

FARINHA DE SOJA INTEGRAL: APLICAÇÃO DA METODOLOGIA DA SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA ESTUDO DE ASPECTOS NUTRICIONAIS

Nobad Buassi¹, Rui Sergio Ferreira da Silva², Chigurupati Sambasiva Rao³ e Anne Doloras Perera⁴

Fundação Universidade Estadual de Londrina, Londrina,
Paraná, Brasil

RESUMO

Cotilédones de soja (*Glycine max*, L. Merrill) da variedade Paraná, foram processados por método hidrotérmico, manipulando as condições de processamento, através de metodologia da superfície de resposta, para escolha de condições, que forneçam produto de melhor qualidade protéica. As variáveis de processamento utilizadas no delineamento experimental foram: tempo de hidratação de 0 a 8h; tempo de escaldamento de 5 a 35 min. e tratamento químico com bicarbonato de sódio (NaHCO_3) de 0 a 0.5g%. As farinhas de soja integrais obtidas foram submetidas a avaliação da qualidade nutricional protéica através do teste de NPR (razão de proteína líquida) e aminoácidos sulfurados. O modelo matemático desenvolvido não conseguiu distinguir entre os tratamentos ($p < 0.05$) na região experimental estudada.

Manuscrito modificado recebido: 7-10-82.

- 1 Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Fisiológicas, Campus Universitario, C.P. 6001, CEP 86100 Londrina, Paraná, Brasil.
- 2 Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Rurais e Tecnológicas, Ciências de Alimentos, Londrina, Paraná, Brasil.
- 3, 4 Membros do mesmo Departamento.

INTRODUÇÃO

O tipo de processamento utilizado para a soja é fator importante na determinação da qualidade nutricional do produto, devendo assegurar remoção ou destruição dos fatores antinutricionais.

O tratamento térmico afeta o valor nutricional da soja, dependendo da temperatura empregada, tempo de processamento e umidade do produto (1). O calor destrói inibidores de proteases, hemaglutininas, fator boceogênico e outros fatores tóxicos, responsáveis pela redução da qualidade nutricional da soja. O aquecimento deficiente fornece produto sub-ótimo e o seu excesso diminui a disponibilidade biológica da lisina e aminoácidos sulfurados, afetando o seu valor nutricional (2).

A hidratação da soja reduz o tempo de cocção, isto é, o período para amolecimento dos grãos, mas acarreta a perda de sólidos (3).

O tratamento alcalino, com uso de bicarbonato de sódio (NaHCO_3), na concentração de 0,5g^o/o, produz tenderização e redução do tempo de cozimento (4).

A cocção aumenta a remoção de oligossacarídeos flatulentos, bem como, as perdas de proteínas (5). O escaldamento, geralmente usado para inativar enzimas, realizado em solução de NaHCO_3 , melhora a textura dos grãos (6) mas não influi na remoção de oligossacarídeos flatulentos (7). Normalmente, são necessários pelo menos 5 minutos de escaldamento para obtenção de farinha de soja integral, nutricionalmente aceitável, a partir de grãos hidratados, com pelo menos 60^o/o de umidade (8).

Os métodos de avaliação biológica são importantes, porque proteínas com níveis semelhantes de aminoácidos apresentam amplas variações de qualidade, devido as diferentes fontes de matéria-prima e alterações ocorridas durante o processamento. Bioensaios para proteínas são essencialmente a medida de aminoácidos limitantes utilizáveis pelo animal (9). O método NPR (razão de proteína líquida) estabelecido por Bender e Doell (10), considera a proteína necessária para a manutenção e crescimento do animal, avaliando melhor a qualidade. O valor do NPR tende a cair com o aumento do conteúdo protéico da dieta. A principal falha deste método é super estimar proteínas de baixa qualidade (9).

Este estudo foi realizado com o objetivo de estabelecer condições do processamento úmido, para obtenção de farinha de soja integral, estudando os efeitos de interações de variáveis do processamento na qualidade protéica. Procurou-se, também, explorar a

possibilidade de, através da metodologia da superfície de resposta, relacionar o ensaio biológico com o ensaio químico, para avaliação da qualidade protéica da farinha de soja integral.

