

Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Engenharia de Alimentos
Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição

Dissertação de Mestrado

***PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FARINHAS E
CONCENTRADOS PROTÉICOS DE AMARANTO
(Amaranthus cruentus)***

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por **Flavia Auler** aprovada pela Comissão Julgadora em 05 de dezembro de 2002.

Campinas, 05 de dezembro de 2002.

Flavia Auler

Nutricionista


Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfan
Presidente da Banca

Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfan

Orientador

Campinas – SP

2002

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

200304742

UNIDADE	BC
Nº CHAMADA	TUNICAMP
	Au 51p
V	EX
TOMBO BC:	52192
PROC.	124103
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	12511,00
DATA	13/02/03
Nº CPD	

CM00177659-0

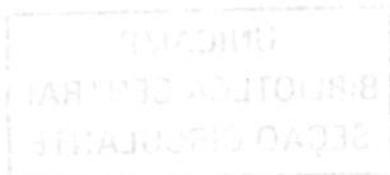
BIBID. 283838

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA F.E.A. – UNICAMP

Au51p Auler, Flavia
Produção e caracterização de farinhas e concentrados
protéicos de amaranto (*Amaranthus cruentus*) / Flavia Auler. –
Campinas, SP: [s.n.], 2002.

Orientador: Jaime Amaya-Farfan
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de
Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Amarantos. 2.Solubilidade. 3.Aminoácidos. I.Amaya-
Farfan, Jaime. II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade
de Engenharia de Alimentos. III.Título.



**PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FARINHAS E
CONCENTRADOS PROTÉICOS DE AMARANTO
(*Amaranthus cruentus*)**

Flavia Auler

Nutricionista

*Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da
Universidade Estadual de Campinas para a obtenção do título de Mestre em
Alimentos e Nutrição*

Prof. Dr. Jaime Amaya-Farfan

Orientador

Campinas – SP

2002

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr Jaime Amaya-Farfan

Universidade Estadual de Campinas

Orientador



Prof. Dra. Flavia Maria Netto

Universidade Estadual de Campinas

Membro



Prof. Dra. Semíramis M. A. Domene

Pontifícia Universidade Católica - Campinas

Membro

Prof. Dr. Célio K. Miyasaka (A)

Universidade Estadual de Campinas

(membro suplente)

Campinas, 2002

Dedico à
A minha maravilhosa família
Aos meus grandes amigos

***"Acredito no sol mesmo quando não ilumina,
Acredito no amor mesmo quando não sinto e
Acredito em Deus mesmo quando permanece calado"***

Escrito na parede de um sótão utilizado
pelos judeus durante a 2ª Guerra Mundial

AGRADECIMENTOS

À Deus.

Ao Professor Jaime, pela confiança depositada em minha pessoa e por toda a paciência e zelo que demonstrou durante todo este período. Se há algum brilho neste trabalho, ele é reflexo da sua dedicação!

À minha família (Papi, Mami, Lu, De, Ico, João, Gilson e o pequeno Mateus), pelo carinho e amor que tem por mim e pela paciência de ouvir todos os meus "chorinhos" de saudades.

À Universidade do Oeste de Santa Catarina, em especial aos Srs. Darcy Laske e Eduardo Gelinski, pela concessão da bolsa de estudos do Programa de Capacitação de Docentes/CAPES.

Ao pesquisador da EMBRAPA, Sr Carlos R. Spehar, pela doação dos grãos de amaranto e à Novo Nodisk, na pessoa da Sra. Juliana, pela doação da enzima α -amilase *Thermamyl 120L*.

Aos professores da banca examinadora Flavia Maria Neto, Semiramis M. A. Domene e Célio Miyasaka pelas correções e contribuições realizadas no boneco.

À técnica Eliana ("anjo da guarda"), pelo auxílio prestado durante o decorrer destes anos e pela sua grande amizade.

Ao técnico Francisco Carraro (Laboratório Central – Depan), pelo auxílio nas análises de ácidos graxos e coloração, à Carla e Oneida (Laboratório de Fontes Protéicas), pela determinação dos aminoácidos, ao Adilson (CPQBA) pela determinação de peso molecular das proteínas nos géis de eletroforese e a Carol (Laboratório de Cereais – DTA), pelo auxílio prestado na moagem e desengorduramento das farinhas.

Aos funcionários Cosme (Secretaria de Pós-Graduação – FEA), Cidinha e Fatima (Secretaria do DePAN), Creusa e Claudia (Biblioteca FEA) pelo auxílio prestado durante estes anos.

Às amigas de “república” Ana Silvia, Andréa, Carol, Karla, Renata e Silvana por todos os momentos alegres, pela paciência e por transformarem-na em “lar”.

Às amigas Lúcia, Helenice, Cris, Maria Inéz, Fernanda, Vera, Sônia, Ivonete, Farayde, Bia, Érica e D. Iná presente em todos os momentos de dúvidas, agonias e pelos momentos alegres que passamos pelos nossos laboratórios (Vou sentir saudades!).

Ao casal Flavia e Marconi, pelo carinho que me receberam em suas vidas e por terem sido mais que amigos, meus irmãos.

Às amigas de Joaçaba e de Floripa, por compreender os meus longos períodos de ausência (Ainda bem que temos telefone e internet!).

Aos amigos Alencar, Rodrigo, Faina e Nicola, que com todo o carinho me acolheram na cidade de Campinas no ano de 1999.

Aos amigos baianos, goianos, gaúchos, cariocas, mineiros, paraenses e paraibanos que conquistei aqui nesta universidade que acolhe a todos tão bem.

As coordenadoras dos cursos de nutrição Agdamar (Centro Universitário de Rio Preto) e Maria Aparecida (Centro Universitário de Votuporanga) e colegas de trabalho, pela oportunidade de iniciar minha vida docente em um local tão bacana.

As professoras da Universidade Federal de Santa Catarina pelo incentivo de seguir a carreira docente.

E finalmente ao querido Luiz por ter sido paciente comigo todo este tempo e ter me mostrado que a alegria deve ser uma constante na vida de todos nós.

Muito obrigado!!

SUMÁRIO

SUMÁRIO	ix
LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE TABELAS	xiv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xviii
1 – INTRODUÇÃO	01
2 – REFERENCIAL TEÓRICO	03
2.1 – Aspectos históricos do amaranto	03
2.2 – Aspectos botânicos do grão de amaranto	04
2.3 – Aspectos morfológicos do grão de amaranto	05
2.4 – Composição centesimal do grão de amaranto	06
2.4.1 – Conteúdo protéico do amaranto	07
a) Conteúdo de aminoácidos	09
b) Frações protéicas	10
2.4.2 – Conteúdo amiláceo do amaranto	14
2.4.3 – Conteúdo lipídico do amaranto	15
2.5 – Concentrados protéicos do grão de amaranto	16
2.6 – Propriedades funcionais da proteína do amaranto	19
3 – MATERIAL E MÉTODOS	22
3.1 – Material	22
3.2 – Métodos	22
3.2.1 – Obtenção das farinhas base, desengordurada e hidrolisada	22
a) Refino do grão para obtenção da farinha-base	23
b) Desengorduramento da farinha-base	23
c) Hidrólise enzimática da amilose na farinha base	23
3.2.2 – Produção dos concentrados protéicos a partir da	

farinha-base, desengordurada e hidrolisada com α -amilase	25
3.2.3 - Composição aproximada das farinhas e dos concentrados	27
a) Cinzas	28
b) Umidade	28
c) Proteína total	28
d) Lípidos totais	28
e) Amido	28
3.2.4 - Perfil de ácidos graxos dos lípidos totais das farinhas e dos concentrados	29
3.2.5 - Perfil de aminoácidos das farinhas e dos concentrados	30
3.2.6 - Perfil de peso molecular das proteínas das farinhas e dos concentrados	30
3.2.7 - Perfil de solubilidade protéica das farinhas e concentrados	31
3.2.8 - Cor das farinhas e dos concentrados	32
3.3 - Análise estatística	32
4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.1 - Obtenção da farinha-base, desengordurada e hidrolisada	33
4.2 - Composição aproximada das farinhas do amaranto	34
4.3 - Composição aproximada dos concentrados protéicos do amaranto	35
4.4 - Rendimento na produção dos concentrados protéicos do amaranto	36
4.5 - Perfil de ácidos graxos dos lípidos totais	39
a) Farinha-base, desengordurada e hidrolisada	39
b) Concentrados protéicos	41
4.6 - Perfil de aminoácidos	42
a) Farinha-base, desengordurada e hidrolisada	42
b) Concentrados protéicos	44
4.7 - Perfil de peso molecular das proteínas	46

a) Farinha-base, desengordurada e hidrolisada	46
b) Concentrados protéicos	50
4.8 - Perfil de solubilidade protéica	54
4.8.1 Farinha-base, desengordurada e hidrolisada	54
a) Perfil de solubilidade protéica em pHs ácidos (2,0<pH<3,5)	56
b) Perfil de solubilidade protéica na região isoelétrica (4,0<pH<5,0)	57
c) Perfil de solubilidade protéica em pHs neutros e alcalinos (6,0<pH<11,0)	58
4.8.2 - Concentrados proteicos	59
4.8.3 - Comparação do perfil de solubilidade protéica de concentrados protéicos	62
4.9 - Cor das farinhas e concentrados de amaranto	64
5 - CONCLUSÕES	66
6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Microscopia eletrônica de transmissão (MET) de um cotilêdono da semente de <i>Amaranthus cruentus</i> (PB corpo protéico; LB corpo lipídico; AM amiloplastos; CW parede celular; N núcleo; PL plastídio; PG glóbulo de fitina) Fonte: Koniski et al.,1995	06
Figura 2 - Esquema da obtenção da farinha hidrolisada com α -amilase de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica)	24
Figura 3 - Esquema de obtenção dos concentrados protéicos do amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica)	26
Figura 4 - Teores de proteína das farinhas (FB, FD, FH), concentrados (CPF, CPFH), resíduos (RFB, RFD, RFH) e soros dos concentrados (SCPF, SCPFH) - soros, em mg/mL, farinha, concentrado e resíduo, em g/100g	38
Figura 5 - Perfil dos ácidos graxos mais expressivos (% área total) de óleo extraído das farinhas de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) FB: farinha-base; FD: farinha desengordurada; FH: farinha hidrolisada com α -amilase	40
Figura 6 - Perfil de ácidos graxos (% área total) de óleo extraído dos concentrados protéicos de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) CPF: concentrado protéico da farinha-base; CPFH: concentrado protéico da farinha desengordurada; CPFH: concentrado protéico da farinha hidrolisada com α -amilase	41
Figura 7 - Densitogramas das proteínas das farinhas de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) (a) padrão de peso molecular; (b) farinha-base; (c) farinha desengordurada; (d) farinha hidrolisada com α -amilase	48
Figura 8 - Perfil eletroforético das proteínas totais das farinhas de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) em gel de poliacrilamida com gradiente 8-25%, em presença de SDS. Coluna 1: farinha hidrolisada com α -amilase (FH); Coluna 2: farinha desengordurada (FD); Coluna 3: farinha-base (FB); Coluna 4: padrão de	

baixo peso molecular (a: 14.400Da - b: 20.100Da - c: 30.000Da - d: 43.000Da - e: 67.000Da - f: 94.000Da)	49
Figura 9 - Densitogramas das proteínas dos concentrados protéicos das farinhas de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) (a) padrão de peso molecular; (b) concentrado protéico da farinha-base; (c) concentrado protéico da farinha desengordurada; (d) concentrado protéico da farinha hidrolisada com α -amilase	52
Figura 10 - Perfil eletroforético das proteínas dos concentrados de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) em gel de poliacrilamida com gradiente 8-25%, na presença de SDS. Coluna 1: concentrado protéico da farinha hidrolisada com amilase (CPFH); Coluna 2: concentrado protéico da farinha desengordurada (CPFD); Coluna 3: concentrado protéico da farinha-base (CPFB); Coluna 4: padrão de baixo peso molecular (a: 14.400Da - b: 20.100Da - c: 30.000Da - d: 43.000Da - e: 67.000Da - f: 94.000Da)	53
Figura 11 - Perfil de solubilidade protéica das farinhas de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) em água desionizada e solução salina (NaCl 0,1M). FB: farinha-base; FD: farinha desengordurada; FH: farinha hidrolisada com α -amilase	55
Figura 12 - Perfil de solubilidade protéica dos concentrados protéicos das farinhas de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) em solução salina e água desionizada. CPFB: concentrado protéico da farinha-base; CPFD: concentrado protéico da farinha desengordurada; CPFH: concentrado protéico da farinha hidrolisada com α -amilase	60
Figura 13 - Perfil de solubilidade protéica das farinhas e concentrados protéicos de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) em água desionizada. FB: farinha-base; FD: farinha desengordurada; FH: farinha hidrolisada com α -amilase; CPFB: concentrado protéico da farinha-base; CPFD: concentrado protéico da farinha desengordurada; CPFH: concentrado protéico da farinha hidrolisada com α -amilase.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Composição média das três espécies de amaranto	07
Tabela 2 - Variação do teor protéico do grão de amaranto contido nas três espécies mais cultivadas e estudadas	08
Tabela 3 – Conteúdo protéico médio dos grãos de cereais e do grão de amaranto	08
Tabela 4 - Conteúdo de aminoácidos essenciais (mg/100 mg de proteína) em farinhas de diferentes espécies de amaranto ¹ , em comparação com o perfil padrão ²	09
Tabela 5 - Variações das frações protéicas do grão de amaranto de acordo com a literatura	11
Tabela 6 – Fracionamento e rendimento da farinha do grão de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) de acordo com a granulometria da fração	33
Tabela 7 - Composição aproximada ¹ das farinhas do amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) em base seca	34
Tabela 8 - Composição aproximada ¹ dos concentrados protéicos de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica), em base seca.....	35
Tabela 9 – Distribuição dos concentrados de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) de acordo com o número de lotes, quantidade e rendimento protéico médio	37
Tabela 10 – Teor de aminoácidos (mg/100mg de proteína) das farinhas de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica), o padrão referência ¹ e Escores químicos	43
Tabela 11 – Teor de aminoácidos (mg/100mg de proteína) dos concentrados protéicos provindos da farinha de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica), o padrão referência ¹ e Escores químicos..	45
Tabela 12 – Distribuição dos pesos moleculares (Da) das proteínas das farinhas de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> Variedade Japônica).....	47
Tabela 13 – Distribuição dos pesos moleculares (Da) das proteínas dos concentrados protéicos das farinhas de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i>	

Variedade Japônica).....	51
Tabela 14 – Perfil de solubilidade protéica ¹ das farinhas de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) em pH ácidos em água desionizada e solução salina (NaCl) a 0,1M	56
Tabela 15 – Perfil de solubilidade protéica ¹ das farinhas de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) na região isoelétrica em água desionizada e solução salina a 0,1M.....	57
Tabela 16 – Perfil de solubilidade protéica ¹ das farinhas de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) em pHs neutros e alcalinos em água desionizada e solução salina (NaCl) a 0,1M.....	58
Tabela 17 – Parâmetros de coloração ¹ das farinhas de amaranto (<i>Amaranthus cruentus</i> variedade Japônica) comparadas a dois padrões de referência ²	64

RESUMO

O grão de amaranto, espécie pertencente à classe das Dicotiledôneas, família das Amaranthaceae, possui características morfológicas e nutricionais comuns aos cereais e leguminosas, sendo considerado como "pseudo-cereal". A planta é oriunda das regiões andinas, e é utilizada em outros países da América, como o México e os Estados Unidos. No Brasil, esta cultura está sendo introduzida após processo de adaptação em solo e clima do Cerrado brasileiro pela EMBRAPA (Unidade Cerrados - DF). A fim de estudar as suas características composicionais e possíveis alterações com o processamento, esta pesquisa pretendeu investigar o comportamento físico-químico das proteínas do grão (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) durante o processo de extração das mesmas, visando a sua máxima extratabilidade. Foram produzidas três farinhas, as quais foram denominadas: farinha-base (FB), farinha desengordurada (FD) e farinha hidrolisada com α -amilase (FH). As farinhas serviram como matéria-prima para a extração da fração protéica em meio aquoso (solubilização em pH8 e precipitação em pH4,25). A partir de cada uma das farinhas, foi gerado um concentrado protéico (CP): concentrado protéico da farinha-base (CPF_B), e os correspondentes CPF_D e CPF_H. As farinhas e concentrados foram submetidos à análise de composição centesimal, cor e perfil de solubilidade protéica em água e solução de 0,1M NaCl, de ácidos graxos, aminoácidos e eletroforese. Os resultados mostraram que a hidrólise amilácea resultou numa farinha com o maior teor protéico (~30%) porém, com alteração negativa da coloração. Dentre os concentrados, o CPF_D foi o que se apresentou com maior teor protéico (~80%) e também maior recuperação protéica (~47%), porém, foram a FB e seu respectivo concentrado os que apresentaram maior solubilidade protéica, independente dos pHs e solventes utilizados. Em relação ao perfil de ácidos graxos, todas as farinhas e concentrados foram semelhantes, com o predomínio (~60%) de ácido oléico e linoléico. Quanto ao perfil aminoacídico, todas as farinhas e concentrados demonstraram possuir alto teor de sulfurados, enquanto a leucina foi o 1º aminoácido limitante em FB, FD, CPF_B, CPF_D e CPF_H, e lisina em FH. De

acordo com o perfil eletroforético das proteínas, as FD e FH apresentaram maior número de bandas identificáveis. Dos resultados obtidos, pode-se concluir que, independente do processo utilizado, desengorduramento ou hidrólise dos amidos, não é possível se produzir isolados protéicos (proteína > 90%) por precipitação isoeletrica simples da farinha do grão de amaranto. Isto sugere que embora exista uma interação proteína-gordura, a interação proteína-amido parece ser mais forte que a primeira. Contudo, o concentrado extraído da farinha desengordurada possui excelente composição nutricional, como alto teor protéico e bom perfil aminoacídico, além de alta solubilidade protéica e ausência do atributo negativo na cor. Posteriores pesquisas poderão apontar aplicações para o concentrado poderiam ser apontadas para a formulação de alimentos para uso geral e/ou para fins especiais.

Palavras chaves: amaranto, concentrado protéico, perfil de solubilidade, perfil eletroforético

ABSTRACT

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF GRAIN AMARANTH (*Amaranthus cruentus*) FLOURS AND PROTEIN CONCENTRATES

Grain amaranth is a minute dicotyledonous seed from a plant that belongs to the Amaranthaceae family and is considered a 'pseudo-cereal' because it bears morphological and nutritional characteristics shared by both cereal and leguminous seeds. The grain it is said to have been first described in the high Andes, although it is known in Mexico and the United States. Following an agronomic adaptation program, Embrapa-Cerrados has been responsible for the introduction of this crop in Brazil. The objectives of this work were to study some compositional and physicochemical characteristics of the proteins of Brazilian amaranth (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) and their possible alteration due to the protein isolation. Three flours were obtained and denominated as basic flour (FB), defatted basic flour (FD) and FB from which the starch was removed with α -amylase (FH). The corresponding protein concentrates (CPFB, CPFH) were also obtained by dissolution of the protein in aqueous pH8 and precipitation at pH4.25. Both flours and concentrates had their solubility profiles determined in both water and 0.1M NaCl solution and were characterized in terms of proximal, amino acid and fatty acid composition. The color parameters were also determined. Among the concentrates, the CPFH exhibited the highest protein content (~80%) and protein yield (~47%). Nevertheless, the highest amounts of soluble protein were observed from FB and CPFB, regardless of the solvent. With regard to the fatty acids, both flours and concentrates had similar compositions, showing the predominance of oleic and linoleic acids (~60%), independent of fat removal. In terms of amino acids, all of the products showed to contain high levels of both methionine and cysteine, while leucine was the first limiting in all, except for FH, which was limiting in lysine. The protein electrophoretic profiles of FB and FH revealed a greater number of identifiable bands. From these results it can be concluded that regardless of whether the basic flour is defatted or

starch-hydrolyzed, the protein content of the isolate cannot reach 90% by simple isoelectric precipitation. This suggests that although the protein of grain amaranth can be interacting with both lipids and carbohydrates, the interaction with the latter seems to be a stronger one. The concentrate obtained from the defatted flour apparently carries a good protein and amino acid content, high solubility and no negative color attributes. Further studies will determine if applications of this product are feasible in foods for special purposes.

Keywords: amaranth, protein concentrate, solubility profile, electrophoretic profile.

1 – INTRODUÇÃO

O amaranto (*Amaranthus*) é um gênero botânico inserido na classe das Dicotiledôneas e na família das Amaranthaceae. Esta planta, apesar de ter características de cereal, não pode ser classificada como tal, por possuir aspectos botânicos (presença da inflorescência tipo panícula) e características nutricionais (alto teor de proteína, aminoácidos sulfurados e lisina) sendo considerado como "*pseudo-cereal*". As partes comestíveis do amaranto envolvem as folhas e os grãos, sendo este último o mais explorado economicamente e cientificamente (Irving et al., 1981; Saunders & Becker, 1984; Singhal & Kulkarni, 1988).

Em meados da década de 70, a NAS (*National Academy of Sciences*), considerou-o como uma das 23 plantas tropicais promissoras e recomendadas para estudos com o objetivo de melhorar a nutrição e a qualidade de vida da população em seus países de origem, estando a maioria destes "em desenvolvimento". Devido a este fato, muitos países que ainda não eram produtores, iniciaram seu cultivo. O Brasil seguiu este exemplo e a EMBRAPA (Unidade Cerrados - Planaltina/DF) tem plantado em regime experimental na região centro-oeste do país, espécies de regiões andinas no sentido de adaptar espécies.

Existe considerável volume de pesquisas a respeito da composição centesimal, valor nutricional, fatores anti-nutricionais, desenvolvimento de produtos, características e estrutura das proteínas. No entanto, sabe-se pouco sobre a funcionalidade tecnológica de suas proteínas, e para tanto, faz-se necessário sua extração com certo grau de pureza.

A concentração protéica do amaranto é necessária, uma vez que tal processo poderá elucidar as dúvidas relacionadas ao comportamento desta proteína dentro de sistema utilitário, isto é, tal proteína inserida em algum alimento, para uso geral da população ou para fins especiais (atletas, idosos, pacientes celíacos, fenilcetonúricos e/ou autistas), visto sua excelente qualidade nutricional decorrente do perfil protéico e aminoacídico.

Desta maneira, o presente estudo teve como objetivo geral o melhoramento na extração da proteína do grão de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica), produzindo e caracterizando concentrados protéicos e os objetivos específicos foram:

a) obter farinhas de amaranto especiais, com teores reduzidos de lípidos e de amilose;

b) caracterizar as farinhas obtidas de acordo com a composição aproximada, cor e perfis de ácidos graxos, aminoacídico e eletroforético;

c) determinar o pH de menor solubilidade protéica das farinhas de amaranto;

d) produzir concentrados protéicos a partir da farinha-base e com teores reduzidos de gordura e amilose;

e) caracterizar os concentrados protéicos quanto a composição aproximada, cor e perfis de ácidos graxos, aminoacídico, eletroforético e de solubilidade protéica.

