

## Perfil de Aminoácidos de Farinha de Semente de Abóbora

### Amino Acid Profile of Pumpkin Seed Flour

Layla Pereira do Nascimento Tinoco<sup>a</sup>; Alexandre Porte<sup>b\*</sup>; Luciana Helena Maia Porte<sup>c</sup>;  
Ronoel Luiz de Oliveira Godoy<sup>d</sup>; Sidney Pacheco<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Centro Universitário Augusto Motta, RJ, Brasil

<sup>b</sup>Escola de Nutrição, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>c</sup>Instituto Multidisciplinar, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>d</sup>Embrapa Agroindústria de Alimentos, RJ, Brasil

\*E-mail: alexandre\_porte@yahoo.com.br.

Recebido: 13 de outubro de 2011; Aceito: 27 de abril de 2012.

#### Resumo

Embora a composição centesimal e o teor de proteínas de abóbora (*Cucurbita maxima* L.) sejam bem conhecidos, a composição de aminoácidos destas proteínas são pouco estudadas. Novos alimentos contendo farinha de semente de abóbora estão sendo propostos, portanto conhecer a composição de aminoácidos é fundamental para procurar combinações com outras fontes proteicas, com a finalidade de obter alimentos proteicos de alto valor biológico. O presente trabalho teve por objetivo determinar o teor de aminoácidos da farinha de semente de abóbora (*Cucurbita maxima* L.) através da cromatografia líquida de alta eficiência. As concentrações dos aminoácidos essenciais e tirosina foram duas vezes maiores que os requerimentos estabelecidos pela FAO/WHO. A farinha de semente de abóbora apresentou as seguintes concentrações de aminoácidos em g por 100g de proteína: 4,38; 3,72 e 1,45g de fenilalanina, tirosina e triptofano, respectivamente. A farinha de semente de abóbora é deficiente em lisina e em aminoácidos sulfurados metionina e cisteína, apresentando cerca de metade dos requerimentos estabelecidos pela FAO/WHO. Os aminoácidos não essenciais majoritários detectados em g por 100g de proteína foram o ácido glutâmico com 15,23g, arginina com 13,27g e ácido aspártico com 7,96g. Devido ao elevado teor de triptofano, normalmente presente em pequenas concentrações em outros alimentos, a farinha de semente de abóbora apresenta grande potencial para ser utilizada na mistura com outros alimentos carentes deste aminoácido.

**Palavras-chave:** Alimentos Naturais. Cucurbita. Cromatografia.

#### Abstract

*Although the chemical composition and protein content of pumpkin (*Cucurbita maxima* L.) are well known, the amino acid profile remains understudied. New products with pumpkin seed flour are being proposed, and this information is necessary to make better combinations with other protein sources in order to obtain high quality protein feeds. The aim of the present research was to evaluate amino acid composition of pumpkin seed flour (*Cucurbita maxima* L.) by high performance liquid chromatography. Concentrations of essential amino acids and tyrosine were twice higher than FAO/WHO requirements. Pumpkin seed flour shown 4.38, 3.72 and 1.45 of phenylalanine, tyrosine and tryptophan, respectively. Pumpkin seed flour presented low levels of lysine and sulfur amino acids (methionine and cysteine), with about half of the FAO/WHO requirements for adults: 2.44, 0.51 and 0.58, respectively. The major nonessential amino acids were (in g per 100g of protein): glutamic acid 15.23, arginine 13.27 and aspartic acid 7.96. Due to the high content of tryptophan usually present in low levels in other foods, the pumpkin seed flour has a great potential for addition to food systems.*

**Keywords:** Health Food. Cucurbita. Chromatography.

#### 1 Introdução

Atualmente existe grande preocupação por parte da sociedade em consumir alimentos naturais como fonte de nutrientes e de prevenção de doenças, aliada as questões ambientais e de segurança alimentar. Por isso, a elaboração de produtos a partir de resíduos agroindustriais sem valor comercial, mas que apresentam propriedades nutricionais e funcionais de alto valor biológico e medicinal podem representar potencial fonte de desenvolvimento econômico e social para comunidades carentes, uma vez que as matérias-primas em questão são rejeitos agroindustriais.

