

Scientific Electronic Archives

Issue ID: Sci. Elec. Arch. Vol. 12 (3)

June 2019

DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/1232019707>

Article link: <https://sea.ufr.edu.br/SEA/article/view/707>



Determinação da atividade antioxidante de polifenóis extraíveis, macromoleculares e identificação de lupanina em tremço branco (*Lupinus albus*)

Determination of antioxidant activity of extractable and macromolecular polyphenols and identification of lupanine in white lupinus (*Lupinus albus*)

J. O. Silva; D. N. S. Santos; G. P. Cosenza; J. C. S. Melo; M. R. P. Monteiro; R. L. B. Araújo

Universidade Federal de Minas Gerais

Author for correspondence: raquel@bromatologiaufmg.com.br

Resumo. O tremço branco (*Lupinus albus*) é uma leguminosa do gênero *Lupinus*, originária da região do Mediterrâneo, de destacado valor nutricional, devido ao seu elevado teor de fibra alimentar, carboidratos, proteínas e perfil lipídico equilibrado. Além disto, possui compostos bioativos, principalmente polifenóis, com expressiva capacidade antioxidante. Mesmo que o tremço branco apresente teor reduzido de alcaloides, como a lupanina, ainda assim a presença destes compostos pode ser fator limitante para seu consumo. Entretanto possíveis efeitos anti-hipertensivo e anti-hiperglicêmico da lupanina estão sendo relatados. Deste modo, este trabalho teve como objetivo avaliar o teor de polifenóis totais (extraíveis e macromoleculares), capacidade antioxidante e identificar a presença de lupanina nos grãos de tremço branco, submetidos ou não ao tratamento térmico. A quantificação de polifenóis foi realizada pelo ensaio Folin-Ciocalteu, atividade antioxidante pelos ensaios TEAC e DPPH e identificação da lupanina por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Os teores de polifenóis totais encontrados nas amostras controle e tratadas termicamente foram 6142,50 e 6418,44 mg GAE/100g, respectivamente. Com relação à capacidade antioxidante do tremço, os valores obtidos pelo método do DPPH variaram de 3473,49 a 3832,65 g amostra/g DPPH. Utilizando o radical ABTS, a atividade antioxidante apresentou valores de 250,14 a 270,39 μ M trolox/g amostra. A capacidade antioxidante mais elevada foi associada aos polifenóis macromoleculares, amostra controle foi 5657,68 mg EAG/100g e submetida ao tratamento térmico foi 5837,87 mg EAG/100g. O tratamento térmico não interferiu nos conteúdos de polifenóis e na capacidade antioxidante dos grãos de tremço branco. Em todas as amostras analisadas, foi possível a identificação da lupanina.

Palavras-chave: polifenóis não-extraíveis, antioxidantes macromoleculares.

Abstract. The white Lupin (*Lupinus albus*) is a legume of the genus *Lupinus*, originally from the Mediterranean region, prominent nutritional value, due to your high level of dietary fiber, carbohydrates, proteins and lipids balanced profile. In addition, it has bioactive compounds, mainly polyphenols, with significant antioxidant capacity. Even if the present low level of white Lupin alkaloids, as the lupanine, yet the presence of these compounds can be a limiting factor for your consumption. However, despite being an antinutritional factor, possible effect antihypertensive and anti-hiperglycemic of lupanine are being reported. In this way, this work aimed to evaluate the content of total polyphenols (extractable and macromolecular), antioxidant capacity and identify the presence of lupanine in white Lupin beans, subjected or not to heat treatment. Quantification of polyphenols was carried out by the Folin-Ciocalteu assay, antioxidant activity tests TEAC and DPPH and lupanine identification by gas chromatography coupled to mass spectrometry. In all samples analysed, it was possible to identify the lupanine. The levels of total polyphenols found in control and treated thermally samples were 6142,50 and 6418,44 (mg GAE/100 g), respectively. With respect to the antioxidant capacity of the Lupine the EC50 ranged from 3473,49 \pm 201,98 to 3832,65 \pm 235,87 (g sample/g DPPH). Using the ABTS radical, the antioxidant activity presented values TEAC that ranged from 250,14 \pm 14,32 to 270,39 \pm 8,37 (μ M trolox/g sample). Greater antioxidant capacity was linked to macromolecular polyphenols. Heat treatment did not interfere in the contents of polyphenols and antioxidant capacity of white Lupin beans.

Index terms: non-extractable polyphenols; macromolecular antioxidants.

Introdução

A crescente demanda por diversos alimentos traz mudanças qualitativas na produção, processamento, distribuição e comercialização destes no mundo todo. Tal fato tem provocado o desafio de incrementar a produção agrícola de maneira sustentável (WHO, 2002) e aliado a isto, pesquisas estão sendo realizadas para viabilizar o uso de fontes não convencionais de alimentos e torná-las economicamente possíveis.

