

PRODUÇÃO DE ISOLADO PROTÉICO DE SEMENTE DE ABÓBORA (*CUCURBITA* SPP.) DESENGORDURADA: AVALIAÇÃO NUTRICIONAL E TECNOLÓGICA.

FABIANA SILVA¹; VERA SÔNIA NUNES DA SILVA²; ROSELI A. FERRARI³;
APARECIDA SÔNIA DE SOUZA³; MARIA TERESA BERTOLDO PACHECO³

Nº 12217

RESUMO

O crescimento da população mundial ocorrido nos últimos anos, em paralelo com uma grande escassez de alimentos e a preocupação com o meio ambiente, resultou na necessidade de aproveitar os co-produtos oriundos dos processamentos de alimentos, que geralmente são descartados na natureza para serem aproveitados na alimentação humana. Dentre estes produtos estão incluídas as sementes de abóbora (*Cucurbita* spp.) que apresentam como principais nutrientes os lipídios, fibras e proteínas. Dentro deste contexto, o presente trabalho objetivou isolar esta proteína e avaliar seu potencial, além de verificar a fração fibrosa obtida no processo de isolamento. O óleo foi previamente extraído por prensagem na planta piloto do CCQA-ITAL, foi necessária também a extração por Soxhlet. A farinha desengordurada foi utilizada para o isolamento da proteína. Foi determinado o teor de lipídios ($3,55\% \pm 0,04$) na farinha desengordura Soxhlet (FDS), o teor de proteína ($91,11\% \pm 0,56$) para isolado protéico de semente de abóbora (IPSA) e o teor de fibra ($53,16\% \pm 0,25$) no resíduo fibroso (RF) o qual foi obtido no processo de isolamento da proteína. Dentre as propriedades funcionais do isolado proteico de semente de abóbora, a que mais se destacou foi a capacidade emulsificante.

¹Bolsista CNPq: Graduanda em Eng. de Alimentos, UNICAMP, Campinas-SP, fabiana_f_s@hotmail.com

²Orientadora: Pesquisadora, CCQA/ITAL, Campinas-SP, vera.silva@ital.sp.gov.br

³Colaborador: Pesquisador, CCQA/ITAL, Campinas-SP.

ABSTRACT

The world population growth occurred in recent years in parallel with a serious food shortages and concern for the environment, resulted in the need to take the co-products from the processing of foods that are usually discarded in nature to be utilized in food human. Among these products are included pumpkin seeds (*Cucurbita spp.*), the main nutrient are fat, fiber and protein. Therefore, the main objective of this project is to isolate protein and evaluate its potential, and to evaluate the fiber fraction obtained in the isolation process. The oil was first extracted by pressing in the pilot plant of the CCQA-ITAL, was also required by Soxhlet extraction. The defatted flour was used for the isolation of the protein. It was determined the lipid content ($3.55\% \pm 0.04$) in Soxhlet defatted flour (SDF), the protein content ($91.11\% \pm 0.56$) for pumpkin seeds protein isolate (PSPI) and fiber content ($53.16 \pm 0.25\%$) in fibrous residue (FR) obtained in the process of isolating the protein. Among the functional properties of protein isolate from pumpkin seed, the one that stood out was the emulsifying capacity.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento social e econômico associado a necessidade global, de cada vez mais buscar fontes alternativas na produção de alimentos, gerado pelo crescimento da população mundial, ocasionou a escassez de alguns alimentos, aumentando assim a subnutrição protéica em regiões economicamente pouco desenvolvidas (MONTEIRO, 1992). Por outro lado as pesquisas científicas permitem avaliar cada vez mais o valor nutritivo de diversos alimentos não convencionais (CORRÊA et al., 2002; FERRARI; COLUSSI; AYUB, 2004). Dentre eles a semente de abóbora (CERLETTI; FUMAGALLI; VENTURINI, 1978), devido ao teor de lipídeos, fibras e proteínas torna-se uma opção de estudo para verificar suas propriedades nutritivas e funcionais, bem como seu uso na alimentação humana.