2 – REFERENCIAL TEÓRICO

2. 1 – Aspectos históricos do amaranto

Poucas plantas têm origem histórica e cultural tão interessante e curiosa quanto a do “*pseudo-cereal*” amaranto (*Amaranthus* spp). Registros arqueológicos e antropológicos evidenciam sua presença na América (México e Peru) entre 8.000 e 4.000 anos a.C., fazendo deste alimento, oriundo de colheita, o mais antigo de que se tem registro. Na Europa, este grão surgiu mais tarde, por volta do século XVI, quando ocorreu a conquista e colonização da América (Saunders & Becker, 1984; Teutonico & Knorr, 1985; Singhal & Kulkarni, 1988; Lehmann, 1996).

O amaranto alcançou o seu apogeu de importância na época das civilizações Astecas e Maias, quando era oferecido às divindades, misturado ao sangue humano. Quando os espanhóis conquistaram a América, no final do século XV, iniciou-se a proibição destas práticas religiosas e as plantações de amaranto foram queimadas, restando poucos exemplares distribuídos por todo o continente americano (Saunders & Becker, 1984; Teutonico & Knorr, 1985; Yanez et al., 1994). Portanto, pode-se dizer que o amaranto é um dos poucos alimentos extintos pelas leis humanas e não pelas condições ambientais.

Somente em 1975, o amaranto ressurgiu mundialmente, devido ao fato da NAS (*National Academy of Sciences*) considerá-lo como uma das 23 plantas tropicais promissoras e recomendadas para estudos, por possuir valores econômicos bastante apreciáveis e aspectos nutricionais *sui generis*, capazes de melhorar a nutrição e a qualidade de vida da população em seus países de origem (Saunders & Becker, 1984; Teutonico & Knorr, 1985; Singhal & Kulkarni, 1988). Por conta deste fato, ocorreu deste então, o aumento significativo em pesquisas agrícolas e alimentares.

As espécies mais cultivadas e que foram recomendadas para estudos são *Amaranthus cruentus* e *Amaranthus hypochondriacus*, oriundos do México e Guatemala e o *Amaranthus caudatus*, nativo do Peru e países andinos. Porém, atualmente têm áreas de cultivo distribuídas pelos Estados Unidos,

Ásia, África, Américas do Sul e Central (Saunders & Becker, 1984; Breene, 1991).

Em decorrência do fato da NAS recomendá-lo para estudo, muitos pesquisadores em todas as partes do mundo têm estudado melhorias na qualidade nutricional do grão para a alimentação humana, bem como rendimento agrícola e adaptações climáticas em países que ainda não são produtores. No Brasil, existem áreas plantadas na região do Estado de Goiás, pela EMBRAPA (Unidade Cerrados – Planaltina – DF), produzindo em regime experimental *Amaranthus cruentus* e *Amaranthus hypochondriacus*, entre outras variedades.

2. 2 – Aspectos botânicos do grão de amaranto

O amaranto é um gênero botânico (*Amaranthus*), que está inserido na classe das Dicotiledôneas, na família das Amaranthaceae e possuem mais de 60 espécies (Saunders & Becker, 1984; Singhal & Kulkarni, 1988).

Por fazer parte da classe das Dicotiledôneas, não é considerado um cereal (classe Monodicotiledôneas, família Gramínea), mas como um “pseudo-cereal”. Além disto outros aspectos botânicos, como presença da inflorescência tipo panícula e as características nutricionais, como o alto teor de proteína e a presença dos aminoácidos sulfurados e da lisina, fazem com que o amaranto seja assim classificado (Saunders & Becker, 1984; Teutonico & Knorr, 1985; Singhal & Kulkari, 1988).

O amaranto realiza fotossíntese pela via C-4, da mesma forma que o sorgo, milho e cana de açúcar, caracterizando seu crescimento rápido e sua elevada capacidade de produção podendo atingir cerca de três toneladas de grãos por hectare (regiões potencialmente produtoras), quantidade bastante similar ao rendimento de outros cereais (Uzo & Okarie, 1983; Saunders & Becker, 1984; Teutonico & Knorr, 1985; Singhal & Kulkari, 1988).

As plantas do gênero *Amaranthus* em geral se caracterizam por serem robustas, ramificadas e apresentarem uma inflorescência tipo panícula em seu cume (Saunders & Becker, 1984; Teutonico & Knorr, 1985).

O cultivo do amaranto ocorre em solos áridos, com temperatura elevada (35°C), com luminosidade intensa e elevadas altitudes, características ambientais onde alguns cereais não conseguem ser cultivados, como por exemplo, o arroz e a aveia (Saunders & Becker, 1984).

Suas folhas são elípticas e pode haver variação de cor entre o verde escuro e a cor magenta. É bastante utilizada diretamente como alimento, em forma de saladas, ou através da extração de um pigmento utilizado para colorir bebidas e alimentos em geral (Saunders & Becker, 1984).

Os grãos são de cores claras e com aspectos morfológicos semelhantes aos cereais, porém com diferença no tamanho, significativamente reduzido (cerca de 1 mm de diâmetro) assim como pelo baixo peso (0,6 – 1,2 mg). Cada planta produz em torno de 20 gramas de grãos. Devido ao seu baixo peso, boa parte da produção de amaranto é perdida através do vento ou da água da chuva (Irving et al., 1981; Saunders & Becker, 1984; Singhal & Kulkarni, 1988).

2.3 – Aspectos morfológicos do grão de amaranto

Através de análises de microscopia eletrônica de transmissão (**Figura 1**), Koniski et al. (1995) observaram que as células dos cotilédones dos grãos de amaranto (*Amaranthus cruentus*) possuem tamanhos variados e forma retangular e as células da radícula têm tamanho maiores e forma poligonais. Estes pesquisadores também demonstraram que ambas as células apresentam inúmeros glóbulos de lípidos e amilosplastos em torno dos corpos protéicos. O mesmo grupo de pesquisadores demonstrou que o conteúdo dos corpos protéico era formado por albuminas e globulinas (Koniski et al., 1991).

O fato do conteúdo de reserva de amido e de lípidos circundarem os conteúdos protéicos parece ser fator importante na extração protéica, assim, na hipótese da retirada destes componentes, pode-se ocasionar o aumento do conteúdo protéico nos concentrados protéicos desta plantas.

Outra característica no citoplasma das células do amaranto é a presença de retículo endoplasmático (responsável pela síntese protéica), comum apenas em plantas como as leguminosas. Tal aspecto demonstra que as proteínas de

reserva (globulinas e albuminas) do amaranto podem ser sintetizadas pelo retículo endoplasmático, transportadas via Complexo de Golgi e transformadas em corpos protéicos para servir como armazenamento (Koniski et al.,1995; Forato et al., 2000).

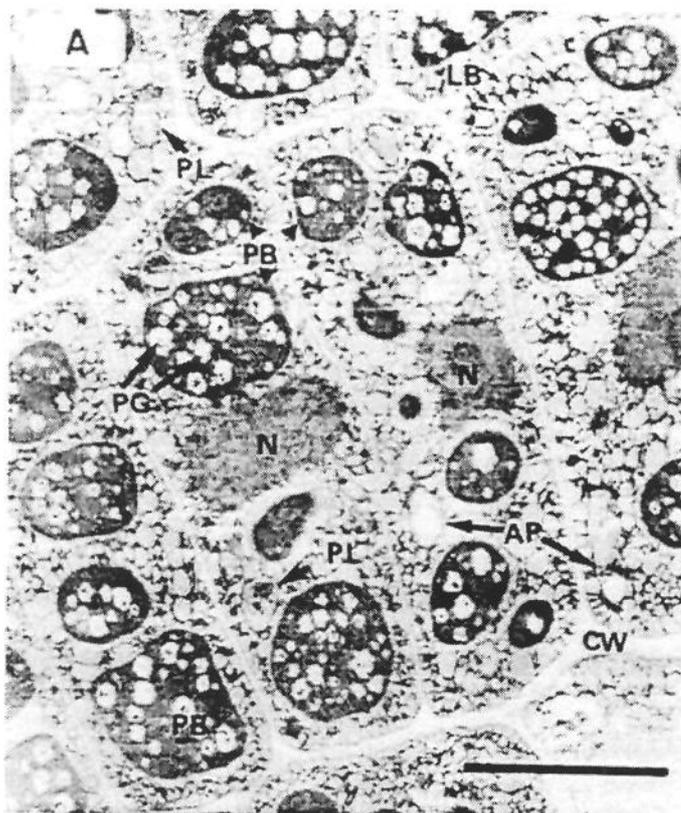


Figura 1 – Microscopia eletrônica de transmissão (MET) de um cotilédono da semente de *Amaranthus cruentus* (PB corpo protéico; LB corpo lipídico; AM amiloplastos; CW parede celular; N núcleo; PL plastidio; PG glóbulo de fitina) Fonte: Koniski et al., 1995.

2.4 – Composição centesimal do grão de amaranto

Estima-se que as plantas estão presentes direta ou indiretamente em 95% da alimentação mundial e os cereais fornecem cerca de 25% dos requerimentos de proteína e energia, bem como fibras, para os humanos, sendo a principal fonte calórica nos países em desenvolvimento. Porém,

atualmente, outros grãos, como as leguminosas têm ganhado notoriedade. O aumento no consumo de grãos “não-cereais” não se deve apenas ao fato deste possuir de duas a quatro vezes mais proteínas, mas por ter alto valor nutricional (Matuz et al., 2000_a).

Desta maneira, o grão de amaranto parece ser uma boa alternativa alimentar para crianças e idosos, considerando o excelente conteúdo protéico e perfil aminoacídico, além do alto conteúdo amiláceo (Teutonico & Knorr, 1985; Sanches-Marroquin et al., 1986; Imeri et al., 1987_a; Breene, 1991; Del Valle et al., 1992; Leon et al., 1997).

A **Tabela 1** apresenta a composição média das três espécies mais cultivadas e estudadas.

Tabela 1 – Composição média das três espécies de amaranto

ESPÉCIES	PROTEÍNA (%)	LÍPIDES (%)	FIBRA (%)	CINZAS (%)
<i>A. cruentus</i>	17,8	7,9	4,4	3,3
<i>A. hypochondriacus</i>	15,6	6,1	3,3	3,3
<i>A. caudatus</i>	14,9	6,9	4,2	3,2

Fonte: Saunders e Becker, 1984

Além das qualidades destacadas acerca dos aspectos nutricionais, o amaranto também possui, do ponto de vista econômico, a vantagem de ser um alimento de custo reduzido nas regiões produtoras potenciais (México, Peru, Guatemala, Bolívia e Índia), quando comparada ao milho (Sanchez-Marroquin, & Maya, 1985; Saunders & Becker, 1984).

2.4.1 – Conteúdo protéico do amaranto

Um dos aspectos nutricionais mais relevantes do grão de amaranto, em relação à composição centesimal, é o seu conteúdo protéico. Na **Tabela 2**, são apresentadas as variações do conteúdo protéico do grão das três espécies de amaranto mais produzidas e estudadas.

Estas pequenas variações para o teor de proteína entre espécies ocorrem devido a vários fatores, como os diferentes cultivares, condições ambientais, região geográfica, estação do ano, tratamento com fertilizantes, e principalmente, o fator de conversão de nitrogênio empregado (Saunders e Becker, 1984).

Tabela 2 - Variação do teor protéico do grão de amaranto contido nas três espécies mais cultivadas e estudadas.

ESPÉCIE	VARIAÇÃO DO TEOR PROTÉICO
<i>Amaranthus cruentus</i>	13,2 – 18,2 %
<i>Amaranthus hypochondriacus</i>	17,6 – 18,4 %
<i>Amaranthus caudatus</i>	17,9%

Fonte: Gorinstein *et al.*, 1998.

Os valores a serem usados para a conversão do nitrogênio variam de 5,7 (Marcone & Kakuda, 1999), 5,85 (Irving *et al.*, 1981; Becker *et al.*, 1981; Paredes-López *et al.*, 1988; Barba de la Rosa & Paredes-López, 1989; Soriano-Santos *et al.*, 1992; Yáñez *et al.*, 1994; Guzmán-Maldonado & Paredes-López, 1994; Soriano-Santos & Cordoba-Salgado, 1995) e 6,25 (Correa *et al.*, 1986_a; Bressani & Garcia-Vela, 1990; Gupta & Sehgal, 1991; Koniski *et al.*, 1991; Gupta & Sehgal, 1992; Luquez *et al.*, 1996; Luquez *et al.*, 1997; Bejosano & Corke, 1998; Fidantsi e Doxastakis, 2001).

Quando se compara o conteúdo protéico do grão de amaranto aos outros cereais (**Tabela 3**), observa-se ampla vantagem em relação ao trigo, milho, arroz, sorgo, cevada e centeio, embora seja comparável muitas vezes com a aveia, o cereal de maior conteúdo protéico (Saunders & Becker, 1984).

Tabela 3 – Conteúdo protéico médio dos grãos de cereais e de amaranto.

<i>Grãos</i>	<i>Amaranto</i>	<i>Arroz</i>	<i>Milho</i>	<i>Sorgo</i>	<i>Cevada</i>	<i>Centeio</i>	<i>Trigo</i>	<i>Aveia</i>
<i>Proteína (%)</i>	14,5	7,5	8,9	11,0	11,6	12,1	12,3	16,2

Fonte: Saunders & Becker, 1984.

a) Conteúdo de aminoácidos

A composição da proteína ou perfil de aminoácidos também é variável entre as diversas espécies de amaranto, assim como entre os diversos autores consultados. Apesar disso, o alto teor de lisina e aminoácidos sulfurados, assim como os baixos conteúdos de treonina, leucina, valina e isoleucina, predominam em todas as espécies, quando comparados ao padrão da Organização Mundial de Saúde (FAO, 1985), como se observa na **Tabela 4**.

Tabela 4 - Conteúdo de aminoácidos essenciais (mg/100 mg de proteína) em farinhas de diferentes espécies de amaranto¹, em comparação com o perfil padrão².

AMINOÁCIDOS	<i>A. caudatus</i>	<i>A. hypochondriacus</i>	<i>A. cruentus</i>	FAO/85
Leu	5,3	5,7	5,1	6,6
Lys	5,3	5,5	5,1	5,8
Thr	3,5	3,6	3,4	3,4
Phe + Tyr	6,2	7,3	7,7	6,3
Val	4,1	4,5	4,2	3,5
His	2,5	2,5	2,4	1,9
Ile	3,6	3,9	3,6	2,8
Met + Cys	4,7	4,7	4,4	2,5
Trp	--	--	--	1,1

¹Fonte : Saunders & Becker, 1984 ²FAO, 1985

Esta comparação entre o perfil de aminoácidos essenciais de uma proteína teste e de uma proteína referência (FAO, 1995) é usada para determinar o Escore Químico (*Chemical Score*). Tal comparação identifica a presença do(s) aminoácido(s) deficiente(s), denominado(s) aminoácido(s) limitante(s).

Em alimentos vegetais, a presença de aminoácidos limitantes é mais comum do que em alimentos de origem animal. A maioria dos cereais possui como aminoácido limitante a lisina ou a treonina, enquanto que as

leguminosas possuem como limitantes os aminoácidos sulfurados. Por isto, combinações de cereais e leguminosas são de interesse considerável em termos nutricionais (Sgarbieri, 1996).

Para muitos autores, o aminoácido limitante do grão de amaranto é a leucina (Irving et al., 1981; Betschart et al., 1981; Saunders & Becker, 1984; Teutonico & Knorr, 1985; Correa et al., 1986_a; Bejosano & Corke, 1998). Entretanto, estudo desenvolvido por Bressani et al. (1989), mostrou evidências da treonina ser o aminoácido limitante.

Delaye & Portillo (1990) desenvolveram farinhas contendo milho e amaranto em diversas proporções com o objetivo de obter um produto com boa qualidade nutricional, uma vez que a lisina é o aminoácido limitante do milho e o amaranto poderia suprir tal deficiência. Os pesquisadores demonstraram que a proporção de 30:70 (milho/amaranto) apresenta bons resultados nutricionais.

Outro parâmetro para avaliar a qualidade nutricional da proteína é o PDCAAS (*Protein Digestibility-Corrected Amino Acid Score*), índice baseado no perfil aminoacídico e na análise da digestibilidade da proteína. Bejosano & Corke (1998) avaliaram a farinha integral de amaranto e relataram PDCAAS de 0,64, valor maior que os PDCAAS do trigo (0,40), aveia (0,57), ervilha (0,52) entre outros vegetais.

Os mesmos autores (Bejosano & Corke, 1998) apresentaram o perfil de aminoácidos de concentrados protéicos de amarantos e demonstraram que o aminoácido limitante era a lisina com Escore de 0,88 e com PDCAAS de 0,71.

b) Frações protéicas

As proteínas encontradas nas sementes, em geral, podem ser classificadas de acordo com a função exercida. Desta maneira existem três tipos de proteínas, sendo aquelas com funções estruturais, outras com elevada atividade metabólica e as de estocagem. Esta última encontrada em abundância e responsável pelas propriedades nutricionais e tecnológicas das sementes (Marccone et al., 1998_a).

As proteínas de estocagem são agrupadas de acordo com a sua solubilidade em solventes e subdivididas em frações protéicas. Assim as proteínas podem ser albuminas (solúveis em água), globulinas (solúveis em solução salina fraca), prolaminas (solúveis em solução alcoólica forte) e glutelinas (solúveis em solução alcalina ou ácida fraca). As proporções dessas frações de proteínas diferem muito entre os cereais e são estas diferenças que conferem as propriedades físicas, químicas, funcionais e nutricionais das proteínas para cada cereal (Sgarbieri, 1996).

A fração protéica encontrada em maior quantidade entre as plantas pertencentes à classe das monocotiledôneas (trigo, centeio, sorgo, cevada e milho), são as prolaminas seguidas pelas gluteninas e somente na aveia e no arroz a glutenina apresenta em maior quantidade, seguida da globulina. Já nas dicotiledôneas a principal fração é a globulina, perfazendo 90% na soja, 73% no amendoim, 60 a 80% na ervilha e 60% no amaranto (Marcone et al., 1998_b, Marcone et al., 1998_c).

Existem controvérsias a respeito das frações protéicas do amaranto. Pesquisadores como Bressani et al. (1990), Segura-Nieto et al. (1992) e Gorinstein et al. (1998) mostram quantidades bastante discordantes. Na **Tabela 5** estão os teores e as frações protéicas do amaranto, segundo tais autores.

Tabela 5 - Variações das frações protéicas do grão de amaranto de acordo com a literatura

<i>Fração protéica</i>	<i>Bressani¹</i>	<i>Segura-Nieto²</i>	<i>Gorinstein³</i>
Albumina	20,7	51,0	61,3*
Globulina	19,2	15,9	
Glutelina	44,4	31,1	24,1
Prolamina	2,2	2,0	1,4

¹Bressani et al., 1990; ²Segura-Nieto et al., 1992; ³Gorinstein et al., 1998

*Autores relatam os teores de albumina e globulina conjuntamente.

A comparação entre os valores das frações protéicas demonstra resultados diferentes entre si, provavelmente devido ao uso de metodologias não uniformes. Porém, há concordância entre os autores quanto os altos teores de albuminas e globulinas e baixo conteúdo de prolaminas.

Pouco se conhece a respeito da albumina do amaranto. Em estudo pioneiro realizado por Koniski et al. (1991) foi demonstrado que existem duas frações albuminóide: albumina-1 (extraída com solução de NaCl à 0,5M) e a albumina-2 (extraída com água após exaustiva extração da albumina-1). Mais tarde, Marcone et al. (1994) apresentaram características desta fração, como peso molecular (PM) 133.400Da, presença de sub-unidades unidas por ligações de hidrogênio e hidrofóbicas com elevado nível de β -sheet.

Por outro lado as globulinas do amaranto são bastante conhecidas. A primeira a ser estudada foi a 11S denominada como amarantin (*amaranthin*) encontrada em abundância, cerca de 90% do teor total de globulina possuindo PM de 389.000Da e bandas eletroforéticas entre 14.800 e 37.400Da (Romero-Zepeda & Paredes-Lopez, 1996; Chen & Paredes-Lopez, 1997).

Por outro lado, a existência da globulina 7S do amaranto foi confirmada recentemente por Marcone (1999_a), sendo denominada como conamarantin (*conamaranthin*), presente em menor quantidade (~10%), apresentando menor PM (186.000Da) e com intervalo maior nos PM das bandas (15.200 a 90.000Da).

Quanto ao perfil aminoacídico dos aminoácidos das frações 7 e 11S, percebe-se alta quantidade de ácido glutâmico, glutamina, ácido aspártico, asparagina e arginina em ambas frações, indicando função de estocagem (usado no período de germinação como fonte nitrogenada), porém a fração 11S tem valor nutricional superior devido a presença elevada de vários aminoácidos essenciais (triptofano, metionina, lisina, histidina fenilalanina, valina e isoleucina) (Marcone, 1999_b)

Em relação à análise da estrutura secundária das globulinas de amaranto, verifica-se alto nível de β -sheet, baixo de α -hélice e quantidades semelhantes de β -turn e coil-random na fração 11S quando comparada com a

7S (Marcone & Yada, 1991; Marcone, 1999_b). Sabe-se que as estruturas peptídicas na forma de α -hélice e β -sheet têm a tendência de estarem localizadas no interior da cadeia polipeptídica promovendo a estabilidade da mesma, de acordo com os autores Hopp & Woods (citado por Marcone, 1999^a).

A presença da estrutura β -sheet confere mais estável térmica que α -hélice, possuindo assim altas temperaturas de desnaturação (Damodaran, 1996). Fato confirmado através da análise térmica (calorimetria diferencial de varredura), onde se atribuiu temperaturas de transição endotérmica (T_D) para a fração 7S de 80,2°C e para 11S de 94,3°C, sendo esta última rica em β -sheet e portanto mais estável termicamente (Marcone, 1999_c).

Ao comparar-se a amarantin (11S do amaranto) com a glicina (11S da soja - *Glycine max*), percebe-se a semelhança na elevada quantidade de β -sheet, sugerindo que a proteína do amaranto poderia ser incluída em sistemas alimentícios da mesma forma com que a proteína da soja vem sendo utilizada atualmente (Marcone, 1999_d).

A pesquisa envolvendo caracterização e quantificação das frações protéicas nas sementes possui vários objetivos, dentre eles a correlação com o conteúdo de glúten (prolamina, sub-fração gliadina) e as propriedades funcionais tecnológicas (albuminas e globulinas).

Se por um lado à presença de glúten traz importância tecnológica para o grão, a ausência do mesmo é aspecto muito relevante para pessoas que são intolerante, como os pacientes celíacos, que tem a reversão do quadro de atrofia das vilosidades intestinais com tratamento dietoterápico baseado na retirada de glúten da dieta (Collares & Woiski, 1994).