As leguminosas como lentilha, feijão, ervilha, soja, tremçoço e grão de bico são fontes de proteínas e aminoácidos de origem vegetal para a população de todo o mundo (ONU, 2014). O tremçoço (*Lupinus albus*) é uma leguminosa que tem sido utilizada para a nutrição humana há mais de 6000 anos e nas últimas décadas, sua produção e o consumo, aumentaram continuamente devido à sua capacidade de crescer em climas desfavoráveis ao plantio da soja, tolerância à solos pobres e rendimentos elevados (1000-2000 kg/hectare) (Schindler et al., 2011). O tremçoço branco é uma variedade de tremçoço, conhecida como “doce”, que representa uma alternativa de alimento, sendo cultivado em vários países europeus. Nas Américas, a produção representou em 2014, apenas 3% da produção mundial (FAOSTAT, 2017) ressaltando-se que estes grãos não fazem parte do padrão alimentar brasileiro (Lucas et al., 2015),

Esta leguminosa apresenta valor nutricional elevado, caracterizado pelo expressivo teor de fibra dietética, carboidratos, proteínas e perfil lipídico equilibrado. As sementes podem ser consumidas de várias formas, tais como conservas ou na forma de farinhas, sendo que as mesmas podem ser incorporadas em uma vasta gama de alimentos como produtos de panificação e no preparo de carne emulsionada (Erbas; Certel & Uslu 2005).

Além destes nutrientes, estudos relatam a presença de compostos fenólicos, indicando provável capacidade antioxidante deste alimento (Kalogeropoulos et al., 2010); (Pajak et al., 2014); (Ranilla; Genovese & Lajolo, 2009); (Šibul et al., 2016). Ressalta-se que em inúmeros estudos, esses compostos bioativos promotores de capacidade antioxidante, referem-se à compostos fenólicos extraíveis que são moléculas de baixo peso molecular solúveis em extratos orgânicos, sendo negligenciadas as substâncias fenólicas não extraíveis por soluções aquosas orgânicas (Pérez-Jiménes & Saura-Calixto, 2015). A presença destes compostos relaciona-se aos principais benefícios do tremçoço para a saúde humana, que incluem diminuição da pressão arterial, melhora da função intestinal e da saúde cardiovascular estimulação do crescimento da microbiota, menor risco de câncer de cólon, controle dos níveis de glicose sanguínea (Thambiraj et al., 2015).

O emprego de tremçoço na alimentação humana pode ser limitado devido à presença de fatores antinutricionais como os alcaloides

quinolizidínicos. Dentre estes, cita-se a lupanina, que apesar de estar presente em quantidade reduzida no tremçoço branco, o consumo em excesso pode causar intoxicações provocando distúrbios neurológicos, intestinais e cardiovasculares (Pothier et al., 1998); (Resta et al., 2008); (Magalhães et al., 2016). A fim de se evitar este inconveniente, as sementes de tremçoço devem ser embebidas em água durante várias horas, ou então, submetidas à cocção por 45 a 60 minutos. O processamento térmico é essencial para destruir a capacidade germinativa da semente, inibir a decomposição enzimática e bacteriana, reduzir a perda de proteínas, eliminar fatores antinutricionais e facilitar a lavagem física dos alcaloides, promovendo a manutenção do valor nutricional do alimento (Jiménez-Martínez et al., 2001); (Gross; Galindo & Schoeneberger 1983).

Considerando que o tremçoço é uma fonte alimentar importante devido à presença de nutrientes e também dos compostos fenólicos e sua capacidade antioxidante (Ranilla; Genovese & Lajolo, 2009), o objetivo deste trabalho foi avaliar o teor de polifenóis totais (extraíveis e macromoleculares) e determinar a atividade antioxidante associada à estes compostos, além de identificar a presença do fator antinutricional lupanina, nas amostras de grãos de tremçoço, submetidas ou não ao tratamento térmico.

Métodos

O experimento foi conduzido nos laboratórios de Química de Alimentos, Nutrição Experimental e Laboratório Multiusuário de Análises Cromatográficas, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais. Para a realização de todas as análises foi utilizado um lote de 1 quilograma de grãos de tremçoço branco (*Lupinus albus*), variedade Floresta, fornecido pelo Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR. A amostragem do tremçoço foi realizada por quarteamento manual (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

Foram utilizados os padrões analíticos Lupanina, ácido gálico, DPPH e ABTS da Sigma Chemicals Co. (St. Louis, EUA), além de água ultrapura, reagentes e solventes de grau analítico para HPLC.

