

ANÁLISE QUÍMICA E NUTRICIONAL DA ESPÉCIE SELVAGEM  
DE AMENDOIM *Arachis villosulicarpa*

POR  
CARLOS FERREIRA GROSSO  
ENG. ALIMENTOS

TESE APRESENTADA PARA OBTENÇÃO  
DO TÍTULO DE MESTRE EM  
CIÊNCIAS DE ALIMENTOS

DR. JAIME AMAYA-FARFAN  
ORIENTADOR

FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS E AGRÍCOLA  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

1 9 8 2

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL

## A G R A D E C I M E N T O S

O autor expressa seu reconhecimento e sinceros agradecimentos:

- Ao Orientador deste trabalho, Professor Dr. Jaime Amaya-Farfan.
- Ao Departamento de Ciências da Faculdade de Engenharia de Alimentos e Agrícola da UNICAMP.
- Ao químico Roberto Machado de Moraes da Seção de Fitotécnica do Instituto Agronômico de Campinas.
- Aos técnicos e funcionários da FEAA.
- À CAPES pelo auxílio financeiro.
- À Tania.
- Aos demais colegas e amigos pelo estímulo e facilidades concedidas para a execução do trabalho.

# ÍNDICE

PÁGINA

RESUMO.....	X
SUMMARY.....	XII
1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	02
2.1. CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA.....	02
2.2. DADOS DE PRODUÇÃO.....	03
2.2.1. PRODUÇÃO MUNDIAL.....	03
2.2.2. PRODUÇÃO NACIONAL.....	04
2.3. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	06
2.4. ANÁLISE QUÍMICA DOS ÁCIDOS GRAXOS NO ÓLEO DA SEMENTE.....	06
2.5. ANÁLISE QUÍMICA DOS CARBOIDRATOS SOLÚVEIS DA SEMENTE.....	09
2.6. ANÁLISE QUÍMICA DA FRAÇÃO PROTÉICA DA SEMENTE	13
2.6.1. AMINOÁCIDOS TOTAIS.....	13
2.6.2. AMINOÁCIDOS LIVRES.....	16
2.6.3. AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA PROTEÍNA DE AMENDOIM.....	19
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1. MATERIAL.....	22
3.2. LIPÍDEOS.....	22
3.2.1. EXTRAÇÃO.....	22
3.2.2. DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS.....	22
3.2.2.1. EXTRATO ETÉREO.....	22
3.2.2.2. EXTRAÇÃO COM MISTURA DE SOL VENTES.....	23

3.2.3. QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS.....	23
3.2.3.1. DERIVAÇÃO.....	23
3.2.3.2. ANÁLISE DE METIL ÉSTERES DE ÁCIDOS GRAXOS POR CROMATOGR <u>A</u> FIA GASOSA.....	23
3.2.3.2.1. PREPARAÇÃO DAS <u>CO</u> LUNAS.....	23
3.2.3.2.2. PADRONIZAÇÃO.....	24
3.2.3.2.3. CROMATOGRAFIA.....	24
3.3. CARBOIDRATOS LIVRES.....	25
3.3.1. EXTRAÇÃO.....	25
3.3.1.1. EXTRAÇÃO ETANÓLICA 80%.....	25
3.3.1.2. EXTRAÇÃO COM MISTURA DE <u>SOL</u> VENTES.....	25
3.3.2. QUANTIFICAÇÃO DOS CARBOIDRATOS LIVRES..	26
3.3.2.1. DERIVAÇÃO.....	26
3.3.2.1.1. DERIVADOS TRIMETIL SILILADOS DE OXIMAS..	26
3.3.2.1.2. DERIVADOS TRIMETIL SILILADOS DE AÇÚCA RES-ÁLCOOIS.....	26
3.3.2.2. ANÁLISE DOS ÉTERES TRIMETIL <u>SI</u> LILADOS DE AÇÚCARES POR CROMA TOGRAFIA GASOSA.....	27
3.3.2.2.1. PREPARAÇÃO DAS <u>CO</u> LUNAS.....	27
3.3.2.2.2. PADRONIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO.....	28
3.3.2.2.3. CROMATOGRAFIA.....	28
3.4. DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS TOTAIS.....	29

3.4.1. PREPARO DAS AMOSTRAS.....	30
3.4.1.1. MISTURA PADRÃO.....	30
3.4.1.2. DETERMINAÇÃO DE TRIPTOFANO...	31
3.4.2. DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA.....	31
3.5. DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS LIVRES.....	31
3.5.1. EXTRAÇÃO UTILIZANDO ÁCIDO TRICLOROÁCE TICO (TCA).....	31
3.5.2. EXTRAÇÃO COM MISTURA DE SOLVENTES.....	32
3.5.3. EXTRAÇÃO COM ÁCIDO SULFOSSALISÍLICO (SSA)	32
3.5.4. ANÁLISE DOS AMINOÁCIDOS LIVRES.....	33
3.6. ENSAIO BIOLÓGICO.....	33
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	37
4.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL.....	37
4.2. ÁCIDOS GRAXOS.....	37
4.2.1. SELEÇÃO DE FASES CROMATOGRÁFICAS.....	37
4.2.2. QUANTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	41
4.3. CARBOIDRATOS.....	47
4.3.1. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	47
4.3.2. DERIVAÇÃO DOS AÇÚCARES.....	48
4.3.3. SELEÇÃO DE FASES.....	48
4.3.4. DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DOS CARBOIDRA TOS NAS AMOSTRAS.....	54
4.3.4.1. LINEARIDADE.....	54
4.3.4.2. QUANTIFICAÇÃO.....	54
4.4. PROTEÍNA.....	63
4.4.1. AMINOÁCIDOS TOTAIS.....	63
4.4.1.1. QUANTIFICAÇÃO DO TRIPTOFANO..	66

4.4.2. AMINOÁCIDOS LIVRES.....	67
4.4.2.1. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO.....	67
4.4.2.2. QUANTIFICAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS LIVRES.....	68
4.4.3. ENSAIO BIOLÓGICO.....	71
5. CONCLUSÕES.....	79
6. BIBLIOGRAFIA.....	82
APÊNDICE A.....	95
APÊNDICE B.....	96
APÊNDICE C.....	97

# ÍNDICE DE TABELAS

PÁGINA

Tabela 1.	Principais países produtores de amendoim. Produção (em toneladas métricas) de 1971/72 a 1977/78 .....	03
Tabela 2.	Produção brasileira de amendoim em casca de 1974 a 1980 .....	04
Tabela 3.	Produção brasileira por Estados, safra das águas e das secas .....	05
Tabela 4.	Total de exportações brasileiras para grãos, farelo e óleo de amendoim (em toneladas) de 1976 a 1978 .....	05
Tabela 5.	Composição centesimal da semente de amendoim .....	06
Tabela 6.	Dados característicos encontrados em óleo de amendoim .....	08
Tabela 7.	Variação na composição de ácidos graxos em 82 variedades estudadas .....	08
Tabela 8.	Conteúdo de carboidratos em farinha desengordurada de amendoim .....	12
Tabela 9.	Composição de aminoácidos da proteína (N x 5,46) de amendoim .....	15
Tabela 10.	Composição centesimal das dietas utilizadas nas determinações biológicas .....	35
Tabela 11.	Componentes da mistura salina utilizada nos ensaios .....	35
Tabela 12.	Componentes da mistura vitamínica utilizada nos ensaios .....	36
Tabela 13.	Composição centesimal das espécies estudadas .....	37

Tabela 14. Tempo de retenção dos derivados metil éster dos ácidos graxos nas fases cromatográficas utilizadas .....	36
Tabela 15. Conteúdo dos ácidos graxos de <i>Arachis hypogaea</i> L., variedade Tatu .....	46
Tabela 16. Conteúdo de ácidos graxos de <i>Arachis villosulicarpa</i> .....	46
Tabela 17. Tempo de retenção dos derivados trimetilsililados de oximas e açúcares não redutores. Fase líquida SE-30 1,5% .....	50
Tabela 18. Tempo de retenção dos derivados trimetilsililados de oximas e açúcares não redutores. Fase líquida OV-17 2% (3,85m) .....	52
Tabela 19. Fatores de equivalência relativos à arabinose .....	60
Tabela 20. Conteúdo de carboidratos livres de <i>A. hypogaea</i> L., variedades Tatu .....	60
Tabela 21. Conteúdo de carboidratos livres de <i>A. villosulicarpa</i> .....	61
Tabela 22. Conteúdo de aminoácidos Totais de <i>A. hypogaea</i> L., variedade Tatu em função de vários tempos de hidrólise .....	64
Tabela 23. Conteúdo de aminoácidos Totais de <i>A. villosulicarpa</i> em função de vários tempos de hidrólise .....	65
Tabela 24. Composição dos aminoácidos livres da farinha desengordurada de <i>Arachis hypogaea</i> L., variedade Tatu, expressa em MGAA/100g de farinha desengordurada .....	69
Tabela 25. Composição dos aminoácidos livres da farinha desengordurada de <i>Arachis villosulicarpa</i> , expressa em MGAA/100g de farinha desengordurada .....	70



Tabela 26. Conteúdo de aminoácidos essenciais para o rato nas dietas contendo farinha desengordurada de <i>Arachis hypogaea</i> L., variedade Tatu (% na dieta) .....	72
Tabela 27. Conteúdo de aminoácidos essenciais para o rato nas dietas contendo farinha desengordurada de <i>Arachis villosulicarpa</i> (% na dieta) .....	73
Tabela 28. Ensaio biológico, valores de "NPU", "NPR", Digestibilidade aparente, "BV" e "PER" após 10 dias de ensaio com dietas contendo farinha desengordurada de <i>Arachis hypogaea</i> L., variedade Tatu .....	74
Tabela 29. Ensaio biológico, valores de "NPU", "NPR", Digestibilidade aparente, "BV" e "PER" após 10 dias de ensaio com dietas contendo farinha desengordurada de <i>Arachis villosulicarpa</i> .....	76
Tabela 30. Relação de áreas das misturas padrão ....	95
Tabela 31. Dados obtidos nos ensaios biológicos ....	97

# ÍNDICE DE FIGURAS

PÁGINA

Figura 1: Cromatograma 1: metil ésteres dos ácidos graxos da mistura padrão: 5% PEGS, 185°C...	39
Figura 2: Cromatograma 2: metil ésteres dos ácidos graxos da mistura padrão: 3% EGSS-X, 145°C.	40
Figura 3: Cromatograma 3: metil ésteres dos ácidos graxos da mistura padrão: 10% DEGS, 190°C..	42
Figura 4: Curva Padrão: LOG (Tempo de Retenção) x número de carbonos. Série saturada. A-PEGS, B-EGSS-X, C-DEGS.....	43
Figura 5: Cromatograma 4: metil ésteres dos ácidos graxos de amendoim, variedade Tatu: 10% DEGS, 190°C.....	44
Figura 6: Cromatograma 5: metil ésteres dos ácidos graxos de amendoim selvagem ( <i>A. villosulicarpa</i> ) 10% DEGS, 190°C.....	45
Figura 7: Cromatograma 6: derivados TMS de oximas da mistura padrão de açúcares, 1,5% SE-30. T. inicial 170°C, isotérmica por 36 minutos, 4°C/minuto até 270°C, isotérmica a 270°C...	49
Figura 8: Cromatograma 7: derivados TMS de oximas da mistura padrão de açúcares. 1,5% SE-30. T. inicial 170°C, 2°C/minuto por 11 minutos, 4°C/minuto até 275°C, isotérmica a 275°C...	51
Figura 9: Cromatograma 8: derivados TMS de oximas da mistura padrão de açúcares. 2% OV-17. T. inicial 140°C, isotérmica por 21 minutos, 4°C/minuto por 13 minutos, 6°C/minuto até 280°C.....	53

- Figura 10: Curvas padrão dos derivados de açúcares relativos à arabinose. Testes de linearidade: A-xilose, B-ribose, C-frutose, D-melibiose..... 55
- Figura 11: Curvas padrão dos derivados de açúcares relativos à arabinose. Testes de linearidade: A-lactose, B-maltose, C-sacarose..... 56
- Figura 12: Curvas padrão dos derivados de açúcares relativos à arabinose. Testes de linearidade: A-glicose, B-galactose, C-inositol, D-rafinose..... 57
- Figura 13: Cromatograma 9: derivados TMS de oximas dos açúcares de amendoim, variedade Tatu. Padrão interno arabinose. 2% OV-17. T. inicial 140°C, isotérmica por 21 minutos, 4°C/minuto por 13 minutos, 6°C/minuto até 280°C..... 58
- Figura 14: Cromatograma 10: derivados TMS de oximas dos açúcares de amendoim selvagem (*A. villosulcarpa*). Padrão interno arabinose. 2% OV-17. T. inicial 140°C, isotérmica por 21 minutos, 4°C/minuto por 13 minutos, 6°C/minuto até 280°C..... 59
- Figura 15: Curva padrão do conteúdo de aminoácidos essenciais para o rato nos diversos níveis protéicos utilizados no ensaio biológico: A-*Arachis villosulcarpa*, B-*Arachis hypogaea* L., variedade Tatu e C-necessidades nutricionais do rato..... 75
- Figura 16: Curva padrão de triptofano..... 96

## RESUMO

A espécie selvagem brasileira de amendoim *Arachis villosulicarpa* foi objeto de um estudo de caracterização química e biológica, através do qual o cultivar Tatu foi usado como testemunha, representando a espécie comercial *Arachis hypogaea* L..

Os aminoácidos totais e livres, assim como o valor nutritivo da fração nitrogenada na farinha desengordurada foram determinados. A composição em ácidos graxos e o perfil de açúcares livres foram também determinados na fração lipídica e glicídica respectivamente.

O óleo e a farinha desengordurada foram obtidos mediante prensagem e extração com solvente de lotes de 4 Kg de sementes.

A composição atípica em ácidos graxos do óleo da espécie selvagem foi confirmada mediante cromatografia gasosa de derivados metil éster dos ácidos em coluna DEGS a 10%. Os ácidos linoléico (51%) e oléico (15%) se encontram nesta espécie em proporções que lembram mais o óleo de milho do que o de amendoim. Também ácidos graxos de cadeias muito longas estão presentes em quantidades relativamente altas.

Após extração dos sacarídeos solúveis com uma mistura de metanol: clorofórmio: água (1:1:1), seguida de reação para converter os açúcares nas correspondentes oximas e determinação dos derivados trimetilsililados, encontrou-se quantidades menores de sacarose e maltose na espécie *A. villosulicarpa*. O teor de sacarose nesta espécie foi apenas de 60% do total encontrado para Tatu, o que não deixa de surpreender uma vez que o sabor da espécie selvagem é mais adocicado. Inositol, melibiose e rafinose foram sacarídeos encontrados em maior concentração na espécie *A. villosulicarpa*.

A partir dos resultados da hidrólise total da proteína por cinco tempos diferentes, pode-se concluir que treonina, cistina, metionina e triptofano estão presentes em maior concentração na espécie *A. villosullicarpa* do que no controle Tatu. No levantamento do perfil de aminoácidos livres, foram testados três sistemas de extração: ácido tricloroacético (TCA), ácido sulfossalicílico (SSA) e a mistura metanol: clorofórmio: água (MCW, 60: 25:15). O sistema TCA foi mais eficiente que o MCW, mas equivalente ao SSA. Este último, porém, propiciou maior resolução nos cromatogramas durante a análise. Ácido glutâmico, asparagina e arginina foram os aminoácidos livres mais abundantes. A espécie selvagem, de modo geral, apresentou maiores concentrações na maioria dos aminoácidos livres com exceção de fosfoserina, taurina, ácido aminoadípico, prolina, ácido  $\alpha$ -aminobutírico e isoleucina.

Avaliação biológica da proteína com ratos, sugeriu que a qualidade protéica da espécie *A. villosullicarpa* foi igual ou ligeiramente superior à proteína da variedade Tatu. Os valores de "NPU" e "NPR" foram 44,23 e 3,71 para a espécie selvagem, e 42,38 e 3,43 para a variedade Tatu respectivamente.

## SUMMARY

The Brazilian wild species of peanuts *Arachis villosulicarpa* was the subject of a chemical and biological study in which the cultivar Tatu, a representative of the commercial species *Arachis hypogaea* L., was used as a control.

Total and free amino acids and nutritive quality were assessed in the nitrogenous fraction of the defatted flour, while the fatty acid pattern and the free sugar distribution were determined in the oil and the carbohydrate fractions, respectively.

Oil and defatted flour were obtained by pressing 4-Kg samples of seeds and extracting the resulting cake with solvent.

Gas-liquid chromatographic determination of the fatty acid methyl esters on a 10% DEGS column confirmed the unique composition of the *A. villosulicarpa* oil. Linoleic (51%) and oleic (15%) acids in the wild species were found to resemble the pattern of corn rather than peanut oil. In addition, very long chain acids were present in relatively high concentrations.

Extraction of soluble saccharides with a mixture of methanol-chloroform-water (1:1:1) followed by conversion to the corresponding oximes and determination of the trimethylsilyl volatiles, revealed lower amounts of sucrose and maltose in *A. villosulicarpa*. Sucrose content of this species was only 60% of that found in Tatu; contrary to expectations, considering the rather sweet taste of *A. villosulicarpa*. Inositol, melibiose and raffinose were also found in greater concentrations in the wild species.

From the total amino acid determination of five different times of hydrolysis, it was concluded that the *A. villosulicarpa* species contains higher concentrations of threonine, cystine, methionine and tryptophan while having a slightly lower concentration of lysine than the control Tatu.

In order to establish the free amino acid profile, three extraction systems were tested: trichloroacetic acid (TCA), sulfosalicylic acid (SSA) and the mixture metanol-chloroform-water (MCW, 60:25:15). The TCA system was considered more efficient than MCW and as efficient as SSA in regard to the extraction. Use of SSA however, provided the highest chromatographic resolution during analysis. The most prominent free amino acids found in either species were glutamic acid, asparagine and arginine. The wild species, in general, exhibited greater amounts of all amino acids except for phosphoserine, taurine, aminoadipic acid, proline, aminobutyric acid and isoleucine.

Biological evaluation with rats, suggested that the nutritive quality of the *A. villosulicarpa* protein was equal to or slightly better than the Tatu protein. NPU and NPR values were 44.23 and 3.71 for the wild species and 42.38 and 3.43 for the Tatu cultivar, respectively.

## 1. INTRODUÇÃO

Além da espécie *Arachis hypogaea* L., a única outra espécie de amendoim cultivada para consumo humano, e é espécie selvagem *Arachis villosulicarpa*, em algumas áreas da região Amazônica.

Apesar do amendoim ser um produto de exportação e de consumo interno, pouco tem sido realizado no país em termos de caracterização química e melhoramento genético da semente ou da planta, quer de variedades comerciais quer de espécies selvagens, naturais em algumas regiões brasileiras.

Nos últimos dez anos, a produção brasileira de amendoim caiu sensivelmente devido à conjunção de vários fatores, entre os quais, pode-se mencionar o alto risco de contaminação do produto com micotoxinas e a baixa margem de lucro na produção.

Existe, porém, a possibilidade do ressurgimento dos mercados externo e interno, uma vez que as técnicas agrícolas, tendem a melhorar, elevando assim a qualidade do produto, como também devido ao interesse despertado nos últimos anos à utilização de óleos vegetais para fins não alimentares.

É de interesse científico aprofundar o conhecimento desta espécie selvagem em particular, devido a disponibilidade de dados fragmentados sobre a composição do óleo, da proteína e de outras frações que afetam as propriedades químicas, biológicas e funcionais, uma vez que a espécie *Arachis villosulicarpa* parece ser significativamente diferente de todas as outras até hoje catalogadas.

O presente trabalho tem por objetivo analisar as frações protéica, lipídica e glicídica da espécie *A. villosulicarpa*, comparando-a com a variedade Tatu, largamente cultivada no Brasil.



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. CLASSIFICAÇÃO BOTÂNICA

A denominação botânica do amendoim é *Arachis hypogaea* L., da família *Leguminosae*, cuja planta apresenta baixo crescimento, variando de 30 a 60 cm de altura. Suas variedades, grosseiramente, podem ser divididas em dois tipos: a) tipo "bushy bunched" e b) "runner" ou "type spreading" (OKE *et al.*, 1975).

As áreas do Paraguai, Brasil e Argentina que são banhadas pelo rio Paranã, são provavelmente o local de origem do amendoim (CORNELIUS e RAYMOND, 1967). A semente tornou-se conhecida a partir das primeiras explorações na América, sendo daí levada ao resto do mundo (ALTSCHUL, 1964).

Além da espécie *Arachis hypogaea* L., a única outra espécie de amendoim usada para consumo humano no mundo, é a *Arachis villosulicarpa* com origem provável na região amazônica brasileira, onde tem sido cultivada por algumas tribos indígenas (HAMMONS, 1973; WORTHINGTON e HAMMONS, 1977).

A cultura do amendoim adapta-se bem ao clima quente, com chuvas regulares e solos leves e arenosos. Apresenta exigências nutricionais pequenas e seu crescimento não esgota a fertilidade natural do solo, sendo por isso aproveitada como cultura de segunda época, após a produção de arroz, milho e algodão (OLIVEIRA, 1978).

No Brasil, o amendoim é cultivado em duas épocas do ano: o amendoim das águas (plantado em setembro) e o amendoim das secas (plantado em fevereiro). As principais variedades plantadas são a Tatu e a Tatui, que apresentam ciclo curto, de 110 a 120 dias (TANGO, 1979).

## 2.2. DADOS DE PRODUÇÃO

### 2.2.1. PRODUÇÃO MUNDIAL

A produção mundial de amendoim nos últimos anos tem apresentado uma ligeira tendência decrescente, como pode ser observado na Tabela abaixo. Esta tendência decrescente pode ser explicada por fatores tais como: a) aumento da incidência de pragas em alguns países; b) crescente concorrência de outras oleaginosas, notadamente a soja que, a preços menores, atende a uma demanda em expansão de óleo e proteínas e c) uso de técnicas pouco produtivas e ausência de infra-estrutura de armazenamento adequada (COMISSÃO DE FINANCIAMENTO DA PRODUÇÃO, 1978/79).

Tabela 1. Principais países produtores de amendoim. Produção (em toneladas métricas) de 1971/72 a 1977/78.

PAÍS/ANO	AMENDOIM EM GRÃO (1000 T MÉTRICAS)						
	71/72	72/73	73/74	74/75	75/76	76/77	77/78
Índia	4327	2864	4152	3578	4728	3684	3800
China+	2000	1890	2000	2030	2100	1900	1600
EUA	1022	1114	1182	1248	1313	1277	1253
Brasil	669	413	307	302	370	245	255
Senegal	542	331	356	545	836	568	210
Outros	3600	3918	3233	4097	3553	3616	3632
Total	12160	10530	11230	11800	12900	11290	10750

+ : produção estimada.

Fonte: Comissão de Financiamento da Produção, 1978/79.

## 2.2.2. PRODUÇÃO NACIONAL

A Tabela 2, indica o total da produção nacional nos últimos anos.

Tabela 2. Produção brasileira de amendoim em casca de 1974 a 1980.

ANO	TONELADAS (PRODUTO EM CASCA)		
1974 <sup>a</sup>	452722		
1975 <sup>a</sup>	441987		
1976 <sup>b</sup>	509905		
1977 <sup>b</sup>	320721		
1978 <sup>b</sup>	325007		
1979 <sup>a</sup>	1ª safra	318631	total 454573
	2ª safra	135942	
1980 <sup>a</sup>	1ª safra	374808	total 482849
	2ª safra	108041	

a: fonte: Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, 1980.

b: fonte: Anuário Estatístico do Brasil, 1979.

Para o ano de 1980, a ordem de produção para os Estados brasileiros foi a seguinte:

Tabela 3. Produção brasileira por Estados, safra das águas e das secas.

ESTADO	TONELADAS	PORCENTAGEM DO TOTAL
São Paulo	337035	69,80
Paraná	80068	16,58
Mato Grosso	36542	7,57
Minas Gerais	11500	2,38
Rio Grande do Sul	7469	1,55

Fonte: Levantamento Sistemático da Produção Agrícola, 1980.

Segundo o Anuário Estatístico do Brasil (1978), o total de exportações para grãos, farelo e óleo de amendoim foi o seguinte, nos últimos anos:

Tabela 4. Total de exportações brasileiras para grãos, farelo e óleo de amendoim (em toneladas) de 1976 a 1978.

ANO	GRÃOS	FARELO	ÓLEO
1976	25251	87964	92822
1977	30942	47530	47801
1978	17331	52745	59879

## 2.3. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

A composição centesimal da semente de amendoim apresentada em uma revisão de HOFFPAUIR (1953) é a seguinte:

Tabela 5. Composição centesimal da semente de amendoim.

COMPONENTE	INTERVALO DE VARIAÇÃO (%)			VALOR MÉDIO (%)
Umidade	3,9	a	13,2	5,0
Proteína	21,0	a	36,4	28,4
Lipídeos	35,8	a	54,2	47,5
Fibra bruta	1,2	a	4,3	2,8
Nitrogênio livre	6,0	a	24,9	13,3
Cinza	1,8	a	3,1	2,9
Açúcar redutor	0,1	a	0,3	0,2
Dissacarídeos	1,9	a	5,2	4,5
Amido	1,0	a	5,3	4,0
Pentosanas	2,2	a	2,7	2,5

## 2.4. ANÁLISE QUÍMICA DOS ÁCIDOS GRAXOS NO ÓLEO DA SEMENTE

Mundialmente, a maior parte da produção de amendoim é utilizada na fabricação de óleo comestível, sendo a farinha desengordurada resultante utilizada na alimentação animal. Apesar de ser uma das três mais importantes fontes de óleo, o amendoim não tem contribuído significativamente para suprir necessidades energéticas na dieta humana (WILSON, 1972).