Estudo realizado por Matuz et al. (2000_b), com grão de *Amaranthus molerosa*, demonstraram que tanto as técnicas de eletroforese, como de imunoensaios com anticorpos, não detectaram a presença de gliadinas nesta espécie. Marcílio (2001) trabalhou com *Amaranthus cruentus* e também verificou a ausência de gliadina nas farinhas e biscoitos fabricados com a mesma.

De acordo com o exposto acima e, apesar das controvérsias (quantidade de fração de prolamina, toxicidade da sub-unidade gliadina), o amaranto pode servir de alternativa alimentar de alto valor nutritivo para os celíacos (Yáñez et al., 1994; Tosi et al., 1996; Matuz et al., 2000_b; Marcílio, 2001).

2.4.2 – Conteúdo amiláceo do amaranto

O principal componente do amaranto é o amido, perfazendo 48 a 69% do peso total do grão. Seus grânulos são relativamente pequenos (0,75 a 1,5 µm de diâmetro), com formato poligonal e propriedades funcionais que envolvem a aplicação em alimentos (substitutos de gordura) ou produtos não-alimentares (papel, sabão ou plástico). Este biopolímero pode ser considerado um excelente ingrediente para modificar a textura e a consistência de alimentos (Jane et al., 1992; Hoover et al., 1998).

Recentemente, novas fontes de amido têm atraído atenção de muitos pesquisadores de todas as partes do mundo e o amido do amaranto tem recebido enorme atenção devido a características *sui generis* como seu tamanho e formato.

O isolamento do amido de amaranto é dificultado devido o alto conteúdo de proteína intrínseco e para isto, os principais métodos, aplicam soluções alcalinas para remover inicialmente as proteínas. No entanto tal tratamento acarreta prejuízo no conteúdo de amido, alterando sua funcionalidade, além de ser um processo bastante caro (Perez et al., 1993).

Em decorrência deste fato, existe a necessidade de desenvolver novos métodos para utilização em escala industrial, a fim de obter-se um amido puro. Radosavljevec et al (1998), utilizando três enzimas (protease, amilase e glicoamilase) além do processo de alcalinização, conseguiram obter amido puro de amaranto (baixo conteúdo de proteína), quando comparado ao amido tratado somente com solução alcalina.

Na maioria dos processos de isolamento de amido de amaranto, inicialmente o grão é tratado com o objetivo de retirar a fração protéica. Assim o isolamento do amido poderia ser de suma importância no processo de

concentração da proteína. No entanto o tratamento alcalino deve ser brando, uma vez que tais soluções podem prejudicar e provocar alterações irreversíveis na estrutura das proteínas (Friedmann, 1984).

Os primeiros autores a trabalhar com a hidrólise enzimática na produção de uma farinha de amaranto com teor reduzido de amido e alto teor de proteína foram Barba de la Rosa & Paredes-López, em 1989. Foi empregada a α -amilase na fase inicial da extração, nas temperaturas de 70 e 90°C, obtendo farinhas com teores de proteína de 29,6 e 39,3%, mas com rendimentos de 40 e 32%, respectivamente.

Mais tarde Paredes-López et al. (1990) modificaram o processo enzimático (glicoamilase) com o mesmo intuito e obtiveram uma farinha com menor conteúdo protéico (~27%) e rendimento equivalente (39%) quando comparado ao trabalho anterior. Em 1994, outra metodologia foi proposta por Guzmán-Maldonado & Paredes-López, utilizando menor temperatura de hidrólise (70°C) e a quantidade de enzima e assim obtiveram maior rendimento (em torno de 48%), porém o conteúdo protéico ainda foi bastante similar ao dos outros estudos (cerca de 31%).

Neste estudo argumenta-se que as modificações utilizadas para obter a farinha com alto teor de proteína poderão ser conduzidas em escala industrial, com o intuito de maximizar o rendimento de produção, minimizando a quantidade de enzimas (menor custo dos insumos), além de usar temperaturas mais brandas, fatores que influenciariam tanto no custo do produto, com na conservação da cor e solubilidade da proteína.

2.4.3 – Conteúdo lipídico do amaranto

Os lípides perfazem 6 a 8% do peso total do grão de amaranto, sendo que 90% são apolares (triglicérides e esteróis) e 76% dos ácidos graxos são insaturados (ácido oléico e ácido linoléico) (Saunders & Becker, 1984).

De acordo com a análise de microscopia eletrônica de transmissão (**Figura 1**), os glóbulos de lípidos estão localizados amplamente no perisperma em torno dos corpos protéicos (Koniski et al., 1995) em elevada quantidade.

Considerando que o processo de moagem dos grãos se constitui do rompimento do germe, ocorre a exposição do conteúdo lipídico do interior dos glóbulos de gordura, com os demais componentes (amido e proteína), além do oxigênio, pode poderão ocasionar oxidação e formação de peróxidos de hidrogênio altamente tóxicos.

2.5 – Concentrados protéicos do grão de amaranto

Existe considerável volume de literatura a respeito do valor biológico clássico das proteínas do grão de amaranto (Del Valle et al., 1992; Del Valle et al., 1993; Bressani et al., 1993), da utilização alimentar (Gupta & Sehgal, 1991; Gupta & Sehgal, 1992; Tossi et al., 1994; Akingbala et al., 1994; Yanez et al., 1994; Tossi et al., 1996; Rayas-Duarte et al., 1996; Leon et al., 1997; Hozová et al., 1997; Escobar et al., 1998; Marcílio, 2001), dos fatores antinutricionais (Lorenz & Wright, 1984; Correa et al., 1986_b) e do efeito do processamento na qualidade nutricional (Imeri et al., 1987_b; Mendoza & Bressani, 1987; Bressani et al., 1987; Tovar et al., 1989).

Pouco se sabe sobre as propriedades funcionais das proteínas do amaranto. Para que se possa analisa-las é necessário o isolamento das proteínas, possibilitando a realização de provas funcionais e a verificação de sua funcionalidade tecnológica (Paredes-López et al., 1988; Sgarbieri, 1996).

O isolamento das proteínas do amaranto tem grande importância para a tecnologia de alimentos, visto que este pseudo-cereal possui excelente qualidade nutricional e seu potencial como alimento não se encontra totalmente desenvolvido. Existem várias citações na literatura a respeito das farinhas "hiperprotéicas" de amaranto (FHPA) e poucas sobre os concentrados protéicos de amaranto (CPA).

Em vista das características protéicas do amaranto, os pesquisadores buscam produzir uma farinha "hiperprotéica" de amaranto que possa ser utilizada como alimento e/ou ingrediente. A produção desta farinha visa o possível desenvolvimento de alimentos de maior qualidade nutricional para a população carente dos países em desenvolvimento, levando em conta o fato de

que a maior produção do grão está concentrada nesses países (Paredes-López et al., 1988).

Outro objetivo preconizado pela comunidade científica ao produzir a FHPA seria a sua utilização como passo inicial para a obtenção de concentrados de proteínas do grão de amaranto, visto que existem certas dificuldades para obtê-los (Soriano-Santos & Córdoba-Salgado, 1995). Existem dois métodos para elevar o conteúdo de proteína na farinha de amaranto: um através da classificação pneumática (*air classification*) e outro através da hidrólise do amido.

Sanchez-Marroquin et al. (1986), através da classificação pneumática, conseguiram obter duas frações de farinha, denominadas 1-R (fração protéica) e 2-R (fração amilácea). A fração 1-R com 29% de proteína foi considerada farinha "hiperprotéica" e utilizada posteriormente em vários experimentos, envolvendo valor biológico, aplicação em alimentos infantis e em concentrados protéicos (Del Valle et al., 1992; Del Valle et al., 1993 Soriano-Santos & Cordoba-Salgado, 1995).

Através do processo enzimático, Guzmán-Maldonado & Paredes-López (1994) demonstraram que o uso de α -amilase à temperatura de 70°C propicia a obtenção de uma farinha com conteúdo protéico de aproximadamente 31% e rendimento de 48%, o melhor resultado já obtido com o uso de enzimas.

Em relação ao teor de proteína dos concentrados de amaranto, são encontrados alguns trabalhos na literatura. As metodologias empregadas para a obtenção dos concentrados são semelhantes, porém com algumas variantes interessantes. Os teores de proteína recuperados alcançam o limite superior de 90% (Martínez & Añon, 1996), mas acima deste valor, até o momento atual, não se encontram relatos.

Os menores teores protéicos foram encontrados por pesquisadores argentinos, que solubilizaram a farinha de amaranto (*Amaranthus mantegazzianus*) em meio alcalino (pH 11) e precipitaram em pH 5 e obtiveram concentrados com 57,5% de proteína (Luquez et al., 1997) e com outra espécie (*Amaranthus cruentus*) obtiveram 52,6% de proteína (Luquez et al., 1996), ambos em base seca.

Porém pesquisadores gregos, utilizando pH de solubilidade de 10 e afirmando que o pI seria 4,6, encontraram concentrado com 32% de proteína antes do processo de diálise com membrana com cut off de 12.000 a 14000Da e 67% de proteína após a diálise, sendo o único trabalho que descreveu a utilização do processo de desengorduramento e diálise (Fidantsi & Doxastakis, 2001).

Empregando a metodologia clássica (extração pH alcalino e precipitação ácida), pesquisadores mexicanos encontraram os melhores resultados no pH 11 e precipitadas entre o pH 4,5 e 5,5, resultando em concentrados com teores entre 71 e 74% (Paredes-López et al., 1988). Porém os maiores teores protéicos, 80 a 90%, foram encontrados por Martínez & Añon (1996), utilizando pHs de solubilização entre 8 e 11 e de precipitação entre 3 e 7.

Deve-se esclarecer, que o uso de meios alcalinos com pHs superiores a 9,5 são contraproducentes, devido à irreversibilidade da deterioração e da perda do valor nutritivo da molécula de proteína (Friedman et al., 1984).

Analisando todos os estudos desenvolvidos, pode-se observar que foram utilizados vários pHs deteriorantes (acima de 9,5) e inúmeros pHs de precipitação (intervalo de 3 a 5), onde somente um estudo afirmava o que o ponto isoelétrico seria 4,6 (Fidantsi & Doxastakis, 2001).

Utilizando amostras de farinha "hiperprotéica" obtidas por classificação pneumática, Soriano-Santos & Córdoba-Salgado (1995), avaliaram diferentes métodos de solubilização da proteína de amaranto com a finalidade de obter os concentrados. As metodologias empregadas para a solubilização foram: a) solução aquosa, b) solução salina com diferentes forças iônicas, c) solução alcalina em diferentes pHs e d) succinilação em graus variados. O método de precipitação foi o mesmo para todas as amostras (ácido tricloro acético 10%). Os autores verificaram que o maior rendimento de concentrado foi obtido com succinilação a 50% (36,2%), enquanto que o menor foi com solução aquosa (4,5%), porém com maior teor protéico (~58%).

Diferindo das propostas anteriores e realizando primeiramente a eliminação do amido através do procedimento proposto de Perez et al. (1993), Bejosano & Corke (1998) obtiveram concentrados com teores de proteína

entre 67,4 e 75,3%. Este método é interessante, devido à etapa inicial de isolamento do amido. Outro aspecto relevante foi o alto conteúdo de proteína do produto, um dos maiores encontrados na literatura até o presente momento.

É justamente o baixo conteúdo de proteína dos concentrados protéicos obtidos até o momento, que estimula a realização de novos estudos sobre os processos de obtenção dos concentrados protéicos de amaranto.

2.6 – Propriedades funcionais da proteína do amaranto

A qualidade dos alimentos é determinada por três características básicas: composição química, propriedades nutricionais e propriedades funcionais. Esta última foi definida como as características físico-químicas de um alimento ou ingrediente, que afetam sua utilização e aceitação, excluindo as características nutricionais (Kinsella & Soucie, 1989).

As propriedades funcionais das proteínas são dependentes e interligadas a uma série de propriedades físico-químicas que a molécula apresenta. Dentre elas, estão a interação com a água (propriedade de hidratação ou hidrofílica), a interação entre as moléculas (propriedade intermolecular) e a interação entre as fases (propriedade interfacial). O comportamento destas propriedades resulta em propriedades funcionais como a solubilidade, a retenção de água, a gelatinização, a formação de espuma e emulsões, adsorção de gordura, *flavours* ou pigmentos, entre outras (Sgarbieri, 1998).

A característica que as moléculas de proteínas possuem de interagir com a água é a mais importante propriedade físico-química. Sua ausência pode implicar no comportamento de todas as demais propriedades funcionais (Sgarbieri, 1996). Esta propriedade manifesta a solubilidade da proteína em solventes polares e depende da seqüência dos aminoácidos, distribuição de cargas, do tamanho e da estrutura da molécula, além de fatores extrínsecos, como o pH, a temperatura, a concentração de proteína e força iônica. (Kinsella & Soucie, 1989; Morr, 1985; Sgarbieri, 1998).

A propriedade intermolecular está relacionada com a capacidade da molécula de proteína de interagir com outras moléculas de proteína manifestando o poder de gelatinização ou a interação com outras moléculas como gorduras, pigmentos ou *flavours* (Sgarbieri, 1998).

A capacidade que as moléculas de proteínas possuem de se unirem para formar uma película entre duas fases imiscíveis (característica interfásica), origina as propriedades de formação de espuma e de emulsão, influenciadas pela seqüência de aminoácidos hidrofílicos e hidrofóbicos presentes na molécula (Kinsella e Soucie, 1989; Sgarbieri, 1998).

Para verificar a funcionalidade protéica do grão de amaranto é necessário realizar os testes funcionais na forma concentrada ou isolada. Quando tais testes são realizados em ingredientes (como a farinha de amaranto), pode haver omissão da propriedade funcional da proteína em relação a outros componentes (amido e fibra) e desta maneira não expressaria realmente a propriedade funcional da proteína (Sgarbieri, 1996).

As proteínas mais estudadas em relação às propriedades funcionais são as do soro de leite bovinos, dos concentrados e isolados de soja, da clara de ovo e do soro sanguíneo bovino (Morr et al., 1985; Sgarbieri, 1998; Takeiti, 2002; Prata, 2002).

Em relação ao amaranto, existe apenas uma citação a respeito das propriedades funcionais protéicas em concentrado. Muitos dos estudos desenvolvidos envolvendo a funcionalidade são realizados com farinhas integrais ou "hiperprotéicas", e, portanto, a presença de amido e/ou fibras pode modificar o real comportamento da proteína.

O único estudo realizado com CPA em relação à funcionalidade tecnológica das proteínas foi desenvolvido por Luquez et al. (1996). Estes autores utilizaram concentrado protéico com teor de 52,6% de proteína e obtiveram resultados quanto à solubilidade (94,3% em pH 11), atividade de emulsão (47,9%), capacidade de absorção de água (2ml/g de proteína), capacidade de absorção de óleo (0,7ml/g de proteína).

A pesquisa que ora se finda mostra a produção de três farinhas com

características singulares e a partir destas a obtenção de três concentrados protéicos. O intuito de produzir concentrados com elevado conteúdo protéico e adequado perfil aminoacídico é a futura aplicação em formulações alimentares para fins especiais.

3 – MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – Material

Os grãos de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade “Japônica”) utilizados na pesquisa foram produzidos pela EMBRAPA (Unidade Cerrados, localizada em Planaltina - DF) e encaminhados pelo pesquisador Carlos R. Spehar. O material (10 quilos de grãos inteiros com 8,95% de umidade) foi recebido em maio de 2000 através de transporte terrestre e mantido acondicionado em saco plástico e caixa de papelão na temperatura do laboratório.

A enzima utilizada na hidrólise da amilose foi a α -amilase Termamyl 120L type L, proveniente de *Bacillus liquefaciens*, designada 1,4 α -D-glucan glucanohidrolase (E.C.3.2.11), doada pela empresa *Novo Nordisk* (Bagsvaerd, Dinamarca).

Os reagentes empregados nos ensaios manuais foram de grau analítico, marca Merck (Darmstadt, Alemanha) ou equivalente. Os reagentes para as análises de determinação de aminoácidos foram da marca Pierce (Mountain View, EUA) e os reagentes empregados na determinação dos pesos moleculares das proteínas foram da Phamacia Biotech (Uppsala, Suécia).

3.2 – Métodos

3.2.1 – Obtenção das farinhas base, desengordurada e hidrolisada

Para o desenvolvimento deste estudo foram produzidas três farinhas especiais, denominadas farinha-base (FB), desengordurada (FD) e hidrolisada com α -amilase (FH). Posteriormente estas farinhas foram utilizadas como matéria-prima para a extração da proteína, resultando em três concentrados protéicos designados: concentrado protéico da farinha-base (CPF_B), concentrado protéico da farinha desengordurada (CPF_D) e concentrado protéico da farinha hidrolisada com α -amilase (CPF_H).

a) Refino do grão para obtenção da farinha-base.

Os grãos de amaranto foram moídos em moinho de rolos marca Bradender (Duisburg, Alemanha) em umidade natural e duas etapas (quebra e redução do grão). A farinha resultante foi classificada através do tamanho das partículas (sistema de peneiras acoplado ao moinho), resultando em três frações: partículas maiores que 599 μm (40 mesh), entre 599 μm (40 mesh) e 250 μm (60 mesh) e menores que 250 μm (60 mesh).

Foi considerada como farinha-base (FB) aquela com partículas abaixo de 250 μm (60 mesh) obtidas no processo de quebra e redução do grão. A FB foi armazenada sob refrigeração (Eletrolux, Joinville, SC, Brasil) acondicionada em sacos plásticos, hermeticamente fechados, contendo 200 gramas cada.

Aproximadamente um quilo da farinha-base foi destinado ao processo de desengorduramento, cinco quilos sofreram hidrólise enzimática da amilose e os quatro quilos restantes foram descartados como resíduo no refino do grão.

b) Desengorduramento da farinha-base

Para se obter a farinha desengordurada (FD), a farinha-base foi desengordurada em extrator de soxhlet (Labsynth Ltda, Diadema, SP, Brasil) por 6 horas com éter de petróleo (Merck, Darmstadt, Alemanha), sendo que o mesmo foi retirado por evaporação (12 horas) em capela de exaustão, à temperatura ambiente. O éter de petróleo foi selecionado por ser o solvente de menor custo e ter menor temperatura de volatilização (37°C) quando comparado ao hexano (56°C).

c) Hidrólise enzimática da amilose na farinha base.

A obtenção da farinha hidrolisada com α -amilase (FH) foi realizada à partir da metodologia proposta por Guzmán-Maldonado & Paredes-López, et al. (1994), com modificações. A **Figura 2** mostra em detalhes o processo de obtenção da farinha hidrolisada com α -amilase.

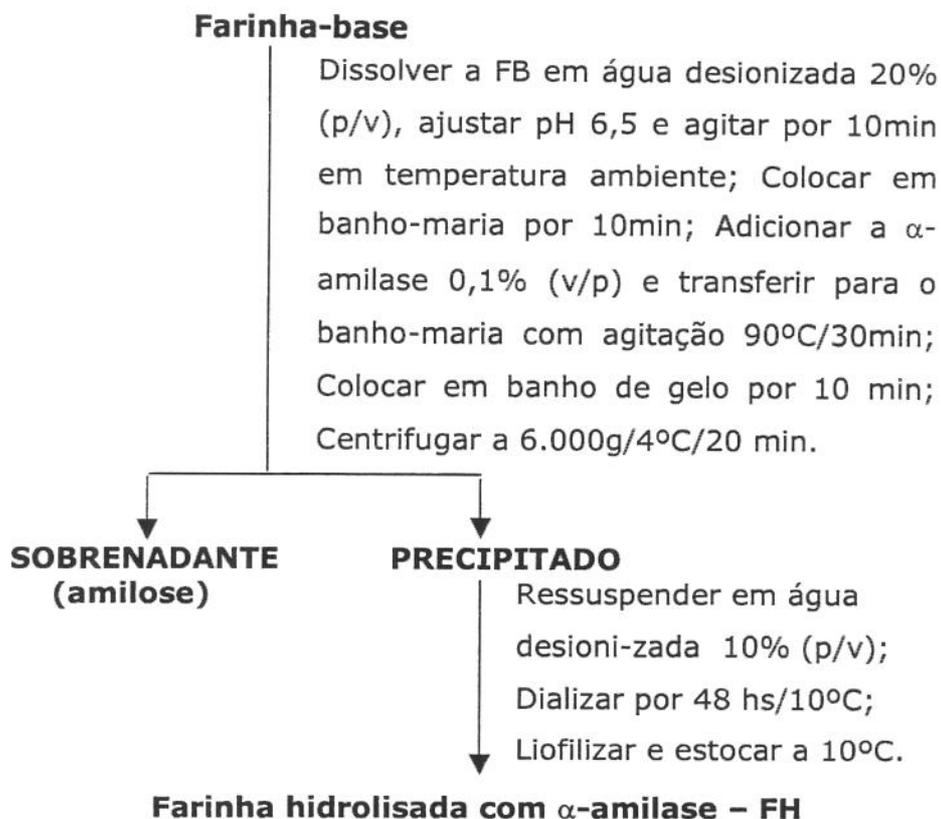


Figura 2 – Esquema da obtenção da farinha hidrolisada com α -amilase de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica)

A hidrólise foi realizada em solução da FB a 20% (p/v) em água desionizada (Permuton, Curitiba, PR, Brasil), pH 6,5 e agitação por 10 minutos em temperatura ambiente. Posteriormente foi realizada a digestão térmica (50°C/10min) em banho-maria (Fanem, São Paulo, SP, Brasil) e a hidrólise enzimática utilizando a α -amilase na proporção de 0,1% (enzima/substrato-v/p). A solução foi transferida para o banho-maria com agitação (Marconi, São Paulo) por 30 minutos à 90°C.

A enzima foi inativada em banho de gelo por 10min e a solução foi centrifugada (Sorval RC 5C, EUA) a 6.000g/30min/4°C, obtendo duas frações: o sobrenadante foi descartado (amilose) e o precipitado, denominada farinha hidrolisada com α -amilase (FH), foi ressuspensa em água desionizada à 10% (p/v), dializado por 48 horas sob refrigeração (10°C), liofilizado (Virtis, Wilmington, EUA) e armazenado sob refrigeração (10°C) em sacos plásticos, hermeticamente fechados, contendo 100 gramas cada.

3.2.2 – Produção dos concentrados protéicos a partir da farinha-base, desengordurada e hidrolisada com α -amilase

A proteína das farinhas foi concentrada através da precipitação isoelétrica (pI 4,25), obtendo-se três diferentes concentrados, como observado no esquema da **Figura 3**. A metodologia empregada neste experimento foi baseada em vários trabalhos (Martínez & Añon, 1996; Luquez et al., 1996; Luquez et al., 1997; Fidantsi & Doxataki, 2001).

Foram realizadas adaptações para a melhoria da recuperação protéica e rendimento final do produto, como o processo de desengorduramento com éter de petróleo de uma farinha (FD), uso de pH alcalino brando (pH 8,0), agitação por um tempo prolongado (1,5h), utilização do menor ponto de solubilidade protéica das farinhas (pH ~4,25), realização da tripla lavagem do precipitado protéico, uso de membrana de diálise com baixo *cut off* (6000Da) e o processo de secagem (liofilização).