A abóbora pertence a família *Cucurbitaceae* e espécie *Cucurbita*, é utilizada, principalmente, em seu estado maduro para compor a dieta. A semente de abóbora também é utilizada pela medicina popular brasileira, devido alguns benefícios atribuídos a ela como efeito vermífugo e antioxidante. Rica em proteína e lipídeos (YOUNIS;GHIRMAY;SHIHRY, 2000; ACHU et al., 2005), a semente de abóbora apresenta um alto teor de fibra, outro componente alimentar importantíssimo para compor uma dieta saudável (ACHU et al., 2005; SAMANT; REGE, 1989).

Por outro lado, é importante ressaltar que os subprodutos ou co-produtos como as sementes de abóbora, embora apontados em estudos científicos como ricos em minerais, proteínas, lipídeos e fibras (ACHU et al., 2005; YOUNIS, 2000; SAMANT; REGE, 1989; CERLETTI et al., 1978;), podem apresentar também em sua composição os fatores antinutricionais, os quais podem interferir na biodisponibilidade destes nutrientes ou até mesmo serem tóxicos ao organismo, desta forma estes fatores antinutricionais, devem ser inativados antes e/ou durante o processamento (LIENER, 1980). Desta forma, o objetivo principal deste projeto foi isolar a proteína da semente de abóbora e aproveitar também a fração fibrosa oriunda do processo de isolamento. Avaliar seu potencial nutricional e antinutricional, além das propriedades funcionais do isolado proteico.

MATERIAL E MÉTODOS

Matéria-prima: Sementes de abóbora (*Cucurbita spp*), as quais foram desengorduradas na planta piloto de óleos do CCQA/ITAL, através de prensagem e posterior extração em Soxhlet utilizando o solvente hexano.

Caracterização da matéria-prima e da farinha desengordurada:

Análises físico-químicas da composição centesimal foram realizadas de acordo com HORWITZ, (2010): Umidade AOAC 925.10; Proteína AOAC 920.87; lipídeos totais AOAC 922.06; Fibra Alimentar Total AOAC 985.29; cinzas AOAC 23.06. Os aminoácidos totais (HAGEN; FROST; AUGUSTIN et al., 1989; WHITE; HART; FRY, 1986) e Triptofano (SPIES, 1967).

Avaliação do valor nutricional e antinutricional

Digestibilidade *in vitro*: O método consiste na determinação de proteínas hidrolisadas pelas proteases digestivas, expressa em porcentagem (%), usando o sistema enzimático composto por pepsina-pancreatina (AKESON; STAHMANN, 1964). A digestibilidade *in vitro* simula as condições da digestão humana. Após esse processo, as proteínas não hidrolisadas são precipitadas com solução de ácido tricloroacético 30% e separadas por filtração. O sobrenadante é usado na determinação do teor de nitrogênio resultante das proteínas hidrolisadas.

Atividade do inibidor de tripsina: Foi realizado de acordo com método proposto por KAKADE et al., 1974; HAMERSTRAND; BLACK; CLOVER, 1981. O método baseia-se na hidrólise da ligação éster e amida do benzoil D-L-arginina p-nitroanilida (BAPNA),

um derivado sintético desses aminoácidos, pela tripsina livre, que não foi ligada ao inibidor presente em solução contendo a amostra.

Avaliação das Propriedades Funcionais:

Solubilidade: A solubilidade das proteínas foi expressa como índice de proteína solúvel (IPS). A solubilidade da proteína depende do estado físico-químico de suas moléculas que pode ser alterado por tratamento térmico, processamento e condições de armazenamento (AACC, 1969).

Propriedades emulsificantes: As propriedades emulsificantes abrangem a capacidade emulsificante (KANTEREWICZ et al., 1987), atividade emulsificante e a estabilidade da emulsão (YASUMATSU et al., 1972). A capacidade de emulsificação foi definida como o volume (mL) de óleo adicionado até alcançar o ponto de inversão da emulsão por grama de proteína. Dispersões de 0,5% de proteína em água foram agitadas em agitador magnético por um tempo de 30 minutos e o pH corrigido para 3,0 e 7,0; antes de adicionar o óleo. A fase aquosa e óleo de soja foram combinados em diferentes proporções mantendo o volume total igual a 50mL. A proporção de óleo usada para preparar a emulsão foi próximo ao ponto de colapso da emulsão, visualizada pela separação de fases. As emulsões foram agitadas em agitador ultraturrax em velocidade de 10.000 rpm a temperatura ambiente. A atividade da emulsão foi determinada da mesma maneira, porém a emulsão formada foi mantida sob agitação durante 3 minutos e centrifugada a 1.500 rpm. A estabilidade foi determinada efetuada da mesma maneira que a atividade, porém foi aquecida a 80°C por 30 minutos em banho-maria.

