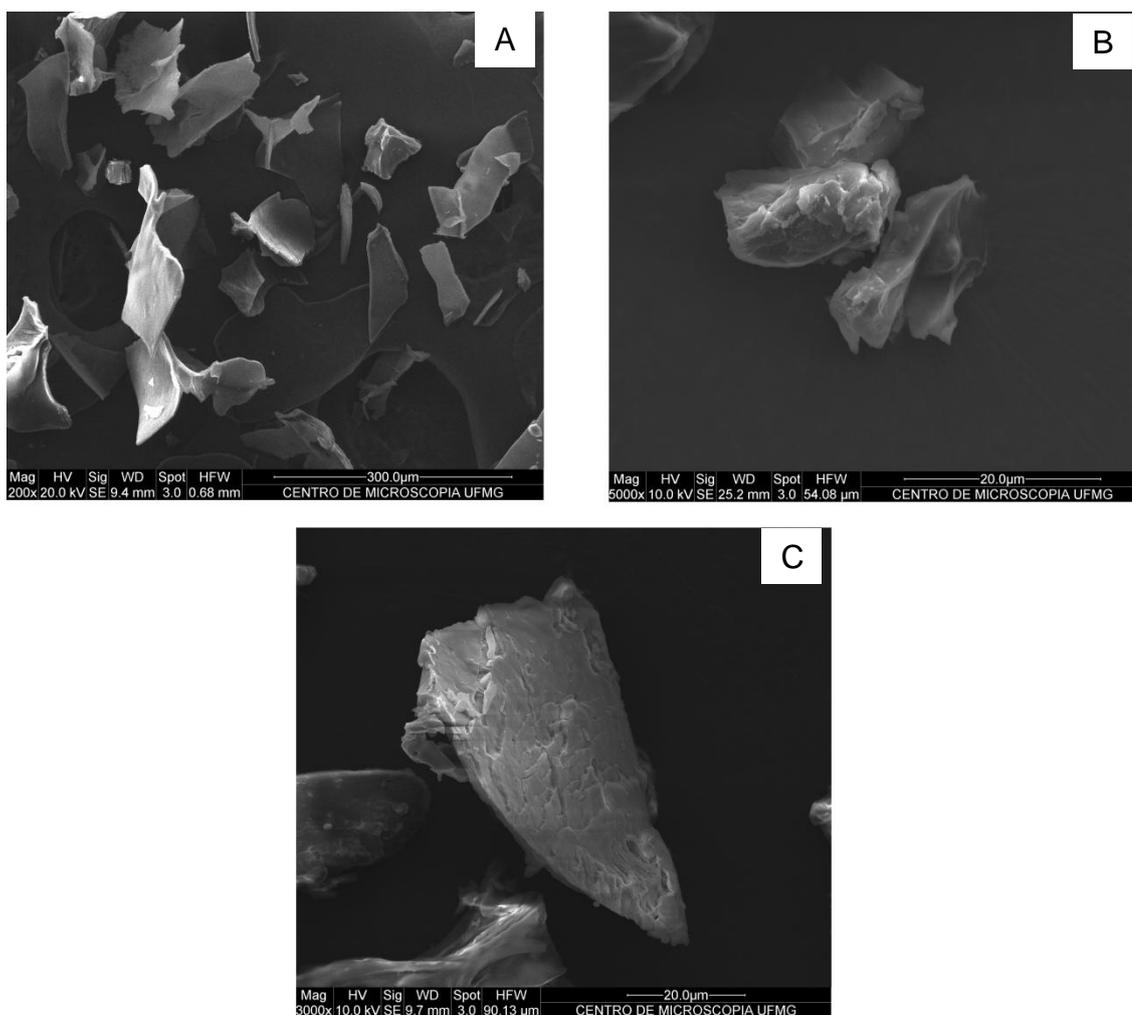


FIGURA III.4. Microscopia eletrônica de varredura das amostras extrusadas. A = 100QA, 200x B = 90QA10TM, 5000x C = 80QA20TM, 5000x

Na Figura III.4 as amostras se apresentaram mais compactas e não foi possível observar mais os grânulos de amido separadamente.

BORBA *et al.* (2005), ao avaliarem em microscópio eletrônico de varredura amostras de farinhas extrusadas de batata doce observou que estes produtos apresentaram aspecto de uma massa compacta, amorfa, não sendo possível distinguir grânulos de amido de material não amiláceo. Além disso, os extrusados apresentaram superfície irregular, contendo partes lisas, estriadas com alguns orifícios e outras mais irregulares, sendo justificadas provavelmente pela formação de bolhas de ar que são geradas durante a expansão do material.

