

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA

AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA E NUTRICIONAL DA PROTEÍNA
DA FARINHA DESENGORDURADA DE AMÊNDOA DE BABAÇU

TESE DE MESTRADO
Júlia Geracila de Mello

ORIENTADOR

Prof. ALOÍSIO JOSÉ ANTUNES

Tese apresentada à Faculdade de
Engenharia de Alimentos e Agrícola da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do Título de Mestre em Ciência de Alimentos.

CAMPINAS
1983

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Ao Mellinho, Ci, Pt, Cita e Luiz.

AGRADECIMENTOS

- Ao Prof. Dr. Aloísio José Antunes, pela orientação.
- À Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola, pela oportunidade de realizar esta pesquisa.
- À Universidade Federal do Piauí, pela liberação para conclusão deste trabalho.
- À empresa Siqueira Gurgel S.A. Comércio e Indústria, pelo fornecimento da matéria prima e utilização do laboratório de controle.
- À CAPES, pelo apoio financeiro.
- aos Profs. Ângelo Pires do Prado e Jaime Amaya-Farfán, pelo auxílio para execução da pesquisa.
- Aos amigos Célia, Denise, Goretti, Graça, Iracema x Shoji, Mara e Méia, pela amizade e estímulo.
- À Eunice, Durigan e Terezinha, pelo incentivo e cooperação na realização do nosso trabalho.
- Aos funcionários Dorothy, Gláucia, Júlio e Rosa, sempre solícitos.
- Ao Dr. Valdenir Queiroz Ribeiro, pela análise estatística.

ÍNDICE

	Página
SUMMARY	
RESUMO	
INTRODUÇÃO	1
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	2
1 - CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA	2
2 - PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO	4
3 - INDUSTRIALIZAÇÃO INTEGRADA	7
4 - EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO DE PROTEÍNAS	9
5 - MÉTODOS BIOLÓGICOS	11
MATERIAL E MÉTODOS	14
1 - PREPARO DA AMOSTRA	14
2 - DETERMINAÇÕES :	14
- Umidade	15
- Cinzas	15
- Fibras	15
- Proteína	15
- Extrato etéreo	15
- Carboidratos	15
3 - FRACIONAMENTO PROTEÍCO	16
4 - DETERMINAÇÃO DE GLICOSE	17
5 - DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO EM AMINOÁCIDOS	17

6 - CURVAS DE SOLUBILIZAÇÃO	17
6.1 - a diferentes valores de pH	17
6.2 - a diferentes tempos de extração	18
6.3 - a diferentes proporções amostra: solvente	18
6.4 - determinação do número de extrações	18
6.5 - efeito de vários solventes	19
6.6 - curva de precipitação a diferentes pH	20
7 - DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE DA CÉLULA NA EXTRAÇÃO DE PROTEÍNA DA FDAB	20
8 - DETERMINAÇÃO ELETROFORÉTICA DAS FRAÇÕES ALBUMINA, GLOBULINA E GLUTELINA EM GEL DE POLIACRILAMIDA	21
9 - ENSAIOS BIOLÓGICOS: NPR	22
Digestibilidade aparente	22
Avaliação com larvas de <i>C. chlo</i> <i>ropyga</i>	22
RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
1 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL	33
2 - EFEITO DO pH NA SOLUBILIDADE DA PROTEÍNA DA FDAB ...	33
3 - EFEITO DE DIFERENTES TEMPOS DE EXTRAÇÃO NA SOLUBILIDADE DA PROTEÍNA DA FDAB	33
4 - PROPORÇÃO AMOSTRA: solvente	35
5 - EFEITO DO NÚMERO DE EXTRACOES	35
6 - COMPORTAMENTO DOS COMPONENTES NITROGENADOS DA FDAB FRENTE A DIFERENTES SOLVENTES	37
7 - CURVA DA PRECIPITAÇÃO DAS PROTEÍNAS EM FUNÇÃO DO pH.	41
8 - ELETROFORESE DE DISCO EM GEL DE POLIACRILAMIDA DAS	

FRAÇÕES ALBUMINA, GLOBULINA E GLUTELINA DA FDAB	43
9 - ESTUDO DO EFEITO DA CELULASE DE <i>ASPERGILLUS NIGER</i> NA EXTRAÇÃO DAS PROTEÍNAS DA FDAB	43
10 - COMPOSIÇÃO EM AMINOÁCIDOS	45
11 - AVALIAÇÃO NUTRICIONAL: NPR	48
12 - AVALIAÇÃO NUTRICIONAL UTILIZANDO LARVAS DE <i>CHRYSONYMYA</i> <i>CHLOROPYGA</i>	57
CONCLUSÕES	62
BIBLIOGRAFIA	63
APÊNDICE A: dados utilizados na análise estatística ...	68

TABELAS E FIGURAS

Página

TABELAS:

1 - Composição química média das amêndoas	4
2 - Área de ocorrência de babaçuais nativos	5
3 - Babaçu - principais regiões ecológicas-MA	6
4 - Defasagem entre os estágios atual e potencial do se <u>tor</u> babaçueiro	7
5 - Aproveitamento industrial total do babaçu	8
6 - Análise química de uma torta de amêndoas de babaçu .	9
7 - Composição centesimal das dietas utilizadas na <u>de</u> terminação do NPR	23
8 - Composição da mistura salina. (NPR)	24
9 - Composição da mistura vitamínica. (NPR)	25
10 - Composição das dietas de FDAB suplementadas com L-Lisina e D-L-Treonina	26
11 - Composição das dietas de FDAB para estudo do efeito da concentração proteica no crescimento de larvas de <i>Chrysomya chloropyga</i>	27
12 - Composição das dietas de caseína para estudo do efei <u>to</u> da concentração proteica no crescimento de <u>lar</u> vas de <i>C. chloropyga</i>	28
13 - Composição das dietas de 2% de proteína de FDAB pa <u>ra</u>	

ra estudo do efeito da suplementação com os aminoácidos L-Lisina e D-L-Treonina no crescimento de larvas de <i>C. chloropyga</i>	29
14 - Composição das dietas de 4% de proteína da FDAB para estudo do efeito da suplementação com os aminoácidos L-Lisina e D-L-Treonina no crescimento de larvas de <i>C. chloropyga</i>	30
15 - Composição da solução de vitaminas utilizadas nas dietas para <i>C. chloropyga</i>	31
16 - Componentes da mistura de sais minerais utilizada nas dietas para <i>C. chloropyga</i>	32
17 - Composição centesimal da FDAB	33
18 - Efeito da relação amostra: solvente	35
19 - Efeito do número de extrações	37
20 - Eficiência de diferentes solventes na extração da proteína da FDAB utilizando-se extrações sucessivas.	40
21 - Estudo do efeito de diferentes solventes na extração da proteína da FDAB utilizando-se extrações isoladas.	41
22 - Ação da celulase na extração da proteína da FDAB ...	45
23 - Composição em aminoácidos da FDAB e das frações isoladas	47
24 - Composição em aminoácidos da FDAB, feijão e soja ...	52
25 - Composição em aminoácidos da FDAB e Tucum	53

26 - Resultados do NPR e Digestibilidade aparente	54
27 - Conteúdo de aminoácidos essenciais para o rato na dieta de FDAB	55
28 - Ganho médio de peso dos ratos submetidos a dietas de FDAB	56
29 - Peso médio e porcentagem de crescimento das larvas de <i>C. chloropyga</i> submetidas aos diferentes tratamentos	61

FIGURAS:

1 - Efeito do pH na solubilidade da proteína da FDAB ..	34
2 - Efeito de diferentes tempos de extração na solubilidade da proteína da FDAB	36
3 - Efeito de diferentes solventes na solubilidade da proteína da FDAB	38
4 - Efeito de diferentes solventes na solubilidade da proteína da FDAB, utilizando extrações isoladas ...	39
5 - Efeito do pH na precipitação da proteína da FDAB ..	42
6 - Representação eletroforética das frações albumina, globulina e glutelina	44
7 - Curva de crescimento dos ratos submetidos a dietas de caseína, FDAB e dieta aproteica	49
8 - Curva de crescimento dos ratos submetidos às dietas suplementadas	50

9 - Curva de crecimiento das larvas de <i>C. chloropyga</i> sub metidas as dietas de carcaça, 2% caseína e 2% FDAB.	59
10 - Curva de crescimento das larvas de <i>C. chloropyga</i> sub metidas as dietas de 4% caseína e 4% FDAB	60

SUMMARY

In the present work some nutritional and biochemical properties of the defatted "babaçu" flour (FDAB) were studied.

The proximate composition of the FDAB was as follows: moisture: 9.4; protein (Nx6.25): 21.6; fat: 0.3; fiber: 20.2; ash: 5.1; and carbohydrates 43.4.

Investigation of the solubility of the nitrogenous components showed minimum at pH between 3.0 and 4.0 and a maximum at pH 11.1. Under the experimental conditions maximal yield of nitrogenous compounds was obtained with four 30 minute extractions. Distilled water, NaCl solutions and NaOH solutions extracted 25.8, 52.3 and 77.3% of the total nitrogen, respectively, at an ideal sample: solvent ratio of 1:25. The effect of *Aspergillus niger* cellulase on the extraction yield of nitrogenous compounds was studied. When the extraction was performed in the presence of *Aspergillus niger* cellulase the yield was improved by a factor of 4.

The crude protein extract was fractionated by classical separation methods into albumins, globulins and glutelins. PAGE studies of these fractions revealed the presence of 10 bands for the albumin, 11 for the globulin and 1 for the glutelin fractions.

Amino acid determination of FDAB proteins indicated that the amino acids lysine and threonine are the first and the second most limiting, respectively, according to the FAO reference standard of 1973.

Biological evaluation with rats showed that the proteins of FDAB without any amino acid supplementation was significantly lower (NPR = 2.4) than the casein (NPR = 3.78) at the 1%

probability level. In diets supplemented with either lysine or threonine, NPR values obtained for threonine were higher (probability level 5%) than those for lysine.

Biological evaluation with larvae of *Chrysomya chloropyga* confirmed the results obtained by the rat bioassays, showing the improvement of the efficiency of the protein when supplemented with the limiting amino acids.

RESUMO

O presente trabalho constou do estudo de algumas características bioquímicas e nutricionais das proteínas da farinha desengordurada de amêndoas de babaçu (FDAB).

A FDAB estudada apresentou a seguinte composição centesimal - umidade: 9.4; proteína (Nx6.25): 21.6; gordura: 0.3; fibras: 20.2; cinzas: 5.1 e carboidratos: 43.4.

Procurou-se investigar a solubilidade dos componentes nitrogenados da FDAB, tendo-se verificado solubilidade mínima em pH entre 3.0 e 4.0 e máxima em pH 11.1. Nas condições empregadas o tempo ideal de extração foi de 30 minutos, obtendo-se máxima extractabilidade após 4 extrações sucessivas. A relação ideal de amostra: solvente foi de 1:25, tendo os solventes água, NaCl e NaOH extraído 25.8, 52.3, e 77.3%, respectivamente.

Estudou-se também o efeito da celulase de *Aspergillus niger* no rendimento da extração das proteínas da FDAB, tendo-se verificado um incremento da ordem de 1 a 4 vezes nas quantidades de proteínas extraídas.

As frações albumina, globulina e glutelina obtidas através do fracionamento das proteínas da FDAB foram estudadas por eletroforese em gel de poliacrilamida. Foram obtidos 10 componentes para a fração albumina, 11 para a fração globulina e 1 para a fração glutelina.

A composição de amino ácidos das proteínas da FDAB indicou como amino ácidos limitantes a lisina e a treonina, utilizando-se como base para comparação o padrão de referência da FAO (1973).

A avaliação nutricional foi realizada através de determinação do NPR, que apresentou o valor de 2.4 para a FDAB pura, sendo significativamente inferior ao efeito da caseina ao nível de 1% de probabilidade. Para as dietas suplementadas o efeito médio da D-L-Treonina foi significativamente superior ao efeito médio da L-Lisina ao nível de 5% de probabilidade.

Utilizou-se também larvas de *Chrysomya chloropyga* para a avaliação da qualidade proteica da FDAB, tendo-se verificado efeito positivo da adição dos amino ácidos limitantes à FDAB.

INTRODUÇÃO

O babaçu (*Orbignya martiana* Barb. Rodr.) é uma palmácea nativa e no Brasil, sua ocorrência é maior nos estados do Maranhão, Piauí, Goiás e Mato Grosso.

A atividade babaçueira restringi-se à extração do óleo de suas amêndoas e ao aproveitamento da torta e farelo na alimentação animal, o que leva a uma perda de 93% de materiais diversos que poderiam ser utilizados para fornecer amido, álcool, glicose, carvão e vários outros produtos químicos.

Atualmente, no Nordeste, a quase totalidade da torta obtida da extração do óleo é exportada, sendo o seu preço estipulado de acordo com o teor proteíco encontrado, fato este que nos levou a direcionar nosso estudo para a proteína da amêndoa de babaçu.

O objetivo deste trabalho, portanto, será analisar bioquímica e nutricionalmente a proteína da farinha desengordurada de amêndoa de babaçu.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 - CARACTERIZAÇÃO BOTÂNICA:

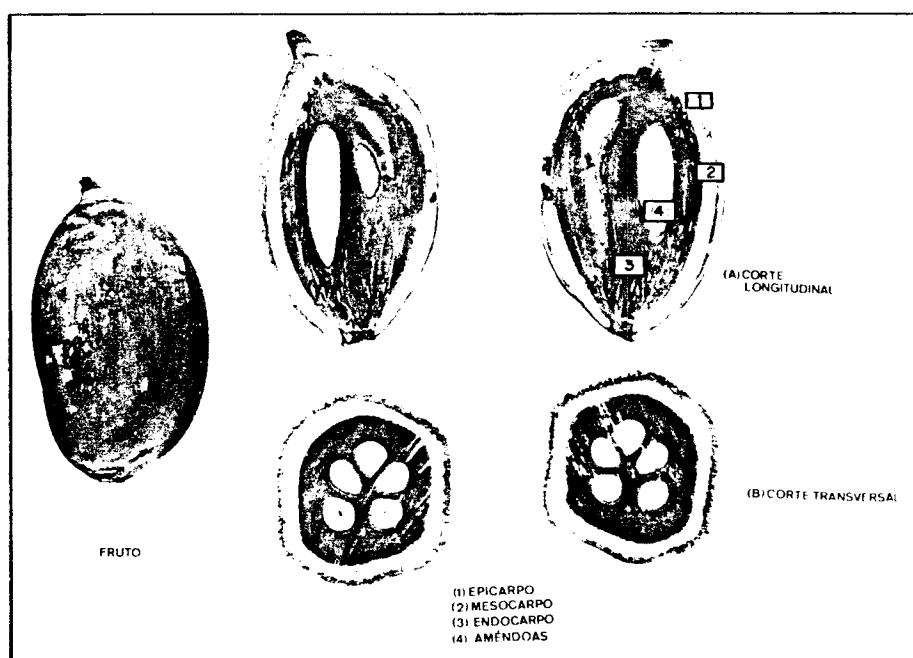
O babaçu (*Orbignya martiana* Barb. Rodr.), planta da família das palmáceas, possui porte elegante alcançando até 20 m de altura, coroada por 15-20 folhas grandes, planas, penipartidas, de 15 a 20 cm de largura, podendo alcançar até 6 metros de comprimento (BRAGA, 1960). A palmeira floresce de novembro até janeiro, sendo que o período de desenvolvimento dos cachos, que aparecem nas inflorescências femininas, vai de julho a novembro. Cada palmeira produz 2, 3 e até 4 cachos de 1 a 2 metros de comprimento contendo em média 200 frutos. A classificação botânica para a palmeira é a seguinte:

Divisão: Embryophyta siphonogama
Classe: Monocotyledonea
Ordem: Principes
Família: Palmaceas
Sub-família: Ceroxylinaceae
Gênero: Orbignya
Espécie: Orbignya martiana

O coco babaçu é uma drupa de aproximadamente 8 a 15 cm de comprimento e 5 a 7 cm de largura. Compõe-se das seguintes partes: epicarpo, mesocarpo, endocarpo e amêndoas. (WILHEMS, 1964). O conjunto compreendendo o epicarpo, mesocarpo e endocarpo é conhecido como a casca do coco e corresponde a cerca de 92 a 93% do total deste, cujo peso em termos percentuais está distribuído, segundo trabalho publicado pela secretaria de Indústria e Comércio do governo do Estado do Piauí (1977) em:

CAMADAS	PESO %
Epicarpo	12
Mesocarpo	23
Endocarpo	58
Amêndoas	07

Composição do coco babaçu:



A amêndoas é de cor branca, ligeiramente amarelada, variando em número, comumente de 1 a 3, por vezes em número de até 8, medem de 2,5 a 5,0 cm de comprimento, por 1 a 2 cm de largura. Pesam em média, de 3 a 4 gramas, e contém entre 60 a 68% de óleo (GONSALVES, 1955).

