

# INFLUÊNCIA DA FONTE LIPÍDICA DA DIETA NA UTILIZAÇÃO DE CASEÍNA E PROTEÍNA DE SOJA POR RATOS WISTAR

Valdemiro Carlos SGARBIERI<sup>1</sup>

Admar Costa de OLIVEIRA<sup>1</sup>

Flávia Maria NETTO<sup>2</sup>

Miguel Arcanjo AREAS<sup>3</sup>

Ricardo Gonçalves COELHO<sup>3</sup>

Semíramis Martins Álvares DOMENE<sup>3</sup>

Ângela de Almeida DUARTE<sup>3</sup>

Maria Margareth Veloso NAVES<sup>3</sup>

Nélida Vicente VICENTE<sup>3</sup>

## RESUMO

Estudou-se a influência das fontes lipídicas, óleo de soja e banha de porco, nas propriedades nutricionais de caseína e isolado protéico de soja, sob forma de dieta balanceada, com ratos Wistar, em termos de ganho de peso, quocientes de eficiência alimentar e protéica e índices aparentes de digestibilidade, valor biológico e utilização líquida da proteína. Verificou-se que, para uma mesma fonte protéica, a fonte lipídica não influenciou nesses índices de qualidade, mas ocorreu influência ao comparar fontes protéicas diferentes. Assim, inferiu-se que a combinação caseína e óleo de soja forneceu os melhores resultados e a combinação isolado protéico de soja e óleo de soja, o pior desempenho. Entretanto, ao combinar-se o isolado protéico de soja com a banha de porco, o valor nutritivo da proteína de soja não diferiu daquele da caseína.

**Termos de indexação:** dieta balanceada, fonte lipídica, utilização protéica, caseína, soja, rato.

---

(1) Docente do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição (DEPAN), Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), UNICAMP, Caixa Postal 6121, 13081 Campinas, SP.

(2) Monitora do DEPAN, FEA, UNICAMP.

(3) Aluno da Disciplina Métodos Experimentais em Nutrição, do Curso de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, FEA, UNICAMP.

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas surgiram na literatura muitos trabalhos mostrando a vantagem relativa do uso de gorduras poliinsaturadas sobre as mais saturadas, principalmente no que tange à elevação dos índices de colesterol sanguíneo e a possível aceleração no processo de formação de placas ateroscleróticas e eventuais problemas cardiovasculares.

Muito menos ênfase (nada pôde-se ter às mãos) tem sido dada às interações de ordem nutricional que possam existir entre fontes lipídicas não oxidadas de origem vegetal e proteínas de origem animal ou vice-versa.

Esta pesquisa teve como objetivo estudar a influência da fonte lipídica, de origem animal (banha de porco) ou vegetal (óleo de soja), na utilização pelo rato de caseína e proteína isolada de soja.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Material

#### 2.1.1 Animais para experimentação

Foram utilizados ratos albinos machos, da linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central da UNICAMP. Os ratos eram recém-desmamados, com 21 dias de idade e permaneceram 14 dias em adaptação ao Laboratório de Ensaios Biológicos do Departamento de Planejamento Alimentar e Nutrição (DEPAN), da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), com dieta comercial e água à vontade, em gaiolas de crescimento individuais. Por ocasião do experimento, os ratos apresentavam uma variação de peso entre 88,0 e 125,0 g, com peso médio de  $106,1 \pm 9,7$ g. Tendo em conta a alta variação de peso, optou-se por um delineamento experimental em blocos casualizados (PIMENTEL GOMES, 14), sendo cada bloco constituído de animais de peso semelhante, com 7 ratos por tratamento.

#### 2.1.2 Fontes protéicas e lipídicas

Foram utilizadas caseína comercial, proveniente do Uruguai, e isolado protéico de soja (IPS) Proteimax 90, produzido pela S. A. Moinhos Riograndenses (SAMRIG).

Como fontes lipídicas, utilizou-se óleo de soja e banha de porco comerciais.