O óleo de amendoim, constitui-se principalmente de glicerídeos de ácidos graxos (triglicerídeos) e, também de quantidades variáveis de ácidos graxos livres, diglicerídeos e monoglicerídeos, de acordo com o grau de hidrólise que possa ter ocorrido no mesmo (FAO, 1971).

A utilização de cromatografia gás-líquida para a separação de ácidos graxos saturados e insaturados, após esterificação, foi realizada de forma bem sucedida por ORR e CALLEN (1958). O posterior desenvolvimento de diversos tipos de fases e derivações, levou a uma intensa utilização da cromatografia gás-líquida para ácidos graxos, por apresentar metodologia rápida e quantitativa, e por requerer microquantidades de amostra para a derivação, na forma de ésteres metílicos dos ácidos graxos (CRAIG e MURTHY, 1959).

Inicialmente, foram levantadas objeções contra os procedimentos de esterificação, uma vez que os mesmos, requerendo água, ocasionariam perdas de derivados de baixo peso molecular, o que foi contornado pela adição de solução salina saturada à mistura de esterificação, garantindo assim a recuperação quantitativa dos derivados de ácidos graxos com mais de quatro carbonos (METCALPE *et al.*, 1966).

YOUNG *et al.* (1972), em trabalho realizado sobre a variação da composição de ácidos graxos durante a maturação da semente de amendoim, mostraram que ocorre aumento no conteúdo de ácido oléico e esteárico, com conseqüente diminuição na quantidade de ácido linoléico.

LOTTI *et al.* (1977), estudando 17 variedades de *Arachis hypogaea* L., com relação ao conteúdo de ácidos graxos e sua variação em função do clima, encontraram quantidades elevadas de ácido linoléico nos amendoins provenientes de climas mais frios, com conseqüente menor quantidade de ácido oléico. Observaram também modificações na composição em função da variedade, particularmente com respeito ao conteúdo

dos ácidos oléico e linoléico. A relação insaturado/saturado variou de 3,5 a 5,0 nas variedades estudadas. Neste trabalho, os autores apresentam a seguinte tabela, com valores característicos para óleo de amendoim:

Tabela 6. Dados característicos encontrados em óleo de amendoim.

Acidez	0,2	a	1,31
Índice de refração	1,4674	a	1,4704
Índice de iodo	80,1	a	104,8
Índice de saponificação	190,6	a	195,2

WORTHINGTON *et al.* (1972), estudando 82 genótipos diferentes, encontraram as seguintes variações na composição de ácidos graxos das variedades estudadas, apresentadas na Tabela 7:

Tabela 7. Variação na composição de ácidos graxos em 82 variedades estudadas.

ÁCIDO GRAXO		PORCENTAGEM DO TOTAL DE ÁCIDOS GRAXOS		
Palmítico	16:0	7,4	a	12,9
Esteárico	18:0	1,6	a	5,3
Oléico	18:1	35,7	a	68,5
Linoléico	18:2	14,0	a	40,3
Araquídico	20:0	0,9	a	2,2
Eicosenóico	20:1	0,6	a	2,0
Behênico	22:0	1,3	a	5,1
Lignocérico	24:0	0,6	a	2,0

WORTHINGTON *et al.* (1977), estudando a inter-relação entre a variação genética e o conteúdo de ácidos graxos em 105 genótipos diferentes, encontraram variações de 36 a 69% e 14 a 40% respectivamente para os ácidos graxos oléico e linoléico, que juntos perfazem 75 a 85% do total de ácidos graxos no óleo de amendoim.

A análise da espécie selvagem *Arachis villosa* *hispida* é apresentada neste trabalho, tendo sido encontrado um padrão totalmente diferente das outras variedades analisadas. Os resultados encontrados mostram baixo conteúdo de ácido oléico, alta quantidade de ácido linoléico e inusitadamente alta quantidade dos ácidos behênico e lignocérico, quando os dados são comparados aos de amostras comerciais típicas.

## 2.5. ANÁLISE QUÍMICA DOS CARBOIDRATOS SOLÚVEIS DA SEMENTE

Poucos pesquisadores analisaram, até agora, o conteúdo de carboidratos livres em amendoim. O papel dos açúcares livres em plantas não está ainda completamente definido, e sua principal função é, provavelmente, propiciar uma fonte energética facilmente disponível, atuando como carboidrato de reserva durante a germinação (JEANES *et al.*, 1975; THARANA THAN *et al.*, 1979).

A maioria dos dados disponíveis sobre o total de carboidratos em alimentos tem sido calculada por diferença dos valores de gordura, umidade, nitrogênio e cinza, existindo ainda informações sobre o total de açúcares redutores e não redutores (MASON e SLOVER, 1971).

Estudos realizados com relação ao tipo e quantidade de carboidratos presentes durante o desenvolvimento das sementes de amendoim mostraram que a concentração de amido,



sacarose e açúcares redutores livres decresce com a maturação dos cotilédones (PICKETT, 1950). A análise de precursores de sabor e aroma característicos de amendoim torrado também indicou mudanças na concentração de açúcares livres e aminoácidos presentes. Os monossacarídeos livres são extremamente importantes na formação de compostos pirazina, os quais estão relacionados ao sabor e aroma característicos de amendoim torrado (NEWELL *et al.*, 1967).

AMAYA *et al.* (1976) examinaram algumas variedades de amendoim (de conteúdo protéico bem diferenciado) com relação à presença de carboidratos nos vários estágios de maturação da semente. Afirmam que a precisão dos resultados é relativa, pois a extração dos açúcares pode ser incompleta, devido aos métodos disponíveis e que alguns açúcares extraídos podem ser parcialmente destruídos ou auferidos por degradação enzimática, durante o processo de extração.

A maioria dos métodos empregados na extração de açúcares livres utiliza a mistura dos solventes água: álcool (metanol ou etanol) a 70 - 80%. PONTE *et al.* (1969) utilizaram, na determinação de açúcares livres em farinha de trigo, uma mistura ternária de solventes, composta de metanol, clorofórmio e água (1:1:1) que, segundo os autores, oferece as seguintes vantagens: a amostra é efetivamente desengordurada pois os lipídeos remanescentes são retidos na fase clorofórmio; as enzimas da amostra são inativadas e o processo é comparativamente mais rápido e simples. Uma mistura semelhante de solventes foi anteriormente utilizada na determinação de carboidratos em tecidos humanos (SWEELEY *et al.*, 1964).

Os métodos comumente empregados na determinação de açúcares específicos são cromatográficos: cromatografia de coluna, papel, troca iônica, camada delgada, líquida de alta pressão e gás-líquida. Excluindo-se os dois últimos tipos de cromatografia, os demais consomem muito tempo, apresentando baixa sensibilidade e especificidade (CHURMS, 1974).

Até pouco tempo, a cromatografia gasosa não era empregada para carboidratos devido à baixa volatilidade destes compostos, causada principalmente pela presença de vários grupos hidroxil polares (HAMMARSTRAND, 1968). Recentemente, a cromatografia gasosa foi adaptada à separação e determinação de derivados voláteis de açúcares. O maior problema na utilização de cromatografia gás-líquida na determinação de açúcares é que vários destes compostos apresentam picos múltiplos, devido às formas tautoméricas dos açúcares, tornando difícil o desenvolvimento de métodos quantitativos (PETERSON, 1974).

O problema das formas tautoméricas pode ser eliminado pela redução dos açúcares a seu alditóis acíclicos e posterior derivação a éteres trimetilsililados (SAWARDEKER *et al.*, 1965). Este procedimento, no entanto, só é satisfatório para aldo açúcares, não o sendo para misturas contendo glicose e frutose, uma vez que ambas se reduzem a sorbitol; frutose além disso, reduz-se também a manitol, dificultando ainda mais a quantificação (MASON e SLOVER, 1971).

O possível controle de formas tautoméricas por conversão dos açúcares a oximas antes da formação de éteres trimetilsililados, bem como uma investigação de outros derivados e diversas fases líquidas foi realizado em um estudo exaustivo para carboidratos (SWEELEY *et al.*, 1963). Neste trabalho, a resolução das oximas dos açúcares não foi adequada para propósitos analíticos, embora fosse constatado um decréscimo das formas tautoméricas.

Utilizando estes mesmos derivados e diferentes tipos de fase líquida, entretanto, MASON e SLOVER (1971) conseguiram colunas mais eficientes, como ficou demonstrado ao analisarem açúcares livres em trigo e produtos derivados.

THARANATHAN *et al.* (1975), determinaram carboidratos totais em farinha de amendoim desengordurada processada. Determinaram a composição de açúcares livres nestas farinhas, obtidos por extração alcoólica 70%, sendo

posteriormente quantificados em camada delgada. Parte dos resultados deste trabalho está sintetizada na Tabela 8.

Tabela 8. Conteúdo de carboidratos em farinha desengordurada de amendoim.

CARBOIDRATO	PORCENTAGEM NA FARINHA DESENGORDURADA	
	NÃO	PROCESSADA
Verbascose		0,39
Estaquiose		1,46
Rafinose		1,04
Sacarose		12,44
Glicose		0,79
Frutose		0,38
Duas manchas não identificadas		0,67

Em outro trabalho, realizado pelos mesmos autores (THARANATHAN *et al.*, 1979) foi também constatada a presença de traços de ajugose; NEWELL *et al.* (1967) encontraram ainda inositol.

Os diferentes resultados dos vários autores podem ser provavelmente atribuídos à existência de diferenças entre as variedades estudadas e ao grau de maturação das sementes, uma vez que o amendoim apresenta crescimento indeterminado, sendo portanto importante observar o grau de maturidade do mesmo para a análise de carboidratos (YOUNG *et al.*, 1976).

## 2.6. ANÁLISE QUÍMICA DA FRAÇÃO PROTÉICA DA SEMENTE

O amendoim tem um conteúdo protéico relativamente alto, podendo constituir-se em importante fonte protéica para consumo humano (TAI e YOUNG, 1975). Entretanto, as práticas utilizadas durante o processo de extração do óleo, são de baixa qualidade sanitária, levando à inutilização do farelo desengordurado para a alimentação humana ou animal (MILLER e YOUNG, 1977).

HOFFPAUIR (1953) e YOUNG e HAMMONS (1973) realizaram trabalhos para determinar o teor de proteína de diferentes variedades de amendoim. YOUNG e HAMMONS (1973), estudando 105 genótipos de amendoim, encontraram variações de 22,72 a 29,26% no teor de proteína dos mesmos. Nestes resultados, a variação no teor protéico devido à época de plantio mostrou-se muito maior do que a variação devido à diferenças das variedades. YOUNG e HOLLEY (1965), analisando a variação do teor protéico em função da variedade, encontraram variações de 25,77 a 29,76% de proteína nas variedades estudadas, abrindo perspectivas para o melhoramento genético no teor protéico de amendoins. BUSSON *et al.* (1960), também estudaram o conteúdo protéico de amendoim em função da variedade; analisaram 20 variedades e concluíram que as diferenças eram muito mais influenciadas por fatores ambientais do que por fatores genéticos. YOUNG *et al.* (1973), trabalhando com vários genótipos, concluíram que o nível de proteína variava significativamente com relação ao grau de maturidade das sementes analisadas.

O fator de conversão normalmente utilizado para o cálculo do teor protéico é de 5,46 para proteína de amendoim (JONES e HORN, 1930; PICKETT, 1950).

### 2.6.1. AMINOÁCIDOS TOTAIS

Com a automação da cromatografia de troca

iônica, utilizando técnicas propostas por SPACKMAN *et al.* (1958), tem sido possível obter resultados rápidos e acurados na determinação da composição de aminoácidos em alimentos (YOUNG *et al.*, 1973; SPTIZ, 1973).

Normalmente, a hidrólise ácida com ácido clorídrico 6N é utilizada para a determinação dos aminoácidos totais de proteínas (DAVIES e THOMAS, 1973). Existem dados contraditórios na literatura, sobre a relação ótima proteína: agente hidrolisante. SAVOY *et al.* (1975), trabalhando com proteína de amendoim, encontraram que a relação 10:1 (volume/peso) foi a que se mostrou mais apropriada, enquanto que ROBEL (1973) trabalhando com proteínas puras, obteve menor destruição dos aminoácidos, com o aumento da relação proteína: agente hidrolisante. O efeito do tempo de hidrólise também tem sido avaliado. YOUNG *et al.* (1973), trabalhando com proteína de amendoim, encontraram o tempo de 15 horas como o de maior rendimento para a hidrólise. SAVOY *et al.* (1975), também trabalhando com proteína de amendoim, encontraram que 16 a 20 horas de hidrólise resultavam em maior rendimento.

Durante a hidrólise ácida da proteína, os aminoácidos glutamina e asparagina, são quantitativamente convertidos em ácido glutâmico e ácido aspártico, e triptofano é totalmente destruído (REES, 1946), utilizando-se então hidrólise básica para sua quantificação (FRIEDMAN e FINLEY, 1975; SPIES e CHAMBERS, 1949). O método modificado de SPIES (1967) para a determinação de triptofano em proteínas isoladas apresenta bons resultados mas não se mostra satisfatório para o uso em alimentos pois há interferência de outros nutrientes presentes (KNOX *et al.*, 1970).

O conteúdo de aminoácidos totais na proteína de amendoim, tem sido medido por muitos pesquisadores (BLOCK e MITCHELL, 1946; HOFFPAUIR, 1953; BUSSON *et al.*, 1960; CHOPRA e SIDHU, 1967a; EVANS e BANDEMER, 1967; MITRA e MISRA, 1967; YOUNG *et al.*, 1973).

A composição de aminoácidos da proteína de amendoim é dada na Tabela 9:

Tabela 9. Composição de aminoácidos da proteína (N x 5,46) de amendoim.

AMINOÁCIDO	GAA/100G DE PROTEÍNA
Isoleucina	3,87
Leucina	7,33
Lisina	4,05
Metionina	1,32
Cistina	1,43
Fenilalanina	5,70
Tirosina	4,47
Treonina	2,98
Triptofano	1,19
Valina	4,78
Arginina	12,77
Histidina	2,71
Alanina	4,45
Ácido aspártico	13,04
Ácido glutâmico	20,90
Glicina	6,39
Prolina	4,98
Serina	5,48

FONTE: Amino Acid Content of Foods - FAO, 1970

Há algumas contradições na literatura com relação à melhoria genética da proteína de amendoim. Os estudos realizados por YOUNG *et al.* (1973) e YOUNG (1980), com 16 variedades de amendoim, concluem que existem variações significativas no total de aminoácidos em função das variedades analisadas. Outros trabalhos sobre composição de aminoácidos versus variedades (CHOPRA e SIDHU, 1967a; EVANS e BANDEMER, 1967) concluem que não há diferenças devido à variedade, não havendo indicação nos resultados obtidos que pudessem permitir o desenvolvimento de variedades com qualidade protéica superior.

O conteúdo de triptofano em amendoins, tem sido determinado por vários pesquisadores (EDWARDS *et al.*, 1955; CHOPRA e SIDHU, 1967a; JAMALIAN e PELLET, 1968; AMAYA *et al.*, 1977). Tem sido sugerida a utilização deste aminoácido para monitorar a qualidade protéica de amendoins, pois pode haver alta correlação entre triptofano, lisina e metionina como ocorre no milho (MILLER *et al.*, 1950).

AMAYA *et al.* (1977), trabalhando com 37 genótipos de amendoim, de variedades comerciais e selvagens, encontraram que embora a quantidade absoluta de triptofano nos amendoins estudados apresentassem correlação positiva com o nível total de proteína, a maioria dos genótipos ricos em proteína continha quantidades relativamente baixas de triptofano, sendo que os valores encontrados variavam de 0,95 a 1,66 mg/100g de proteína.

## 2.6.2. AMINOÁCIDOS LIVRES

O mecanismo de deposição de proteína, durante a maturação de sementes de amendoim, pode produzir informações úteis para a compreensão dos fatores genéticos e ambientais que afetam esta deposição (BASHA *et al.*, 1976). Nesse sentido e no relacionado às propriedades funcionais do alimento, existe um certo interesse no conhecimento dos aminoácidos livres que se encontram na semente.

Alguns trabalhos (ALDANA *et al.*, 1972; BEEVERS e POULSON, 1972) envolvendo a determinação de aminoácidos livres durante a maturação de sementes, têm mostrado que altos níveis de aminoácidos livres na maturação, contribuem para um grande e rápido acúmulo de proteínas nos corpos protéicos da semente. CRUZ *et al.* (1970), trabalhando com grãos de arroz de alto teor protéico, mostraram alta correlação entre o teor de aminoácidos livres na maturação e a porcentagem protéica no grão maduro.

Os aminoácidos podem produzir aldeídos pela degradação de Strecker e podem servir como fonte de nitrogênio na formação de compostos pirazínicos, durante o processamento térmico. (DAWES e EDWARDS, 1966).

O tratamento térmico para alguns alimentos, é utilizado para provocar modificações no aroma e sabor dos mesmos, melhorando assim sua palatabilidade. Em amendoins, o aquecimento provoca a liberação de alguns voláteis, que são os responsáveis pelo aroma e sabor característicos de amendoim torrado. Análises neste sentido, mostraram que compostos pirazínicos são os responsáveis pelo aroma e sabor característicos de amendoim torrado (BUCKHOLZ *et al.*, 1980; MASON *et al.*, 1966; JOHNSON *et al.*, 1971a; JOHNSON *et al.*, 1971b).

NEWELL *et al.* (1967), MASON *et al.* (1969) e KOEHLER e ODELL (1970), pesquisaram as origens do "flavor" característico de amendoim torrado, e concluíram que os compostos responsáveis pelo sabor e aroma resultam da reação de glucose e frutose (formados pela quebra de sacarose) com aminoácidos livres.

Um dos problemas no estudo de aminoácidos livres, tem sido encontrar um método simples e reprodutível para a máxima extração destes compostos (YOUNG *et al.*, (1974b). KNIPFEL *et al.* (1969), trabalhando com análise de aminoácidos livres em tecidos animais e em sangue, levantaram as dificuldades encontradas na



comparação de dados publicados, uma vez que diferentes agentes desproteinizantes são utilizados, não sendo claramente reveladas as vantagens de cada um deles. GREENBERG e SHIPE (1979) testaram vários agentes precipitantes para hidrólise dos protéicos e proteínas puras. Concluíram que, para proteínas, o agente a ser utilizado deve ser escolhido segundo o propósito do ensaio a ser feito. Para hidrolisados, concluíram que o ácido tungstíco é mais efetivo que o ácido tricloroacético, e este mais efetivo do que o ácido sulfossilíco. YOUNG *et al.* (1974b) na determinação de aminoácidos livres de várias variedades de amendoim, compararam vários métodos de extração, concluindo que a mistura metanol, clorofórmio e água era a mais efetiva para a extração. BASHA *et al.* (1976), trabalhando com aminoácidos livres durante a maturação de amendoins constataram que a concentração de aminoácidos livres diminui durante o processo de maturação. Assim, as farinhas desengorduradas de sementes possuindo níveis de 3,5 a 5% de aminoácidos livres no estado imaturo, apresentaram níveis mais baixos de 0,5 a 1,5% na fase madura. Paralelamente, foi observado um aumento na deposição total de proteínas, do estágio imaturo para o estágio maduro. YOUNG *et al.* (1974b) encontraram que a concentração de aminoácidos livres nos amendoins testados era influenciada pelo grau de maturidade das sementes. Excetuando-se o ácido aspártico, todos os outros aminoácidos decresceram com o amadurecimento das sementes. YOUNG *et al.* (1974a), em outro trabalho, com várias variedades comerciais de amendoim, encontraram diferenças significativas em função da variedade para os seguintes aminoácidos: ácido glutâmico, leucina, tirosina, fenilalanina, histidina, arginina, triptofano e aminoácidos totais. Alanina e histidina foram os únicos compostos que apresentaram variações significativas para local, irrigação e variedade.

MASON *et al.* (1969) e NEWELL *et al.* (1967) em estudos do "flavor" de amendoim torrado encontraram que os aminoácidos livres, ácido aspártico, asparagina, ácido glutâmico, fenilalanina e histidina eram os precursores responsáveis

veis pelo sabor e aroma típicos de amendoim torrado. Ácido glutâmico, asparagina, glutamina, fenilalanina e alanina representam quase que o total dos aminoácidos livres determinados.

### 2.6.3 AVALIAÇÃO NUTRICIONAL DA PROTEÍNA DE AMENDOIM

Como já é bem conhecido, a distribuição de aminoácidos e, particularmente, o conteúdo de aminoácidos essenciais de qualquer proteína, determinam sua qualidade biológica (MILNER, 1962; SAID e HEGSTED, 1969; BODWELL 1977; EGGUM e CAMPBELL, 1978).

Existem inúmeros trabalhos envolvendo vários tipos de ensaio biológico para avaliar a qualidade nutricional da proteína de amendoim (McOSKER 1962, CHOPRA e SIDHU, 1967b; YOUNG *et al.*, 1973, MILLER e YOUNG, 1977), como também vários trabalhos de revisão incluindo esta proteína (BLOCK e MITCHELL, 1946; ROSEN, 1958; MILNER, 1962; FAO/OMS, 1970; BESANÇON, 1977).

A determinação de aminoácidos limitantes com a utilização de ratos em ensaios biológicos, foi feita por vários pesquisadores. McOSKER (1962) e MILLER e YOUNG (1977) concluíram que os aminoácidos lisina, metionina e treonina são igualmente limitantes para a proteína do amendoim. CARPENTER e ANANTHARAMAN (1968) e CHOPRA e SIDHU (1967b) citam como aminoácidos limitantes apenas lisina e metionina. BALASUDARAM *et al.* (1958), obtiveram aumentos significativo na qualidade protéica do amendoim, quando lisina, metionina, treonina e isoleucina foram adicionados às dietas.

Cálculos baseados no conteúdo de aminoácidos da proteína de amendoim, frente às necessidades de aminoácidos do rato (COMMITTEE ON ANIMAL NUTRITION, 1972) indicam que somente lisina e metionina são limitantes. McOSKER (1962), em ensaios com esta proteína, mostrou que nem toda a treonina da proteína estava disponível para o rato. Neste estudo, determinou

que 30% do total de treonina estava indisponível. YOUNG *et al.* (1973), utilizando dados obtidos na análise de aminoácidos para 16 variedades de amendoim, e comparando-os às necessidades do rato, concluíram que, além de lisina, metionina e treonina, isoleucina e valina podem também ser limitantes.

Um novo método de avaliação de qualidade proteica foi proposto por BENDER e MILLER (1953), denominado "Net Protein Utilization" (NPU). Neste método, o nitrogênio retido é obtido pela análise química da carcaça ao invés da diferença entre nitrogênio ingerido e excretado.

Posteriormente, MILLER e BENDER (1955) e SAID e HEGSTED (1969) mostraram uma alta correlação entre nitrogênio corporal e água corporal, relação esta variável de acordo com a idade dos ratos, de forma previsível. MILLER e BENDER (1955) a partir desta alta correlação, propuseram então uma nova metodologia para o cálculo do "NPU" utilizando a determinação da água corporal para o cálculo do nitrogênio corporal.

Foram realizados alguns trabalhos comparando as distintas metodologias para o cálculo do "NPU". SCRIMSHAW (1962) e STUKI e HARPER (1962) demonstraram existir diferenças significativas na relação nitrogênio/água corporal quando diferentes proteínas eram ensaiadas. KABA (1971, *apud* PELLET, 1973) e HENRY (1965), comparando os métodos, observaram que a relação nitrogênio/água corporal era utilizada para dietas protéica e aprotéica e, desta forma, apresentavam alta correlação. DREYER (1957) e HENRY e TOOTHILL (1962), comparando as duas metodologias, observaram variações muito maiores nos dados de nitrogênio corporal determinado quimicamente do que nos determinados através de água corporal.

CHOPRA e SIDHU (1967b), em estudo da qualida  
de protéica de nove variedades de amendoim, realizaram en  
saio de digestibilidade, "PER" e "BV". Concluíram que não  
existem diferenças significativas para os valores obtidos,  
com relação às diferentes variedades estudadas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. MATERIAL

As duas espécies de amendoim *Arachis hypogaea* L., variedade Tatu, e *Arachis villosulicarpa* foram plantadas em canteiros da seção de Genética do Instituto Agronômico de Campinas.

#### 3.2. LIPÍDEOS

##### 3.2.1. EXTRAÇÃO

A farinha de amendoim desengordurada foi obtida através de duas passagens: prensagem em prensa hidráulica (prensa CODISTIL, pressão utilizada 250 Kg/cm<sup>2</sup>) e em seguida, extração com solvente (hexana comercial) em extrator Gold fish com capacidade de 400g de carga, sendo mantido um refluxo por 8 horas em cada carga. A farinha foi então seca em estufa à 50°C até a evaporação do solvente e então estocada, devidamente embalada, à temperatura de - 20°C. O óleo resultante da extração foi colocado em evaporador rotativo (Baush & Lomb) à vácuo e calor (110°C). O solvente foi evaporado e pequenas quantidades de sulfato de sódio anidro foram adicionadas ao óleo, que foi em seguida filtrado à vácuo. O óleo obtido da prensagem e da extração com solvente foi estocado à - 20°C.