A composição química aproximada das amêndoas é a seguinte, segundo Leite (1977):

TABELA 1: Composição química média das amêndoas.

COMPONENTES	%
Água	4,2
Óleo	67,3
Minerais	1,5
Fibras	6,8
Proteínas	12,6
Carboidratos	7,6

2 - PRODUÇÃO E COMERCIALIZAÇÃO

O babaçu é uma palmácea nativa, cobrindo extensas áreas, principalmente nos estados do Maranhão, Piauí, Goiás e Mato Grosso. Na tabela 2 é apresentada a área de ocorrência dos babaçuais nativos no país (ROSENTHAL, 1977).

TABELA 2: Área de ocorrência dos babaçuais nativos (1000 ha)

ESTADO	(1)	(2)	(3)
Maranhão	12.000 *	8.500	8.665
Piauí	1.200	1.200	300
Goiás	1.000	1.000	1.000
Mato Grosso	1.500	800	2.000
Minas Gerais	1.000	-	1.000
Outros:	700	2.500	280
Amazonia	-	-	50
Pará	-	-	200
Ceará	-	-	30

(1) S.A. Maranhão

*Akira Kono

(2) I.O., M.A., 1968

(3) Serv. Estat. Produção, 1973

O Maranhão, tem no babaçu um dos principais sustentáculos de sua economia, contribuindo com 50% da receita do Estado. Na zona dos cocais as palmeiras de babaçu produzem em torno de trezentos e vinte bilhões de cocos, gerando aproximadamente, duzentas mil toneladas de amêndoas oleíferas, aplicadas na produção de óleo bruto, torta e farelo, produtos estes utilizados nas indústrias químicas de sabões, detergentes, cosméticos, indústrias alimentícias, de óleos refinados, gordura, margarina e rações balanceadas (SOARES, 1979). Na tabela 3 são mostradas as áreas de cobertura das principais regiões ecológicas do Maranhão, segundo dados do Instituto de Pesquisas Econômico-Sociais e Informática do Estado do Maranhão (1977).

TABELA 3: Babaçu - Principais regiões ecológicas do Maranhão

REGIÃO ECOLÓGICA	ÁREA (1.000ha)	% SOBRE O ESTADO ÁREA	PRODUÇÃO AMÊDOA
Cerrado	4.483	13,81	38,30
Cocais	1.974	6,06	22,50
Baixada	1.770	5,44	19,07
TOTAL	8.228	25.31	79,87

Segundo estudo contido no Informativo Cacex (1980), o babaçu em proporções limitadas, ou em usinas-piloto, já demonstrou todas as potencialidades do seu aproveitamento integral e ensaiou todas as potencialidades de sua utilização energética. Provocou o aparecimento de mais de 300 inventos (entre estrangeiros e nacionais) para enfrentar a dureza do endocarpo e extrair as amêndoas sem danificá-las, mas se ressentiu de uma tecnologia adequada que permita sua industrialização em escala de todos os produtos e sub-produtos possíveis (entre outros álcool neutro e amiláceos pré-gelatinizados, dos quais o Brasil é carente). A atividade babaqueira não encontrou ainda o melhor de sua aplicação e depende basicamente da extração do óleo, com o consequente aproveitamento da torta e farelo. A coleta e a quebra, que estão na base de todo programa que vise o aproveitamento da virtualidade econômica do produto, permanecem de maneira geral nos estágios mais simples. A potencialidade de extração do coco é, no mínimo, três e meia vezes maior do que a que se obtém atualmente. A Tabela 4 ilustra a defasagem entre os estágios atual e potencial do setor, de acordo com dados do Informativo Cacex (1980).

TABELA 4: Defasagem entre os estágios atual e potencial do setor babaueiro.

	COMERCIALIZAÇÃO (T/ano)					
	PRODUÇÃO (T/ano)		MERCADO INTERNO		MERCADO EXTERNO	
	ATUAL	POTENCIAL	ATUAL	POTENCIAL	ATUAL	POTENCIAL
Coco	4 milhões	15 milhões	-	-	-	-
Amêndoas	240.000	900.000	-	-	-	-
Farelo/torta	70.000	540.000	20.000	40.000	50.000	230.000
Óleo	140.000	270.000	100.000	140.000	40.000	400.000

3 - A INDUSTRIALIZAÇÃO INTEGRADA

Diversos projetos visam, atualmente, a industrialização integrada do coco, pois o aproveitamento apenas do óleo não constitui atrativo para a indústria, o que representa um desperdício de quase 93% de materiais diversos como: o mesocarpo que pode fornecer o amido, o álcool, a glicose e outros produtos; o endocarpo que fornece o carvão, o coque e produtos químicos diversos (álcool metílico, ácido acético, etc.); o epicarpo que fornece a fibra e pode produzir juntamente com o endocarpo, frufural ou fornecer energia necessária ao funcionamento de equipamentos (ROSENTHAL, 1976).

TABELA 5: Aproveitamento industrial total do babaçu

AMIDO:	FIBRA	ENDOCARPO	FRUTO	
			AMÊNDOA	
			ÓLEO	TORTA
Alcool	Fibras	Ac. acético	Borra	Raçao
Glicose	Papelão	Acetatos	Sabão	Óleo
Raçao	Placas	Alc. metílico	Raçao	
Sondas	Carvão <u>reati</u> tivado.	Acetona		Ac. graxos
Tanino		Alcatrão	Velas	
Amido <u>co</u> mestível.		Carvão gaso- gênio.	Óleo <u>comes</u> tível.	
		Carvão <u>reati</u> vado.		Margarina
		Coque meta- lúrgico.		Glicerina
		Gases <u>combus</u> tíveis.		

Na tabela 6 apresentamos a análise química de uma torta resultante da extração do óleo, segundo trabalho publicado pela Secretaria de Indústria e Comercio do Estado do Piauí (1977).

TABELA 6: Análise química média da torta de amêndoas de babaçu

COMPONENTES	%
Água	8,5
Proteína bruta	23,2
Proteína real	22,0
Gordura	45,9
Celulose	10,6
Cinzas	4,8

4 - EXTRAÇÃO E FRACIONAMENTO DE PROTEÍNAS

A metodologia de extração e precipitação de proteínas é variável mas baseia-se fundamentalmente no clássico trabalho de Osborne (1907) que classificou as frações proteicas de acordo com a sua solubilidade frente a diferentes solventes, o que serviu de ponto de partida para diversos trabalhos efetuados na área no de correr dos anos seguintes.

Lund e Sandstron (1943) no estudo das proteínas de sementes de Olmo, Pau-ferro e frutos de Carvalho obtiveram albumina, globulina e glutelina como principais frações proteicas para os dois primeiros, sendo que para os frutos de Carvalho só a fração glutelina foi obtida.

Djang et al. (1953), observaram que o grau de solubilização dos componentes nitrogenados do feijão (*Phaseolus aureus*)

com solução 0,4M de NaCl foi aumentado pela diminuição do tamanho da partícula da farinha e pelo emprego de uma proporção amostra : solvente maior, e que o rendimento de solubilização foi maior para a farinha desengordurada do que para a farinha engordurada.

No desenvolvimento de um novo método de extração de proteínas do germe e endosperma do milho, Mertz e Bressani (1957) conseguiram uma rápida e completa extração com o uso de um meio alcalino contendo ions sódio, cobre, sulfato e sulfito. Os ions foram removidos por diálise ou precipitação isoelétrica. Neste método o nitrogênio residual insolúvel em alcali é dissolvido pela ação conjunta dos ions cobre e sulfito.

Dando continuidade a seus estudos Bressani e Mertz (1958) obtiveram em amostras de endosperma 17 a 26% de proteínas solúveis em ácidos, 41 a 60% de proteínas solúveis em alcalis e álcool e 17 a 31% de glutelinas. Para o germe do milho encontraram 30 a 40% de ácido-solúveis, 5 a 10% de alcali e álcool solúveis e 49 a 54% de alcali-solúveis.

Smith et al. (1959) estudaram a extração de proteínas e outros componentes nitrogenados de 41 espécies de sementes representando 21 famílias vegetais, frente a diferentes solventes. Os dados obtidos fornecem informações que permitem selecionar as espécies de sementes que fornecem uma maior extração de seus componentes proteicos e servem de ajuda para futuros estudos com grupos de plantas semelhantes.

Na investigação de métodos de extração e precipitação de proteínas de feijão (*Phaseolus vulgaris*) Evans e Kerr (1963), obtiveram níveis máximos de nitrogênio pela extração com HCl em pH 1,5, com NaOH a pH 7,0 e por soluções de NaCl de 1 a 8%.

Pomeranz (1965) isolando proteínas de farinhas de trigo e soja concluiu que a solubilidade em soluções 3M de ureia a 4°C

pode ser um parâmetro muito útil para avaliar a extensão de danos por aquecimento em proteínas de plantas.

No estudo da extração e composição de proteínas de arroz, Caganparg et al. (1966) observaram que a fração glutelina foi dominante no grão, no produto moído e no arroz polido. No farelo, albumina e globulina foram as principais frações.

Estudando o efeito de diferentes variáveis na extração de proteínas de semente de girassol, Gheyasuddin et al. (1970) demonstraram que a globulina era o principal componente. Albumina, nitrogenio não-proteico e nitrogenio insolúvel estavam presentes em pequenas quantidades e que a glutelina correspondia a 17% do nitrogenio total.

Na extração de proteína de amendoim em meio aquoso, frente a diferentes pH's, Sanson et al. (1971) conseguiram um ponto de solubilidade mínima a pH 3,9, aumentando a solubilidade em pH's ácidos e básicos. Frente a soluções salinas, a proteína apresentou uma solubilidade mínima a pH \leq 3 e uma máxima em pH neutro. A proporção amostra: solvente mais eficiente para uma única extração foi de 1:20, e de 1:15 para processos de múltipla extração. 90% das proteínas foram classificadas, baseado no método de Osborne, como alguminas e globulinas.

5 - MÉTODOS BIOLÓGICOS

Para a avaliação biológica de proteínas, técnicas tem sido desenvolvidas baseadas em balanço de nitrogenio e crescimento (expresso como ganho de peso). Algumas dessas técnicas demonstraram maior eficiência e praticidade, sendo oficialmente adotadas como métodos padrões.

Osborne et al. (1919), propuseram um método para expressar numericamente o crescimento promovido por proteínas. O mesmo sugeria que diferenças na qualidade da proteína poderiam ser interpretadas através do ganho de peso de animais em crescimento. Em 1959, Champman et al., no Canadá, padronizaram as condições experimentais do método. Em 1965, Derse fez o mesmo nos EEUU. O método padronizado requer que ratos desmamados (\pm 21 dias) sejam alimentados por uma dieta com nível de proteína de 10%, por um período de quatro semanas, e que os resultados sejam relativos a um grupo controle submetido a uma dieta cuja fonte proteica seja a caseína. O método foi chamado Protein Efficiency Ratio (PER).

Objetivando superar as limitações apresentadas pelo método proposto por Osborne et al. (1919), Bender e Doeil (1957) sugeriram algumas modificações. O ensaio teria a duração de 10 dias e um grupo de ratos submetidos a uma dieta aprotéica seria incluído. Haveria um grupo alimentado com proteína padrão, e os resultados seriam expressos como porcentagem do valor correspondente ao padrão. Conhecido como Net Protein Ratio (NPR), o novo método é simples, prático e semelhante ao PER.

Bender e Miller (1953) propuseram um método que quantifica a proporção de nitrogênio total que foi retido. A retenção era obtida pela diferença entre o grupo teste e um grupo de animais em dieta aprotéica. A técnica foi chamada Net Protein Utilization (NPU). Os animais comumente usados no ensaio são ratos e frangos submetidos a dietas teste por um período de 14 dias. Várias modificações para o método foram sugeridas com o fim de evitar que o mesmo superestimasse proteínas de baixa qualidade e para que conseguisse expressar características de quantidade e qualidade da proteína teste.

Nos últimos quinze anos pesquisas tem sido realizadas visando a utilização de larvas de insetos para determinar valores nutricionais de proteínas.

As vantagens da utilização de insetos sobre os demais animais de laboratório foram mencionadas por Patton (1963) e Romoser (1973): são facilmente coletados, utilização de reduzido espaço para a criação de grande número de insetos, baixo custo de manutenção, ciclo de vida curto e rápido desenvolvimento.

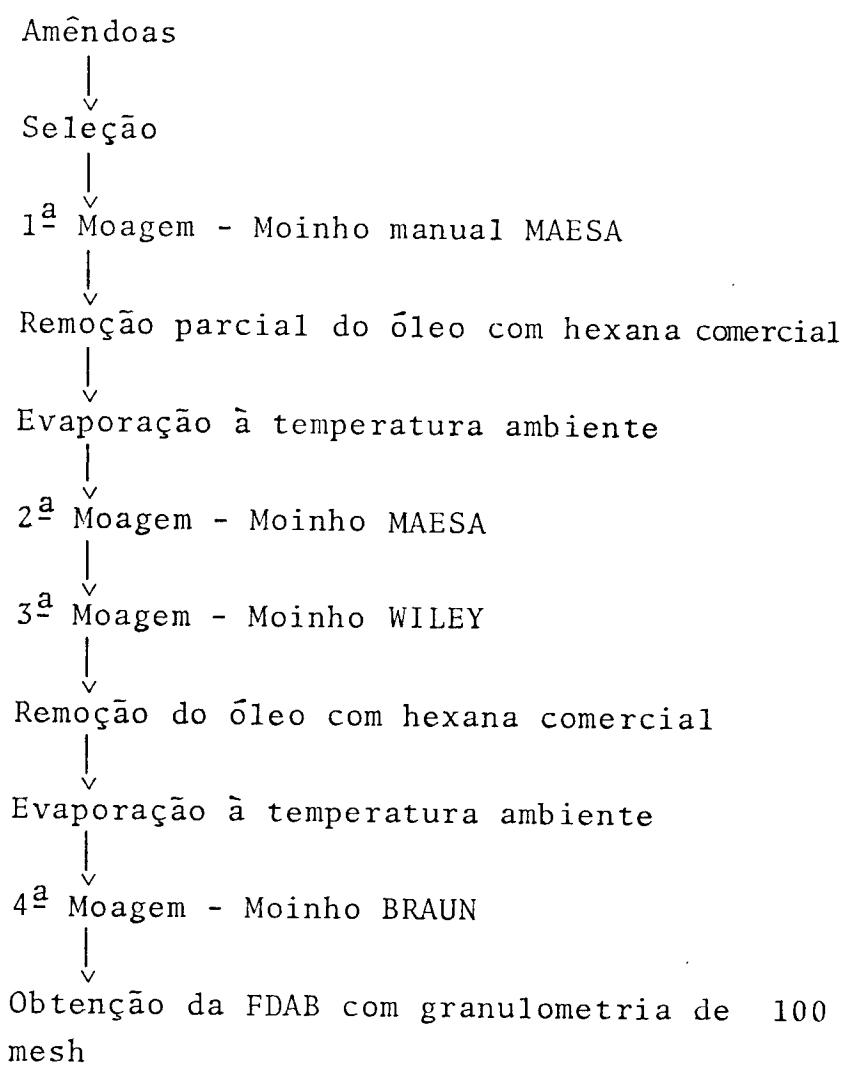
Leclercq e Debast (1965) utilizaram larvas de *Tenebrio molitor* em um ensaio onde as dietas eram preparadas contendo 10% de proteína e balanceadas para todos os nutrientes. A larva era colocada em frascos contendo 1 g de dieta e após quatro semanas o peso ganho era determinado.