Análise estatística: Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e ao teste de Tukey para determinação da diferença significativa entre as médias. O nível de confiança foi de 95% ($p < 0,05$). Utilizou-se o programa *Statistica®*, versão 7.0 (Statsoft, 2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Métodos de extração da fração protéica de semente de abóbora:

Extração Salina: O processo de obtenção do isolado foi baseado na solubilidade da proteína (SGARBIERI, 1996). A farinha de semente de abóbora foi acrescida de cloreto de sódio 1,5 M na proporção 1:10, homogeneizada por uma hora no agitador (marca: Marconi) 6.000 rpm. A dispersão foi centrifugada (marca: Sorval) 8.000 x g por

15 minutos a 20°C, o sobrenadante reservado e o resíduo foi extraído mais uma vez com a adição de 100mL de água destilada nas mesmas condições. Logo após o sobrenadante foi acrescentado ao que estava reservado. Ao sobrenadante total adicionou-se ácido clorídrico 1N até pH 4,5 e centrifugou por 20 minutos a 8.000 x g, 20°C. Posteriormente, o sobrenadante foi descartado e a fração protéica solubilizada em 20mL de água, acrescida de Hidróxido de Sódio 1N até pH inicial e liofilizada para posterior caracterização. A fração fibrosa foi lavada com água destilada, centrifugada e liofilizada para posterior caracterização.

Extração Alcalina: O isolado foi obtido segundo o método de Pereira et al., (1985), no qual a farinha de semente de abóbora foi acrescida de água destilada na proporção 1:10 e de Hidróxido de Sódio 2N até pH 9,0, em seguida homogeneizada por uma hora no agitador Ultraturrax 8.000 rpm; a dispersão foi centrifugada (marca: Sorval) a 10.000 x g por 10 minutos a 12°C, o sobrenadante foi reservado e o resíduo extraído mais uma vez com a adição de 50 mL de água nas mesmas condições. Em seguida transferiu o sobrenadante ao que estava reservado. Ao sobrenadante total acrescentou de HCl 2N até pH 4,5 e centrifugou a 10.000 x g por 10 minutos a 12°C. O sobrenadante foi descartado, a fração protéica solubilizada em água e o pH corrigido e a fração protéica liofilizada. Na Tabela 1 estão apresentados o rendimento e o teor de proteínas. Observa-se que o rendimento da extração com solução alcalina foi maior comparado a solução salina. Entretanto, não foi possível com a solução alcalina e nem com a solução salina da amostra desengordurada por prensagem, atingir o teor de proteína ideal para ser considerado um isolado protéico.

Tabela 1. Resultados dos métodos de extração do isolado protéico.

Procedimentos	Rendimento (%)	Proteína (%) [*]
Extração alcalina (NaOH 2N)	38,77	57,55 ± 0,32 ^c
Extração salina (NaCl 1,5M)	19,28	83,10 ± 0,09 ^b
Extração salina (NaCl 1,5M)**	25,00	91,11 ± 0,56 ^a

^{*}Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias na mesma coluna, seguidas por uma mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Fator conversão de Nitrogênio em proteína: 6,25. ^{**}Valores obtidos a farinha desengordurada com solvente.

Resultados da caracterização físico-químicas da matéria prima e dos produtos obtidos nos processos

As sementes de abóbora utilizadas neste estudo são das variedades *Cucurbita pepo*, *cucurbita moschata*, *cucurbita máxima*. Na Tabela 2 estão apresentados os resultados da composição centesimal das sementes e da torta (Farinha desengordurada) obtida após a extração do óleo por prensagem. Observa-se que este processo de extração