Sendo assim, têm-se observado o desenvolvimento de novos produtos alimentícios, como bolos, panetones e

biscoitos contendo farinha de semente de abóboras<sup>1-3</sup>. Em outras partes do mundo, o consumo de sementes de abóbora e de seu óleo é comum. Na Grécia e países árabes, por exemplo, após tostadas e salgadas, as sementes são consumidas como aperitivo<sup>3-5</sup>. Na Áustria, Hungria e Eslovênia, devido ao aroma e sabor característicos, o óleo é utilizado em saladas<sup>4-9</sup>.

Na medicina popular as sementes são utilizadas como vermífugo<sup>5</sup>. Efeito hipoglicemiante, hipocolesterolemiante, hipotrigliceridemiante e laxativo já foram demonstrados<sup>3,10,11</sup>. Ao óleo é atribuído efeito benéfico na cura de doenças da próstata como a hiperplasia prostática benigna e na redução de cristais de oxalato de cálcio<sup>4,5,7-9</sup>.

Embora bastante variada, a composição centesimal das

sementes de abóbora (*Cucurbita maxima* L.) é bem relatada na literatura. O teor de umidade médio pode variar de 7,80 a 9,68% e o de carboidratos entre 1,72 a 11,48%. As sementes de abóbora apresentam alto valor nutricional contendo, 26,77 a 44,4% de proteína; 16,84 a 47,52% de fibra dietética; 20,35 a 54,9% de lipídeos, sendo que 78% desses lipídeos são insaturados, principalmente os ácido linoléico e oléico, com teores variando entre 35,6 a 60,8% e 29%, respectivamente. Os teores de cinzas presentes na semente situam-se entre, 3,48 a 4,59 %, o de cálcio em torno de 0,5 a 2,7 mg/g e o teor de  $\gamma$ -tocoferol (“vitamina E”) é de 0,62 mg/g. As sementes também apresentam bom valor calórico, já que fornecem de 290,23 a 417,00 Kcal, chegando a 1213,16 a 1743,06 KJ segundo varios autores<sup>4,5,7,8,10-12</sup>.

Outra característica positiva das sementes de abóbora é o reduzido teor de fatores antinutricionais e substâncias tóxicas das sementes termicamente tratadas, como inibidores de tripsina, hemaglutininas, saponinas, polifenóis e cianetos<sup>3,13</sup>.

Entretanto, a composição aminoácídica das proteínas desta espécie foi pouco estudada e o teor de triptofano, determinado por método colorimétrico antigo (1967)<sup>4,14,15</sup>. Assim, o presente trabalho objetivou determinar e quantificar o teor dos aminoácidos das proteínas da farinha de semente de abóbora (*Cucurbita maxima*) através de cromatografia líquida de alta eficiência, método de quantificação mais fácil e mais rápido se comparado com o método colorimétrico original de Spies<sup>14,15</sup>.

## 2 Material e Métodos

Sementes de abóbora foram coletadas de um restaurante situado no bairro de Bonsucesso, Rio de Janeiro, onde seriam descartadas como resíduos orgânicos. Em seguida, foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas a temperatura de -18 °C até o início das análises.

Para a elaboração da farinha, as sementes foram secas a 105 °C até peso constante por 20 horas, trituradas em liquidificador e peneiradas em peneira doméstica.

A análise de umidade foi realizada de acordo com o método do Instituto Adolfo Lutz<sup>16</sup> e a análise de proteínas, segundo o método de Kjeldahl clássico, recolhendo a amônia em HCl 0,1M ao invés de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,05M. O fator de multiplicação para o nitrogênio titulado foi 6,25<sup>16</sup>.

Para a análise de aminoácidos, as amostras foram desengorduradas com hexano e hidrolisadas em ampolas de vidro com 1mg de proteína/mL de HCl 6N, seladas sob N<sub>2</sub> e vácuo e deixadas em estufa de secagem (Fanem, Brasil) por 22 horas a 105 °C. Aliquotas do hidrolisado foram tomadas e levadas para a evaporação do ácido, em dessecador sob vácuo constante por 12 horas, em sílica recém ativada. As amostras foram ressuspensas em HCl 20 mM, tampão borato a pH 8,8 e logo depois foi adicionada uma solução de AMQ (carbamato de 6-aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidila), sendo que a reação foi completada com aquecimento a 55 °C por 10 minutos. As amostras já derivatizadas foram, então, transferidas para

frascos de injetor automático e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência. O cromatógrafo utilizado foi Waters Alliance 2695, com detectores de fluorescência 2475 e de arranjo de fotodiodos 2996 (PDA) em linha. Utilizou-se uma coluna Nova-Pak<sup>®</sup> C18, a 37 °C. Foi preparado um gradiente ternário, composto por tampão acetato pH 5,05, acetonitrila e água. Os cromatogramas foram extraídos no PDA a 254 nm, enquanto o detector de fluorescência foi ajustado em 250 nm e 395 nm como comprimento de excitação e emissão, respectivamente, sendo 40 minutos o tempo de corrida.