Existem poucos dados sobre a metodologia e não foi determinada uma correlação entre o crescimento de insetos com o de outros animais de laboratório.

Mais recentemente, Leal (1980) utilizou larvas do gênero *Chrysomya* Robineau-Desvoidy em ensaios para avaliar a qualidade proteica de cereais (arroz, milho e trigo), leguminosas (feijão e soja), leite em pó integral, caseína e ovo integral, e concluiu que semelhante aos ratos, as larvas responderam a variações de qualidade proteica, bem como a suplementações e complementações, características essas favoráveis ao estabelecimento de um novo método de avaliação de qualidade proteica.

MATERIAL E MÉTODOS

1 - Preparo da amostra: foram utilizadas amêndoas de babaçu (*Orbi-gnya martiana*) obtidas em Fortaleza-CE, na empresa Siqueira Gurge1 S.A. Comércio e Indústria. A preparação da farinha de sengordurada de amêndoa do babaçu (FDAB) obedeceu o esquema a seguir:



2 - Determinações: as análises químicas obedeceram a metodologia proposta pela A.O.A.C. (1970).

2.1 - Umidade - o teor de umidade foi determinado mantendo-se o material a 100-105°C até peso constante.

2.2 - Cinzas - encineração do material em mufla a 550°C até peso constante.

2.3 - Fibras - determinada pelo método de Van de Kamer e Van Junkel (1952), após digestão da amostra com uma mistura de ácidos (acético, nítrico e tricloroacético) e filtração em cadinho G₄. A fibra corresponde ao resíduo que permanece após filtração.

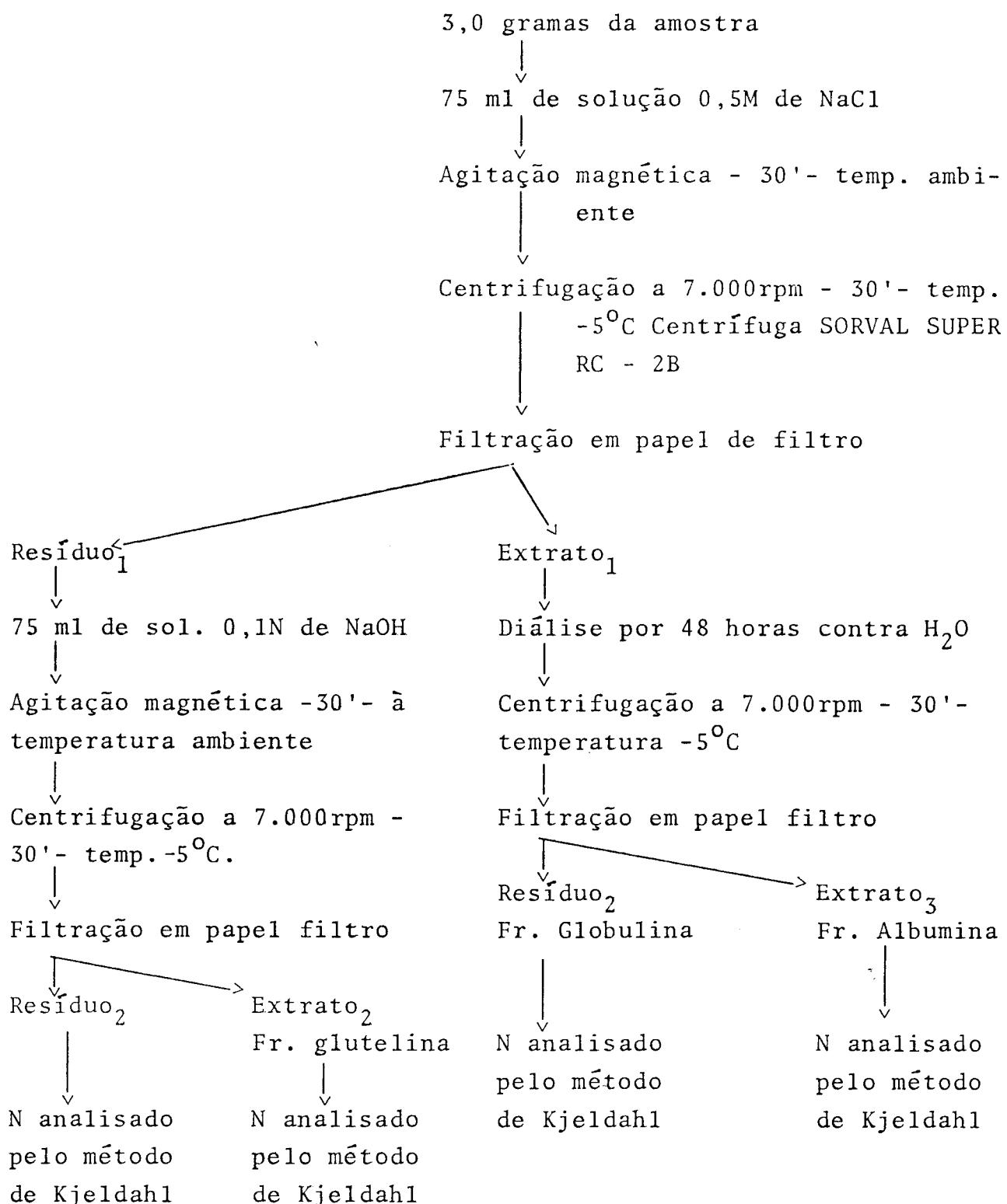
2.4 - Proteína - a concentração de nitrogênio foi determinada pelo método Kjeldahl e o teor da proteína obtido empregando-se o fator 6,25.

2.5 - Reação do biureto - foi determinada de acordo com Villela et al. (1973).

2.6 - Lipídios - determinados por extração direta com éter de petróleo em extrator Goldfish.

2.7 - Carboidratos - calculados por diferença.

3 - Fracionamento proteíco: as proteínas da farinha desengordurada de amêndoas de babaçu foram extraídas como esquematizado abaixo:



A farinha desengordurada de amendoa de babaçu (3,0g) foi suspensa em solução 0,5M de NaCl (75ml). Após 30 minutos de agitação magnética à temperatura ambiente, o extrato₁ foi separado por centrifugação a 7.000rpm por 30', a -5°C, e dialisado contra água destilada por 48 horas (temp. de refrigeração) com trocas periódicas, centrifugado a 7.000rpm por 30' a -5°C, e separado em dois componentes. O extrato₃ que contém as albuminas e a fração insolúvel que contém as globulinas foi ressuspensionado em solução TRIS pH 8,0. O resíduo₁ foi re-extraiido em 75 ml de solução 0,1N de NaOH por 30' a -5°C. O extrato₂ contém a fração glutelina.

4 - Determinação de glicose pelo método de Somogy-Nelson: obedeceu-se a metodologia descrita por Villela et al. (1973).

5 - Determinação de aminoácidos: amostras de 20 mg de proteína das frações albumina, globulina e glutelina e da FDAB foram hidrolisadas com HCl 6N por 22 horas a 110°C. Após este período, as soluções dos aminoácidos foram evaporadas em evaporador rotatório. O resíduo foi dissolvido em tampão citrato pH 2,2, suficiente para se obter o equivalente a 1 mg de proteína por mililitro. A composição em aminoácidos foi determinada em analisador semi-automático Beckman Modelo 119C, segundo o método de Spackman et al. (1958), sendo os resultados expressos por 100g de proteína.

6 - Curvas de solubilização:

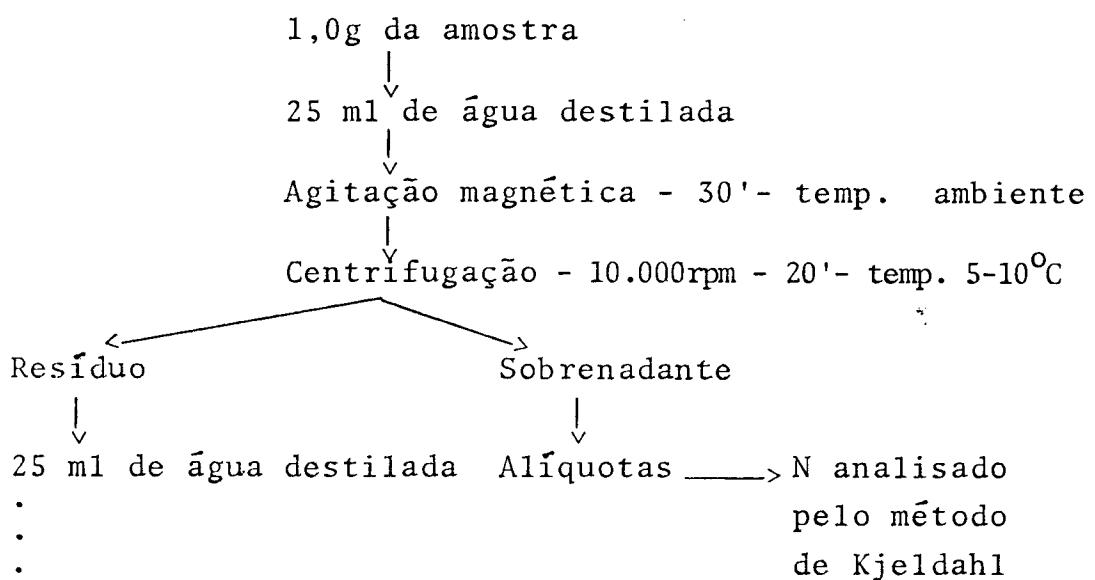
6.1 - a diferentes valores de pH - porções de 1,0g do material (FDAB) foram postas em becker de 80 ml e tratadas com água destilada (30 ml), com o ajuste de pH feito com solução 1,0N de HCl e NaOH, abrangendo a faixa de pH de 1 a 12. As extrações foram feitas por agitação magnética durante 1 hora a temperatura ambiente, segui

das de centrifugação a 10.000 rpm por 20' a temperatura de 5 a 10°C. Do sobrenadante foram retiradas alíquotas para determinação de nitrogênio pelo método Kjeldahl.

6.2 - a diferentes tempos de extração - porções de 1,0g da amostra foram suspensas em 30 ml de água destilada e submetidas a agitação magnética por diferentes tempos (15, 30, 45, 60 e 90 minutos), e em seguida centrifugadas a 10.000 rpm por 20' a temperatura de 5-10°C. Alíquotas do sobrenadante foram tomadas para determinação da concentração de nitrogênio.

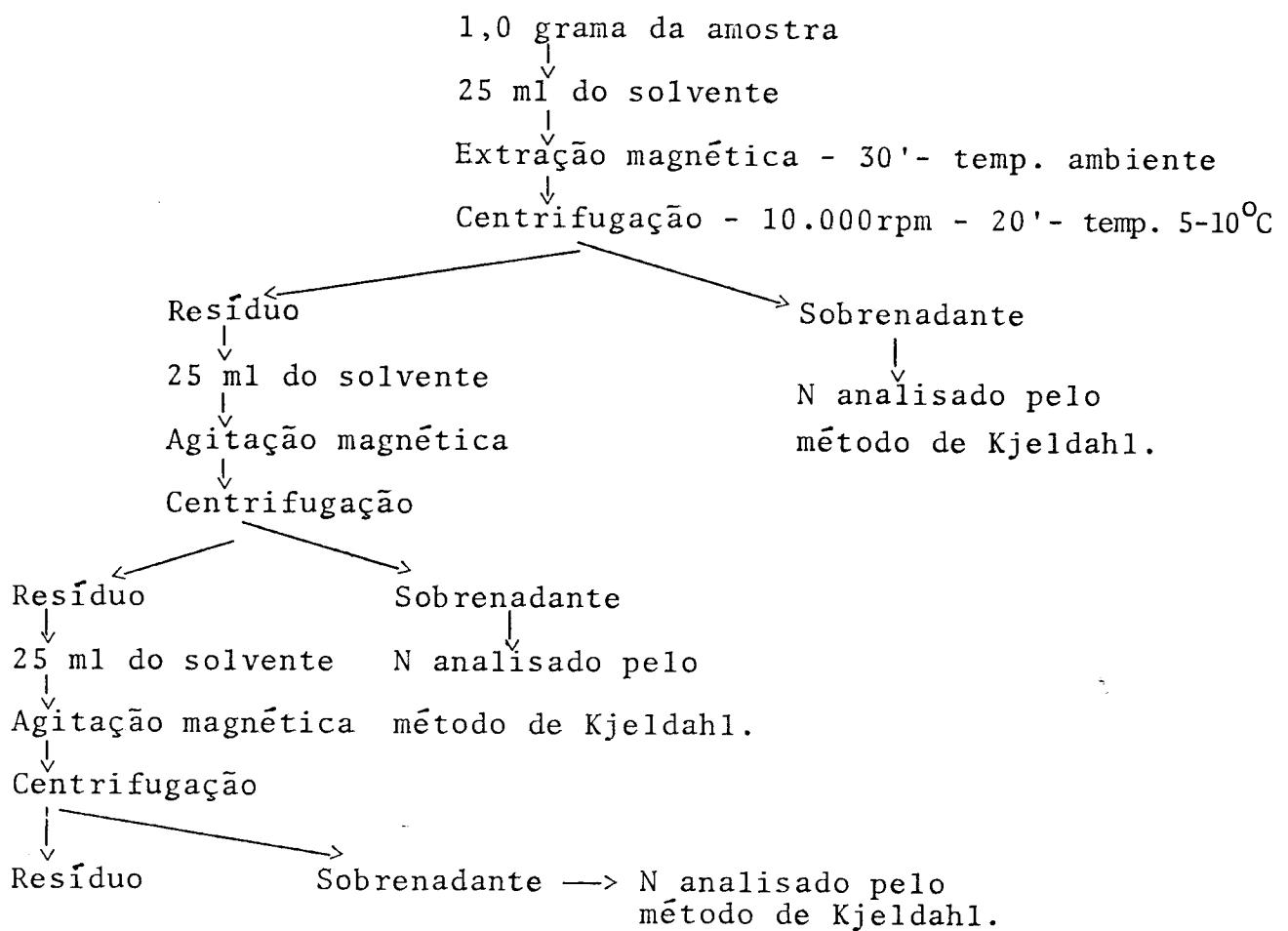
6.3 - a diferentes proporções amostra: solvente - as condições de extração obedeceram os esquemas anteriores e foram utilizadas as seguintes proporções (1:10, 1:15, 1:20, 1:25 e 1:30). Determinou-se a concentração de nitrogênio em alíquotas do sobrenadante.