O preparo das amostras foi realizado de acordo com estudos anteriores, como descrito por Monteiro et al. (2010), com pequenas modificações. Resumidamente, os grãos de tremçoço foram divididos em dois grupos, sendo um submetido ao tratamento térmico (100 °C/60 minutos) e o outro na ausência de tratamento térmico (grupo controle). Após esta etapa, os grãos foram resfriados e moídos em moinho de facas (Tecnal TE020), peneirados em tamis (Bertel Mesh 42). As farinhas de tremçoço assim produzidas foram armazenadas em frascos âmbar hermeticamente fechados em dessecador sob temperatura ambiente até o momento das análises.

A quantificação de polifenóis foi realizada segundo metodologia descrita por (Arranz et al., 2009) com adaptações. Para tal, colocou-se 5 gramas de cada farinha, em triplicata, em tubos de falcon de 50 mL; adicionou-se 20 mL de solução de metanol/água (50:50, v / v) acidificado com HCl concentrado, até pH 2 e deixou-se em repouso por 1 hora em banho ultrassônico (Sanders medical) . Os tubos foram centrifugados à 2205 x g durante 10 minutos e o sobrenadante recuperado. 20 mL de solução acetona/água (70:30, v/v) foram adicionados ao precipitado, repetindo-se a etapa de centrifugação. Os extratos de metanol e acetona foram combinados e utilizados para quantificar compostos fenólicos extraíveis, fixando-se a concentração final em mg/L.

Os resíduos obtidos após a etapa de extração orgânica foram divididos em duas partes para obtenção de duas frações distintas ricas em polifenóis que não são acessíveis pela ação dos solventes utilizados. Os polifenóis hidrolisados ou taninos hidrolisados foram obtidos por hidrólise da metade desse resíduo com 40 mL de metanol acidificado com ácido sulfúrico (Met-OH/H₂SO₄; 90:10 v/v) a 85 ° C por 20 horas. Os tubos foram centrifugados a 2.205 x g por 10 minutos e o sobrenadante recolhido, completando-se o volume para 50 mL com a mesma solução extratora.

Para a obtenção dos polifenóis condensados ou taninos condensados empregou-se a outra parte do resíduo obtido na extração orgânica, tratando-a com 10 mL de butanol acidificado com ácido clorídrico (But-OH/HCl; 97,5: 2,5 v/v) acrescidos de 0,7g/L de FeCl₃, a 100 °C por 60 minutos. Os tubos foram centrifugados a 2,205 x g durante 10 minutos, o sobrenadante recolhido, completando-se o volume para 50 mL com a mesma solução extratora nessa etapa.

Os teores de polifenóis nas três frações obtidas foram quantificados pelo método de Folin-Ciocalteu como descrito por Waterhouse (2001). O teor foi calculado com padrão de ácido gálico, construindo-se uma curva de calibração com solução em concentrações entre 0,02 mg/mL a 0,08 mg/mL e os resultados foram expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico por 100 gramas de amostra (mg EAG/100 g).

Foram realizados dois ensaios distintos para determinar a capacidade antioxidante *in vitro* de cada uma das frações anteriormente descritas segundo método descrito por Rufino et al. (2010), com modificações.

Assim, para a determinação da capacidade antioxidante pelo método de DPPH, foram preparadas três diluições distintas das três frações obtidas (fenólicos extraíveis, hidrolisados e condensados). Alíquotas de 0,1 mL foram adicionadas a 3,9 mL da solução radicalar de DPPH (0,06 mM) em ambiente escuro. Ao final de 30 minutos, a absorbância foi medida a 515 nm, e a capacidade de sequestrar o radical foi expressa em EC₅₀ (g amostra/g DPPH). Para o ensaio TEAC, o radical

ABTS^{•+} foi produzido a partir da reação de 5 mL de solução estoque de ABTS (7mM) com 88 µL de solução de persulfato de potássio (140 mM), incubado à temperatura ambiente e na ausência de luz por 16 horas. Essa solução foi diluída em etanol até obter-se absorbância de 0,70 (± 0,01) em 734 nm. Alíquotas de 30 µL de cada diluição dessas frações foram adicionadas à 30 mL da solução radicalar de ABTS^{•+}, agitados e após 6 minutos, prosseguiu-se a leitura em espectrofotômetro (Micronal AJX 1900) a 734 nm. Os resultados obtidos foram expressos em µM trolox/grama.