Para a análise de aminoácidos sulfurados e triptofano, sensíveis a hidrólise ácida, foram necessários tratamentos prévios à injeção das amostras no cromatógrafo.

Através de ácido per fórmico, a cisteína foi oxidada a ácido cistéico e a metionina oxidada a metionina sulfona, a 0 °C por 16 horas, antes da hidrólise ácida por HCl 6M em tubo selado. Para a análise de triptofano, a hidrólise foi alcalina. Foram adicionados 5 mL de solução de NaOH 4,2M recém preparada e 0,04 mL de 1-octanol a 100 mg de farinha de semente de abóbora já misturadas a 25 mg de amido. A mistura foi agitada por 2 minutos sob vácuo. O tubo foi selado sob vácuo e hidrolisado a 110 °C por 22 horas, resfriado e neutralizado com HCl 6M. Como o triptofano é naturalmente fluorescente na análise em coluna de fase reversa com detecção fluorimétrica, foi dispensada a derivatização com carbamato de 6-aminoquinolil-N-hidroxisuccinimidila. As análises foram realizadas em triplicata e os dados foram apresentados como valores médios e desvio padrão. Para a comparação dos resultados dos aminoácidos essenciais com o padrão FAO/WHO<sup>17</sup> foi utilizado o teste t de Student, ao nível de 5% de probabilidade.

## 3 Resultados e Discussão

A farinha de semente de abóbora apresentou 8,55% de umidade e 36,97% de proteína, em conformidade com os dados já apresentados pela literatura<sup>4,5,7,8,10-12</sup>.

A metodologia empregada neste estudo não permitiu a dosagem de asparagina e glutamina.

As Tabelas 1 e 2 apresentam os teores de aminoácidos encontrados na farinha de semente de abóbora em base seca.

**Tabela 1:** Valores médios de aminoácidos não essenciais presentes em g por 100g de proteína na farinha de semente de abóbora em base seca

Aminoácido	FSA (g por 100g FSA)	FSA (g por 100g proteína)
Ácido aspártico	2,94±0,14	7,96±0,37
Ácido glutâmico	5,63±0,18	15,23±0,49
Alanina	1,35±0,05	3,66±0,13
Arginina	4,91±0,05	13,27±0,12
Glicina	2,22±0,09	6,01±0,23
Prolina	1,01±0,06	3,05±0,41
Serina	1,52±0,06	4,11±0,16

Valores médios com desvio padrão. FSA: farinha de semente de abóbora.

**Tabela 2:** Composição de aminoácidos essenciais de farinha de semente de abóbora em base seca

Aminoácido	FSA (g por 100g FSA)*	FSA (g por 100g proteína)	Padrão FAO/WHO Adulto (g por 100g proteína)
Histidina	0,76±0,06	2,06a	1,50b
Isoleucina	1,08±0,06	2,93a	3,00a
Leucina	2,25±0,10	6,09a	5,90b
Lisina	0,90±0,03	2,44a	4,5b
Fenilalanina	1,62±0,09	4,38	
Fenilalanina + Tirosina	3,00±0,09	8,11a	3,80b
Tirosina	1,38±0,09	3,72	
Metionina	0,19±0,03	0,51	
Metionina + Cisteína	0,40±0,03	1,10a	2,20b
Cisteína	0,21±0,01	0,58	
Treonina	0,85±0,05	2,30a	2,30a
Triptofano	0,54±0,01	1,45a	0,60b
Valina	1,36±0,07	3,69a	3,90a

\*Valores médios com desvio padrão. FSA: farinha de semente de abóbora. Letras diferentes na mesma linha diferem entre si significativamente pelo teste de t de Student a 5% de probabilidade. Cisteína e tirosina são os aminoácidos semi-essenciais.