6.4 - determinação do número de extrações na extração da proteína da FDAB - 1,0 grama da amostra foi submetida a quatro extrações sucessivas, cada uma delas com 25 ml de água destilada, obedecendo o seguinte esquema:

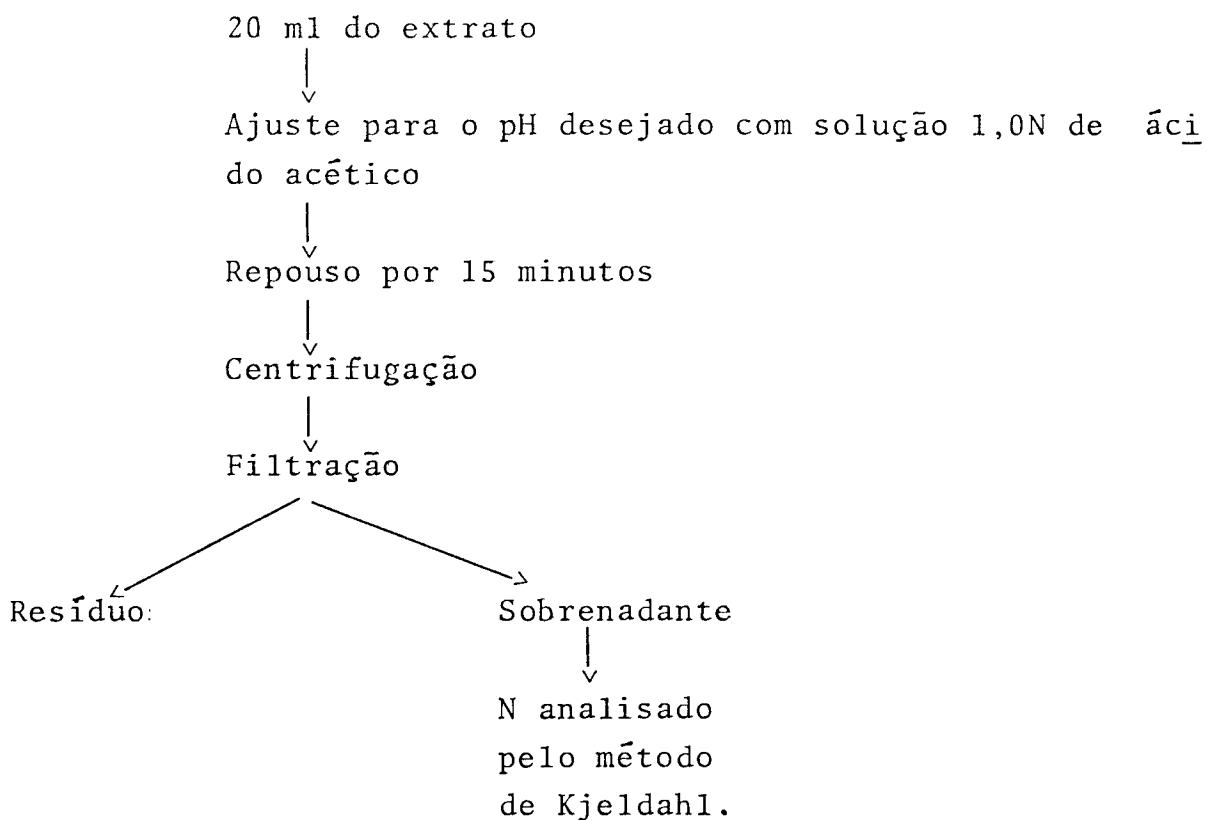


6.5 - determinação da % de extração da proteína da FDAB, utilizando-se vários solventes extratores

- a) 1,0 grama da amostra sofre nove extrações consecutivas, sendo 3 em água destilada, 3 em solução 0,5M de NaCl e 3 em solução 0,1N de NaOH. As extrações foram feitas sob agitação magnética por 30' à temperatura ambiente, seguidas de centrifugação a 10.000rpm por 20', à temperatura de 5-10°C em centrífuga SORVAL SUPER SPEED RC-2B. Dos sobrenadantes foram tomadas ali quotas para determinação da concentração de nitrogênio.
- b) para cada solvente foi tomada 1,0 grama da amostra e obedeceu-se a seguinte esquematização;



6.6 - curva de máxima precipitação da proteína da FDAB - o extrato proteico foi obtido da extração feita por agitação magnética por 1 hora, a temperatura ambiente, de 50 gramas das amostras da FDAB suspensas em 1.250 ml de água destilada, a pH 10, ajustada com solução 0,1N de NaOH. Após a extração a suspensão foi centrifugada a 10.000 rpm por 10 minutos a temperatura de 5-10°C. Utilizou-se uma faixa de pH de 3,5 a 8 e o seguinte esquema foi obedecido:



7 - determinação do efeito da celulase (E.C. nº 3.2.1.4; β -1,4-Glucana 4-Glucanahidrolase) na extração de proteína da FDAB, utilizando-se diferentes concentrações da enzima e diferentes quantidades da amostra.

Condições de incubação: pH = 4,0
temperatura = 50°C

tempo = 1 hora

Procedimento: a tubos de ensaio contendo diferentes quantidades da amostra (FADB), foram adicionados 10 ml da solução enzimática nas concentrações de 0,25 e 0,50 da enzima em tampão acetato pH = 4,0, incubados em banho-Maria nas condições acima mencionadas, retirados da incubação, agitados por 2 minutos em agitador de tubos e o conteúdo centrifugado (centrifuga Sorval Super Speed RC-2B) a 10.000rpm por 20 minutos a temperatura de 5-10°C. Filtração em papel filtro e do sobre nadante foi retirada alíquota para determinação da concentração da proteína pelo método do biureto, sendo também determinada pelo mesmo método a concentração de proteína referente às soluções enzimáticas. Para cada tubo de diferentes concentrações de FDAB foi feito um tubo com tampão acetato pH4 em lugar da solução enzimática.

- 8 - Determinação do perfil eletroforético das frações albumina, globulina e glutelina da FDAB em gel de poliacrilamida -
Preparação da amostra: as amostras foram obtidas como descrito no ítem 3.

Preparação do gel: o gel foi preparado de acordo com o procedimento de Davis (1964). A concentração do gel selecionada para a fração albumina foi de 7,5%. As frações globulina e glutelina apresentaram uma melhor resolução a uma concentração de 9%. O tampão utilizado nas cubas foi o tampão Tris-glicina pH 8,3 em diluição 1:10. As condições de separação para a fração albumina foram: amperagem de 2,75 mA/tubo durante os vinte minutos iniciais e seguido de um aumento para 4,16 mA/tubo até o final da corrida. O tempo total foi de uma hora e trinta e cinco minutos. Para as frações globulina e glutelina foi usada uma amperagem de 2 mA/tubo durante a corrida do gel superior a 5 mA/tubo até o final da corrida. O tempo total foi de uma hora e trinta minutos. Os geis fo

ram corados durante 1 hora em amido black na concentração de 0,1% e descorados com solução de CH_3COOH 7% através de sucesivas lavagens.

9 - Ensaios biológicos

- a) NPR - o procedimento adotado foi o descrito por Bender e Doell (1957). Utilizou-se grupos de 6 ratos recém-desmamados, da linhagem Wistar, com peso inicial de 44,8 gramas. Durante o ensaio, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, com água e comida fornecidos "ad libitum". Em todos os experimentos foram utilizados um grupo aproteico e um grupo submetido a uma dieta de caseína como proteína padrão.
- b) Digestibilidade aparente - foi determinada segundo método descrito por Mitchell (1924).

Preparo das dietas - a composição da dieta está indicada na tabela 7 e está baseada na composição centesimal adotada pela A.O.A.C. (1970), procedimento nº 43212.

Composição das misturas salina e vitamínica - obedeceram as formulações descritas por Hegsted (1941) e NBC-Diet catalog (1977/8), respectivamente e estão contidas nas tabelas 8 e 9.

- c) Avaliação da qualidade proteica utilizando larvas de *Chrysomya chloropyga*.

Para a composição das dietas e formulação das misturas vitamínica e de sais minerais, adotou-se basicamente as indicações de Brust e Fraenkel (1955) e, McCollum e Davis (1918) (*apud* Brust e Fraenkel, 1959) e constam nas tabelas 11, 12, 13, 14, 15 e 16.

Preparo das dietas: em um becker, quantidade adequada de água destilada é levada à ebulação e então adicionado o agar até completa dissolução. Passa-se o conteúdo do becker para o liquidificador e os demais componentes previamente pesados, são adicionados e a dieta homogeneizada. Em frascos de vidro (7,0 cm de comprimento x 6,0 cm de largura), coloca-se aproximadamente 50g da dieta e leva-se ao congelador para resfriamento rápido. Os frascos devem ser mantidos sob refrigeração até sua utilização.

Para este ensaio foram usadas larvas de *Chrysomya chloropyga*, obtidas no laboratório de Entomologia do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

Procedimento - adotou-se a metodologia descrita por Leal (1980) e Leal et al. (1982).

TABELA 7: Composição centesimal das dietas utilizadas na determinação do NPR.

COMPOSIÇÃO	%
Proteína	10
Gordura (óleo de milho comestível)	8
Sais minerais (*)	5
Vitaminas (**)	1
Amido (amido de milho comercial)	
q.s.p	100

(*) Hegsted et al. J. Biol. Chem., 138-459 (1941)

(**) NBC - Diet Catalog (1977/8)

TABELA 8: Composição da mistura salina usada nas dietas do ensaio
NPR, segundo Hegsted et al. (1941).

COMPOSIÇÃO	%
Carbonato de cálcio	29,9740
Fosfato de potássio	32,2220
Fosfato de cálcio	7,4930
Sulfato de magnésio	10,1910
Cloreto de sódio	16,7350
Citrato férrico	2,7470
Iodeto de potássio	0,0799
Sulfato de magnésio	0,4990
Sulfato de cobre	0,0299
Cloreto de zinco	0,0249

TABELA 9: Composição da mistura vitamínica usada nas dietas, se gundo NBC - Diet Catalog (1977/8).

COMPOSIÇÃO	PROPORÇÃO mg/100g ração
Vitamina A	2000
Vitamina D	220
α - Tocoferol	11,000
Menadiona	5,000
Colina	165,000
Ácido p-aminobenzoíco	11,000
Inositol	11,000
Niacina	9,900
Pantotenato de cálcio	6,600
Riboflavina	2,200
Tiamina (HC1)	2,200
Piridoxina (HC1)	2,200
Ácido Fólico	0,200
Biotina	0,044
Vitamina B ₁₂	0,003
Ácido ascórbico	99,000
Dextrose	q.s.p. 1000

TABELA 10: Composição das dietas de FDAB suplementadas com Lisina e Treonina.

COMPONENTES %	DIETAS					
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Proteína (FDAB)	10	10	10	10	10	10
Gordura	8	8	8	8	8	8
Sais minerais (*)	5	5	5	5	5	5
Vitaminas (**)	1	1	1	1	1	1
Lisina	0,1	0,2	0,3	0,3	0,3	0,3
Treonina	-	-	-	0,1	0,2	0,3
Amido q.s.p.	100	100	100	100	100	100

(1) FDAB + 0,1% Lisina

(2) FDAB + 0,2% Lisina

(3) FDAB + 0,3% Lisina

(4) FDAB + 0,3% Lisina + 0,1% Treonina

(5) FDAB + 0,3% Lisina + 0,2% Treonina

(6) FDAB + 0,3% Lisina + 0,3% Treonina

(*) Tabela 8

(**) Tabela 9

TABELA 11: Composição das dietas de FDAB para estudo do efeito da concentração proteica no crescimento de larvas de *Chrysomya chloropyga*.

% PROTEÍNA	2	4
COMPOSIÇÃO		
FDAB(g)	8,58	17,17
Colesterol(g)	0,21	0,21
Sais minerais(g) (*)	0,21	0,21
Fungicida(g)	0,35	0,35
Solução vitaminas(ml) (**)	2,60	2,60
RNA(g)	0,51	0,51
Solução bases nitrogenadas (ml) (***)	12,30	12,30
Agar(g)	1,00	1,00
Água destilada (ml)	74,24	65,76

(*) Tabela 16

(**) Tabela 15

(***) Composição da solução de bases nitrogenadas:

Adenina 0,1% em água destilada - 4,1 ml

Uracil 0,1% em água destilada - 4,1 ml

Guanina 0,1% em NH₄OH 2% - 4,1 ml

TABELA 12: Composição das dietas de Caseína para estudo do efeito da concentração proteica no crescimento de larvas de *Chrysomya chloropyga*.

COMPONENTES	% PROTEÍNA	2	4
Caseína(g)		2,35	4,70
Colesterol(g)		0,21	0,21
Sais minerais(g) (*)		0,21	0,21
Fungicida(g) (Nipagin)		0,35	0,35
Vitaminas(ml) (**)		2,60	2,60
RNA(g)		0,51	0,51
Bases Nitrogenadas(ml) (***)		12,30	12,30
Agar(g)		0,92	0,92
Água destilada (ml)		80,55	78,23

(*) Tabela 16

(**) Tabela 15

(***) Tabela 11

TABELA 13: Composição das dietas de 2% de proteína de FDAB para estudo do efeito da suplementação com os aminoácidos L-Lisina e D-L-Treonina no crescimento de larvas de *Chrysomya chloropyga*.

COMPOSIÇÃO	DIETAS					
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
FDAB(g)	8,58	8,58	8,58	8,58	8,58	8,58
Colesterol(g)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Sais minerais(g) (*)	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Fungicida(g)	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Vitaminas(ml) (**)	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60
RNA(g)	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51
Bases nitrogenadas (ml) (***)	12,30	12,30	12,30	12,30	12,30	12,30
L-Lisina(g)	0,10	0,20	0,30	0,30	0,30	0,30
D-L-Treonina(g)	-	-	-	0,10	0,20	0,30
Ágar(g)	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Água destilada(ml)	74,14	74,14	74,14	74,14	74,14	74,14
TOTAL	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

(1) 2% de proteína de FDAB + 0,1% Lisina

(2) 2% de proteína de FDAB + 0,2% Lisina

(3) 2% de proteína de FDAB + 0,3% Lisina

(4) 2% de proteína de FDAB + 0,3% Lisina + 0,1% Treonina

(5) 2% de proteína de FDAB + 0,3% Lisina + 0,2% Treonina

(6) 2% de proteína de FDAB + 0,3% Lisina + 0,3% Treonina

(*) Tabela 16

(**) Tabela 15

(***) Tabela 11

TABELA 14: Composição das dietas de 4% de proteína de FDAB para estudo do efeito da suplementação com os aminoácidos L-Lisina e D-L-Treonina no crescimento de larvas de *Chrysomya chloropyga*.

COMPOSIÇÃO	DIETAS	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
FDAB(g)		17,17	17,17	17,17	17,17	17,17	17,17
Colesterol(g)		0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Sais minerais(g) (*)		0,21	0,21	0,21	0,21	0,21	0,21
Fungicida(g)		0,35	0,35	0,35	0,35	0,35	0,35
Vitaminas(ml) (**)		2,60	2,60	2,60	2,60	2,60	2,60
RNA(g)		0,51	0,51	0,51	0,51	0,51	0,51
Bases nitrogenadas(ml) (***)		12,30	12,30	12,30	12,30	12,30	12,30
L-Lisina(g)		0,10	0,20	0,30	0,30	0,30	0,30
D-L-Treonina(g)		-	-	-	0,10	0,20	0,30
Agar(g)		0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
Água destilada(ml)		65,66	65,66	65,66	65,66	65,66	65,66
TOTAL		100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00

(1) 4% de proteína de FDAB + 0,1% Lisina

(2) 4% de proteína de FDAB + 0,2% Lisina

(3) 4% de proteína de FDAB + 0,3% Lisina

(4) 4% de proteína de FDAB + 0,3% Lisina + 0,1%Treonina

(5) 4% de proteína de FDAB + 0,3% Lisina + 0,2%Treonina

(6) 4% de proteína de FDAB + 0,3% Lisina + 0,3%Treonina

(*) Tabela 16

(**) Tabela 15

(***) Tabela 11

TABELA 15: Composição da solução de vitaminas utilizada nas dietas para *Chrysomya chloropyga*, segundo Brust & Fraenkel (1955).

COMPONENTES	QUANTIDADE (mg)
Tiamina	53,0
Riboflavina	26,8
Ácido nicotínico	106,0
Hidrocloreto de piridoxina	26,6
Pantotenato de cálcio	53,0
Ácido fólico	5,4
Cloreto de colina	70,6
Água	q.s.p.
	100,0 ml

TABELA 16: Componentes da mistura de sais minerais utilizada nas dietas para *Chrysomya chloropyga*, segundo Mc. Collum & Davis (1918), apud Brust & Fraenkel (1959).

COMPONENTES	QUANTIDADE(g)
Lactato de Ca . 5H ₂ O	35,2
Bifosfato de Ca . H ₂ O	14,6
Fosfato de K (mono)	25,8
Fosfato de Na (mono)	9,4
Cloreto de sódio	4,8
Sulfato de Mg anidro	7,2
Citrato férrico	3,2

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 - Os resultados da determinação da composição centesimal da FDAB encontram-se na tabela 17. Ventura (1955), no estudo dos constituintes nitrogenados da amêndoia de babaçu encontrou a seguinte composição porcentual da farinha: umidade - 12,32, lípidos - 0,22, nitrogênio total - 3,75 e cinzas - 4,47.

TABELA 17: Composição centesimal da FDAB

COMPONENTES	%
Umidade	9,4
Proteínas	21,6
Gordura	0,3
Fibras	20,2
Cinzas	5,1
Carboidratos (por diferença)	43,4
TOTAL	100,0

2 - Efeito do pH na solubilidade da proteína da FDAB

De acordo com a figura 1 verificamos um mínimo de solubilidade entre os valores de pH 3 e 4 e um máximo a pH alcalino. Os dados deste estudo estão similares aqueles obtidos por Ventura (1955).

3 - Efeito de diferentes tempos de extração na solubilidade da proteína da FDAB.