Para identificação da lupanina, foram pesados 1 grama das amostras que foram extraídas, sob refluxo, com 20 mL de solução de HCl/água (10: 90 v/v) por 30 minutos. Em seguida, cada amostra foi filtrada em papel de filtro e alcalinizada com solução de NH₄OH / água (10:90 v/v) até pH 9. A solução foi transferida para um funil de separação adicionando-se éter etílico e agitando-se com o objetivo de extrair os alcaloides. Após a extração, a fase orgânica foi reunida e concentrada até secagem em capela de fluxo de ar e posteriormente armazenada (Sharapin, 2000). O extrato obtido a partir destas duas extrações, foi diluído em 10 mL de metanol em banho ultrassônico por 10 minutos e adicionado em balões de 10 mL para análise.

O método de identificação de lupanina foi adaptado de Zamora-Natera et al. (2015), Erdemoglu, Ozkan & Tosun (2007) e Resta et al. (2008). As adaptações do método foram em relação à adequação do gradiente de temperatura e ao emprego do detector de massas. O ensaio foi realizado em cromatógrafo a gás (Agilent 7890B) equipado com sistema de detecção por espectrometria de massas (Agilent 5977A – MSD), com analisador de massas do tipo quadrupolo. A coluna utilizada foi do tipo capilar CP – WAX 52 CB (polietilenoglicol, 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm de diâmetro interno). Como gás de arraste foi utilizado gás hélio a um fluxo constante de 1 mL por minuto. O modo de injeção utilizado foi com divisão de fluxo (*split*) na razão de 1:10 e volume de injeção de 1 µL.

A aquisição dos dados ocorreu no modo SCAM, utilizando razão massa carga (m/z) de 14 a 500. A interface do cromatógrafo com o detector foi mantida a 240 °C e foi utilizado a ionização por impacto de elétrons operada a 230 °C. O analisador de massa foi do tipo quadrupolo simples operado a 150 °C.

A lupanina foi identificada por comparação do perfil de fragmentação dos espectros de massas com a biblioteca *National Institute of Standards and Technology* (NIST).

Todas as análises foram conduzidas em triplicata, calculando-se média e desvio padrão para cada resultado obtido. Foi feita a análise de variância (ANOVA) e o Teste de Tukey para comparar diferenças entre as médias. As diferenças entre essas médias no nível de 5% (P < 0,05) foram consideradas significativas.

Resultados e discussão

O total de polifenóis presentes nas amostras analisadas estão apresentados na Tabela 1. O conteúdo de polifenóis extraíveis encontrado na amostra controle foi 484,8 mg EAG/100g e na submetida ao tratamento térmico foi 580,6 mg EAG/100g, não tendo sido apresentada diferença significativa entre estes teores. Este resultado indica que o tratamento térmico não afetou o teor de compostos polifenóis na amostra. Os dados do presente trabalho encontram-se dentro do intervalo apresentado por Wang & Clements (2008), que analisaram compostos fenólicos extraíveis presentes em sementes de tremoço e os resultados variaram de 444,4 a 1661,2 mg EAG/ 100 g de amostra, enquanto que em tremoço de folhas amarelas e estreitas foi encontrado em intervalos de 369,2 a 374,4 e de 535,1 a 578,4 mg / 100 g de

sementes. Siger et al. (2012), analisaram polifenóis extraíveis presentes em tremoço e obtiveram resultados de 212,12 mg EAG/100 g de amostra.

Os teores de polifenóis extraíveis encontrados neste trabalho, foram mais altos do que os valores encontrados por Pérez-Jiménez & Saura-Calixto (2015), em vegetais e frutas comumente consumidos por brasileiros como beterraba, cenoura, pepino, abobrinha, repolho, acelga, tomate, banana, pera, melancia e melão e mais altos até mesmo do que os teores presentes em leguminosas como o feijão verde.

O conteúdo de polifenóis não extraíveis encontrado na amostra controle foi 5657,68 mg EAG/100g e submetida a tratamento térmico foi 5837,87 mg EAG/100g, sendo a maior parte proveniente dos taninos hidrolisados, como mostra a Tabela 1. Nesse caso, também não houve diferença significativa entre os resultados.

Tabela 1. Teor de polifenóis extraíveis e não extraíveis em grãos de tremoço cru e tratados termicamente.

	Tremoço Cru		Tremoço Tratado	
	EAG (mg GAE/100g)	EAG (%)	EAG (mg GAE/100g)	EAG (%)
Polifenóis Extraíveis (PE)	484,83	7,89	580,57	9,05
Polifenóis Não Extraíveis (PNE)	5657,68	92,11	5837,87	90,95
Taninos Condensados (TC)	899,62	14,65	944,13	14,71
Taninos Hidrolisados (TH)	4758,06	77,46	4893,74	76,24
Total	6142,5	100	6418,44	100

Valores médios \pm desvio padrão (n = 3). Médias seguidas de mesma letra a,b,c,d na mesma linha ou coluna, não diferem entre si, pelo Teste de Tukey, com 95% de confiança.