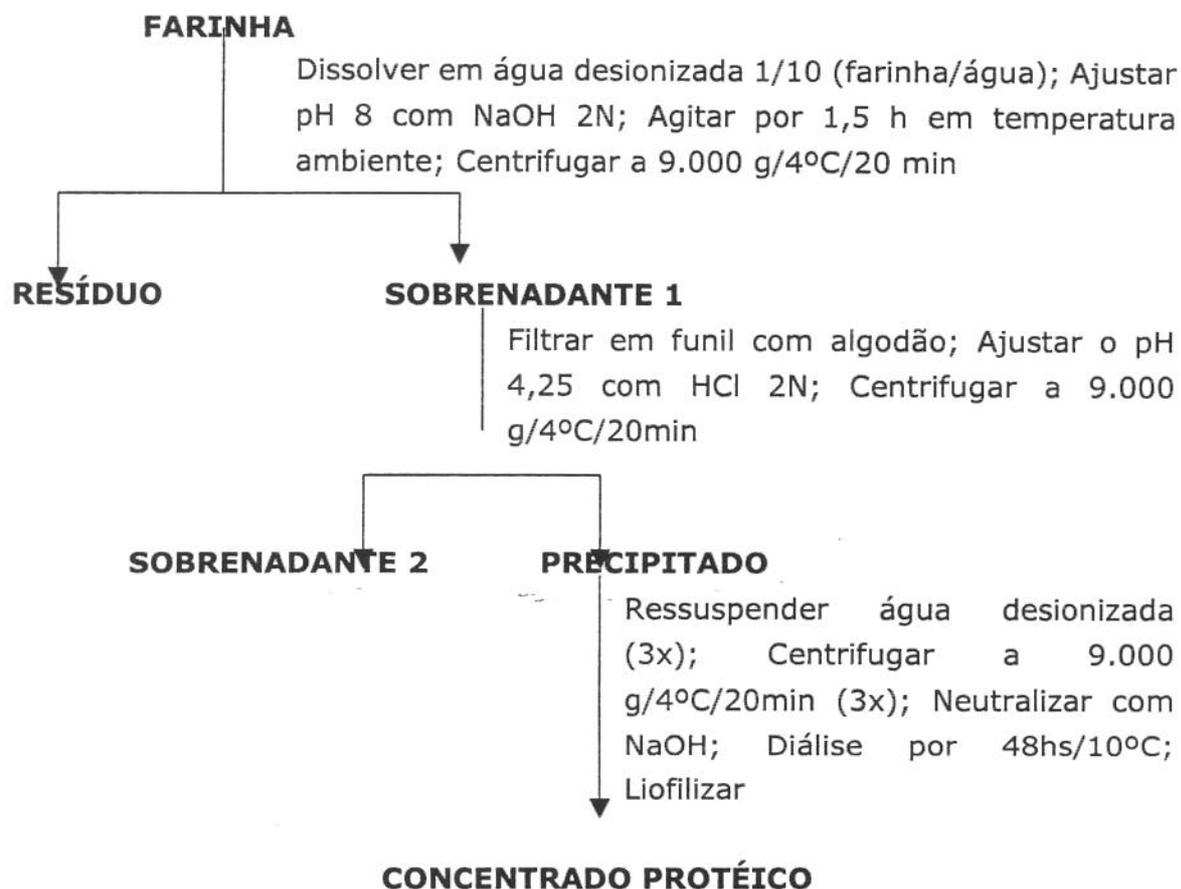


Figura 3 – Esquema de obtenção dos concentrados protéicos do amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica)

A quantia de concentrado necessária para o desenvolvimento deste trabalho (composição centesimal, análise de ácidos graxos e aminoácidos, perfis de solubilidade protéica e pesos moleculares) foi estipulada em torno de 90 gramas para cada concentrado.

A recuperação ou rendimento protéico refere-se à quantidade de proteína presente no concentrado, em relação à quantidade de proteína existente na farinha utilizada para produzir o concentrado. Para determinar a porcentagem de recuperação protéica foi utilizada a **Equação 1**.

$$\% \text{ recuperação protéica} = \frac{A \times B}{C \times D} \times 100 \quad (1)$$

onde: A (massa de farinha em g);
B (concentração protéica da farinha em %);
C (massa de concentrado em g);
D (concentração protéica do concentrado em %)

E para avaliar a eficiência da recuperação protéica nos concentrados produzidos, foram determinados (apenas um processo para cada concentrado), os teores de proteína em quatro etapas: a) farinhas; b) resíduo; c) sobrenadante 2 e d) concentrado. A análise do conteúdo nitrogenado na farinha e concentrado foi direta (sem tratamento), no sobrenadante 2 foi realizada através de alíquotas de 5 mL e no resíduo através da ressuspensão em água desionizada à 10% (p/v) e liofilização.

3.2.3 – Composição aproximada das farinhas e dos concentrados

A composição aproximada (cinzas, umidade, proteína total, lípidos e amido) foi determinada para as farinhas base, desengordurada e hidrolisada, bem como para os concentrados protéicos. Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados expressos em média e desvio padrão.

a) Cinzas

Foi determinada através da incineração à 550°C de acordo com AOAC (1990).

b) Umidade

Foi calculada através da diferença de massa da amostra seca em estufa à 105°C por 8 horas (Fanem, São Paulo) e a massa original da amostra (~5g), ambas pesadas em balança analítica (AOAC, 1990).

c) Proteína total

Foi determinado pelo método semi micro-Kjeldahl, utilizando como catalisador o sulfato de potássio e de zinco, o indicador contendo vermelho de metila e azul de metileno e o fator de conversão foi 6,25. Este valor é tradicionalmente utilizado por autores que pesquisam o grão de amaranto (Correa et al., 1986_a; Bressani & Garcia-Vela, 1990; Gupta e Sehgal, 1991; Koniski et al., 1991; Luquez et al., 1996; Bejosano & Corke, 1998; Fidantsi & Doxastakis 2001).

d) Lípides totais

Foi determinado pelo método de Bligh-Dyer (Bligh-Dyer, 1959), pelo qual uma massa conhecida (~3,5g) foi submetida à extração com solventes (metanol e clorofórmio) e após agitação e centrifugação, a porção contendo gordura foi separada, desumidificada com sulfato de sódio e filtrada. Uma alíquota do filtrado (5mL) foi retirada, o solvente residual evaporado em banho-maria e a gordura resultante seca em estufa a 100°C e pesada.

e) Amido

Foi determinado através do método de Fehling. Inicialmente ocorre digestão térmica da amostra por 30 minutos em solução de HCl (10%) e após o resfriamento, a neutralização com NaOH e a adição de ferrocianeto de

potássio e acetato de zinco, ocorrendo desta maneira a precipitação da porção protéica e a solubilização do amido. Logo em seguida a solução é filtrada e o sobrenadante (porção amido) é titulada com sulfato de cobre pentahidratado (solução de Fehling A) e tartarato duplo de sódio e potássio (solução de Fehling B), usando com indicador o azul de metileno (Lane & Eynon, 1923).

3.2.4 – Perfil de ácidos graxos dos lípides totais das farinhas e dos concentrados

A determinação do perfil de ácidos graxos do óleo de amaranto seguiu a metodologia proposta por Hartman & Lago (Hartman & Lago, 1973), sendo que a amostra (~100mg), em duplicata foi submetida inicialmente a esterificação com hidróxido de potássio em metanol à 100°C por 5 minutos. Nesta etapa, as moléculas de triacilgliceróis em meio alcalino foram quebradas e formaram a molécula de glicerol e ácidos graxos livres (AGL). Posteriormente, os AGL foram metilados com BF₃ em metanol à 100°C, saponificados com solução saturada de cloreto de sódio e solubilizados em éter de petróleo como ésteres metílicos de ácidos graxos.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram analisados por cromatografia gasosa, em cromatógrafo Varian 3600 (Sugar Land, EUA) dotado de detector de ionização de chama nas seguintes condições: temperatura do detector de 250°C, temperatura do injetor de 250°C, temperatura da coluna entre 170°C e 210°C com taxa de incremento de 1°C/min, vazão de arraste de 1mL/min, gás de arraste (hidrogênio) e volume da amostra 1µL por injeção.

Nesta análise, não foi realizada a quantificação dos ácidos graxos (mg de ácido graxo/100mg de óleo), apenas foram identificados os ácidos graxos das amostras em comparação com os padrões de ésteres metílicos (ácido palmítico, oléico, linoléico, linolênico) da marca Sigma (Saint Louis, EUA). Os ácidos graxos foram quantificados através do percentual da área relativa levando em consideração aqueles ácidos graxos que foram identificados e

obtiveram valores superiores a 1,0%, utilizando o *software* Varian Star 4.5 (Sugar Land, EUA).

3.2.5 – Perfil de aminoácidos das farinhas e dos concentrados

A determinação de aminoácidos totais, com exceção do triptofano, foi realizada pelo método Spackman (Spackman et al., 1958), através da hidrólise ácida com ácido clorídrico (6N) à 110°C por 22 horas, de uma massa conhecida de proteína. Nessa análise a massa estimada de proteína foi de aproximadamente 25mg por amostra e realizada em duplicata.

O ácido clorídrico foi evaporado com nitrogênio e filtrado em membrana Millipore (Bedford, EUA). O filtrado foi diluído em tampão de citrato de sódio pH 2,2 e injetado em cromatógrafo Thermo-Separation modelo PCX 1300 (Riviera Beach, EUA) com coluna de troca iônica de resina poliestirênica sulfonada e detecção pós-coluna com ninidrina. Foi utilizado padrão de aminoácidos da marca Pierce (Saint Louis, EUA) como padrão externo.

O perfil de aminoácidos foi expresso através da média e desvio médio (mg/ /100mg de proteína) e comparado ao padrão (FAO, 1985). A determinação do aminoácido limitante foi realizada através do Escore químico com auxílio da **Equação 2**.

$$\text{Escore químico} = \frac{\text{a min ácido teste (mg / 100mg de proteína)}}{\text{a min oácido referência (mg / 100mg de proteína)}} \quad (2)$$

3.2.6 – Perfil de peso molecular das proteínas das farinhas e dos concentrados

A determinação dos pesos moleculares seguiu o procedimento descrito por Laemmli com modificações. O método requer que 4mg de proteína sejam dissolvidas em 1mL de tampão redutor contendo 0,5 M Tris HCl (pH 6,8), 10% SDS; 10% glicerol, 5% β-mercaptoetanol e 0,1% azul de bromofenol e aquecidas à 90°C por 3 minutos (Laemmli, 1970).

Foi aplicado o volume de 4 μ L de cada amostra no gel com SDS e gradiente de 8-25%, sendo que as condições do equipamento Phast System para corrida foram: 100 V, 5 mA, 0,5 W e temperatura da câmara 20°C.

Para a identificação do perfil eletroforético utilizou-se o padrão de baixo peso molecular: 14.400Da - α -lactoalbumina; 20.100Da - inibidor de tripsina; 30.000Da - anidrase; 43.000Da - ovoalbumina; 67.000Da - albumina e 94.000Da - fosforilase b (Sigma, Sant Louis, EUA).

Cada gel foi mantido por 12 horas em solução aquosa a 0,2% (p/v) de *Coomasie Blue* R-250 em metanol e descorada com água destilada/metanol/ácido acético. A determinação dos pesos moleculares das proteínas foi realizada através do *software* Image Master 1D Prime (Pharmacia Biotech Uppsala, Suécia).

3.2.7 – Perfil de solubilidade protéica das farinhas e concentrados

Os perfis de solubilidade protéica das farinhas e concentrados foram determinados de acordo com o método proposto por Morr com modificações (Morr et al.,1985), baseado na quantidade de proteína presente no sobrenadante após tratamento com NaCl 0,1 M e água desionizada em diferentes pHs.

O perfil de solubilidade das farinhas foi determinado em 6 amostras e 16 pHs (2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; 4,25; 4,5; 4,75; 5,0; 5,5; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0 e 11,0) e nos concentrados foram utilizados 4 amostras e 4 pHs (3,0; 5,0; 7,0 e 9,0).

O método propunha que as amostras de farinha e concentrado (500mg) fossem dissolvidas em cloreto de sódio ou água desionizada e centrifugadas a 20.000g/4°C/30min. Desta maneira resultaram duas frações (resíduo e sobrenadante). O teor de proteína total foi determinado na amostra (em mg) e o teor de proteína solúvel através de um volume conhecido (em mL), ambos através do método de semi micro-Kjeldahl, com fator de conversão de nitrogênio de 6,25. Para calcular a porcentagem de solubilidade protéica de cada amostra foi utilizada a **Equação 3**.

$$\% \text{ solubilidade protéica} = \frac{A \times 50}{W \times \frac{S}{100}} \times 100 \quad (3)$$

onde: A (concentração de proteína no sobrenadante em mg/ml);
W (massa da amostra em mg);
S (concentração protéica da amostra em %).

3.2.8 – Cor das farinhas e dos concentrados protéicos

A coloração foi determinada no equipamento Color Quest (Hunter Lab, Reston, EUA), sendo utilizado o padrão descrito por Paredes-Lopez et al. (1990).

A farinha-base e a desengordurada foram comparadas a farinha integral padrão (FIP) com os seguintes valores: parâmetro "L" (tonalidade de branco a preto) 81,9, parâmetro "a" (variação de cor entre o vermelho e verde) 0,3 e parâmetro "b" (azul ao amarelo) 11,8. A farinha hidrolisada foi comparada à farinha hiperprotéica padrão (FHP) com os seguintes valores: parâmetro "L" 72,3, parâmetro "a" 0,5 e o parâmetro "b" 15,7 (Paredes-Lopez et al. 1990).

3.3 – Análise estatística

Os resultados obtidos foram submetidos a análise de estatística. As médias foram comparadas com o uso do teste de *Tukey* e consideradas diferentes estatisticamente com $p < 0,05$. Para tal análise, utilizou-se o software Statistics versão 5.0.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 - Obtenção da farinha-base, desengordurada e hidrolisada

O processo de obtenção da farinha-base foi rápido e simples devido ao uso do moinho de rolos com sistema acoplado de peneiras. Apesar do rendimento ter sido alto (~91%), este processo provocou perdas consideráveis, gerando um grande volume de resíduo (~9%). A **Tabela 6** mostra o fracionamento e rendimento do processo de obtenção da farinha-base.

Tabela 6 – Fracionamento e rendimento da farinha do grão de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) de acordo com a granulometria da fração.

Rendimento do fracionamento (%)			
Diâmetro (μm)	Diâmetro (μm)	Diâmetro (μm)	Perdas
> 599	250 a 599	150 a 240	
17,2	12,2	61,9	8,7

Quando são comparados estes resultados com aqueles encontrados por Marcílio (2001), verifica-se que aqui houve maior rendimento. A razão para tal fato pode ter sido pelo uso do sistema de peneiras acoplado ao moinho e a união das frações de partículas com granulometria inferior a 250 μm .

O desengorduramento da farinha-base foi lento e dispendioso, devido ao tamanho do aparelho de *soxhlet*, não permitindo o manejo de lotes maiores que 70 gramas e ao longo tempo de extração (6 horas). Foi necessário repetir a operação 15 vezes para totalizar um quilograma de farinha desengordurada.

O processo para a obtenção da farinha hidrolisada também foi lento devido o baixo rendimento final (cerca de 25%). Cada processo exigia 200 gramas de farinha-base inicial, sendo que o rendimento final era inferior à 50

gramas de farinha hidrolisada. Desta forma, foram realizados 20 processos de hidrólise amilácea para totalizar 1 kg de farinha hidrolisada.

4.2 - Composição aproximada das farinhas

A **Tabela 7** apresenta a composição centesimal da farinha-base (FB), desengordurada (FD) e hidrolisada com α -amilase (FH).

Tabela 7 - Composição aproximada¹ das farinhas do amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) em base seca.

Componentes	Amostras de farinhas		
	FB ¹	FD ¹	FH ¹
Proteína ²	14,64 ^a (0,19)	16,48 ^b (0,15)	30,36 ^c (1,79)
Umidade	7,64 ^a (0,33)	11,42 ^b (0,43)	9,30 ^{a,b} (0,51)
Cinzas	3,67 ^a (0,07)	3,27 ^a (0,08)	3,60 ^a (0,23)
Amido	66,40 ^a (0,98)	65,8 ^a (0,99)	33,43 ^b (0,97)
Lípides	6,65 ^a (0,07)	0,77 ^b (0,03)	15,20 ^c (0,77)

¹valores médios de 3 determinações (DP) com letras diferentes na mesma linha possuem diferença estatística ($P < 0,05$) pelo teste Tukey; ²N x 6,25. Exclui-se o teor de fibras nesta composição.

FB: Farinha-base; FD: Farinha desengordurada; FH: Farinha hidrolisada com α -amilase.

Os teores aqui relatados coincidentes aos encontrados na literatura em relação à farinha-base (Becker et al., 1981; Teutonico & Knorr, 1984) e ao produto hidrolisado (Paredes-López et al., 1990; Guzmán-Maldonado & Paredes-López, 1994).

Verifica-se através destes resultados o processo de desengorduramento removeu quase 90% dos lípides da FB e provocou aumento significativo ($p < 0,05$), porém não substancial (~12%) no teor de proteína. Os demais componentes tiveram aumento relativo nas concentrações, mas sem

diferenças significativas ($p > 0,05$), ocorrendo desta maneira distribuição não uniforme entre eles.

Por outro lado, a hidrólise dos amidos foi capaz de alterar a significativamente ($p < 0,05$) a concentração de amido, proteína e lípidos. O processo de hidrólise da amilose provocou redução de 50% no conteúdo amiláceo da farinha e, por consequência, aumentos de aproximadamente 100% nos teores de proteína e gordura.

4.3 - Composição aproximada dos concentrados protéicos do amaranto

A **Tabela 8** apresenta a composição aproximada dos concentrados protéicos de amaranto provindo da farinha-base (CPFB), desengordurada (CPFD) e hidrolisada (CPFH).

Tabela 8 - Composição aproximada¹ dos concentrados protéicos de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica), em base seca.

Amostras dos concentrados			
Componentes	CPFB	CPFD ¹	CPFH ¹
Proteína ²	56,74 ^a (1,45)	80,47 ^b (1,23)	74,84 ^c (3,75)
Umidade	4,06 ^a (0,13)	3,63 ^a (0,26)	3,57 ^a (0,13)
Cinzas	3,55 ^a (0,12)	3,65 ^a (0,12)	3,75 ^a (0,12)
Amido	14,69 ^a (0,07)	3,75 ^b (0,12)	1,57 ^c (0,19)
Lípides	7,14 ^a (0,65)	0,65 ^b (0,17)	8,12 ^a (0,52)

¹valores médios de 3 determinações (DP) com letras diferentes na mesma linha possuem diferença estatística ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey; ²N x 6,25; Exclui-se o teor de fibras nesta composição

CPFB: Concentrado protéico da farinha base; CPFD: Concentrado protéico da farinha desengordurada; CPFH: Concentrado protéico da farinha hidrolisada.

Os teores de proteína, lípidos e amido dos concentrados mostram

diferenças estatísticas ($p < 0,05$) entre si, porém as concentrações de umidade e cinzas não mostraram alteração.

Assim, pode se entender que as variações encontradas nos valores de proteína, lípidos e amido devem-se às características de composição centesimal das farinhas e estado físico-químico dos componentes. É razoável pensar que a presença das gorduras na farinha, por exemplo, modifique o micro-ambiente das proteínas, diminuindo a sua extratabilidade e a pouca variação nos teores de umidade e cinzas pode ser atribuída à uniformidade dos processos, incluindo a neutralização, diálise e liofilização, aos quais as matérias-primas foram submetidas.

O teor de proteína do concentrado protéico da farinha-base foi superior aos encontrados por Luquez et al. (1996 e 1997), Bejosano & Corke (1998) e Fidantsi & Doxastakis (2001), todos com teores equivalentes de cinzas e lípidos. Provavelmente o maior teor de proteína extraído em nossos concentrados tenha sido causada pela operação de diálise e o menor grau de umidade pelo processo de liofilização.

Ainda considerando-se que a remoção das frações lipídica e amilácea da farinha-base obviamente possibilitaria a obtenção de concentrados com maior teores de proteína, não existem na literatura relatos de concentrados protéicos obtidos após a remoção dos lípidos nem após a hidrólise dos amidos.

Deve-se ressaltar que foi entendido como significativo o fato de que a remoção da fração lipídica tenha produzido um concentrado com teor protéico desproporcionalmente elevado. Isto pode ser explicado se considerarmos o efeito isolante que a gordura produz pela sua disposição física em torno dos corpos protéicos e a ausência de tal gordura poderia permitir a solvatação e precipitação de maior quantidade de proteína.

4.4 - Rendimento na produção dos concentrados protéicos

A **Tabela 9** apresenta o número de lotes produzidos, a quantidade e a recuperação protéica média para cada concentrado protéico.

Tabela 9 – Distribuição dos concentrados de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) de acordo com o número de lotes, quantidade e rendimento protéico médio.

	Concentrados		
	CPF B	CPF D	CPF H
Número de processos	7	5	7
Quantidade média (g) ¹	14,94 (1,5) ^a	19,46 (1,75) ^b	12,98 (0,9) ^c
Recuperação protéica (%)	28,95	47,54	20,48

¹valores médios (DP) com letras diferentes na mesma linha possuem diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey.

CPF B: Concentrado protéico da farinha base; CPF D: Concentrado protéico da farinha desengordurada; CPF H: Concentrado protéico da farinha hidrolisada.

De acordo com os resultados apresentados, verifica-se que o CPF D foi o que obteve maior rendimento ($\sim 47\%$), seguido dos concentrados originados da farinha-base e da farinha hidrolisada, demonstrando assim que, a remoção de gordura é capaz de provocar uma maior extratabilidade da proteína.

A **Figura 4** apresenta os teores protéicos das farinhas, concentrados, resíduos e soros, com o intuito de comparar e avaliar a eficácia do processo de concentração para cada concentrado.