MATERIAIS E METODOS

Processamento da Farinha de Soja Integral

Sementes certificadas de soja (*Glycine max*) da variedade Paraná foram descascadas segundo a técnica de Sastry *et al.* (11). Os cotilédones resultantes foram processados por método úmido, alterando as condições com o emprego da metodologia estatística da superfície de resposta. As variáveis independentes utilizadas no delineamento experimental foram: tempo de hidratação (X_1) de 0, 4 e 8 horas, tempo de escaldamento (X_2) de 5, 20 e 35 minutos e tratamento químico com bicarbonato de sódio (X_3) de 0, 0.25 e 0.50 g/o. Com o delineamento experimental fatorial incompleto (3^3), em níveis equidistantes, para investigar as interações das variáveis, foram realizados 12 ensaios mais 3 no ponto central, totalizando 15 experimentos (Tabela 1).

Os dados experimentais foram processados por computadores da "Foremost Research and Development Center, Dublin-CA, USA". Do processamento eletrônico constam: função resposta (Y) obtida através de regressão múltipla (método dos mínimos quadrados); análise de variância (teste F) e superfície de resposta (mapas de contorno) mostrando as relações quantitativas entre as variáveis e as respostas ($\hat{Y}_1 = \text{NPR}$), ($\hat{Y}_2 = \text{metionina} + \text{cistina}$).

A função resposta \hat{Y}_1 foi elevada ao cubo $\hat{Y} = (\text{NPR})^3$ para aumentar a faixa de variação coberta pelos experimentos.

Os cotilédones de soja (3 kg) foram hidratados em 9 litros de água. Vencido o tempo de hidratação estabelecido para cada ensaio, foi feita a drenagem da água, seguida de escaldamento em recipiente de aço inoxidável, contendo 30 litros de água, à qual foi acrescentado bicarbonato de sódio (Carlo Erba) em diferentes concentrações (0 a 0.5g/o) e antiespumante (silicone da Dow Corning FG-10) na concentração de 100 p.p.m. O escaldamento foi feito à pressão atmosférica e temperatura de 96°C seguido por drenagem rápida e secagem em estufa com ar circulante durante 20 horas a temperatura de 50 a 60°C. Os cotilédones tratados e secos foram moídos e estocados sob refrigeração (5°C).

Nas farinhas obtidas foram realizadas análises da composição

TABELA 1

DELINEAMENTO ESTATÍSTICO DOS EXPERIMENTOS

Número de tratamentos	Variáveis		
	X ₁	X ₂	X ₃
1	-1	-1	0
2	1	-1	0
3	-1	1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	1	0	-1
7	-1	0	1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	1	-1
11	0	-1	1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

VARIÁVEIS INDEPENDENTES E NÍVEIS USADOS NO ESTUDO DO PERFIL DE OTIMIZAÇÃO

Variáveis	Níveis codificados		
	-1	0	+1
X ₁	0	4	8
X ₂	5	20	35
X ₃	0	0.25	0.50

X₁ = Hidratação, horas.X₂ = Escaldamento, minutos.X₃ = NaHCO₃, g^oo.

$$\text{Variável codificada} = \frac{\text{Variável} - \text{Variável no ponto central}}{\text{Faixa de variação}}$$

centesimal: as proteínas foram determinadas pelo método de Kjeldahl segundo as normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz (12); as análises: de extrato etéreo, cinzas e umidade foram realizadas de acordo com os métodos oficiais de análise da AOAC (13). As proteínas das farinhas foram analisadas quanto a sua composição de aminoácidos sulfurados e lisina, segundo a metodologia de Spackman *et al.* (14).

Avaliação da Qualidade Nutricional Protéica

As farinhas de soja integrais obtidas por diferentes tratamentos dos cotilédones foram avaliadas pelo ensaio do NPR (razão de proteína líquida) realizado pelo método de Bender e Doell (10). As dietas foram preparadas de acordo com o descrito pela AOAC (13), para avaliação biológica da qualidade protéica com base na composição centesimal (Tabela 2). As dietas foram numeradas de 1 a 18 de acordo com sua fonte protéica, sendo que de No. 1 a 15 as que foram obtidas seguindo-se o planejamento de experimentos. A No. 16 corresponde a que contém farinha de soja integral não tratada, a No. 17 refere-se a caseína e a No. 18 corresponde a dieta aprotéica.