##### 3.2.2. DETERMINAÇÃO DE LIPÍDEOS

###### 3.2.2.1. EXTRATO ETÉREO

Foi feita extração direta com éter de petróleo, conforme método descrito pela AOAC (1980) usando-se extrator Goldfish.

### 3.2.2.2. EXTRAÇÃO COM MISTURA DE SOLVENTES

Para a quantificação dos ácidos graxos da fração lipídica foi feita extração com uma mistura de solventes, uma vez que o extrato recomendado pela AOAC leva a perdas de ácidos graxos poliinsaturados (SHEPPARD *et al.*, 1974; HUBBARD *et al.*, 1977). O método utilizado foi o de BLIGH e DYER (1959) ligeiramente modificado, que utiliza uma mistura de metanol: clorofórmio: água (2,0: 1,0: 0,8), com a fração lipídica permanecendo na fase clorofórmio.

### 3.2.3. QUANTIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS

#### 3.2.3.1. DERIVAÇÃO

Metil ésteres dos ácidos graxos foram obtidos por tratamento com trifluoreto de boro/metanol, como descrito pela AOAC (1980) ou segundo METCALFE *et al.* (1966).

#### 3.2.3.2. ANÁLISE DE METIL ÉSTERES DE ÁCIDOS GRAXOS POR CROMATOGRRAFIA GASOSA

##### 3.2.3.2.1. PREPARAÇÃO DAS COLUNAS

A fase líquida a ser utilizada foi dissolvida em solvente apropriado e adicionada ao suporte com agitação constante e cuidadosa. O solvente foi então evaporado em evaporador rotativo. Tubos de aço inoxidável devidamente limpos e secos, com dimensões conhecidas, foram então enchidos com o material, utilizando-se um vibrador mecânico para obter-se preenchimento homogêneo. As extremidades do tubo foram seladas com lã de vidro. Após o preparo, as colunas foram condicionadas antes de sua utilização.

Foram utilizadas as seguintes fases líquidas:

dimensões da coluna

	%	φ int. (pol.)	comprimento (m)
a) PEGS - succinato de polietilenoglicol	5	1/8	3,00
b) EGSS-X - succinato de etilenoglicol	3	1/8	2,85
c) DEGS - succinato de dietilenoglicol	10	1/8	2,85

O suporte utilizado para todas as colunas foi cromosorb W (HMSD) 100 mesh.

### 3.2.3.2.2. PADRONIZAÇÃO

Padrões puros de metil ésteres de ácidos graxos (Polyscience Corporation, EVANSTON - ILLINOIS) foram utilizados para a preparação de uma mistura padrão, a qual serviu para testar o poder de resolução das colunas e identificação dos ácidos graxos. Quando necessário, ésteres metilados de ácidos graxos puros foram preparados.

### 3.2.3.2.3. CROMATOGRAFIA

A análise foi feita em um cromatógrafo gasoso (Perkin-Elmer 990) com detector de ionização de chama, nas seguintes condições:

a) Fluxo de gases:

gás de arraste N<sub>2</sub>: 30 ml/min  
 ar sintético : 500 ml/min  
 hidrogênio : 35 ml/min

b) Temperatura:

injetor : 250°C

detector : 250°C

coluna (mantida isotérmica): DEGS 190°C, EGSS-X  
145°C, PEGS 185°C

c) Velocidade do papel: 5mm/min

### 3.3. CARBOIDRATOS LIVRES

#### 3.3.1. EXTRAÇÃO

Para a extração dos carboidratos solúveis, foram utilizados dois procedimentos, ambos a partir do material desengordurado e finamente moído.

##### 3.3.1.1. EXTRAÇÃO ETANÓLICA 80%

Esta extração (MASON e SLOVER, 1971; THARANA THAN *et al.*, 1975, 1976; LI e SCHUHMANN, 1980) foi realizada à diferentes temperaturas (40, 60 e 80°C). A relação material/solvente utilizada foi de 1:20. A solução etanólica foi adicionada, sendo o tempo de extração igual a 3 horas, com agitação à intervalos regulares. A seguir foi feita uma centrifugação (8000 rpm/min); o sobrenadante foi separado e o precipitado lavado com solução etanólica. A centrifugação foi repetida, juntando-se os sobrenadantes, que foram parcialmente evaporados em evaporador rotativo e liofilizados (liofilizador Virtis, 1955). O extrato liofilizado foi estocado em dessecador para uso posterior.

##### 3.3.1.2. EXTRAÇÃO COM MISTURA DE SOLVENTES

A extração (PONTE *et al.*, 1969; OUPADISSAKOON *et al.*, 1979) foi feita à temperatura ambiente da seguinte



forma: adicionou-se a 1 grama de amostra, 5 ml de metanol e agitou-se por 20 minutos; 5 ml de água e 5 ml de clorofórmio foram então adicionados e nova agitação foi feita por mais 20 minutos. Após a separação das fases, 4,5 ml da camada metanólica (superior) foram retirados, repetindo-se a operação. Os sobrenadantes foram evaporados parcialmente em evaporador rotativo e liofilizados. O material liofilizado foi estocado em dessecador para uso posterior.

### 3.3.2. QUANTIFICAÇÃO DOS CARBOIDRATOS LIVRES

#### 3.3.2.1. DERIVAÇÃO

##### 3.3.2.1.1 DERIVADOS TRIMETILSILILADOS DE OXIMAS

O método utilizado foi proposto por SWEETLEY *et al.* (1963). As amostras liofilizadas foram solubilizadas em solução de hidrocloreto de hidroxilamina em piridina (25 mg/ml), e a mistura aquecida a 70 - 80°C por 30 minutos. A piridina foi então removida em evaporador rotativo a 50°C; gotas de benzeno foram adicionadas para garantir a completa remoção de traços de água. Oximas, formadas de açúcares redutores e os açúcares não redutores foram então dissolvidos em piridina (1 ml) seca (estocada com pastilhas de KOH). Estes éteres trimetilsililados foram obtidos pela adição de 1 ml de mistura piridina/hexametildisilazano/triclorosilano (10:9:6). A mistura foi mantida à temperatura ambiente por uma hora, sendo então centrifugada. Parte do sobrenadante (1 ml) foi evaporado em evaporador rotativo e diluído em volume conhecido de piridina ou hexana (p.a.). Alíquotas foram injetadas em cromatógrafo gás-líquido.

##### 3.3.2.1.2. DERIVADOS TRIMETILSILILADOS DE AÇÚCARES-ÁLCOOIS

A obtenção de éteres trimetilsililados de alditóis dos açúcares foi feita segundo procedimento indicado

por SWEETLEY *et al.*, (1963). A redução dos açúcares em solução aquosa foi feita do seguinte modo: a solução contendo os açúcares foi resfriada em banho de gelo e então tratada com borohidreto de potássio, mantendo-se a mesma temperatura ambiente por 35 minutos, após o que adicionou-se ácido clorídrico 1 N. Quando a decomposição do excesso de borohidreto de potássio estava completa, adicionou-se água e em seguida uma mistura de resinas de troca iônica (básica e ácida fracas). A solução aquosa sobrenadante foi então removida e a resina lavada com água. A mistura dos sobrenadantes foi evaporada em evaporador rotativo, com adição de gotas de benzeno e estocada em dessecador. A obtenção das oximas e sua posterior sililação foi feita como descrito anteriormente (3.3.2.1.1).

### 3.3.2.2. ANÁLISE DOS ÉTERES TRIMETILSILILADOS DE AÇÚCARES POR CROMATOGRAFIA GASOSA

#### 3.3.2.2.1. PREPARAÇÃO DAS COLUNAS

As colunas utilizadas foram preparadas conforme procedimento descrito anteriormente para ácidos graxos.

Foram utilizadas as seguintes fases líquidas:

- a) SE - 30 (Metil silicone gum rubber) Varian 3%, 6,10m, aço inox,  $\phi$  int 1/8".
- b) SE - 30 Varian 1,5%, 3,67m, aço inox,  $\phi$  int 1/8" (MASON e SLOVER, 1971).
- c) OV - 17 (Metil-fenil silicone) Varian 2%, 1,85 m,  $\phi$  int 1/8", aço inox (MORITA e MONTGOMERY, 1978; PRAGER e MISKIEWICKZ, 1979; MASON e SLOVER, 1971).
- d) Coluna utilizada para quantificação: OV-17 Varian 2%, 3,85m,  $\phi$  int. 1/8", aço inox.

O suporte utilizado em todas estas colunas foi Chromosorb W 80-100 mesh (HMSD). Após o preparo, as colunas foram condicionadas para uso posterior.

### 3.3.2.2.2. PADRONIZAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Carboidratos puros, bem como misturas destes carboidratos foram derivados como descrito anteriormente e injetados no cromatógrafo gás-líquido.

A mistura padrão de açúcares utilizada para os testes de resolução, e para a quantificação, foi preparada com os seguintes açúcares: arabinose, xilose, ribose, glicose, galactose, frutose, inositol, lactose, maltose, sacarose e rafinose (MERCK). Para a preparação da mistura padrão, 2-10 mg de cada açúcar puro foi utilizada.

Para a quantificação dos açúcares das farinhas desengorduradas, adicionou-se arabinose (utilizada como padrão) após a extração dos mesmos; procedendo-se então à derivação e quantificação.

### 3.3.2.2.3. CROMATOGRAFIA

O cromatógrafo utilizado foi Parkin-Elmer 990 com detector de ionização de chama, operando nas seguintes condições:

#### 1. Fluxo de gases:

gás de arraste N <sub>2</sub> :	30 ml/min
ar sintético	: 500 ml/min
hidrogênio	: 35 ml/min

## 2. Temperaturas:

injetor : 290°C

detector: 290°C

colunas : foram feitas diversas programações de temperatura, de acordo com o tipo de fase líquida e comprimento utilizados:

- a) SE - 30 3%: isotérmica a 170°C por 38 minutos, 4°C/min até 270°C e novamente isotérmica a 270°C.
- b) SE - 30 1,5%: isotérmica a 170°C por 36 minutos, 4°C/min até 270°C, isotérmica a 270°C.
- c) SE - 30 1,5%: T<sub>i</sub> = 170°C, 2°C/min por 11 minutos, 4°C/min até 275°C, isotérmica a 275°C.
- d) OV - 17 2% (3,85 cm): isotérmica a 140°C por 21 minutos, 4°C/min por 13 min, 6°C/min até 280°C, isotérmica a 280°C.

3. Velocidade do Papel: 5 mm/min.

Devido ao efeito da programação térmica na linha de base, foi necessário utilizar um sistema de duas colunas.

## 3.4. DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS TOTAIS

As análises de aminoácidos totais foram realizadas em analisador de aminoácidos (Beckman 119 - CL) com as seguintes características de operação:

comprimento da coluna de vidro: 6 x 460 mm

comprimento da resina : 220 mm

tipo de resina: H3 (Beckman)

tampões: pH 3,25, 0,20 N Na<sup>+</sup>, contendo 1% de  
2 - propanol.

pH 3,95, 0,40 N Na<sup>+</sup>

pH 6,40, 1,00 N Na<sup>+</sup>

taxas de fluxo: 44ml/h - tampões

22ml/h - ninidrina

temperaturas da coluna: inferior a 50°C, supe  
rior a 65°C.

tempo de análise: 92 minutos incluindo a lim  
peza da coluna.

### 3.4.1. PREPARO DAS AMOSTRAS

Modificação do método descrito pelo fabrican  
te (foram utilizadas amostras previamente desengorduradas):  
foram pesados 15 mg de proteína em tubo pirex, acrescentan  
do-se ácido clorídrico 6 N (1/1000 peso/volume) de modo a  
eliminar todo o ar do tubo. A hidrólise foi realizada a  
110<sup>±</sup> 1°C a tempos variáveis (4, 12, 48 e 70 horas). Após o  
tempo de hidrólise ter-se completado, as amostras foram es  
friadas, e filtradas em funil de vidro sinterizado super fi  
no, completando-se o volume para 100 ml. Deste volume reti  
rou-se uma alíquota de 20 ml, a qual foi evaporada sucessi  
vas vezes para a eliminação do ácido clorídrico em roto-eva  
porador. O material hidrolisado seco foi dissolvido em 5 ml  
de tampão citrato de sódio (0,20 N, pH 2,2) e então, estoca  
do. Alíquotas de 100 ul foram analisadas.

#### 3.4.1.1. MISTURA PADRÃO

Foi utilizada uma mistura de calibração forne  
cida pela Beckman contendo 0,05 umol/100 ul dos seguintes  
aminoácidos: L-lisina, L-histidina, sulfato de amônia, L-ar  
ginina, ácido L-aspártico, L-treonina, L-serina, ácido L-glu  
tâmico, L-prolina, glicina, L-alanina, L-cistina, L-valina,

L-metionina, L-isoleucina, L-leucina, L-tirosina, L-fenilalanina. Asparagina e glutamina não foram determinadas. Para a quantificação, todas as análises foram monitoradas pela mistura padrão.

### 3.4.1.2. DETERMINAÇÃO DE TRIPTOFANO

O triptofano, durante hidrólise ácida, é extensivamente destruído (FRIEDMAN e FINLEY, 1975). A determinação foi feita de acordo com o método proposto por SPIES (1967), modificado por AMAYA *et al.* (1977). Amostras desengorduradas (200 mg) foram pesadas em tubo de polipropileno, adicionando-se 8ml de hidróxido de potássio 5 N. A hidrólise foi realizada em autoclave a  $110 \pm 1^{\circ}\text{C}$  por 4 horas. O produto foi transferido quantitativamente e neutralizado com ácido clorídrico 6 N, após o que levou-se o volume a 50 ml com água deionizada. O material foi então filtrado e alíquotas de 1 ml foram utilizadas. Acrescentou-se 0,5 ml de p-dimetilaminobenzaldeído (DAB) e 4,5 ml de ácido sulfúrico 19 N, guardando-se por 1 hora em local isento de luz. Adicionou-se 0,1 ml de  $\text{NaNO}_2$  (0,04%) e após 20 minutos fez-se a leitura em espectrofotômetro (BAUCH & LOMB. SPECTRONIC 20) a 600 nm, contra um branco livre do aminoácido. A curva padrão foi preparada a partir de uma solução de triptofano puro.

### 3.4.2. DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNA

O método utilizado foi o micro-Kjeldahl (AOAC, 1980). O fator utilizado na conversão de nitrogênio total à proteína foi 5,46, recomendado para proteína de amendoim (PICKET, 1950; FAO, 1970).

### 3.5. DETERMINAÇÃO DE AMINOÁCIDOS LIVRES

Para a extração de aminoácidos livres foram testados três métodos de extração, e análise foi feita em analisador de aminoácidos.

#### 3.5.1. EXTRAÇÃO UTILIZANDO ÁCIDO TRICLOROACÉTICO (TCA)

Utilizou-se o método proposto por BECKER *et al.* (1940) com modificações: a um grama de amostra desengor

durada adicionou-se 20 ml de água, e agitou-se por 2 horas. Após centrifugação a 8000 rpm/10 min, o precipitado foi lavado com água, juntando-se os sobrenadantes que foram levados a 50 ml. Ácido tricloroacético (10ml, 50%), foi adicionado ao extrato, permanecendo em repouso por 1 hora. Fez-se então uma filtração tomando-se 30 ml do filtrado e transferindo-se o mesmo para um funil de separação, acrescentando-se então 60 ml de éter de petróleo para a extração do TCA. O éter, após agitação foi descartado. Repetiu-se a operação por 5 vezes. O material restante foi então liofilizado, e logo após dissolvido em tampão citrato de lítio (0,15 N, pH 2,2), e armazenado à temperatura de - 20°C até o momento da análise.

### 3.5.2. EXTRAÇÃO COM MISTURA DE SOLVENTES

Esta extração utilizou metanol: clorofórmio : água (MCW) na proporção de 60:25:15 (YOUNG *et al.*, 1974b). A um grama de amostra desengordurada adicionou-se 15 ml da mistura de solventes, agitando-se por 20 minutos. Filtrou-se, lavando-se o filtrado com porções da mistura extraente e centrifugou-se o filtrado a 8000 rpm/10 min. Os sobrenadantes juntos foram então evaporados e liofilizados. O produto foi diluído em 5 ml de tampão citrato de lítio (0,15 N) e estocado até sua utilização.

### 3.5.3. EXTRAÇÃO COM ÁCIDO SULFOSSALISÍLICO (SSA)

Este método foi proposto pela BECKMAN (1977). A 500 mg de farinha desengordurada, adicionou-se 5 ml de ácido sulfossalisílico 3,5%, agitando-se por 15 minutos e posteriormente centrifugando-se a 8000 rpm/min. Uma alíquota de 0,5 ml foi retirada e diluída em 0,5 ml de tampão citrato de lítio (0,15 N) e estocada até a análise.

### 3.5.4. ANÁLISE DOS AMINOÁCIDOS LIVRES

Os extratos, após diluição no tampão citrato, foram analisados em analisador de aminoácidos sendo os seguintes os parâmetros de operação:

comprimento da coluna de vidro: 450 mm

resina: P-3

Tampões: pH 2,83 0,20 N  $\text{Li}^+$

pH 3,70 0,20 N  $\text{Li}^+$

pH 3,75 1,00 N  $\text{Li}^+$  6% de propanol - 2

$\text{LiOH}$  0,30 N,  $\text{Li}^+$  com 0,25 g de EDTA na forma ácida por litro.

Taxas de fluxos: tampões 44 ml/h

ninidrina 22 ml/h

temperaturas da coluna: inferior a 40°C e superior a 65°C

tempo de análise: 267 minutos, incluindo-se a limpeza da coluna.

A mistura padrão foi preparada pela adição de partes iguais de padrão ácido e padrão neutro-básico. Estes padrões foram diluídos 5 vezes antes da mistura. Para todas as análises, o volume de injeção foi de 100  $\mu\text{l}$ .

### 3.6. ENSAIO BIOLÓGICO

As farinhas desengorduradas de amendoim foram estocadas à baixa temperatura até o início do ensaio, quando as dietas foram preparadas. O manuseio das sementes na preparação das farinhas foi cuidadoso, para se evitar perdas no valor nutricional da proteína, especialmente devido ao emprego de calor durante a preparação das mesmas (secagem preliminar, extração do óleo e secagem para eliminação do solvente).



As farinhas desengorduradas, após a determinação do teor protéico e do teor de óleo residual, foram utilizadas como fonte protéica para o preparo de dietas com quatro diferentes níveis de proteína. Uma dieta controle contém do caseína comercial, como fonte protéica e uma dieta aprotéica foram também preparadas. A composição centesimal das dietas, da mistura salina e da mistura vitamínica estão reproduzidas nas Tabelas 10, 11 e 12.

Os níveis utilizados para a proteína de amendoim foram: 5,80; 7,30; 10,90 e 14,90% para o amendoim comercial e 5,70; 8,00; 11,30 e 14,40% para a espécie *villosula carpa*. O nível da dieta de caseína foi de 10,58%.

Nos ensaios foram utilizados ratos fêmeas, recém desmamados da raça Wistar, fornecidos pela Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. O período de adaptação foi de três dias, durante os quais foi fornecida dieta comercial e água à vontade. Os ratos foram então pesados e agrupados (grupos de 6 ratos com idade inicial de 30 dias) para as dietas de amendoins, de caseína e aprotéica. O peso médio dos grupos variou menos de 1%, e o desvio padrão das médias nos grupos foi menor do que 5%. Os animais foram colocados em gaiolas individuais de aço inox e tela, fornecendo-se alimento e água à vontade. O ensaio utilizado foi "NPU", proposto por MILLER e BENDER (1955).

O tempo de duração dos ensaios foi de dez dias, após o que os ratos foram pesados e mortos com éter etílico. A água corporal e a porcentagem de nitrogênio nas fezes secas foram então determinados.

Tabela 10. Composição centesimal das dietas utilizadas nas determinações biológicas.

COMPONENTE	PORCENTAGEM
Proteína	variável
Gordura (óleo de milho comercial)	8
Sais minerais	5
Mistura vitamínica	2
Sacarose (açúcar refinado comercial)	25
Amido (amido de milho comercial)	qsp 100

FONTE: ALLISON (1964); AOAC (1980)

Tabela 11. Componentes da mistura salina utilizada nos ensaios.

COMPONENTE	PORCENTAGEM
Carbonato de cálcio	29,97
Fosfato de potássio	32,22
Fosfato de mono-cálcio	7,49
Sulfato de magnésio	10,19
Cloreto de sódio	16,74
Citrato férrico	2,75
Iodeto de potássio	0,08
Sulfato de magnésio	0,50
Sulfato de cobre	0,30
Cloreto de zinco	0,02

FONTE: HEGSTED *et al.* (1941), *apud* INC 1977/1978.

Tabela 12. Componentes da mistura vitamínica utilizada nos ensaios.

COMPONENTE	MG/100 G DE DIETA
*Vitamina A	1982,40
*Vitamina D	220,26
$\alpha$ -Tocoferol	11,00
Menadiona	4,96
Colina (HCL)	165,00
Ácido P-amino benzóico	11,00
Inositol	11,00
Niacina	9,90
Pantotenato de cálcio	6,60
Riboflavina	2,20
Tiamina (HCL)	2,20
Piridoxina (HCL)	2,20
Ácido fólico	0,20
Biotina	0,04
Cianocobalamina	0,003
Ácido ascórbico	99,00
Dextrose	qsp 1000

PONTE: ICN - Diet Catalog (1977/78); AOAC (1980).

\* U.I.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

Os resultados da caracterização bromatológica dos amendoins *Arachis hypogaea* L., variedade Tatu e *Arachis villosulicarpa*, apresentados na Tabela 13, estão em concordância com os dados publicados por HOFFPAUIR (1953).

Tabela 13. Composição centesimal das espécies estudadas.

	<i>ARACHIS HYPOGAEA</i> L., VARIEDADE TATU	<i>ARACHIS VILLOSULICARPA</i>
Umidade	5,02	4,49
Cinzas (1)	4,67	5,34
Extrato etéreo	49,82	52,11
Fibra bruta (1)	4,05	3,23
Proteína (N x 5,46)	26,56	25,83
Carboidratos (diferença)	9,88	9,00

(1) AOAC, 1980.

### 4.2. ÁCIDOS GRAXOS

#### 4.2.1. SELEÇÃO DE FASES CROMATOGRÁFICAS

Os derivados da mistura padrão de ácidos graxos

foram testados individualmente em diversas fases. Os tempos de retenção obtidos são apresentados na Tabela 14.

Tabela 14. Tempo de retenção dos derivados metil éster dos ácidos graxos nas fases cromatográficas utilizadas (tr = tempo de retenção).

DERIVADO ÉSTER METÍLICO	FASES LÍQUIDAS UTILIZADAS (tr, min)		
	PEGS	EGSS-X	DEGS
16:0 ácido palmítico	9,6	5,8	6,6
18:0 ácido esteárico	18,8	12,2	11,2
18:1 ácido oléico	20,4	12,8	13,0
18:2 ácido linoléico	23,6	14,8	16,6
20:0 ácido araquídico	36,4	28,4	18,9
18:3 ácido linolênico	29,0	19,0	21,8
22:0 ácido behênico	71,2	66,8	32,4
17:0 ácido margárico	13,4	8,3	9,2

A utilização da coluna contendo a fase líquida PEGS não se mostrou eficiente para a separação da mistura padrão, apresentando problemas com relação aos derivados dos ácidos esteárico e oléico. O valor de R (coeficiente de resolução) para os ácidos citados, foi de 0,45, muito baixo para determinações quantitativas (McNAIR e BONELLI, 1969). O cromatograma respectivo é apresentado na Figura 1.

A Figura 2, ilustra a eluição da mistura padrão na fase líquida EGSS-X. Observa-se na mesma, a superposição dos derivados dos ácidos oléico e esteárico, o que foi confirmado pelos tempos de retenção dos ácidos eluídos individualmente (Tabela 14).