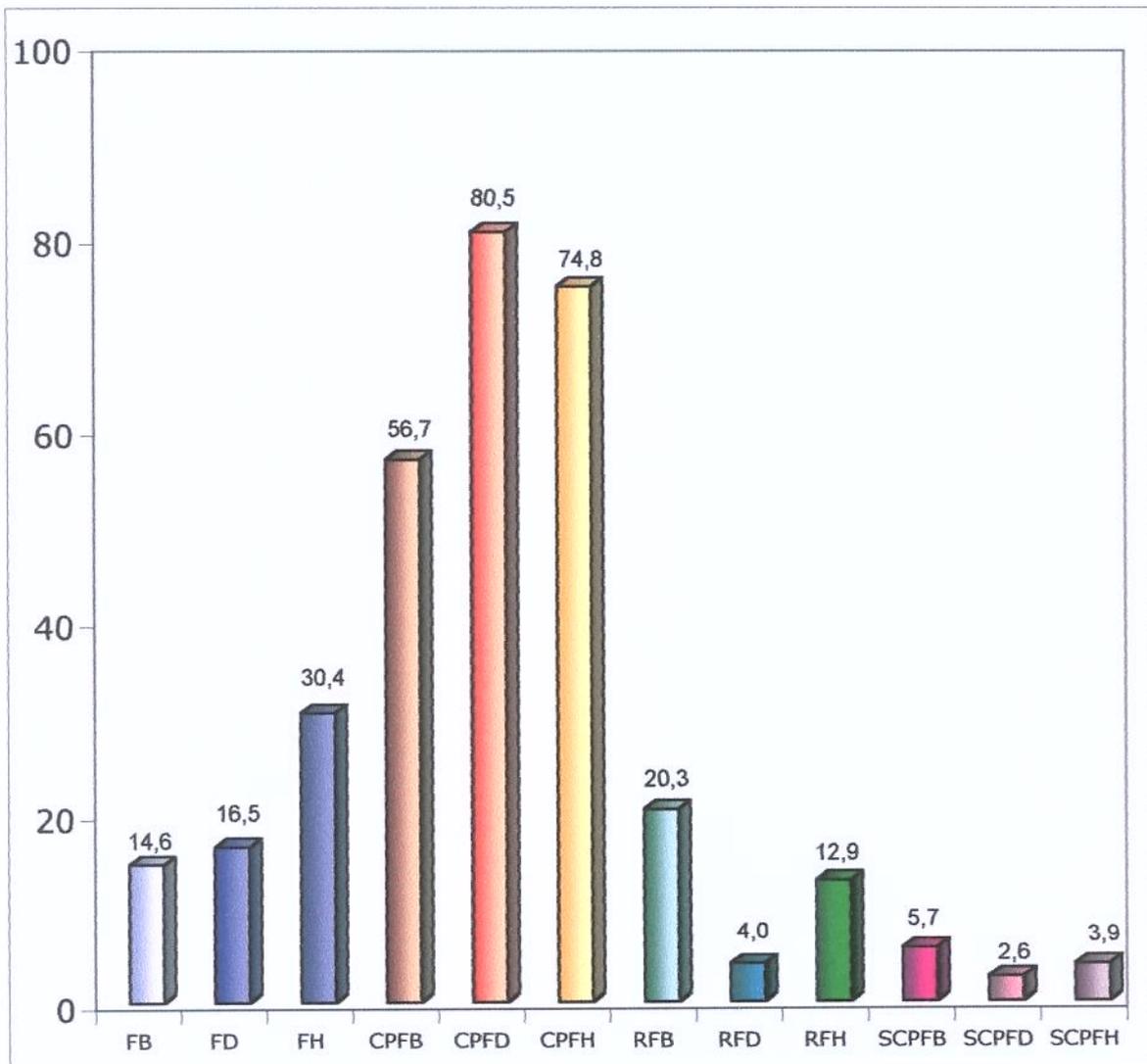


Figura 4 - Teores de proteína das farinhas (FB, FD, FH), concentrados (CPFB, CPFH, CPFH), resíduos (RFB, RFD, RFH) e soros dos concentrados (SCPFB, SCPFD, SCPFH) - soros, em mg/mL, farinha, concentrado e resíduo, em g/100g.

Estes resultados mostram que o CPFH apresentou as menores perdas de proteína no resíduo (4g/100g) e no soro (3mg/mL), seguido do concentrado produzido a partir da farinha hidrolisada. Entretanto, o CPFB obteve grandes perdas protéicas no resíduo (20g/100g) e consideráveis no soro (6mg/mL). Estas perdas provavelmente ocorreram pela interação natural das fibras, gordura, amido e proteína presentes na farinha-base.

Enfim, o concentrado produzido a partir da farinha desengordurada forneceu o produto com maior concentração protéica e maior rendimento em massa. O concentrado obtido da farinha hidrolisada mostrou também poucas perdas, porém o seu rendimento em termos de massa total e sua concentração de proteína foram inferiores aos do concentrado da farinha desengordurada.

A remoção parcial de amidos pelo processo de hidrólise com α -amilase, não tendo alcançado os mesmos resultados de eficiência no CPFH do que no CPFD, sugere que a interação entre amidos e proteínas não seja significativamente diferente antes e depois da hidrólise. Tal dedução dá-se a partir da consideração da pouca modificação na extratibilidade da proteína, uma vez considerada a perda de carboidratos. O maior impacto da hidrólise obviamente recaiu sobre a eliminação parcial desta fração na composição total da farinha. Infelizmente os resultados aqui obtidos não encontram na literatura dados similares para que se pudesse estabelecer uma comparação.

4.5 - Perfil de ácidos graxos dos lípides totais

a) Farinha-base, desengordurada e hidrolisada

A **Figura 5** apresenta o perfil de ácidos graxos dos lípides da farinha-base (FB), desengordurada (FD) e hidrolisada com α -amilase (FH).

Foram considerados apenas os ácidos graxos que tiveram a identificação com o uso de padrão externo (Sigma, St Louis, EUA) e com a área superior a 1%.

A FB apresentou 90% da área total com a presença e identificação de ácidos graxos com expressão superior a 1% e predomínio de oléico e linoléico. A seqüência decrescente foi: ácido oléico, linoléico, palmítico e esteárico. Essa seqüência e valores são similares aos encontrados por Becker et al. (1981).

A FD apresentou perfil semelhante ao da FB, porém com ligeira perda de linoléico. Já a FH mostrou uma alteração no perfil correspondente à inversão da concentração relativa do linoléico e o oléico. Isto significa que o tratamento

enzimático (que inclui um passo de aquecimento) provocou a diminuição seletiva do C18:1, em detrimento especial do linoléico.

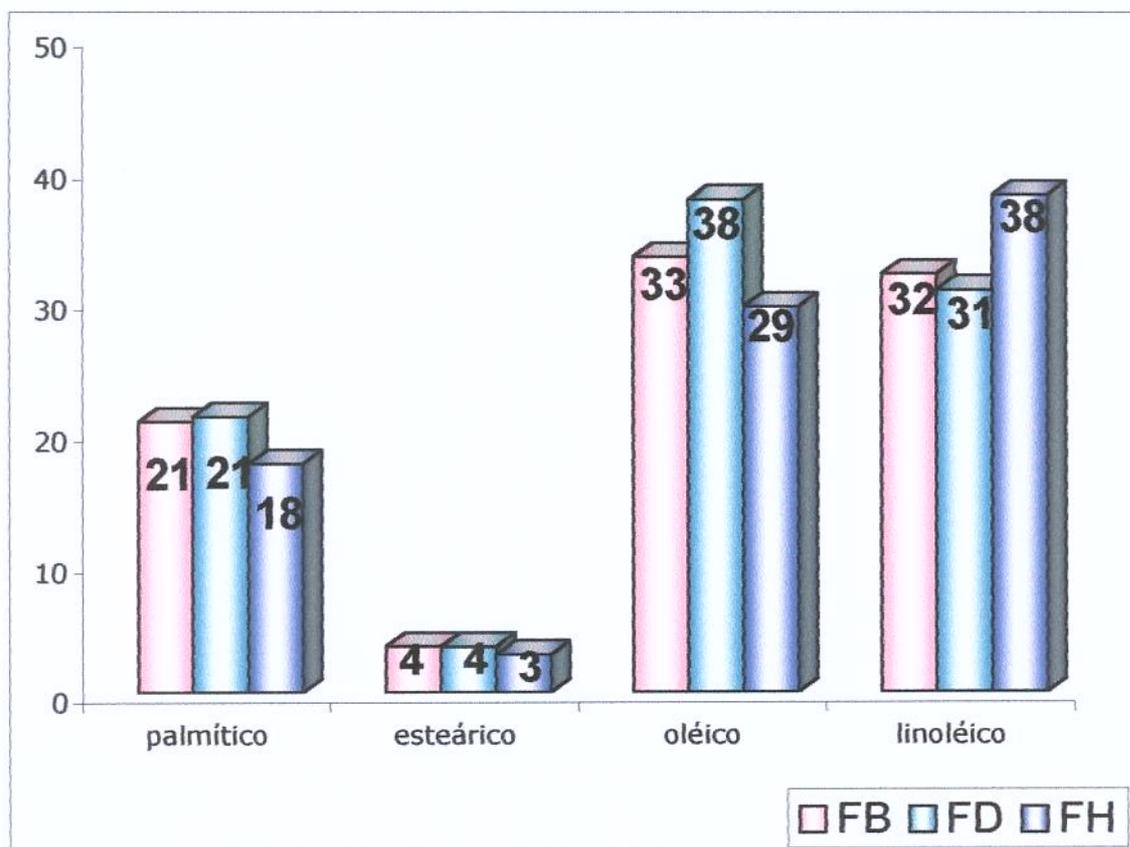


Figura 5 - Perfil dos ácidos graxos mais expressivos (% área total) de óleo extraído das farinhas de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) FB: farinha-base; FD: farinha desengordurada; FH: farinha hidrolisada com α -amilase.

A área dos ácidos graxos identificados e com expressão superior a 1% da farinha desengordurada foi de 93% e da farinha que sofreu hidrólise enzimática do amido representou 88%. Estes dados mostram que, enquanto o desengorduramento provocou a remoção preferencial de ácido linoléico, a hidrólise da fração amilácea ocasionou baixa recuperação dos quatro, especialmente do ácido oléico.

b) Concentrados protéicos

A **Figura 6** apresenta o perfil de ácidos graxos dos lípides apurado em cada um dos concentrados protéicos produzidos da correspondente farinha. Da mesma forma, foram considerados apenas os ácidos graxos que tiveram a identificação com o uso de padrão externo (Sigma, St Louis, EUA) e com a área superior a 1%.

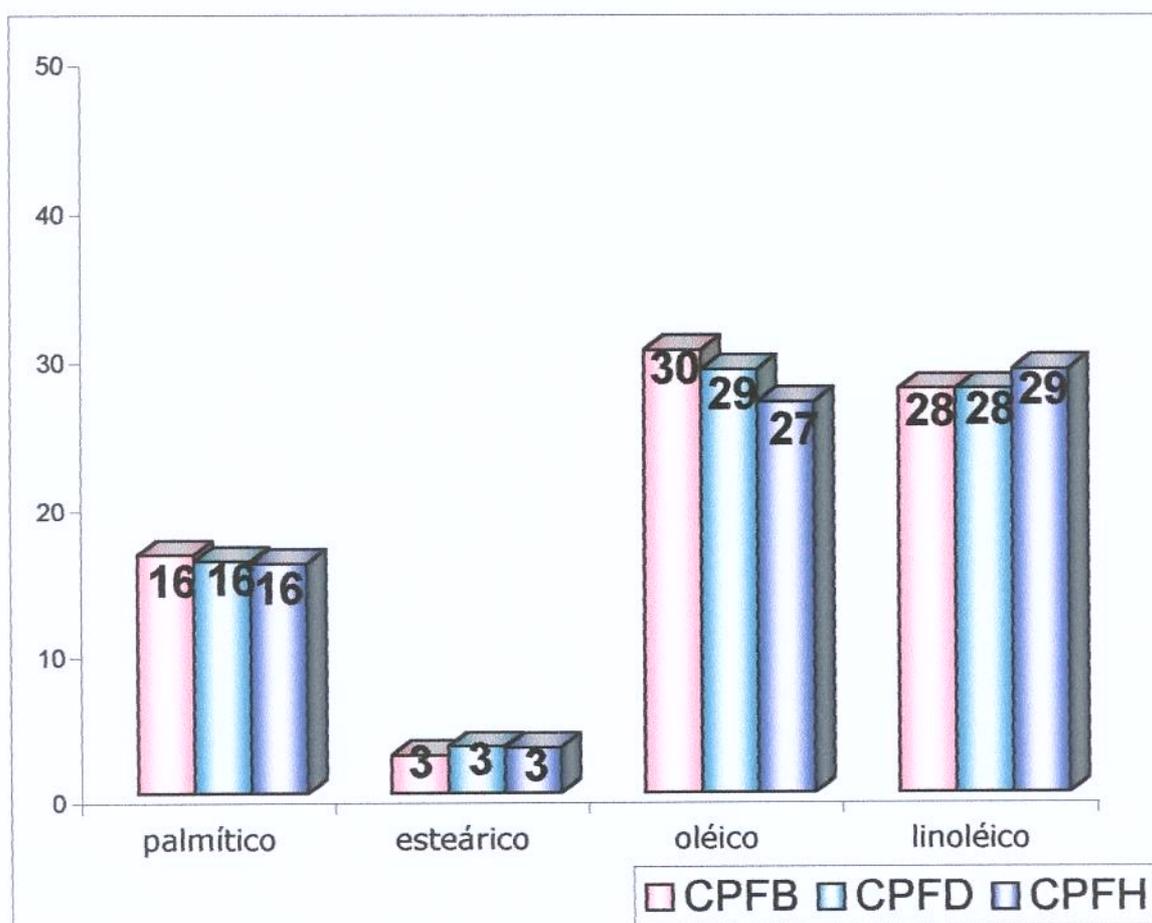


Figura 6 - Perfil de ácidos graxos (% área total) de óleo extraído dos concentrados protéicos de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) CPFB: concentrado protéico da farinha-base; CPFD: concentrado protéico da farinha desengordurada; CPFH: concentrado protéico da farinha hidrolisada com α -amilase.

Em todos os concentrados protéicos foram identificados aproximadamente 75% da área com ácidos graxos identificados e com área superior a 1% e a sequência obtida dos ácidos graxos nos concentrados foi equivalente a farinha de origem.

Quando são observadas as **Figuras 5 e 6**, percebe-se que foram muito pequenas as alterações nos perfis de ácidos graxos dos concentrados e suas respectivas farinha de origem. Porém se ocorressem alterações nos perfis dos concentrados estes poderiam ser explicadas através de possíveis reações ou interações entre certos ácidos graxos e/ou outros componentes da farinha, levando extrações diferenciadas de gordura na hora da análise. Poderia se dar o caso, também, de que as próprias proteínas arrastassem gorduras de forma seletiva durante a extração, alterando assim o perfil de ácidos graxos no extrato.

4.6 - Perfil de aminoácidos

a) Farinha-base, desengordurada e hidrolisada

A **Tabela 10** apresenta os teores de aminoácidos (mg/100mg de proteína) das farinhas de amaranto (FB, FD e FH), comparado ao padrão referência (FAO, 1985).

De acordo com os dados apresentados, o aminoácido limitante da FB e a FD é a leucina, enquanto que na FH é a lisina. Os teores de leucina da FB e a FD são baixos (5,49 e 5,8mg/100mg de proteína, respectivamente), quando comparada ao padrão referência (6,6mg/100mg de proteína). Esse fato resulta em Escore de 0,83 (FB) e 0,88 (FD), concordando com a maioria dos autores (Irving et al., 1981; Betschart et al., 1981; Saunders & Becker, 1984; Teutonico & Knorr, 1985; Correa et al., 1986; Bejosano & Corke, 1998).

No entanto, a FH mostrou conteúdo de leucina igual ou superior ao requerimento indicado pela FAO, enquanto que o teor de lisina encontrou-se reduzido (5,38 mg/100mg de proteína) em relação a referência (5,8mg/100mg

de proteína), resultando em Escore de 0,93. Esta redução no teor de lisina na FH e a inversão das limitâncias podem ser explicadas, em primeiro lugar, pela proximidade dos teores de leucina e lisina aos valores do perfil de referência e, em segundo lugar, pelo tratamento térmico (90°C) ao qual a farinha foi submetida. É interessante ressaltar esse fato, visto que as farinhas vegetais não são muito susceptíveis à perda de lisina pela reação de *Maillard*.

Tabela 10 – Teor de aminoácidos (mg/100mg de proteína) das farinhas de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica), o padrão referência¹ e Escores químicos.

Aminoácidos	Teor de aminoácidos				Escore químico		
	FB	FD	FH	FAO	EQ _{FB}	EQ _{FD}	EQ _{FH}
Essenciais							
Leu	5,49	5,80	6,75	6,6	0,83	0,88	1,02
Lys	5,85	6,31	5,38	5,8	1,01	1,09	0,93
Trn	3,68	3,89	3,76	3,4	1,08	1,14	1,11
Phe + Tyr	7,72	8,23	8,65	6,3	1,23	1,31	1,37
Val	4,95	4,34	4,81	3,5	1,41	1,24	1,37
His	2,53	2,49	2,82	1,9	1,33	1,31	1,48
Ile	3,74	4,02	4,21	2,8	1,34	1,44	1,50
Met + Cys	3,26	3,57	3,54	2,5	1,30	1,43	1,42
Trp	-	-	-	1,1	-	-	-
Não essenciais							
Glu	16,47	17,6	17,14				
Arg	8,08	9,06	9,77				
Asp	8,20	8,73	9,43				
Gly	7,54	7,78	7,36				
Ser	5,79	5,8	6,26				
Pro	3,74	3,38	4,55				
Ala	3,74	3,89	3,94				
Recuperação	90,78	94,89	98,73				

¹teor de aminoácidos para crianças de 2 a 5 anos (FAO, 1985) FB: farinha-base; FD: farinha desengordurada; FH: farinha hidrolisada com amilase; EQ_{FB}: Escore químico farinha-base; EQ_{FD}: Escore químico farinha desengordurada; EQ_{FH}: Escore químico farinha hidrolisada

Se as proteínas vegetais são mais susceptíveis a perda de lisina com o tratamento térmico, isto sugere a ocorrência de duas possibilidades: ou as proteínas possuem grupos lisila relativamente expostos na sua superfície, ou ácidos graxos polinsaturados oxidam-se e produzem compostos aldeídicos, os que, por sua vez, reagiriam com os grupos amino, como o ϵ -amino das cadeias laterais lisila.

O alto conteúdo de aminoácidos sulfurados na FB (3,26mg/100mg de proteína), na FD (3,57mg/100mg de proteína) e na FH (3,54mg/100mg de proteína), resultou em Escores específicos de 1,3, 1,43 e 1,42, respectivamente. Esses resultados são consistentes com os relatos de vários pesquisadores (Saunders & Becker, 1984; Teutonico & Knorr, 1985; Correa et al., 1986) e fazem do amaranto não somente um alimento mais completo do que as leguminosas, senão também um possível complemento alimentar.

Os aminoácidos denominados "não indispensáveis" ou "não essenciais" apresentaram, em todas as farinhas, teores inferiores aos encontrados por Saunders & Becker (1984), porém o elevado conteúdo de ácido glutâmico, arginina e ácido aspártico predominaram em todas as farinhas, fator que pode contribuir para as propriedades funcionais tecnológicas que exigem a presença de aminoácidos polares para conferir solubilidade à proteína.

b) Concentrados protéicos

A **Tabela 11** apresenta os teores de aminoácidos nos concentrados protéicos de amaranto (CPF B, CPF D e CPF H) comparados ao padrão de referência (FAO, 1985).

De acordo com os dados apresentados, dois aminoácidos limitantes aparecem em todos os concentrados: a leucina e a lisina. A leucina, entretanto, figura como 1º limitante, com Escore Químico de 0,64 para o CPF B, 0,54 para o CPF D e 0,52 para o CPF H. Por sua vez, o Escore da lisina se manteve muito próximo de 1,0 nos concentrados CPF B e CPF D. O valor significativamente inferior do CPF H, mais provavelmente é devido ao

tratamento térmico empregado no processo de hidrólise.

Bejosano & Corke (1998) encontraram em concentrados de amaranto, baixo teor de lisina com EQ de 0,88 e teor limiar de leucina com EQ de 1,02.

Tabela 11 – Teor de aminoácidos (mg/100mg de proteína) dos concentrados protéicos provindos da farinha de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica), o padrão referência¹ e Escores químicos.

Aminoácidos	Teor de aminoácidos				Escore químico		
	CPFB	CPFD	CPFH	FAO	EQ _{CPFB}	EQ _{CPFD}	EQ _{CPFH}
Essenciais							
Leu	4,23	3,56	3,46	6,6	0,64	0,54	0,52
Lys	5,63	5,38	3,76	5,8	0,97	0,93	0,65
Trn	4,23	3,56	3,46	3,4	1,24	1,05	1,02
Phe + Tyr	9,54	9,43	9,9	6,3	1,51	1,50	1,57
Val	5,09	4,48	4,06	3,5	1,45	1,28	1,16
His	3,85	3,29	3,8	1,9	2,03	1,73	2,00
Ile	4,96	4,27	4,31	2,8	1,77	1,53	1,54
Met + Cys	3,29	3,84	3,34	2,5	1,32	1,54	1,34
Trp	-	-	-	1,1	-	-	-
Não essenciais							
Glu	19,65	19,47	19,85				
Arg	11,61	10,92	11,99				
Asp	9,94	9,07	9,17				
Gly	5,9	5,17	5,52				
Ser	6,10	5,24	6,18				
Pro	4,62	3,83	4,63				
Ala	4,58	3,87	3,59				
Recuperação	98,24	98,25	98,38				

¹teor de aminoácidos para crianças de 2 a 5 anos. CPFB: concentrado protéico da farinha-base; CPFD: concentrado protéico da farinha desengordurada; CPFH: concentrado protéico da farinha hidrolisada com amilase; EQ_{CPFB}: Escore químico do concentrado protéico de farinha-base; EQ_{CPFD}: Escore químico do concentrado protéico de farinha desengordurada; EQ_{CPFH}: Escore químico do concentrado protéico de farinha hidrolisada

Assim como nas farinhas, os concentrados também apresentaram altos teores de aminoácidos sulfurados, com Escores de 1,32 (CPFB), 1,54 (CPFD) e 1,34 (CPFH), confirmado pelo trabalho de Bejosano & Corke (1998). A presença destes aminoácidos pode favorecer a melhora de inúmeras propriedades funcionais tanto na área tecnológica (formação de gel), como na área fisiológica.

A riqueza em termos de aminoácidos sulfurados da proteína no concentrado de amaranto é comparável com a mistura arroz + feijão + milho, o que reforça a noção de que a proteína desde "pseudo-cereal" é recomendável para a elaboração de alimentos completos.

Em relação aos aminoácidos não indispensáveis, o elevado conteúdo de ácido glutâmico, arginina e ácido aspártico predominante em todos os concentrados é coincidente com os dados apresentados por Bejosano & Corke (1998). Este fato pode contribuir para melhora das propriedades funcionais tecnológicas que exigem a presença de aminoácidos polares para conferir solubilidade à proteína (Sgarbieri, 1998).

4.7 - Perfil de peso molecular das proteínas

a) Farinha-base, desengordurada e hidrolisada

As proteínas presentes nas farinhas foram dissolvidas e analisadas colocando cada farinha diretamente no gel de eletroforese. A descrição dos pesos moleculares, os densitogramas e os perfis eletroforéticos das proteínas contidas nas farinhas de amaranto estão apresentados na **Tabela 12**, **Figura 7** e **Figura 8**, respectivamente.