Os principais aminoácidos não essenciais presentes na farinha de semente de abóbora foram o ácido glutâmico que apresentou 5,63 g, arginina com 4,91 g e o ácido aspártico com 2,94 g por 100g de farinha, conforme mostrou a Tabela 1.

O ácido glutâmico e o ácido aspártico são dois dos principais aminoácidos presentes em outros alimentos, como a lentilha<sup>18</sup>, o leite de búfala<sup>19</sup>, o feijão<sup>20</sup>, a soja<sup>21</sup>, a aveia<sup>22</sup> e o concentrado protéico de folha de mandioca<sup>23</sup>.

A glutamina e a asparagina, derivados do ácido glutâmico e do ácido aspártico, respectivamente, constituem importantes reservas de aminoácidos do organismo<sup>24</sup>.

Estes aminoácidos são classificados como não essenciais, portanto, servem como fonte de nitrogênio para o organismo humano, que pode convertê-los em outros aminoácidos não essenciais e também podem ser utilizados para a obtenção de energia.

Todavia, proteínas de alto valor biológico, ou seja, aquelas que fornecem boa digestibilidade e quantidades adequadas de aminoácidos essenciais são as mais desejadas do ponto de vista nutricional<sup>20,25</sup>, uma vez que os aminoácidos essenciais, por definição não podem ser sintetizados pelo organismo humano e, portanto, devem obrigatoriamente ser ingeridos através da dieta.

Normalmente, as proteínas de origem vegetal são classificadas como de baixo valor biológico por serem deficientes em um ou mais aminoácidos essenciais. Os cereais, por exemplo, são pobres em lisina, enquanto as leguminosas

são pobres em metionina<sup>20</sup>.

Felizmente, o consumo na mesma refeição de mistura de proteínas de alimentos diferentes, que sozinhas seriam consideradas proteínas de baixo valor biológico, podem se complementar e formar uma mistura protéica de qualidade, como ocorre no consumo de arroz com feijão<sup>20</sup>.

O perfil de aminoácidos essenciais da farinha de semente de abóbora revelou deficiência nos teores de lisina e de aminoácidos sulfurados metionina e cisteína, se comparado com o padrão de referência estabelecido pela FAO/WHO<sup>17</sup>, pois apresenta somente a metade dos valores recomendados. Entretanto, os teores de histidina, isoleucina, leucina, treonina e valina atendem a tais requerimentos e os valores dos aminoácidos aromáticos triptofano, fenilalanina e tirosina apresentam-se em concentrações duas vezes superiores àquelas determinadas pela FAO.

É sabido que a leucina, isoleucina e valina contribuem para a recuperação de traumas múltiplos e queimaduras, além de contribuir para o restabelecimento de processos metabólicos normais quando o fígado está debilitado<sup>20</sup>.

Em um estudo que avaliou o teor de aminoácidos em sementes de abóbora (*Cucurbita maxima*) desengorduradas, os aminoácidos não essenciais: ácido glutâmico, arginina e ácido aspártico também foram os aminoácidos quantitativamente predominantes e a metionina deficiente<sup>4</sup>. Infelizmente, cisteína não foi analisada e não permitiu comparação.

O autor apontou o triptofano como o aminoácido essencial presente em menor concentração. Entretanto, 1,10g por 100g de proteína está próximo ao encontrado neste estudo, 1,45 g por 100g de proteína e em ambos os casos, bem superior ao valor de referência da FAO/WHO, 0,60 g por 100g de proteína<sup>4,17</sup>.

Portanto, os teores dos aminoácidos majoritários, ácido glutâmico, ácido aspártico, arginina, triptofano e de metionina estão em concordância em ambos os trabalhos. Porém, o teor de lisina encontrado na farinha de abóbora do presente estudo foi inferior quando comparado com os resultados obtidos pelo mesmo autor<sup>4</sup>.

O elevado teor de triptofano merece destaque por se tratar de um dos aminoácidos essenciais encontrados em baixas concentrações nos alimentos. Na farinha de semente de abóbora foram detectados 0,54 g / 100g de amostra, valor superior ao encontrado em farinhas de feijão 0,32 g / 100g, ervilha 0,19 g / 100g, amendoim 0,287 g / 100g, tremoço 0,274 g / 100g, lentilha 0,213 g / 100g, fava 0,24 g / 100g, grão-de-bico 0,257 g / 100g e muito semelhante ao de soja 0,502 g / 100g<sup>26</sup>. Isto coloca a farinha de semente de abóbora como potencial fonte de triptofano, normalmente encontrado em valores reduzidos em outros alimentos, mesmo naqueles de origem animal, como no queijo parmesão 0,097 g por 100g de queijo<sup>27</sup>.