de óleo não foi totalmente efetivo. O teor de proteína (Tabela 2) foi determinado pelo método de Kjeldhal, no entanto, baseado no valor total dos aminoácidos (Tabela 4), o teor de nitrogênio foi multiplicado por 6,25. Este fator permitiu uma aproximação do valor real de proteína que foi de 32,68% para a farinha desengordurada, que está dentro da faixa de 23-35% reportados em outros trabalhos (EL MAGOLI; MORAD; EL FARA, 1979; KAMEL; DE MAN; BLACKMAN, 1982). Porém, foi necessária a extração dos lípidos com solvente n-hexano para obtenção de um maior teor protéico, que foi de $50,81 \pm 0,12\%$ (Tabela 3), acima dos apresentados por Murkovic et al., (2004). O teor de fibra alimentar total apresentou-se elevado, importante para melhorar o desempenho fisiológico no organismo. O Isolado Protéico de Semente de Abóbora (IPSA) apresentou um excelente perfil de aminoácidos (Tabela 4), demonstrando ser fonte de aminoácidos essenciais, em especial de triptofano.

Tabela 2. Resultados da composição centesimal das sementes de abóbora e farinha desengordurada por prensagem.

DETERMINAÇÕES	RESULTADOS (g/100 g de amostra)*	
	SA	FSDP
Proteína Bruta (Nx6,25)	$29,76 \pm 0,24^b$	$35,52 \pm 0,12^a$
Umidade	$7,47 \pm 0,46^b$	$9,43 \pm 0,19^a$
Cinzas	$3,90 \pm 0,32^b$	$4,76 \pm 0,16^a$
Lípidos	$39,14 \pm 0,05^a$	$27,07 \pm 0,31^b$
Fibra Alimentar Total	$18,28 \pm 0,35^b$	$21,57 \pm 0,54^a$
Carboidratos**	1,45	1,65

*Resultados expressos como média \pm desvio padrão das análises em triplicata. Médias na mesma linha, seguidas por uma mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

**Calculados por diferença: $100 - (\text{proteína} + \text{umidade} + \text{lipídeos totais} + \text{cinzas} + \text{Fibra alimentar total})$. SA: Sementes de Abóbora; FSDP: Farinha de Semente Desengordura por Prensagem.

Tabela 3: Resultados da composição centesimal do Isolado protéico, fração fibrosa e farinha desengordurada por Soxhlet.

DETERMINAÇÕES	RESULTADOS (g/100g da amostra)*		
	IPSA	FFSA	FDSA
Proteína Bruta (Nx6,25)	$91,11 \pm 0,56^a$	$31,18 \pm 0,14^c$	$50,81 \pm 0,12^b$
Umidade	$4,66 \pm 0,17^c$	$5,83 \pm 0,08^b$	$11,89 \pm 0,09^a$
Cinzas	$4,79 \pm 0,12^c$	$7,93 \pm 0,09^a$	$6,77 \pm 0,17^b$
Lípidos	ND***	$2,02 \pm 0,11^b$	$3,55 \pm 0,04^a$
Fibra Alimentar Total	ND***	$53,16 \pm 0,25^a$	$26,83 \pm 0,08^b$
Carboidratos**	ND***	ND***	ND***

*Resultados expressos como média \pm desvio padrão das análises em triplicata. Médias na mesma linha, seguidas por uma mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

**Calculados por diferença: $100 - (\text{proteína} + \text{umidade} + \text{lipídeos totais} + \text{cinzas} + \text{Fibra alimentar total})$.

***Não Detectado. IPSA: Isolado Proteico de Semente de Abóbora; FFSA: Fração Fibrosa de Semente de Abóbora; FDSA: Farinha Desengordurada de Semente de Abóbora por Soxhlet.

Tabela 4: Resultados do perfil de aminoácidos totais das SA, FSDP e IPSA.