EAG, equivalentes de ácido gálico; GAE: ácido gálico, PE, polifenóis extraíveis; PNE, polifenóis não extraíveis; TC, taninos condensados; TH, taninos hidrolisados.

O conteúdo total de polifenóis não extraíveis representou mais de 90% do total de compostos fenólicos, o que vem a confirmar o apresentando nos estudos de Saura-Calixto (2012) e Pérez-Jiménez & Saura-Calixto (2015). Tais autores relatam que os chamados polifenóis não extraíveis ou antioxidantes macromoleculares representam a maior parte dos fenólicos totais.

Apesar dos polifenóis não extraíveis terem sido comumente ignorados em análises químicas, quando os vegetais são consumidos tanto os polifenóis extraíveis quanto os não extraíveis são ingeridos. Isto implica que os efeitos sobre a saúde reportados aos polifenóis alimentares podem ser devidos, pelo menos em parte, também aos polifenóis não extraíveis. Na verdade, eles atingem o cólon intacto onde produzem metabólitos biodisponíveis através da ação da microbiota. Embora estudos sobre os efeitos dos polifenóis não extraíveis sobre a saúde sejam escassos, os resultados têm se mostrado promissores em relação à saúde gastrointestinal (incluindo o câncer colorretal) e doenças cardiovasculares (Pérez-Jiménez & Saura-Calixto, 2015).

Os valores encontrados nos ensaios de determinação de capacidade antioxidante TEAC e DPPH estão expostos na Tabela 2. Os resultados obtidos no ensaio TEAC total (polifenóis extraíveis e não extraíveis) foram em média de 250,14 μ M trolox /g na amostra controle e 270,39 μ M trolox/g na amostra com tratamento térmico. As atividades correspondentes ao conteúdo de polifenóis não extraíveis na amostra controle e submetida a tratamento térmico, foram respectivamente 167,33 μ M trolox/g (66,9%) e 168,19 μ M trolox/g (62,2%). As frações que representam os teores de polifenóis extraíveis contribuíram em média com 35% da capacidade antioxidante total (82,81 μ M trolox/g na amostra controle e 102,20 μ M trolox/g na amostra tratada). Esses resultados demonstram que a capacidade antioxidante total é superior aos resultados obtidos nas avaliações em que somente o conteúdo de fenólicos extraíveis é analisado (71,4 a 104,2 μ M trolox/g) Frias et al. (2005) e que as frações obtidas por metanólise (taninos condensados) e butanolise (taninos hidrolisados), geralmente negligenciadas nos estudos científicos, são as que abrigam os maiores teores de compostos com atividade antioxidante.

Tabela 2. Atividade antioxidante de polifenóis extraíveis e não extraíveis em grãos de tremçoço cru e tratados termicamente.

	Tremçoço Cru		Tremçoço Tratado	
	TEAC (μM trolox/ g amostra)	DPPH (g amostra/ g DPPH)	TEAC (μM trolox/ g amostra)	DPPH (g amostra/ g DPPH)
Polifenóis Extraíveis (PE)	82,81 ^b \pm 5,37	2738,94 ^x \pm 200,71	102,20 ^b \pm 7,17	2488,26 ^y \pm 173,41
Polifenóis Não Extraíveis (PNE):	167,33 \pm 8,95	1093,71 \pm 35,16	168,19 \pm 1,20	985,23 \pm 28,57
Taninos Condensados (TC)	90,98 ^b \pm 2,29b	355,00 ^w \pm 25,18	102,20 ^a \pm 0,22	326,78 ^w \pm 16,75
Taninos Hidrolizados (TH)	76,35 ^b \pm 6,66b	738,71 ^z \pm 9,98	65,99 ^c \pm 0,98 ^c	658,44 ^z \pm 11,82
Total	250,14 \pm 14,32	3832,65 \pm 235,87	270,39 \pm 8,37	3473,49 \pm 201,98

Valores médios \pm desvio padrão (n = 3). Médias seguidas de mesma letra (TEAC: a,b,c,d; DPPH: x,y,z,w) na mesma coluna, não diferem entre si, pelo Teste de Tukey, com 95% de confiança.

PE, polifenóis não extraíveis; PNE, polifenóis não extraíveis; TC, taninos condensados; TH, taninos hidrolizados.