A utilização de coluna contendo a fase DEGS,

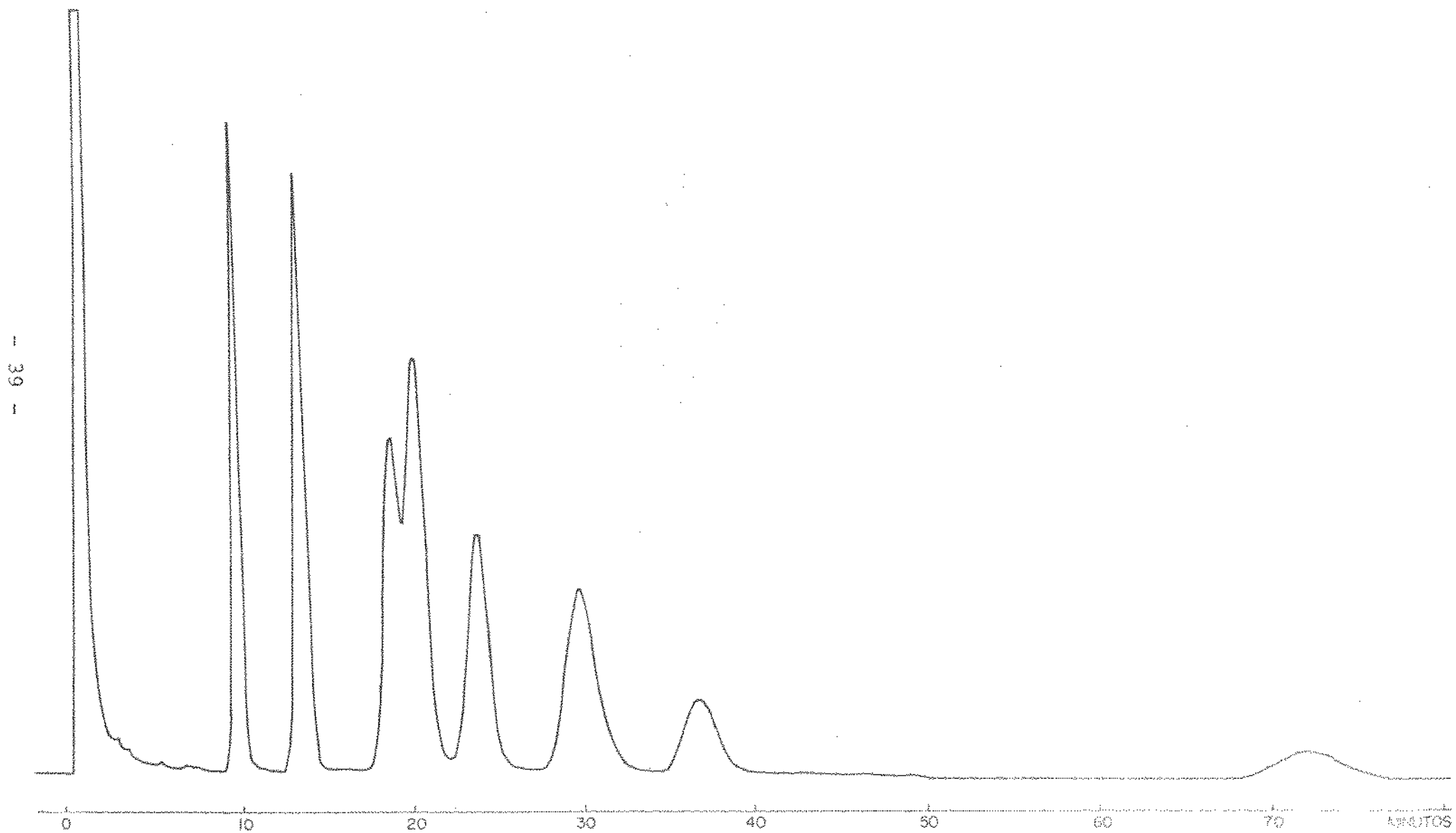


FIGURA 1 : CROMATOGRAMA 1: METIL ÉSTERES DOS ÁCIDOS GRAXOS DA MISTURA PADRÃO: 5% PESS, 185°C.

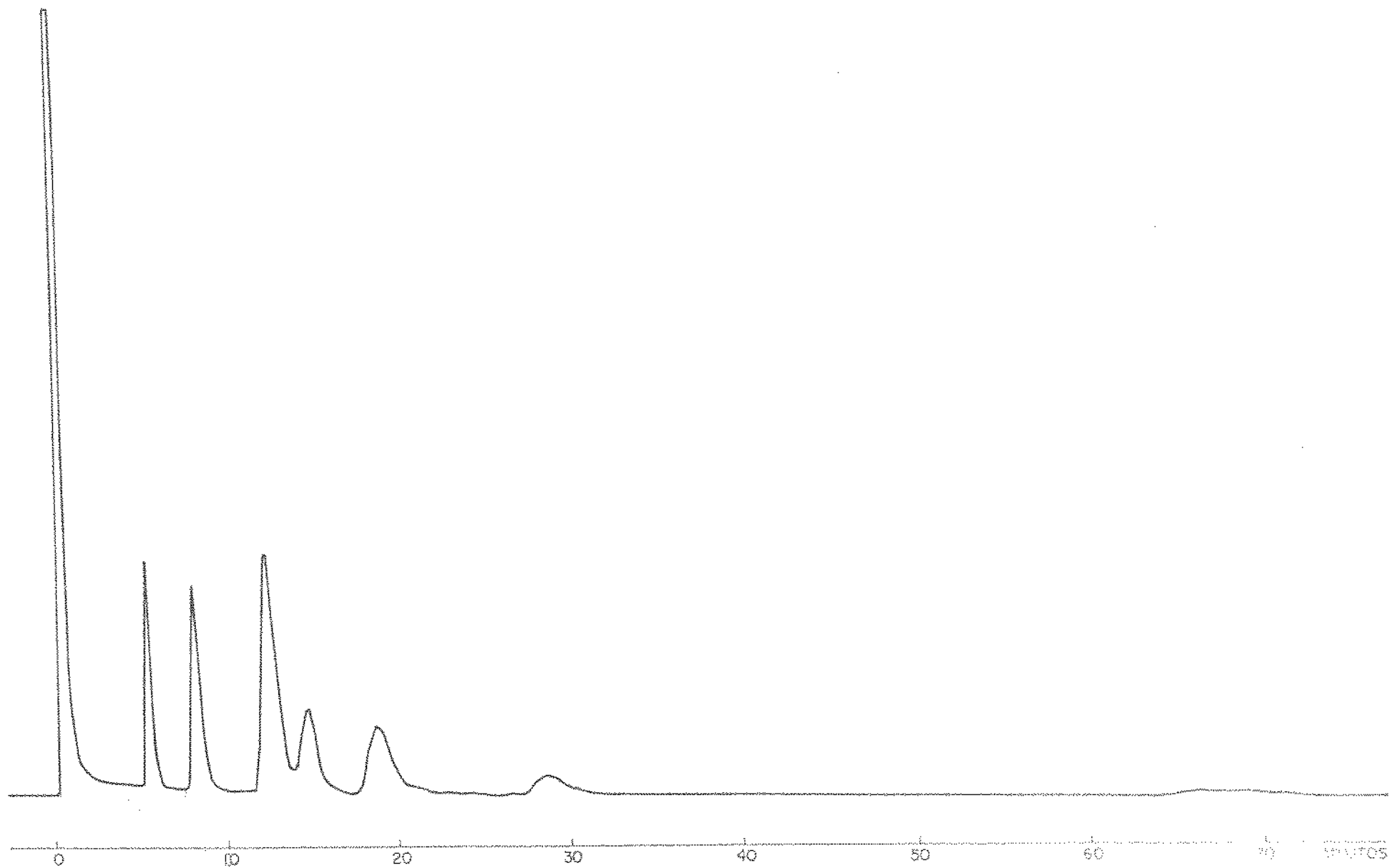


FIGURA 2 : CROMATOGRAMA 2: METIL ÉSTERES DOS ÁCIDOS GRAXOS DA MISTURA PADRÃO : 3% EGSS-X , 145 °C

mostrou-se satisfatória para análise quantitativa dos ácidos graxos de amendoim. A Figura 3, representa a eluição da mistura padrão nesta fase. Além da boa resolução entre os derivados da mistura, pode-se observar (Tabela 14) uma significativa redução nos tempos de retenção quando a fase DEGS foi utilizada. Uma melhora considerável poderia ainda ser obtida com a utilização de programação de temperatura.

Devido à falta do derivado do ácido lignocérico (24:0), utilizou-se os tempos de retenção dos padrões saturados disponíveis, construindo-se uma curva padrão (Figura 4) e extrapolando-se então o tempo de retenção deste ácido. WORTHINGTON e HAMMONS (1977) confirmam a presença do ácido lignocérico em óleo de amendoim.

As Figuras 5 e 6, ilustram a eluição dos ácidos graxos dos amendoins da variedade Tatu e *Arachis villosu licarpa* respectivamente. Devido à possível degradação da fase utilizada em função do tempo de uso, as análises foram precedidas pela injeção dos padrões individuais. Procurou-se eliminar desta forma erros provenientes da variação nos tempos de retenção.

#### 4.2.2. QUANTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

A quantificação dos ácidos graxos dos amendoins estudados foi feita por triangulação das áreas obtidas nos cromatogramas, e os resultados finais (Tabelas 15 e 16), são apresentados como porcentagem relativa do total de ácidos graxos da semente.

A fase utilizada para a quantificação não foi suficiente para a separação dos ácidos linolênico (18:3) e



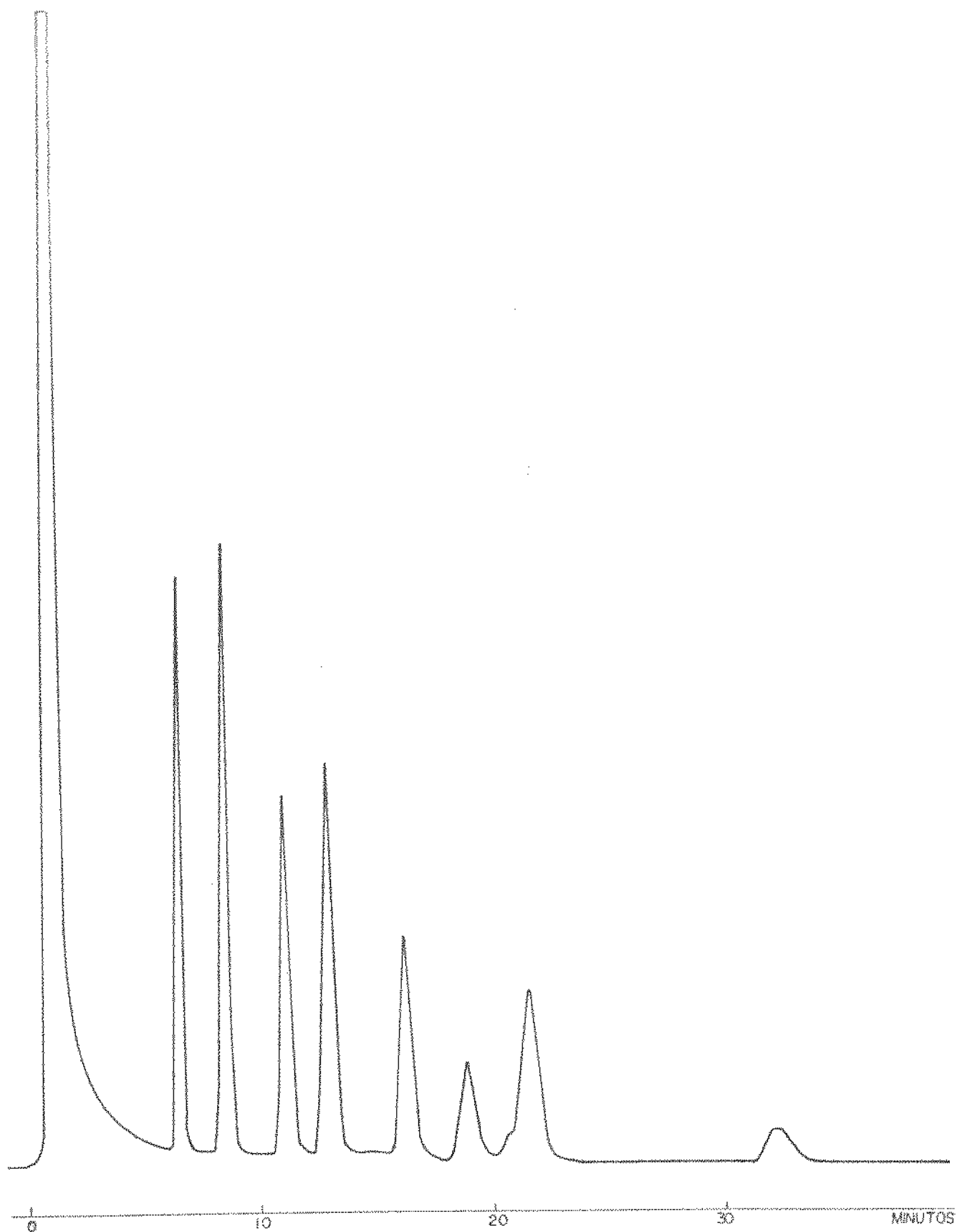


FIGURA 3 :CROMATOGRAMA 3: METIL ÉSTERES DOS ÁCIDOS GRAXOS DA MISTURA PADRÃO : 10% DEGS, 190°C.

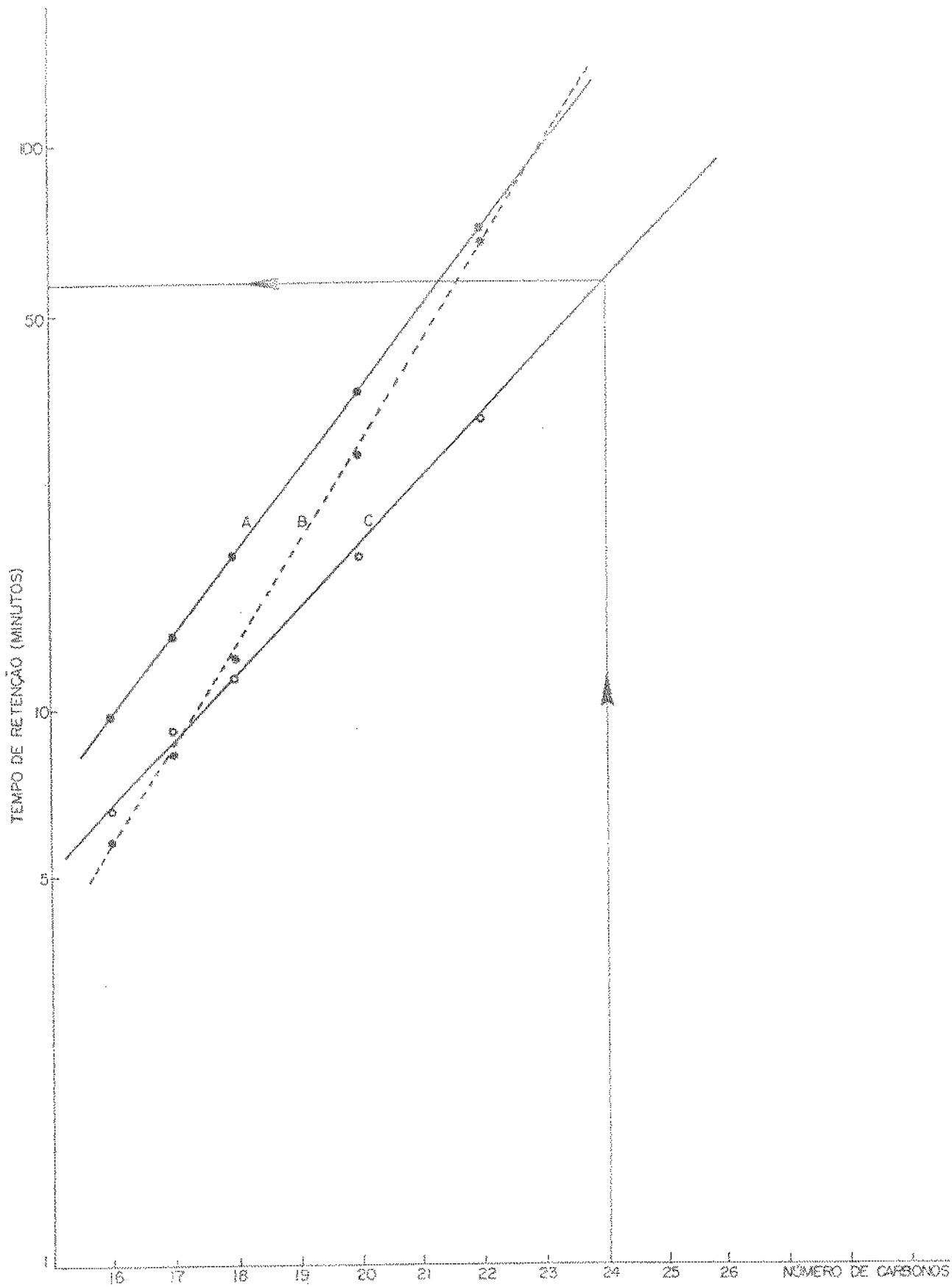


FIGURA 4 : CURVA PADRÃO: LOG(TEMPO DE RETENÇÃO) x NÚMERO DE CARBONS. SÉRIE SATURADA. A-PEGS, B-EGSS-X, C-DEGS.

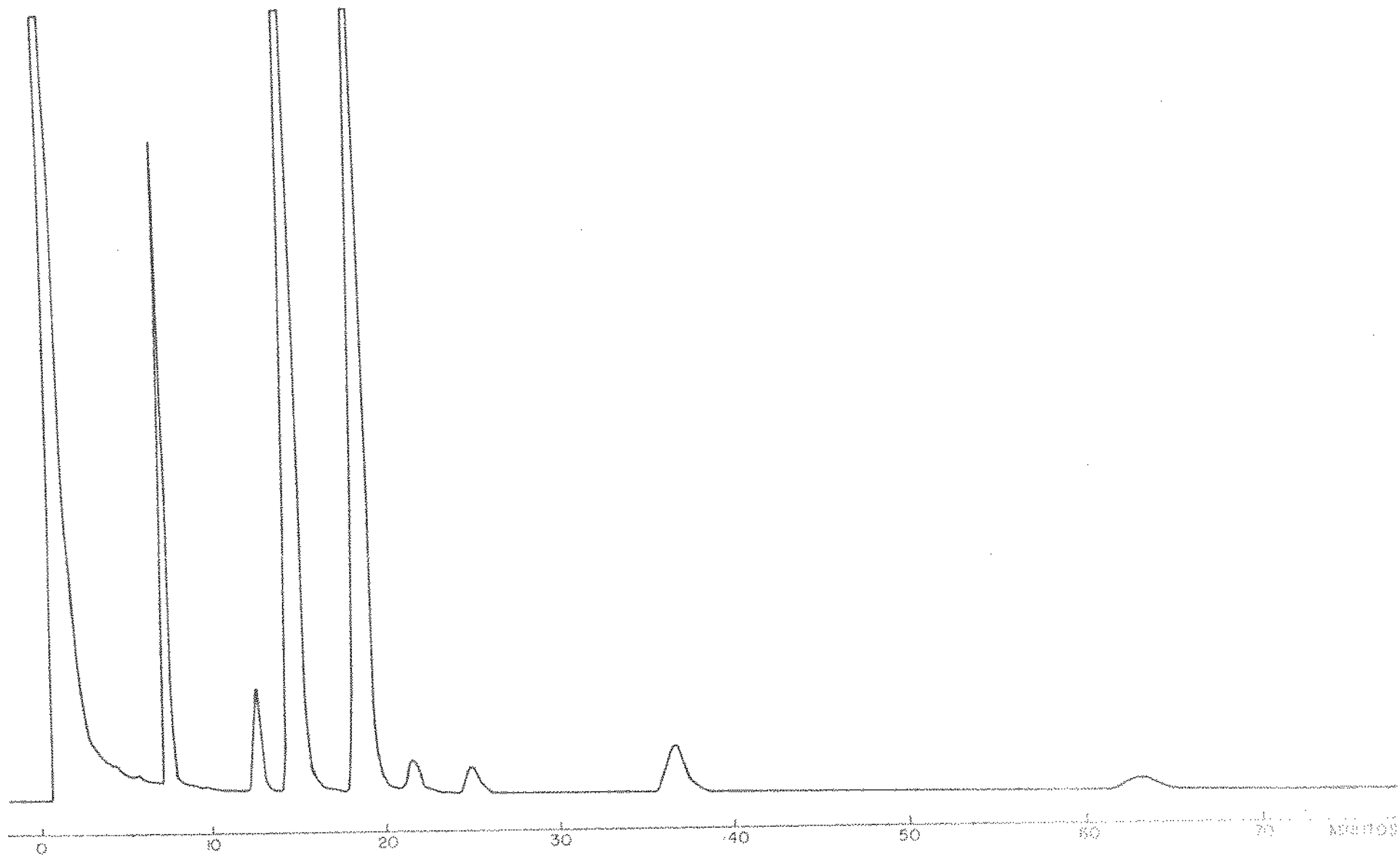


FIGURA 5 :CROMATOGRAMA 4: METIL ÉSTERES DOS ÁCIDOS GRAXOS DE AMENDOIM, VARIEDADE TATU: 10% DEGS, 190°C

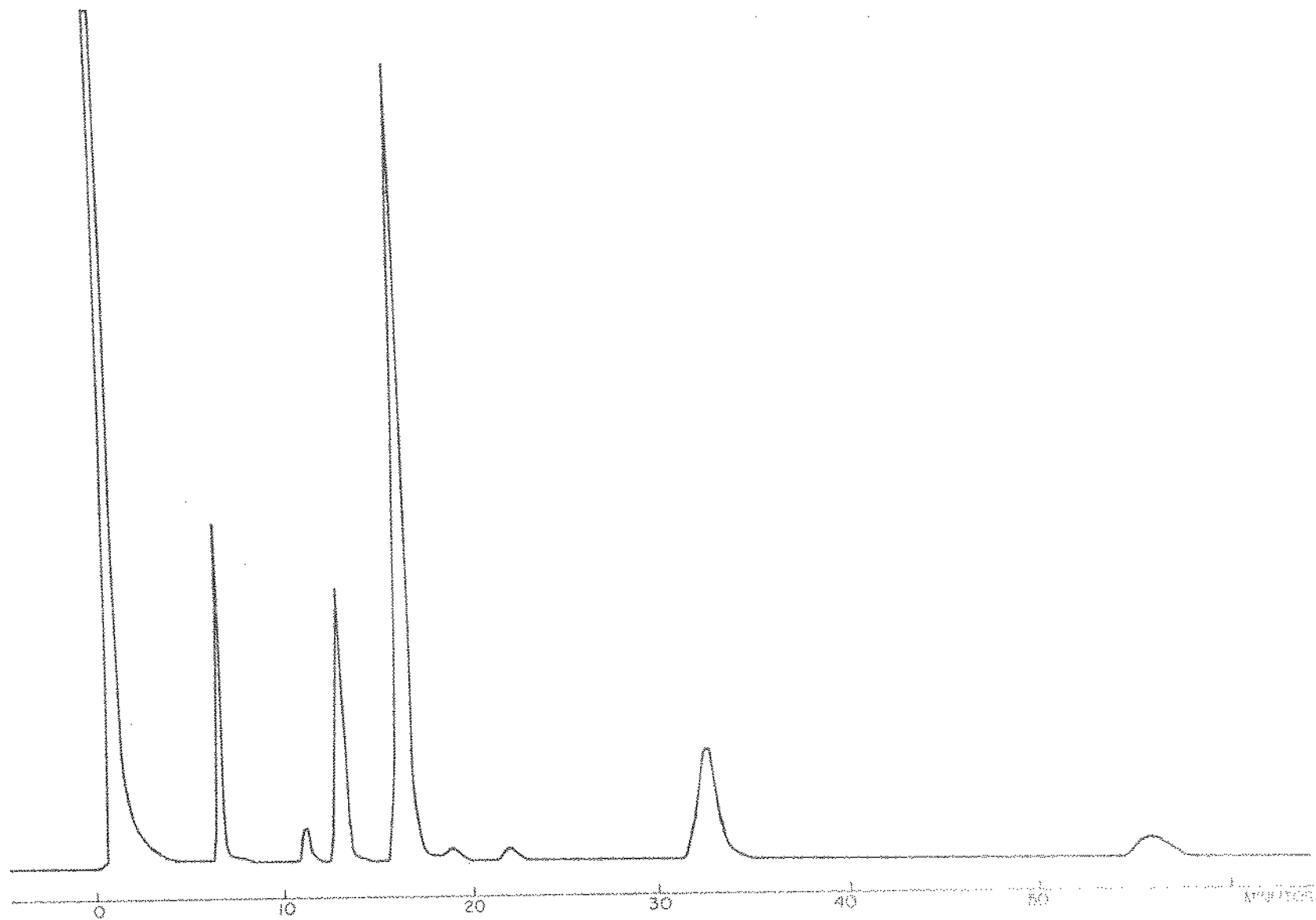


FIGURA 6 :CROMATOGRAMA 5: METIL ÉSTERES DOS ÁCIDOS GRAXOS DE AMENDOM SELVAGEM (A. VILLO SULICARPA) 10% DEGS, 190°C

gadoléico (20:1), ocorrendo portanto a quantificação conjunta.

Tabela 15. Conteúdo dos ácidos graxos de *Arachis hypogaea* L., variedade Tatu.

ÁCIDO GRAXO	ÁREA (cm <sup>2</sup> )	PORCENTAGEM DO TOTAL
16:0 ácido palmítico	1,91	9,40
18:0 ácido esteárico	0,67	3,30
18:1 ácido oléico	8,08	39,77
18:2 ácido linoléico	7,78	38,29
20:0 ácido araquídico	0,33	1,64
18:3 ácido linolênico e 20:1 ácido gadoléico	0,32	1,58
22:0 ácido behênico	0,94	4,64
24:0 ácido lignocérico	0,28	1,38

Tabela 16. Conteúdo de ácidos graxos de *Arachis villosulicarpa*.