Ratos machos albinos pertencentes a classificação *Rattus rattus*, linhagem Wistar, desmamados aos 21 dias de idade e divididos em 18 grupos com 6 animais cada um, foram utilizados para o teste. O peso corporal médio dos grupos variou de 37g a 40g e o individual de 30 a 42g. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em gaiolas individuais de arame (18 x 18 x 18 cm), com livre acesso para água e alimento. Os ratos foram submetidos a um período inicial de 3 dias de aclimatação, devido a viagem de transporte (15), durante o qual foi oferecida dieta contendo caseína e a seguir iniciado o teste com dietas específicas para cada grupo. Registraram-se, em dias alternados, as quantidades de alimentos oferecidos, perdidos e consumidos por animal. A temperatura ambiente do biotério foi mantida entre 22° e 24°C e a iluminação artificial (lâmpada fluorescente) com ciclos de luz-escuro a cada 12 horas. A duração do experimento foi de 10 dias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais submetidos a dieta aprotéica perderam em média 5.77 ± 0.67 g de peso corporal durante o experimento, com apare-

TABELA 2

COMPOSIÇÃO CENTESIMAL E AMINOÁCIDOS SULFURADOS DAS
FARINHAS DE SOJA INTEGRAIS E CASEÍNA NA BASE SECA

	Proteínas (N x 6.25)	Lipídeos	Cinzas	Açúcares e fibras	Umidade	Metionina e cistina
1	45.18	25.38	4.28	25.15	4.38	2.931
2	48.18	26.12	3.61	22.08	4.85	2.999
3	47.54	28.90	3.90	19.65	4.66	2.068
4	47.75	30.39	3.44	18.42	4.29	1.885
5	47.16	26.52	4.00	22.30	5.09	2.987
6	48.62	27.66	3.44	20.27	4.08	2.921
7	45.68	28.84	4.13	21.34	4.90	3.005
8	48.80	27.99	3.71	19.49	4.33	2.407
9	48.93	24.46	3.77	22.84	4.46	2.705
10	47.64	31.23	3.24	17.88	4.16	2.832
11	48.78	25.06	3.83	22.32	5.04	2.834
12	47.19	30.48	3.88	18.45	5.66	2.777
13	46.62	28.60	3.65	21.13	4.53	2.452
14	46.76	29.55	3.62	20.06	4.60	2.341
15	46.83	30.04	3.72	19.41	5.02	2.205
16	43.73	22.51	4.89	28.86	8.74	2.624
17	96.70	—	0.71	—	9.48	3.096

cimento de edema generalizado, sendo mais acentuado na face. Este estado físico pode ser devido as alterações coloidosmóticas plasmáticas, que certamente devem ter ocorrido (16).

Os valores de NPR para as dietas de número 1 a 17 encontram-se na Tabela 3. Usou-se o teste "t" para comparar o valor de NPR para as dietas número 16, 17 e média aritmética do ponto central correspondente aos ensaios 13, 14 e 15. Verificou-se que a dieta contendo farinha de soja integral submetida ao tratamento no ponto central difere estatisticamente, ao nível de 95% de probabilidade das dietas No. 16 e da No. 17, e a nível de 99% quando se comparou as dietas No. 16 e 17. Os resultados indicaram, que a farinha de soja tratada por método hidrotérmico é nutricionalmente superior a farinha não tratada, mas inferior a caseína, como fonte protéica nas dietas dos animais, o que é amplamente