AMINOÁCIDOS TOTAIS (AAT)	SA (g/100g)*	FSDP (g/100g)*	IPSA (g/100g)*
Ácido Aspártico	3,12 ± 0,00 ^c	3,63 ± 0,01 ^b	8,88 ± 0,00 ^a
Ácido Glutâmico	5,48 ± 0,00 ^c	6,50 ± 0,01 ^b	18,04 ± 0,03 ^a
Serina	1,45 ± 0,00 ^c	1,72 ± 0,00 ^b	4,86 ± 0,01 ^a
Glicina	2,41 ± 0,01 ^c	2,93 ± 0,01 ^b	4,05 ± 0,04 ^a
Histidina	0,84 ± 0,01 ^c	0,98 ± 0,00 ^b	2,28 ± 0,00 ^a
Arginina	4,32 ± 0,00 ^c	5,14 ± 0,01 ^b	14,72 ± 0,05 ^a
Treonina	0,88 ± 0,01 ^c	1,02 ± 0,00 ^b	2,93 ± 0,01 ^a
Alanina	1,20 ± 0,00 ^c	1,44 ± 0,00 ^b	4,19 ± 0,01 ^a
Prolina	0,99 ± 0,00 ^c	1,18 ± 0,00 ^b	3,47 ± 0,01 ^a
Tirosina	1,77 ± 0,00 ^c	2,11 ± 0,01 ^b	3,30 ± 0,19 ^a
Valina	1,30 ± 0,01 ^c	1,55 ± 0,01 ^b	4,91 ± 0,01 ^a
Metionina	0,62 ± 0,00 ^c	0,68 ± 0,01 ^b	2,50 ± 0,00 ^a
Cistina	0,13 ± 0,01 ^c	0,27 ± 0,00 ^b	0,34 ± 0,00 ^a
Isoleucina	1,06 ± 0,00 ^c	1,25 ± 0,00 ^b	3,69 ± 0,01 ^a
Leucina	1,90 ± 0,00 ^c	2,27 ± 0,01 ^b	6,23 ± 0,00 ^a
Fenilalanina	1,32 ± 0,02 ^c	1,60 ± 0,03 ^b	4,73 ± 0,01 ^a
Lisina	1,47 ± 0,01 ^c	1,74 ± 0,01 ^b	2,64 ± 0,01 ^a
Triptofano	NA**	NA**	1,62 ± 0,02
Total	30,50 ± 0,04	36,15 ± 0,09	91,87 ± 0,08

*Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias na mesma linha, seguidas por uma mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). SA: Sementes de Abóbora; FSDP: Farinha de Semente Desengordura por Prensagem; IPSA: Isolado Proteico de Semente de Abóbora. **NA: Não Analisado.

Resultados da avaliação nutricional e antinutricional

Na Tabela 5, encontram-se os valores de inibidor de tripsina, que apresentou baixo teor em relação ao descrito por Naves et al., (2010) que foram de 4,69 e 6,24 UTI/mg, para as espécies *C. moschata* e *C. máxima*, respectivamente. O valor nutricional foi avaliado através da digestibilidade *in vitro*, que estão de acordo com o relatado por Naves et al., (2010) que foram de 61,41%, e 70,29%, estes percentuais são característicos das proteínas vegetais. O valor foi menor na farinha desengordurada, uma vez que todo o processo sofrido pela proteína pode refletir diretamente no seu potencial nutricional. O isolado protéico apresentou maior valor nutricional resultante da diminuição dos interferentes como os componentes antinutricionais.

Tabela 5. Fator antinutricional (inibidor de tripsina) e nutricional (digestibilidade *in vitro*)

Parâmetros Avaliados	SA*	FSDP*	IPSA*
Inibidor de tripsina (**UTI/mg de amostra)	0,54 ± 0,02 ^a	0,58 ± 0,00 ^a	ND***
Digestibilidade <i>in vitro</i> (%)	70,20 ± 0,99 ^b	63,77 ± 0,53 ^c	91,57 ± 0,25 ^a

*Resultados expressos como média ± desvio padrão das análises em triplicata. Médias na mesma linha, seguidas por uma mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

UTI: Unidade de Tripsina Inibida. SA: Sementes de Abóbora; FSDP: Farinha de Semente Desengordura Prensagem; IPSA: Isolado Proteico de Semente de Abóbora. *Não Detectado

Resultados das Propriedades Funcionais

O resultado da solubilidade das proteínas presentes no isolado protéico de semente de abóbora (IPSA) apresentou índice de proteína solúvel de $7,36 \pm 0,19\%$. Geralmente valores baixos de solubilidade são observados para proteína de sementes de leguminosas, como às de lentilha (NEVES et al., 1998) concentrados protéicos de gergelim (INYANG e IDUH, 1996). Porém, é um indicativo que o IPSA está composto principalmente por frações de globulinas as quais apresentam baixa solubilidade em água e alta solubilidade em solução salina.