ÁCIDO GRAXO	ÁREA (cm <sup>2</sup> )	PORCENTAGEM DO TOTAL
16:0 ácido palmítico	1,40	11,05
18:0 ácido esteárico	0,19	1,50
18:1 ácido oléico	1,90	15,00
18:2 ácido linoléico	6,57	51,80
20:0 ácido araquídico	0,06	0,47
18:3 ácido linolênico e 20:1 ácido gadoléico	0,12	0,95
22:0 ácido behênico	1,80	14,21
24:0 ácido lignocérico	0,63	4,97

Com relação ao teor de óleo dos amendoins estudados, *A. villosulicarpa* apresenta quantidades superiores, podendo representar uma vantagem potencial do ponto de vista comercial.

A quantidade de ácido linoléico (18:2), nutriente essencial para o homem, foi consideravelmente elevada para a espécie *A. villosulicarpa*, constituindo-se no principal ácido graxo do óleo; por outro lado, o teor de ácido oléico foi reduzido, fornecendo uma relação linoléico/oléico próxima à do óleo de milho.

A relação oléico/linoléico calculada para as duas espécies estudadas (Tabelas 15 e 16) foi significativamente diferente: para a variedade Tatu, o valor encontrado foi 1,04, semelhante aos valores encontrados para variedades comerciais (WORTHINGTON *et al.*, 1972) enquanto que para *A. villosulicarpa*, a relação foi igual a 0,29.

A observação dos resultados, mostrou também diferenças marcantes com relação aos ácidos graxos de cadeia longa (22:0 e 24:0). A espécie selvagem *A. villosulicarpa* apresentou concentrações atipicamente elevadas para um óleo de origem vegetal. Os valores encontrados confirmam resultados publicados anteriormente por WORTHINGTON e HAMMONS (1977).

## 4.3. CARBOIDRATOS

### 4.3.1. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Foram testados dois tipos de extração: extração etanólica 80% e mistura de solventes (metanol: clorofórmio: água, 1:1:1). Partindo-se da mesma quantidade de amostra, após extração e derivação, os produtos foram injetados em cromatógrafo gás-líquido, obtendo-se maior rendimento quando a

mistura de solventes foi utilizada. Além disso, a extração com mistura de solventes foi feita à temperatura ambiente e num tempo muito menor do que a extração etanólica. Optou-se então pela extração com mistura de solventes para a quantificação dos carboidratos livres dos amendoins estudados.

#### 4.3.2. DERIVAÇÃO DOS AÇÚCARES

A obtenção de éteres trimetilsililados de alditóis dos açúcares mostrou-se extremamente difícil, obtendo-se produtos instáveis, possivelmente devido à presença de traços de água durante a formação dos derivados trimetilsililados, pois a redução dos açúcares à alditóis foi feita em meio aquoso. A presença de traços de água foi suficiente para provocar a destruição do reagente e dos derivados sililados da reação, fato este comprovado por outros pesquisadores (DAVISON e YOUNG, 1969; MASON e SLOVER, 1971).

Devido às dificuldades encontradas com o tipo de derivação acima citado, optou-se por derivados trimetilsililados de oximas e açúcares não redutores. Estes derivados foram utilizados em todo o trabalho devido à sua fácil obtenção e a grande estabilidade dos produtos obtidos. Estes derivados, estocados à baixa temperatura, permaneceram inalterados após 15 dias de estocagem.

#### 4.3.3. SELEÇÃO DE FASES

Várias fases cromatográficas foram testadas, utilizando-se a mistura padrão de derivados trimetilsililados de oximas e açúcares não redutores. SE-30 3%, apresentou como resultado picos caracteristicamente arredondados, o que significa excessivo conteúdo de fase líquida. A utilização de SE-30 1,5% (Figura 7) não se mostrou eficiente para uma boa resolução da mistura padrão. Arabinose e xilose, glicose e galactose

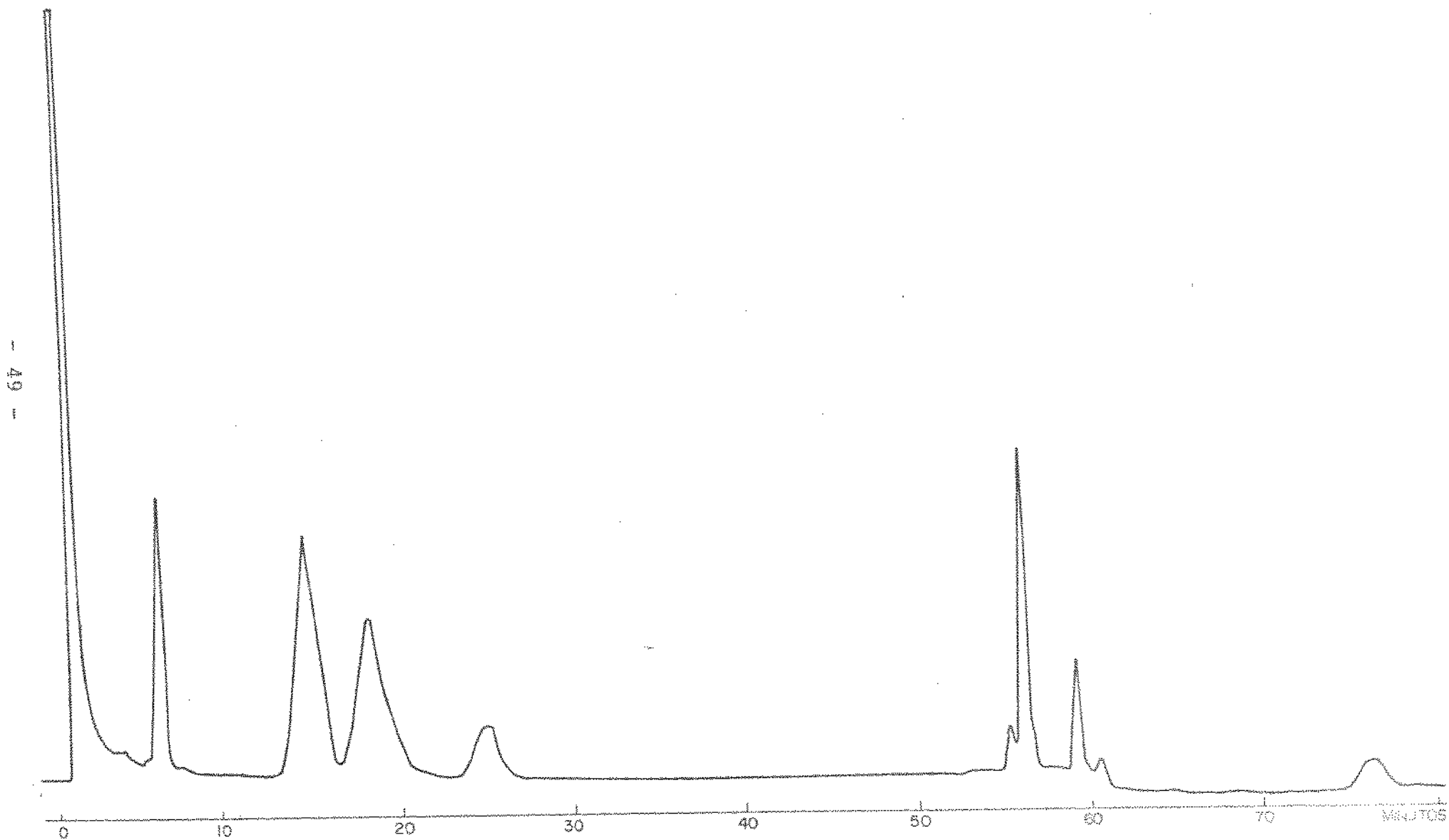


FIGURA 7 :CROMATOGRAMA 6: DERIVADOS TMS DE OXIMAS DA MISTURA PADRÃO DE AÇÚCARES. 1,5% SE -30. Tíndio 170°C, ISOTÉRMICA POR 30 MINUTOS, 4°C/  
MINUTO ATÉ 270°C, ISOTÉRMICA A 270°C.



apresentaram nesta fase os mesmos tempos de retenção (Tabela 17). Mudanças na programação de temperatura (Figura 8) não foram suficientes para melhorar a resolução da mistura.

Tabela 17. Tempo de retenção dos derivados trimetilsililados de oximas e açúcares não redutores. Fase líquida SE-30 1,5%.

DERIVADOS TMS	TEMPO DE RETENÇÃO (min)
Arabinose	5,8
Xilose	5,8
Inositol	17,8
Galactose	14,2
Frutose	13,8
Glicose	14,2
Maltose	38,2
Sacarose	33,4
Lactose	33,6
Rafinose	51,0

A substituição de piridina por isooctana ou hexana (p.a.), como solvente dos derivados, revelou-se muito boa pois forneceu uma linha de base estável, e além disso, o tempo de retenção destes solventes foi muito menor do que o da piridina, não interferindo com o tempo de retenção dos açúcares. Esta mudança de solventes foi sugerida por MASON e SLOVER (1971).

A fase líquida OV-17 2% (1,85 m), testada com a mistura padrão dos derivados trimetilsililados das oximas e açúcares não redutores, apresentou melhora significativa

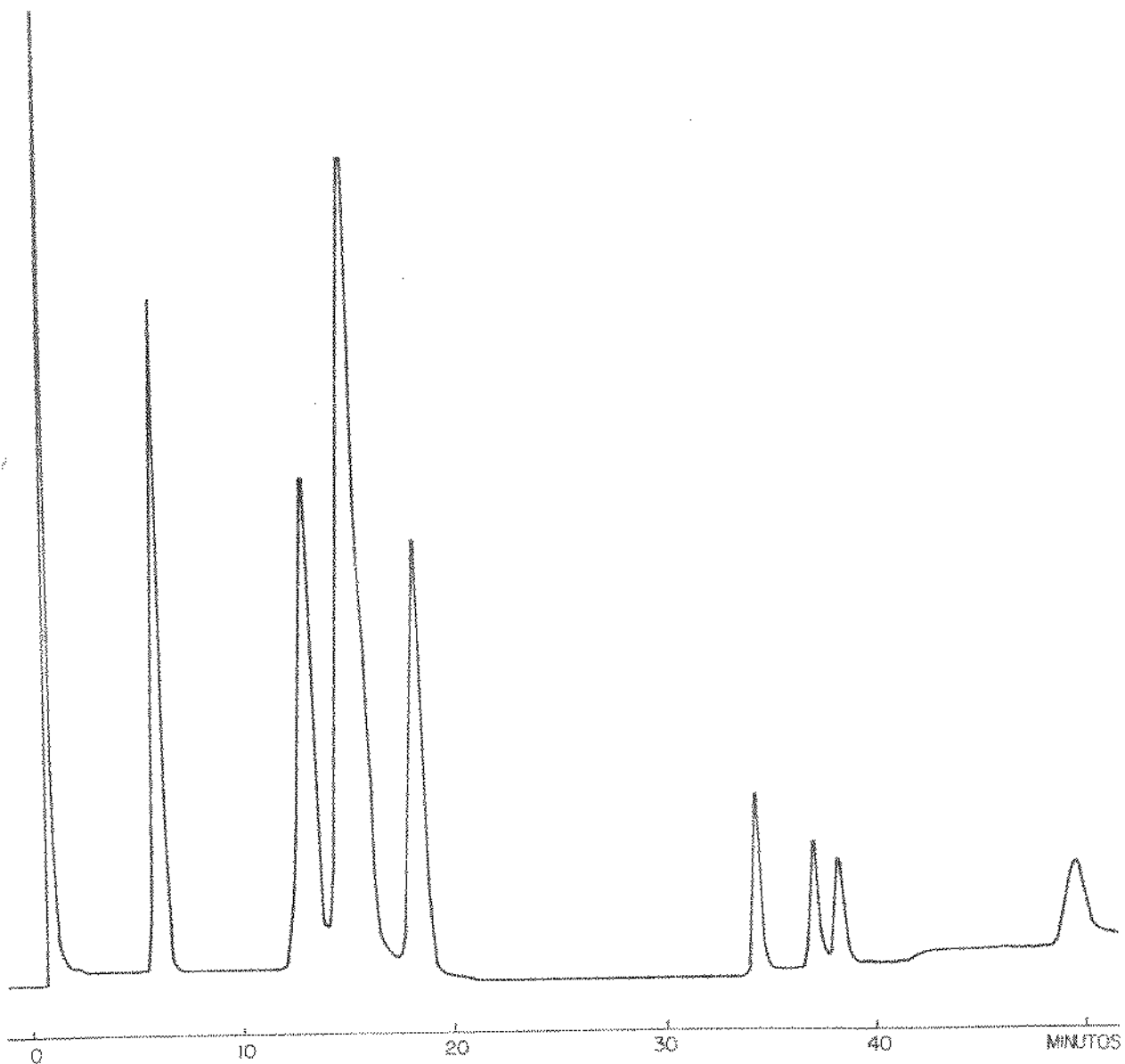


FIGURA 8 :CROMATOGRAMA 7: DERIVADOS TMS DE OXIMAS DA MISTURA PADRÃO DE AÇÚCARES. 1,5% SE-30. Inicial 170°C, 2°C/MINUTO POR 11 MINUTOS, 4°C/MINUTO ATÉ 275°C, ISOTÉRMICA A 275°C.

na resolução dos açúcares arabinose e xilose, e glicose e lactose. No entanto, o coeficiente de resolução (R) apresentou valores menores do que 0,7. Conservou-se então a fase OV-17 2%, aumentando-se o comprimento da coluna para 3,85 m. A Figura 9 ilustra a eluição da mistura padrão dos derivados dos açúcares. Os tempos de retenção, obtidos por injeções individuais, são apresentados na Tabela 18.

Tabela 18. Tempo de retenção dos derivados trimetilsililados de oximas e açúcares não redutores. Fase líquida OV-17 2% (3,85 m).

DERIVADOS TMS	TEMPO DE RETENÇÃO (min)
Arabinose	17,0
Xilose	18,1
Ribose	19,8
Fucose	21,7
Frutose	28,8
Galactose	30,5
Glicose	31,2
Inositol	32,7
Sacarose	44,5
Lactose	46,0
Maltose	47,0
Rafinose	56,1
Melibiose	49,6

Desta forma, os resultados obtidos, permitiram a escolha da fase OV-17 2% (3,85 m), para a identificação e quantificação dos carboidratos livres dos amendoins estudados.

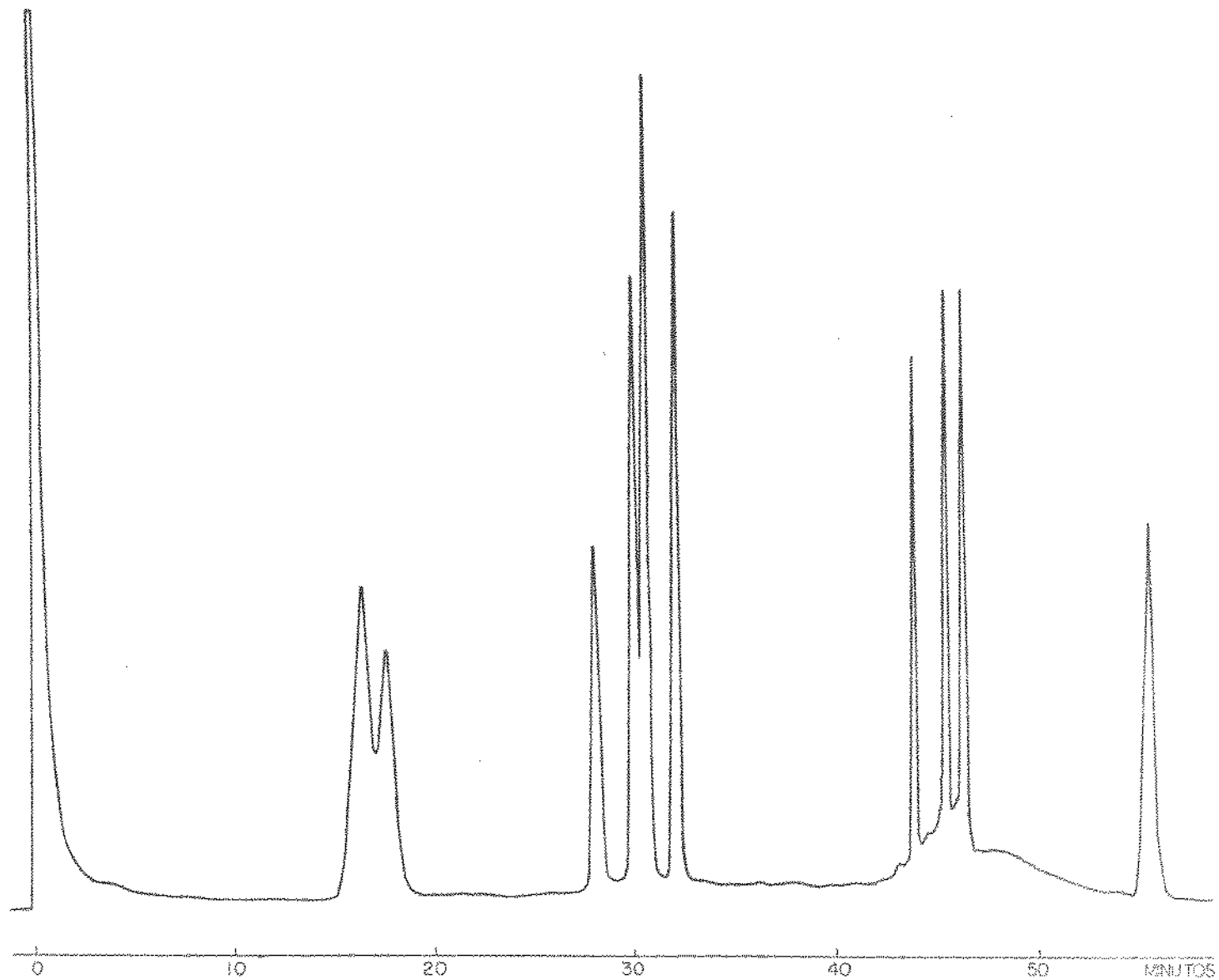


FIGURA 9 :CROMATOGRAMA B: DERIVADOS TMS DE OXIMAS DA MISTURA PADRÃO DE AÇÚCARES. 2% OV-17. Inicial 140°C, ISOTÉRMICA POR 21 MINUTOS, 4°C/MINUTO POR 13 MINUTOS, 6°C/MINUTO ATÉ 280°C, ISOTÉRMICA A 280°C.

Devido às amostras serem injetadas manualmente, procedeu-se a uma série de injeções de um determinado padrão, afim de testar a repetibilidade das injeções. O desvio padrão entre as áreas calculadas foi de  $\pm 0,2$ .

#### 4.3.4. DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DOS CARBOIDRATOS NAS AMOSTRAS

##### 4.3.4.1. LINEARIDADE

Misturas dos açúcares, contendo diferentes quantidades, foram derivadas e analisadas cromatograficamente, com o objetivo de observar as respostas do detector do aparelho à diferentes quantidades de cada açúcar, passo inicial para a quantificação dos açúcares dos amendoins.

Testes preliminares mostraram a ausência de arabinose nos derivados de extratos dos amendoins analisados. Partindo-se deste dado, os testes de linearidade foram feitos em relação à arabinose. As Figuras 10, 11 e 12 representam os resultados obtidos, mostrando respostas lineares para os açúcares analisados.

##### 4.3.4.2. QUANTIFICAÇÃO

A quantificação dos carboidratos livres dos amendoins foi feita através da adição de arabinose, não detectada em análises preliminares nas amostras (McNAIR e BONELLI, 1969). A Tabela 19 apresenta os fatores de equivalência relativos à arabinose.

As Figuras 13 e 14 ilustram a eluição dos derivados dos carboidratos livres da variedade Tatu e de *A. villo*

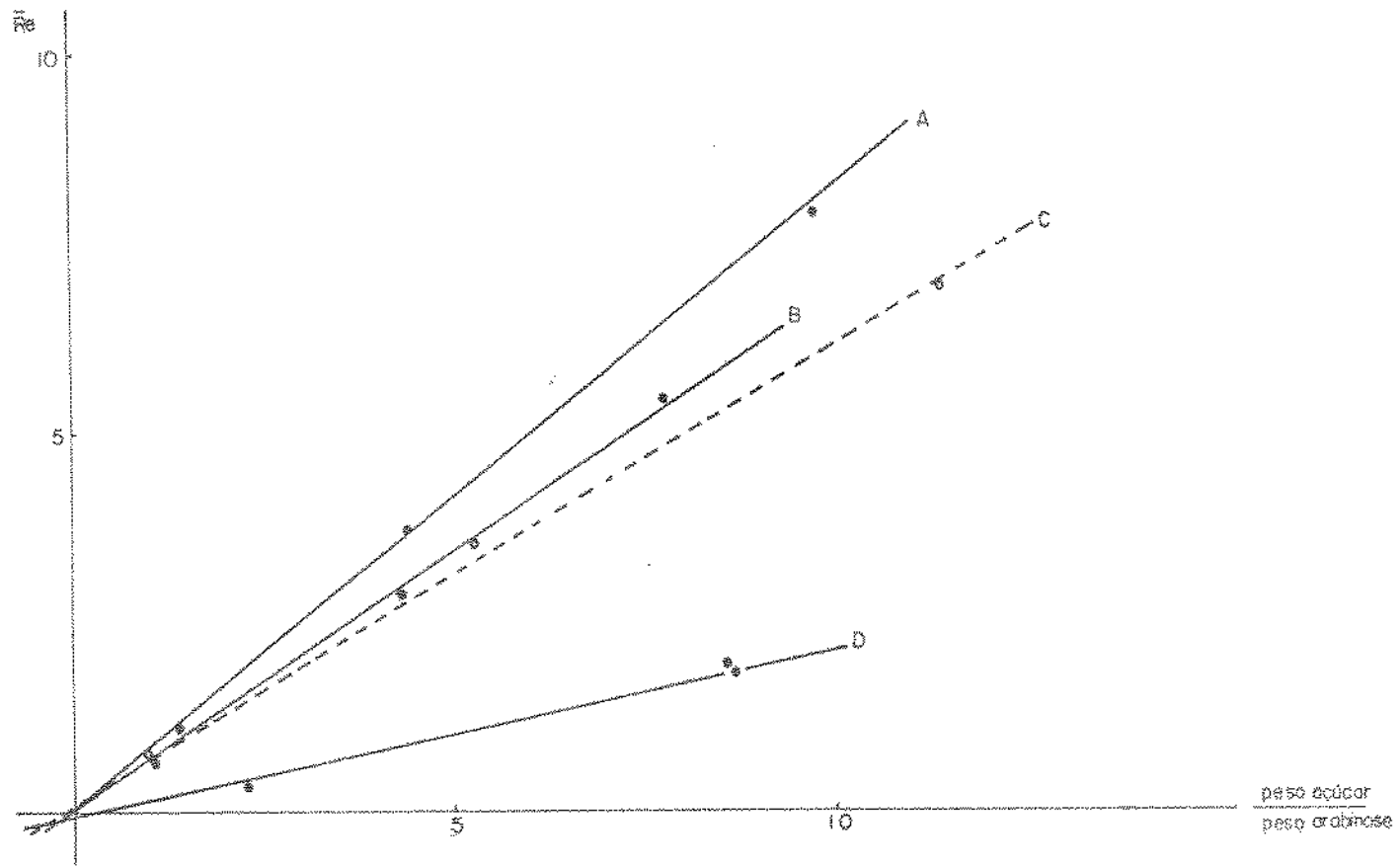


FIGURA 10: CURVAS PADRÃO DOS DERIVADOS DE AÇÚCARES RELATIVOS À ARABINOSE. - TESTES DE LINEARIDADE -  
A- XILOSE , B- RIBOSE , C- FRUTOSE , D- MELIBIOSE.

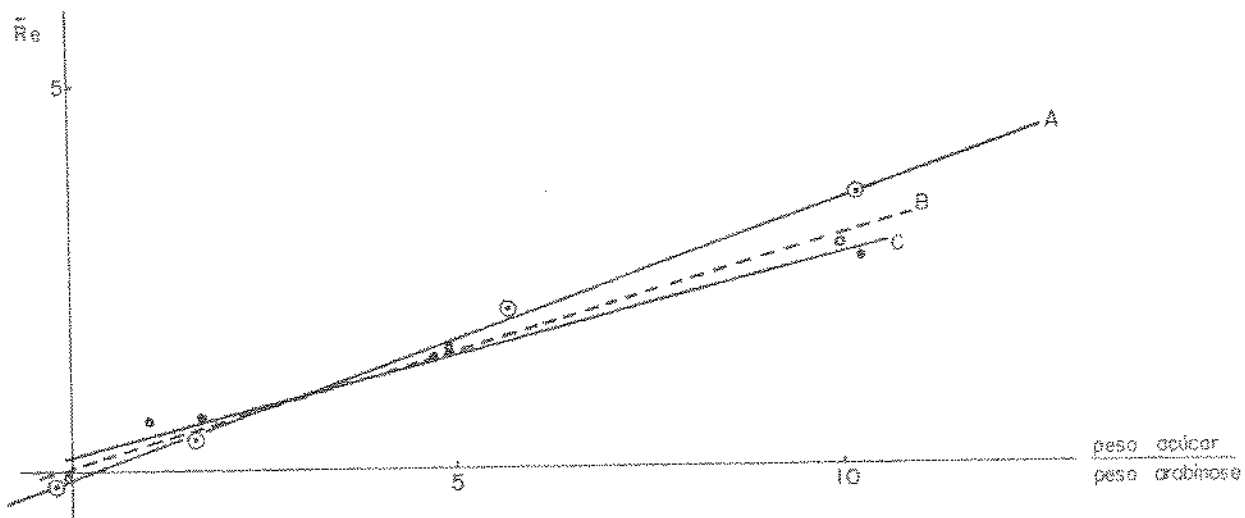


FIGURA 11 : CURVAS PADRÃO DOS DERIVADOS DE AÇÚCARES RELATIVOS À ARABINOSE.- TESTES DE LINEARIDADE: - A - LACTOSE , B - MALTOSE , C - SACAROSE.