Este aspecto de massa compacta, amorfa e sem grânulos de amido encontrado tanto nos extrusados deste estudo quanto nos estudos de BORBA, *et al.* (2005) pode ser justificado pelo fato de que durante a extrusão, o amido que inicialmente se

encontra na forma granular quando na presença de umidade, é progressivamente comprimido e transformado em um material denso, sólido, compacto, no qual a estrutura granular cristalina desaparece (COLONNA *et al.*, 1987).

Freitas & Leonel (2008) observaram, a partir de microscopia eletrônica de varredura em fécula de mandioca antes da extrusão, grânulos de amido em formas circulares, observando também alguns grânulos côncavo-convexos característicos, não sendo observada a presença de grânulos gelatinizados. No entanto, após a extrusão, não foi possível observar a presença de grânulos de amidos intactos. Estes autores puderam observar ainda a partir de microscopia óptica porções de coloração castanha, o que indica a degradação do amido em açúcares e o escurecimento não enzimático dos produtos.

Este último estudo confirma alteração observada nas amostras de tremoço e arroz antes e após o processo de extrusão e ainda justifica a redução da luminosidade e aumento de coloração avermelhada na amostra com maior concentração de amido (100QA).

CONCLUSÃO

Os extrusados preparados a partir da mistura quireira de arroz e tremoço moído promoveram uma melhora do perfil de aminoácido no produto final obtido.

Observou-se uma redução nos parâmetros de IE, IAA e ISA à medida que a concentração de tremoço aumentou, visto que houve uma redução no teor de amido, responsável pela expansão e gelatinização e assim melhor interação com a água. Amostras extrusadas com tremoço moído em sua composição apresentaram uma enorme alteração conformacional quando comparada com a amostra 100QA, inviabilizando seu uso como *snacks*. No entanto, estes extrusados com diferentes concentrações de tremoço moído podem ser utilizados como farinhas pré-gelatinizadas no preparo de diversos alimentos instantâneos, como sopas e macarrões.

As farinhas extrusadas apresentaram aumento da luminosidade à medida que a concentração de tremoço aumentou nas misturas a serem extrusadas, devido a redução do teor de amido e consequentemente minimização das reações de escurecimento como a caramelização e a reação de Maillard. A relação foi inversa ao se avaliar os valores do parâmetro a^* , no qual o aumento da concentração de tremoço ocasionou uma redução do parâmetro a^* , indicando que menores quantidade de

tremoço e conseqüentemente maiores teores de amido levaram a amostra 100QA apresentar uma coloração mais avermelhada.

Pela microscopia de varredura, observou-se uma redução da presença de grânulos de amidos após o processo de extrusão com presença de uma estrutura mais amorfa e compacta provenientes da gelatinização do amido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, R.M.L.; GROSSMANN, M.V.E. Parâmetros de extrusão para produção de “snacks” de farinha de cará (*Dioscorea alata*). **Ciênc. Tecn. Alimen.**, v. 22 (1), p. 32-38, 2002.
- ANDERSON R.A.; CONWAY, V.F.P.; GRIFFIN, E.L. Gelatinization of corn grits by roll-and extrusion-cooking. **Cereal Science Today**, v. 14 (1), p. 4-7, 1969.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists). **Official Methods of Analysis of the AOAC International**. 18th ed. Rev. 2. HORWITZ, W.; LATIMER JR., G.W. (Editors) Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2007.
- BORBA, A.M.; SARMENTO, S.B.S.; LEONEL, G. Efeito dos parâmetros de extrusão sobre as propriedades funcionais de extrusados da farinha de batata-doce. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v.25, n.4, p. 835-843, 2005.
- BOTARO, J.A. **Otimização para a obtenção de extrato aquoso de tremoço branco (*Lupinus albus L.*) adicionado de suco de pitanga**. 2010. 101f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Ciências Farmacêuticas UNESP. São Paulo, 2010.
- CARVALHO, A.V.; VASCONCELOS, M.A.M.; SILVA, P.A.; ASSIS, J.T.; ASCHERI, J.L.R. Caracterização tecnológica de extrusados de terceira geração à base de farinhas de mandioca e pupunha. **Ciênc. agrotec.**, v. 34 (4), p. 995-1003, 2010.
- CHEN, J.; SERAFIN, F. L.; PANDYA, R. N.; DAUN, H. Effects of extrusion conditions on sensory properties of corn meal extrudates. **J. Food Science**, v. 56 (1), p. 84-89, 1991.
- CLERICI, M.T.P.S. & EL-DASH, A.A. Características tecnológicas de farinhas de arroz pré-gelatinizadas obtidas por extrusão termoplástica. **Ciênc. agrotec.**, v. 32 (5), p. 1543-1550, 2008.
- COLONNA, P.; DOUBLIER, J.L.; MELCION, J.P., MONREDON, F.; MERCIER, C. Extrusion cooking and drum drying of wheat starch. I. Physical and macromolecular modifications. **Cereal Chem.**, v.61 (6), p.538-543, 1984.
- ERBAS, M.; CERTEL, M.; USLU, M.K. Some chemical properties of white lupin seeds (*Lupinus albus L.*) **Food Chem.** . v. 89, p. 341-345, 2005.
- FAUBION, J.M & HOSENEY, R.C. High temperature and short time. Extrusion-cooking of wheat starch and flour. I-Effect of moisture and flour type on extrudate properties. **Cereal Chem.**, v. 59 (6) p. 529-533, 1982.