TABELA 3

VALORES MÉDIOS DE CONSUMO DE PROTEÍNA, GANHO DE PESO DOS ANIMAIS E NPR PARA AS DIFERENTES DIETAS

Dietas No.	Ganho de peso g/10 dias	Consumo de proteínas g/10 dias	NPR
1	30.95	10.50	3.50
2	29.76	10.01	3.55
3	30.48	10.40	3.48
4	26.67	10.09	3.21
5	33.74	10.21	3.91
6	31.79	10.01	3.74
7	28.58	9.61	3.56
8	24.97	9.25	3.46
9	30.85	10.45	3.50
10	33.95	10.44	3.83
11	28.32	9.98	3.42
12	24.88	9.12	3.37
13	31.98	9.95	3.74
14	28.25	10.02	3.38
15	25.30	9.41	3.28
16	4.73	6.09	1.72 ⁽¹⁶⁾
17	32.09	9.60	4.21 ⁽¹⁷⁾

Valor médio de NPR no ponto central = Bo.

(16) — difere de Bo a nível de 95% de significância.

(17) — difere de Bo a nível de 95% de significância.

(16) — difere de (17) a nível de 99% de significância.

confirmado pela literatura (17).

Os dados obtidos a partir das dietas No. 1 a 15, com emprego do método dos mínimos quadrados, resultaram numa equação de regressão múltipla, que pode ser encontrada na Tabela 4. O coeficiente de correlação múltipla (R) é igual a 0.8452, o que significa que 71.44% da variação pode ser explicada pelo modelo. Portanto, este modelo não deve ser desprezado (18). A variação de 19.24% correspondente ao erro experimental é razoável tendo em vista tratar-se de um bioensaio.

Pela análise de variância (Tabela 5) pode-se observar, que

TABELA 4

EQUAÇÃO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA, PARÂMETROS CALCULADOS E ANÁLISE PARA NPR (Y_1)³ = Y_1^*

$$Y_1^* = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_3X_3 + B_{11}X_1^2 + B_{22}X_2^2 + B_{33}X_3^2 + B_{12}X_1X_2 + B_{13}X_1X_3 + B_{23}X_2X_3$$

onde $Y_1 = \text{NPR}$

$B_0 = 42.0599$	$B_{11} = 2.0812$	$B_{12} = -2.8251$	$X_1 = \text{hidratação - horas}$
$B_1 = -2.3051$	$B_{22} = -3.3263$	$B_{13} = 0.9950$	$X_2 = \text{escaldamento - minutos}$
$B_2 = -0.1313$	$B_{33} = 5.6087$	$B_{23} = -3.7525$	$X_3 = \text{NaHCO}_3 - \text{g}^{\circ}/\text{o}$
$B_3 = -5.8813$			

Erro padrão = 6.89131.

Coefficiente de correlação múltipla (R) = 0.845208.

Coefficiente de determinação total (R^2) = 0.7144.

Varição explicada pelo modelo = 71.44%.

Varição explicada pelos efeitos de 1a. ordem (lineares) = 38.41%.

Varição explicada pelos efeitos de 2a. ordem (quadráticos) = 21.93%.

Varição explicada pelos efeitos de interação = 11.09%.

Varição correspondente ao erro experimental = 19.236%.

TABELA 5
ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA NPR

Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	F Calculado	F Tabulado 95 ^o /o
Total	831.35	14	59.38	—	—
Primeira ordem	319.35	3	106.45	1.33	19.16
Segunda ordem	182.33	3	60.78	0.76	19.16
Interação	92.21	3	30.74	0.38	19.16
Desvio	77.53	3	25.84	0.32	19.16
Erro Experimental	159.92	2	79.96	—	—

nenhum termo da equação é estatisticamente significativo a nível de 950/o ($p < 0.05$). Por outro lado, o desvio de regressão, também, não é significativo a nível de 950/o. Tal fato, mostra que apesar de um ajustamento satisfatório dos dados experimentais ao modelo, este não é capaz de fazer distinção entre os tratamentos.

Possivelmente, a falta de mais informação, evidenciada pelo pequeno número de graus de liberdade do erro experimental, impediu a verificação da significância.