Tabela 6: Resultados das propriedades funcionais do Isolado protéico de semente de abóbora (IPSA)

DETERMINAÇÕES	RESULTADOS (%)*		
	Capacidade emulsificante (CE)	Atividade emulsificante (AE)	Estabilidade de Emulsão (EE)
pH 3,0	$944,00 \pm 21,07^a$	$86,10 \pm 0,18^a$	$83,52 \pm 1,33^a$
pH 7,0	$510,67 \pm 11,02^b$	$80,28 \pm 0,45^b$	$60,73 \pm 0,77^b$

*Resultados expressos como média \pm desvio padrão das análises em triplicata. Médias na mesma coluna, seguidas por uma mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na Tabela 6 estão apresentados os valores de capacidade emulsificante (CE), atividade emulsificante (AE) e estabilidade de emulsão (EE) para o isolado protéico de semente de abóbora (IPSA). Observa-se para a CE, que o pH ácido da suspensão apresentou influência positiva sobre a CE, a AE embora tenham sido estatisticamente diferentes ($p < 0,05$), os valores numéricos foram muitos próximos. No entanto, a EE foi superior também em pH ácido. Segundo Mangino, (1994) valores de pH próximos ao pl das proteínas são capazes de formar filmes interfaciais mais coesos e mais viscosos, o que é benéfico para a estabilidade da emulsão.

CONCLUSÃO

O isolado protéico de semente de abóbora (IPSA) apresentou excelente perfil de aminoácidos essenciais. Baixa solubilidade, porém uma excelente digestibilidade, sendo este parâmetro, um indicativo de sua biodisponibilidade.

O IPSA pode ser utilizado de várias maneiras, como enriquecimento nutricional, ingredientes tecnológicos, etc., além de agregar valor aos co-produtos oriundos de processos industriais e reduzir a geração de resíduos, contribuindo para a conservação do meio ambiente.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ – PIBIC, pela bolsa concedida.
Ao CCQA – ITAL, pela oportunidade de estágio.

REFERÊNCIAS

- AACC. American Association of Cereal Chemists (46-23), **Approved Methods of the Cereal Chemists**, 7th, St. Paul, 1969, 2v.
- ACHU, M. B., FOKOU, E., TCHIÉGANG, C., FOTSO, M., TCHOUANGUEP, F.M. Nutritive value of some Cucurbitaceae oilseeds from different regions in Cameroon. **African Journal of Biotechnology**, 4(11):1329-34, 2005.
- AKESON W.R., STAHMANN, M.A. A pepsin pancreatin digest index of protein quality evaluation. **Journal of Nutrition**, Bethesda, v.83, n.2, p. 257-261, 1964.
- CERLETTI, P.; FUMAGALLI, A.; VENTURINI, D. Protein composition of seed of *Pupinus albus*. **Journal of food Science**, V.43, p. 1409 – 1414, 1978.
- CORRÊA, A. D.; SANTOS, C. D.; NATIVIDADE, M. A. E.; ABREU, C. M. P.; XISTO, A. L. R. P.; CARVALHO, V. D. Farinha de folhas de mandioca: I.efeito da secagem das folhas sobre a atividade da linamarase. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 26, n. 2, p. 368-374, mar./abr. 2002.
- EL MAGOLI, S.B.; MORAD, M.M.; EL FARA, A.A. Evaluation of some Egyptian sweet melon seed oils. **Fette Seifen Anstrichmittel**, v.81, n.5, p.201-203, 1979.
- FERRARI, R. A., COLUSSI, F., AYUB, R. A. Caracterização de Subprodutos da industrialização do maracujá - aproveitamento das sementes, **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 26, n. 1, p. 101-102, Abril 2004.
- HAGEN, S. R.; FROST, B.; AUGUSTIN, J. Precolumn phenylisothiocyanate derivatization and liquid chromatography of aminoacids in food. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v. 72, n.6, n. 912-916, Nov.-Dec, 1989.
- HAMERSTRAND, G. E.; BLACK, L. T.; CLOVER, J. D. Trypsin Inhibitors in Soy Products: Modification of the Standard Analytical Procedure. **Cereal Chemistry** – American Association Cereal Chemists, v.58, n.1; January – February, St. Paul, 1981.
- HORWITZ, W. (2010) AOAC, **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 18th ed., HORWITZ, W. (Ed.), Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2005. Current through Revision 3, 2010.
- HORWITZ, W. (Ed.) **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists (AOAC)**. 18th ed., Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2005, cap. 45, met. 985.29, p. 96-98. Current through Revision 3, 2010.
- INYANG, U. E.; IDUH, A. O. Influence of pH and salt concentration on protein solubility, emulsifying and foaming properties of sesame protein concentrate. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 73, n. 12, p. 1663-1667, 1996.
- KAKADE, M.L.; RACKIS, J.J.; Mc GHEE, J.E.; PUSKI, G. Determination of Trypsin inhibitor activity of soy products. A Collaborative Analysis of an improved procedure. **Cereal Chemistry**, 51, p. 376-382, 1974.
- KAMEL, B.S.; DE MAN, J.M.; BLACKMAN, B. Nutritional fatty acid and oil characteristics of different agricultural seeds. **Internacional Journal of Food Science & Technology**, v.17, n. 2, p. 263-269, 1982.