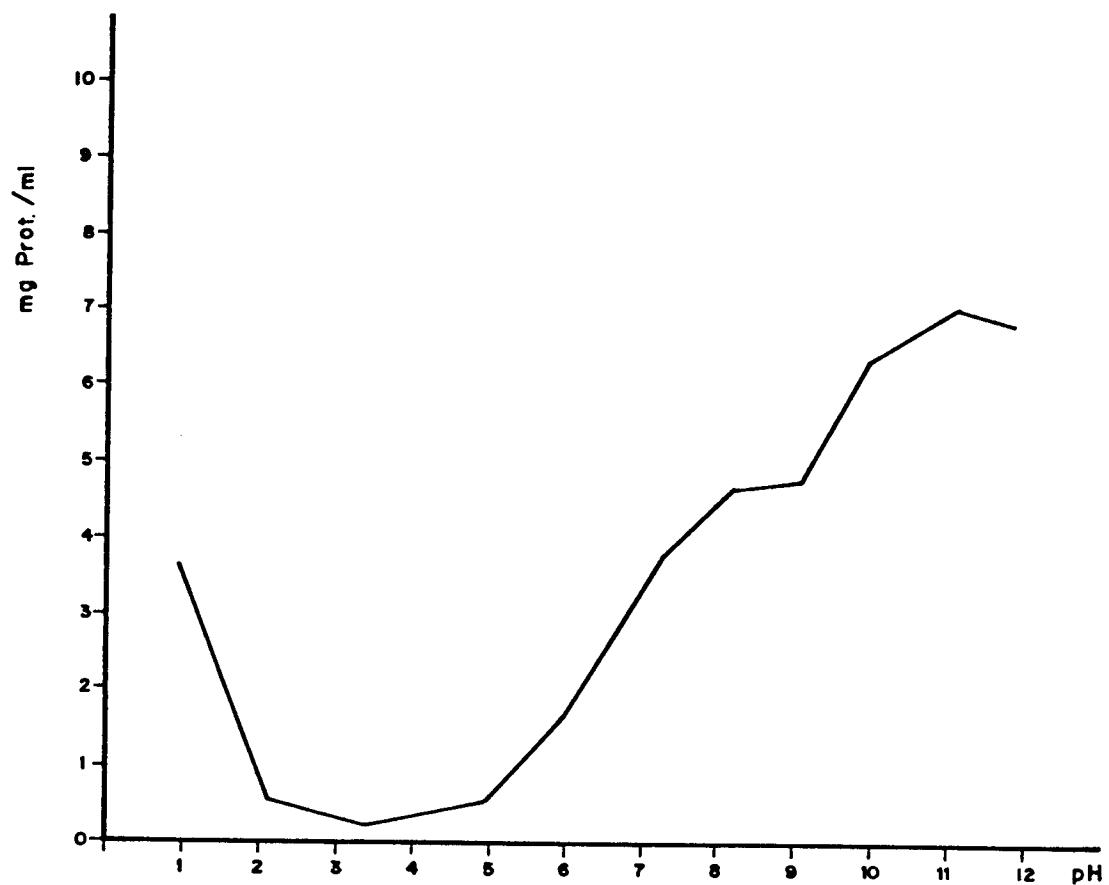


FIGURA 1: EFEITO DO pH NA SOLUBILIDADE DE PROTEÍNA DA FDAB

No estudo do tempo de extração um máximo de solubilização foi obtido com 30 minutos, figura 2.

4 - Proporção amostra: solvente.

Os resultados revelaram que a proporção 1:25 (peso: volume) foi a mais eficiente para uma única extração (tabela 18)

TABELA 18: Efeito da relação amostra: solvente na extração da proteína da FDAB.

AMOSTRA: SOLVENTE	%N EXTRAÍDO
1:10	15,6
1:15	19,3
1:20	20,5
1:25	22,5
1:30	21,9

Média de 2 determinações.

5 - Efeito do número de extrações na solubilização da proteína da FDAB.

A tabela 19 fornece os resultados obtidos e demonstra que quatro extrações são suficientes para uma extração eficiente do conteúdo nitrogenado da amostra.

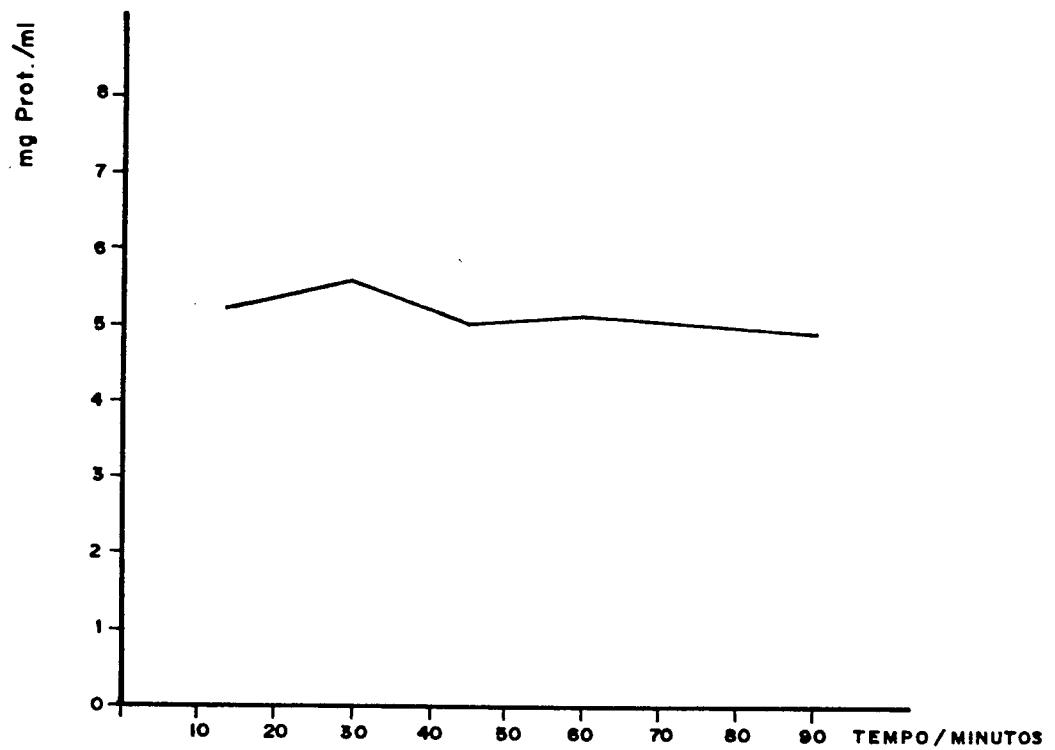


FIGURA 2: EFEITO DE DIFERENTES TEMPOS DE EXTRAÇÃO NA SOLUBILIDADE DA PROTEÍNA DA FDAB

TABELA 19: Efeito do número de extrações na solubilização da proteína da FDAB.

EXTRAÇÃO	%N EXTRAÍDO
1 ^a	21,4
2 ^a	9,3
3 ^a	3,0
4 ^a	1,7
Média de 2 determinações	

6 - Comportamento dos componentes nitrogenados da FDAB frente a diferentes solventes, utilizando-se extrações sucessivas e extrações isoladas, obedecendo-se as esquematizações descritas na página 19.

Os dados apresentados nas tabelas 20 e 21 e nas figuras 3 e 4 fornecem os resultados deste estudo. Quando extrações sucessivas foram adotadas (água, NaCl e NaOH), obtivemos um rendimento total de 66,8%. Para extrações isoladas apresentamos uma extração de 77,3% em NaOH, 52,3% para NaCl e 25,8% em água.

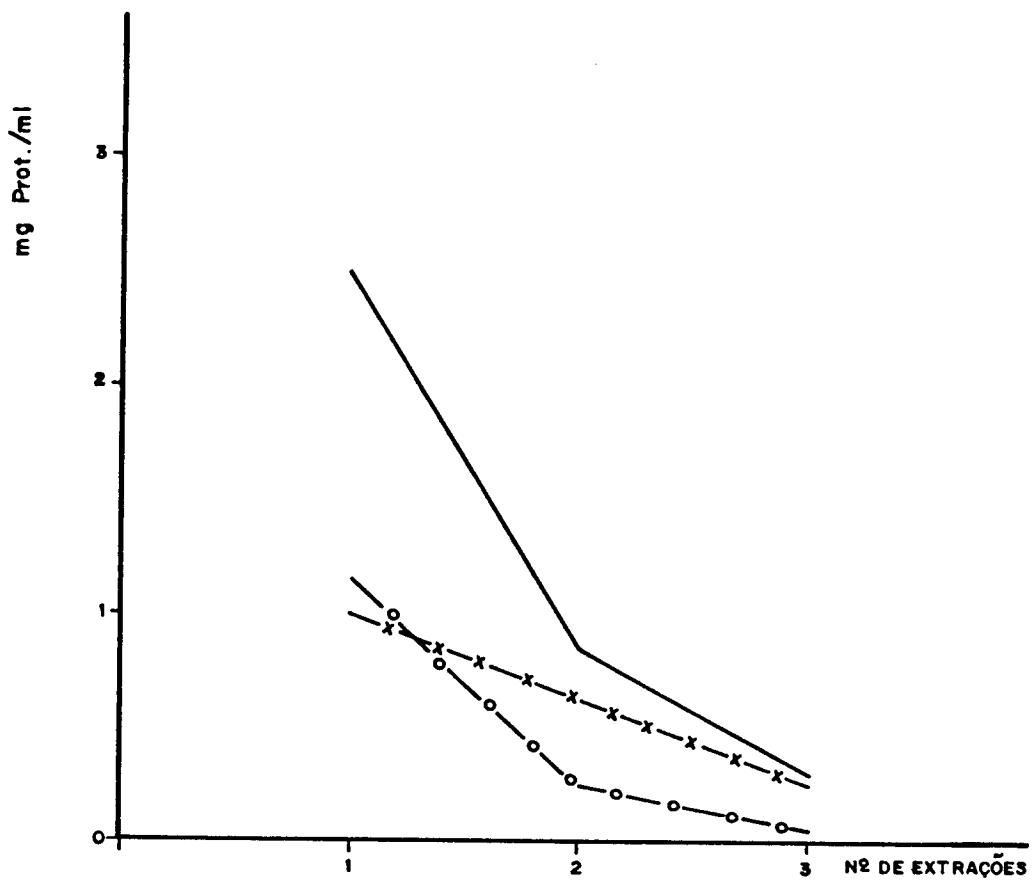


FIGURA 3: EFEITO DE DIFERENTES SOLVENTES NA SOLUBILIDADE DA PROTEÍNA DA FDAB.

————— ÁGUA
 - - - - - NaCl 0,5 M
 - - - - - NaOH 0,1 N

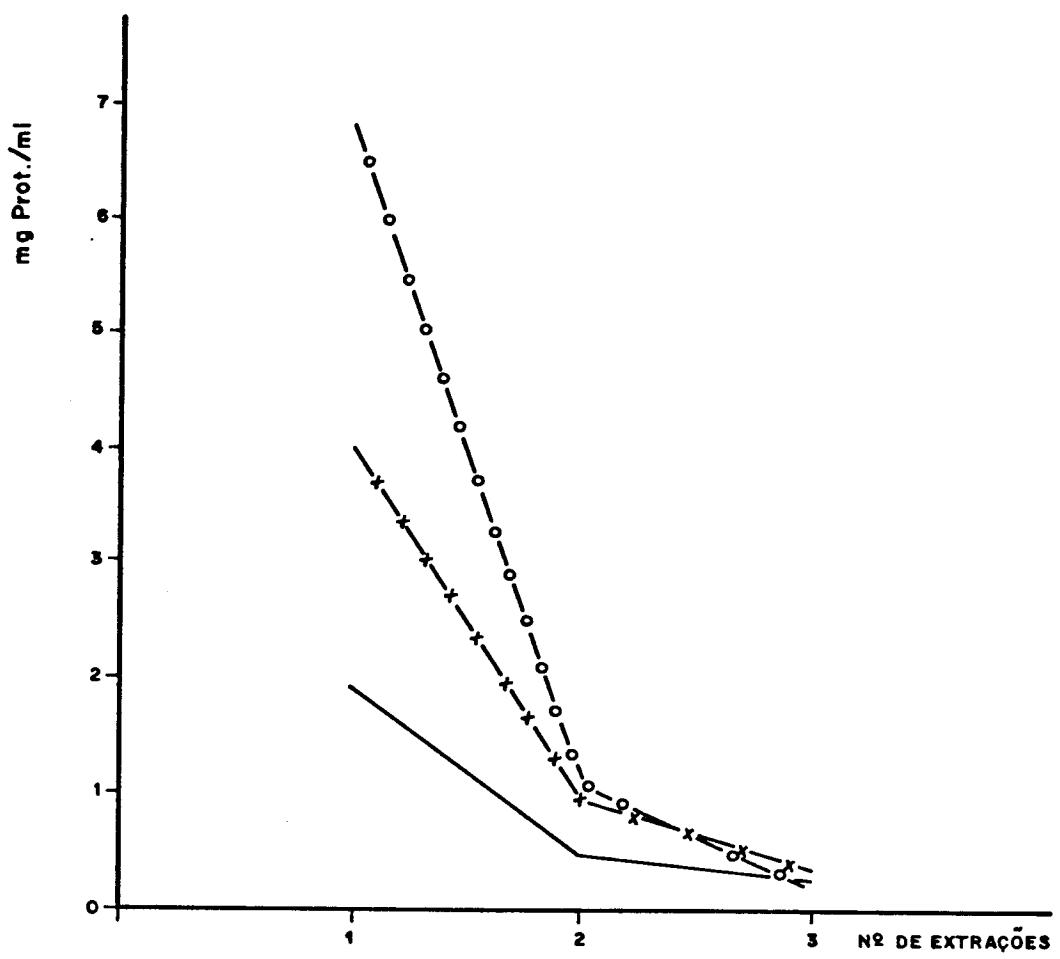


FIGURA 4: EFEITO DE DIFERENTES SOLVENTES NA SOLUBILIDADE DA PROTEÍNA DE FDBA, UTILIZANDO EXTRAÇÕES ISOLADAS.

- ÁGUA
- x— NaCl 0,5 M
- o— NaOH 0,1 N

TABELA 20: Eficiência de diferentes solventes na extração da pro
teína da FDAB, utilizando-se extrações sucessivas.

SOLVENTE	% N EXTRAÍDO
1 ^a Extração: água	19,6
2 ^a Extração: água	8,9
3 ^a Extração: água	3,1
SUB-TOTAL	31,6
4 ^a Extração: NaCl	10,8
5 ^a Extração: NaCl	7,1
6 ^a Extração: NaCl	2,7
SUB-TOTAL	20,6
7 ^a Extração: NaOH	12,0
8 ^a Extração: NaOH	2,6
9 ^a Extração: NaOH	-
SUB-TOTAL	14,6
TOTAL EXTRAÍDO	66,8

Média de 2 determinações.

TABELA 21: Efeito de diferentes solventes na extração da proteína da FDAB, utilizando-se extrações isoladas.

SOLVENTE	%N EXTRAÍDO
1 ^a Extração: NaOH	62,7
2 ^a Extração: NaOH	12,1
3 ^a Extração: NaOH	2,5
TOTAL EXTRAÍDO	77,3
1 ^a Extração: NaCl	37,6
2 ^a Extração: NaCl	10,9
3 ^a Extração: NaCl	3,8
TOTAL EXTRAÍDO	52,3
1 ^a Extração: água	17,2
2 ^a Extração: água	5,5
3 ^a Extração: água	3,1
TOTAL EXTRAÍDO	25,8
Média de 2 determinações	

7 - Efeito do pH na precipitação da proteína da FDAB.

O objetivo do estudo foi apresentar as condições ideais de extração para obtenção de um concentrado proteico da FDAB. O estudo apresentou como pH de máxima precipitação o pH 4,5 e a curva está representada na figura 5. Estudo semelhante foi realizado por Ventura (1955) que obteve uma precipitação máxima a pH 4,89.