De acordo com Ida (19), a análise do inibidor de tripsina na farinha de soja integral, obtida pelo mesmo processo hidrotérmico descrito neste trabalho, resultou numa destruição relativa do fator anti-tríptico de 80.060/o nas seguintes condições: 8 horas de hidratação, 20 minutos de escaldamento e sem adição de NaHCO_3 . Nas condições acima, a equação preditiva para o NPR (Tabela 4) permite estimar um valor de 3.74, que corresponde a um dado experimental de mesmo valor (ensaio No. 6).

A aplicação da metodologia da superfície de resposta aos resultados do NPR evidenciou a dificuldade de se propor um modelo matemático para se explicar o bioensaio com ratos. Além disso, a falta de uma modelagem conveniente impediria, por enquanto, a tentativa de correlacionar o NPR com outras respostas, tais como o perfil de aminoácidos.

Foi obtida uma equação de regressão múltipla de modo análogo ao descrito anteriormente, para os aminoácidos sulfurados (Tabela 6). Foram considerados metionina e cistina simultaneamente, porque a metionina é metabolicamente convertida em cistina, mas a reação inversa não ocorre e o aminoácido limitante da soja é a metionina (20).

Pela Tabela 6, pode-se observar um coeficiente de correlação múltipla (R) igual a 0.8172. A variação explicada pelo modelo é 66.780/o, o que parece indicar a necessidade de utilização de outras variáveis independentes na região experimental estudada (18). A variação correspondente ao erro experimental é de apenas 1.610/o, o que poderia ser esperado em virtude de tratar-se de um ensaio químico.

A análise de variância para \hat{Y}_2 (Tabela 7) é análoga à de Y_1 , ou seja, apesar do modelo ajustar-se satisfatoriamente aos dados experimentais, não é capaz de fazer distinção entre os tratamentos (Tabela 5).

Um corte na superfície de resposta de \hat{Y}_2 (Figura 1) para $X_1 = 8$ horas indica um mínimo localizado na região estudada

TABELA 6

EQUAÇÃO DE REGRESSÃO MÚLTIPLA, PARÂMETROS CALCULADOS E ANÁLISE PARA TEOR DE METIONINA CISTINA

$$Y_2 = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_3X_3 + B_{11}X_1^2 + B_{22}X_2^2 + B_{12}X_1X_2 + B_{13}X_1X_3 + B_{23}X_2X_3$$

onde Y_2 = teor de metionina e cistina g/16g de N

$$B_0 = 2.3326$$

$$B_{11} = 0.0905$$

$$B_{12} = -0.0628$$

$$X_1 = \text{Hidratação H}$$

$$B_1 = -0.0974$$

$$B_{22} = 0.0475$$

$$B_{13} = -0.1331$$

$$X_2 = \text{Escaldamento min.}$$

$$B_2 = -0.2384$$

$$B_{33} = 0.4067$$

$$B_{23} = -0.0460$$

$$X_3 = \text{NaHCO}_3 \text{ g}^0/\text{o}$$

$$B_3 = -0.0528$$

Erro padrão = 0.3557.

Coefficiente de correlação múltipla (R) = 0.81723.

Coefficiente de determinação total (R^2) = 0.6678.

Varição explicada pelo modelo = 66.780/o.

Varição explicada pelos efeitos de 1a. ordem (lineares) = 29.010/o.

Varição explicada pelos efeitos de 2a. ordem (quadráticos) = 32.790/o.

Varição explicada pelos efeitos de interação = 4.990/o.

Varição correspondente ao erro experimental = 1.60680/o.

TABELA 7
ANÁLISE DE VARIÂNCIA PARA TEOR DE METIONINA E CISTINA (Y₂)

<i>Fonte de variação</i>	<i>Soma dos quadrados</i>	<i>Graus de liberdade</i>	<i>Quadrado médio</i>	<i>F Calculado</i>	<i>F Tabulado 95%</i>
Total	1.90	14	0.14	—	—
Primeira ordem	0.55	3	0.18	12.04	19.16
Segunda ordem	0.62	3	0.21	13.60	19.16
Interação	0.09	3	0.03	2.07	19.16
Desvio	0.60	3	0.20	13.11	19.16
Erro experimental	0.03	2	0.02	—	—