## 2.2 Métodos

### 2.2.1 Determinações químicas

2.2.1.1 Umidade: determinada por secagem a 105°C até peso constante (HORWITZ, 5).

2.2.1.2 Proteína bruta: determinada por método de Kjeldahl, em escala semimicro, seguindo basicamente o método da Association of Official Analytical Chemists – AOAC (HORWITZ, 5), utilizando como catalisador na digestão dióxido de titânio (WILLIAMS, 18) e os fatores de conversão 6,38 para caseína e 5,71 para soja, segundo a FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (4), para multiplicação das porcentagens de nitrogênio encontradas.

2.2.1.3 Lipídios: determinados por extração com éter etílico anidro, (extrato etéreo) segundo o método de Soxhlet, conforme descrito por LEES (7); utilizou-se também o método de BLIGH & DYER (1) para lipídios totais.

2.2.1.4 Cinzas: obtidas por calcinação da matéria orgânica em forno de mufla à temperatura de 550°C, conforme descrito por PEARSON (12).

2.2.1.5 Fibra: determinada pelo método do detergente neutro de Van Soest e Wine, em 1967, modificado por MCQUEEN & NICHOLSON (8).

2.2.1.6 Carboidratos: determinados por diferença.

### 2.2.2 Preparo das dietas

As fontes protéicas, caseína e isolado protéico de soja, apresentaram, respectivamente, teores de proteína bruta de 88,14% e 73,86%. A determinação do extrato etéreo apresentou valores de 0,12% para a caseína e 0,32% para o isolado protéico de soja. Esses baixos valores obtidos para o extrato etéreo permitiram a execução do trabalho com as fontes protéicas escolhidas, visto que a influência de seus próprios lipídios, que não aqueles em teste, banha e óleo de soja, seria muito pequena.

Para o preparo das dietas experimentais foi seguida a formulação geral, assim descrita:

INFLUÊNCIA DA FONTE LIPÍDICA...  
V. C. SGARBIERI et al.

Nutriente	Porcentagem
Proteína (caseína ou IPS)	20
Gordura (óleo de soja ou banha de porco)	10
Mistura salina <sup>1</sup>	5
Mistura vitamínica <sup>2</sup>	2
Fibra <sup>3</sup>	3
Carboídratos (75% amido e 25% sacarose)	q.s.p.100

Dessa forma, foram preparadas 4 dietas experimentais, combinando-se a fonte protéica com a fonte lipídica: dieta de caseína e óleo de soja (CO), dieta de caseína e banha (CB), dieta de isolado protéico de soja e óleo de soja (SO) e dieta de isolado protéico de soja e banha (SB).

Foi utilizada como controle uma dieta comercial (RC), a ração para ratos Labina, da Purina, que é fornecida na forma de pletes, que foi triturada a pó, por questão de padronização com as demais dietas.

A composição centesimal das dietas obtida após o preparo e os respectivos valores energéticos estão dispostos na tabela 1, onde pode ser observado que, à exceção da ração comercial, que possuía composição centesimal e valor energético diferentes, as dietas preparadas apresentaram-se praticamente isoprotéicas e isocalóricas.

**Tabela 1.** Composição centesimal (g/100g) e valor energético (Kcal/100g) das dietas experimentais obtidas

Princípios químicos	Dietas				
	CO	CB	SO	SB	RC
Unidade	7,87	7,74	7,84	7,78	9,55
Proteína bruta	21,59	21,81	21,48	19,76	25,86
Lipídios totais	9,99	10,61	10,43	10,57	5,06
Fibra	2,83	2,60	2,74	2,84	14,33
Cinzas	4,56	4,86	5,33	5,76	8,30
Carboidratos	53,16	52,38	52,18	53,29	36,90
Valor energético <sup>1</sup>	388,90	392,20	388,50	387,30	296,60

(1) Calculado pela soma: (proteína bruta x 4) + lipídios totais x 9) + (carboidratos x 4).

(1) Preparada segundo a Association of Official Analytical Chemists - AOAC (HORWITZ, 5).

(2) Segundo a NUTRITIONAL BIOCHEMICALS CORPORATION (11).