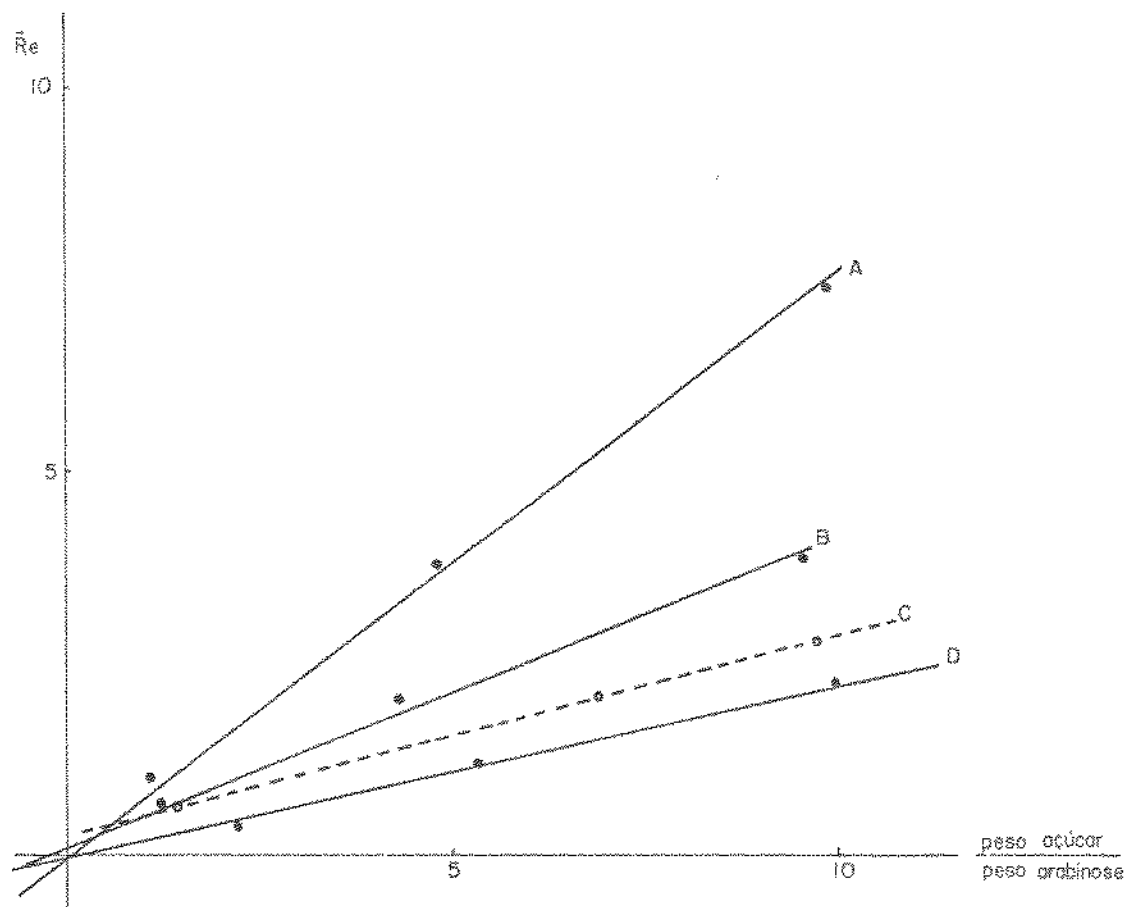


FIGURA 12: CURVAS PADRÃO DOS DERIVADOS DE AÇÚCARES RELATIVOS À ARABINOSE. - TESTES DE LINEARIDADE: - A - GLICOSE, B - GALACTOSE, C - INOSITOL, D - RAFINOSE.



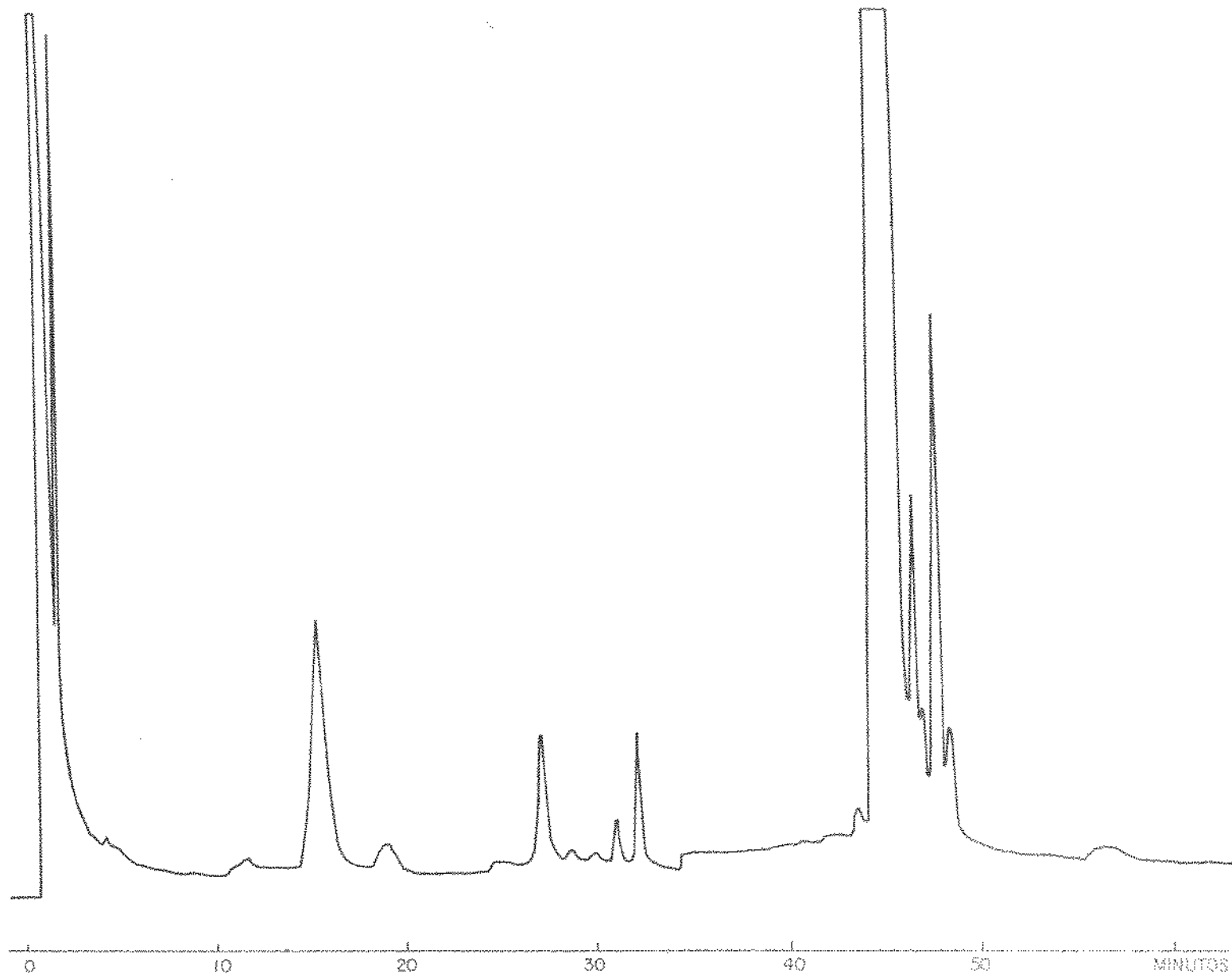


FIGURA 13 :CROMATOGRAMA 9: DERIVADOS TMS DE OXIMAS DOS AÇÚCARES DE AMENDOIM, VARIEDADE TATU. PADRÃO INTERNO ARABINOSE. 2% OV-17 Tídnal 140°C ISOTÉRMICA POR 21 MINUTOS, 4°C/MINUTO POR 13 MINUTOS, 6°C/MINUTO ATÉ 280°C, ISOTÉRMICA A 280°C

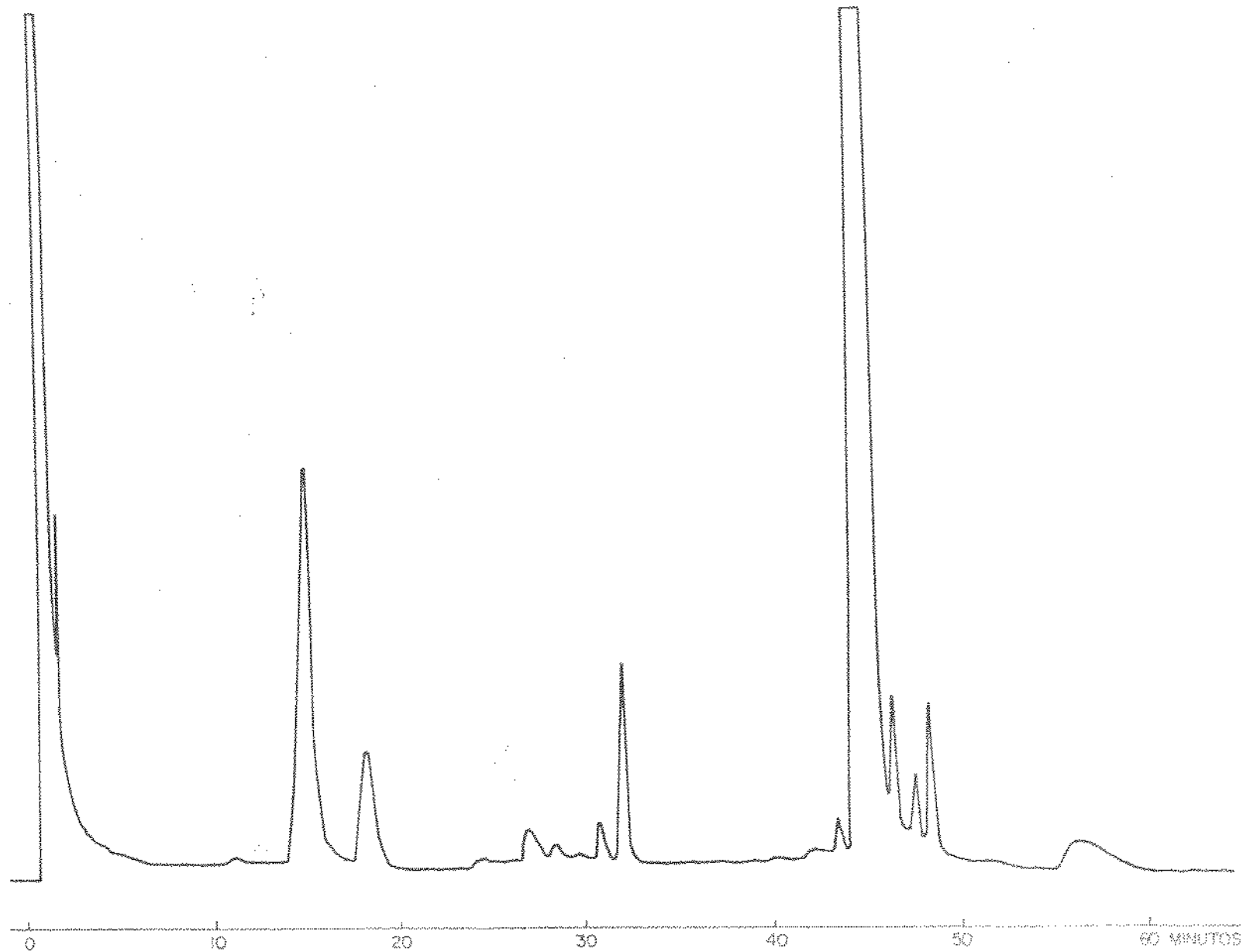


FIGURA 14 :CROMATOGRAMA 10: DERIVADOS TMS DE OXIMAS DOS AÇÚCARES DE AMENDOIM SELVAGEM (A. VILLOSULARPA). PADRÃO INTERNO ARABINOSE. 2% OV 17  
TÍNCIAL 140°C ISOTÉRMICA POR 21 MINUTOS, 4°C/MINUTO POR 13 MINUTOS, 6°C/MINUTO ATÉ 280°C, ISOTÉRMICA A 280°C

*sulicarpa* respectivamente, enquanto as Tabelas 20 e 21 mostram os resultados numericamente.

Tabela 19. Fatores de equivalência relativos à arabinose.

DERIVADO TMS	$\bar{F}$ (*)	$\sigma$
Xilose	0,82	0,06
Ribose	0,65	0,07
Frutose	0,69	0,08
Galactose	0,48	0,08
Glicose	0,82	0,09
Inositol	0,36	0,04
Sacarose	0,39	0,05
Maltose	0,32	0,06
Lactose	0,32	0,05
Rafinose	0,21	0,03
Melibiose	0,19	0,03

(\*) valor médio de três misturas de açúcares, sendo realizadas das três repetições para cada mistura.

Tabela 20. Conteúdo de carboidratos livres de *A. hypogaea* L., variedade Tatu.

AÇÚCAR	QUANTIDADE (1) (mg açúcar/g farinha desengordurada)	PORCENTAGEM DO TOTAL
Arabinose	-	-
Ribose	0,79	0,29
Frutose	0,23	0,08
Galactose	0,14	0,05
Glicose	0,37	0,14
Inositol	2,55	0,94
Sacarose	244,40	89,88
Lactose	2,85	1,05
Maltose	9,94	3,66
Melibiose	4,36	1,60
Rafinose	6,27	2,30

(1) média de quatro determinações.

Tabela 21. Conteúdo de carboidratos livres de *A. villosulicarpa*.

açúcar	QUANTIDADE (1) (mg açúcar/g farinha desengordurada)	PORCENTAGEM DO TOTAL
Arabinose	-	-
Ribose	2,34	1,30
Frutose	0,20	0,11
Galactose	0,10	0,05
Glicose	0,23	0,13
Inositol	3,05	1,69
Sacarose	150,04	83,26
Lactose	2,36	1,31
Maltose	2,17	1,20
Melibiose	7,83	4,34
Rafinose	11,89	6,60

(1) média de quatro determinações.

A observação dos resultados apresentados nas Tabelas 20 e 21, mostra algumas diferenças entre a quantidade de carboidratos livres determinados nos amendoins estudados.

Com relação aos monossacarídeos, somente a pentose ribose mostrou diferença acentuada, com *A. villosulicarpa* apresentando concentração três vezes maior; frutose, glicose e inositol apresentaram quantidades semelhantes para as duas espécies.

Para os dissacarídeos observou-se variações; melibiose foi encontrada em concentração duas vezes maior na espécie *A. villosulicarpa*, enquanto a quantidade de sacarose determinada foi sensivelmente superior para a variedade Tatu. É interessante observar que a porcentagem de sacarose em relação ao total de açúcares quantificados foi semelhante para as

duas espécies estudadas. As quantidades de maltose encontradas, foram quase quatro vezes mais elevadas para a variedade Tatu, enquanto lactose foi semelhante para as duas espécies.

Observou-se, com relação aos oligossacarídeos, que *A. villosulicarpa* apresentou quantidades maiores que *A. hypogaea* L., variedade Tatu. Rafinose foi encontrada em quantidades duas vezes maior na espécie selvagem. Outros oligossacarídeos superiores, estaquiase, verbascose e ajugose, não foram detectados nas condições analíticas utilizadas em nenhuma das espécies, embora alguns trabalhos já tenham detectado pelo menos estaquiase e ajugose em pequenas quantidades em variedades comerciais da espécie *A. hypogaea* L. (THARANATHAN *et al.*, 1976).

Ao compararmos os resultados das Tabelas 20 e 21 com dados disponíveis na literatura, notamos algumas diferenças. A presença de sacarose como o principal açúcar, perfazendo 89,88 e 83,26% do total dos açúcares para a variedade Tatu e *A. villosulicarpa* respectivamente, está em concordância com resultados apresentados por NEWELL *et al.* (1967), onde sacarose perfazia 93,56% do total de açúcares livres na espécie *A. hypogaea* L. Por outro lado, THARANATHAN *et al.* (1976), encontraram porcentagem de sacarose igual a 72,45%, resultado considerado baixo.

A presença e a porcentagem de inositol, detectada nas duas espécies estudadas, está de acordo com análises realizadas por NEWELL *et al.* (1967) em variedades comerciais de amendoim.

Os níveis de frutose e glicose aqui apresentados, foram inferiores aos encontrados na literatura (THARANATHAN *et al.*, 1975 e 1976; NEWELL *et al.*, 1967), podendo ser uma indicação do baixo índice de degradação de açúcares maio

res durante a derivação e quantificação.

Os açúcares ribose, lactose, galactose, maltose e melibiose, determinados nas espécies estudadas, não foram detectados em trabalhos anteriores, fato este que fornece certa segurança com relação à eficiência do método de extração utilizado.

#### 4.4. PROTEÍNA

##### 4.4.1. AMINOÁCIDOS TOTAIS

As Tabelas 22 e 23 fornecem os resultados do total de aminoácidos para os amendoins *A. hypogaea* L., variedade Tatu e *A. villosulicarpa*, respectivamente.

Os resultados apresentados, foram os valores médios dos aminoácidos liberados após 4, 12, 22, 48 e 70 horas de hidrólise a 110°C.

Devido ao fato dos diversos aminoácidos apresentarem tempos de liberação e taxas de degradação diferentes, considerou-se mais apropriado a utilização de diversos tempos de hidrólise, tomando-se o valor máximo obtido para cada aminoácido como o valor mais provável.

Tabela 22. Conteúdo de aminoácidos totais de *A. hypogaea* L., variedade Tatu em função de vários tempos de hidrólise.

AMINOÁCIDO (1)	TEMPOS DE HIDRÓLISE (h)					
	4	12	22	48	70	valor máximo
Ácido aspártico	10,59	13,99	15,60	12,90	13,00	15,60
Treonina	2,12	3,28	3,34	2,97	2,83	3,34
Serina	3,66	6,19	5,71	5,25	4,79	6,19
Ácido glutâmico	19,68	23,83	24,83	23,57	23,40	24,29
Prolina	3,46	5,05	4,75	4,50	4,52	5,05
Glicina	4,32	7,52	7,90	7,22	6,90	7,90
Alanina	2,67	4,38	4,43	3,80	3,82	4,43
Cistina	0,90	1,43	1,04	0,63	0,40	1,43
Valina	2,00	4,27	4,81	4,82	4,70	4,82
Metionina	0,98	1,34	1,20	1,13	1,15	1,34
Isoleucina	1,77	3,51	3,52	3,63	3,86	3,86
Leucina	4,94	7,15	7,44	6,93	6,80	7,44
Tirosina	3,24	4,42	4,59	4,01	3,96	4,59
Fenilalanina	3,81	6,06	6,04	5,59	5,60	6,06
Histidina	1,84	2,68	3,01	2,55	2,60	3,01
Lisina	2,66	3,94	4,36	3,91	3,90	4,36
NH <sub>4</sub>	2,08	2,67	2,87	2,35	2,27	2,87
Arginina	8,94	12,99	13,44	13,08	12,91	13,44
T O T A I S	79,46	114,70	118,34	108,41	107,41	120,02

(1) g aminoácido/100 g de proteína. Os valores representam média de três determinações.

Tabela 23. Conteúdo de aminoácidos totais de *A. villosulipes* pa em função de vários tempos de hidrólise.

AMINOÁCIDO (1)	TEMPOS DE HIDRÓLISE (h)					
	4	12	22	48	70	valor máximo
Ácido aspártico	13,14	14,54	14,65	15,95	15,20	15,95
Treonina	2,94	3,61	3,60	3,64	3,72	3,72
Serina	5,49	5,81	5,43	5,63	5,18	5,81
Ácido glutâmico	22,42	23,88	24,51	26,30	25,73	26,30
Prolina	4,62	5,12	4,94	5,85	5,02	5,85
Glicina	6,65	6,93	6,63	7,19	7,58	7,58
Alanina	4,13	4,52	4,53	4,83	4,88	4,88
Cistina	1,59	1,33	1,35	1,41	1,05	1,59
Valina	3,26	5,10	5,62	6,04	6,19	6,19
Metionina	1,72	1,57	1,34	1,30	1,21	1,72
Isoleucina	2,32	3,81	3,86	4,64	4,54	4,64
Leucina	6,29	7,77	7,87	8,20	7,91	8,20
Tirosina	4,09	4,43	4,36	5,00	4,44	5,00
Fenilalanina	5,08	6,04	6,35	6,58	6,66	6,66
Histidina	2,95	2,98	3,13	3,36	3,36	3,36
Lisina	3,34	3,92	3,91	4,24	4,19	4,24
NH <sub>4</sub>	2,09	2,29	2,70	2,93	2,87	2,94
Arginina	10,58	12,06	12,41	13,83	13,06	13,83
T O T A I S	102,70	115,71	117,19	126,92	112,79	128,27

(1) g aminoácido/100g proteína. Os valores representam a média de três determinações.



A observação das Tabelas 22 e 23, indica que a espécie selvagem apresentou índices maiores para os seguintes aminoácidos: leucina, isoleucina, metionina, treonina, ácido glutâmico, valina, tirosina e fenilalanina, enquanto que os teores de serina e lisina foram mais altos para *A. hypogaea* L., variedade Tatu.

A observação do rendimento total em função do tempo de hidrólise mostrou que para *A. hypogaea* L., maior rendimento foi obtido com 22 horas de hidrólise, enquanto que para *A. villosulicarpa* valores máximos foram obtidos após 48 horas de hidrólise. Os resultados para a espécie selvagem, sugerem que o maior rendimento de aminoácidos pode ser obtido com tempo de hidrólise intermediário, entre 22 e 48 horas. Ao mesmo tempo, pode-se observar que as diferentes respostas das duas proteínas à hidrólise, implica em possíveis diferenças estruturais entre as proteínas, o que não é surpreendente considerando a distância genética entre as duas espécies.

A comparação dos resultados obtidos com da dos publicados pela FAO (1970) para variedades comerciais, mos trou alta correlação entre as quantidades para praticamente todos os aminoácidos determinados, excetuando-se ácido aspári tico e ácido glutâmico, com diferenças de 2,0 e 4,0g de amino ácido/100g de proteína respectivamente.

#### 4.4.1.1. QUANTIFICAÇÃO DE TRIPTOFANO

Os resultados obtidos para as variedades es tudadas foram os seguintes: *A. hypogaea* L., variedade Tatu 0,97g de triptofano/100g de proteína e *A. villosulicarpa* 1,16g de triptofano/100g de proteína. O valor obtido para a varieda de Tatu está de acordo com os resultados publicados pela FAO (1970) para variedades comerciais, enquanto que os resultados obtidos para *A. villosulicarpa*, confirmam dados publicados an teriormente (AMAYA *et al.*, 1977) mostrando diferenças não maiores do que 0,1g de triptofano/100g de proteína.

O maior teor de triptofano na proteína da espécie selvagem analisada, reforça o balanço superior com respeito à leucina, isoleucina, metionina, treonina, ácido glutâmico, valina, tirosina, e fenilalanina observado anteriormente (Tabelas 22 e 23).

#### 4.4.2, AMINOÁCIDOS LIVRES

##### 4.4.2.1. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Com relação ao rendimento total em termos quantitativos, a extração com ácido sulfossalisílico mostrou-se mais eficiente do que a extração com ácido tricloroacético, que por sua vez foi mais eficiente do que a mistura de solventes metanol: clorofórmio: água. Os totais obtidos em gramas de aminoácidos livres por 100g de farinha desengordurada para a variedade Tatu e *A. villosulicarpa* respectivamente, foram: 0,76 e 0,86 para a extração com ácido sulfossalisílico; 0,76 e 0,69 para extração com ácido tricloroacético e 0,52 e 0,69 para a mistura de solventes. A observação das Tabelas 24 e 25, com relação às quantidades individuais extraídas, mostra a variação entre os métodos; entretanto, quando as porcentagens dos aminoácidos foram comparadas, observou-se que as mesmas foram semelhantes para os três métodos utilizados.

Embora a extração com ácido tricloroacético não tenha se mostrado a menos eficiente em termos quantitativos, pode-se observar nas Tabelas 24 e 25 que os primeiros aminoácidos (taurina, uréia, ácido aspártico, hidroxiprolina, treonina e serina) não estão quantificados, devido a não resolução dos mesmos na cromatografia de troca iônica sob condições de análise idênticas às utilizadas nos outros dois métodos além do que, o extrato obtido necessitava de lavagens exaustivas com éter sulfúrico anteriores à análise.

Maior rendimento obtido com a utilização de

ácido sulfossalisílico, e melhor reprodutibilidade dos tempos de retenção, quando comparados ao padrão, indicam que este agente extrator foi o mais apropriado entre os métodos testados.