De acordo com os dados apresentados na **Tabela 12**, podemos observar que na farinha-base foram observadas 8 bandas protéicas com peso molecular (PM) entre 60.739 e 10.501Da. Por outro lado, o processo de desengorduramento mostrou 11 bandas (58.310 a 10.939 Da), com o acréscimo de duas novas bandas, uma próxima dos 30.000Da e outra em torno dos 20.000Da, enquanto que a modificação amilolítica mostrou 10

bandas (58.310 a 11.395Da), com novas bandas também nas proximidades de 30.000Da e 20.000Da. Estes achados não têm sido relatados na literatura.

Tabela 12 – Distribuição dos pesos moleculares (Da) das proteínas das farinhas de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica).

Nº de ordem	Intervalo de PM	Farinhas		
		FB (b)	FD (c)	FH (d)
1	> 50.000Da	60.739	58.310	58.310
2	30.000 a 40.000Da		37.986	39.568
3			32.929	33.608
4		31.612	30.348	
5		25.776	25.256	25.776
6	20.000 a 30.000Da		23.276	23.756
7		22.345	21.894	22.345
8		18.220	18.220	18.220
9	10.000 a 20.000Da	15.163	15.795	15.765
10*		12.364	13.144	13.144
11*		10.501	10.939	11.395

FB: farinha-base; FD: farinha desengordurada; FH: farinha hidrolisada com amilase. (b), (c), (d): letras correspondentes às da Figura 7 *Bandas de PM inferior ao padrão de mínimo PM

Comparando os densitogramas (**Figura 7b e 7c**) das proteínas da FB e da FD, é possível afirmar que o maior número de bandas identificadas, após a modificação do microambiente natural, pode ser resultado da "singularização" ou independência de algumas proteínas que não possuíam mobilidade eletroforética própria antes de terem certos lipídios removidos. Isto é, algumas proteínas no grão de amaranto poderiam estar recobertas por camadas lipídicas e/ou formando algum tipo de complexo lipoprotéico. Com a remoção das gorduras, tais complexos poderiam perder parte das camadas associadas, permitindo-se assim uma migração desimpedida das proteínas.

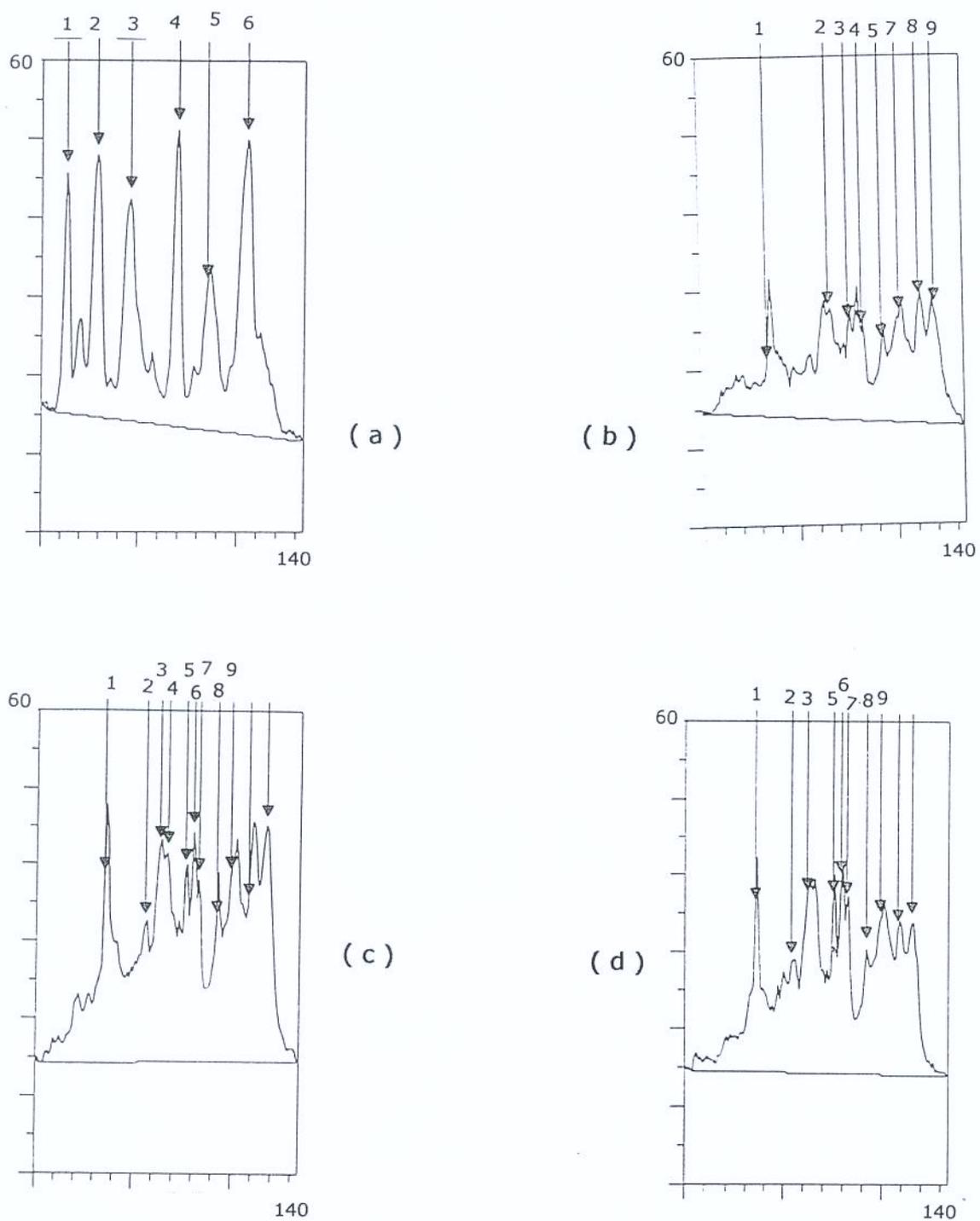


Figura 7 - Densitogramas das proteínas das farinhas de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) (a) padrão de peso molecular; (b) farinha-base; (c) farinha desengordurada; (d) farinha hidrolisada com α -amilase.

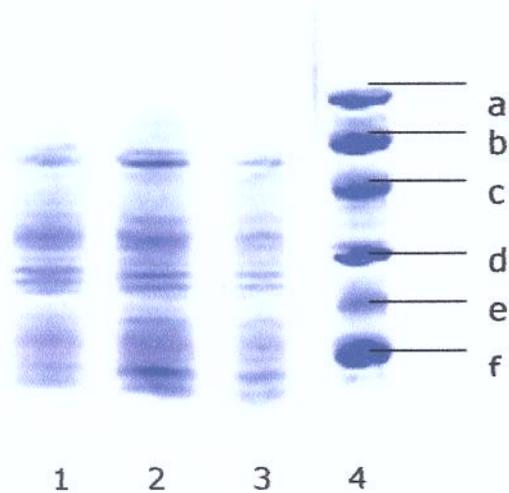


Figura 8 - Perfil eletroforético das proteínas totais das farinhas de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) em gel de poliacrilamida, SDS, com gradiente 8-25%. **Coluna 1:** farinha hidrolisada com α -amilase (FH); **Coluna 2:** farinha desengordurada (FD); **Coluna 3:** farinha-base (FB); **Coluna 4:** padrão de baixo peso molecular (a: 14.400Da - b: 20.100Da - c: 30.000Da - d: 43.000Da - e: 67.000Da - f: 94.000Da);

O estudo do perfil eletroforético (**Figura 8**) ainda sugere que as 'lipoproteínas' não são artifício de procedimento, ou seja, que não se trata de uma associação acidental ou criada involuntariamente durante a extração da proteína, mas que se trata de proteínas específicas, provavelmente produzidas no retículo endoplasmático rugoso da célula do endosperma do grão de amaranto (Forato et al., 2000).

Comparando os perfis da FB e da FH, nota-se também que ocorreu o surgimento de duas novas bandas na faixa de 30 a 40kDa, semelhante ao caso do desengorduramento, e outra, de PM ~23.700Da. Dada a complexidade do quadro e a falta de informações sobre tais estruturas, não podemos descartar a existência de interações físico-químicas do complexo lipoprotéico com certos polissacarídeos.

b) Concentrados protéicos

Com o objetivo de verificar se o processo de extração da proteína podia alterar a conformação ou arranjo estrutural das proteínas, foram repetidas as eletroforeses após o isolamento das proteínas do grão.

A descrição dos pesos moleculares, os densitogramas e os perfis eletroforéticos das proteínas que compõem os concentrados protéicos das farinhas de amaranto estão apresentados na **Tabela 13**, **Figura 9** e **Figura 10**, respectivamente.

De acordo com os dados apresentados na **Tabela 13**, podemos observar que no CPFB foram identificadas 7 bandas protéicas com peso molecular entre 58.439 e 11.703Da. O mesmo número de bandas foi observado no CPFD e CPFH, com pesos moleculares de 59.641 a 12.189 e 62.119 a 13.772Da, respectivamente, porém com nova banda próxima a 40.000Da e o desaparecimento de outra próxima a 20.000Da.

Tabela 13 – Distribuição dos pesos moleculares (Da) das proteínas dos concentrados protéicos das farinhas de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica).

Nº de ordem	Intervalo de PM	Concentrados protéicos		
		CPFB (b)	CPFD (c)	CPFH (d)
1	> 50.000Da	58.439	59.641	62.119
2	30.000 a 40.000Da		40.511	42.194
3		31.731	32.383	35.130
4		26.419	26.962	26.962
5	20.000 a 30.000Da	23.862	23.381	24.353
6		21.996		
7		14.941	15.562	16.208
8*	10.000 a 20.000Da	11.703	12.189	13.772

CPFB: concentrado protéico da farinha-base; CPFD: concentrado protéico da farinha desengordurada; CPFH: concentrado protéico da farinha hidrolisada com amilase; (b), (c), (d): letras correspondentes às da Figura 9 *Bandas de PM inferior ao padrão de mínimo PM

Comparando os densitogramas (**Figura 9b, 9c e 9d**) das proteínas de todos os concentrados, podemos afirmar que os processos de desengorduramento e de hidrólise amilolítica nas farinhas provocaram o aparecimento de uma banda nos CPFD e CPFH próxima a 40.000Da. Este fato provavelmente ocorreu devido a modificação do microambiente natural, assim como ocorreu nas proteínas das farinhas, onde algumas proteínas que não possuíam mobilidade eletroforética própria antes, agora com a remoção de certos lipídios tem migração eletroforética. O desaparecimento de uma banda próxima a 20.000Da nos CPFD e CPFH pode ter sido causada durante o processo de extração das proteínas.

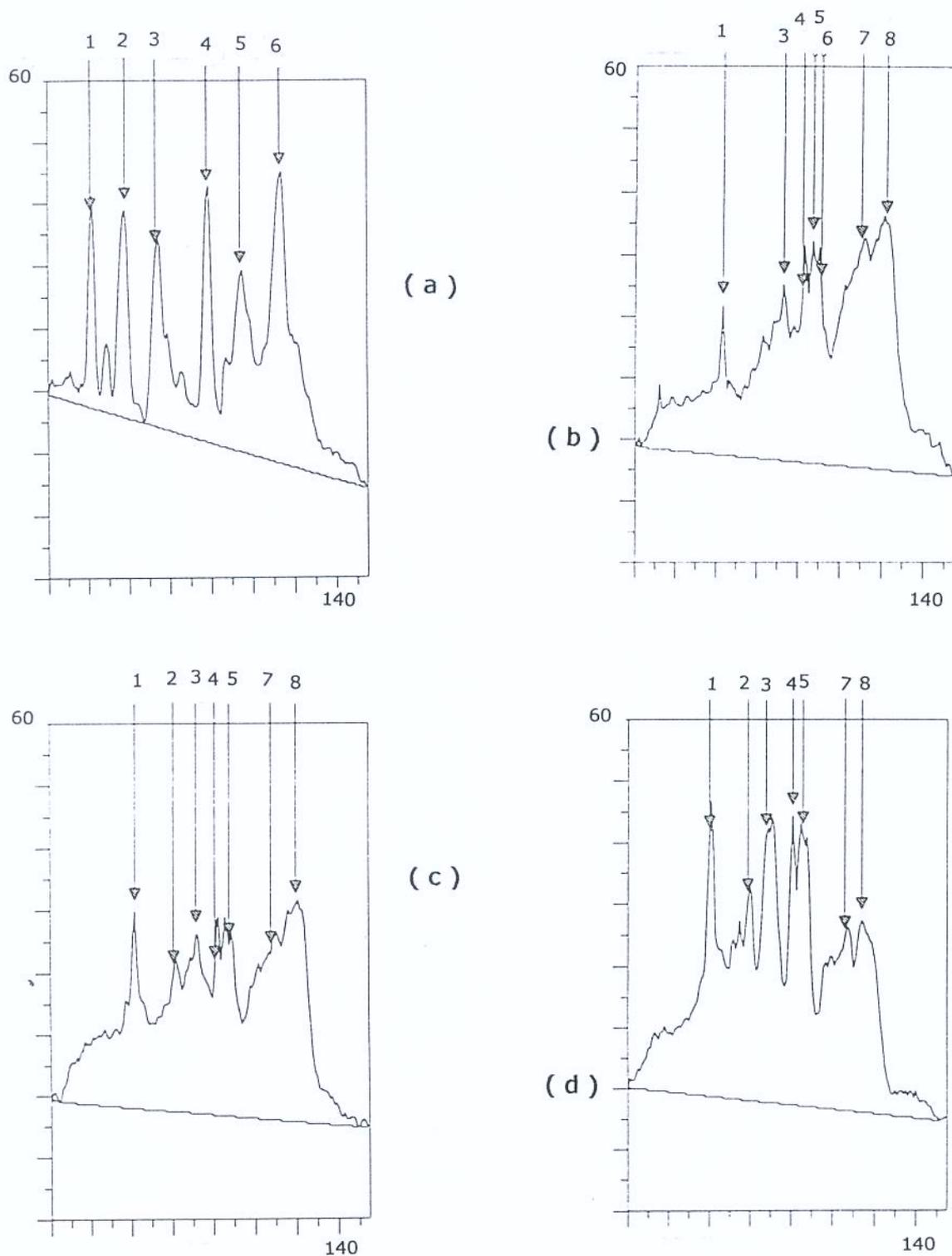


Figura 9 – Densitogramas das proteínas dos concentrados protéicos das farinhas de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) (a) padrão de baixo peso molecular; (b) concentrado protéico da farinha-base; (c) concentrado protéico da farinha desengordurada; (d) concentrado protéico da farinha hidrolisada com α -amilase.

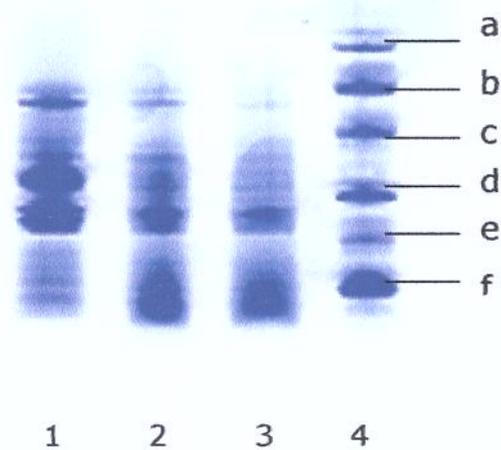


Figura 10 - Perfil eletroforético das proteínas dos concentrados de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) em gel de poliacrilamida com gradiente 8-25%, na presença de SDS. **Coluna 1:** concentrado protéico da farinha hidrolisada com α -amilase (CPFH); **Coluna 2:** concentrado protéico da farinha desengordurada (CPFH); **Coluna 3:** concentrado protéico da farinha-base (CPFH); **Coluna 4:** padrão de baixo peso molecular (a: 14.400Da - b: 20.100Da - c: 30.000Da - d: 43.000Da - e: 67.000Da - f: 94.000Da).

Em geral, o processo de desengorduramento na farinha provocou aumento no número de bandas identificadas, assim como a hidrólise dos amidos, porém este em menores proporções. Este fato confirma que o processo de desengorduramento é mais eficaz na concentração das proteínas do amaranto do que a hidrólise amilolítica, uma vez que as proteínas poderiam estar complexadas ou recobertas por lipídes.

4.8 - Perfil de solubilidade protéica

4.8.1 - Farinha-base, desengordurada e hidrolisada

A **Figura 11** apresenta o perfil de solubilidade protéica das farinhas em solução salina (NaCl 0,1M) e água desionizada em 16 pHs

Através da **Figura 11**, pode-se verificar que todas as farinhas apresentaram a mesma tendência no perfil de solubilidade, uma curva típica de solubilidade em formato de "U", com depressão bastante significativa na região isoelétrica e aumento nas extremidades (pHs ácidos e básicos).

Os perfis das farinhas são similares na água e na solução salina, sendo que a farinha hidrolisada apresentou menor grau de solubilidade em todos os pHs analisados, seguida da farinha desengordurada e da farinha-base.

Possivelmente a redução da solubilidade protéica nas farinhas que foram processadas foi provocada pelo processo de desengorduramento (a quente) e hidrólise enzimática (90°C). Temperaturas entre 50 e 100°C provocam quebra nas pontes de hidrogênio, nas ligações polares e de van der Waals, lançando os grupamentos uns contra os outros de forma aleatória, causando desnaturação irreversível e perda da solubilidade (Amaya-Farfán, 1990).

Em relação ao solvente utilizado a água foi capaz de solubilizar maior teor de proteína em todas as farinhas e pHs analisados (ácidos, região isoelétrica, neutro e alcalinos), o que ocorre em função do fenômeno conhecido por *salting-out*, onde os íons salinos presentes na solução de NaCl competem com as moléculas de proteína, destruindo a capa de hidratação e permitindo que as moléculas de proteína se atraiam mutuamente, agregando-se e tornando-se insolúveis (Damodaran, 1996).

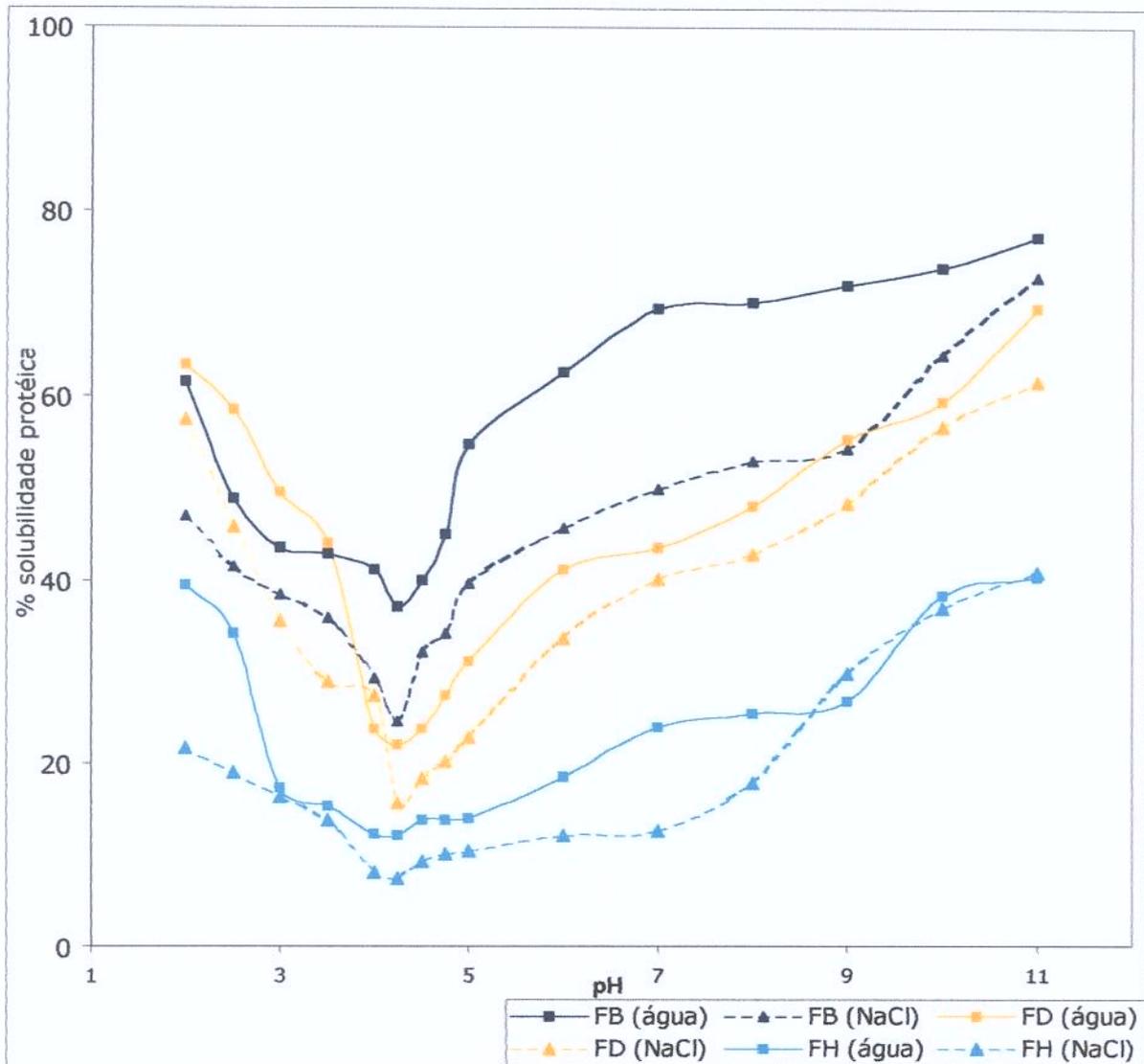


Figura 11 - Perfil de solubilidade protéica das farinhas de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) em água desionizada e solução salina (NaCl 0,1M). FB: farinha-base; FD: farinha desengordurada; FH: farinha hidrolisada com α -amilase.

Não existem na literatura consultada dados relacionados ao perfil de solubilidade protéica de farinha de amaranto, apenas em pHs isolados. Com o intuito de otimizar a análise dos resultados obtidos, os pHs foram divididos em três faixas: os pHs ácidos, os pHs da região isoelétrica e os pHs neutros e alcalinos.

a) Perfil de solubilidade protéica em pHs ácidos ($2,0 \leq \text{pH} \leq 3,5$)

A **Tabela 14** apresenta os valores da solubilidade protéica das farinhas em função do solvente nos pHs ácidos.

Tabela 14 – Perfil de solubilidade protéica¹ das farinhas de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) em pH ácidos em água desionizada e solução salina (NaCl) a 0,1M.

	NaCl			Água desionizada		
	FB	FD	FH	FB	FD	FH
2,0	47,0 (3,3) ^a	57,6 (2,7) ^a	21,7 (1,9) ^a	61,5 (4,3) ^a	63,4 (6,6) ^a	39,5 (1,5) ^a
2,5	41,5 (1,7) ^a	45,9 (3,2) ^b	18,9 (1,3) ^a	48,8 (2,9) ^b	58,5 (5,7) ^a	34,3 (2,9) ^a
3,0	38,6 (3,3) ^b	35,6 (2,7) ^c	16,4 (1,1) ^b	43,5 (4,3) ^b	49,5 (2,7) ^b	17,3 (1,8) ^b
3,5	35,9 (2,7) ^c	29,1 (1,6) ^c	13,8 (0,4) ^c	41,1 (1,7) ^b	44,1 (4,8) ^b	15,3 (1,8) ^b

¹valores médios de 6 determinações (\pm DP) com letras diferentes na mesma coluna possuem diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste Tukey.