(3) Celulose em pó Microcel, da Planver.

### 2.2.3 Métodos biológicos

2.2.3.1 Quociente de eficiência alimentar: obtido pela divisão da ingestão total de alimento, em gramas, pelo ganho de peso, em gramas, no mesmo período; foi determinado aos 28 e 35 dias de experimento.

2.2.3.2 Quociente de eficiência protéica: obtido pela divisão do ganho de peso, em gramas, pela ingestão de proteína, em gramas, no mesmo período; foi determinado aos 28 e 35 dias de experimento.

2.2.3.3 Avaliação da qualidade protéica, com base no balanço de nitrogênio: foram determinadas a digestibilidade aparente, descrita por WOLZAK et al.(19), o valor biológico aparente, segundo MITCHELL (9) e a utilização líquida de proteína aparente, descrita por PIKE & BROWN (13); o balanço foi realizado em gaiolas metabólicas individuais, com dieta e água à vontade, durante 4 dias, 19 dias após o início do experimento.

### 2.2.4 Tratamento estatístico

Além da utilização de delineamento experimental em blocos casualizados (PIMENTEL GOMES, 14), como já relatado, utilizou-se a análise de variância e o teste de Tukey, para comparação entre médias, e a regressão linear, pelo método dos mínimos quadrados, para definir as equações das retas de evolução ponderal dos animais nas diferentes dietas (SNEDECOR & COCHRAN, 17).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

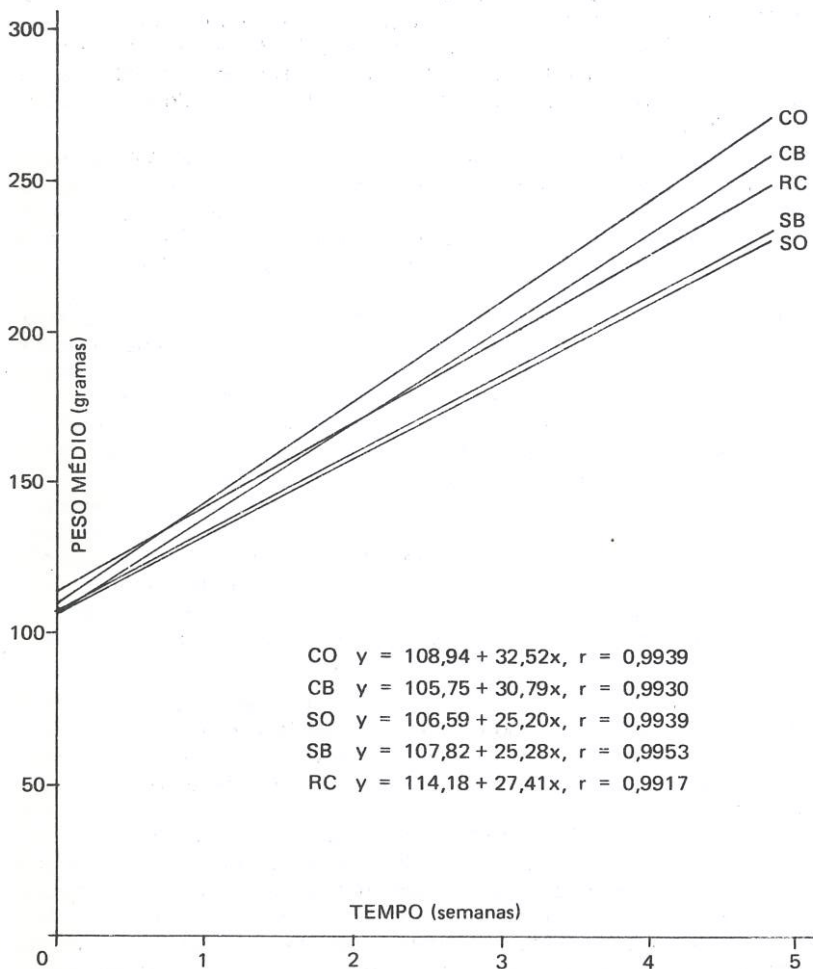
A evolução dos pesos médios dos animais, nas diversas dietas ao longo dos 35 dias do experimento, está disposta na figura 1. Observa-se que para todas as dietas, foi possível estabelecer relação linear entre o ganho de peso dos ratos e o tempo na respectiva dieta, em semanas. Estas relações foram, em todos os casos, positivas e fortes, com coeficientes de correlação de Pearson,  $r$ , próximos à unidade. Os ratos mantidos na dieta de caseína e óleo de soja apresentaram ganho de peso superior àqueles nas dietas contendo soja como fonte protéica, aos 28 e 35 dias de experimento. Entre os ratos, nas demais dietas, não ocorreram diferenças significativas nos ganhos de peso ( $p \leq 0,05$ ). A tabela 2 mostra esses resultados, como também os dados de ingestão de dieta, ingestão de proteína e os quocientes de eficiência alimentar e de eficiência protéica, determinados aos 28 dias de experimento. A tabela 3 mostra os valores dessas determinações aos 35 dias de experimento. Os resultados encontrados para os quocientes de eficiência alimentar, para as dietas de caseína, foram semelhantes àqueles encontrados por SALGADO et al. (16) e por MOURA & ZUCAS (10), que obtiveram valores de 0,34 e 0,36 respectivamente. Os valores dos quocientes de eficiência protéica, para caseína e isolado protéico de soja, apresen-