#### 3.4.2.2. QUANTIFICAÇÃO DOS AMINOÁCIDOS LIVRES

Os aminoácidos glutamina, triptofano, anserina e homocistina, embora presentes nas amostras analisadas (presença confirmada pela comparação dos tempos de retenção com padrões fornecidos pelo fabricante do aparelho) não foram quantificados pois os mesmos não estavam presentes na mistura padrão de aminoácidos. Amônia e as allo-e-hidroxisinas apresentaram picos coincidentes em todos os cromatogramas, não sendo possível quantificá-las embora os picos acusassem quantidades bastante pequenas para qualquer dos dois compostos. As Tabelas 24 e 25, apresentam os resultados obtidos na quantificação dos aminoácidos livres das farinhas desengorduradas de *A. hypogaea* L., variedade Tatu e *A. villosulicarpa*, respectivamente.

A variedade Tatu apresentou quantidades significativamente maiores para os seguintes aminoácidos: ácido  $\alpha$ -aminobutírico e fenilalanina, em qualquer dos métodos de extração utilizados, e cistina para extração com mistura de solventes e com ácido tricloroacético. *A. villosulicarpa*, por outro lado, apresentou quantidades significativamente maiores para os seguintes aminoácidos: alanina, leucina, tirosina,  $\gamma$ -aminobutírico e etanolamina para todos os métodos utilizados, além de metionina e serina para as extrações com a mistura de solventes e ácido sulfossalisílico.

Nos resultados apresentados na Tabela 24 (*A. hypogaea* L., variedade Tatu), observam-se algumas características marcantes com relação às quantidades individuais dos aminoácidos analisados. Os aminoácidos: ácido glutâmico, ácido  $\alpha$ -aminobutírico e fenilalanina, somados representam 70,58

Tabela 24 - Composição dos aminoácidos livres da farinha desengordurada de *Arachis hypogaea* L., variedade Tatu, expressa em MGAA/100g de farinha desengordurada (1)

AMINOÁCIDOS	MCW (2)	TCA (2)	SSA (2)	AMINOÁCIDO	MCW	TCA	SSA
POSFOSERINA	5,51	10,45	8,24	VALINA	9,82	15,69	10,68
TAURINA	4,70	-	0,41	CISTINA	6,48	8,22	9,79
URÉA	tr	-	tr	METIONINA	1,60	3,63	0,29
ÁCIDO ASPÁRTICO	5,96	6,28	10,23	CISTATIONINA	0,53	tr	tr
HIDROXIPROLINA	2,32	-	5,59	ISOLEUCINA	7,97	11,78	15,12
TREONINA	4,19	-	7,12	LEUCINA	4,28	10,45	7,28
SERINA	9,01	-	12,46	TIROSINA	5,56	13,57	8,49
ASPARAGINA	74,60	92,54	93,35	FENILALANINA	49,02	69,83	73,97
ÁCIDO GLUTÂMICO	162,33	195,93	230,34	β-ALANINA	-	-	-
SARCOSINA	tr	tr	tr	ÁC. γ AMINO BUTÍRICO	3,51	8,04	4,78
ÁCIDO AMINOADÍPICO	9,78	15,19	15,98	ETANOLAMINA	1,65	4,03	tr
PROLINA	21,33	27,47	26,38	ORNITINA	1,44	4,47	6,67
GLICINA	5,57	53,66	9,79	LISINA	4,57	17,85	18,74
ALANINA	19,39	25,74	28,93	HISTIDINA	4,92	11,07	7,13
CITRULINA	tr	tr	tr	CARNOSINA	tr	tr	tr
ÁC. α AMINO BUTÍRICO	74,14	81,83	83,75	ARGININA	20,49	76,92	68,35

(1) os valores apresentados, representam média de duas determinações.

(2) MCW - metanol: clorofórmio: água; TCA - ácido tricloroacético e SSA - ácido sulfossilílico.

Tabela 25 - Composição dos aminoácidos livres da farinha desengordurada de *Arachis villosulicarpa*, expressa em MGAA/100g de farinha desengordurada (1)

AMINOÁCIDOS	MCW (2)	TCA (2)	SSA (2)	AMINOÁCIDOS	MCW	TCA	SSA
FOSFOSERINA	3,07	8,43	5,71	VALINA	13,67	25,42	16,37
TAURINA	4,96		0,36	CISTINA	1,88	22,32	33,34
URÉA	tr	-	tr	METIONINA	3,17	5,48	4,93
ÁCIDO ASPÁRTICO	8,62	-	12,70	CISTATIONINA	tr	4,22	tr
HIDROXIPROLINA	62,50	-	5,33	ISOLEUCINA	7,23	17,67	12,42
TREONINA	85,30	-	10,78	LEUCINA	8,20	21,41	16,30
SERINA	26,07	-	38,73	TIROSINA	12,18	27,47	17,66
ASPARAGINA	107,66	103,56	112,86	FENILALANINA	11,54	21,04	19,44
ÁCIDO GLUTÂMICO	186,94	126,96	290,61	β ALANINA	-	-	-
SARCOSINA	tr	tr	tr	ÁC. γ AMINO BUTÍRICO	11,72	18,65	15,39
ÁCIDO AMINOADIPICO	11,38	22,48	10,32	ETANOLAMINA	3,17	10,16	12,51
PROLINA	17,29	21,31	23,38	ORNITINA	2,56	6,34	9,92
GLICINA	8,72	35,37	21,37	LISINA	6,12	24,73	18,96
ALANINA	40,66	48,59	46,05	HISTIDINA	6,14	15,83	9,80
CITRULINA	tr	tr	tr	CARNOSINA	tr	tr	tr
ÁC. α AMINO BUTÍRICO	4,23	8,96	tr	ARGININA	33,38	92,65	92,92

(1) os valores apresentados representam média de duas determinações.

(2) MCW - metanol: clorofórmio: água; TCA - ácido tricloroacético e SSA - ácido sulfossilílico.

e 63% do total de aminoácidos quantificados, quando se utilizou mistura de solventes, ácido tricloroacético e ácido sulfossalisílico como agentes extratores respectivamente. Além disso, nas extrações com mistura de solventes e com ácido sulfossalisílico, os aminoácidos prolina, alanina e arginina apresentaram quantidades individuais significativas.

Na Tabela 25 (*A. villosulicarpa*) a observação das quantidades individuais determinadas, também apresentou características específicas. A soma dos aminoácidos asparagina, ácido glutâmico, arginina e alanina representa 54, 54 e 63% do total de aminoácidos quantificados, quando se utilizou mistura de solventes, ácido tricloroacético e ácido sulfossalisílico como agentes extratores respectivamente.

Os resultados apresentados para *A. hypogaea* L., variedade Tatu foram semelhantes aos resultados apresentados anteriormente para algumas variedades comerciais analisadas. YOUNG *et al.* (1974b), apresentaram variações de 68 a 74% para a soma de ácido aspártico, asparagina, ácido glutâmico e fenilalanina, fazendo também referência à presença de ácido  $\alpha$ -aminobutírico, que entretanto não foi analisado. NEWELL *et al.* (1967), encontraram para variedades comerciais o total de 63,2% para a soma dos seguintes aminoácidos: ácido glutâmico, asparagina, fenilalanina, alanina e um aminoácido não identificado. Porcentagens semelhantes para a soma de asparagina, ácido glutâmico, fenilalanina e histidina foram detectadas por MASON *et al.* (1969).

#### 4.4.3. ENSAIO BIOLÓGICO

O conteúdo de alguns aminoácidos das dietas preparadas com as farinhas desengorduradas utilizadas nos ensaios biológicos, foi comparado com as necessidades nutricionais de ratos em crescimento (Tabelas 26 e 27). Nos resulta

tados apresentados, os aminoácidos sulfurados se mostraram os mais limitantes frente às necessidades do rato.

Tabela 26. Conteúdo de aminoácidos essenciais para o rato nas dietas contendo farinha desengordurada de *Arachis hypogaea* L., variedade Tatu (% na dieta).

AMINOÁCIDO	NECESSIDADES DO RATO % NA DIETA (1)	% DE PROTEÍNA NA DIETA			
		5,80	7,30	10,90	14,90
Arginina	0,64	0,78	0,98	1,46	2,00
Histidina	0,32	0,17	0,22	0,33	0,45
Isoleucina	0,58	0,22	0,28	0,42	0,57
Leucina	0,79	0,43	0,54	0,81	1,11
Lisina	0,95	0,25	0,32	0,47	0,65
Metionina + Cistina (2)	0,64	0,12	0,15	0,22	0,31
Fenilalanina + Tirosina	0,85	0,62	0,78	1,16	1,59
Treonina	0,53	0,19	0,24	0,36	0,50
Valina	0,64	0,28	0,35	0,52	0,72
Triptofano	0,16	0,06	0,07	0,11	0,14
Totais	6,10	3,12	3,93	5,86	8,04

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

(2) Para o total de aminoácidos sulfurados, considerou-se somente a metade da cistina quantificada.

Considerando as dietas com maior conteúdo protéico para *A. hypogaea* L., variedade Tatu e *A. villosularpa*, as seguintes porcentagens de cobertura das necessidades nutricionais foram observados: 48,4 e 56,2% para os aminoácidos sulfurados; 68,4 e 64,2% para lisina, o segundo aminoácido limitante, e treonina, o terceiro aminoácido limitante, foi deficiente somente para a dieta contendo farinha da variedade Tatu.

Tabela 27. Conteúdo de aminoácidos essenciais para o rato nas dietas contendo farinha desengordurada de *Arachis villosulicarpa* (% na dieta)

AMINOÁCIDO	NECESSIDADES DO RATO % NA DIETA (1)	% DE PROTEÍNA NA DIETA			
		5,70	8,00	11,30	14,40
Arginina	0,64	1,07	1,51	2,13	2,71
Histidina	0,32	0,19	0,27	0,38	0,48
Isoleucina	0,58	0,26	0,37	0,52	0,67
Leucina	0,79	0,47	0,66	0,93	1,18
Lisina	0,95	0,24	0,35	0,48	0,61
Metionina + Cistina (2)	0,64	0,14	0,20	0,28	0,36
Fenilalanina + Tirosina	0,85	0,66	0,93	1,32	1,68
Treonina	0,53	0,21	0,30	0,42	0,53
Valina	0,64	0,35	0,49	0,70	0,89
Triptofano	0,16	0,07	0,09	0,13	0,17
Totais	6,10	3,66	5,17	7,29	9,28

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

(2) Para o total de aminoácidos sulfurados, considerou-se somente a metade da cistina quantificada.

Embora a comparação do conteúdo de aminoácidos com as necessidades nutricionais do rato apresentasse diferentes limitações, trabalhos anteriores com variedades comerciais utilizando ensaios com ratos, mostraram que metionina, lisina e treonina foram igualmente limitantes (McOSKER, 1976; MILLER e YOUNG, 1977). A única explicação plausível para este fato, é a disponibilidade biológica dos aminoácidos para o rato. McOSKER (1976) mostrou, através da adição de



aminoácidos às dietas ensaiadas, que ao redor de 30% da treonina da dieta era indisponível para o rato.

A Figura 15 mostra a variação no total de aminoácidos essenciais frente aos diversos níveis protéicos das duas espécies estudadas. A observação das curvas obtidas, evidencia claramente, com relação ao total de aminoácidos essenciais, que *A. villosulicarpa* foi superior à variedade Tatu. Quando o total de aminoácidos necessários ao rato foi considerado, observou-se que as dietas com níveis protéicos superiores a 9,5% para *A. villosulicarpa* eram suficientes para a satisfação das necessidades em termos globais, enquanto que somente em níveis superiores a 11,3% para *A. hypogaea* L., variedade Tatu, o total das necessidades foi superado.

Tabela 28. Ensaio biológico, valores de "NPU", "NPR", Digestibilidade aparente, "BV" e "PER" após 10 dias de ensaio com dietas contendo farinha desengordurada de *Arachis hypogaea* L., variedade Tatu.

% DE PROTEÍNA NA DIETA	"NPU"	"NPR"	"D"	"BV"	"PER"
5,80	5,88	2,07	76,94	7,64	-2,16
7,30	23,15	2,83	80,73	28,68	-0,21
10,90	42,38	3,43	83,46	50,78	1,84
14,90	38,21	3,11	84,36	45,29	2,01
10,28 Caseína	66,69	4,09	89,04	74,93	2,59

As Tabelas 28 e 29 apresentam os resultados dos ensaios biológicos realizados com as farinhas desengorduradas de *A. hypogaea* L., variedade Tatu e *A. villosulicarpa* respectivamente.

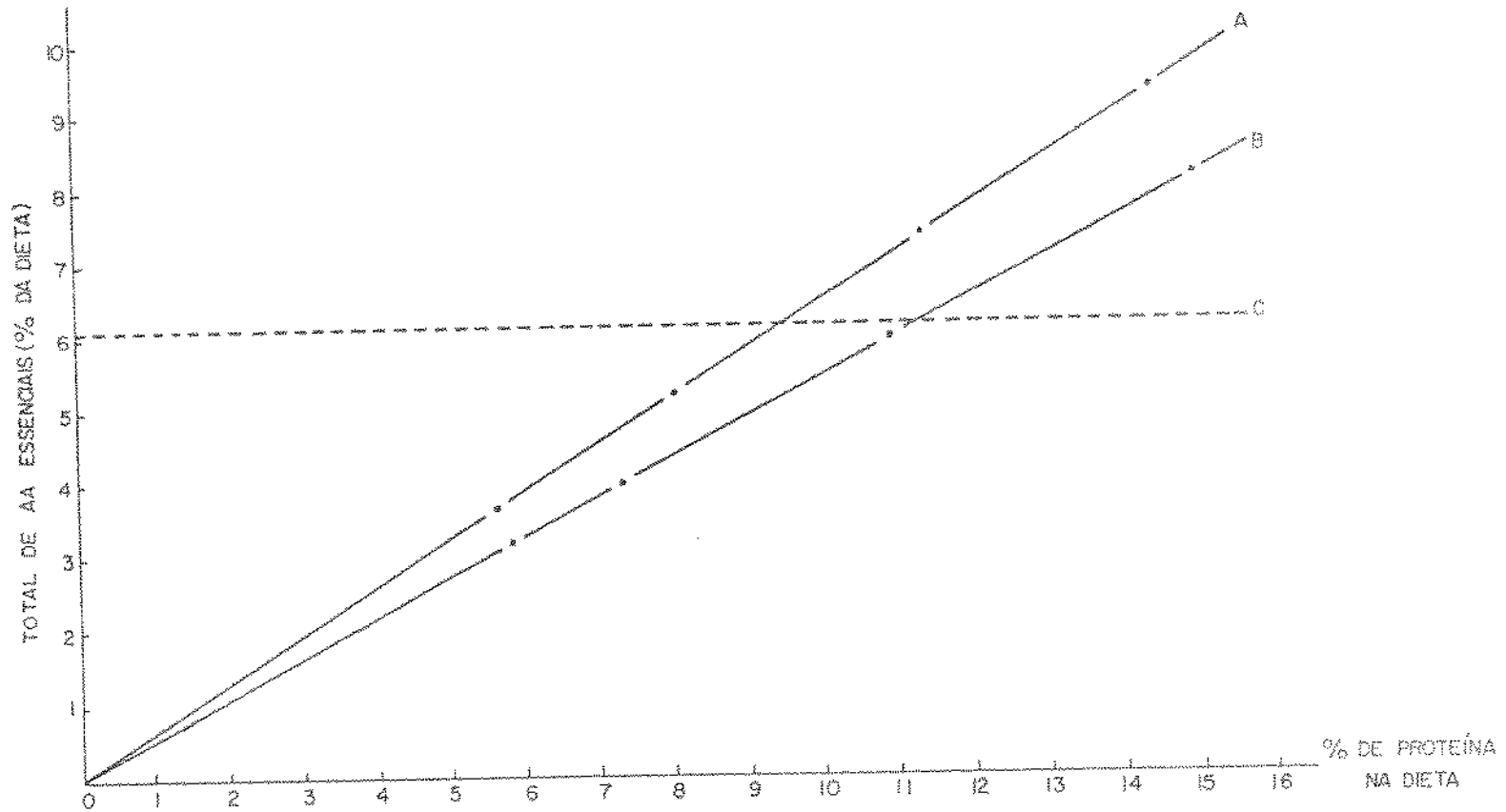


FIGURA 15 : CURVA PADRÃO: CONTEÚDO DE AMINOÁCIDOS ESSENCIAIS PARA O RATO NOS DIVERSOS NÍVEIS PROTÉICOS UTILIZADOS NO ENSAIO BIOLÓGICO: A - ARACHIS VILLOSULICARPA , B - ARACHIS HYPOGAEA L ; VARIEDADE TATU E C - NECESSIDADES NUTRICIONAIS DO RATO.

Tabela 29. Ensaio biológico, valores "NPU", "NPR", Digestibilidade aparente, "BV" e "PER" após 10 dias de ensaio com dietas contendo farinha desengordurada de *Arachis villosulicarpa*.

% DE PROTEÍNA NA DIETA	"NPU"	"NPR"	"D"	"BV"	"PER"
5,70	12,23	2,58	77,84	15,71	-1,54
8,00	30,49	3,30	78,48	38,85	0,77
11,30	44,23	3,71	79,60	55,56	2,31
14,40	33,23	2,91	79,56	41,76	1,96
10,28 Caseína	66,69	4,09	89,04	74,93	2,59

Valores calculados para "Protein Efficiency Ratio" ("PER" - calculado para 10 dias) apresentados nas Tabelas 28 e 29, atingiram índices máximos quando as porcentagens de proteína nas dietas eram 14,9 e 11,3% para a variedade *Tatu* e *A. villosulicarpa* respectivamente. Estes valores representam 78 e 89% do valor "PER" obtido para caseína durante a mesma experiência. Resultados anteriores (MILLER e YOUNG, 1977) realizados de forma semelhante, com farinhas desengorduradas de variedades comerciais, atingiram valores máximos de 70% do padrão caseína quando valores de "PER" foram considerados. A observação dos resultados mostrando que o valor máximo foi obtido num nível protéico mais baixo para *A. villosulicarpa*, parece consistente com o conhecimento geral de que proteínas de melhor valor nutritivo atingem máxima eficiência a menores níveis protéicos, enquanto que as de mais baixa qualidade atingem máxima eficiência a níveis mais elevados.

Os máximos resultados obtidos para "Net Protein

Utilization ("NPU") foram 44,23 e 42,38 para *A. villosulicarpa* e para a variedade Tatu respectivamente (Tabelas 28 e 29); valores estes representando 66 e 64% do valor obtido para caseína. MILLER e BENDER (1965) trabalhando com variedades comerciais de amendoim, obtiveram porcentagens iguais a 71% do valor obtido para caseína. Alguns trabalhos de revisão sobre o assunto, apresentaram valores de "NPU" iguais a 42 (FAO/WHO, 1967) e 42,7 (FAO, 1970) para variedades comerciais de amendoim.

Com relação ao índice Digestibilidade Aparente ("D"), os resultados (Tabelas 28 e 29) variaram de 77,84 a 79,60 para *A. villosulicarpa*, e 76,94 a 84,36 para *A. hypogaea* L., variedade Tatu nas dietas estudadas. Os resultados obtidos se mostraram coerentes com resultados anteriores para variedades comerciais, (CHOPRA e SIDHU, 1967b) onde os valores encontrados variaram de 81,9 a 83,2. O fato da "Digestibilidade" aumentar com o aumento do nível protéico da dieta não encontrou explicação, uma vez que a digestibilidade de uma proteína tende a ser maior quanto menor o nível protéico da dieta. A observação dos valores obtidos para a "Digestibilidade" indicaram que a variedade Tatu foi superior à espécie selvagem, fato este reforçado pelos resultados obtidos na hidrólise ácida das proteínas, onde se constatou maior liberação dos aminoácidos num tempo menor para a variedade Tatu.

Os índices máximos obtidos para "Biological Value" ("BV") foram 55,56 e 50,78 para *A. hypogaea* L., variedade Tatu e *A. villosulicarpa* respectivamente (Tabelas 28 e 29), representando 74 e 68% do valor obtido para caseína. Dados encontrados na literatura, variam de 50,9 a 54,5 (CHOPRA e SIDHU, 1967b; FAO, 1970; BESANÇON, 1977).

Considerando os índices obtidos nos ensaios biológicos (Tabelas 28 e 29) observa-se que *A. villosulicarpa* apresentou valores para "NPU", "BV", "NPR" e "PER" mais altos a partir das concentrações protéicas mais baixas, sugerindo

possivelmente uma melhor qualidade protéica, com valores máximos em torno de 11% de proteína.

A observação dos dados apresentados no Apêndice C mostra que a proteína de *A. villosulicarpa* produziu maior crescimento, maior retenção de Nitrogênio e maior consumo de ração, aparentemente indicando superioridade sobre *A. hypogaea* L., variedade Tatu. Além disto, *A. villosulicarpa* apresentou superioridade no teor global de aminoácidos essenciais para o rato. Entretanto as diferenças obtidas nos ensaios biológicos não foram suficientemente grandes para sustentar a superioridade da proteína de *A. villosulicarpa* sobre a variedade Tatu.

## 5. CONCLUSÕES

A observação dos resultados obtidos nas análises químicas das diversas frações constituintes do amendoim *A. villosulicarpa*, bem como da avaliação nutricional da fração protéica levou às seguintes conclusões:

1. O perfil dos ácidos graxos de *A. villosulicarpa* é totalmente distinto do perfil encontrado para variedades comerciais. Ácido linoléico (18:2) constitui-se no principal ácido graxo do óleo, em contraste com o ácido oléico na espécie comercial. Outra diferença característica é a presença de quantidades significativamente maiores de ácidos graxos saturados de cadeia longa (22:0 e 24:0), concentrações estas, atípicas para óleos de origem vegetal.

2. A extração de carboidratos livres com a mistura de solventes metanol: clorofórmio: água (1:1:1), mostrou-se mais rápida e mais produtiva quando a quantificação dos açúcares era pretendida. A detecção e quantificação de ribose, lactose, galactose, maltose e melibiose, não detectados em trabalhos anteriores, reforça a escolha do método frente à eficiência da extração. *A. villosulicarpa* apresenta maior quantidade de ribose, melibiose e rafinose; enquanto que a variedade Tatu mostra maiores quantidades de sacarose e maltose.

3. Os derivados TMS de oximas e de açúcares não redutores se mostraram mais adequados para a quantificação devido à facilidade de obtenção, grande estabilidade dos produtos obtidos e a alta resolução conseguida entre os carboidratos. Máxima resolução foi obtida quando fase líquida OV - 17; 2%; 3,85m foi utilizada.

4. Na quantificação dos aminoácidos totais, maior rendimento foi obtido em diferentes tempos de hidrólise

para as espécies estudadas. A variedade comercial apresentou maior rendimento num tempo menor. Valores mais altos para digestibilidade aparente foram obtidos também para a variedade Tatu reforçando os resultados da análise química.

5. Com relação a aminoácidos totais, *A. villosulicarpa* apresentou maiores índices para: leucina, isoleucina, metionina, treonina, ácido glutâmico, valina, tirosina, fenilalanina e triptofano, enquanto que serina e lisina foram mais altos para *A. hypogaea* L., variedade Tatu. Quando se considerou as necessidades de aminoácidos essenciais para ratos em crescimento de forma global, a espécie selvagem foi superior à variedade comercial, satisfazendo as necessidades globais quando o nível de proteína na dieta era igual a 9,5%, contra 11,3% para a variedade Tatu.

6. A extração de aminoácidos livres utilizando ácido sulfossalicílico mostrou-se mais eficiente, quer em relação ao rendimento total, quer em relação à melhor resolução e facilidade de identificação dos picos. Considerando todos os métodos de extração, *A. villosulicarpa* apresentou maiores quantidades de alanina, leucina, tirosina, ácido  $\gamma$ -aminobutírico e etanolamina, enquanto a variedade Tatu apresentou maiores quantidades de ácido  $\alpha$ -aminobutírico e fenilalanina.

7. A soma dos seguintes aminoácidos livres ácido glutâmico, ácido  $\alpha$ -aminobutírico e fenilalanina representa ao redor de 60% do total de aminoácidos livres quantificados para a variedade Tatu, enquanto a soma de asparagina, ácido glutâmico, arginina e alanina, representa ao redor de 55% do total de aminoácidos quantificados para a espécie selvagem.

8. Valores máximos para "NPU", "NPR", "BV" e "PER" foram obtidos em níveis protéicos mais baixos para a espécie selvagem (ao redor de 11% de proteína) sugerindo possivelmente melhor qualidade protéica.

9. Embora as dietas contendo *A. villosulicarpa* tenham produzido maior crescimento, maior retenção de nitrogênio e maior consumo de ração nos ensaios biológicos, os resultados obtidos não apresentaram diferenças significativas que sustentassem a superioridade da proteína de *A. villosulicarpa* sobre a variedade Tatu.



