

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

FRACIONAMENTO DA PROTEINA E ESTUDO
TERMOANALÍTICO DAS LEGUMINOSAS: GRÃO DE BICO (*Cicer
arietinum*), VARIEDADE CÍCERO E TREMOÇO BRANCO (*Lupinus
albus* L.)

Juliana Prudenciano Molina

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Paschoal Batistuti

ARARAQUARA - SP

2010

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CÂMPUS DE ARARAQUARA

FRACIONAMENTO DA PROTEINA E ESTUDO
TERMOANALÍTICO DAS LEGUMINOSAS: GRÃO DE BICO (*Cicer
arietinum*), VARIEDADE CÍCERO E TREMOÇO BRANCO (*Lupinus
albus* L.)

Juliana Prudenciano Molina

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós Graduação em Alimentos e
Nutrição da Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade Estadual Paulista “Júlio de
Mesquita Filho” para a obtenção do título de
Mestre em Alimentos e Nutrição, área de Ciência
dos Alimentos.

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Paschoal Batistuti

ARARAQUARA - SP

2010

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
UNESP – Campus de Araraquara

M722f Molina, Juliana Prudenciano
Fracionamento da proteína e estudo termoanalítico das leguminosas :
grão de bico (*Cicer arietinum*), variedade Cícero e tremoço branco (*Lupinus
albus* L.). / Juliana Prudenciano Molina. – Araraquara, 2010.

57 f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de
Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação
em Alimentos e Nutrição

Orientador: José Paschoal Batistuti

CAPES: 50700006

Juliana Prudenciano Molina

FRACIONAMENTO DA PROTEÍNA E ESTUDO TERMOANALÍTICO DAS
LEGUMINOSAS: GRÃO DE BICO (*Cicer arietinum*), VARIEDADE CÍCERO E
TREMOÇO BRANCO (*Lupinus albus* L.)

Dissertação de Mestrado

Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Departamento de Alimentos e

Nutrição - UNESP- Campus Araraquara

Área de concentração: Ciência de Alimentos

Banca examinadora

Presidente: Prof. Dr. José Paschoal Batistuti (FCFAR/UNESP)

Membros

Prof. Dr. Jonas Contiero (IB/UNESP)

Prof. Dr. Rubens Monti (FCFAR/UNESP)

Dedico:

*Ào meu querido irmão, Vítor Eduardo Molina Junior, por sempre
me incentivar e auxiliar na minha vida pessoal e profissional e
principalmente, por nunca permitir que eu desistisse dos meus sonhos.*

Valeu Tão!

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, pelo dom da vida, por me amparar nos momentos mais difíceis e me dar força interior para a realização de mais essa etapa.

Aos meus pais, Victor Eduardo e Maria Rita, os quais amo muito, pelo apoio e incentivo nos estudos, sendo exemplo para mim de força e determinação. Estas duas pessoas com muito amor, discernimento e dedicação estiveram ao meu lado me encorajando nas horas difíceis e me aplaudindo nos momentos de glória. Obrigada por serem meus pais!

À minha irmã Gabriela pela amizade, carinho, sabedoria e paciência.

Meu muito obrigado ao meu orientador e mestre Professor José Paschoal Batistuti, por aceitar me orientar, pela amizade, pela paciência e pela contribuição para o meu crescimento profissional acreditando no desenvolvimento desse projeto.

Ao meu amigo Gustavo Guadagnucci Fontanari, pela grande colaboração na execução desse trabalho.

À amiga Juliana Aparecida Botaro, pela amizade e companheirismo.

Às técnicas, Lica e Mara, por toda ajuda, paciência e amizade.

À todos os professores do mestrado que contribuíram muito na minha formação acadêmica, pela oportunidade de crescimento, aprendizado e pela confiança em mim depositada.

Aos amigos da química pela análise das amostras, pelo convívio, aprendizado e incentivo à pesquisa.

Aos amigos da Empresa Florestana, que indiretamente contribuíram muito para a concretização do mestrado me estimulando a realização desta pesquisa. Meu obrigado especial, ao Sr. Miguel e Sr. Benedito.

À Engenheira Agrônoma Débora Carvalho por sempre atender às minhas necessidades, compreendendo e me auxiliando na flexibilidade de horário para a realização do mestrado. Muito obrigada!

Ao Engenheiro Fábio Scalize pela amizade, ajuda e compreensão.

Enfim, agradeço também a todas as pessoas que não tiveram os nomes citados, mas que de certa forma, me ajudaram a concretizar este sonho, colaborando com idéias, sugestões, críticas ou apenas com carinho, amizade e afeto. Muito obrigada!

Sumário

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE SIMBOLO

RESUMO

ABSTRACT

	Pág.
1 – INTRODUÇÃO	10
2 – OBJETIVOS	15
3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1-Importância das leguminosas na indústria de alimento	16
3.2 - Leguminosa	18
3.3 – Grão-de-Bico	20
3.4 – Tremoço	23
3.5 – Análise Térmica	26
4. Material e métodos	29
4.1 – Material	29
4.1.1 Grão-de-bico e Tremoço	29
4.2 - Métodos	29
4.2.1 – Preparo das farinhas	29
4.2.1.1 – Desengorduramento das farinhas	30
4.2.2 – Análise da Composição química das farinhas	30

4.2.2.1 – Umidade	30
4.2.2.2 – Proteína	31
4.2.2.3 – Lipídeos totais	31
4.2.2.4 – Cinzas	31
4.2.3 – Otimização da extração da proteína da farinha de Grão – de – bico	31
4.2.3.1 – Efeito da proporção massa volume da farinha vs extrator	31
4.2.3.2 – Efeito do tempo de homogeneização na solubilidade da proteína	31
4.2.3.3 – Efeito do pH na solubilidade da proteína	32
4.2.4 – Extração das Frações protéica da farinha de Grão-de-bico	32
4.2.5 - Extração das Frações protéica da farinha de Tremoço	33
4.2.6 – Diálise	33
4.2.7 – Análise térmica, obtenção das curvas TG, DTA e DSC	35
5 – Resultado e discussão	36
5.1 – Composição química da farinha de Grão-de-bico	36
5.1.1 – Otimização da extração da farinha de Grão-de-bico desengordurada	37
5.1.2 – Resultado do fracionamento das frações protéicas	40
5.1.3 – Análise térmica, obtenção das curvas TG, DTA e DSC	41
5.2 - Composição química da farinha de Tremoço	44

5.2.1 - Otimização da extração da farinha de Tremoço desengordurada	45
5.2.2 - Resultado do fracionamento das frações protéicas	47
5.2.3 - Curvas DSC do Tremoço	48
6. – Conclusão	51
7. – Referência Bibliográfica	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição química da farinha de grão-de-bico, cultivar Cícero, decorticada e desengordurada	36
Tabela 2. Efeito da proporção massa-volume na extração da proteína da farinha de grão-de-bico, cultivar Cícero.	37
Tabela 3. Efeito do tempo de homogeneização na solubilidade da proteína da farinha de grão-de-bico, cultivar Cícero.	38
Tabela 4. Composição das frações protéicas da farinha de grão-de-bico, cultivar Cícero.	40
Tabela 5. Resultados experimentais, de calorimetria diferencial exploratória (DSC), para as frações protéicas obtidas a partir do grão-de-bico.	41
Tabela 6. Composição química da farinha de tremoço <i>Lupinus albus</i> , decorticada e desengordurada.	44
Tabela 7. Efeito da proporção massa-volume na extração das proteínas da farinha de Tremoço.	45
Tabela 8 - Efeito do tempo de homogeneização na solubilidade das proteínas da farinha de tremoço.	46
Tabela 9. Composição das frações protéicas da farinha de tremoço, <i>Lupinus albus</i> .	48
Tabela 10. Resultados experimentais, de calorimetria diferencial exploratória (DSC), para as frações protéicas obtidas a partir do tremoço.	49

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1-** Fluxograma do processo de obtenção das farinhas de Grão-de-Bico e Tremoço. 30
- Figura 2-** Esquema de extração das frações protéicas do grão-de-bico e do tremoço: globulinas, albuminas, prolaminas e glutelinas. 35
- Figura 3-** Efeito do pH em concentração de H₂O na solubilidade das proteínas da farinha de grão-de-bico, cultivar Cícero. A relação massa volume foi de 1:50 e os pHs ajustados com NaOH ou HCl e a proteína quantificadas pelo método de Kjeldhal. 39
- Figura 4-** Efeito do pH em concentrações de NaCl na solubilidade das proteínas da farinha de grão-de-bico, cultivar Cícero. A relação massa volume foi de 1: 50 e os pHs ajustados com NaOH ou HCl e a proteína quantificadas pelo método de Kjeldhal. 39
- Figura 5 -** Curvas DSC dos das frações protéicas obtidas a partir da farinha de grão de bico. $m_i= 3 \text{ mg}$; $\beta= 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$; vazão de gás: 50 mL min^{-1} ; cadinho de Al, tampado e perfurado ($\Phi= 1,0 \text{ mm}$). 42
- Figura 6 -** Curva TG-DTA e DTG da fração globulina do grão-de-bico $m_i= 3 \text{ mg}$; $\beta= 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$; vazão de gás: 50 mL min^{-1} ; cadinho de cerâmica. 44
- Figura 7 -** Curvas de solubilidade da proteína da farinha de tremoço em função do pH (1,0 a 12,0) e concentração de NaCl variando entre 0,5 a 1,0 mol L⁻¹. T= $25 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$. 47
- Figura 8 -** Curvas DSC dos das frações protéicas obtidas a partir da farinha de tremoço. $m_i= 3 \text{ mg}$; $\beta= 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$; vazão de gás: 50 mL min^{-1} ; cadinho de Al, tampado e perfurado ($\Phi= 1,0 \text{ mm}$). 49

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

HCl – ácido clorídrico

NaCl – cloreto de sódio

NaOH – hidróxido de sódio

H₂O - água

Al - alumínio

pH – potencial hidrogeniônico

mg – miligramas

g – gramas

mL - mililitro

DSC – Differential scanning calorimetry

TG – Thermogravimetric

TGA - Thermogravimetric Analysis

% - porcentagem

ΔH – entalpia

Jg^{-1} - quilo joule

RESUMO

No presente trabalho, objetivou-se a determinar a composição química da farinha da semente de grão-de-bico, cultivar Cícero e do tremoço branco; o estabelecimento de condições de extração das proteínas; a separação das diferentes frações protéicas e caracterizou o comportamento térmico das frações protéicas. A composição química da farinha do grão-de-bico revelou valores de 18,72% de proteína, 10,02 % de umidade, 2,96% de cinzas e 2,6% de extrato etéreo. Já a composição química do tremoço revelou valores de 49,88% de proteína, 8,1% de umidade, 1,54% de cinzas e 2,94% de extrato etéreo. As frações do o grão-de-bico, cultivar Cícero, de maior conteúdo protéico foram a globulina com 88,67%, seguida da glutelina 74,78% e albumina 61,69% e prolamina 7,75%. Para o tremoço branco as frações de maiores conteúdos protéicos foram a albumina 91,33%, seguida da glutelina 89,24% e globulina 41,37%. O valor de energia gasta no processo endotérmico para o evento de desnaturação da proteína das frações protéicas do grão-de-bico, cultivar Cícero, expressos em $\Delta H/Jg^{-1}$ é 190,3 para albumina, 154,3 para globulina, 140,4 para glutelina e 35,97 para prolamina. Para as frações protéicas do tremoço branco os valores expressos em $\Delta H/Jg^{-1}$ é 173,6 para albumina, 208,8 para globulina e 126,0 para glutelina. O $\Delta H/Jg^{-1}$ para prolamina não foi determinado.

Palavras chave: frações protéicas, DSC, TG/DTG-DTA

ABSTRACT

The present study aimed to determine the chemical composition of the chickpeas, grow cicero and white lupine seed flour and the establishment of conditions for protein extraction, separation of different protein fractions and characterized the behavior thermal of the protein fractions. Now chemical composition of chickpeas flour revealed values of 18.72% protein, 10.02% moisture, 2.96% ash and 2.6% ether extract. Now the chemical composition of lupine revealed values of 49.88% protein, 8.1% moisture, 1.54% ash and 2.94% ether extract. The fractions for the chickpeas, Cicero is growing, of larger protein content were is globulin with 88.67%, followed by glutelin and albumin 74.78% 61.69% and 7.75% prolamin. For the white lupine, the fraction of larger protein content were is albumin 91.33%, followed by glutelin and globulin 89.24% 41.37%. The amount of energy expended in the endothermic process in the event of protein denaturation of the protein fractions of chickpeas, grow Cicero expressed in $\Delta H/Jg-1$ is 190.3 for albumin, globulin to 154.3, 140, 4 to 35.97 for glutelin and prolamin. For the protein fractions of white lupine values in $\Delta H/Jg-1$ is 173.6 for albumin, globulin and 208.8 to 126.0 for glutelin. The $\Delta H/Jg-1$ to prolamin not determined.

Keywords: protein fractions, DSC, TG/DTG-DTA

1 - INTRODUÇÃO.

A crescente tendência de mercado na fabricação e formulação de alimentos industrializados tem incentivado novas buscas de fontes protéicas, a fim de aumentar o valor nutritivo e as propriedades organolépticas dos alimentos. As proteínas, devido sua grande importância nutricional e suas características físico-químicas, são componentes importantes em muitos alimentos industrializados (DUARTE et al, 1998a; DUARTE et al, 1998b).