$Y_3 = \text{Metionina} + \text{Cistina (g/16g N)}$

A = 1.9411	I = 2.7288
B = 2.0396	J = 2.8272
C = 2.1380	K = 2.9257
D = 2.2365	L = 3.0241
E = 2.3349	M = 3.1226
F = 2.4334	N = 3.2210
G = 2.5318	O = 3.3195
H = 2.6303	P = 3.4180

Variável mantida constante.
 Hidratação $X_1 = 8 \text{ hr}$

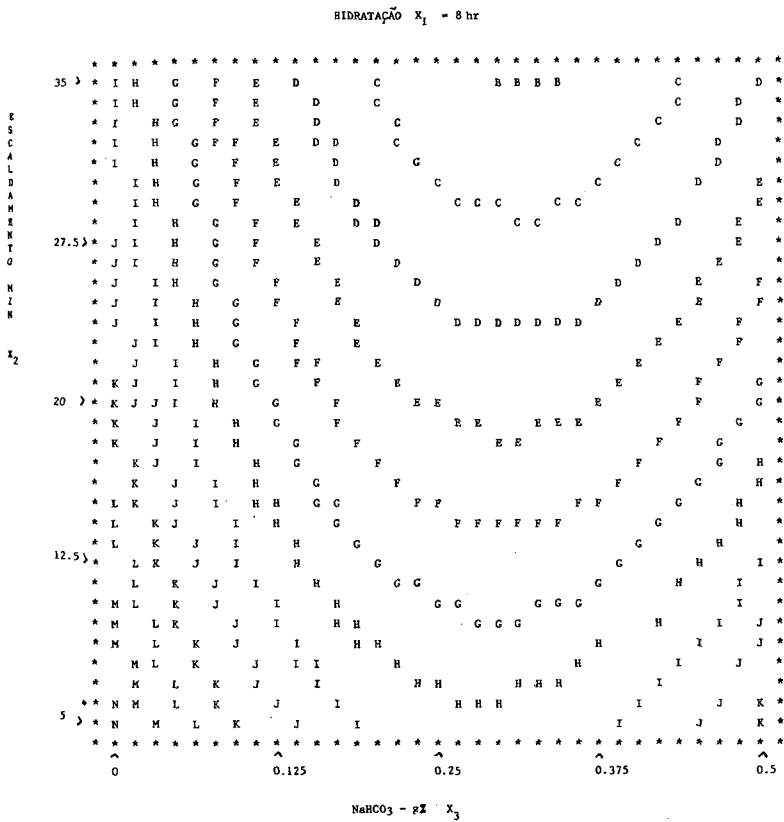


FIGURA 1

para $X_2 = 35$ minutos de escaldamento e $X_3 = 0.30$ g/o de bicarbonato de sódio. Portanto, nessas condições deve se evitar a adição de quantidades intermediárias de agente alcalinizante, recomendando-se o emprego de água de escaldamento sem adição de NaHCO_3 e diminuindo, tanto quanto possível, a duração do tratamento hidrotérmico, quando se pretende evitar a redução de teor de aminoácidos sulfurados nas farinhas de soja integrais obtidas nesse trabalho.

Esta análise de tendências mostrou, que a modelagem matemática de parâmetros nutricionais apresenta um potencial a ser explorado, para otimização de condições de processamento, visando melhorar a qualidade nutricional do produto.

O teor de lisina das farinhas de soja integrais produzidas neste trabalho variou na faixa de 6.1 a 7.0g/16g de N na base seca, amplamente comparável com o nível de lisina na caseína (20). Não foi possível estabelecer um modelo matemático adequado para explicar a variação de lisina entre as farinhas de soja integrais (21).

É aparente que para a aplicação da metodologia da superfície de resposta, com a finalidade de relacionar um ensaio biológico com um ensaio químico, seja necessário um delineamento estatístico mais completo.

SUMMARY

INTEGRAL SOYA FLOUR: APPLICATION OF A METHODOLOGY OF RESPONSE SURFACE FOR THE STUDY OF NUTRITIONAL ASPECTS

Cotyledons of soybeans (*Glycine max*) of the Paraná variety were subjected to hydrothermal processing. Response surface methodology was used to evaluate the conditions which provided a product of the highest protein quality.