## 6. BIBLIOGRAFIA

- ALDANA, A.B.; FITES, R.C. & PATTEE, H.E. Changes in nucleic acids, protein and ribonuclease activity during maturation of peanut seeds. *Plant. Cell. Physiol.* 13: 515, 1972.
- ALLISON, J.B. The nutritive value of dietary proteins. IN: MUNRO, H.N. & ALLISON, J.B., ed. Mamalian protein metabolism. New York, 1964. vol. 2, p 45.
- ALTSCHUL, A.M. Soybeans, cottonseed, and peanuts. Proteins their chemistry and politics. New York, Basic Books, Inc. publishers, 1964. p 292.
- AMAYA, J.F.; YOUNG, C.T. & HAMMONS, R.O. The tryptophan content of the U.S. commercial and some South American wild genotypes of the genus *Arachis*. A survey. *Oléagineux* 32: 225, 1977.
- AMAYA, J.F.; BASHA, S.M. & YOUNG, C.T. Variation of total monosaccharides in developing peanuts (*Arachis hypogaea* L.). *Ciência e cultura* 30: 79, 1978.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. FIBGE, 1978. p 508.
- ANUÁRIO ESTATÍSTICO DO BRASIL. FIBGE, 1979. p 342.
- A.O.A.C. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 13th. Washington, A.O.A.C., 1980. p 14, 132, 447, 774.
- BALASUDARAM, S.; CAMA, H.R.; MALIK, D.A. & VENKATESHAN, C. Nutritive value of differently processed groundnut meal and the effect of supplementation of the meals with amino acids, antibiotics and vitamin B12. *J. Nutr.* 66: 75, 1958.

- BASHA, S.M.M.; CHERRY, J.P. & YOUNG, C.T. Changes in free amino acids, carbohydrates and proteins of maturing seeds from various peanuts (*Arachis hypogaea* L.) cultivars. Cereal Chem. 53: 586, 1976.
- BECKER, H.C.; MILNER, R.T. & NAGE, L.R.A. A method for the determination of non protein nitrogen in soybean meal. Cereal Chem. 17: 447, 1940.
- BECKMAN 118/119 CL Application Notes. 001. Hydrolyzate analysis. 002. Physiological fluid analysis. Published by Spinco Division of Beckman Instruments Inc. Palo Alto, California. April 1977.
- BEEVERS, L. & POULSON, R. Proteins synthesis in cotilidons of *Pisium sativum* I. Changes in cell free amino acid incorporation capacity during seed development and maturation. Plant Physiol. 49: 476, 1972.
- BENDER, A.E. & MILLER, D.S. New brief method of estimating net protein value. Biochem. J. 53: vii, 1953.
- BESANÇON, P. Incidences des traitements technologiques sur le valeur nutritionelle des proteines d'oleagineux. Rev. Franc. Corps Grass 249 anee: 11, 1977.
- BLIGH, E.G. & DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911, 1959.
- BLOCK, R.J. & MITCHELL, H.H. The correlation of the amino acid composition of proteins with their nutritive value. Nutr. Abstr. Rev. 16: 249, 1946.
- BODWELL, C.E. Application of animal data to human protein nutrition: A review. Cereal Chem. 54: 958, 1977.

- BUCKHOLZ, L.L. DAUN, H.; STIER, E. & TROUT, R. Influence of roasting time on sensory attributes of fresh roasted peanuts. J. F.G. Sci. 45: 547, 1980.
- BUSSON, F.; CARBIENER, R.; GEORGIN, A.; LANZA, J. & DUBOIS, H. Influence of variety and ecology on amino acid composition of plants (edible leguminous seeds). Ann. Nutr. Alimentation 14: 171, 1960.
- CARPENTER, K.J. & ANANTHARAMAN, K. The nutritional value of poor proteins fed at high levels. Br. J. Nutr. 22: 183, 1968.
- CHOPRA, A.K. & SIDHU, G.S. Amino acid composition of different varieties of groundnut in the Punjab. Br. J. Nutr. 21: 519, 1967a.
- CHOPRA, A.K. & SIDHU, G.S. Nutritive value of groundnut. 2. Biological evaluation of different varieties of groundnut grown in the Punjab. Br. J. Nutr. 21: 583, 1967b.
- CHURMS, S.C. Chromatography of carbohydrates and related compounds. IN: HEFTMANN, E., ed. Chromatography: a laboratory handbook of chromatographic and eletrophoretic methods. 3th ed. Van Nostrand Reinhold Comp., 1974. p 637.
- COMISSÃO DE FINANCIAMENTO DA PRODUÇÃO. Vol. I. Subsídios para a fixação de preços mínimos safra 78/79. p 23.
- COMMITTEE ON ANIMAL NUTRITION. National Academy of Sciences - National Reserarch Council. Nutrient requirements of domestic animals. Nº 10. Nutrient requirements of laboratory animals. 2th ed. Washington, D.C. 1972. p 56.
- CORNELIUS, J.A. & RAYMOND, W.D. Some oilseeds from tropical herbaceous crops. Trop. Sci. 9: 75, 1967.

- CRAIG, B.M. & MURTHY, N.L. Quantitative analysis of vegetable oils by G.L.C. J. Am. Oil Chem. Soc. 36: 549, 1959.
- CRUZ, L.J.; CAGAMPANG, G.B. & JULIANO, B.O. Biochemical factors affecting protein accumulation in the rice grain. Plant. Physiol. 46: 743, 1970.
- DAVISON, P.K. & YOUNG, R. The quantitative determination of the free sugars of plants as their trimethylsilyl ethers. J. Chromatogr. 41: 12, 1969.
- DAVIES, M.G. & THOMAS, A.J. An investigation of hydrolytic techniques for the amino acid analysis of food stuffs. J. Sci. Fd. Agr. 24: 1525, 1973.
- DAWES, I.W. & EDWARDS, R.A. Methyl substituted pyrazines as volatile reaction products of heated aqueous aldose, amino acid mixture. Chem. Ind. (London) 31: 2203, 1966.
- DREYER, J.J. The nitrogen: water ratios of albino rats and their use in protein-evaluation tests. Br. J. Nutr. 11: 22, 1957.
- EAKER, D. Determination of free and protein-bound amino acids. IN: BENDER, A.E.; KIHLEBERG, R.; LOFQVIST, B.; MUNCK, L., ed. Evaluation of novel protein products. New York, 1968. p 171.
- EDWARDS, C.H.; CARTER, L.P. & OUTLAND, C.E. Cystine, tyrosine, and essential amino acid contents of selected foods. J. Agr. Fd. Chem. 3: 952, 1955.
- EGGUM, B.O. & CAMPBELL, L.D. Nutritional and antinutritional assay seed protein - Improvement in cereals and grain legumes - Proceedings of a symposium. New Herberg, vol. I, 1978. p 353.

- EVANS, R.J. e BANDEMER, S.L. Nutritive values of some oilseed protein. Cereal Chem. 44: 417, 1967.
- FAO, ROMA Technology of production of edible flours and protein products from groundnuts. Bol. Nº 10, 1971.
- FAO/WHO, Amino acid content of foods. Nutritional studies. Food policy and food service, Nutrition division Nº 24, 1970.
- FRIEDMAN, M. & FINLEY, J.W. Evaluation of methods for tryptophan analysis in proteins. IN: FRIEDMAN, M. ed. Protein nutritional quality of foods and feeds, Part I. Assay methods - Biological, biochemical and chemical. New York, Marcel Dekker, 1975. p 423.
- GREENBERG, N.A. & SHIPE, W.F. Comparison of the abilities of trichloroacetic, picric, sulfosalicylic, and tungstic acids to precipitate protein hydrolysates and proteins. J. Fd. Sci. 44: 735, 1979.
- HAMMARSTRAND, K. Gas chromatographic analysis of carbohydrates. Varian Aerograph - Bulletin 2, 1968. p 1.
- HAMMONS, R.O. Early history and origin of the peanut. Peanuts - Culture and uses. A symposium Publ. Am. Peanut Res. Education Ass., Inc. Stone Printing Co., Virginia, 1973. p 17.
- HEGSTED, D.M.; MILLS, R.C.; ELVEHJEM, C.A. & HART, E.B. Choline in the nutrition of chicks. J. Biol. Chem. 138: 459, 1941.
- HENRY, K.M. & TOOTHILL, J.A. A comparison of the body-water and nitrogen balance-sheet methods for determining the nutritive value of proteins. Br. J. Nutr. 16: 125, 1962.

- HENRY, K.M. A comparison of biological methods with rats for determining the nutritional value of proteins. Br. J. Nutr. 19: 125, 1965.
- HOFPPAUIR, C.L. Peanut composition - Relation to processing and utilization. Agric. Fd. Chem. 1: 668, 1953.
- HUBBARD, W.D.; SHEPPARD, A.J.; NEWKIRK, D.R.; PROSSER, R. & OSGOOD, T. Comparison of various methods for the extraction of total lipids, fatty acids, cholesterol and other sterols from food products. J. Am. Oil Chem. Soc. 54: 81, 1977.
- ICN - Diet Catalog. Nutritional Biochemicals Division of ICN Life Sciences Group. Cleveland, Ohio, 1977/1978.
- JAMALIAN, J. & PELLET, P.L. Nutritional value of Middle Eastern foodstuffs. Amino acid composition. J. Sci. Fd. Agr. 19: 378, 1968.
- JEANES, A.C. & HOODGE, J. Physiological effects of food carbohydrates. ACS symposium series, Washington, D.C. 1975.
- JOHNSON, B.R.; WALLER, G.R. & BURLINGAME, A.L. Volatile components of roasted peanuts: basic fraction. J. Agr. Fd. Chem. 19: 1020, 1971a.
- JOHNSON, B.R.; WALLER, G.R. & FOLTZ, R.L. Volatile components of roasted peanuts: neutral fraction. J. Agr. Fd. Chem. 19: 1025, 1971b.
- JONES, D.B. & HORN, M.J. The proportion of arachin and conarachin and proportionate occurrence of the protein in the peanut. J. Agr. Res. 44: 673, 1930.

- KNIPFEL, J.E.; CHRISTENSEN, D.A. & OWEN, B.D. Effect of deproteinating agents (picric acid and sulfosalicylic acid) on analysis for free amino acids in swine blood. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 52: 981, 1969.
- KNOX, R.; KHOLER, G.O.; PALTER, R. & WALKER, H.G. Determination of triptophan in feeds. Anal. Biochem. 36: 136, 1970.
- KOEHLER, P.E. & ODELL, G.V. Factors affecting the formation of pyrazine compounds in sugar-amine reactions. J. Agr. Fd. Chem. 18: 895, 1970.
- LEVANTAMENTO SISTEMÁTICO DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA - CEPAGRO - PIBGE-SEPLAN. Dez. 1980, p 3.
- LI, B.W. & SCHUHMAN, P.J. Gas-liquid analysis of sugars in ready-to-eat breakfast cereals. J. Fd. Sci. 45: 138, 1980.
- LOTTI, G.; BARAELI, S. & GENTILI, M. Composizione acidica e sterolica dell'olio di arachide in funzione del clima. Riv. Italiana Delle sostanze Grasse 54: 506, 1977.
- MASON, M.E.; JOHNSON, B.R. & HAMMING, M.C. Flavor components of roasted peanuts - some low molecular weight pirazines and pyrrole. J. Agr. Fd. Chem. 14: 454, 1966.
- MASON, M.E.; NEWELL, J.A.; JOHNSON, B.R.; KOEHLER, P.E. & WALLER, G.R. Nonvolatile flavor components of peanuts. J. Agr. Fd. Chem. 17: 728, 1969.
- MASON, B.S. & SLOVER, H.T. A gas chromatographic method for the determination of sugars in foods. J. Agr. Fd. Chem. 19: 551, 1971.

- McNAIR, H.M. & BOSELLI, E.J. Quantitative analysis. Basic gas chromatography. Palo Alto, California. Ed. Varian Instrument Division Offices. 5th ed., 1969. p 137.
- McOSKER, D.E. The limiting amino acid sequence in raw roasted peanut protein. J. Nutr. 76: 453, 1962.
- METCALFE, L.D.; SCHMITZ, A.A. & PELKA, J.R. Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. Anal. Chem. 38: 514, 1966.
- MILLER, D.S. & BENDER, A.E. The determination of the net utilization of proteins by a shortened method. Br. J. Nutr. 9: 382, 1955.
- MILLER, J. & YOUNG, C.T. Protein nutritional quality of florumer peanut meal as measured by rat bioassay. J. Agr. Fd. Chem. 25: 653, 1977.
- MILLER, R.C.; AURAND, L.W. & FLACH, W.R. Amino acids in high and low protein corn. Science, 112: 57, 1950.
- MILNER, M. Peanuts as a protein resource in international feeding programs. Fd. Tech. 16: 46, 1962.
- MITRA, C.R. & MISRA, P.S. Amino acids of processed seed meal proteins. J. Agr. Fd. Chem. 15: 697, 1967.
- MORITA, H. & MONTGOMERY, W.G. Gas chromatography of silylated oxime derivatives of peat monosaccharides. J. Chromat. 155: 195, 1978.
- NEWELL, J.A.; MASON, M.E. & MATLOCK, R.S. Precursors of typical and atypical roasted peanut flavor. J. Agr. Fd. Chem. 15: 767, 1967.



- ORE, O.L.; SMITH, R.H. & WOODHAM, A.A. Groundnut. IN: PIRIE, N.W., ed. Food protein sources. Cambridge University Press, 1975, p 105.
- OLIVEIRA, M.N.A. Amendoim. Anuário agroveterinário nº 39, dez. 1978. p 5.
- ORR, C.H. & CALLEN, J.E. Separation of polyunsaturated fatty acid methyl ethers by gas chromatography. J. Am. Chem. Soc. 80: 249, 1958.
- OUPADISSAKOON, C.; YOUNG, C.T. & MOZINGO, W. Evaluation of free amino acid and free sugar contents in five lines of Virginia type peanuts at four locations. Proc. Apres. 11: 1, 1979.
- PELLET, P.L. Methods of protein evaluation with rats, I. IN: PORTER, J.W.G. & ROLLS, B.A. ed. Proteins in human nutrition. New York, Academic Press, Inc., 1973. p 225.
- PETERSON, G. Gas chromatographic analysis of sugars and related hidroxiacids as acyclic oxime and ester trimethylsilyl derivatives. Carbohydrate Res. 33: 47, 1974.
- PICKETT, T.A. Composition of developing peanut seed. Plant Phys. 25: 210, 1950.
- PONTE, J.Gr.; DeSTEFANIS, V.A. & TITCOMB, S.T. Application of thin layer Chromatography to sugar analysis in cereal based product. Cereal Sci. Today 14: 3, 1969.
- PRAGER, M.J. & MISKIEWICKZ, M.A. Gas-liquid chromatographic determination of individual sugars in confectionery products. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 62: 262, 1979.

- REES, M.W. The estimation of treonine and serine in proteins. Biochem. J. 40: 632, 1946.
- ROBEL, E. Effect of the volume of HCL minimizing amino acid losses when carbohydrate-containing samples are hydrolyzed. Poultry Sci. 52: 604, 1973.
- ROSEN, G.D. Groundnut and groundnut meal. IN: ALTSCHUL, A.M. ed. Processed plant protein foodstuffs. New York, 1958. p 440.
- SAID, A.K. & HEGESTED, D.M. Evaluation of dietary protein quality in adult rats. J. Nutr. 99: 474, 1969.
- SAVOY, C.F.; HEINIS, J.L. & SEALS, R.G. Improved methodology for rapid and reproducible acid hydrolysis of food and purified proteins. Anal. Biochem. 68: 562, 1975.
- SAWARDEKER, J.S.; SLONEKER, J.H. & JEANES, A. Quantitative determination of monosaccharides as their alditol acetates by gas-liquid chromatography. Anal. Chem. 37: 1602, 1965.
- SCRIMSHAW, N.S. Protein metabolism and related problems in human nutrition. Fd. Tech. 16: 26, 1962.
- SHEPPARD, A.J.; HUBBARD, W.D. & PROSSER, A.R. Evaluation of eight extraction methods and their effects upon total fat and gas-liquid chromatographic fat acid composition analysis of food products. J. Am. Oil Chem. Soc. 51: 416, 1974.
- SPACKMAN, D.H.; STEIN, W.H. & MOORE, S. Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. Anal. Chem. 30: 1190, 1958.
- SPENCER, G.F.; HERB, S.F. & GORMISKY, P.J. Fatty acid composition as a basis for identification of commercial fats and oils. J. Am. Oil Chem. Soc. 53: 94, 1976.

- SPIES, J.R. & CHAMBERS, D.C. Chemical determination of tryptophan in proteins. Anal. Chem. 21: 1249, 1949.
- SPIES, J.R. Determination of tryptophan in proteins. Anal. Chem. 39: 1412, 1967.
- SPITZ, H.D. A new approach for sample preparation of protein hydrolysates for analysis. Anal. Biochem. 56: 66, 1973.
- STUKI, W.P. & HARPER, A.E. Effect of altering the ratio of indispensable to dispensable amino acids in diets for rats. J. Nutr. 78: 278, 1962.
- SWEELEY, C.C.; BENTLEY, R.; MAKITA, M. & WELLS, W.W. Gas-liquid chromatography of trimethylsilyl derivatives of sugars and related substances. J. Am. Chem. Soc. 85: 2497, 1963.
- SWEELEY, C.C. & WALKER, B. Determination of carbohydrates in glycolipides and gangliosides by gas chromatography. Anal. Chem. 38: 1461, 1964.
- TAI, Y.P. & YOUNG, C.T. Genetic studies of peanut proteins and oils. J. Am. Oil Chem. Soc. 42: 337, 1975.
- TANGO, J.S. Influence of environmental conditions of the physical, microbiological and chemical characteristics of peanut of TATU variety (*Arachis hypogaea* L.). Tese PhD Louisiana State University - 1979.
- THARANATHAN, R.N.; WANKHEDE, D.B. & RAO, M.R.R. Carbohydrate composition of groundnuts (*Arachis hypogaea*). J. Sci. Fd. Agr. 26: 749, 1975.
- THARANATHAN, R.N.; WHANKHEDE, D.B. & RAO, M.R.R. Mono and oligosaccharide composition of groundnut (*Arachis hypogaea*). J. Fd. Sci. 41: 715, 1976.

- THARANATHAN, R.N.; WANKHEDE, D.B. & RAO, M.R.R. Groundnut carbohydrates - A review. J. Sci. Fd. Agr. 30: 1977, 1979.
- WILSON, C.T. The present and future role of peanuts in meeting the world's need of food. J. Am. Oil Chem. Soc. 49: 343A, 1972.
- WORTHINGTON, R.E.; HAMMONS, R.O. & ALLISON, J.R. Varietal differences and seasonal effects on fatty acid composition and stability of oil from 82 genotypes. Agr. Fd. Chem. 20: 727, 1972.
- WORTHINGTON, R.E.; & HAMMONS, R.O. Variability in fatty acid composition among *Arachis* genotypes: a potential source of product improvement. J. Am. Oil Chem. Soc. 54: 105A, 1977.
- YOUNG, C.T. & HOLLEY, K.T. Comparison of peanut varieties in storage and roasting. Tech. Bull. n<sup>o</sup> 41. University of Georgia Exp. Sta., Experiment GA. 1965.
- YOUNG, C.T.; MASON, M.E.; MATLOCK, R.S. & WALLER, G.R. Effect of maturity on the fatty acid composition of eight varieties of peanuts grown at Perkins, Oklahoma in 1968. J. Am. Oil Chem. Soc. 49: 314, 1972.
- YOUNG, C.T. & HAMMONS, R.O. Variations in the protein levels of a wide range of peanut genotypes. Oleanineux 28: 293, 1973.
- YOUNG, C.T.; WALLER, G.R. & HAMMONS, R.O. Variation in total amino acid content of peanut meal. J. Am. Oil Chem. Soc. 50: 521, 1973
- YOUNG, C.T.; WALLER, G.R.; MATLOCK, R.S. & MORRISON, R.D. Some environmental factors affecting free amino acid composition in six varieties of peanuts. J. Am. Oil Chem. Soc. 51: 265, 1974a.

YOUNG, C.T.; MATLOCK, R.S.; MASON, M.E. & WALLER, G.R. Effect of harvest date and maturity upon free amino acid levels in three varieties of peanuts. J. Am. Oil Chem. Soc. 51: 269, 1974b.

YOUNG, C.T.; AMAYA, J.F.; MIXON, A.C. & NORDEN, A.J. Study of the soluble amino compounds and total carbohydrates of the testa of six experimental peanuts lines with varying *A. flavus* tolerance. VIII. Proceed Am. Peanut Res. Ed. Assoc. Dallas, July, 1976.

YOUNG, C.T. Amino acid composition of three commercial peanut varieties. J. Ed. Sci. 45: 1086, 1980.

APÊNDICE A

TESTE DE LINEARIDADE DOS DERIVADOS TMS DOS AÇÚCARES

Três séries de misturas foram preparadas, variando-se o peso dos açúcares utilizados, mas conservando-se a quantidade de arabinose (1 mg). Áreas foram determinadas e o valor de Re (relação de áreas) foi calculado. A Tabela 29 contém os resultados obtidos.

Tabela 30. Relação de áreas das misturas padrão.

AÇÚCAR	PESO INICIAL (mg)	$\overline{RE}$ (*)
Xilose	1,40	1,10
	4,40	3,79
	9,80	7,98
Ribose	1,10	0,65
	4,30	2,87
	7,80	5,48
Frutose	1,00	0,77
	5,30	3,56
	11,40	6,96
Galactose	1,20	0,68
	4,30	2,04
	9,60	3,88
Glicose	1,10	1,01
	4,80	3,78
	9,90	7,39
Inositol	1,40	0,69
	6,90	2,08
	9,80	2,75
Sacarose	1,00	0,61
	4,70	1,47
	10,30	2,52
Maltose	1,70	0,62
	4,90	1,54
	10,00	2,83
Lactose	1,60	0,42
	5,70	2,04
	10,20	3,55
Rafinose	2,20	0,39
	5,30	1,20
	10,00	2,23
Melibiose	2,30	0,34
	8,60	1,96
	8,70	1,79

(\*) Média de três repetições.

APÊNDICE B

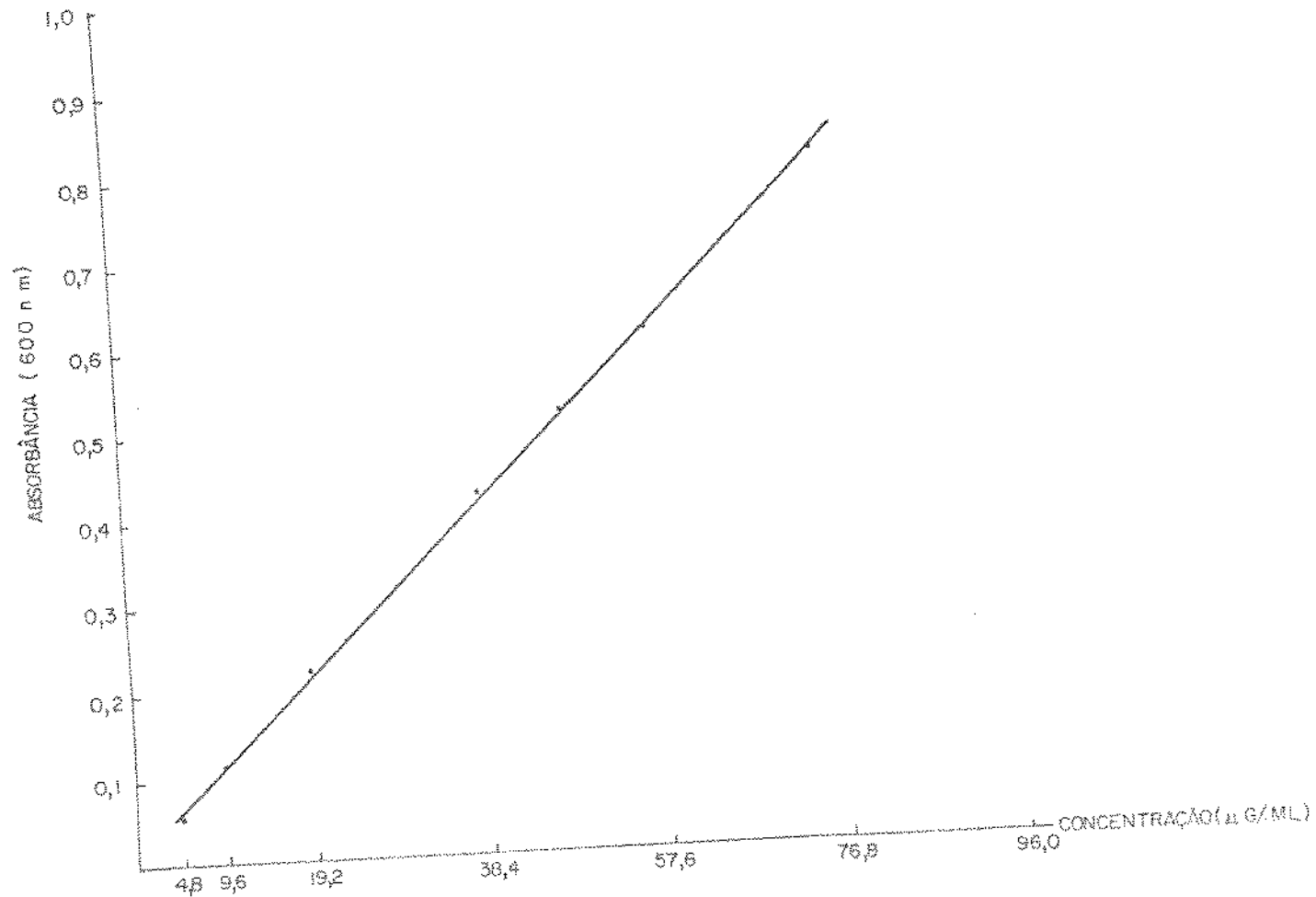


FIGURA 16 :CURVA PADRÃO DE TRIPTOFANO.