As indústrias brasileiras, buscando melhor rendimento e competitividade de mercado em nível nacional e internacional, vêm implantando e usando programas de controle e garantia de qualidade, visando alternativa eficaz para enfrentar a demanda e a concorrência, também buscam melhorar a situação econômica na produção do produto, evitando perdas durante o processamento, minimizando o tempo de processo e diminuindo os custos da empresa, elevando sua competitividade de mercado e reduzindo os preços para o consumidor final (WANG et al, 2000).

Uma alternativa encontrada por empresários e pesquisadores para suprir a demanda e viabilizar novos produtos tem sido o aproveitamento total da matéria prima e seus subprodutos durante o processamento (BASTOS, 1989). Estudos realizados com alimentos de origem vegetal vêm enfocando a caracterização e perfil dos nutrientes presentes nas sementes dos vegetais como fonte de proteína alternativa na dieta humana.

De acordo com POLLONIO (1998), o estudo de novas fontes protéicas com o objetivo de utilizar suas propriedades funcionais no processamento de alimentos pode ser justificado por razões de ordem econômica e tecnológica. Uma dessas fontes com grande potencial de utilização é o resíduo do processamento industrial de empresas alimentícias como, por exemplo, semente de tomate (LIADAKIS et al, 1995).

A utilização de novas fontes, de custos menores, que possam substituir ou simular alimentos protéicos tradicionais depende do conhecimento das propriedades funcionais das suas proteínas e do seu comportamento em determinado sistema alimentar.

As sementes utilizadas como alimento tem sido objeto de estudo devido à presença de alta concentração de proteína e principalmente pela falta de conhecimento na aplicabilidade e utilização na dieta humana. Alimentos preparados a partir de novos compostos ou fontes de proteínas como, concentrados e isolados protéicos, requerem estudos para obter melhor entendimento quanto ao seu comportamento em diversos tipos de sistemas alimentares. Algumas sementes, contendo alto teor de proteínas, têm sido alvo de pesquisas, como é o caso da lentilha (NEVES e LOURENÇO, 1995); do tremoço (LQARI et al, 2002); amaranto (ABUGOCH et al, 2003); tomate (LIADAKIS et al, 1995), entre outros. A caracterização de propriedades dessas proteínas é necessária para fundamentar os estudos básicos e aplicados sobre proteínas dessas sementes (NEVES e LOURENÇO, 1998).

A saúde de uma população tem como requisito à ingestão de alimentos que ofereçam quantidade suficiente de nutrientes qualitativamente necessários para o seu crescimento e manutenção de suas necessidades metabólicas básicas. A provisão de alimentos no mundo, principalmente proteínas, está precária e se a população continuar crescendo como previsto, 7 a 8 bilhões no século XXI, faltas localizadas serão antecipadas (FAO, 1982).

A FAO estimou para o ano de 2009, 1020 milhões de pessoas desnutrida no mundo, sendo essa a marca mais elevada desde 1970. No Brasil durante o ano de 2004 a 2006 o numero de pessoas desnutrida foi de 11,9 milhões.

O Brasil, a partir de 1940, apresentou um crescimento acelerado de sua população, persistindo até a década de 1970. Atualmente, as condições de saúde de sua população brasileira são consideradas insatisfatórias não atentando para a evidente desproporção entre o panorama sanitário brasileiro e o índice de crescimento econômico observado a cada ano. Considerando o índice de mortalidade infantil, o qual segundo a FAO/OMS (DUARTE et al, 1998) é um indicador do estado nutricional, o Brasil apresentava valores superiores em relação aos países com idênticos índices de desenvolvimento (DUARTE et al, 1998).

De acordo com o ministério da saúde o Brasil atingirá a Meta do Milênio de redução da mortalidade infantil antes do prazo estabelecido pela Organização das Nações Unidas (ONU). Segundo o Ministério, o país reduzirá dos atuais 21,2 óbitos por mil nascidos vivos para 14,4 até 2012, três anos antes da data prevista pela ONU (2015). Além disso, a taxa prevista para 2012 no Brasil é 0,5 menor do que a fixada como parâmetro para os 191 países membros da ONU atingirem até 2015, que é de 14,9 óbitos por mil nascidos vivos.

A desnutrição protéico-calórica juntamente com a necessidade de recuperação de sobras da indústria de alimentos, tendo em vista os problemas ambientais que causam; o alto custo da energia gasta para a produção de alimentos, especialmente os de origem animal; a limitação imposta em relação às suas áreas passíveis de serem utilizadas em atividades agropecuárias tem conduzido a procura de novas fontes de alimentos, em geral, e de proteínas em particular (ANON, 1974; BOURNE, 1968 e FAO, 1982).

Portanto, além da melhor distribuição de alimentos, solução do âmbito político-social, há necessidade de aumentar-se à quantidade de alimentos protéicos, através,

principalmente, da maior e melhor utilização de fontes protéicas não convencionais ou subutilizadas (ARÊAS e LAWRIE, 1984; FAO, 1971).

O número de alternativas apresentadas para aumentar a provisão de proteínas é grande, bem como o melhoramento do seu valor nutricional, conseqüentemente, um crescente número de investimento tem-se concentrado em busca de novas fontes sendo que as proteínas de sementes oleaginosas, grãos, peixe, legumes, algas e folhas têm sido objeto de estudo (ACQUISTUCCI et al, 1991).

As proteínas de oleaginosas, grãos, leguminosas, peixes, microrganismos, algas, folhas e até a utilização de subprodutos da indústria da carne tem sido proposto para aumentar o suprimento de proteínas e o valor nutricional dos alimentos (FAO, 1982).

A magnitude das necessidades mundiais estimula o conhecimento e exploração das viabilidades de todas as fontes de proteína (ABUGOCH et al, 2003).

Ainda quando se tem reconhecido o alto valor biológico de proteínas do leite, ovos e carne, a sua produção é menos econômica do que as proteínas vegetais (ABUGOCH et al, 2003). Calcula-se de 3 a 6 vezes a quantidade de área necessária para a produção de proteína animal comparada com a mesma quantidade de área necessária para a produção de proteínas vegetais. A quantidade de proteína expressa em libras/área/ano obtidas varia com a produtividade: de 600 para ervas em geral; 370 para feijões; 269 para trigo, mas somente 90 para leite e apenas 54 para a produção de carne (LIADAKIS et al, 1995).

Os dois maiores fatores determinantes da provisão de alimentos mundial são a densidade demográfica e a disponibilidade de área cultivável. Considerando que a população mundial de 7 a 8 bilhões de habitantes para o início do próximo século é

estimada para 12 bilhões para o ano de 2025, seria necessária uma área cultivável três vezes maiores, o que excede a área disponível (MYERS, 1971). Enquanto a produtividade pode ser expandida e as perdas diminuídas, a provisão total de alimentos não pode ser obtida através de alternativas convencionais (HORAN, 1974).

Devido ao alto custo de produção e a ineficiência da conversão de proteínas animais, parece viável o direto consumo de proteínas vegetais. Entretanto novos processos são necessários para a produção de novos produtos (FAO, 1982).

Embora as proteínas vegetais sejam relativamente bem distribuídas em vários países, pouca inovação na sua preparação como produtos alimentícios têm sido realizadas. Nos últimos 25 anos numerosos esforço tem sido dispendido para aumentar o consumo de proteínas vegetais através de produtos nutricionalmente balanceados (FAO, 1982).

2 - OBJETIVOS.

O objetivo principal desse estudo foi avaliar o comportamento termoanalítico das frações da proteína de grão-de-bico e tremoço, para tanto os objetivos específicos são:

2.1- Determinação das condições de extração da proteína da farinha obtida a partir da semente de grão-de-bico e tremoço.

2.2- Fracionamento das proteínas presentes nas farinhas;

2.3- Caracterização de algumas propriedades térmicas das frações protéicas: globulina, albumina e glutelina, obtidas, a partir de variedade de grão-de-bico e de tremoço.

3 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Importância das leguminosas na indústria de alimento.

A indústria de alimentos tem realizado grande esforço e investimento no desenvolvimento de substitutos da carne, através da introdução das proteínas vegetais (HORAN, 1974).

O desenvolvimento econômico e as circunstâncias da época foram indicativos de que a importância das proteínas vegetais aumentaria rapidamente nos países industrializados, enquanto que a demanda para proteína de carne e peixe aumentaria muito vagarosamente (HORAN, 1974).

Vários autores têm demonstrado a alta probabilidade das proteínas vegetais tornarem-se comercialmente disponíveis como produtos que simulam a carne, via texturização (HOLMES, 1973; HARPER, 1979; HASSID e NEUFELD, 1964)

O uso da extrusão termoplástica tem tido grande sucesso com uma tecnologia para texturizar proteínas vegetais desengorduradas produzindo uma estrutura fibrosa semelhante à da carne, propiciando assim o uso extensivo deste processo para a produção de análogos da carne.

A extrusão termoplástica é uma ferramenta tecnológica de múltiplas aplicações, tanto para o preparo de alimentos prontos (*snacks*, macarrão), como para a produção de novos ingredientes para a indústria de alimentos (amidos modificados, farinhas pré-cozidas para uso em panificação, proteínas vegetais texturizadas).

Ao lado de outros benefícios tecnológicos, comuns a todo processamento térmico, como a destruição de substâncias tóxicas e antinutricionais e o aumento da digestibilidade e a inativação de enzimas, a extrusão termoplástica oferece a

possibilidade de modificar as propriedades funcionais dos alimentos (CANNIATTI-BRAZACA e SILVA, 2004).

Esta nova categoria de produtos alimentícios foi designada pela Food And Drug Administration (FDA-USA) como “produtos protéicos” “texturizados” (ALTSCHUL, 1974), um termo genérico o qual inclui uma larga faixa de proteínas elaboradas em diferentes processos.

Numerosos processos para texturização de proteínas vegetais foram descrito como patente na literatura (GUTCHO, 1973; HANSON, 1974), embora a metodologia mais utilizada consista na texturização da proteína por extrusão sob aquecimento e pressão. A extrusão basicamente envolve a plasticidade do material protéico com baixa taxa de umidade, através da aplicação de força de cisalhamento e pela curta permanência em alta temperatura (KINSELLA, 1978).

Os concentrados e farinhas que apresentam de 30 a 75% de conteúdo protéico podem facilmente produzir produtos texturizados (KINSELLA, 1978).

Um considerável número de matérias-primas pode ser utilizado como fonte de proteínas para a produção de alimentos texturizados, desde as sementes oleaginosas, soja, algodão, milho, girassol, cereais como trigo e as leguminosas; bem como as proteínas de origem microbiana e as folhas em geral.

A importância nutricional das leguminosas como fonte econômica de proteínas e outros nutrientes têm sido reconhecidas em vários estudos (LQARI et al, 2002; PARK e BARJA, 1974).

As leguminosas foram consideradas como o primeiro candidato na provisão de proteínas para as áreas subnutridas do mundo. As sementes contêm cerca de 2 a 3 vezes mais proteínas do que os cereais (BOURNE, 1978).

3.2- Leguminosas

Os grãos de leguminosas fazem parte de um conjunto de espécies que pertencem à família *Fabaceae*, também conhecida como *Leguminosae*.

A família das leguminosas é constituída da aproximadamente 16 a 1900 espécies, sendo, no entanto, cerca de apenas 20 delas realmente utilizadas na alimentação humana; este fato é decorrente de aspectos culturais e econômicos (SGARBIERI, 1980). As sementes das leguminosas utilizadas na alimentação contem cerca de 20 a 30 % de proteína, com exceção a semente de soja cujo teor protéico situa-se em torno de 40% (SINGH et al, 1992). As características de solubilidade das proteínas das sementes variam em função da espécie, variedade, cultivar e condições experimentais tais como: tipo e concentração salina, pH e temperatura (NEVES et al, 1998, SATHE e SALUNKHE, 1981; SGARBIERI, 1980; SILVA,1997). Globulina e albumina correspondem 80% da proteína total, sendo 60 a 80 % destas representado pelas primeiras, solúveis em soluções salinas; proteínas de reserva da semente e o restante da albumina, solúveis em água, e com constituição mais complexa de proteína metabólica. Essas proporções diferem entre espécies e variedades de leguminosas justificando as distintas propriedades funcionais e o valor nutricional. (MECHI et al, 2005).

Apesar do alto valor protéico apresentado pelas leguminosas, a digestibilidade e o valor nutricional das mesmas são baixos quando comparados com fontes protéicas de origem animal. Isso ocorre em virtude da deficiência de aminoácidos sulfurados, das características estruturais das principais proteínas e presença de fatores antinutricionais como os inibidores de tripsina e lectinas (SANTOS, 2006).

Algumas espécies de leguminosas, como a soja e o feijão vem sendo muito

estudadas em virtude da importância econômica e expansão de cultivo dessas culturas. Outras como é o caso do grão-de-bico e do tremoço, apesar de seus significados nutricionais e econômicos são poucas as pesquisas realizada na área de alimentos. No Brasil a espécie mais utilizada é o feijão comum (*Phaseolus vulgaris*), a ervilha (*Pisum sativum*), e a lentilha (*Lens esculenta*). A soja (*Glycine Max*) e o amendoim (*Arachis hipógea*), embora com grande produção são pouco utilizados na alimentação humana a não ser na forma de óleo comestível e produtos industrializados (SGARBIERI, 1980). O grão-de-bico (*Cicer arietinum L.*) e tremoço (*Lupinus*) são cultivados em menor extensão e sua utilização na alimentação humana ainda é muito pequena, principalmente devido à questão cultural de hábitos alimentares.