FB: farinha-base; FD: farinha desengordurada; FH: farinha hidrolisada com α -amilase

A solubilidade foi superior em pHs extremamente ácidos (2 e 2,5) em todas farinhas e solventes quando comparada ao pHs ácidos (3 e 3,5). Tal fato se explica através do predomínio de cargas positivas em pHs ácido que provoca maior interação entre as moléculas de proteína e água e também maior repulsão entre as moléculas de proteína, aumentando significativamente a solubilidade das mesmas nesta condição (Sgarbieri, 1996).

b) Perfil de solubilidade protéica na região isoelétrica ($4,0 \leq \text{pH} \leq 5,0$)

A **Tabela 15** apresenta os valores da solubilidade protéica das farinhas em função do solvente na região isoelétrica.

Os resultados de solubilidade protéica em pHs próximos ao ponto isoelétrico também demonstram que a água foi o solvente capaz de solubilizar maior teor de proteína em ambas as farinhas e pHs, porém com teores inferiores aos encontrados nos pHs ácidos, visto que a região analisada está próxima ao ponto isoelétrico da proteína de amaranto, cujo valor é pI 4,6 (Fidantsi & Doxastakis, 2001).

Tabela 15 – Perfil de solubilidade protéica¹ das farinhas de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) na região isoelétrica em água desionizada e solução salina a 0,1M.

	NaCl			Água desionizada		
	FB	FD	FH	FB	FD	FH
4,0	29,5 (1,6) ^a	27,6 (2,8) ^a	8,1 (0,7) ^a	40,1 (5,7) ^a	23,9 (1,6) ^a	12,2 (0,4) ^a
4,25	24,7 (1,6) ^b	15,6 (1,6) ^b	7,4 (0,4) ^a	37,2 (2,9) ^a	22,0 (2,7) ^a	12,2 (1,0) ^a
4,5	32,4 (1,6) ^{ab}	18,4 (1,6) ^{bc}	9,2 (0,7) ^{ac}	42,9 (2,9) ^a	23,9 (1,6) ^a	13,8 (0,7) ^a
4,75	34,2 (2,8) ^{acd}	20,2 (1,6) ^{cd}	10,0 (0,6) ^b	50,6 (3,3) ^b	27,5 (2,7) ^{ab}	13,8 (0,7) ^a
5,0	39,7 (2,8) ^d	22,9 (1,6) ^{ad}	10,4 (0,7) ^b	54,7 (2,8) ^b	31,3 (4,2) ^b	14,0 (0,6) ^a

¹valores médios de 6 determinações (\pm DP) com letras diferentes na mesma coluna possuem diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste Tukey.

FB: farinha-base; FD: farinha desengordurada; FH: farinha hidrolisada com α -amilase

Nesta região, os números de cargas positivos e negativos do meio são iguais e, portanto, se neutralizam intramolecularmente. Assim, as moléculas de proteína apresentam menor afinidade pelo solvente, atraindo-se mutuamente e formando uma massa insuficientemente solvatada que se precipita, apresentando um mínimo de solubilidade (Damodaran, 1996).

O pH 4,25 foi o que obteve menor solubilidade nos dois solventes e em todas as farinhas, entretanto não teve diferença estatística ($p < 0,05$) dos pHs 4, 4,5 e 4,75. O pH de maior solubilidade neste intervalo foi o pH 5, porém não houve diferença estatística ($p < 0,05$) do pH 4,75.

Os valores próximos da solubilidade protéica neste intervalo podem ter sido provocados por diversos fatores, entre eles o intervalo pequeno (pH 4,0 a 5,0), pHs muito próximos e equipamento mal calibrado. No entanto, o intervalo de pHs entre 4 e 4,75 parece ser o de menor solubilidade, confirmando o pH 4,6 como sendo o ponto isoelétrico das proteínas do amaranto (Fidantsi & Doxastaski, 2001).

c) Perfil de solubilidade protéica em pHs neutros e alcalinos (6,0 ≤ pH ≤ 11,0)

A **Tabela 16** apresenta os valores da solubilidade protéica das farinhas em função do solvente em pHs neutros e alcalinos.

Tabela 16 – Perfil de solubilidade protéica¹ das farinhas de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) em pHs neutros e alcalinos em água desionizada e solução salina (NaCl) a 0,1M.

	Farinhas com NaCl			Farinhas com água desionizada		
	FB	FD	FH	FB	FD	FH
6,0	45,7 (2,9) ^a	33,7 (1,5) ^a	12,0 (1,3) ^a	62,5 (4,4) ^a	41,2 (2,7) ^a	18,4 (1,2) ^a
7,0	49,9 (4,4) ^a	40,1 (1,6) ^{ab}	12,5 (0,6) ^a	69,4 (2,0) ^a	43,5 (1,5) ^a	19,1 (0,1) ^a
8,0	53,0 (1,7) ^a	42,8 (1,6) ^b	17,7 (1,2) ^b	70,2 (1,7) ^a	48,0 (2,7) ^{ab}	24,0 (1,0) ^b
9,0	54,2 (2,8) ^a	48,5 (1,6) ^b	29,9 (0,7) ^c	72,0 (2,9) ^b	55,3 (5,7) ^b	26,9 (0,8) ^{bc}
10,0	64,4 (1,7) ^b	56,6 (2,7) ^c	37,0 (1,3) ^d	73,8 (2,8) ^b	59,4 (2,7) ^b	38,3 (0,7) ^c
11,0	72,7 (4,4) ^b	61,6 (4,2) ^c	40,8 (1,3) ^e	77,2 (2,9) ^b	69,4 (3,2) ^c	40,3 (0,4) ^d

¹valores médios de 6 determinações (±DP) com letras diferentes na mesma coluna possuem diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste Tukey. FB: farinha-base; FD: farinha desengordurada; FH: farinha hidrolisada com α -amilase

Os resultados de solubilidade protéica em pHs neutros e alcalinos demonstram mais uma vez que a água foi o solvente capaz de solubilizar maior teor de proteína em ambas as farinhas e em ambos os pHs em quantidade superior à encontrada nos pHs ácidos e próximos ao ponto isoelétrico.

Houve forte tendência no aumento da solubilidade conforme o incremento do pH, tendo sido o pH 11 o que obteve maior solubilidade nos dois solventes e em todas as farinhas. Em pHs alcalinos ocorre o predomínio de cargas negativas (assim como nos pHs ácidos, o predomínio de cargas positivas), que provocam maior interação entre as moléculas de proteína e água e também maior repulsão entre as moléculas de proteína, aumentando a solubilidade nestes pHs (Sgarbieri, 1996).

Em resumo, os pHs alcalinos provocaram maior solubilidade e o intervalo de pHs entre 4,0 e 5,0 obtiveram o menor teor de solubilidade, sendo o pH 4,25 o de menor solubilidade, embora não diferisse estatisticamente dos pHs próximos (4, 4,5 e 4,75). Diante destas informações, a produção dos concentrados foi realizada utilizando a água (solvente capaz de solubilizar mais proteína), o pH de 8,0 (maior solubilização da proteína sem acarretar danos) e o pH 4,25 para a extração da proteína na produção de todos os concentrados.

4.8.2 – Concentrados protéicos

Na **Figura 12** está apresentado o perfil de solubilidade protéica dos concentrados protéicos de amaranto de acordo com os pHs e solventes. Nos concentrados foram estudados apenas 4 pHs, caracterizando os pHs ácido (3,0), pH da região isoelétrica (5,0), pH neutro (7,0) e pH alcalino (9,0).

Todos os concentrados mostraram comportamento típico de uma curva geral de solubilidade protéica, isto é, com o máximo de solubilidade em regiões ácidas e básicas e o mínimo de solubilidade em regiões que provavelmente possuem o ponto isoelétrico da proteína, neste caso próximo de 5.

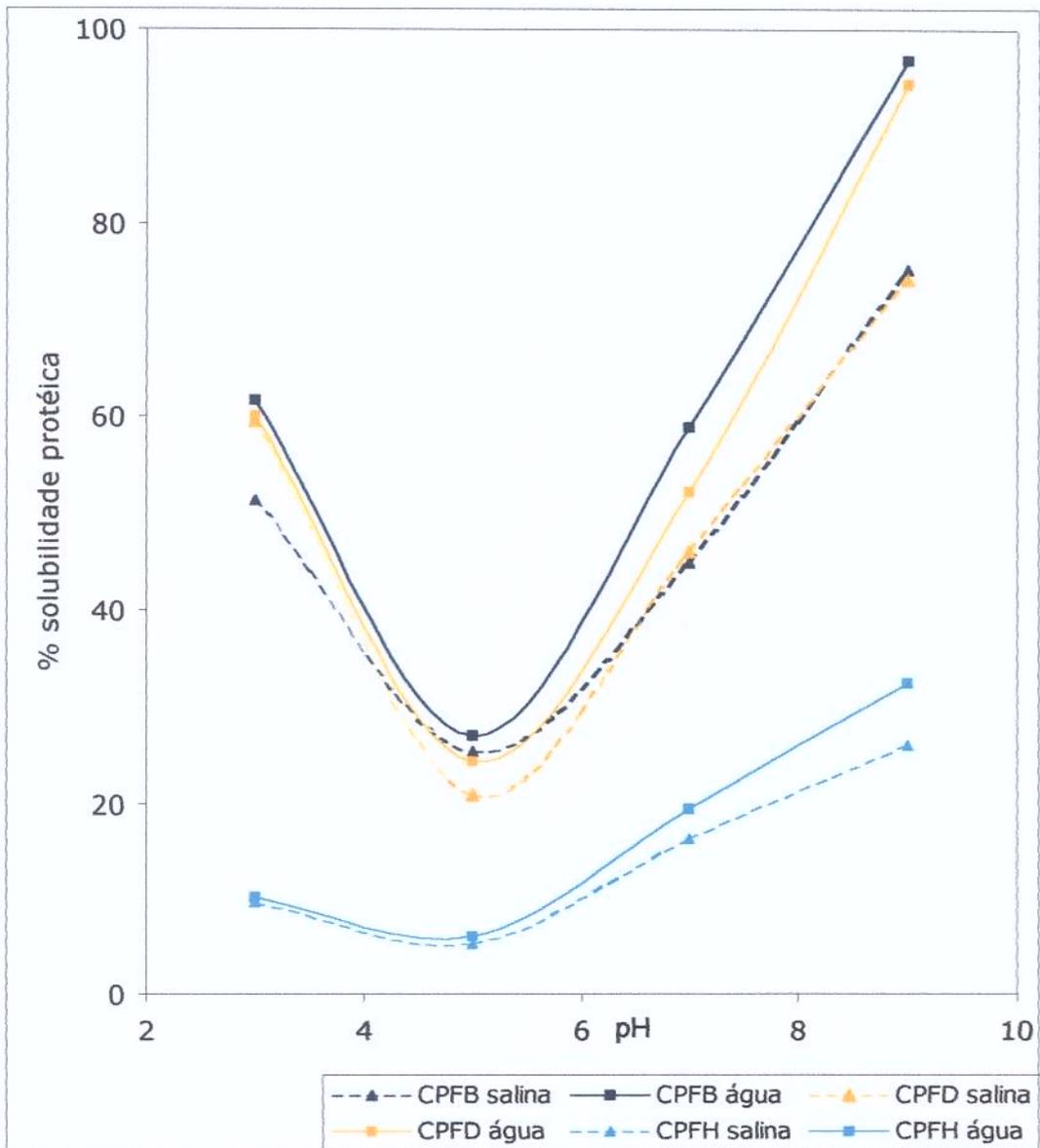


Figura 12 - Perfil de solubilidade protéica dos concentrados protéicos das farinhas de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) em solução salina e água desionizada. CPFB: concentrado protéico da farinha-base; CPFD: concentrado protéico da farinha desengordurada; CPFH: concentrado protéico da farinha hidrolisada com α -amilase.

O pH 9 foi o que apresentou maior solubilidade protéica, independente do tipo de farinha e do solvente empregado. Isto pode ser explicado em função do predomínio de cargas negativas que ocorre em pHs alcalinos, provocando maior interação entre as moléculas de proteína e água e a maior repulsão entre as moléculas de proteína, aumentando a solubilidade no referido pH (Sgarbieri, 1996).

Os pHs 3 e 7 também resultaram em taxas de solubilidade altas, porém inferiores aos atingidos pelo pH 9. No pH ácido (3), ocorre o predomínio de cargas positivas e no pH neutro (7) de cargas negativas em função do afastamento da região do pI, as quais provoca maior interação entre as moléculas de proteína e água (Sgarbieri, 1996).

Dentre todos os pHs estudados, o pH 5 foi o que atingiu menor solubilidade nos concentrados. Este pH está próximo ao ponto isoelétrico das proteínas do amaranto (4,6) e os números de cargas positivos e negativos do meio são iguais, ocorrendo à neutralização intramolecular com menor afinidade entre as moléculas de proteína e o solvente e, portanto forma-se uma massa insolúvel que se precipita (Damodaran, 1996; Sgarbieri, 1998).

O único trabalho encontrado na literatura sobre a obtenção de concentrado protéico de amaranto foi realizado por Lucquez e colaboradores, em 1996. Estes autores solubilizaram ~94,3% da proteína em pH 11, obtendo um concentrado com teor protéico de ~53%.

Em trabalho recente, Takeiti (2002) pesquisou o perfil de solubilidade de isolado de soja com teor protéico de 97%, nos pHs 3, 5 e 7, em NaCl 0,1M e obteve correspondentemente 14%, 1% e 12% de solubilidade da proteína. Vale ressaltar que, as características das proteínas da soja são diferentes das do amaranto no que tange às frações protéicas e composição em aminoácidos. Os valores encontrados por esse autor são muito inferiores aos obtidos no atual estudo. Isto poderia ser explicado pela alta quantidade de albuminas (proteínas solúveis em água), pela presença de resíduos aminoacídicos com caráter ácido (aspartila e glutamila) e básico (histidila e arginila) que as proteínas do amaranto apresentam.

Trabalho envolvendo proteínas plasmáticas de sangue bovino (globulinas e albuminas) e seu perfil de solubilidade indicaram que as globulinas mostraram quase 70% de solubilidade protéica em pH 3, ~60% em pH 5 e ~80% em pH 7, enquanto que as albuminas apresentaram ~75% de solubilidade em pH 3, ~90% em pH 5 e ~85% em pH 7. Estes dados mostram a alta capacidade de solubilidade que as proteínas plasmáticas possuem, devido a presença de características comuns com as proteínas do amaranto, como os resíduos e as frações protéicas (Prata, 2002).

4.8.3 – Comparação do perfil de solubilidade protéica de farinhas e concentrados

A **Figura 13** apresenta somente os pHs comuns as farinhas e aos concentrados (pHs 3, 5, 7 e 9).

Neste gráfico onde estão apresentados somente os pHs comuns aos dois produtos (farinhas e concentrados) podemos perceber que ambos possuem curvas típicas de perfis de solubilidade (alto teor de proteína solúvel em pHs ácidos e básicos e baixo em pHs próxima da região isoelétrica). Porém a diferença significativa seria que os concentrados apresentam acentuação mais acentuada no pH 5, caracterizando o perfil de solubilidade em curva em formato "V" e as farinhas em formato "U" com acentuação mais ampla. O acentuação nos concentrados deve-se provavelmente pelo isolamento da proteína.

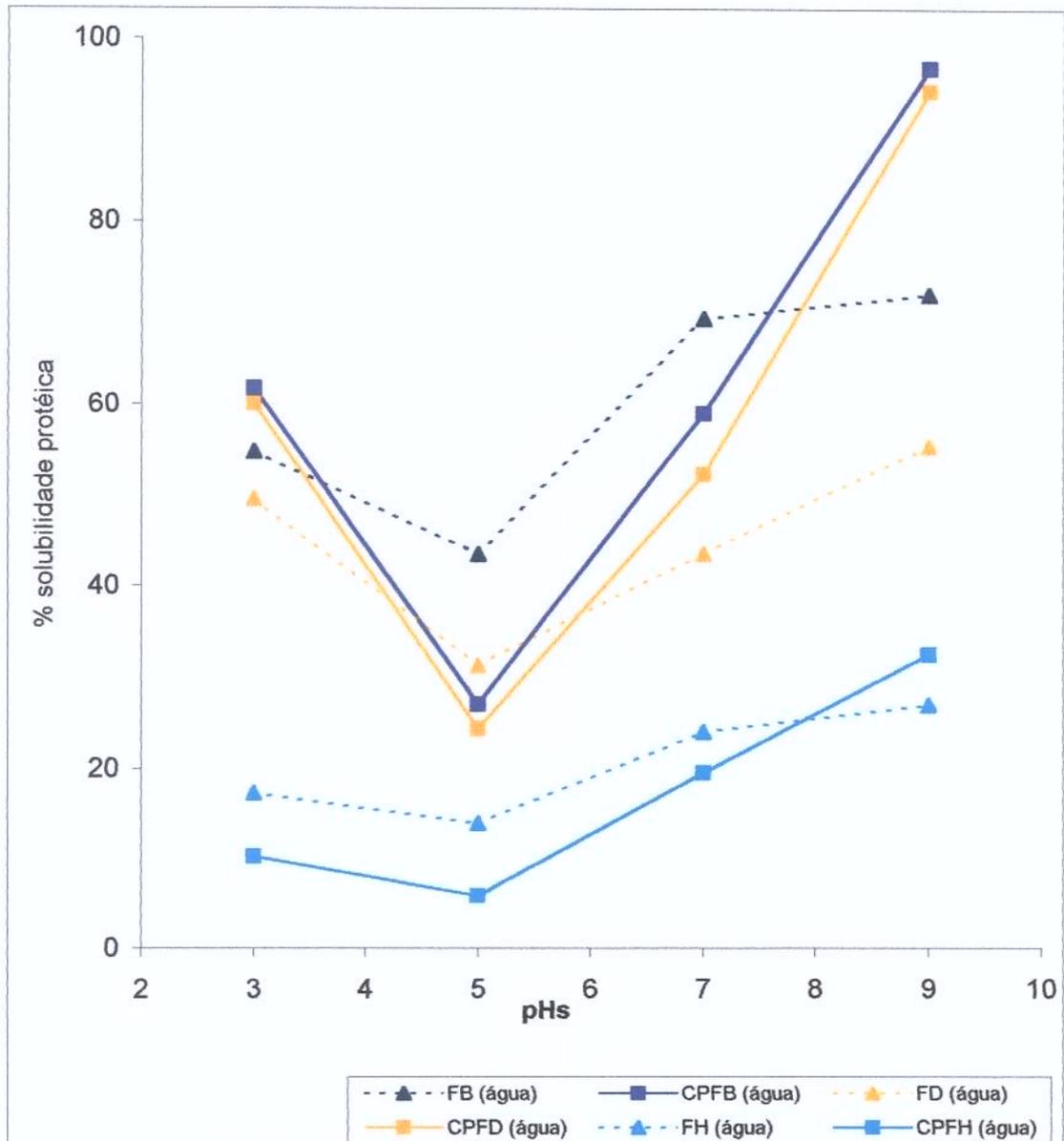


Figura 13 - Perfil de solubilidade protéica das farinhas e concentrados protéicos de amaranto (*Amaranthus cruentus* var Japônica) em água desionizada. FB: farinha-base; FD: farinha desengordurada; FH: farinha hidrolisada com α -amilase; CPFB: concentrado protéico da farinha-base; CPFDB: concentrado protéico da farinha desengordurada; CPFH: concentrado protéico da farinha hidrolisada com α -amilase.

4.9 - Cor das farinhas e concentrados de amaranto

Na **Tabela 17**, estão apresentados os valores dos parâmetros de coloração "L" (100 branco e 0 preto), "a" (+vermelho e -verde) e "b" (+amarelo e -azul) para as farinhas de amaranto produzidas e o padrão da farinha integral padrão (FI) e hiperprotéica padrão (FHP) utilizado em pesquisa realizada por Paredes-López et al. (1990).

Tabela 17 – Parâmetros de coloração¹ das farinhas de amaranto (*Amaranthus cruentus* variedade Japônica) comparadas a dois padrões de referência²

Parâmetros	Farinhas testes			Farinhas padrão	
	FB ¹	FD ¹	FH ¹	FIP ²	FHP ²
L	78,8 ^a (1,09)	81,0 ^a (0,95)	66,5 ^c (0,06)	81,9 ^a	72,3 ^b
A	1,8 ^a (0,03)	1,5 ^a (0,27)	5,3 ^b (0,05)	0,3 ^c	0,5 ^c
b	11,6 ^a (0,05)	10,4 ^a (0,69)	16,6 ^b (0,05)	11,8 ^a	15,7 ^b

¹valores médios em 3 determinações (\pm DP) com letras diferentes na mesma linha possuem diferença estatística ($p < 0,05$) pelo teste Tukey. ²Paredes-López et al., 1990.

FB: farinha-base; FD: farinha desengordurada; FH: farinha hidrolisada com α -amilase; FI: farinha integral; FHA: farinha hiperprotéica.

Os resultados mostraram que o valor dos parâmetros entre a farinha-base e farinha desengordurada não apresentaram diferença estatística ($p < 0,05$) entre si, porém quando comparadas a farinha integral padrão, apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) no parâmetro "a", caracterizando-as por possuírem cor vermelha mais intensa que o padrão adotado.

A farinha hidrolisada obtida no presente estudo apresentou todos os valores dos parâmetros estatisticamente diferentes ($p < 0,05$) em relação às outras duas farinhas processadas (FB e FD). Quando comparada ao padrão (FHA), a farinha obtida apresenta igualdade somente no parâmetro "b", caracterizando-se como uma farinha mais amarelada que o padrão.

Os valores baixo do parâmetro "L" e o alto de "a" da farinha hidrolisada em relação as farinha-base e a desengordurada, caracterizam-na ser uma farinha avermelhada, podendo ser atribuído ao processo de hidrólise dos amidos, que pode ter causado reação de *Maillard*, ocasionando um escurecimento na farinha, acarretando prejuízo visual a esta farinha.