INFLUÊNCIA DA FONTE LIPÍDICA...  
V. C. SGARBIERI et al.

taram-se inferiores aos encontrados na literatura (PRESTON et al., 15; BURNS et al., 2), tendo-se em conta que as condições nas quais foi realizado o experimento, mais particularmente, a idade maior dos ratos e o maior teor de proteína das dietas, com relação às condições padronizadas para PER (HORWITZ, 5), ocasionaram essa redução dos valores (JANSEN, 6; CAMPBELL, 3).

A análise das tabelas 2 e 3 revela que, tanto aos 28 dias como aos 35 dias, as dietas de caseína e de isolado protéico de soja, respectivamente, apresentaram valores de quocientes de eficiência alimentar e de eficiência protéica que não diferiram ( $p \leq 0,05$ ) com relação à natureza da fonte lipídica. Por outro lado, a natureza da proteína influiu de forma significativa nesses índices, com as dietas de caseína apresentando maior quociente de eficiência alimentar que as de isolado protéico de soja, especialmente aos 35 dias de experimento. Entretanto, os valores dos quocientes de eficiência protéica só diferiram, com relação à natureza da proteína, entre as dietas de caseína e aquela contendo isolado protéico de soja e óleo de soja. Esse fato é bastante significativo, pois demonstra que a combinação isolado protéico de soja e banha de porco confere maior eficiência protéica à proteína de soja, fazendo com que não difira daquela da caseína. Assim, embora a natureza da fonte lipídica não tenha influenciado a eficiência protéica da mesma proteína, ocorreu influência significativa ( $p \leq 0,05$ ) quando as proteínas eram diferentes. A ração comercial não apresentou diferença das dietas experimentais ao nível de 5%, no tocante ao ganho de peso dos ratos. Os quocientes de eficiência alimentar e de eficiência protéica, por sua vez, mostraram-se inferiores àqueles das dietas experimentais, aos 28 e 35 dias de experimento.

Os valores médios do balanço de nitrogênio aparente para os ratos nas diversas dietas estão dispostos na tabela 4, bem como os valores para nitrogênio ingerido, fecal e urinário. Observou-se que não houve diferença significativa para o balanço de nitrogênio entre as dietas experimentais, mas esses valores foram inferiores ao obtido com a dieta comercial ( $p \leq 0,05$ ). Com relação aos índices de qualidade protéica, baseados no balanço de nitrogênio (Tabela 5), pôde-se observar diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) entre as digestibilidades aparentes das dietas de caseína e aquela da dieta de isolado protéico de soja e óleo de soja. A dieta de isolado protéico de soja e banha, por sua vez, não diferiu, com relação à digestibilidade, das dietas de caseína. Esse fato demonstrou que a combinação do isolado protéico de soja com a banha de porco melhorou o valor nutricional da proteína de soja, também com relação à digestibilidade. Por outro lado, tomando-se em conta as dietas de idêntica fonte protéica, a fonte lipídica não influiu na digestibilidade da proteína. A digestibilidade aparente da ração comercial foi inferior às das dietas experimentais. Os outros índices, valor biológico e utilização líquida de proteína aparentes, não diferiram ( $p \leq 0,05$ ) para todas as dietas.