3.3 Grão-de-Bico

O grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) é uma leguminosa comestível, pertencente à família das Fabaceae, da ordem Fabales, conhecida desde a antiguidade, ou seja, desde o início da Era cristã. É originário da região compreendida entre o norte da Pérsia, o sul da Cáucaso e a Grécia. Trata-se da primeira leguminosa a ser cultivada pelo homem entre o ano 6000 e 7000 a.C. (Cubero, 1987).

As variedades de grão-de-bico (*Cicer arietinum* L.) podem ser classificadas do ponto de vista científico em dois grupos: desi e kabali (BRAGA B et al, 1992.; MANARA et al, 1992). As do grupo desi apresentam sementes pequenas com pericarpo de cor amarela ou negro e formas angulares e de superfície áspera. O desi se estendeu pela Ásia e África, e na atualidade representa 85% da produção mundial. As do grupo kabuli são geralmente constituídas de sementes de tamanho médio a grande, mais ou menos arredondados e enrugados, e de cor claro com forma de cabeça de carneiro. Outra característica marcante entre os grupos é a presença de flores de coloração branca no grupo kabuli. (FERREIRA et al, 2006).

No Brasil as cultivares comerciais mais difundidas são as cultivares BRS Cícero, e a cultivar IAC Marrocos. A cultivar BRS Cícero foi selecionada a partir de introduções oriundas do México, é pertencente ao grupo KABULI e é produzida pela Embrapa, já a cultivar IAC Marrocos é produzida pelo IAC.

O grão-de-bico (*Cicer arietinum*, L) é a quinta leguminosa importante no mundo tendo em vista a sua produção total de grãos situados após a produção de soja, amendoim, feijão e ervilha (BOURNE, 1978).

Atualmente, a nível mundial, 90% da produção mundial ocorrem na Índia e Paquistão, mas o grão-de-bico apresenta significativa produção em países como Líbano, Turquia, Síria, Iran, Bangladesh e Nepal, assim como no México Canadá e Austrália. (FAO, 2005).

O Brasil é um país com grande potencial para a produção desta leguminosa, graças ao clima e a extensão territorial. O grão-de-bico (*Cicer arietinum L.*) é produzido, principalmente, na região Sul por ser uma planta de origem asiática, de regiões muito frias; não tolera chuvas razão pela qual não se adapta aos trópicos úmidos, onde não ocorre a floração. Apesar disso, existem variedades que podem se adaptar às condições do cerrado e, além disso, com uma produtividade muito boa, acima das médias mundiais.

A cultivar Cícero, utilizado neste estudo ainda é muito pouco pesquisada, quando comparada com variedades IAC Marrocos. Porém no geral, o grão-de-bico é fonte de proteínas, carboidratos, minerais, vitaminas e fibras. Diferencia-se das outras leguminosas por sua digestibilidade, baixo teor de substâncias antinutricionais, além de apresentar a melhor disponibilidade de ferro. CANNIATTI-BRAZACA e SILVA, 2004, pesquisando diversas leguminosas (feijão comum, feijão-branco, feijão-preto, ervilha, soja, lentilha e grão-de-bico) encontraram a melhor disponibilidade de ferro para o grão-de-bico.

O consumo do grão-de-bico ainda é muito limitado no Brasil, quando comparado a outras leguminosas como o feijão (AVANCINI et al, 1992). O grão-de-bico é uma leguminosa que tem, nutricionalmente, grande potencial a ser explorado, a fim de minimizar as deficiências protéicas e minerais da população, uma vez que o grão-de-bico é boa fonte de minerais (P, Mg, Fe, K, Co, Mn) (AVANCINI et al, 1992).

O conteúdo total de proteína da semente de grão-de-bico é de 20,5 a 30,5 % apresentando um valor médio de 21,5% (FAO, 1971). A análise do computo químico dos aminoácidos, revelou a deficiência primeiramente de aminoácidos sulfurados seguido dos aminoácidos valina, treonina e triptofano. Alguns autores como (MILNER, 1972) têm demonstrado que o triptofano é o primeiro aminoácido limitante a proteína padrão enquanto que a FAO demonstrou que o triptofano e valina são igualmente aminoácidos limitantes no grão de bico (FAO, 1971).

O conteúdo total de lipídeos nas sementes de grão-de-bico situa-se entre 3,1 a 6,9% (FAO, 1971). As sementes de grão-de-bico apresentam considerável quantidade de óleo, cujos valores variam de 3,8 a 10,2%. Seu óleo tem alto teor de ácidos graxos insaturados, particularmente linoléico e oléico (BRAGA, 1997). O conteúdo total de lipídeos nas sementes de grão-de-bico situa-se entre 3,1 a 6,9% (FAO, 1971).

3.4 Tremço

O tremço (*Lupinus sp.*) é uma leguminosa cultivada há cerca de 4000 anos. Entre 400 e 356 a.C., Hipócrates, considerado o “pai da medicina”, referia-se à utilização do tremço na alimentação juntamente com a lentilha, o feijão e a ervilha. Confere-se aos romanos a introdução desta leguminosa na Península Ibérica. Este povo atribuía-lhe diferentes funções, como o emprego em jogos, como moeda simbólica, até o uso na alimentação animal e também na alimentação na população mais pobre (DORNELES F.O, 2009).

É uma planta herbácea, pertencente à família Leguminosae e ao gênero *Lupinus sp.*, anual, ereta, adaptada a climas temperados e subtropicais. As espécies mais cultivadas são: *L. albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus*, *L. mutabilis* e *L. polyphyllus*, sendo que apenas as três primeiras são empregadas na alimentação humana.

O tremço (*Lupinus sp.*) pode ser cultivado em regiões de diversos climas, como do Mediterrâneo, da América do sul, da Austrália e da Nova Zelândia (DORNELES, 2009). Seu conteúdo de proteína aproxima-se dos valores contidos na soja. No entanto, apesar das vantagens nutricionais, alguns cultivares de tremço apresentam conteúdos elevados de alguns fatores antinutricionais, tais como alcalóides e taninos, além de pequena quantidade de inibidores de tripsina. Os alcalóides, além de tóxicos, conferem ao grão um amargor característico (DORNELES, 2009; PUTNAM et al, 1989).

Os alcalóides encontrados no tremço são identificados como lupanina, esparteína, lupinina, isolupanina, angustifolina e L-17-hidroxilupanina, sendo que os dois primeiros são os mais tóxicos e o último é aproximadamente dez vezes menos tóxico (DORNELES, 2009).

Devido principalmente a presença dos alcalóides, geralmente maior que 2%, o uso do tremoço como alimento tem sido limitado (JIMENEZ-MARTINEZ et al, 2003; WOLDEMICHAEL e WINK, 2002). Porém, hoje já é possível encontrar cultivares que apresentam quantidades mínimas de alcalóides, sendo a Austrália o líder mundial no desenvolvimento dessas novas espécies (PETTERSON e CROSBIE, 1990).

Ainda que a presença de alcalóides limite o uso do tremoço como alimento, estes fatores antinutricionais podem ter seu conteúdo diminuído, ou até mesmo eliminado, através de diferentes métodos tecnológicos ou até mesmo caseiros (JIMENEZ-MARTINEZ et al, 2001 apud JIMENEZ-MARTINEZ et al, 2003; TORRES et al, 1980).

Em Portugal, o tremoço é consumido como uma espécie de aperitivo, sendo considerado um excelente alimento (DORNELES, 2009).

No Brasil, o tremoço praticamente não era consumido como alimento. Sua principal utilização estava voltada para a adubação verde (visando à fixação de nitrogênio no solo), sendo cultivado principalmente em regiões de clima mais ameno, como Santa Catarina e Paraná, onde se detectava inúmeras vantagens com relação a outras leguminosas, como por exemplo, o fato de não ser muito exigente quanto à fertilidade do solo e de adaptar-se facilmente aos solos brasileiros (DORNELES, 2009).

O incentivo a sua produção se deve ao fato de seu alto conteúdo protéico, cerca de 35-40%, indicando grande potencial de consumo in natura ou como processados, através de isolados ou concentrados protéicos (SATHE et al, 1982; SÁNCHEZ-VIOQUE et al, 1999; LQARI et al, 2002; RODRÍGUEZ-AMBRIZ et al, 2005; D´AGOSTINA et al, 2006).

De acordo com (PUTNAM et al, 1989; TEAGUE, 1999-2000) o *Lupinus albus* apresenta altas quantidades de proteínas, em torno de 32 - 38%, e 10% de óleo e não contém inibidores de tripsina. A composição em aminoácidos é limitante para a metionina, principalmente. Encontra-se em sua composição, cálcio, fósforo, ferro e vitaminas B1 e B2. Destaca-se ainda a alta digestibilidade protéica apresentada pelo tremoço.

As proteínas do tremoço têm sua solubilidade aumentada em altos valores de pH. No pH 4, os valores da energia de agregação e temperaturas são baixos quando comparados com pH 8, indicando estabilidade da proteína a altos valores de pH (USDA, 2002).

A variação do conteúdo protéico entre as espécies cultivadas de tremoço é o resultado das diferentes características de condições de crescimento e tipo de solo (PETTERSON et al, 1997). A quantidade de óleo presente no grão varia entre as espécies, em torno de 6-13%, com alta concentração de ácidos graxos poliinsaturados (BENEYTOU et al, 1987; MUSQUIZ et al, 1989).

Erbas et al (2005), investigaram a composição e as propriedades físicas dos grãos de *Lupinus albus*. Os grãos continham 32,2% de proteínas, 16,2% de fibras, 5,95% de óleo e 5,82% de açúcares. Ácidos graxos monoinsaturados eram o principal componente em óleo (55,4%), com 31,1% para os polinsaturados e 13,5% para os saturados. O ácido oléico era o principal ácido graxo presente no óleo de tremoço. Sacarose foi o principal açúcar (71%), seguido da galactose (8,4%) e glicose (6,7%).

As frações de fibra solúvel e insolúvel abrangem um total entre 34-40%, sendo praticamente o dobro da soja (21,7%), ervilha (18%) e feijão faba (19%) (VAN BARNEVELD, 1999).

3.5 Análise Térmica

A análise térmica abrange um grupo de técnicas através das quais uma propriedade física de uma substância e/ou de seus produtos de reação é medida em função da temperatura e/ou do tempo, enquanto a substância é submetida à programação controlada de temperatura. As técnicas mais freqüentemente utilizadas são a calorimetria exploratória diferencial (DSC), a análise térmica diferencial (DTA) e a termogravimetria (TG) /termogravimetria derivada (DTG) (Wendlant, 1964; Giolito, 1988; Giolito, Ionashiro, 1988). A técnica DTA registra a diferença de temperatura entre a substância e um material referência (estável termicamente) em função da temperatura sob condições determinadas. Por intermédio da curva DSC é possível medir a diferença de energia fornecida à substância e a um material de referência em função da temperatura, tanto em condições de aquecimento quanto de resfriamento. Conseqüentemente, a temperatura e energia associada aos eventos, tais como: fusão, calor específico, transição vítrea, cristalização, sublimação, decomposição e transições cristal líquido, podem ser avaliadas por essas técnicas.

A análise térmica constitui um grupo de técnicas de grande interesse na caracterização de alimentos, visto que proporcionam dados relevantes ao processamento industrial de substâncias alimentícias, em um tempo relativamente curto e com certa especificidade quando associada a outras técnicas (CARRASCO, 1993; KEATTCH et al, 1975).

A maioria dos alimentos sofre variações de temperatura durante sua produção, transporte, estocagem, preparação e consumo, essas mudanças de temperatura causam alterações nas propriedades físico-químicas dos alimentos, influenciando nas propriedades do produto final, tal como sabor, aparência, textura e estabilidade

(RAEMY, 2003). As reações químicas como as hidrólises, oxidação ou redução, promovem mudanças físicas como evaporação, fusão, cristalização, agregação ou geleificação. A melhor compreensão da influencia da temperatura nas propriedades dos alimentos permite a otimização das condições de processos e melhoramento da qualidade do produto final (SILVA et al., 2001).

A maioria dos controles utilizados nas indústrias de alimentos incorpora processos de aquecimento e resfriamento, como por exemplo, pasteurização, esterilização, cozimento, secagem, resfriamento e congelamento. Um importante conjunto de técnicas empregadas para o controle de qualidade no processamento de alimentos é a análise térmica (AMORIM et al, 2004; MAGOSHI et al, 2002; RAEMY, 2003; ROOS, 2003; SCHIRALDI e FESSAS, 2003). As técnicas TG-DTG e DSC têm sido aplicadas ao estudo de isolados protéicos (FONTANARI et al, 2005; MOHAMED, 2002; ORTIZ e WAGNER, 2002).

MAGOSHI et al. (2002), estudaram as propriedades térmicas (transição vítrea, cristalização, estabilidade térmica, etc.) de filmes preparados a partir de isolado protéico (prolamina) de sementes de arroz, trigo e soja empregando as técnicas TG e DSC e técnicas auxiliares (XRD e IR).

Autores como (ROOS, 2003) estudaram as propriedades térmicas de sistemas alimentares concentrados, baixo conteúdo de água e alimentos congelados, procurando entender as relações entre as propriedades dos alimentos e variações no parâmetro qualidade.

Recentemente AMORIM et al. (2004), evidenciaram a dimensão anual de rejeito de cascas de arroz (2,8 milhões de ton / ano), produzidas pelo Brasil. Os autores empregaram as técnicas TG/DTG e DSC para estudar o processo de gelatinização,

teores de água e de cinzas em arroz e o estudo cinético do processo de eliminação de água.

FONTANARI et al. (2005), trabalhando com isolado protéico extraído da semente da goiaba, caracterizou a estabilidade e decomposição de cada condição de extração da proteína e também pôde observar que a técnica termogravimétrica obteve melhor repetitividade na determinação de água e cinzas.