Além disso, o triptofano também é precursor na síntese de serotonina (5-hidroxitriptamina), um neurotransmissor importante no controle da ingestão alimentar e da saciedade<sup>28</sup>.

Quando foi analisada a farinha de semente de abobrinha (*Cucurbita pepo*), o triptofano foi um dos aminoácidos com teor mais baixo<sup>29</sup>, mostrando que não é possível extrapolar os dados de uma espécie para outras do mesmo gênero.

#### 4 Conclusão

Não basta conhecer o elevado valor protéico da semente de abóbora, mas também quantificar os teores de aminoácidos para empregar as sementes na complementação de outras proteínas vegetais deficientes de aminoácidos essenciais, que estão presentes em maiores quantidades nas sementes de abóbora.

Embora um estudo *in vivo* seja fundamental para avaliar a qualidade protéica de qualquer alimento, os valores encontrados de histidina, leucina, isoleucina, treonina, valina e principalmente de triptofano, fenilalanina e tirosina encoraja o uso da farinha de semente de abóbora para a complementação de outras fontes protéicas vegetais deficientes nestes aminoácidos, pois os valores encontrados são superiores aqueles determinados citados pela FAO/WHO. No caso do triptofano, um aminoácido normalmente encontrado em baixas concentrações nos alimentos, o valor encontrado na farinha é maior que o dobro do valor citado pela FAO, destacando o potencial do uso da farinha de semente de abóbora.

#### Agradecimentos

Ao Centro Universitário Augusto Motta (UNISUAM) pelo apoio através de seu Programa de Iniciação Científica.

#### Referências

- Gorgônio CMS, Pumar M, Mothé CG. Macroscopic and physicochemical characterization of a sugarless and gluten-free cake enriched with fibers made from pumpkin seed (*Cucurbita maxima* L.) flour and cornstarch. *Cienc Tecnol Aliment* 2011;31(1):109-18.
- Mauro AK, Silva VLM, Freitas MCJ. Caracterização física, química e sensorial de *cookies* confeccionados com farinha de talo de couve (FTC) e farinha de talo de espinafre (FTE) ricas em fibra alimentar. *Cienc Tecnol Aliment* 2010;30(3):719-28.
- Moura FA, Spier F, Zavareze ER, Dias ARG, Elias MC. Biscoitos tipo "cookie" elaborados com diferentes frações de semente de abóbora (*Cucurbita maxima*). *Alim Nutr* 2010;4(1):579-85.
- Alfawaz MA. Chemical composition and oil characteristics of pumpkin (*Cucurbita maxima*) seed kernels. *Res Bul Food Sci Agric Center, King Saud Univ* 2004;129:5-18.
- Naves LP, Corrêa AD, Abreu CMP, Santos CD. Nutrientes e propriedades funcionais em sementes de abóbora (*Cucurbita maxima*) submetidas a diferentes processamentos. *Cienc Tecnol Aliment* 2010;30(Supl.1):185-90.
- El-Adawy TA, Taha KM. Characteristics and composition of different seed oils and flours. *Food Chem* 2001;74:47-54.
- Murkovic M, Piironen V, Lamp AM, 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 Chem* 2004;84(3):359-65.
- Porte A, Silva EF, Almeida VDS, Silva TX, Porte LHM. Propriedades funcionais tecnológicas das farinhas de sementes