INFLUÊNCIA DA FONTE LIPÍDICA...  
V. C. SGARBIERI et al.

**Figura 1.** Regressões lineares para as relações entre o peso médio de ratos Wistar, em gramas, e o tempo de experimento, em semanas, para diversas dietas balanceadas, caseína e óleo de soja (CO), caseína e banha de porco (CB), isolado protéico de soja e óleo de soja (SO), isolado protéico de soja e banha de porco (SB) e ração comercial (RC).

INFLUÊNCIA DA FONTE LIPÍDICA...  
V. C. SGARBIERI et al.

**Tabela 2.** Valores médios de ganho de peso, ingestão de dieta, ingestão de eficiência alimentar (QEA), ingestão de proteína e quociente de eficiência proteica (PER), para dietas balanceadas de caseína e óleo de soja (CO), caseína e banha de porco (CB), isolado protéico de soja e óleo de soja (SO), isolado protéico de soja e banha de porco (SB) e ração comercial (RC), após 28 dias de experimento, utilizando-se ratos Wistar

Dietas	Ganho de peso	Ingestão de dieta	QEA	Ingestão de proteína	PER
	g	g		g	
CO	134,3 ± 16,4 <sup>a</sup>	405,9 ± 31,8 <sup>a</sup>	0,33 ± 0,03 <sup>a</sup>	87,6 ± 6,9 <sup>a</sup>	1,52 ± 0,12 <sup>a</sup>
CB	128,3 ± 26,3 <sup>a,b</sup>	393,4 ± 44,5 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,04 <sup>a,b</sup>	85,8 ± 9,7 <sup>a</sup>	1,49 ± 0,20 <sup>a</sup>
SO	106,6 ± 11,9 <sup>b</sup>	375,9 ± 26,8 <sup>a</sup>	0,28 ± 0,02 <sup>b</sup>	80,7 ± 5,8 <sup>a</sup>	1,32 ± 0,12 <sup>b</sup>
SB	104,8 ± 73,0 <sup>b</sup>	385,4 ± 50,6 <sup>a</sup>	0,28 ± 0,04 <sup>b</sup>	76,2 ± 10,0 <sup>a</sup>	1,39 ± 0,20 <sup>a,b</sup>
RC	116,2 ± 17,0 <sup>a,b</sup>	499,4 ± 28,9 <sup>b</sup>	0,23 ± 0,02 <sup>c</sup>	129,2 ± 7,5 <sup>b</sup>	0,90 ± 0,10 <sup>c</sup>

Médias assinaladas com a mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).



**Tabela 3.** Valores médios de ganho de peso, ingestão de dieta, quociente de eficiência alimentar (QEA), ingestão de proteína e quociente de eficiência protéica (PER), para dietas balanceadas de caseína e óleo de soja (CO), caseína e banha de porco (CB), isolado protéico de soja e óleo de soja (SO), isolado protéico de soja e banha de porco (SB) e ração comercial (RC), após 35 dias de experimento, utilizando-se ratos Wistar