As potencialidades analíticas da termogravimetria no controle de qualidade dos alimentos têm despertado o interesse dos pesquisadores, devido à diminuição do tempo das análises e quantidade de amostra requerida, além de poder ser utilizada na obtenção de parâmetros cinéticos através de métodos de cálculo adequados (WENDLANDT, 1964). Os teores de umidade e cinzas são parâmetros determinantes no controle de qualidade, o teor de umidade é utilizado para o controle microbiológico no armazenamento e a comercialização dos produtos e o teor de cinzas é utilizado para indicar a quantidade de minerais (ACCQUISTUCCI et al, 1991).

4. Material e métodos

4.1 – Material

4.1.1 Grão de bico e Tremoço

As sementes do grão-de-bico (*Cicer arietinum*), cultivar Cícero foram obtidas no mercado, e proveniente da safra 2008. As sementes de tremoço branco (*Lupinus albus*) foram obtidas no Instituto Agronômico do Paraná (IAPAR) – PR - Londrina

4.2 – Métodos

4.2.1 Preparo das farinhas

Para a extração da proteína, as sementes de grão-de-bico foram selecionadas, lavadas e maceradas em água por 12h a 15°C. As cascas foram removidas manualmente e os grãos secos em estufa com circulação de ar a 40°C por 4h. A farinha de grão-de-bico foi obtida por meio da moagem dos grãos em moinho de bola e classificada por meio de tamis de 60 mesh - partículas de 0, 250 mm. As sementes de tremoço também foram selecionadas e decorticada manualmente e depois triturada, seguindo a metodologia de moenda descrita acima.

O processo de obtenção das farinhas pode ser observado pelo fluxograma da figura 1.

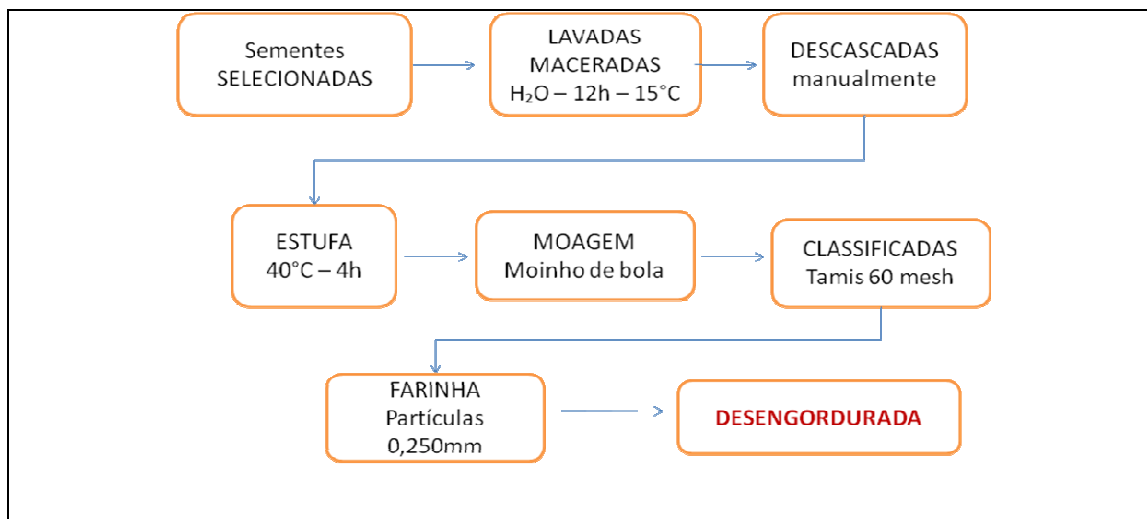


Figura 1 – Fluxograma do processo de obtenção das farinhas de Grão-de-Bico e Tremoço.

4.2.1.1 – Desengorduramento das farinhas

Tanto a farinha de grão-de-bico quanto a farinha de tremoço foram desengordurada com hexano, usando a relação massa de farinha / volume de hexano 1:5 à temperatura ambiente, com agitação constante por 4h e repouso por 24h. Em seguida foi filtrada, seca em temperatura ambiente e armazenada.

4.2.2 Análise da composição química das farinhas

Foi empregada a mesma metodologia para a análise da composição química da farinha de grão-de-bico e para a farinha de tremoço.

4.2.2.1 – Umidade

A determinação da umidade foi realizada por método gravimétrico em estufa regulada a 105°C, até peso constante, conforme descrito pela AOAC (1995).

4.2.2.2 – Proteína

O nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldhal. A digestão foi feita utilizando ácido sulfúrico e como catalisador mistura de sulfato de potássio e sulfato de cobre na proporção 4:1. O teor de proteína foi obtido multiplicando a porcentagem de nitrogênio total pelo fator de conversão de 6,25 conforme descrito pela AOAC (1995).

4.2.2.3 – Lipídeos totais

O teor de lipídeo total foi determinado pelo método de Bligh Deyar, conforme descrito pela AOAC (1995).

4.2.2.4 – Cinzas

A determinação de cinzas foi realizada por método gravimétrico em forno tipo mufla, até peso constante, conforme descrito pela AOAC (1995).

4.2.3 Otimização da extração da proteína da farinha de grão-de-bico

4.2.3.1 Efeito da proporção massa de farinha vs volume de extrator

Alíquotas de farinha desengordurada foram dispersas em solução de cloreto de sódio 1,0M e pH 7,0, mantendo as seguintes relações massa de farinha – volume do extrator 1:10, 1:20, 1:30 e 1:50. O material foi submetido durante uma hora á agitação constante á temperatura ambiente e em seguida centrifugado a 8000 rpm durante 60 minutos. Do sobrenadante tomaram-se alíquotas para a determinação do nitrogênio total pelo método de Kjeldhal.

4.2.3.2 Efeito do tempo de homogeneização na solubilização da proteína

Alíquotas de farinha desengordurada foram dispersas em solução de cloreto de sódio 1,0M, e pH 7,0 na proporção 1:50, variando o tempo de agitação em 15, 30, 60 e

90 minutos. Após a homogeneização, o material foi centrifugado a 8000 rpm a 40 minutos e do sobrenadante tomaram-se alíquotas para a determinação do nitrogênio total pelo método de Kjeldhal.

4.2.3.3 Efeito do pH na solubilidade da proteína

Para o estudo da solubilidade das proteínas em função do pH, amostras de farinha desengordurada foram dispersas em água destilada na proporção massa/volume 1:50 e o pH ajustado para o valor desejado com adição de solução de HCl ou NaOH. Os valores de pH foram ajustados entre 1,0 e 12. A suspensão resultante foi submetida à agitação durante 30 minutos à temperatura ambiente e então centrifugado a 8000 rpm por 40 minutos. Do sobrenadante tomaram-se alíquotas para determinação do nitrogênio total pelo método de Kjeldhal. O mesmo procedimento adotou-se para amostras de farinha desengordurada dispersas em soluções de cloreto de sódio nas concentrações de 0,1M, 0,5M e 1,0M.

4.2.4 Extração das frações protéicas da farinha de Grão de bico.

Alíquotas de farinha desengordurada foram dispersas em água destilada, proporção massa/volume 1:20, submetidas à agitação constante durante 30 minutos à temperatura ambiente e centrifugada a 15000 rpm durante 40 minutos. O resíduo obtido (R1) foi separado e o sobrenadante dialisado contra água destilada durante 72 horas a 10 +/- 5°C, com várias trocas de água. Na diálise as globulinas presentes precipitaram e foram recolhidas por centrifugação. O precipitado (P1) representa a menor parte da fração globulina. O sobrenadante dessa centrifugação representou a fração albumina total.

O resíduo (R1) obtido na operação anterior foi disperso em solução de NaCl 0,5 M e submetido à agitação durante 30 minutos à temperatura ambiente e centrifugado a

15000 rpm durante 40 minutos. O resíduo obtido (R2) foi separado e o sobrenadante dialisado por 48 horas com água destilada a 10 +/- 5°C com várias trocas de água. A proteína precipitada na diálise (P2) foi separada por centrifugação e o sobrenadante descartado. Os precipitados P1 e P2 foram reunidos representando a globulina total da farinha.

O resíduo R2 foi disperso em solução alcoólica a 70 % submetido à agitação constante durante meia hora a temperatura ambiente e centrifugado a 15000 rpm durante 40 minutos. As proteínas solubilizadas no álcool representaram a fração prolamina da farinha. O resíduo decantado (R3), após seco em estufa a 40°C com circulação de ar, foi disperso em solução de NaOH 0,1 N, submetido à agitação durante 30 minutos à temperatura ambiente e centrifugado a 15000 rpm durante 40 minutos. A operação de extração foi repetida duas vezes. A proteína do sobrenadante representou a fração glutelina.

O resíduo final foi seco em estufa de circulação de ar a 40 °C por 8 horas e feito Kjeldhal para determinação do nitrogênio total.

4.2.5 Extração das frações protéicas da farinha de Tremoço.

A extração das frações protéica da farinha de Tremoço foi feita seguindo a mesma metodologia da extração para farinha de grão-de-bico.

4.2.6 Diálise

Nas diálises foram utilizadas membranas de celulose. As diálises foram feitas em câmara fria, sob agitação constante e com sucessivas trocas de água.

4.2.7 Análise térmica, obtenção das curvas TG, DTA e DSC

As curvas TG-DTA foram obtidas em uma termobalança modelo SDT2960, TA Instrumensts, em atmosfera dinâmica de gás nitrogênio (100 mL min^{-1}), usando cadinho de cerâmica sem tampa, massa da amostra de 3 mg e razão de aquecimento (β) de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$. As curvas DSC foram obtidas em um calorímetro DSC-25, acoplado ao processador TC-15, METTLER, em atmosfera dinâmica de gás nitrogênio (50 mL min^{-1}), usando cadinho de alumínio tampado e perfurado ($\Phi=1 \text{ mm}$), massa da amostra de 3 mg e razão de aquecimento (β) de $10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$.

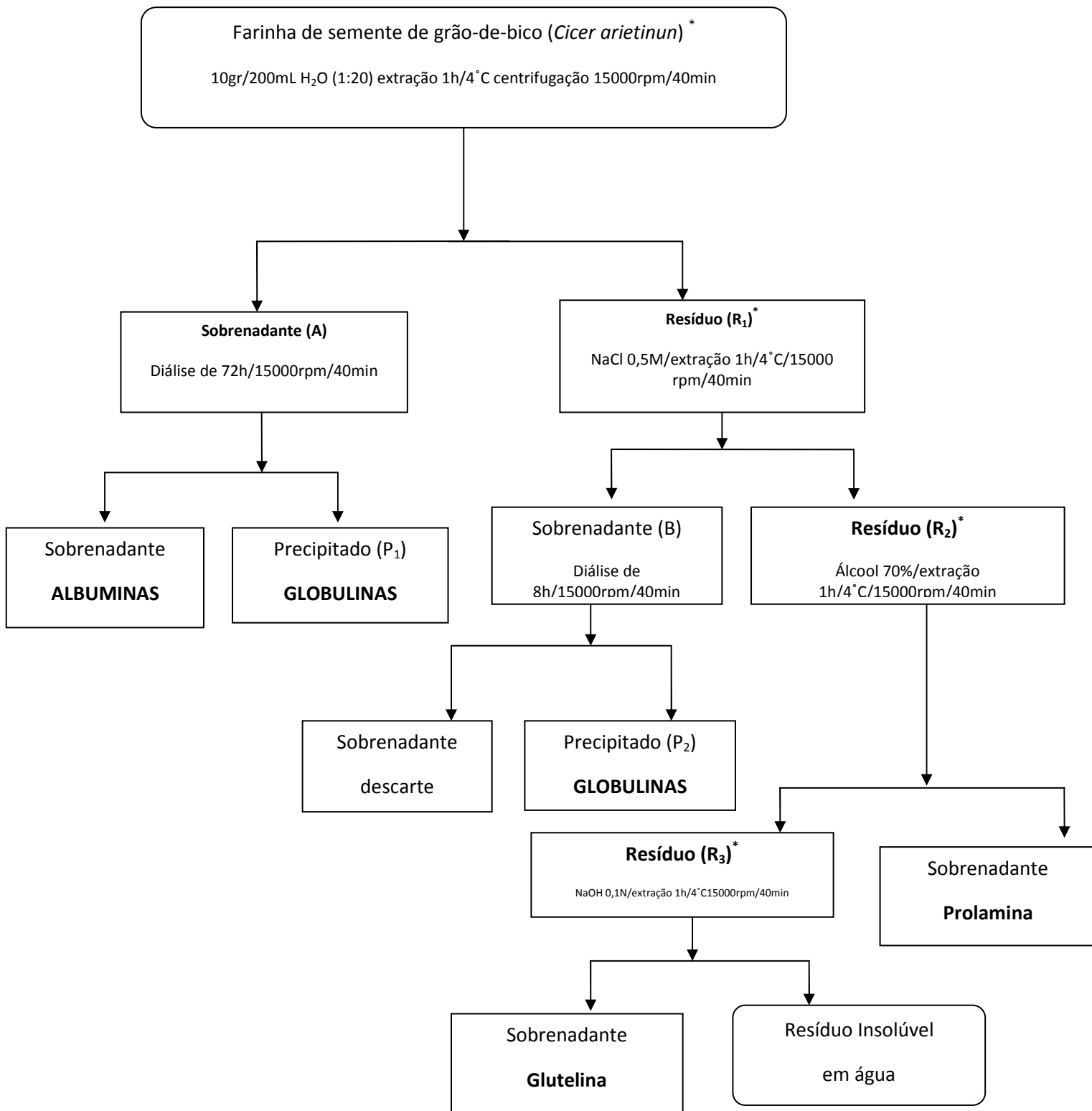


Figura 2- Esquema de extração das frações protéicas do grão-de-bico e do tremço: globulinas, albuminas, prolaminas e glutelinas.