- FELLOWS, P.J.; **Tecnologia do processamento de alimentos: princípios e práticas**. Editora Artmed, São Paulo, 602p. 2006.
- FERNANDES, M.S.; WANG, S.H.; ASCHERI, J.L.R.; OLIVEIRA, M.F.; COSTA, S.A.J. Produtos extrusados expandidos de misturas de canjiquinha e soja para uso como petiscos. **Pesq. agropec. bras.**, v. 37 (10) p. 1495-1501, 2002.
- FREITAS, T.S & LEONEL. M. Amido resistente em fécula de mandioca extrusada sob diferentes condições operacionais. **Alim. Nutr.**, v.19 (2) p. 183-190, abr./jun. 2008.
- IOM (INSTITUTE OF MEDICE), Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrate, Fiber, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids (Macronutrients). **National Academy of Sciences**. 2005.
- JUL, L.B.; FLENGMARK, P.; GYLLING, M.; ITENO, K. Lupin seed (*Lupinus albus* and *Lupinus luteus*) as a protein source for fermentation use. **Industrial Crops and Products**. V. 18 p.199-211, 2003.
- LAMPART-SZCZAPA, L.; LONIECZNY, P.; KAŁUCKA, M.N.; WALCZAK, S.; KOSSOWSKA, I.; MALINOWSKA, M. Some functional properties of lupin proteins modified by lactic fermentation and extrusion. **Food Chem.**, v. 96, p. 290-296, 2006.
- MACHADO, F. P. P. et al. Effects of heating on protein quality of soybean fl our devoid of Kunitz inhibitor and lectin. **Food Chem.**, v. 107, p 649–655, 2008.
- MAIA, L. H. et al. Viscosidade de pasta, absorção de água e índice de solubilidade em água dos mingaus desidratados de arroz e soja. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, v. 19 (3), p. 391-396, 1999.
- MARTINO, H.S.D., et al. Zinc and iron bioavailability of genetically modified soybeans in rats. **J. Food Science**, v. 72 (9), p. 689-695, 2007.
- MONTEIRO, M.R.P.; OLIVEIRA, C.T.; SILVA, L.S.; MENDES, F.Q.; SANT'ANA R.C.O. Efeito do tratamento térmico na digestibilidade, solubilidade e índice de atividade de urease e, tremçoço (*Lupinus albus* e *Lupinus angulifolius*). **Alim. Nutr.**, Araraquara. v. 21 (3), p. 487-493, 2010.
- MOURA, L.S.M.; ASCHERI, J.L.R.; SILVA, C.C.O.; MORO, T.M.A.; CARVALHO, J.L.V. NUTTI, M.R. Propriedades de absorção e solubilização de extrudados de farinha mista de feijão, milho e arroz biofortificados. **IV Reunião de Fortificação**. Teresina, 2011.
- PIMENTEL-GOMES, P. **Curso Estatística de Estatística Experimental**. Piracicaba: Nobel S.A., 1990. 467p.