5 - CONCLUSÕES

A partir dos resultados apresentados podemos concluir que:

a) independente de se o processo utilizado para a obtenção do isolado envolver desengorduramento ou hidrólise dos amidos, não foi possível obter um produto com 90% de proteína;

b) apesar do processo de desengorduramento da farinha de amaranto ser lento, esta técnica parece ser a mais eficaz no que diz respeito à recuperação protéica do grão (47%) e ao teor de proteína (80%) do concentrado produzido à partir desta farinha;

c) o processo de hidrólise dos amidos na farinha de amaranto resultou num produto (farinha hidrolisada) com alto teor de proteína (30%), porém quando este produto foi utilizado para extrair a proteína, a recuperação de nitrogênio foi pequena (20%);

d) a farinha-base e o respectivo concentrado protéico possuíram maior solubilidade na maioria dos pHs estudados (ácidos, próximos ao ponto isoelétrico, neutros e alcalinos), independente do solvente utilizado (água ou solução salina), sendo que os mesmos são considerados as melhores opções na formulação de produtos alimentícios líquidos com propriedade nutricional e funcional tecnológica;

e) o pH de menor solubilidade em todas as farinhas, independente do solvente, foi 4,25, sendo o mesmo utilizado para a produção de todos os concentrados protéicos;

f) os perfis de ácidos graxos das farinhas e os respectivos concentrados foram semelhantes e apresentaram predomínio dos ácidos graxos oléico e linoléico, com 60% da área total dos ácidos graxos identificados;

g) os perfis de aminoácido das farinhas e concentrados protéicos mostraram que: os aminoácidos sulfurados encontram-se em alto teor, a leucina foi o primeiro aminoácido limitante em todos concentrados, farinha-base e desengordurada e a lisina na farinha hidrolisada;

h) o processo de desengorduramento e de hidrólise amilolítica da farinha provocou no perfil eletroforético aumento no número de bandas identificadas, sendo mais evidente nos produtos de desengorduramento;

i) o processo de hidrólise enzimática e térmica da farinha de amaranto provocou escurecimento na farinha hidrolisada, acarretando prejuízo visual na farinha hidrolisada.

6 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

AKINGBALA, J.O.; ADEYEMI, I.A.; SANGODOYIN, S.O.; OKE, O.L. Evaluation of amaranth grains for ogi manufacture. **Plants Foods for Human Nutrition**, Netherlands, v. 46, n. 1, p. 19-26, 1994.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) - Horwitz W. (Ed.) **Official methods of analysis of the Association of Official Chemists**, 15th Edition, Arlington, AOAC Inc., Washington. D.C., 1141 p., 1990.

ARRESE, E.L.; SORGENTINI, D.A.; WAGNER, J.R.; ANON, M.C. Electrophoretic, solubility and functional properties of commercial soy protein isolates. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 39, n. 6, p. 1029-1032, 1991.

BARBA de la ROSA, A.P; PAREDES-LÓPEZ, O. Development of an enzymatic procedure to produce. **Biotechnology Letters**, New York, v. 11, n. 6, p. 417-422, 1989.

BECKER, R.; WHEELER, E.L.; LORENZ, K.; STAFFORD, A.E.; GROSJEAN, O.K.; BETSCHART, A.A.; SAUNDERS, R.M. A compositional study of amaranth grain. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 46, n. 4, p. 1175-1180, 1981.

BREENE, W.M. Food uses of amaranth grain. **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 36, n. 5, p. 426-430, 1991.

BEJOSANO, F.P.; CORKE, H. Protein quality evaluation of amaranthus wholemeal flours and protein concentrates. **Journal of Science Food Agriculture**, United Kingdom, v. 76, n. 1, p. 100-106, 1998.

BETSCHART, A.; IRVING, D.W.; SHEPHERD, A.; SAUNDERS, R.M.. *Amaranthus cruentus*: milling characteristics, distribution of nutrients within seed components and the effects of temperature on nutrition quality. **Journal of Food Science**, Chicago v. 46, n. 4, p.1181-1187, 1981.

BRESSANI, R.; ELIAS, C.G.; GARCIA-SOTO, A. Nutritional evaluation of roasted, flakes and popped *A. caudatus*. **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, Caracas, v. 37, n. 3, p. 525-531, 1987.

BRESSANI, R.; ELIAS, L.G; GARCIA-SOTO, A. Limiting amino acids in raw and processed amaranth grain protein from biological tests. **Plants Foods for Human Nutrition**, Netherlands, v. 39, n. 3, p. 223-234, 1989.

BRESSANI, R.; GARCIA-VELLA, L. A. Protein fractions in amaranth grain and their chemical characterization. **Journal Agricultural of Food Chemistry**, Washington, v.38, n.5, p. 1205-1209, 1990

BRESSANI, R.; ELIAS, L.G.; GARCIA-SOTO, A. Protein quality evaluation of amaranth in adult humans. **Plants Foods for Human Nutrition**, Netherlands, v. 43, n. 2, p. 123-143, 1993.

CHEN, S.; PAREDES-LOPEZ, O. Isolation and characterization of the 11S globulin from amaranth seeds. **Journal of Food Biochemistry**, Trumbull, v. 21, n. 1, p. 53-65, 1997.

COLLARES, E.F.; WOISKI, J.R. Orientações dietéticas nas síndromes diarreicas. In: WOISKI, J.R. **Nutrição e dietética em pediatria**, 4. ed., Rio de Janeiro: Atheneu, 1994. 189p.

CORREA, A.D.; JOKL, L.; CARLSSON, R. Amino acid composition of some *Amaranthus sp* grain proteins and of its fractions. **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, Caracas, v.36, n.3, p. 466-476, 1986^a.

CORREA, A.D.; JOKL, L.; CARLSSON, R. Chemical constituents *in vitro* protein digestibility and presence of anti nutritional substances in amaranth grains. **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, Caracas, v. 36, n. 2, p. 25-29, 1986^b.

DAMODARAN, S. Amino acids, peptides and protein. In: FENEMA, O.R. (Ed.). **Food Chemistry**, 3rd, New York: Marcel Dekker, 1996. p. 373.

DEL VALLE, F.R.; ESCOBEDO, M.; SANCHEZ-MARROQUIN, A.; BOURGES, H.; BOCK, M.A.; BIEMER, P. Nitrogen balance in infants fed formulas containing amaranth or a soy-oats formula. **Cereal of Chemists**, St. Paul, v. 62, n. 2, p. 156-159, 1992.

DEL VALLE, F. R.; ESCOBEDO, M.; SANCHEZ-MARROQUIN, A.; BOURGES, H.; BOCK, M.A.; BIEMER, P. Chemical and nutritional evaluation of two amaranth (*A. cruentus*) - based infant formulas. **Plants Foods for Human Nutrition**, Netherlands, v. 43, n. 2, p. 1145-1156, 1993.

DELAHAYE, E.P.; PORTILLO, M. Enriquecimiento de harina precocidas de maiz blanco (*Zea mays*) com harina de semilla de amaranto (*Amaranth sp*) **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, Caracas, v. 40, n. 3, p. 360-307, 1990.

FIDANTSI, A.; DOXASTAKIS, G. Emulsifying and foaming properties of amaranth seed protein isolates. **Colloids and Surfaces B**, Amsterdam, v. 21, n. 1, p. 119-124, 2001.

FOOD AND AGRICULTURAL ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Protein and Energy Requeriments**. Rome: 1985.

FORATO, L.A.; COLNAGO, L.A. GARRATT, R.C.; LOPES, M.A. Identification of free fatty acids in maize protein and purified α zeins by ¹³C and ¹H nuclear

magnetic resonance. **Biochymica et Biophysic Acta**, Amsterdam, v. 1543, n. 1, p. 106-114, 2000.

FRIEDMAN, M.; GUMBANN, M.; MASTERS, P.M. Protein-Alkali Reactions: Chemistry, Toxicology and Nutritional Consequences. In: M. FRIEDMAN (Ed.). **Nutritional and toxicological aspects of food safety**, New York: Plenum, 1984. 340p.

GORINSTEIN, S.; ZEMSER, M.; FLIESS, A.; SHNITMAN, I.; PAREDES-LÓPEZ, O.; YAMAMOTO, K.; KOBAYASHI, S. Computation analysis of amino acid residue sequences of amaranth and some other proteins. **Bioscience and Biotechnology and Biochemical**, Osaka, v. 62, n. 10, p. 1845-1851, 1998.

GUPTA, C.; SEHGAL, S. Development acceptability and nutrition value of weaning mixture. **Plants Foods for Human Nutrition**, Netherlands, v. 41, n. 2, p. 107-116, 1991.

GUPTA, C.; SEHGAL, S.. Protein quality of developed home made weaning foods. **Plants Foods for Human Nutrition**, Netherlands, v. 42, n. 3, p. 239-246, 1992.

GUZMAN-MALDONADO, H.; PAREDES-LÓPEZ, O. Production of high protein flour and maltodextrins from amaranth grain. **Process and Biochemistry**, New York, v. 29, n. 4, p. 289-293, 1994.

HOOP.T.P.; WOODS, R.R. Prediction of protein antigenic determinants from aminoacids sequences. **Proceeding of the National Academy of Science**, v. 78, n. 6, p. 3824-3828, 1981.

HOOVER, R.; SINNOT, A. W.; PERERA, C. Physicochemical characterization of starches from *Amaranthus cruentus* grains. **Starch**, Weinheim, v. 50, n. 11-12, p. 456-463, 1998.

HOZOVA, B.; BUCHTOVA, V.; DODOK, L.; ZEMANOVIC, J. Microbiological and sensory aspect of stored amaranth biscuit and amaranth crackers. **Nahrung**, Deerfield Beach. v. 41, n. 3, p. 155-158, 1997.

IMERI, A.; ELIAS, C.G.; BRESSANI, R. Amaranto : una alternativa tecnologica para la alimentacion infantil. **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, Caracas, v. 37, n. 1, p.147-159, 1987a.

IMERI, A.; Efecto del processamiento y de la suplementacion com aminoacidos sobre la calidad proteinica del amaranto (*A. caudatus*). **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, Caracas, v. 37, n. 1, p. 160-173, 1987b.

IRVING, D.W.; BETSCHAT, A.A.; SAUNDERS, R.M. Morphological studies on *Amaranthus cruentus*. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 46, n. 4, p.1170-1174, 1981.

JANE, J.; CHEN, L.; WANG, L.; MANINGAT, C.C. Preparation and properties of small-particle corn starch. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 69, p. 280-283, 1992.

KINSELLA, J.E. (eds). **Food Proteins**, Champaign: American Oil Chemists' Society, 1989. 285p.

KONISKI, Y.; HORIKAWA, K.; OKU, Y.; AZUMAYA, J.; NAKATA, N. Extraction of two albumin fractions from amaranth grains: comparison of some physicochemical properties and the putative localization in the grains. **Agricultural and Biological Chemistry**, Tokyo, v. 55, n. 11, p. 2745-2750, 1991.

KONISKI, Y.; NAKAMURA, R.; SUGIMOTO, Y.; FUGIMORI, K. Transmission electron microscopy of protein bodies in the *Amaranthus cruentus* seed embryo. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, Osaka, v. 59, n. 11, p. 2140-2142, 1995.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural protein during the assembly of the head bacteriophage T4. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.

LANE, J.; HINRY, J.; EYNON, L. Determination of reducing sugars by means of Fehling's solution with methylene blue as internal indicator. **Journal of Society of Chemical Industry**, London, v. 42, n. 4, p. 32T-36T, 1923.

LEHMANN, J.W. Case history of grain amaranth as an alternative crop. **Cereal Foods World**, St. Paul, v. 41, n. 5, p. 399-411, 1996.

LEÓN, J.M.; GODINEZ, M. Del P.M.; SALOMÓN, P.C. Desarrollo de una pasta para sopa desmenuada de acuerdo a los gustos y recomendaciones nutricionales para los ancianos. **Archivos Latino Americanos de Nutrición**, Caracas, v. 47, n. 2, p. 152-156, 1997.

LORENZ, K.; WRIGH, B. Phytate and tannin content of amaranth. **Food Chemistry**, Oxford, v. 14, n. 1, p. 27-34, 1984.

LUQUEZ, N.G.; FERNÁNDEZ, S.; MUCCIARELI, M. Concentrado proteico de *Amaranthus cruentus*. Métodos de extracción. Propiedades funcionales. **Archivos Latino Americanos de Nutrición**, Caracas, v. 46, n. 2, p. 143-145, 1996.

LUQUEZ, N.; FERNANDEZ, D.; ARELLANO, M.L.-MUCCIARELI, S.I. Concentrado proteico de *Amaranthus mantegazzianus*. Caracterización-Físico-químico-biológico. **Archivos Latino Americanos de Nutrición**, Caracas, v. 47, n. 14, p. 359-361, 1997.

MARCÍLIO, R. **Uso do grão de amaranto no desenvolvimento de produto tipo "cookie" isento de glúten. Características nutricionais e**

sensoriais. Campinas, 2001. Tese (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

MARCONE, M.F.; NIEKAMO, F.K.; MAGUER, M.J.L.L.; YADA, R.Y. Purifications and characterization of the physicochemical properties of the albumin fraction from the seeds of *Amaranthus hypochondriacus*. **Food Chemistry**, Oxford, v. 51, p. 287-294, 1994.

MARCONE, M.F.; YADA, R.Y. Isolation, purification and seed globulin from *Amaranthus hypochondriacus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Washington, v. 55, n. 9, p. 2281-2289, 1991.

MARCONE, M.F.; KAKUDA, Y.; YADA, R.Y. Salt-soluble seed globulins of dicotyledonous and monocotyledonous plants I. Isolation/purification and characterization. **Food Chemistry**, Oxford, v. 63, n. 1, p. 27-47, 1998a.

MARCONE, M.F.; KAKUDA, Y.; YADA, R.Y. Salt-soluble seed globulins of dicotyledonous and monocotyledonous plants II. Structural characterization. **Food Chemistry**, Oxford, v. 63, n. 2, p. 265-274, 1998b.

MARCONE, M.F.; KAKUDA, Y.; YADA, R.Y. Immunochemical examination of the surface physico-chemical properties of various dicotyledonous and monocotyledonous globulin seed storage protein. **Food Chemistry**, Oxford, v. 63, n. 1, p. 85-95, 1998c.

MARCONE, M.F. Evidence confirming the existence of 7S globulin-like storage protein in *Amaranthus hypochondriacus* seed. **Food Chemistry**, Oxford, v. 65, n.1, p. 533-542, 1999a.

MARCONE, M.F. Possible nutritional implications of varietal influence on the 7S/11S seed globulin ratios in Amaranth. **Plant Foods of Human Nutrition**, Netherlands, v. 54, n.1, p. 375-380, 1999b.

MARCONE, M.F. A comparative study of thermally induced conformation changes occurring in food grade seed proteins. **Italian Journal of Food Science**, Pinerolo, v. 11, n. 3, p. 193-206, 1999c.

MARCONE, M.; KAKUDA, Y. A comparative study of the functional properties of amaranth and soybean globulin isolates. **Nahrung**, Deerfield Beach, v. 43, n. 6, p. 368-373, 1999d.

MARTÍNEZ, E.N.; AÑÓN, M.C. Composition and structural characterization of amaranth protein isolates. An electrophoretic and calorimetric study. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, Washington, v. 44, n. 9, p. 2523-2530, 1996.

MATUZ, J.; BARTOK, T. MOROCZ-SALAMON, K.; BONA, L. Structure and potential allergenic character of cereal protein I. Protein content and amino acid composition. **Cereal Research Communication**, Szeged, v. 28, n. 3, p. 263-270, 2000^a.

MATUZ, J.; POKA, R. BOLDIZSAR, I.; SZERDAHELYI, E.; HAJOS, G. Structure and potential allergenic character of cereal protein II. Potential allergens in cereal samples. **Cereal Research Communication**, Szeged, v. 28, n. 4, p. 433-442, 2000^b.

MENDOZA, L.; BRESSANI, R. Nutritional and functional characteristics of extrusion-cooked amaranth flour. **Cereal of Chemistry**, St. Paul, v. 64, n. 4, p. 218-222, 1987.

MORR, C.V.; GERMAN, B.; KINSELLA, J.E.; REGENSTEIN, J.M.; VAN BUREN, J.P.; KILARA, A.; LEWWIS, B.A.; MANGINO, M.E. A collaborative study to develop a standartized food protein solubility procedure. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 50, n. 6, p. 1715-1718, 1985.

PAREDES-LÓPEZ, O. MORA-ESCOBEDO, R.; ORDORICA-FALOMIR, R.. Isolation of amaranth proteins. **Lebensmittel Wissenchaft & Technologie**, Zurich, v. 21, n. 1, p. 59-61, 1988.

PAREDES-LÓPEZ, O.; BARBA de la ROSA, A.P.; CÁRABEZ-TREJO, A. Enzymatic production of high protein amaranth flour and carbohydrate rich fraction. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 55, n. 4, p. 1157-1161, 1990.

PEREZ, E.; BAHNASSEY, Y.A.; BREENE, W.M. A simple laboratory scale method for isolation of amaranth starch. **Starch**, Weinheim, v. 45, n. 6, p. 211-214, 1993.

PRATA, A.S. **Proteínas do soro bovino propriedades nutritivas e funcionais**. Campinas, 2002. Tese (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

RADOSAVLJEVIC, M.; JANE, J.; JOHNSON, L.A. Isolation of amaranth starch by diluted alkaline-protease treatment. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 75, n. 2, p. 212-216, 1998.

RAYAS-DUARTE, P. MOCK, C.M.; SATTERLEE, L.D. Quality of spaghetti containing buckwheat, amaranth and lupin flour. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 73, n. 3, p. 381-387, 1996.

ROMERO-ZEPEDA, H.; PAREDES-LOPEZ, O. Isolation and characterization amaranthin the 11S amaranth seed globulin. **Journal of Food Biochemistry**, Trumbull, v. 19, n 1, p. 329-339, 1996.

SANCHEZ-MARROQUIN, A.; MAYA, S. Industrial Corn flour enrichment with whole amaranth flour and milling fractions in corn based products. **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, Caracas, v. 35, n. 3, p. 518-535, 1985.

SANCHEZ-MARROQUIN, A.; DEL VALLE, F.R.; ESCOBEDO, M.; AVITIA, R.; MAYA, S.; VEGA, M.. Evaluation of whole amaranth (*A. cruentus*) flour, its air classified fractions and blends of these with wheat and oats as possible

components for infants formulas. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 51, n. 5, p. 1231-1234, 1986.

SAUNDERS, R. M.; BECKER, R. Amaranthus: a potential food and a feed resource. In: **Advance Cereal Science Technology**, v. 6, cap. 6, p. 357-398, 1984.

SEGURA-NIETO, M.; VAZQUEZ-SANHEZ, N.; RUBIO-VELAZQUEZ, H.; OLGUIN-MARTINEZ, L.E.; RODRIGUEZ-NESTER, C.E.; HERRERA-ESTRELLA, L. Characterization of amaranth (*A. hypochondriacus* L.) seed proteins. **Journal Agricultural of Food Science**, Washington, v. 40, n. 9, p. 1553-1558, 1992.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos - propriedades, degradações e modificações**. São Paulo: Varela, 1996. 517p.

SGARBIERI, V.C. Propriedades funcionais das proteínas em alimentos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, São Paulo, v. 32, n. 1, 105-126, 1998.

SINGHAL, R.S.; KULKARNI, P.R. Review: Amaranths - an underutilized resource. **International Journal of Food Science Technology**, Oxford, v. 23, n. 2, p. 125-139, 1988.

SORIANO-SANTOS, J.; IWABUCHI, S.; FUJIMOTO, K. Solubility of amaranth seed proteins in sodium sulphate and sodium choride. The main factor in quantitative extraction for analysis. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 27, n.3, p. 337-346, 1992.

SORIANO-SANTOS, J.; CORDOBA-SALGADO, M.A. Evaluacion de diferentes métodos de solubilización de nitrógeno para la obtención de concentrados proteínicos de semilla de amaranto. **Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos**, Barcelona, v. 35, n. 2, p. 161-177, 1995.

SPACKMAN, D.H.; STEIN, W.H.; MOORE, A. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 30, n. 7, p. 1190-1260, 1958.

TAKEITI, C.Y. **Influência do tratamento térmico nas propriedades funcionais de isolados protéicos de soja e de seus hidrolisados enzimáticos**. Campinas, 2002. Tese (Mestrado em Alimentos e Nutrição) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

TEUTONICO, R. A.; KNORR, R. Amaranth: composition, properties and applications of rediscovered food crop. **Food Technology**, Chicago, v. 39, n. 4, p. 49-61, 1985.

TOSI, E.; CIAPPINI, N.C.; MASCIARELL, R.; R.E.E. Uso di harina integral de amaranto y harina de trigo un la fabricacion de galetital. **Alimentaria**, Buenos Aires, p. 51-54, 1994.

TOSI, E.; CIAPPINI, M.C.; MASCIARELLI, R.; RE, R. Utilizacion de la harina integral de amaranto (*A. cruentus*) en la fabricacion de galletas para celiacos. **Alimentaria**, Buenos Aires, v. 1, n. 1, p. 49-51, 1996.

TOVAR, L.R; BRITO, E.; TAKAHASHI, J.; MIYAZAWA, T.; SORIANO, J.; FUJIMOTO, K. Dry heat popping of amaranth seed might damage some of its essential amino acids. **Plants Foods for Human Nutrition**, Netherland, v. 39, n. 4, p. 299-309, 1989.

UZO, J.O.; OKORIE, A.U. Amaranthus Hybridus: a potential grain crop for West Africa. **Nutrition Reports International**, New York, v. 27, n. 3, p. 519-524, 1983.

YÁNEZ, E.Z.; ZACARIAS, I.; RANGER, D.; VASQUEZ, M.; ESTEVEZ, A.M. Caracterizacion química y nutricional del amaranto (*A. cruentus*) **Archivos Latino Americanos de Nutricion**, Caracas, v. 44, n. 1, p. 57-62, 1994.

ERRATA

Página xvii

Onde está escrito: ... apontar aplicações para o concentrado poderiam ser apontadas para a formulação de alimentos...

Leia-se: ... apontar aplicação deste concentrado na formulação de alimentos...

Página 9

Onde está escrito: ... o alto teor de lisina e aminoácidos sulfurados, assim como os baixos conteúdos de treonina, leucina, valina e isoleucina, predominam ...

Leia-se: ... o alto de aminoácidos sulfurados, assim como os baixos conteúdos de treonina, leucina e lisina, predominam ...

Página 12

Onde está escrito: amarantin e conamarantin

Leia-se: amarantina e conamarantina

Página 13

Onde está escrito: glicina

Leia-se: glicinina

Página 22

Onde está escrito: 8,95% de umidade

Leia-se: 7,67% de umidade

Página 27

Onde está escrito: A (massa da farinha em g); B (concentração de proteína da farinha em %); C (massa do concentrado em g); D (concentração de proteína do concentrado em %).

Leia-se: A (massa do concentrado em g); B (concentração de proteína do concentrado em %); C (massa da farinha em g); D (concentração de proteína da farinha em %).

Página 37

Onde está escrito: recuperação protéica 20,48%

Leia-se: recuperação protéica 15,9%

Página 49 e 53

Onde está escrito: a) 14.400Da; b) 20.100Da; c) 30.000Da; d) 43.000Da; e) 67.000Da; f) 94.000Da.

Leia-se: a) 94.000Da; b) 67.000Da; c) 43.000Da; d) 30.000Da; e) 20.100Da; f) 14.400Da.