5. Resultados e Discussão

5.1 Composição química da farinha de grão-de-bico

Os valores médios da composição química da farinha de grão-de-bico, variedade Cícero, decorticada e desengordurada obtidos de análises em triplicata, são apresentados na tabela 1.

Tabela 1 – Composição química da farinha de grão-de-bico, cultivar Cícero, decorticada e desengordurada.

Componentes	(%) em base úmida
Proteína	18,72
Umidade	10,02
Cinzas	2,96
Extrato etéreo	2,6

O valor médio de proteína da farinha de grão de bico, variedade Cícero, foi de 18,72%, valor esse que se encontra dentro da faixa de variação relatados na literatura para outras variedades (12,6 – 30,5%), de acordo com (SINGH e SINGH, 1992). Sotelo et al. (1987), analisaram nove variedades mexicanas de grão-de-bico e constataram que o teor protéico médio foi de 19,5%, não havendo, portanto diferenças estatísticas significantes. DHAWAN et al. (1991), estudando seis variedades de grão-de-bico encontraram valores na faixa de 20,9 a 25,27%.

Os valores de umidade e cinzas da farinha decorticada e desengordurada são semelhantes aos encontrados por outros autores que estudaram farinhas de sementes de variedades mexicanas.

DODOK et al.(1993), estudaram dois cultivares de grão-de-bico de dois países e o valor médio de lípidos encontrados foi de 5,8 a 6,2 %. O valor de extrato etéreo

encontrado nesse trabalho para a farinha de grão-de-bico cultivar Cícero foi de 2,6%. Valores altos quando comparados a outras leguminosas, como por exemplo, ervilha (1,39%), lentilha (1,20%) e feijão (1,60%).

5.1.1. Otimização da extração da farinha do grão-de-bico desengordurada

Na extração da proteína é necessário estabelecer condições adequadas, para que se possa obter um melhor rendimento sem interferir na sua estrutura protéica.

A solubilidade das proteínas está relacionada com as propriedades funcionais implicando no tipo de proteínas, relação massa de sólidos vs volume dos solventes, granulometria da farinha, temperatura, tempo de extração, pH, força iônica e outros.

A relação massa de farinha vs volume do extrator deve atender os limites de uma extração eficiente. Na tabela a seguir estão os dados obtidos na extração com NaCl 1,0M, pH 7,0 em diferentes relações massa volume.

Tabela 2 – Efeito da proporção massa-volume na extração das proteínas da farinha de grão-de-bico, cultivar Cícero.

Proporção massa-volume	% Proteína extraída
1:10	68,39 ±0,35
1:20	74,01 ± 1,2
1:30	75,98 ± 0,73
1:50	78,17 ± 0,67

- Solvente utilizado na extração, NaCl 1,0 M, pH 7,0 tempo de extração 1hora.

Com a análise da tabela 2 pode se observar que a extração da proteína vai sendo maior à medida que se aumenta o volume do extrator. Dessa forma a relação 1:50 revelou maior porcentagem de proteína extraída. Nesse trabalho se optou a usar a relação massa / volume 1:50 na determinação do tempo de homogeneização da solubilidade e no estudo da influencia do pH na solubilidade da proteína.

Os dados de tempo de homogeneização de extração são mostrados na tabela 3 e podemos observar que até o tempo de 60 minutos ocorre um aumento da porcentagem da proteína extraída, diminuindo a partir do tempo de 90 minutos.

Tabela 3 - Efeito do tempo de homogeneização na solubilidade das proteínas da farinha de grão-de-bico, cultivar Cícero.

Tempo de homogeneização	% Proteína extraída
15	75,09 ± 0,67
30	75,05 ± 0,67
60	78,18 ± 0,67
90	75,35 ± 0,65

- Solvente utilizado NaCl 1,0M, pH 7,0 relação massa volume 1:50

O tempo de homogeneização utilizado nesse trabalho foi de 30 minutos já que não há diferença significativa entre os tempos de 15, 30 e 60 minutos.

Os experimentos do efeito do pH na solubilidade da proteína da farinha de grão-de-bico em água e em diferentes concentrações de NaCl estão demonstrados na figura 3 e figura 4. Em água na faixa de pH compreendida entre 4 e 5 a solubilidade da proteína foi bem baixa tendo maior solubilidade em pH 11. Já para as diferentes concentrações de NaCl pode se observar que a maior solubilidade em pH alcalino na faixa entre 9 e 12.

O pH afeta a natureza e a distribuição de cargas da proteína, sendo assim as proteínas apresentam diferentes solubilidade em função do pH do solvente e que se pode observar é que a solubilidade da proteína é maior em pH alcalino, no geral, e algumas apresentam solubilidade em extremo de pH ácido e mínima solubilidade na faixa 4 -5.

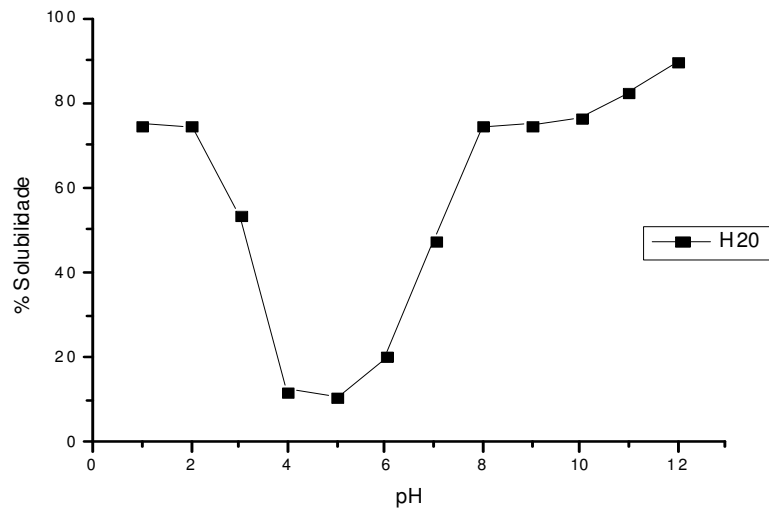


Figura 3- Efeito do pH na solubilidade das proteínas da farinha de grão-de-bico, cultivar Cícero, em meio aquoso. A relação massa volume foi de 1:50 e os pHs ajustados com NaOH ou HCl e a proteína quantificadas pelo método de Kjeldhal.

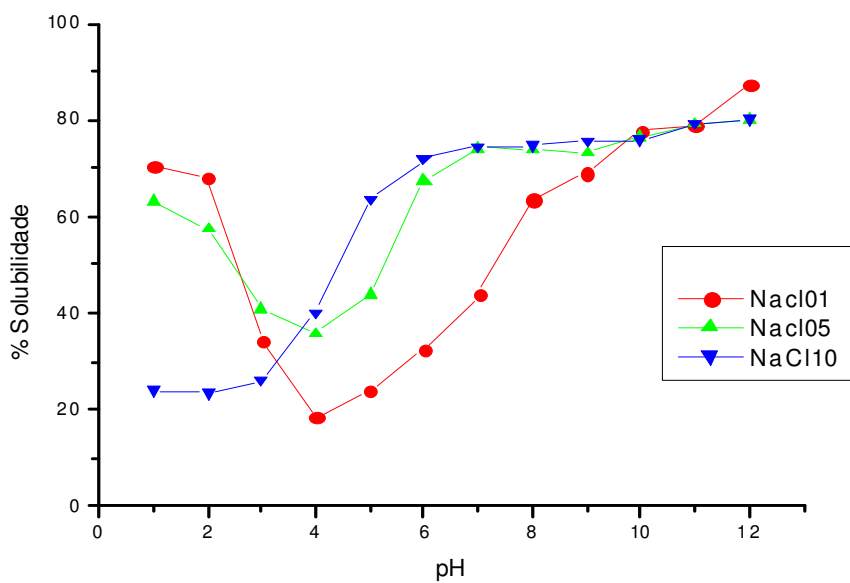


Figura 4- Efeito do pH na solubilidade das proteínas da farinha de grão-de-bico, cultivar Cícero, em meio salino. Em A relação massa volume foi de 1: 50 e os pHs ajustados com NaOH ou HCl e a proteína quantificadas pelo método de Kjeldhal.

5.1.2. Resultado do fracionamento das frações protéicas.

A proteína total da farinha decorticada e desengordurada de grão de bico, variedade Cícero, foi estudada quanto á composição de suas frações de acordo com os critérios de solubilidade.

Tabela 4- Composição das frações protéicas da farinha de grão-de-bico, cultivar Cícero.

Fração	% proteína (em base úmida)
Albumina	61,69
Globulina	88,67
Glutelina	74,78
Globulina sobrenadante	7,89
Prolamina	7,75
Resíduo	1,9

A fração globulina do grão de bico se apresenta quantitativamente maior que as outras frações, o que pode ser observado também em outras leguminosas.

Os valores encontrados mostram-se em média valores maiores que aos encontrados para esta leguminosa por outros autores, o que pode estar relacionado ao procedimento adotado para separação das frações e a variedade estudada. Globulina sobrenadante é o descarte da extração com NaCl 0,5M. Teoricamente não era para obter % de globulina nesse descarte ou o valor deve ser baixo, o que certifica que a metodologia de extração deve ser muito bem executada.

Singh et al. (1981), obtiveram valores médios de 71,9 a 76,8; 19,8 a 21,8; 1,2 a 3,0% para o grupo Desi e 75,4 a 80,8; 18 a 19,4; 1,4 a 1,9% para grupo Kabuli nas frações solúveis em sal (albumina+globulina), glutelina e prolamina, respectivamente. Dhawan et al. (1991), encontraram para seis variedades de grão-de-bico valores que variaram de 63,61 a 72,10; 8,39 a 12,31; 53,44 a 60,29; 3,12 a 6,59; 19,38 a 24,40%

para as frações: solúveis em sal, albumina, globulina, prolamina e glutelina, respectivamente.

SINGH E JAMBUNATHAN (1982), ao estudarem a distribuição das frações protéicas nas diferentes partes da semente do grão-de-bico: casca, cotilédone e embrião observaram que o cotilédone representou 82,9% da semente e apresentou também o maior conteúdo da fração protéica globulina 62,7%. A fração globulina se revelou deficiente nos aminoácidos metionina e cistina, enquanto a fração albuminas e glutelina apresentaram quantidades elevadas desses aminoácidos. Característica essa apresentada por todas leguminosas.

5.1.3. Análise térmica, obtenção das curvas TG, DTA e DSC

As curvas DSC, Figura 4, representam os processos de desnaturação das frações protéicas. Na Tabela 5 estão representados os valores de $T^{\circ}\text{C}$ *on set* (ponto de início do processo endotérmico), $T^{\circ}\text{C}$ de pico (ponto máximo de desnaturação) e de ΔH (valor de energia gasto para realizar todo o processo endotérmico referente ao evento correspondente a desnaturação da proteína) para as frações protéicas do grão-de-bico.

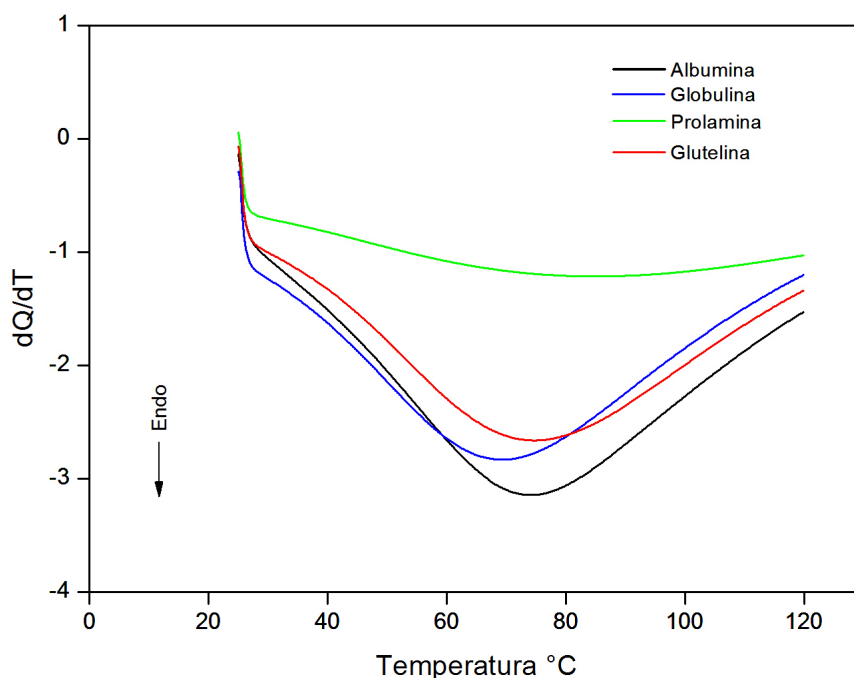


Figura 5 - Curvas DSC dos das frações protéicas obtidas a partir da farinha de grão de bico. $m_i = 3 \text{ mg}$; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$; vazão de gás: 50 mL min^{-1} ; cadinho de Al, tampado e perfurado ($\Phi = 1,0 \text{ mm}$).

De acordo com a Figura 5, observa-se que as frações possuem comportamentos semelhantes, apresentando um evento endotérmico na região entre $69\text{--}76^\circ\text{C}$, com exceção da fração prolamina, que apresentou um perfil de baixo evento endotérmico, demonstrando que sua estrutura não se encontra mais no estado nativo, muito provavelmente atribuído ao processo de obtenção dessa fração.