- KANTEREWICZ, R.J.; ELIZALDE, B.E.; PILOSOFF, A.M.R.; BRTHOLOMAI, G.B. Water-oil absorption index (WOAI): A simple method for predicting the emulsifying capacity of food proteins. **Journal of Food Science**, v.52, n.5, p.1381-1383, 1987.
- LIENER, I. E. **Toxic constituents of plant foodstuffs**. 2. ed. New York: Academic, 0. 502 p., 1980.
- MANGINO, M. E. Protein interactions in emulsions: protein-lipid interactions. In HETTIARACHCHY, N. S.; ZIEGLER, G. R. (Ed.) **Protein functionality in food systems**. New York: Marcel Dekker, p. 147-173, 1994.
- MONTEIRO, C. A. O mapa da pobreza no Brasil. **Cadernos de Nutrição**, São Paulo, v. 4, p. 1-6, 1992.
- MURKOVIC, M.; PIIRONEN, V.; LAMP, A.M.; KRAUSHOFER, T.; SONTAG, G. Changes in chemical composition of pumpkin seeds during the roasting process for production of pumpkin seed oil (part I: non-volatile compounds). **Food Chemistry**. V. 84, n.3, p. 359-65, 2004.
- NAVES, L. P.; CORRÊA, A. D.; SANTOS, C. D.; ABREU, C. D. Componentes antinutricionais e digestibilidade proteica em sementes de abóbora (*Cucurbita maxima*) submetidas a diferentes processamentos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. Campinas, 30(Supl.1): 180-184, maio 2010.
- NEVES, V. A.; LOURENÇO, E. J.; SILVA, M. A. Características de solubilidade da fração protéica de semente de lentilha (*Lens culinares Medik*), var. precoz. **Alimentos e Nutrição**, v. 9, p. 89-101, 1998.
- PEREIRA, A. S.; SANT' ANNA, R.; GOMES, J. C.; MOREIRA, M. A.; CASALI, V. W. D. Obtenção e caracterização físico-química de um isolado protéico de semente de moranga (*Cucurbita maxima*, Duchesne). **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 1, p. 23–34, 1985.
- SAMANT, S. K., REGE, D. V. Carbohydrate composition of some cucurbit seeds. **Journal of Food Composition and Analysis**, 2(2):149-56, 1989.
- SGARBIERI, V. C. **Proteínas em Alimentos Protéicos: Propriedades, Degradações, Modificações**, Livraria Varela Ltda, São Paulo, 1996, 517p.
- SPIES, J. R. Determination of tryptophan in proteins. **Analytical Chemistry**, v. 39, p.1412 - 1415, 1967.
- STATSOFT, INC. **STATISTICA (data analysis software system)**, version 7. Disponível em: <www.statsoft.com>. Acesso em: 10/05/2012.
- WHITE, J. A.; HART, R. J.; FRY, J. C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino-acid analysis of food materials. **The Journal of Automatic Chemistry**, v.8, n.4, p. 170-177, Oct-Dec., 1986.
- YASUMATSU, K.; SAWADA, K.; MORITAKA, S. Whippings and emulsifying properties of soy bean products. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 35, n. 5, p. 719-727, 1972.
- YOUNIS, Y. M., GHIRMAY, S., SHIHRY, S. African *Cucurbita pepo* L. Properties of seed and variability in fatty acid composition of seed oil. **Phytochemistry**, 54(1):71-5, 2000.