- de mamão (*Carica papaya*) e de abóboras (*Cucurbita sp*). *Rev Bras Prod Agro* 2011;13(1):91-6.
- Shupharkan VS, Yarnnon C, Ngunboonsri P. The effect of pumpkin seeds on oxalocrystalluria and urinary compositions of children in hyperendemic area. *Am J Clin Nutr* 1987;45:115-21.
- Cerqueira PM, Freitas MC, Pumar M, Santangelo SB. Efeito da farinha de semente de abóbora (*Cucurbita maxima* L.) sobre o metabolismo glicídico e lipídico em ratos. *Rev Nutr* 2008;21(2):129-36.
- Pumar M, Freitas MCF, Cerqueira PM, Santangelo SB. Avaliação do efeito fisiológico da farinha de semente de abóbora (*Cucurbita maxima* L.) no trato intestinal de ratos. *Cienc Tecnol Aliment* 2008;28(Supl.1):7-13.
- Achu MB, Fokou E, Tchiégang C, Fotso M. Nutritive value of some Cucurbitacea oil seeds from different regions in Cameroon. *Afr J Biotechnol* 2005;4(11):1329-34.
- Naves LP, Corrêa AD, Santos CD, Abreu CMP. Componentes antinutricionais e digestibilidade protéica em sementes de abóbora (*Cucurbita maxima*) submetidas a diferentes processamentos. *Cienc Tecnol Aliment* 2010;30(Supl.1):180-4.
- DeVries JW, Koski CM, Egberg DC, Larson PA. Comparison between a spectrophotometric and a high-pressure liquid chromatography method for determining tryptophan in food products. *J Agric Food Chem* 1980;28:896-8.
- Spies JR. Determination of tryptophan in proteins. *Anal Chem* 1967;39:1412-6.
- Instituto Adolfo Lutz. Métodos físico-químicos para análise de alimentos. Brasília, : Ministério da Saúde; 2005.
- WHO - World Health Organization. Report of Joint WHO/FAO/UNU. Expert Consultation: Protein and amino acid requirements in human nutrition. Geneva: WHO; 2007.
- Sulieman MA, Eltayeb MM, Babiker EE, Mustafa AI, El Tinay AH. Effect of sprouting on chemical composition and amino acid content of Sudanese lentil cultivars. *J Applied Sci* 2008;8(12):2337-40.
- Dimitrov T, Mihaylova G, Boycheva S, Naydenova N, Tsankova M. Changes in the amino acid composition of buffalo milk after chemical activation of its lactoperoxidase system. *Ita J Anim Sci* 2007;6(2):1050-2.
- Ribeiro ND, Londero PMG, Cargnelutti Filho A, Jost E, Poersch NL, Malimann CA. Composição de aminoácidos de cultivares de feijão e aplicações para o melhoramento genético. *Pesq Agropec Bras* 2007;42(10):1393-9.
- Vieira CR, Cabral LC, Paula ACO. Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. *Pesq Agropec Bras* 1999;34(7):1277-83.
- Weber FH, Gutkoski LC, Elias MC. Caracterização química de cariopses de aveia (*Avena sativa* L.) da cultivar UPF 18<sup>1</sup>. *Cienc Tecnol Aliment* 2002;22(1):39-44.
- Heinemann RC, Costa NMB, Cruz R, Pirozi MR. Valor nutricional de farinha de trigo combinada com concentrado protéico de folha de mandioca. *Rev Nutr* 1998;11(1):51-7.
- Vasconcelos IM, Campello CC, Oliveira JT, Carvalho AFU, Sousa DOB, Maia FMM. Brazilian soybean *Glycine max* (L.) Merr. Cultivars adapted to low latitude regions: seed composition and content of bioactive proteins. *Rev Bras Bot* 2006;29(4):617-25.
- Pires CV, Oliveira MGA, Rosa JC, Costa NMB. Qualidade nutricional e score químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. *Cienc Tecnol Aliment* 2006;26(1):179-87.
- Comai S, Bertazzo A, Bailoni L, Zancato M, Costa CVL,

- Allegri G. Protein and non-protein (free and protein-bound) tryptophan in legume seeds. *Food Chem* 2007;103(2):657-61.
27. Barros JJC, Azevedo AC, Faleiros Junior LR, Taboga SR, Penna ALB. Queijo parmesão: caracterização físico-química, microbiológica e microestrutura. *Ciênc Tecnol Aliment* 2011;31(2):285-94.
28. Carvalho-Santos J, Queiros-Santos A, Morais GL, Santana LHS, Brito MG, Araújo RCS, *et al.* Efeito do tratamento com triptofano sobre parâmetros do comportamento alimentar em ratos adultos submetidos à desnutrição neonatal. *Rev Nutr* 2010;23(4):503-11.
29. Atunwu AC, Akobundu, ENT. Nutritional and sensory quality of cookies supplemented with deffated pumpkin (*Cucurbita pepo*) seed flour. *Pak J Nutr* 2010;9(7):672-77.