Observa-se a partir dos valores de ΔH , Tabela 5, que a fração prolamina apresentou um valor de ΔH de $35,97 \text{ Jg}^{-1}$, menor valor em relação às outras frações obtidas em distintas condições de extração. Por outro lado os dados da tabela também revelam que o valor de entalpia requerido para o processo de desnaturação é maior para a fração albumina, obtida usando somente água como solvente de extração ($190,3 \text{ Jg}^{-1}$), seguido da fração globulina, obtida usando solução salina ($154,3 \text{ Jg}^{-1}$) e da fração glutelina, obtida usando solução alcalina ($140,4 \text{ Jg}^{-1}$).

Tabela 5 – Resultados experimentais, de calorimetria diferencial exploratória (DSC), para as frações protéicas obtidas a partir do grão-de-bico.

Frações protéicas	T °C <i>on set</i>	T °C pico	$\Delta H/ Jg^{-1}$
Albumina	27,7	73,2	190,3
Globulina	27,3	69,2	154,3
Glutelina	34,6	73,8	140,4
Prolamina	28,6	75,3	35,97

A curva TG, Figura 6, obtida a partir da fração globulina do grão-de-bico, representa, de maneira geral, as curvas obtidas para todas as frações investigadas, tanto para grão-de-bico quanto para o tremoço. A curva TG apresenta duas etapas de perda de massa bem definidas. A primeira etapa pode ser atribuída à remoção da água, no intervalo de temperaturas de 30 a 129 °C, com uma perda de 9% em massa, essa etapa está associada ao processo de desnaturação das frações protéicas (MOHAMED, 2002) e corroboram com os resultados apresentadas nas Tabelas 5 e 10 e nas Figuras 5 e 8.

A segunda etapa ocorre no intervalo de temperatura de $(208 \leq T \leq 700)$ °C, onde a temperatura de início dessa etapa sugere uma elevada temperatura de estabilidade térmica da fração ($T = 195 - 208$ °C). Temperatura desta ordem é importante para a indústria alimentícia, permitindo o manuseio de proteínas em temperaturas mais elevadas do que o convencional.

A segunda etapa corresponde à decomposição térmica da fração protéica. A curva DTA revela que a segunda etapa ocorre através de processos térmicos simultâneos, iniciando com um pico endotérmico ($T_{pico} = 208$ °C), possivelmente associado à remoção de água fortemente ligada ou da eliminação de água de constituição da fração, seguido de uma seqüência de picos consecutivos, exotérmicos e endotérmicos.

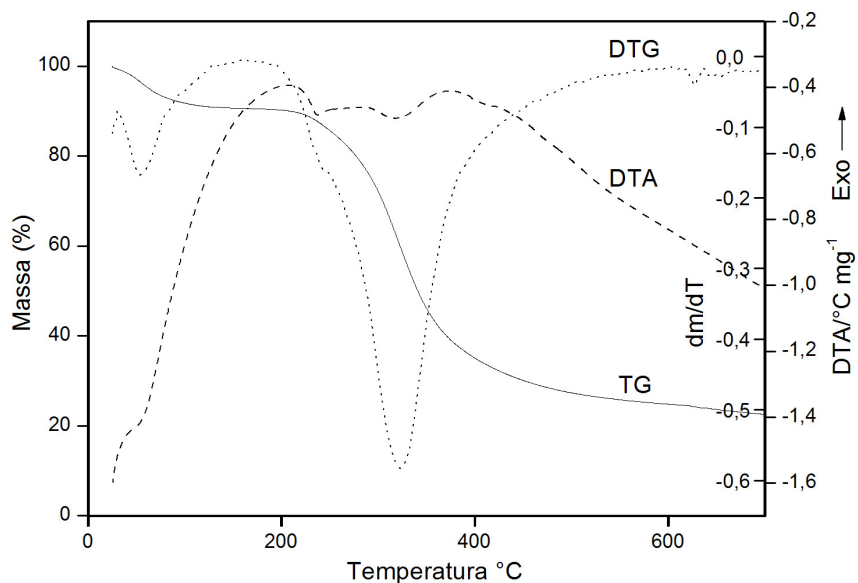


Figura 6 - Curva TG-DTA e DTG da fração globulina do grão-de-bico. $m_i = 3 \text{ mg}$; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$; vazão de gás: 50 mL min^{-1} ; cadinho de cerâmica.

A curva TG foi obtida em atmosfera inerte de nitrogênio, portanto, para a temperatura final, de 700°C obteve-se material carbonizado.

5.2. Composição química da farinha de tremço

Os valores expressados em porcentagem da composição química da farinha de tremço decorticada e desengordurada utilizada nesse estudo estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6. Composição química da farinha de tremço *Lupinus albus*, decorticada e desengordurada.

Componentes	(%) (em base úmida)
Proteína	49,88
Umidade	8,1
Cinzas	1,54
Extrato etéreo	2,94

O valor médio de proteína encontrado nesse trabalho para farinha decorticada e desengordurada do tremço foi de 49,88%.

NEVES et al. (2001), estudando farinha de tremço-doce (*Lupinus albus* L.) var. Multolupa decorticada, encontraram a seguinte composição química: 12,45% umidade, 45,94% de proteínas, 1,76% lipídeos e 3,52% de cinzas.

RODRIGUES-AMBRIZ et al., GARCÍA-LÓPEZ et al., 2001 encontraram valores elevados de proteína em farinha desengordurada de tremço.

Os valores de cinzas se encontram abaixo do encontrado por GARCÍA-LÓPEZ et al., 2001; NEVES et al., 2001; LQARI et al., 2002; RODRIGUES-AMBRIZ et al. 2005.

5.2.1. Otimização da extração da farinha de tremço desengordurada

Na tabela estão apresentados os valores obtidos da proteína extraída em solução NaCl.

Tabela 7 – Efeito da proporção massa-volume na extração das proteínas da farinha de Tremço.

Proporção massa-volume	% Proteína extraída
1:10	53,00 ± 0,65
1:20	57,26 ± 0,73
1:30	57,39 ± 0,73
1:50	59,70 ± 0,67

- Solvente utilizado na extração, NaCl 1,0 M, pH 7,0 tempo de extração 1 hora.

Pelos dados da tabela podemos observar que a relação 1:50 apresentou maior porcentagem de proteína extraída. Assim como para a farinha do grão de bico, à medida que aumenta o volume do extrator a porcentagem de proteína extraída também aumenta.

De acordo com a tabela 8 o tempo de 60 minutos apresentou maior porcentagem de proteína extraída. Assim como para farinha de grão-de-bico a relação 1:50 e tempo de homogeneização de 30 minuto foram utilizados para o estudo pH na solubilidade da farinha já que os tempos de homogeneização não apresentam diferenças significativas.

Tabela 8 - Efeito do tempo de homogeneização na solubilidade das proteínas da farinha de tremçoço.

Tempo de homogeneização	% Proteína extraída
15	53,05 ± 0,67
30	57,09 ± 0,67
60	57,18 ± 0,67
90	57,15 ± 0,67

- Solvente utilizado NaCl 1,0M, pH 7,0 relação massa volume 1:50

Neves et al. (2001), estudando a relação massa/solvente nas proporções 1:10, 1:20, 1:30 e 1:50, observou que a porcentagem da proteína extraída sofreu uma variação de 60,9% a 66% com o aumento da relação massa/solvente de 1:10 a 1:50. Observou também que o tempo de homogeneização de extração não apresentou mudança significativas na porcentagem de proteína extraída com o aumento dos tempos - 15, 30, 60 e 90 minutos.

O pH afeta a natureza e a distribuição de cargas da proteína, dessa forma as proteínas apresentam diferenças de solubilidade em razão do pH do solvente e de um modo geral, esta é maior em pH alcalino, mínima na faixa de pH 4,0 a 5,0 com algumas proteínas apresentando alta solubilidade em extremos de pH ácido.

A Figura 7 mostra as curvas de solubilidade em água e NaCl 0,5 e 1,0 M para a farinha de tremço branco. A solubilidade variou conforme o pH e a concentração de sal, sendo mais elevada em extremos de pH e na presença de sal.

EL-ADAWY et al. (2001), verificaram que o aumento de solubilidade para a proteína de tremço ocorre na presença de cloreto de sódio na proporção máxima de 1M, acima desse valor é observado uma diminuição de solubilidade. NEVES et al. (2006), encontrou o mesmo fenômeno estudando a proteína majoritária globulina presente no tremço, entretanto, nesse caso observa-se que a concentração de sal também é influenciada pelo pH.

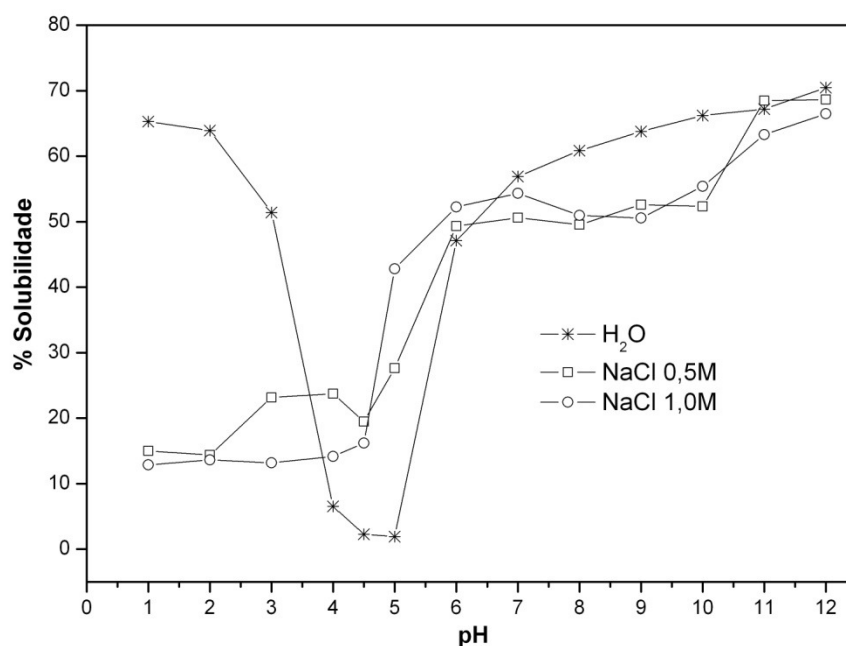


Figura 7 - Curvas de solubilidade da proteína da farinha de tremço em função do pH (1,0 a 12,0) e concentração de NaCl variando entre 0,5 a 1,0 mol L⁻¹. T= 25 ± 3 °C.

5.2.2. Resultado do fracionamento das frações protéicas.

Os valores observados nesse trabalho para farinha de tremço, *Lupinus albus* desengordurada e decorticada, estão apresentados na tabela 9.

Tabela 9 - Composição das frações protéicas da farinha de tremço, *Lupinus albus*

Fração	% proteína (em base úmida)
Albumina	11,33
Globulina	41,37
Glutelina	19,24
Globulina sobrenadante	7,66
Prolamina	
Resíduo	12,25

A fração globulina apresentou maior porcentagem, comparada com as outras frações. Comprovando mais uma vez que a globulina é a fração majoritária nas leguminosas.

A fração prolamina da farinha do tremço não pode ser determinada em função do processo de extração.

NEVES et al.(2006), estudando o fracionamento da farinha de tremço (*Lupinus albus* L.), variedade Multolupa, encontrou valores para globulina de 43,42%, 10,77% de albuminas, 0,49% de prolaminas e 16,29% de glutelinas .

OOMAH e BUSHUK (1983) encontraram diferentes teores dessas frações em *L. angustifolius* e *L. albus*, com variação para diferentes cultivares das espécies.

5.2.3 Curva DSC Tremço

As curvas DSC, Figura 8, representam os processos de desnaturação das frações protéicas. Na Tabela 10 estão representados os valores de T °C *on set* (ponto de início do processo endotérmico), T °C de pico (ponto máximo de desnaturação) e de ΔH (valor de energia gasto para realizar todo o processo endotérmico referente ao evento correspondente a desnaturação da proteína) para as frações protéicas do tremço.

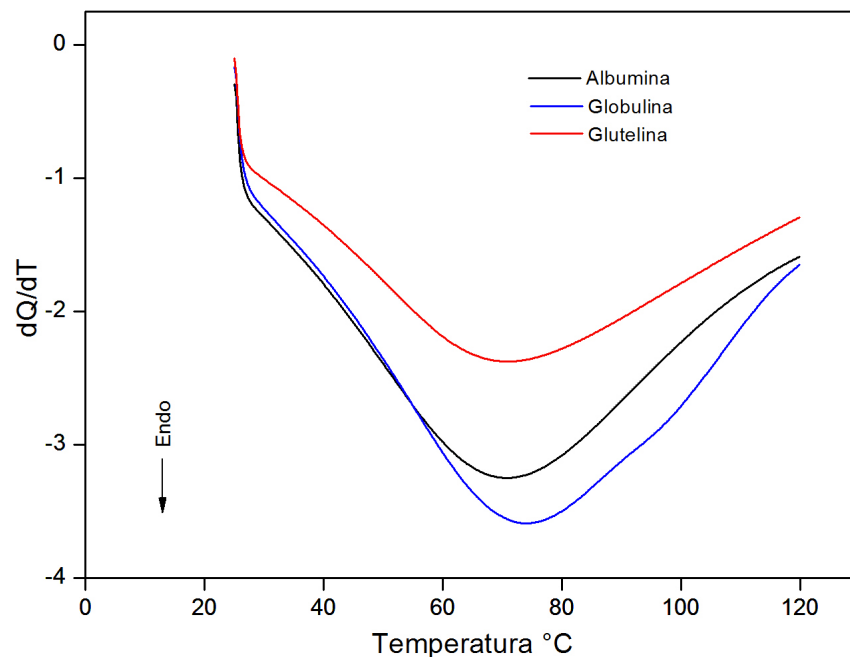


Figura 8- Curvas DSC das frações protéicas obtidas a partir da farinha de tremço. $m_i = 3 \text{ mg}$; $\beta = 10 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$; vazão de gás: 50 mL min^{-1} ; cadinho de Al, tampado e perfurado ($\Phi = 1,0 \text{ mm}$).