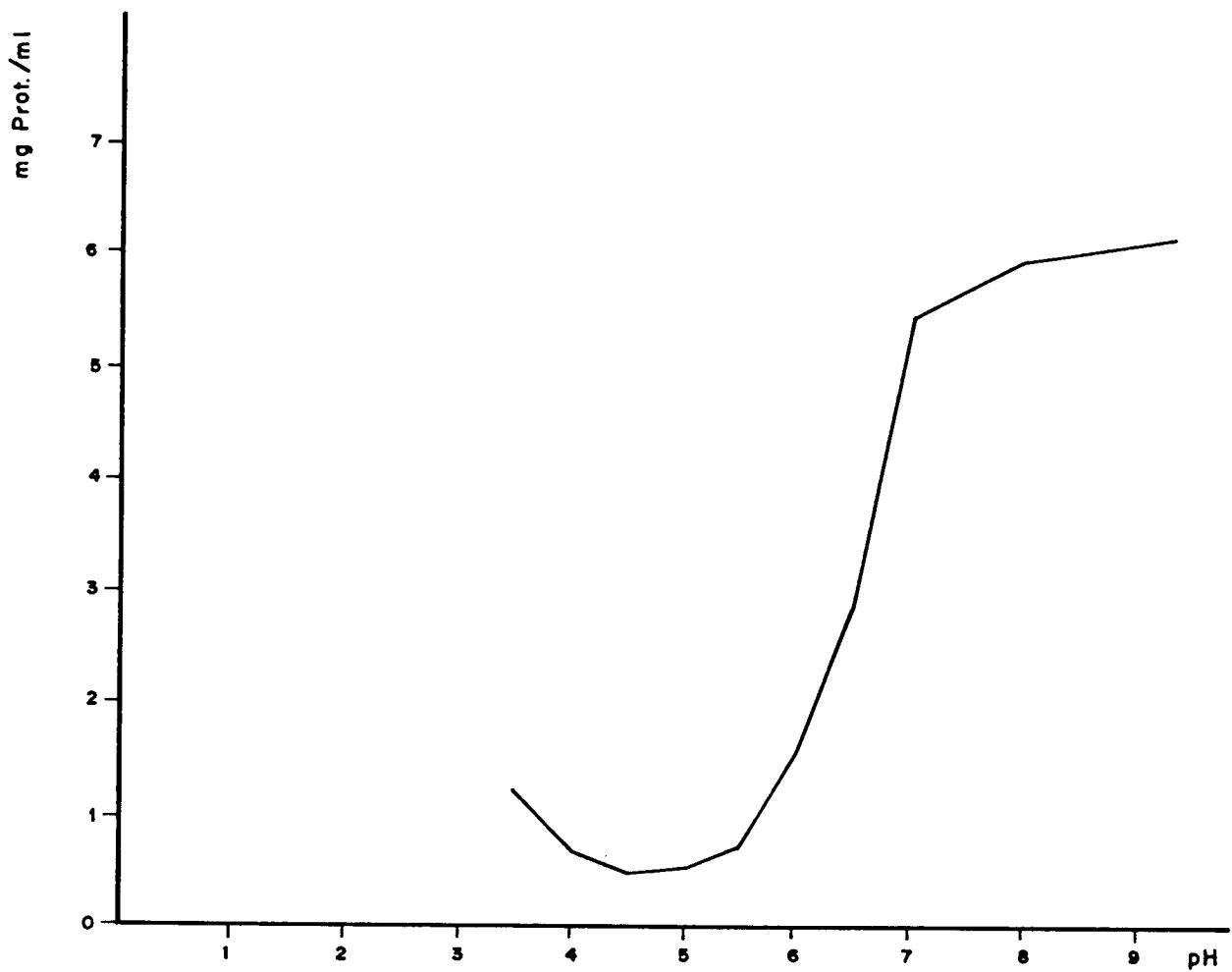


FIGURA 5 : EFEITO DO pH NA PRECIPITAÇÃO DA PROTEÍNA DA FDAB

8 - Eletroforese de disco em gel de poliacrilamida das frações al
bumina, globulina e glutelina da FDAB.

Ventura e Hollanda Lima (1958), realizando estudos ele
troforéticos, por eletroforese em papel, das proteínas da amêndoia
de babaçu, em extratos salinos totais, detectaram sete componen
tes. Em nosso estudo contido na figura 6, mostramos a representa
ção eletroforética das frações albumina, globulina e glutelina,
com as mobilidades relativas dos diferentes componentes de cada
fração.

Em gel com a concentração de 7,5% foram aplicados 157 µg
da fração albumina que apresentou 10 bandas. Das frações globuli
na e glutelina foram aplicados 185 e 450 µg em gel com a concen
tração de 9% e obtivemos 11 e 1 componentes, respectivamente. No
tamos migração coincidente de alguns componentes: o de número 6
da albumina com o de número 8 da globulina.

9 - Estudo do efeito da celulase de *Aspergillus niger* na extração
das proteínas da FDAB.

O objetivo do ensaio foi verificar a hipótese de um im
pedimento celulósico à extração das proteínas da FDAB.

A tabela 22 apresenta o resultado deste estudo e mostra
que para as diferentes concentrações da enzima e para todas as
quantidades de amostra ensaiadas a ação da enzima foi efetiva, com
provando assim, a existência de material celulósico impedindo a
liberação dos componentes nitrogenados.

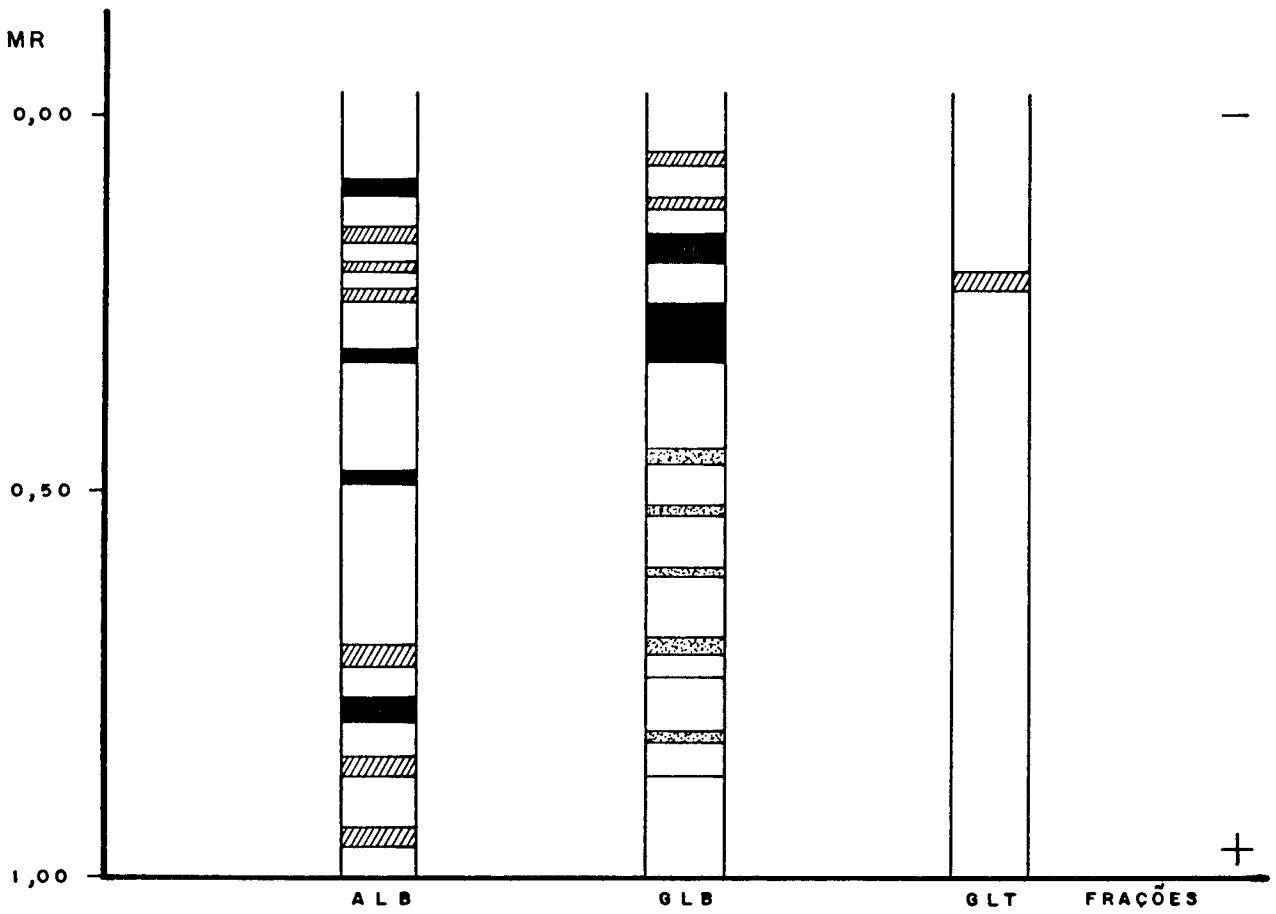


FIGURA 6: REPRESENTAÇÃO ELETROFORÉTICA DAS FRAÇÕES ALBUMINA, GLOBULINA, GLUTELINA DA FDAB.

MR= MOBILIDADE RELATIVA EM FUNÇÃO DO AZUL DE BOMOFENOL.

DENSO MÉDIO FRACO MUITO FRACO

TABELA 22: Ação da celulase de *Aspergillus niger* na liberação da proteína da FDAB.

QUANTIDADE DA AMOSTRA (mg)	CONC. DA ENZIMA QUE APRESENTOU MAIOR EFEITO (%)	% DE EXTRAÇÃO OBTIDA COM A AÇÃO DA ENZIMA
250	0,25	77,9
500	0,25	64,8
750	0,50	64,2
1000	0,50	45,7

10 - Composição em aminoácidos da FDAB e das frações proteicas isoladas.

O resultado das análises de conteúdo de aminoácidos da FDAB e das frações albumina, globulina e glutelina, estão expressos na tabela 23. Na análise dos aminogramas apresentados, observamos um melhor balanceamento de aminoácidos da proteína total do que o apresentado pelas frações isoladas. Os valores obtidos para os aminoácidos essenciais foram quase sempre superiores na proteína total da farinha, com exceção dos valores dos aminoácidos fenilalanina e cistina presentes em maior quantidade nas frações globulina e albumina, respectivamente. Em todos os aminogramas o ácido glutâmico foi o aminoácido presente em maior proporção seguida arginina e ácido aspártico. Os valores de cistina foram os mais baixos para a proteína total e para as frações globulina e glutelina.

No cálculo do score químico para a determinação dos aminoácidos limitantes, tendo como proteína referência o padrão da

FAO/73, obteve-se como aminoácidos limitantes para a proteína total da FDAB a lisina e a treonina, com 78,4 e 87,7% com relação ao padrão, respectivamente. Para a fração albumina, leucina e iso-leucina foram os aminoácidos limitantes. A fração globulina indicou Met+Cis e treonina apresentando um bom balanceamento aminoácídico. A fração glutelina apresentou os mesmos aminoácidos limitantes da proteína total, o que se explica por esta fração representar a maior fração proteica da FDAB.

TABELA 23: Composição em aminoácidos da FDAB e das frações proteicas isoladas. (g a.a./16gN)

AMINOÁCIDOS	FDAB*	ALBUMINA	GLOBULINA	GLUTELINA
Lisina	4,31	5,66	4,65	3,32
Histidina	4,57	1,77	3,00	1,75
Arginina	13,00	20,87	15,60	15,43
Ac. Aspártico	11,03	5,26	10,02	9,15
Treonina	3,51	1,51	3,05	3,11
Serina	4,91	2,27	4,97	5,11
Ac. Glutâmico	26,50	36,81	23,31	20,93
Prolina	4,31	3,03	3,48	3,31
Glicina	5,10	4,53	5,28	4,48
Alamina	4,77	1,84	4,65	4,22
Cistina	1,16	3,78	0,50	0,96
Valina	6,24	1,94	5,98	4,99
Metionina	2,54	1,47	1,91	2,57
Isoleucina	4,01	1,24	3,38	3,40
Leucina	7,93	1,15	7,36	6,80
Tirosina	2,34	2,40	2,32	2,97
Fenilalanina	5,38	2,09	6,21	4,65

* FDAB - Farinha desengordurada de amêndoas de babaçu.

A tabela 24 traz dados de aminogramas da proteína de feijão, soja e FDAB. Pelos resultados notamos que a diferença mais significativa no conteúdo de aminoácidos da FDAB com relação aos demais produtos está no aminoácido lisina para menos e no ácido glutâmico para mais, havendo um equilíbrio quanto aos demais aminoácidos. Comparando os resultados dos aminogramas do Tucum (*Astrocaryum Vulgare, Mart.*), da família das palmáceas, Castelo Branco (1976) com o da FDAB, contidos na tabela 25, notamos a superioridade da segunda tanto no que diz respeito a conteúdo de aminoácidos, como quanto ao seu balanceamento.

11 - Avaliação Nutricional

Os resultados da determinação da qualidade proteica da FDAB estão expressos na tabela 26 e figuras 7 e 8. A avaliação nutricional foi feita pelo método NPR, Net Protein Ratio, (Bender & Doell, 1957).

As suplementações com os aminoácidos lisina e treonina foram feitas baseadas no aminograma (tabela 23) da FDAB. Comparando-se as necessidades de aminoácidos de ratos em crescimento com o conteúdo de aminoácidos da dieta de FDAB, através dos dados contidos na tabela 27, obtivemos como aminoácidos mais limitantes: a lisina cobrindo somente 44,2% das necessidades do animal (rato), seguido dos sulfurados que apresentaram a valor de 56,25% e treonina em 3º lugar com 64,1%. Os ratos submetidos às dietas de FDAB suplementadas não apresentaram ganho de peso significativo quando comparadas a dieta de FDAB pura, este fato, talvez seja devido aos aminoácidos sulfurados não considerados limitantes quando calculados em relação a proteína da FAO/73.

Os valores de NPR e Difestibilidade aparente apresentados para a FDAB foram inferiores ao da proteína padrão caseína.

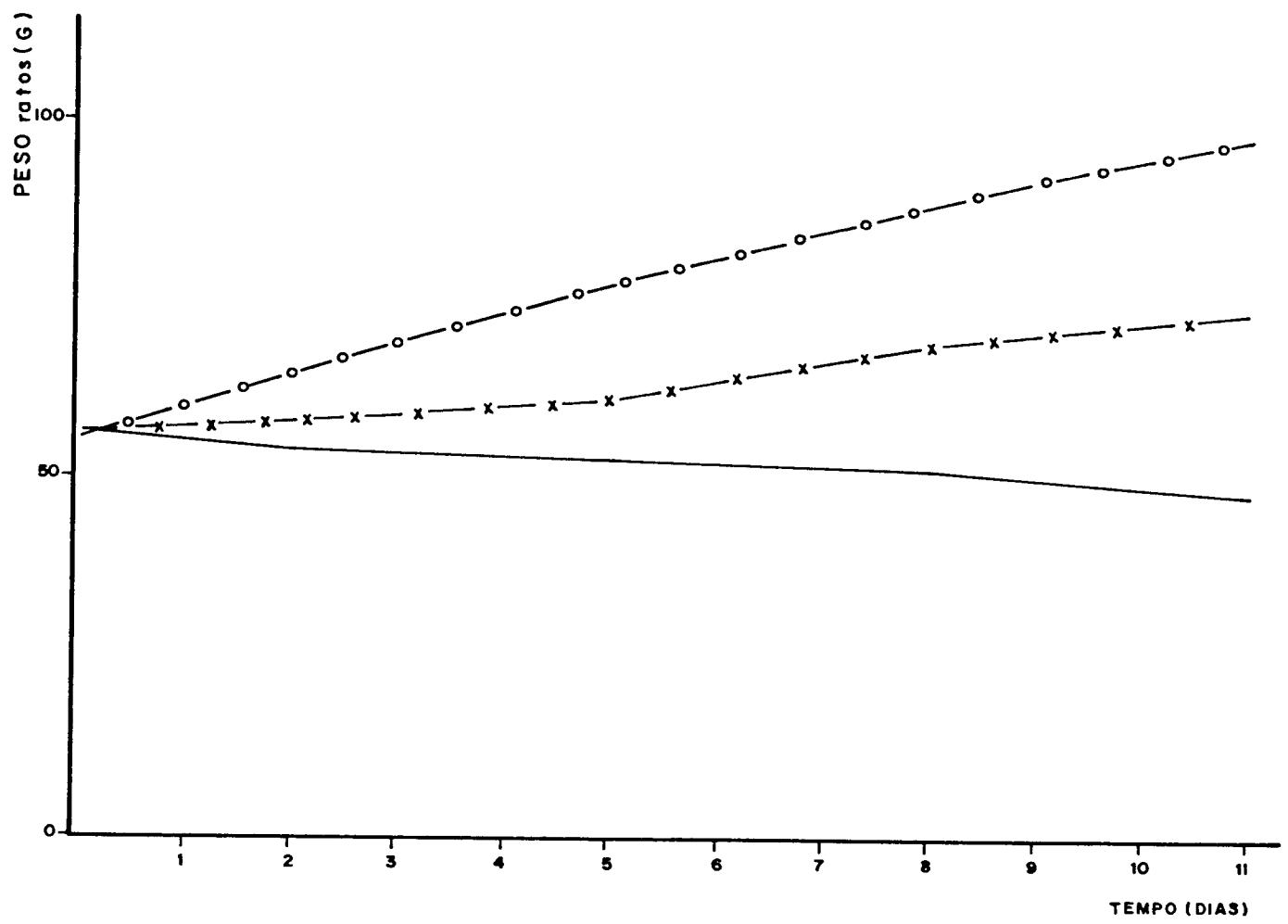


FIGURA 7: CURVA DE CRESCIMENTO DOS RATOS SUBMETIDOS A DIETAS DE CASEÍNA, FDAB E DIETA APROTEICA.