Os resultados do ensaio DPPH, expressos em EC₅₀, nas amostras controle e tratada foram respectivamente 3832,65 e 3473,49 g amostra/g DPPH, como mostra a Tabela 2. Nesse estudo, observou-se que em média 28,5% da capacidade redutora nos polifenóis não extraíveis das amostras apresentaram a mesma atividade que os 71,5% na fração de polifenóis extraíveis, ou em melhores números, os polifenóis não extraíveis na sua totalidade são em média 2,5 vezes mais potentes.

Estima-se que os polifenóis não extraíveis representam mais de 50% do conteúdo total de polifenóis e da capacidade antioxidante total em vegetais (Pérez-Jiménez & Saura-Calixto, 2015), mostrando a importância da abordagem destes polifenóis em pesquisas analíticas. Os polifenóis não extraíveis são capazes de atingir o cólon intactos e estudos sugerem que os efeitos sobre a saúde humana associados a eles podem não vir diretamente dos polifenóis não extraíveis intactos mas de seus metabólitos que são produzidos pela ação da microbiota. As propriedades promissoras dos polifenóis não extraíveis relacionadas à saúde são inúmeras e incluem redução do estresse oxidativo e aumento da atividade antioxidante intestinal (Saura-Calixto, 2012); (Pérez-Jiménez; Díaz-Rubio & Saura-Calixto, 2013).

Pelo método de cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas identificou-se a presença do principal alcaloide, a lupanina em ambas as amostras, controle e submetidas a tratamento térmico (100 °C/60 minutos). Segundo Frick et al. (2017), a lupanina é o alcaloide quinolizidínico presente em maior quantidade no tremçoço branco, correspondendo a 70% do conteúdo total de alcaloide quinolizidínico. Estes são metabólitos produzidos por plantas e oferecem proteção contra pragas e insetos, porém, em humanos, se consumidos em altas concentrações podem causar toxicidade.

Entretanto, tal fato não representa preocupação considerando-se que o tremçoço branco é uma variedade com conteúdo reduzido de

alcaloides. Esta redução pode ser realizada através de processos industriais ou pelo desenvolvimento de variedades com baixo teor de alcaloides, sendo possível cultivar variedades genéticas doces com baixo teor, variando de 0,008% a 0,012% (Schindler et al., 2011), (Carmali, 2010) que podem ser removidos em até 85% por processo de desamargamento (Stobiecki et al., 1993). O tremçoço doce, devido ao baixo teor de alcaloides, apresenta toxicidade reduzida, de fácil manejo e possibilita o consumo humano e animal. Esta variedade de tremçoço foi criada justamente para possuir um baixo conteúdo de alcaloides (0,01- 0,05%), facilitando seu uso na alimentação (Putnam et al., 1989). Embora esses alcaloides possam ser tóxicos quando ingeridos em concentrações elevadas, várias propriedades biológicas já foram detectadas em extratos de alcaloides presentes em tremçoço, como antimutagênico, antibacteriano, antifúngico e anticancerígeno (Magalhães et al., 2016).

Na Figura 1, pode-se identificar a lupanina na amostra crua e na Figura 2 na amostra tratada, encontrada em 18,2 minutos. Tanto na amostra crua como tratada não houve redução na altura do pico, demonstrando assim que o tratamento térmico não foi capaz de diminuir a quantidade de lupanina.

A lupanina foi confirmada pela comparação do espectro de massas da amostra com a biblioteca Nist (Figura 3) possuindo um os principais fragmentos (m/z) 112,123,134 e 231.

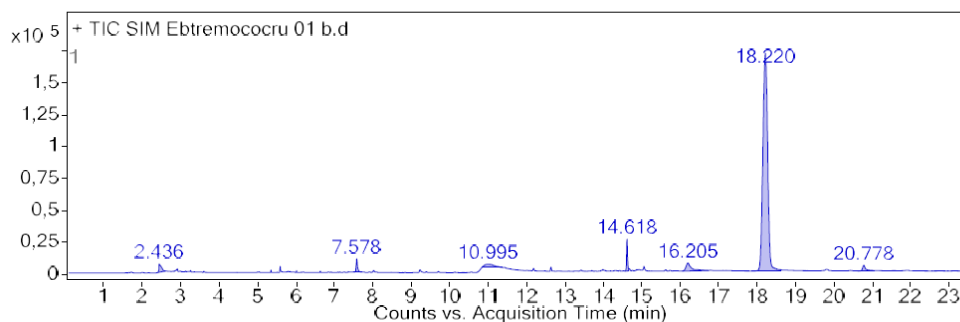


Figura 1: Perfil cromatográfico do extrato de tremoço cru.