De acordo com a Figura 8, observa-se que há semelhança entre as frações protéicas do tremço com as do grão-de-bico, ambas apresentando evento endotérmico na região de $69\text{--}76 \text{ }^\circ\text{C}$. Entretanto os valores de ΔH foram diferentes (Tabela 10) demonstrando tratar de proteínas distintas.

Tabela 10 – Resultados experimentais, de calorimetria diferencial exploratória (DSC), para as frações protéicas obtidas a partir do tremço.

Frações protéicas	T $^\circ\text{C}$ on set	T $^\circ\text{C}$ pico	$\Delta H/\text{Jg}^{-1}$
Albumina	27,9	70,0	173,6
Globulina	27,9	73,2	208,8
Glutelina	27,6	69,3	126,0

Observa-se a partir dos valores de ΔH que as frações de albumina e glutelina, do tremço apresentam menores valores de ΔH ($173,56$ e $126,0 \text{ Jg}^{-1}$) e, portanto, de menor

estabilidade térmica em comparação com as mesmas frações do grão-de-bico ($\Delta H=190,33$ e $140,44 \text{ Jg}^{-1}$). Entretanto, a fração globulina do tremoço apresentou maior valor de entalpia ($208,8 \text{ Jg}^{-1}$) em comparação a fração globulina do grão-de-bico ($154,3 \text{ Jg}^{-1}$), esse resultado pode estar relacionado a diferenças na estrutura da proteína do tremoço com o grão-de-bico, apresentando composição protéica distintas entre as proteínas de cada leguminosa.

6. Conclusão

Os resultados obtidos no presente trabalho, permite afirmar que:

1 – A proteína de grão de bico (*Cicer arietinum L*) variedade Cícero, apresentou todas as frações protéicas descritas pela literatura, a saber, albuminas , globulinas, prolaminas, glutelinas em concentrações semelhantes daquelas encontradas por outros pesquisadores.

2 - A proteína de tremoço (*Lupinus albus L.*) é o componente em maior percentagem do cotilédone e mostrou todas as frações protéicas: albuminas, globulinas, prolaminas, glutelinas, como descrito pela literatura.

3 – A metodologia adotada para a extração das frações protéicas permite o obtenção das frações albumina, globulina, glutelina e prolamina do grão de bico e tremoço.

4 - As análises TG-DTG/DTA mostraram os eventos associados à remoção de água na faixa de temperatura entre 30 -129°C, a estabilidade térmica entre 195 – 208°C.

5 - As curvas DSC revelaram diferenças nas frações protéicas revelando maior estabilidade térmica na fração globulina do tremoço, apresentando desnaturação em 73,2°C.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

ABDEL-Aal,E.M.;YOUSSEF,M.M.;SHEHATA-Adel, A.;MAHDY-El, A.R. Chemical and functional properties of some legume powders. **Egypt.J.Food Sci.**, v.13, n.2, p.201, 1985.

ABUGOCH, E. L.; MARTINEZ, E. N.; AÑÓN, M. C. Influence of the extracting solvent upon the structural properties of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) Glutelin. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 4060 - 4065, 2003.

ACQUISTUCCI, R.; BUCCI, R.; MAGRI, A. D.; MAGRI, A. L. Evaluation of the moisture and ash contents in wheat mills by multistep programmed thermogravimetry. **Thermochim. Acta.**, v. 188, n. 1, p. 51 - 62, 1991.

AGUILERA, J.M. ; KOSKOWSKI, F.V. Soybean extruded product: a response surface analysis, **J. Food. Sci.**, v.41, p.647-651, 1976.

ALLEN, J. G. Toxins and lupinosis. In: GLADSTONES, J. S.; ATKINS.C. A. ; HAMBLIN, J. (Ed.). Lupines as a crop plant biology, production and utilization. South Perth: CAB International, 1998. p. 411–428.

ALTSCHUL, A.M. Protein food technologists and politics of food: an overview In:New Protein Foods, ALTSCHUL, A.(Ed.). New protein foods. NEW YORK: Academic Press, 1974. v.1

AMORIM, J. A.; ELIZIÁRIO, S. A.; GOUVEIA, D. S.; SIMÕES, A. S. M.; SANTOS, J. C. O.; CONCEIÇÃO, M. M.; SOUZA, A. G.; TRINDADE, M. F. S. Thermal analysis of de rice and by-products. **J. Therm. Anal. Cal.**, v. 75, n. 2, p. 393 – 399, 2004.

ANON, - Food and drug proposals. Nutritional value of meat protein-soy and protein blends.**Fed. Regis**, v.39, n.16, p.20892, 1974.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis**. 16 th ed. Arlington, pp 14-18, 1995.

ARÊAS, J.A.G. ; LAWRIE, R. Effect of lipidprotein interactions on extrusion of of tal protein isolates. **Meat Sci.**, v.11, p.275-299, 1984.

AUTRET, M. World protein supply and needs, In: LAWRIE, R. A. (Ed.). Proteins as Human Foods, Avi Publishing Westport, Conn, 3, 1970.

AVANCINI, S.R.; SALES, A.M.; AGUIRRE, J.M.; MANTOVANI, D.M.B. Composição química e valor nutricional de cultivares de grão-de-bico produzidos no Estado de São Paulo. **Coletânea do Instituto de Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p. 145-53, 1992.

BASTOS, D. H. M. Extrusão termoplástica de pulmão bovino. 1989. 112f. Dissertação (Mestrado em ciências dos Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, São Paulo.

BENEYTOUT, J. L.; DESMAISON, A. M.; NAJID, A.; RIGUD, M. Composition en acides gras de dix espèces et variétés de lupin. *Sci. Aliments*, 7, Hors Série VIII: 337-345, 1987.

BOURNE, M.C. Texture profile of ripening pears. **J. Food. Sci.**, v. 33, p.223-26, 1968.

BOURNE, M.C. Texture profile analysis. **Food Technol.**, v. 32, p.62-66, 1978.

BRAGA, N.R. Possibilidades da cultura do grão-de-bico (*Cicer arietinum L.*) na microrregião de Viçosa, MG: competição entre cultivares e nutrição mineral. Viçosa, 1997. 101 p. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa.

CANNIATTI-BRAZACA, S.G.; SILVA, F.C. da. Enhancers and inhibitors of iron availability in legumes. **Plant Food for Human Nutrition**, v. 58, p. 1-8, 2004.

CARRASCO, F. The evaluation of kinetic parameters from thermo gravimetric data: comparasion between established methods and the general analytical equation. **Thermochim. Acta**, v. 213, p. 115 -134, 1993.

CHANDRASEKHARAPPA, G. Nutritional quality of the protein of blends of wheat and rice with Bendal gram, red gram or black gram. **Nutr. Rep.Int.**, v.18, p.401, 1979.

CHAVAN, J.K.; KADAM, S.S. (1984) –Biochemistry and tecnologia of chickpea(*Cicer arietinum,L*) seeds. *CRC Crit. Rew. Food Sci.Nutr.* , v.25, n.2, p.107, 1984.

CUBERO, J. I. Morphology of chickpea. In: M.C SAXENA, K.B. (Ed.). **The chickpea**. Singh Wallingford, UK.: CAB International, 1987.

D'AGOSTINA, A. D.; ANTONIONI, C.; RESTA, D.; ARNOLDI, A.; BEZ, J.; KNAUF, U.; WASCHE, A. Optimization of a pilot-scale process for producing lupin protein isolates with valuable technological properties and minimum thermal damage. **J. Agric. Food Chem.**, n. 54, p. 92-98, 2006.

DHAWAN, K., MALHOTRA, S., DAHIYA, B.S., SINGH, D. Seed protein fractions aminoacid composition in gram (*Cicer arietinum*). **Plant Food. Hum. Nutr.**, v.41, p.225-32, 1991.

DODOK, L.; ALI, M.A.; HOZOVÁ, B.; HALASAVÁ, G.; POLACEK, I. Importance and utilization of chickpea in cereal technology. **Acta Alim.**, v.22, p. 119-29, 1993.

DORNELES, F.O - Produção De Sementes de *Lupinus albus* para recuperação de áreas degradadas por arenização - DISSERTAÇÃO DE MESTRADO Santa Maria, RS, Brasil (2009).

DUARTE, A. J.; CARREIRA, R. L.; JUNQUEIRA, R. G.; COELHO, J. V.; SILVESTRE, M. P. C. Propriedades emulsionantes e solubilidade da caseína bovina: 1. Efeito do pH e do tempo de hidrólise. **Cienc. Tecnol. Alim.** v. 18, n. 3, p. 295 – 302, 1998a.

DUARTE, A. J.; CARREIRA, R. L.; JUNQUEIRA, R. G.; COELHO, J. V.; SILVESTRE, M. P. C. Propriedades emulsionantes e solubilidade da caseína bovina: 2. Efeito da adição de NaCl. **Cienc. Tecnol. Alim.**, v. 18, n. 3, p. 303 – 308, 1998b.

DUBOIS, M. et alii (1956) - Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.*, 28:350.

EL-ADAWY, T. A.; RAHMA, E. H.; EL-BEDAWAY, A. A.; GAFAR, A. F.; Nutritional potential and functional properties of sweet and bitter lupin seed protein isolates. *Food Chemistry*, v. 74, p. 455 – 462, 2001.

ERBAS, M.; CERTEL, M.; USLU, M.K. Some chemical properties of White lupin seeds (*Lupinus albus* L.). **Food Chemistry**, v. 89, p. 341-345, 2005.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION – FAO. El número de personas que pasan hambre está aumentando. Disponível em: <http://www.fao.org/hunger/hunger-home/es/> . Acesso em: 10, março, 2010

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION- FAO. MAJOR FOOD AND AGRICULTURAL COMMODITIES AND PRODUCERS, 2005.

FAO (Food and Agriculture Organization) (1971) - Enriquecimiento de los alimentos. Desnutrición proteico-calórica. Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Nutrición, Organización Mundial de la Salud, Serie de Informes Técnicos, Organización Mundial de la Salud, Ginebra.

FERREIRA, A.C.P.; CANNIATTI_BRAZACA. S.G.; ARTHUR. V. Alterações Químicas e Nutricionais do Grão-de-Bico (*Cicer arietinum* L.) cru irradiado e submetido à cocção. **Cienc. Tecnol. Alim.**, Campinas, v.26, n.1, p.80-88, jan.-mar. 2006.

FONTANARI, G. G.; BATISTUTI, J. P.; BANNACH, G.; PASTRE, I. A.; IONASHIRO, E. Y.; FERTONANI, F. L. Thermal study and physico-chemical characterization of some functional properties of guava seeds protein isolate (*Psidium guajava*). **J. Therm. Anal. Cal.**, 2005. In Press. (DOI: 10.1007/s10973-005-6802-9).

FRAZIER, P.J. Factors affecting texture formation during extrusion cooking. In LINKO, P. et al eds. Food process Engineering, Applied Science Publishers Ltd, 1980, p.768.

GARCÍA-LÓPEZ, P. M.; MUZQUIZ, M.; RUIZ-LOPEZ, M. A.; ZAMORA-NATERA, J. F.; BURBANO, C.; PEDROSA, M. M.; CUADRADO, C.; GARZÓN-DE LA MORA, P. Chemical composition and fatty acid profile of several Mexican wild lupins. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 14, p. 645-651, 2001.

GIOLITO, I. *Revista de Química Industrial*, 663, 12 (1988).

GIOLITO, I.; IONASHIRO, M. A Nomenclatura em Análise Térmica. *Cerâmica*, v. 34, p. 163-164, 1988.

GLOBO RURAL. **Métodos de compostagem rápida**. Disponível em: <http://www.rionet.com.br/~cantoverde/verde.html>. Acesso em : 26 set 1987.

GUTCHO, M. (1973) - Textured foods and applied products. Noyes Data Corp., Park Ridge, N.Y.

HANSON, L.P. (1974) - Vegetable Protein Processing., Noyes Data Corp., Park Ridge, N.Y.

HARPER, J.M. Food extrusion. **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.11, p.155, 1979.

HASSID, W.Z. ; NEUFELD, E.F. Quantitative determination of starch in plant tissues. **Meth.Carb. Chem.**, v.4, p.33, 1964.

HERMANSSON, A.M. ; AKESSON, C. Functional properties of added proteins correlated with properties of meat systems. Effect of salt on water-binding properties of model meat systems. **J. Food Sci.**, v.40, p.603, 1975.

HOLMES, A.W. Substitute foods: a practical alternative, **Philos. Trans. R. Soc. London**, B:v.267, p.157, 1973.

HORAN, F.E. Meat analogs. In: ALTSCHUL, A.M. (Ed.) . New protein foods New York: Academic Press, 1974. p.

HORAN, F.E.(1974) - Soy protein products and their production. *J.Am.Oil Chem. Soc.*,51:67a.

HUMBERT, E.S. & LIN, M.J.Y.(1974) - Certain functional properties of sunflower meal products. *J.Food Sci.*, 39:368.