— APROTEICO
—x— FDAB
—o— CASEINA

5176 / B C /

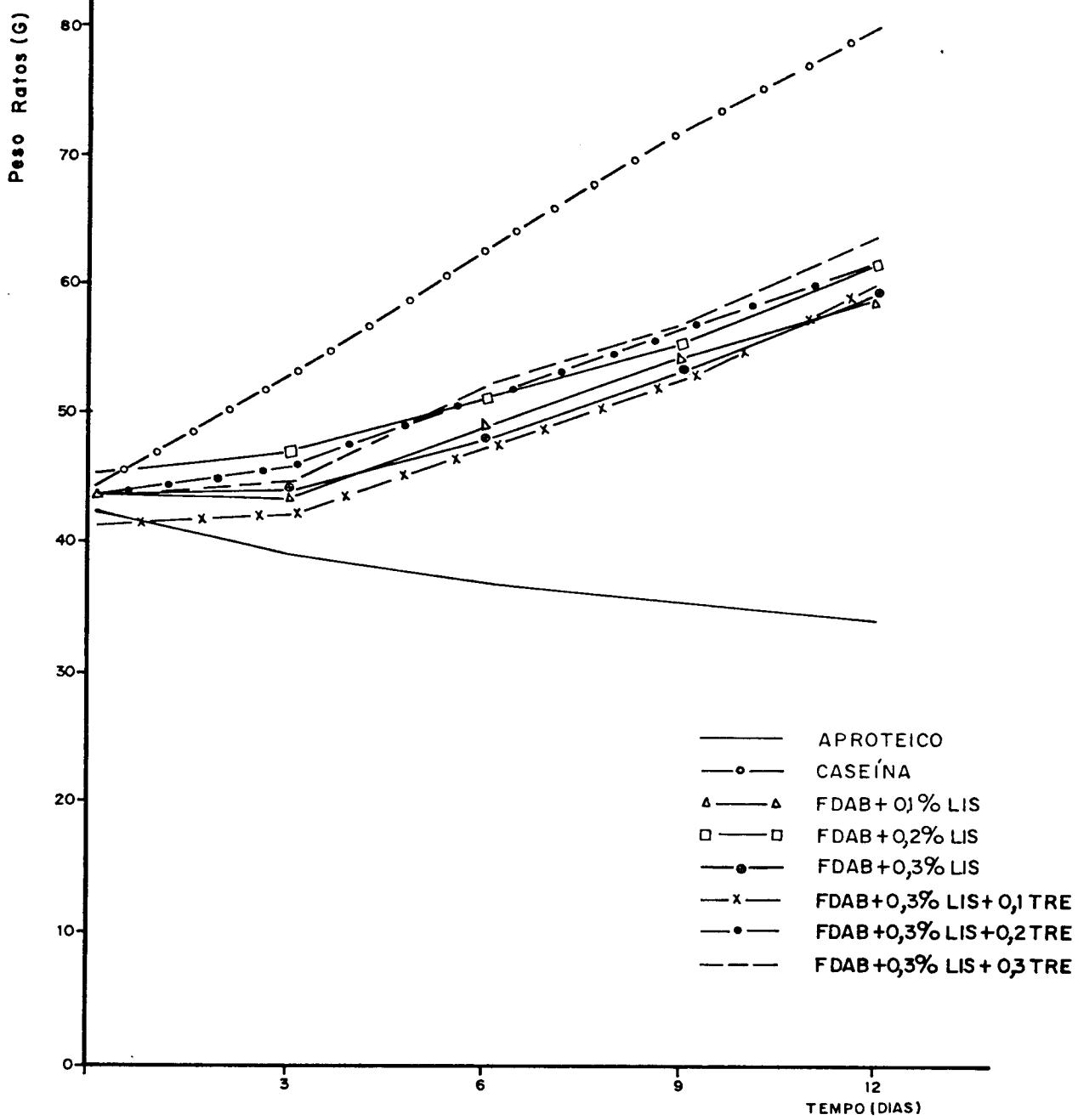


FIGURA 8 : CURVA DE CRESCIMENTO DOS RATOS SUBMETIDOS A DIETAS DE CASEINA, FDAB, + 0,1% LIS, FDAB + 0,2% LIS, FDAB + 0,3% LIS, FDAB + 0,3% LIS + 0,1% TRE, FDAB + 0,3% LIS + 0,2% TRE E FDAB + 0,3% LIS + 0,3% TRE

Comparando os dados contidos nas tabelas 26 e 28, observamos que para o tratamento com o aminoácido L-Lisina, as diferenças de ganho de peso e valores de NPR não foram significativas nos diferentes níveis de suplementação indicando com isso que 0,1% foi suficiente para suprir as deficiências da dieta, com relação ao referido aminoácido.

O mesmo tipo de análise cabe ao tratamento com o aminoácido D-L-Treonina.

Analizando os dois tratamentos (L-Lisina e D-L-Treonina) observamos que o efeito médio da D-L-Treonina foi superior ao efeito médio da L-Lisina ao nível de 5% de probabilidade.

TABELA 24: Composição em aminoácidos da FDAB, Feijão e Soja.
(g a.a./16gN)

AMINOÁCIDOS	FDAB*	FEIJÃO (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	SOJA (<i>Glycine hispida Max.</i>)
Isoleucina	4,01	4,19	4,54
Leucina	7,93	7,62	7,78
Lisina	4,31	7,20	6,38
Metionina	2,54	1,06	1,26
Cistina	1,16	0,85	1,33
AA-sulfurados	3,70	1,91	2,59
Fenilalanina	5,38	5,22	4,94
Tirosina	2,34	2,53	3,14
AA-aromáticos	7,72	7,75	8,08
Treonina	3,51	3,97	3,86
Valina	6,24	4,59	4,80
Arginina	13,00	5,68	7,23
Histidina	4,57	2,83	2,53
Alanina	4,77	4,19	4,26
Ác. aspártico	11,03	11,97	11,70
Ác. glutâmico	26,50	14,78	18,70
Glicina	5,10	3,79	4,18
Prolina	4,31	3,57	5,49
Serina	4,91	5,55	5,12

* Dados obtidos no trabalho.

TABELA 25: Composição em aminoácidos da FDAB e Tucum.
(g a.a./16gN)

AMINOÁCIDOS	FDAB*	TUCUM** (<i>Astrocaryum vulgare</i>)
Ac. Aspártico	11,03	7,87
Treonina	3,51	2,99
Serina	4,91	3,13
Ac. Glutâmico	26,50	22,66
Prolina	4,31	3,48
Glicina	5,10	3,95
Alanina	4,77	2,94
Cistina	1,16	traços
Valina	6,24	5,83
Metionina	2,54	1,71
Isoleucina	4,01	2,58
Leucina	7,93	5,18
Tirosina	2,34	2,73
Fenilalanina	5,38	3,52
Histidina	4,57	traços
Lisina	4,31	3,14
Arginina	13,00	12,96

* Dados obtidos no trabalho.

** Castelo Branco (1976).

TABELA 26: Avaliação nutricional da FDAB pura e suplementada com parados com o padrão caseína.

AMOSTRA	NPR	DIGESTIBILIDADE (%)
FDAB	2,40	61,9
FDAB + 0,1% Lisina	2,47	65,4
FDAB + 0,2% Lisina	2,28	66,8
FDAB + 0,3% Lisina	2,46	67,9
FDAB + 0,3% Lisina + 0,1% Treo nina	2,95	64,5
FDAB + 0,3% Lisina + 0,2% Treo nina	2,76	71,2
FDAB + 0,3% Lisina + 0,3% Treo nina	2,72	64,3
Caseína	3,78	91,0

TABELA 27: Conteúdo de aminoácidos essenciais para o rato na dieta de FDAB.

AMINOÁCIDOS	NECESSIDADE DO RATO % NA DIETA (A)	FDAB - 9,73% Prot. NA DIETA
Arginina	0,64	1,26
Histidina	0,32	0,44
Isoleucina	0,58	0,39
Leucina	0,79	0,77
Lisina	0,95	0,42
Met + Cis	0,64	0,36
Fen + Tir	0,85	0,75
Valina	0,64	0,61
Triptofano	0,16	-

(A) Considerando-se 95% de matéria seca (Nutrient Requirements of Domestic Animals, 1972).

TABELA 28: Ganho médio de peso dos ratos submetidos a dietas contendo FDAB, FDAB suplementada com lisina e treonina, comparados com a dieta padrão caseína.

AMOSTRA	GANHO DE PESO (g)
Caseína	33,16
FDAB	17,87
FDAB + 0,1% LIS	13,83
FDAB + 0,2% LIS	13,66
FDAB + 0,3% LIS	14,33
FDAB + 0,3% LIS + 0,1% TRE	16,50
FDAB + 0,3% LIS + 0,2% TRE	15,91
FDAB + 0,3% LIS + 0,3% TRE	18,87
Aproteico	

FDAB: Farinha Desengordurada de Amendoa de Babaçu

LIS : L-Lisina

TRE : D-L-Treonina

Os valores apresentam a média de ganho de peso de 6 ratos (12 dias)

12 - Avaliação nutricional da FDAB utilizando larvas de *Chrysomya chloropyga*.

Neste ensaio foram usadas dietas de FDAB nos níveis de 2 e 4% de proteína suplementadas com os aminoácidos L-Lisina e D-L-Treonina, obedecendo os mesmos níveis utilizados no experimento com os ratos. Dietas de caseína nos níveis de 2 e 4% de proteína também foram avaliadas. Durante o estudo um grupo padrão em carcaça foi usado como referência.

Devido ao alto poder higroscópico da FDAB só foi possível a utilização dos níveis de 2 e 4% de proteína na dieta, uma vez que a mesma deve conter um mínimo de 60% de água para ser consumida por larvas de moscas. Este fato impediu uma comparação direta com o teste biológico NPR, que utiliza níveis de 10%.

As figuras 9 e 10 apresentam a curva de crescimento das larvas submetidas a dietas de: carcaça (considerada padrão) , 2% de caseína, 2% de proteína de FDAB, 4% de caseína e 4% de proteína de FDAB. No estudo comparativo das dietas de caseína e FDAB nos níveis de 2 e 4% de proteína, após 80 horas, obtivemos porcentagens de ganho de peso com relação à carcaça, de 19,2 e 43,9% para caseína e 28,8 e 69,4% para FDAB. Os dados obtidos para 2% de caseína estão de acordo com os resultados fornecidos por Leal (1980). Com relação ao nível de 4% obtivemos resultados semelhantes até 92 horas de ensaio. A partir daí, até 123 horas (fim do experimento), observamos ganho de peso sempre crescente enquanto que Leal (1980), obteve declínio de curva de crescimento.

A tabela 29 apresenta o ganho de peso das larvas de *C. chloropyga* submetidas as diferentes dietas e porcentagem de crescimento relativos à carcaça, em aproximadamente 80 horas de experimento.

Podemos observar que o ganho de peso das larvas em die

tas suplementadas com L-Lisina ao nível de 2% de proteína da FDAB, demonstra que 0,1% do aminoácido foi suficiente para alcançar o nível requerido pela larva. Suplementação com L-Lisina + D-L-Treononina também ao nível de 2% de proteína, apresentou a 0,3% dos dois aminoácidos um ganho de peso médio mais alto correspondendo a 69,4% do crescimento com relação à carcaça.

Com as dietas a 4% de proteína de FDAB suplementadas dos aminoácidos L-Lisina e D-L-Treonina, as larvas não apresentaram um aproveitamento adequado, fato este talvez explicado pela quantidade de FDAB necessária para fornecer o nível proteico, que diminuiu consideravelmente a disponibilidade de água requerida para fornecer a característica semi-sólida da dieta e consequente mente interferiu no aproveitamento dos demais nutrientes.

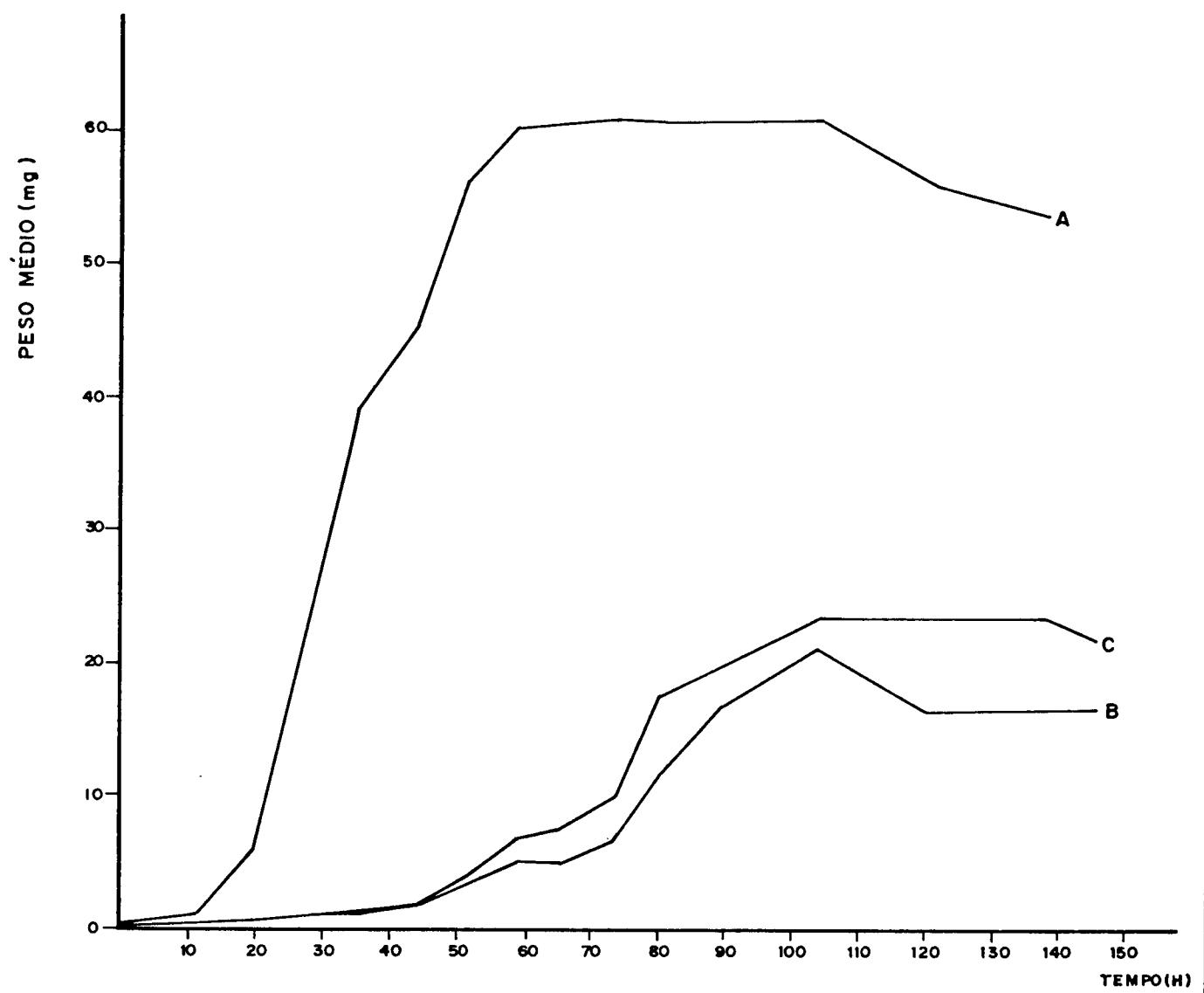


FIGURA 9: CURVA DE CRESCIMENTO DE LARVAS DE *C. chloropyga* SUBMETIDAS
A DIETAS DE: A - CARCAÇA, B - CASEÍNA 2%, C - FDAB 2 %