- RIBEIRO, A.G. **Desenvolvimento de produto tipo Shake utilizando farinha de tremço doce (*Lupinus albus*) cv multolupa, descorticada e desengordurada.** 2006, 84p.(Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP, Araraquara, 2006.
- RUIZ, A.W.; BONATO, S.R.; ARRIECHE, L.S.; ALVES, F.V. Caracterização da farinha pré-gelatinizada de arroz integral produzida a partir de grãos quebrados. **Vetor** v. 26 (13) p. 25-46, 2003.
- SOARES Jr, M.S.; SANTOS, T.P.B.; PEREIRA, G.F.; MINAFRA, C.S.; CALIARI, M.; SILVA, F.A. Desenvolvimento de salgadinhos extrusados a partir de fragmentos de arroz e de feijão. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32 (1), p. 191-200, 2011.
- TEBA, C.S.; ASCHERI, J.L.R.; CARVALHO, C.W.P. Efeito dos parâmetros de extrusão sobre as propriedades de pasta de massas alimentícias pré-cozidas de arroz e feijão. **Alim. Nutr.**, v.20 (3), p. 411-426, 2009
- VAN BARNEVELD D.R.J. Understanding the nutritional chemistry of lupin (*Lupinus* spp.) seed to improve livestock production efficiency. **Nutrition Research Reviews** v.12, 1999.
- WHITE, C.E.; CAMPBELL, D.R.; MCDOWELL, L.R. Effects of dry matter content on trypsin inhibitors and urease activity in heat treated soya beans fed to weaned piglets. **Animal Feed Science and Technology**, v. 87 (1-2), p. 105-115, 2000.
- WANG, S.H.; BATISTA, G.S.; NASCIMENTO, T.P.; NASCIMENTO, K.L.; NASCIMENTO, M.R.F.; Efeitos dos parâmetros de extrusão na absorção de água e absorção de gordura de farinhas extrusadas de trigo e soja. **Alim. Nutr.**, v.20 (4), p. 641-647, 2009.
- WIRIYAUMPAIWONG, S.; SOPONRONNARIT, S.; PRACHAYAWARAKORN, S. Comparative study of heating processes for full-fat soybeans. **Journal of Food Engineering**, v. 65, p. 371-382, 2004.

CONCLUSÕES INTEGRADAS

Este trabalho demonstrou que é viável o emprego do tratamento térmico a seco sob o grão do tremoço, visto que este não afetou ou reduziu a qualidade nutricional do mesmo, sendo que as farinhas produzidas a partir do grão tratado termicamente foram consideradas segundo a Portaria nº. 27 de 1998 alimentos com alto teor de proteínas, fibras alimentares e ferro, e baixo teor de sódio. No entanto, o mesmo não pode ser observado para a conserva de tremoço, já que o calor úmido utilizado no tratamento térmico levou a perda de nutrientes e minerais e ainda, a preparação industrial favoreceu o aumento do teor de sódio comprometendo a qualidade nutricional do grão. Acrescenta-se ainda, que apesar da presença de alcaloide ter sido detectada em todas as amostras, os inibidores de tripsina foram encontrados em pequena quantidade.

Dentre os métodos de extração lipídica empregados no presente trabalho, não foi possível inferir qual deles (a frio ou a quente) promoveu a maior quantificação dos ácidos graxos constituintes do perfil lipídico das amostras de tremoço. Entretanto, em relação ao processo de esterificação desta fração lipídica, o emprego da catálise ácida contribuiu para atingir índices mais elevados dos ácidos graxos. Independente das metodologias de preparo das amostras empregadas no presente trabalho, o perfil lipídico obtido por CG foi caracterizado pela presença de nove ácidos graxos, sendo cinco saturados, quatro insaturados e maior presença de ácido oleico (63%).

O emprego do tremoço moído em diferentes proporções com quirera de arroz possibilitou a obtenção de extrusados ricos em amido e com elevado teor de aminoácidos essenciais. Entretanto, o aumento da concentração de tremoço a esta mistura, afetou as características tecnológicas dos extrusados, com uma redução dos parâmetros IE, IAA, ISA, diminuindo a capacidade de expansão e gelatinização dos produtos obtidos inviabilizando seu uso como *snacks*. No entanto, estes extrusados com diferentes concentrações de tremoço moído podem ser utilizados como farinhas pré-gelatinizadas no preparo de diversos alimentos instantâneos, como sopas e macarrões.

Utilizando a microscopia de varredura, foi possível avaliar uma redução da presença de grânulos de amidos após o processo de extrusão, identificando-se uma estrutura mais amorfa e compacta provenientes da gelatinização do amido.