KEATTCH, C. J.; DOLLIMORE, D.; **An Introduction to Thermogravimetry**, 2nd. London: Heyden, 1975. 164p.

KINSELLA, J.E.(1978) - Texturized proteins: fabrication, flavoring and nutrition. *CRC CritRev.Food Sci. Nutr.*, 10:147.

JIMENEZ-MARTINEZ, C.; HERNÁNDEZ-SANCHEZ, H.; ALVAREZ-MANILLA, G.; ROBLEDO-QUINTOS, N.; MARTINEZ-HERRERA, J.; DAVILA-ORTIZ, G. Effect of aqueous and alkaline thermal treatments on chemical composition and oligosaccharide, alkaloid and tannin contents of *Lupinus campestris* seeds. **Journal of the Science of Food and Agriculture.**, v. 81, p. 421-428, 2001.

JIMENEZ-MARTINEZ, C.; LOARCA-PINA, G.; DAVILA-ORTIZ, G. Antimutagenic activity of phenolic compounds, oligosaccharides and quinolizidinic alkaloids from *Lupinus campestris* seeds. **Food Additives Contaminants.**, v. 20, p. 940-948, 2003.

LIADAKIS, G. N.; TZIA, C.; OREOPOULOU, V.; THOMOPOULOS, C. D. Protein isolation from tomato seed meal, extraction optimization. **J. Food Sci.**, v. 60, n. 3, p. 477 - 482, 1995.

LQARI, H.; VIOQUE, J.; PEDROCHE, J.; MILLÁN, F. *Lupinus angustifolius* protein isolates: chemical composition, functional properties and protein characterization. **Food Chem.**, v. 76, p. 349 - 356, 2002.

MAGOSHI, J.; BECKER, M.A.; HAN, Z.; NAKAMURA, S. Thermal properties of seed proteins. **J. Therm. Anal. Cal.** Vol. 70, p833–839, 2002.

MANARA, W.; RIBEIRO, N. D. Grão-de-bico – Revisão bibliográfica. **Ciênc. Rural**, (Santa Maria), v.22,p.359-65, 1992.

MECHI, R.; CANIATTI-BRAZACA, S. G.; ARTHUR V. Avaliação química, nutricional e fatores antinutricionais do feijão preto (*Phaseolus vulgaris* L.) irradiado. **Cienc. Tecnol. Alim.** v.25, n.1,p.109-114 Campinas jan./mar, 2005.

MELLON, E.F.;KORN, A.H.;HOOVER, S.R.Water adsorption of proteins.I The effect of free amino groups in casein. **J.Amer. Chem. Soc.**, v. 70, p.3040, 1947.

MILNER, M. (1972) - Nutritional improvement of food legumes by breeding. Proc. Symp., Food and Agriculture Organization, Rome.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE – Brasil atingirá meta de redução de mortalidade infantil .Disponível em: www.fomezero.gov.br/noticias/brasil-atingira-meta-de-reducao-de-mortalidade-infantil Acesso em: 12 de março 2010.

MOHAMED, A. A. Effect of corn oil and amylose on the thermal properties of native soy protein and commercial soy protein isolate. **Food Chem.**, n. 78, p. 291 - 303, 2002.

MUSQUIZ, M.; BURBANO, C.; REY, C.; CASSINELLO, M. A chemical study of *Lupinus hispanicus* seed. Nutritional components. **J. Sci. Food. Agric.**, n. 47, p. 197-204, 1989.

MYERS, R.H. Response surface methodology Allyn & Bacon, Eds, Boston 1971, 243p.

MYNA PANEMANGALORE, J.K. Nutritive value of the proteins of a high protein food based on a blend of groundnut protein isolate and Bengal gram flour. **Food Sci.**, v. 11, p. 999, 1962.

MULAYIM, M.; TAMKOC, A.; BABAOGU, M. Sweet lupins versus local bitter genotype: agronomic characteristic as affected by different planting densities in the Goller region of Turkey. **Eur. J. Agr.**, n. 17, p. 181-189, 2002.

NARAYANA, M. ; SWAMINATHAN, M. Plantproteins in the amelioration of protein deficiency states. **World Rev. Nutri. Diet.**, v.11, p. 106, 1969.

NELSON, N . A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. **J.Biol. Chem.**, v.153, p.375, 1944.

NEVES, V. A.; SILVA, S. I. J.; SILVA, M. A. Isolamento da globulina majoritária, digestibilidade *in vivo* e *in vitro* das proteínas do tremço-doce (*Lupinus albus* L.), var. Multolupa¹. **Cienc. Tecnol. Alim.**, v. 26, n. 4, p. 832 - 840, 2006.

NEVES, V. A; LOURENÇO, E. J.; SILVA, M. A. Extração, isolamento e fracionamento da proteína de tremço (*Lupinus albus*) var. Multolupa. **Alim. Nutr.**, v. 12, p. 115-130, 2001.

NEVES, V. A.; LOURENÇO, E. J. Lentil tannin-globulin and *in vitro* hydrolysis. **Cienc. Tecnol. Alim.**, v.18, n. 3, p. 346 - 349, 1998.

NEVES, V. A.; LOURENCO, E.J. Isolation and *In vitro* hydrolysis of globulin G-1 from Lentils (*Lens culinaris medik*). **J. Food Biochem.**, v. 19, p. 309 - 320, 1995.

OOMAH, B. D.; BUSHUK, W. Characterization of lupin proteins. **J. Food Sci.**, v. 48, n. 1, p. 38-41, 1983.

ORTIZ, S. E. M.; WAGNER, J. R. Hydrolysates of native and modified soy protein isolates: structural characteristics, solubility and foaming properties. **Food Res. Int.**, v. 35, p. 511 - 518, 2002.

PAK, N. ; BARJA, I. Composition, content of toxic substances, protein quality and protein value of greenpeas, chickpeas and lentils grown in Chile. **Cienc Invest. Agr.**, v. 1, p.105- , 1974.

PETTERSON, D.S.; CROSBIE, G.B. Potential for lupins as food for humans. **Food Austrália.**, v. 42, p. 266-268, 1990.

PETTERSON, D. S.; SIPSAS, S.; MACKINTOSH, J. B. The chemical composition and nutritive value of Australian pulses 2 nd ed. Canberra: Grains Research and Development Corporation, 1997.

POLLONIO, M. A. R. **Estudo das propriedades funcionais do isolado protéico obtido do resíduo industrial do processamento de tomate.** 1988. 169f. Dissertação Mestrado – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1988.

PUTNAM, D.H.; OPLINGER, E.S.; HARDMAN, L.L.; DOLL, J.D. **Lupine.** 1989. Disponível em: <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/lupine.html> Acesso em: 4 out. 2007.

RAO, K. ; SUBRAMANIAN, N. Essential aminoacid composition of commoly used Indian pulses by paper chromatography, **J. Food Sci. Technol.**, v.7, p.31, 1970.

RAEMY, A. Behavior of foods studied by thermal analysis: Introduction. **J. Therm. Anal. Cal.**, v. 71, p. 273 - 278, 2003.

RODRÍGUEZ-AMBRIZ, S. L.; MARTÍNEZ-AYALA, A. L.; MILLÁN, F.; DÁVILA-ORTÍZ, G. Composition and functional properties of lupinus campestris protein isolates¹. **Plant Foods for Hum. Nutr.**, v. 60, p. 99 – 107, 2005.

ROOS, Y. H. Thermal analysis, state transitions and food quality. **J. Therm. Anal. Cal.**, v. 71, p. 197 - 203, 2003.

SABRY, Z.I.(1975) - Coordinating food production with human needs. In: WHITE, P. ; SELVEY, N. (Ed). CONGRESS WESTERN HEMISPHERE NUTRITION, 4., Publishing Sciences Group, Action Mass, 6.

SALDAÑA, M.D.A.; MAZZAFERA, P.; MOHAMED, R.S. Uso de fluidos supercríticos para obtenção de alcalóides de plantas naturais. **Bol. SBCTA**. Brasil, v. 32, n. 1, p. 80-88, 1998.

SALUNKE, D.K. (1982) - Legumes in human nutrition: current status and future research needs., *Curr. Sci.*, 51: 387.

SAIO, K. et al (1974) - Food use of soybean 7S and 11S proteins high temperature expansion characteristics of gels. *J.Food Sci.*, 39:777.

SANTOS, M.A.T - Effect of boiling on contents of antinutritional factors in leaves of broccoli, cauliflower and cabbage - *Ciênc. agrotec.*, Lavras, v. 30, n. 2, p. 294-301, mar./abr., 2006.

SÁNCHEZ-VIOQUE, R.; CLEMENTE, A.; VIOQUE, J.; BAUTISTA, J.; MILLÁN, F. Protein isolates from chickpea (*Cicer arietinum* L.): chemical composition, functional properties and protein characterization. *Food Chem.*, v. 64, p. 237 -243, 1999.

SATHE, S.K., SALUNKHE, D.K. Solubilization and electrophoretic characterization of the Great Northern Bean (*Phaseolus vulgaris* L.) proteins. *J. Food Sci.*, v. 46, p.82-7, 1981.

SCHRIRALDI, A.; FESSAS, D. Classical and knudsen thermogravimetry to check states and displacements of water in food systems. **J. Therm. Anal. Cal.**, v. 71, p. 225 - 235, 2003.

SCRIMSHAW, N.S. & HWANG,D.(1975) - Protein resources and technology: Status and research needs, National Science Foundation Report NSF-RA-T-75-037.

SCRIMSHAW, N.S. & TAYLOR, L.(1980) - Alimentacion. *Scient. Amer.* 50:48.

SGARBIERI, V.C. Estudo do conteúdo e de algumas características das proteínas em

- sementes de planta da família Leguminosae. Ciênc.Cult., v. 32, p. 78-84,1980.
- SILVA, M. S. Avaliação química, biológica e nutricional da farinha de tremçoço branco doce (*Lupinus albus* var. Multolupa). 1991. 103f. Dissertação (Mestrado) – ESALQ, Piracicaba, 1991.
- SILVA, S. A.; SOUZA, A. G.; CONCEIÇÃO, M. M.; ALENCAR, A. L. S.; PRASAD, S.; CAVALHEIRO, J. M. O. Estudo termogravimétrico e calorimétrico da Algaroba. **Quim. Nova**, v. 24, n. 4, p. 460 - 464, 2001.
- SMITH, O.B. (1969) - History and status of specific protein rich foods. Extrusion processed cereal foods. In Protein Enriched Cereal Foods for World Needs, MILNER, M. ed., Am. Assoc. Cereal Chem., St Paul, Minn, 140.
- SINGH, U., RAJU, S. M., JAMBUNATHAN, R. Studies on Desi and Kabuli chick-pea (*Cicer arietinum* L.) cultivars.II. Seed protein fraction and amino acid composition. J. Food Sci. Technol., v. 18, p. 86-8. 1981.
- SINGH, U., JAMBUNATHAN, R. distribution of seed protein fractions and amino acids in different anatomical parts of chickpea (*Cicer arietinum* L.) and pigeonpea (*Cajanus cajan* L.). qual. Plant. Plant food. Hum. Nutr., v. 31, p.347-54, 1982.
- SINGH, U., SINGH, B. Tropical grain legumes as important human foods. Econ. Bot., v.46, p.310-21, 1992.
- SOTELO, A., FLORES, F., HERNÁNDEZ, M. Chemical composition and nutritional value of Mexican varieties of chickpea (*Cicer arietinum* L.). Plant Food. Hum. Nutr., v.37, p. 299-306,1987.
- SZCESNIAK, A.S. - Classification of textural characteristics. J.Food Sci. 28:385-89, 1975.
- SZCESNIAK, A.S. - General foods texture profile revisited. Ten years perspective, J.Text.Stud 6:5-17, 1975.
- TEAGUE AUSTRALIA PTY LTD. **Albus lupins**. 2000. Disponível em: http://www.tjt.com.au/tjt/facts.stm?facts_id=25 Acesso em 27/09/2007.
- TORRES, J; GUARRO, J. SUAREZ, G.; SUNE, N. CALVO, M.A.; RAMIREZ, C. Morphological changes in strains of *Aspergillus flavus* Link ex Fries and *Aspergillus*

parasiticus Speare related with aflatoxin production. **Mycopathologia**, Dordrecht, v.72, p.171-174, 1980.

USDA. **Thermal and rheological properties of *Lupinus albus* flour meal**. Lupin

International Conference Proceedings. 24/04/2002. Disponível em:

http://www.ars.usda.gov/research/publications/publications.htm?SEQ_NO_115=133068

Acesso em: 19 de fevereiro de 2009.

VAN BARNEVELD, R. J. Understanding the nutritional chemistry of lupin (*Lupinus* sp.) seed to improve livestock production efficiency. Nutrition Research Reviews, n. 12, p. 1-30, 1999.

WANG, S. H.; FERNANDES, S. M.; CABRAL, L. C. Solubilidade de nitrogênio, dispersibilidade de proteína e propriedades emulsificantes dos extratos hidrossolúveis desidratados de arroz e soja. **Cienc. Tecnol. Alim.**, v. 20, n. 1, p. 12 – 17, 2000.

WENDLANDT, W. W. **Thermal Methods of Analysis**. New York: Interscience Publishers, 1964.

WOLDEMICHAEL, G.M.; WINK, M. Triterpene glycosides of *Lupinus angustifolius*.

Phytochemistry., V. 60, p. 323-327, 2002.

WU, M.T. & SALUNKE, D.K. (1974) - The use of certain chemicals to increase nutritional value and to extent quality in economic plants CRC. Crit. Rev. Food Cienc. Technol., 5:507.