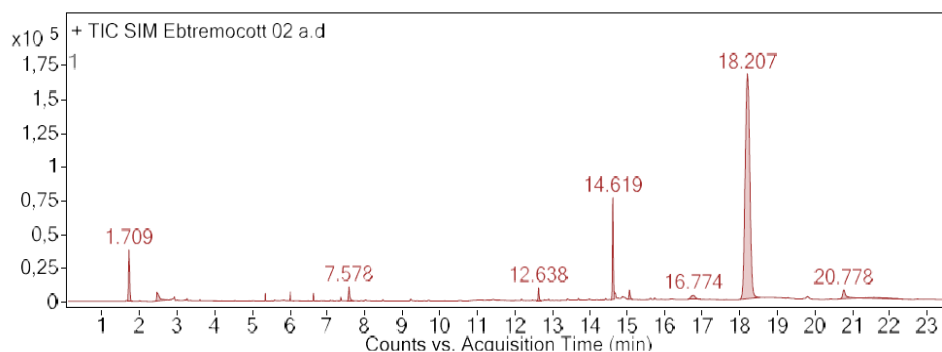


Figura 2: Perfil cromatográfico do extrato de tremoço com tratamento térmico.

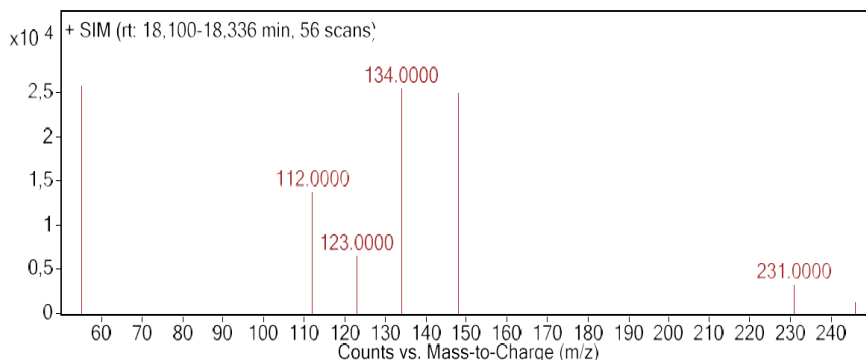


Figura 3: Perfil de fragmentação do pico de lupanina encontrado em 18,2 minutos em extrato de farinha de tremoço.

Conclusão

O tremoço branco, apesar de ser uma espécie com baixo teor de alcaloides é uma fonte de compostos fenólicos com atividade antioxidante. A lupanina foi encontrada em todas as amostras analisadas. O conteúdo de polifenóis não extraíveis ou macromoleculares no tremoço foi maior que o conteúdo de polifenóis extraíveis. Estes compostos bioativos aumentam ainda mais o valor nutricional do tremoço que pode ser difundido na alimentação dos brasileiros e uma matéria prima de alto valor nutricional a ser utilizada na indústria de alimentos.

Agradecimentos

À PRPq/UFMG, CAPES e FAPEMIG, pelo apoio financeiro institucional.

Referências

- ARRANZ, S. et al. High Contents of Nonextractable Polyphenols in Fruits Suggest That Polyphenol Contents of Plant Foods Have Been Underestimated. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (16):7298-303, 2009.
- CARMALI, S. et al. Recovery of lupanine from *Lupinus albus* L. leaching Waters. *Separation and Purification Technology*, 74 (1) 38–43, 2010.