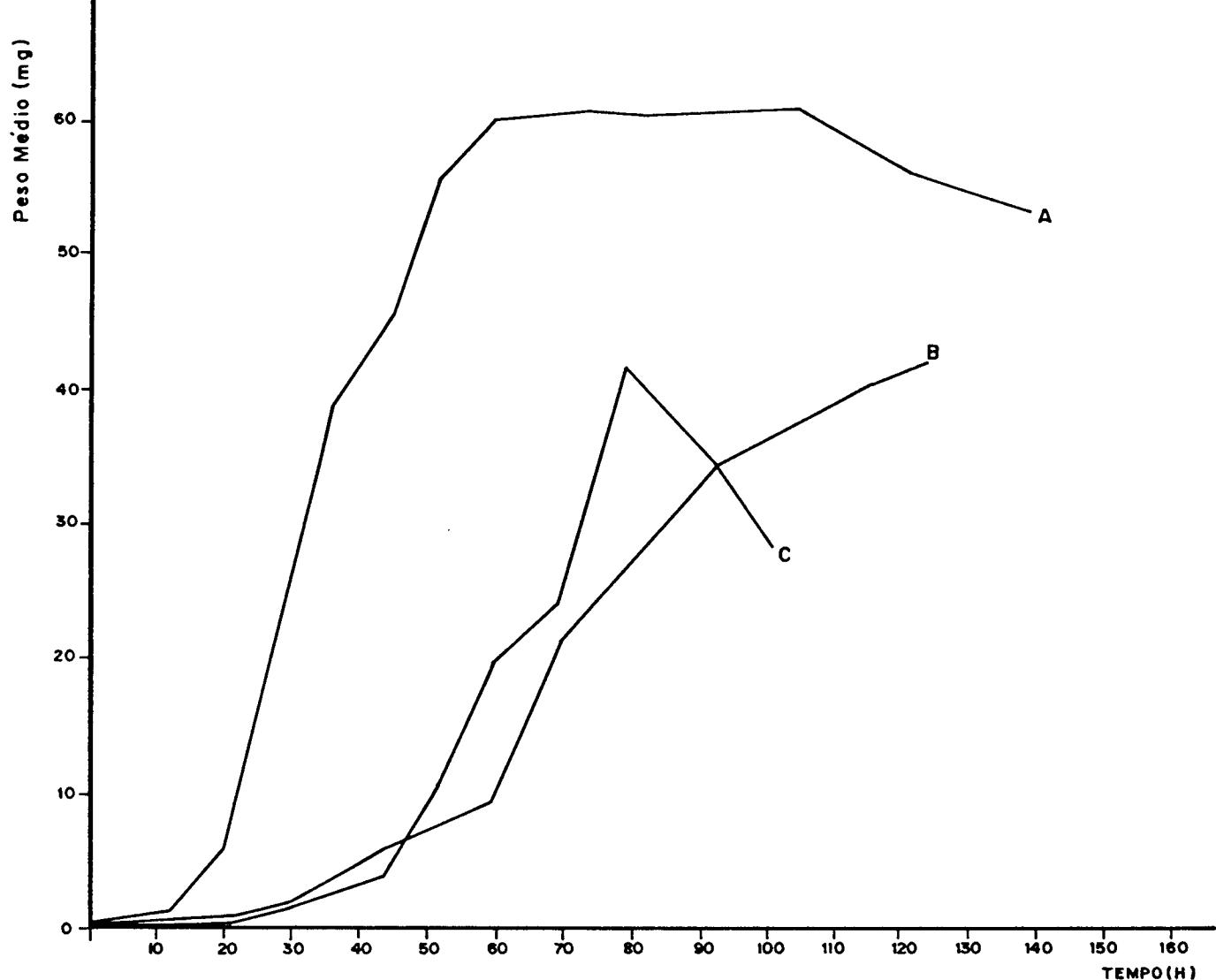


FIGURA 10: CURVA DE CRESCIMENTO DE LARVAS DE C. CHLOROPYGA SUBMETIDAS
A DIETAS DE:

A - CARCAÇA

B - CASEÍNA 4 %

C - FDAB 4 %

TABELA 29: Peso médio ganho pelas larvas de *C. chloropyga* quando submetidas às diferentes dietas e porcentagem de crescimento relativos à carcaça, em aproximadamente 80 horas de experimento.

AMOSTRA	TEMPO (h)	PESO MÉDIO (mg)	% CRESCIMENTO
Carcaça	80,0	60,5	100,0
2% FDAB	80,0	17,4	28,8
2% Caseína	80,0	11,6	19,2
2% FDAB + 0,1% LIS	80,0	28,5	47,1
2% FDAB + 0,2% LIS	80,0	27,8	45,9
2% FDAB + 0,3% LIS	80,0	28,6	47,3
2% FDAB + 0,3% LIS + 0,1% TRE	78,5	26,2	43,3
2% FDAB + 0,3% LIS + 0,2% TRE	78,5	26,7	44,1
2% FDAB + 0,3% LIS + 0,3% TRE	78,5	42,0	69,4
4% FDAB	78,5	42,0	69,4
4% Caseína	78,5	26,6	43,9
4% FDAB + 0,1% LIS	78,5	34,6	57,1
4% FDAB + 0,2% LIS	78,5	43,7	72,2
4% FDAB + 0,3% LIS	78,5	39,9	65,9
4% FDAB + 0,3% LIS + 0,1% TRE	78,5	44,3	73,2
4% FDAB + 0,3% LIS + 0,2% TRE	78,5	31,6	52,2
4% FDAB + 0,3% LIS + 0,3% TRE	72,0	35,8	59,2

FDAB: farinha desengordurada de amêndoas de babaçu

LIS : L-Lisina

TRE : D-L-Treonina

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo nos permitem as se guintes conclusões:

- a) a farinha desengordurada de amêndoas de babaçu apresentou em seu fracionamento, como principal fração a glutelina, indican do um baixo valor nutricional, muito embora a determinação da composição em aminoácidos da farinha pura nos tenha revelado um bom balanço aminoacídico.
- b) o estudo eletroforético em gel de poliacrilamida demonstrou a presença de 10 componentes para a função albumina, 11 para a globulina e 1 para a glutelina.
- c) o emprego da celulase melhorou a extração das proteínas da FDAB, sugerindo algum impedimento de natureza celulósica no processo de solubilização das proteínas.
- d) a avaliação nutricional pelo método NPR apresentou o valor de 2,3 e uma digestibilidade aparente de 61,9%. indicando ser a proteína da amêndoas de babaçu significativamente inferior a caseína, no que diz respeito à capacidade de promover crescimento em ratos. Este fato talvez esteja relacionado com o alto conteúdo de fibra presente nas dietas de FDAB.
- e) na avaliação com o uso de larvas de *Chrysomya chloropyga* a proteína da FDAB foi superior a caseína nos níveis de proteína testados. As dietas suplementadas com os aminoácidos L-Lisina e D-L-Treonina apresentaram ganho de peso superior ao da FDAB pura.

BIBLIOGRAFIA

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. AOAC. Official Methods of Analysis, 11th, 1970.

BABAÇU. Cacex, maio, nº 692, Rio de Janeiro, 1980.

BENDER, A. E. & DOELL, B. H. Biological evaluation of proteins: a new aspect. *Br. J. Nutr.*, 11:140, 1957.

_____. & MILLER, D. S. New brief method of estimating net protein value. *Biochem. J.*, 53:7, 1953.

BRAGA, R. *Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará*, 2 ed., Fortaleza, 1960.

BRESSANI, R. & MERTZ, E.T. IV. Protein and amino acid content of different corn varieties. *Cereal Chemistry*, 35:227-235, 1958.

BRUST, M. & FRAENKEL, G. The nutrition requirements of the larva of a blowfly, *Phormia regina* (Meig.), *Physiol. Zool.*, 28:186, 1955.

CAGANPARG, G.B., CRUZ, L.J., ESPIRITU, S.G., SANTIAGO, R.G. & JULIANO, B. O. Studies on the extraction and composition on rice proteins. *Cereal Chemistry*, 43(2): 145, 1966.

CASTELO BRANCO, C.C. Estudo bromatológico da amendoa de Tucum (*Astrocaryum vulgare*, Mart.). São Paulo, Faculdade de Ciências Farmaceuticas/USP, 1976. (Tese).

CHAPNAN, R.G. CASTILLO, R. & CAMPBELL, J.A. Evaluation of proteins in foods. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 37:679, 1959.

DAVIS, B. J. Disc eletrophoresis. II. Method and application to humam serum proteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 121:321, 1964.

DERSE, P.H. Evaluation of protein quality. (Biological Method). *J. Ass. Offic. Anal. Chem.*, 45:418, 1962.

DJANG, S.T., LILLEVIK, H.A. & BALL, C.D. Factors affecting solubilization on the nitrogenous constituents of the Mung bean, *Phaseolus aureus*. *Cereal Chemistry*, 30:230, 1953.

EVANS, J.R. & KERR, M.H. Extraction and precipitation of nitrogenous constituents of dry Navy beans (*Phaseolus vulgaris*). *Agric. and Food Chem.*, 11(1): 26-29, 1963.

FAO/WHO. Technical Bulletin nº 522 - 1973.

GHEYASUDDIN, S. CATER, C.M. & MATTIL, K.F. Effect of several variables on the extractability of sunflower seed proteins. *J.of Food Sci.*, 35:453, 1970.

GONSALVES, A.D. O babaçu. Série Estudos e Ensaios nº 8. Ministério da Agricultura, 1955.

HEGSTED, D.M., MILLS, R.C., ELVEHJEM, C.A. & HART, E.B. Hegsted salt mixture. *J. Biol. Chem.*, 138:459, 1941.

LAYNE, E. Spectrophotometric and turbidimetric methods for measuring proteins. IN: *Methods in Enzymology*, vol. III, ed. by S.P. Colowick and N.O. Kaplan. Academic Press, New York, 1957.

LEAL, T.T.S. Estudos para o desenvolvimento de novo método de avaliação de qualidade proteica utilizando larvas de *Chrysomya chloropyga* (WIEDMANN). Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola/UNICAMP, 1980. (Tese).

- _____. PRADO, A.P. & ANTUNES, A.J. Rearing the larvae of the blowfly *C. chloropyga* (WIEDMANN) on oligidic diets. (Diptera, Calliphoridae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 1:41-44, 1982.
- LECLERQ, J. & DeBAST, D. Project d'utilisation des larves de *Tenebrio molitor* pour comparer le valeur nutritive des protéines. *Ann. Nutr. Alim.*, 19:18, 1965.
- LUND, A.P. & SANDSTRON, W.M. The proteins of various tree seeds. *J. of Agr. Research*, 66(9): 349, 1943.
- MERTZ, E.T. & BRESSANI, R. Studies on corn proteins. I. A new method of extraction. *Cereal Chemistry*, 34:63, 1957.
- MERTZ, E. T. Studies on corn proteins. IV. Protein and amino acid content of different varieties. *Cereal Chemistry*, 35:227, 1958.
- MITCHELL, H.H. A method of determining the biological value of protein. *J. Biol. Chem.*, 58:873, 1923.
- NBC. Nutricional Biochemicals Corporation of INC life Sciences Group-Diet Catalog, 1977/78.
- O BABAÇU. Sec. Ind. e Com. Governo do Estado do Piauí, maio, Tere sina, 1977.
- OSBORNE, T. B. *The proteins of wheat kernel*. Whashington, Carnegie Inst., 1907.
- _____. MENDEL, L.B. & FERRY, E.L. A method of expressing numerically the growthpromoting value of proteins. *J. Biol. Chem.*, 37:223, 1919.
- PATTON, P.L. Insect nutrition. IN: *Introductory insect physiology*, Philadelphia, W.B. Sounders, 1963.

POMERANZ, Y. Isolation of proteins from plant material. *J. Food Sci.* 30:823, 1965.

PROCEDURES MANUAL 120-PM-1. Palo Alto, Spinco Division of Beckman Instruments, 1970.

ROSOMER, W.S. *The science of entomology*. New York, McMillan, 1973.

ROSENTHAL, F.R.T. Considerações sobre o projeto integrado de babaçu. *Inf. INT.*, 9(11): 22-9, 1976.

_____. Matéria prima para fabricação de alcool. O babaçu. *Inf. INT.* 9(14): 29-40, 1977.

SANSON, A.S., KHAUND, R.N., CATER, C.M. & MATTIL, K.F. Extractability of coconut proteins. *J. of Food Sci.*, 36:725, 1971.

SMITH, C.R., EARLE, F.R. & WOLFF, I.A. Comparison of solubility characteristics of selected seed proteins. *Agr. and Food Chem.*, 7(2): 133, 1959.

SOARES, L.A.N.G. Babaçu: Industrialização total. *OPEMA*, 9(24): 6-10, 1979.

SPACKMAN, D.H., STEIN, W.H. & MOORE, S. Automatic apparatus for use in the chromatography amino acids. *Anal. Chem.*, 30:1190, 1958.

VAN DE KAMER, J.H. & VAN JUNKEL, L. Rapid determination of the crude fiber in cereals. *Cereal Chemistry*, 29:239, 1952.

VENTURA, M. M. Solubilização dos constituintes nitrogenados da amêndoia de babaçu. (*Orbignya Martiana* Barb. Rodr.). *Oylon*, 5(2): 107-114, 1955.

_____. HOLLANDA LIMA, L. Proteínas da amêndoas de babaçu.
(Orbignya Martiana Barb. Rodr.). III. Estudo eletroforético
em papel. *Oxylon*, 11(1): 15-21, 1958.

VILLELA, G. G., BACILA, M. & TASTALDI, H. *Técnicas e experimentos*
de bioquímica. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1973.

WILHEMS, C. Babaçu, riqueza inexplorada. Banco do Brasil S.A./Inst.
Nac, de Óleos. 1964.

APÊNDICE A

Dados utilizados na análise estatística para medir o efeito dos diversos tratamentos na avaliação nutricional da farinha desengordurada de amêndoas de babaçu pelo método do NPR.

TRATAMENTO	PESO INICIAL (g)	RAÇÃO CONSUMIDA (g)	NITROGÊNIO CONSUMIDO (g)	PESO GANHO (g)	NÚMERO DE RATOS (1)
FDAB	55,88	113,75	1,77	17,88	4
FDAB + 0,1% LIS	43,90	97,30	1,53	15,10	5
FDAB + 0,2% LIS	45,25	107,00	1,76	16,62	4
FDAB + 0,3% LIS	43,70	94,80	1,57	15,50	5
FDAB + 0,3% LIS + 0,1% TRE	41,50	96,50	1,46	18,20	5
FDAB + 0,3% LIS + 0,2% TRE	43,00	101,12	1,59	18,88	4
FDAB + 0,3% LIS + 0,3% TRE	43,50	103,40	1,71	20,40	5
Caseína	44,00	114,00	1,88	35,80	5
Média Geral	44,85	103,18	1,65	19,96	
F	4,26**	1,10n.s.	1,59n.s.	20,10**	
C.V. (%)	9,83	15,07	15,08	16,66	

(**) : significativo ao nível de 1% de probabilidade
 n.s. : são significativos ao nível de 5% de probabilidade
 (1) : número de ratos considerados em cada grupo
 FDAB : farinha desengordurada de amêndoas de babaçu
 LIS : L-Lisina
 TRE : D-L-Treonina