The processing variables used in the experimental design were: soaking time (0 - 8 hr); blanching time (5 - 35 min) and bicarbonate concentration (0 - 0.5 g/o) in blanching water.

Biological evaluations of protein quality were done using the NPR. The mathematical model developed does not distinguish between treatments ($p < 0.05$) in the experimental region studied.

BIBLIOGRAFIA

1. Smith, J.K. Soybean meal: production, composition and utilization. **Feedstuffs**, **17**: 22-25, 1977.
2. Amadi, S.C. & D. Hewitt. The digestibility and availability of lysine and methionine in isolated soybean protein after severe heat damage. **Proc. Nutr. Soc.**, **34**: 26A, 1975.
3. Wang, L.H., *et al.* Hydration of whole soybeans affects solids losses and cooking quality. **J. Food. Sci.**, **44**: 1510-1513, 1979.
4. Aiko, K., *et al.* Effect of variety of method on cooking times, thiamine content and palatability of soybeans. **J. Food. Sci.**, **41**: 1330-1334, 1976.
5. Ku, S., *et al.* Extration of oligosaccharides during cooking of whole soybeans. **J. Food. Sci.**, **41**: 361, 1976.
6. Nelson, A.J., *et al.* Illinois process for preparation of soy milk. **J. Food. Sci.**, **41**: 57, 1976.
7. Da Silva, R.S.F., E. I. Ida, M.A. Perre Da Silva & S. Fabreg-Sanches. Aplicação da metodologia da superfície de resposta para previsão da remoção de oligossacarídeos da soja. **Ciênc. Technol. Aliment.** **1**(2): 107-122, 1981.
8. Albrecht, W.J., *et al.* Rate studies on atmospheric steaming and immersion cooking of soybeans. **Cereal Chem.**, **43**: 400-407, 1966.
9. McLaughlan, J.M. & O.M. Keith. Bioassays for protein quality. In: **Protein Nutritional Quality of Foods and Feeds**. M. Friedman (Ed.). New York, N.Y., Marcel Dekker, 1975, p. 79-85.
10. Bender, A.C. & H.B. Doell. Biological evaluation of proteins: a new aspect. **Brit. J. Nutr.**, **11**: 140-148, 1957.
11. Sastry, M.C., *et al.* Studies on the dehulling and screw pressing of soybean to obtain optimally processed soy flour. **J. Food. Sci. Technol.**, **6**: 189-191, 1970.
12. Instituto Adolfo Lutz. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz**. 2a ed. São Paulo, Brasil, 1976.
13. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC**. 12th ed. Washington, D.C., The Association, 1975.
14. Spackman, D.H., *et al.* Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. **Anal. Chem.**, **30**: 1190, 1958.
15. Burnete, M.A. & I.I. Rusoff. GMA test protocol for protein quality assays. **Food Technol. Dec.**, 1978. p. 66-68.
16. Souza, J.A., *et al.* Influência do jejum na colinesterasemia, proteinemia e curva ponderal de ratos. **Arq. Inst. Biol. São Paulo**, **38**: 7-13, 1971.
17. Antunes, P.L. & V.C. Sgarbieri. Processing effects on the nutritive value of soybean seeds and products. **Arch. Latinoamer. Nutr.**, **27**: 33-47, 1977.

18. Henika, R.C. & G.M. Palmer. Response surface methodology revisited. In: **Proceedings of the American Association of Cereal Chemists Annual Meeting**. New Orleans, La., October, 1976, p. 14.
19. Ida, E.I. Produção de farinha de soja integral com baixos teores de oligossacarídeos: aspectos energético protéico, anti-nutricionais e algumas propriedades funcionais. Tese (Mestr. Ciências de Alimentos) Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 1981.
20. Sheffner, L.A. **In vitro protein evaluation**, 3: 125, 191, 1950.
21. Buassi, N. Farinha de soja integral: Aspectos nutricionais e fisiológicos em modelo biológico. Tese (Mestr. Ciências de Alimentos) Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 1981.