- ERBAS, M.; CERTEL, M.; USLU, M. K. Some chemical properties of White lupin seeds (*Lupinus albus* L.). *Food Chemistry*, 89 (3) 341–345, 2005.
- ERDEMOGLU, N.; OZKAN, S.; TOSUN, F. Alkaloid profile and antimicrobial activity of *Lupinus angustifolius* L. alkaloid extract. *Phytochemistry Reviews*, 6 (1):197–201, 2007.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS: STATISTICS DIVISION. Available in: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>> Access in: May, 20, 2017.
- FRIAS, J. et al. Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa. *Food Chemistry*, 92, 211–220, 2005.
- FRICK, K.M. et al. Quinolizidine Alkaloid Biosynthesis in Lupins and Prospects for Grain Quality Improvement. *Frontiers in Plant Science*, 8 (87) 2017.
- INSTITUTO ADOLFO LUTZ. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. São Paulo 2008. 1020p. Available in: <http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf>. Access in: May, 20, 2017.
- JIMÉNEZ- MARTÍNEZ, C. et al. Effect of aqueous and alkaline thermal treatments on chemical composition and oligosaccharide, alkaloid and tannin contents of *Lupinus campestris* seeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(4): 421- 428, 2001.
- KALOGEROPOULOS, N. et al. Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries. *Food Chemistry*, 121(3): 682–690 2010.
- LUCAS. M. M. et al. The future of lupin as a protein crop in Europe. *Frontiers in Plant Science*, 6 (8): 705, 2015.
- MAGALHÃES, S.C.Q. et al. Alkaloids in the valorization of European *Lupinus* spp. seeds crop. *Industrial Crops and Products*, 95: 286–295, 2017.
- MONTEIRO, M. R. P. et al. Efeito do tratamento térmico na digestibilidade, solubilidade e índice de atividade de urease em tremço (*Lupinus albus* e *Lupinus angustifolius*). *Alimentação e Nutrição*, 21(3): 487-493, 2010.
- PAJAK, P. et al. Phenolic profile and antioxidant activity in selected seeds and sprouts. *Food Chemistry*, 143: 300–306, 2014.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; DÍAZ-RUBIO. M. E.; SAURA-CALIXTO. F. Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: occurrence, metabolic fate and health effects. *Nutrition Research Reviews*, 26(2): 118–129, 2013.
- PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. Macromolecular antioxidants or non-extractable polyphenols in fruit and vegetables: Intake in four European countries. *Food Research International*, 74 (2): 315–323, 2015.
- POTHIER, J. et al. A Comparative Study of the Effects of Sparteine, Lupanine and Lupin Extract on the Central Nervous System of the Mouse. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 50(8): 949-954, 1998.
- PUTNAM, D.H. et al. Lupine. *Alternative Field Crops Manual*, Minnestosa, 1989. Available in: <http://www.hort.purdue.edu/NEWCROP/AFCM/lupin_e.html>. Access: May 22, 2017.
- RANILLA, L. G.; GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F. M. Isoflavones and antioxidant capacity of Peruvian and Brazilian lupin cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22 (5) 397–404, 2009.
- RESTA, D. et al. Evaluation of total quinolizidine alkaloids content in lupin flours, lupin-based ingredients, and foods. *Molecular Nutrition & Food Research*, 52 (4): 490 – 495, 2008.
- RUFINO, M. S. et al. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121(4): 996-1002, 2010.
- SAURA-CALIXTO, F. Concept and Health-Related Properties of Nonextractable Polyphenols: The Missing Dietary Polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60 (45): 11195–11200, 2012.
- SCHINDLER, S. et al. Lactic fermentation to improve the aroma of protein extracts of sweet lupin (*Lupinus angustifolius*). *Food Chemistry*, 128 (2): 330–337 2010.
- SHARAPIN, N. Fundamentos de tecnologia de produtos fitoterápicos. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello (CAB) Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), 2000. 246p.
- SIGER. A. et al. Antioxidant activity and phenolic content in three lupin species. *Journal of Food Composition and Analysis*, 25 (2): 190–197 2012.

- SIBUL, F. et al. Phenolic profile, antioxidant and anti-inflammatory potential of herband root extracts of seven selected legumes. *Industrial Crops and Products*, 8:641–653 2016.
- SOUZA, L.C.de; ARAÚJO, S. M.de; OLIVEIRA, I.D.de. Determination of the free radical scavenging activity of dihydropyran-2,4-diones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 14 (23): 5859–5861, 2004.
- STOBIECKI, M. et al. The toxicity of extracts and its fractions from seeds of *Lupinus albus* L. *Journal of Applied Toxicology*. 13(5): 347-352, 1993.
- THAMBIRAJ, M.P. et al. Antioxidant activities and characterisation of polysaccharides isolated from the seeds of *Lupinus angustifolius*. *Industrial Crops and Products*, 74, 950 956, 2015.
- UNITED NATIONS ORGANIZATION. General meeting. Resolution n° 68/231 of december 20, 2013. Declares 2016 international year of legumes. Feb, 2014. Available in: [file:///C:/Users/user/Downloads/fpls-0800087%20\(1\).Pdf](file:///C:/Users/user/Downloads/fpls-0800087%20(1).Pdf)<http://www.peaunesco.com.br/Ano2016/Ano%20Internacional%20das%20Leguminosas%20%202016/2.%20Resolu%C3%A7%C3%A3o%20-%20Ano%20Internacional%20das%20Leguminosas%20%202016.docx>.>. Access in June, 05, 2017.
- ZAMORA-NATERA, F. et al. Composición de alcaloides en semillas de *lupinus mexicanus* (fabaceae) y evaluación antifúngica y alelopática del extracto alcaloideo. *Agrociencia*, 42(2): 185-192, 2008.
- WANG, S.; CLEMENTES, J. Antioxidant Activities of Lupin Seeds. *International Lupin Association*, 1: 546-551, 2008.
- WATERHOUSE, A. L. Determination of Total Phenolics. In: *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, New York: Copyright, 2003.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases. Report of a WHO Study Group. Geneva, World Health Organization, 2003.