Dietas	Ganho de peso	Ingestão de dieta	QEA	Ingestão de proteína	PER
	g	g		g	
CO	158,3 ± 16,2 <sup>a</sup>	491,4 ± 27,3 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,03 <sup>a</sup>	106,1 ± 5,9 <sup>a</sup>	1,49 ± 0,15 <sup>a</sup>
CB	146,4 ± 28,1 <sup>a,b</sup>	474,4 ± 57,2 <sup>a</sup>	0,31 ± 0,03 <sup>a</sup>	103,5 ± 12,5 <sup>a</sup>	1,41 ± 0,16 <sup>a</sup>
SO	120,2 ± 13,4 <sup>b</sup>	454,7 ± 27,9 <sup>a</sup>	0,26 ± 0,03 <sup>b</sup>	97,7 ± 6,0 <sup>a</sup>	1,23 ± 0,12 <sup>b</sup>
SB	121,5 ± 10,4 <sup>b</sup>	465,9 ± 46,9 <sup>a</sup>	0,26 ± 0,04 <sup>b</sup>	92,0 ± 9,3 <sup>a</sup>	1,34 ± 0,20 <sup>a,b</sup>
RC	135,4 ± 26,3 <sup>a,b</sup>	609,5 ± 40,7 <sup>b</sup>	0,22 ± 0,03 <sup>b</sup>	157,6 ± 10,5 <sup>b</sup>	0,85 ± 0,12 <sup>c</sup>

Médias assinaladas com a mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

INFLUÊNCIA DA FONTE LIPÍDICA...  
V. C. SGARBIERI et al.

**Tabela 4.** Valores médios de balanço de nitrogênio aparente, para dietas balanceadas de caseína e óleo de soja (CO), caseína e banha de porco (CB), isolado protéico de soja e óleo de soja (SO), isolado protéico de soja e banha de porco (SB) e ração comercial (RC), utilizando-se ratos Wistar e 4 dias de balanço de nitrogênio

Dietas	Nitrogênio ingerido	Nitrogênio excretado		Balanço nitrogenado aparente
		Fezes	Urina	
	g	g	g	g
CO	1,76 ± 0,31	0,124 ± 0,018	0,512 ± 0,144	1,12 ± 0,23 <sup>a</sup>
CB	1,84 ± 0,39	0,140 ± 0,041	0,532 ± 0,143	1,16 ± 0,32 <sup>a</sup>
SO	1,96 ± 0,28	0,190 ± 0,024	0,621 ± 0,181	1,15 ± 0,28 <sup>a</sup>
SB	1,88 ± 0,16	0,160 ± 0,046	0,510 ± 0,151	1,21 ± 0,24 <sup>a</sup>
RC	3,28 ± 0,22	0,629 ± 0,055	0,683 ± 0,214	1,97 ± 0,35 <sup>b</sup>

Médias assinaladas com a mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

**Tabela 5.** Valores médios de digestibilidade, valor biológico e utilização líquida de proteína aparentes, para dietas balanceadas de caseína e óleo de soja (CO), caseína e banha e porco (CB), isolado protéico de soja e óleo de soja (SO), isolado protéico de soja e banha de porco (SB) e ração comercial (RC), utilizando-se ratos Wistar e 4 dias de balanço de nitrogênio

Dietas	Digestibilidade aparente	Valor biológico aparente	Utilização líquida de proteína aparente
	%	%	%
CO	92,8 ± 1,3 <sup>a</sup>	68,7 ± 5,4 <sup>a</sup>	63,8 ± 5,4 <sup>a</sup>
CB	92,4 ± 1,2 <sup>a</sup>	68,0 ± 7,8 <sup>a</sup>	62,8 ± 7,3 <sup>a</sup>
SO	90,2 ± 1,7 <sup>b</sup>	64,5 ± 11,6 <sup>a</sup>	58,3 ± 10,9 <sup>a</sup>
SB	91,4 ± 2,8 <sup>a,b</sup>	70,0 ± 9,6 <sup>a</sup>	64,1 ± 9,8 <sup>a</sup>
RC	80,8 ± 1,8 <sup>c</sup>	73,9 ± 9,2 <sup>a</sup>	59,8 ± 7,7 <sup>a</sup>

Médias assinaladas com a mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

#### 4. CONCLUSÕES

Nas condições em que foram desenvolvidas as pesquisas, pôde-se concluir que:

1. Não houve influência da fonte lipídica dietética, animal (banha de porco) e vegetal (óleo de soja), sobre: ganho de peso dos ratos, quocientes de eficiência alimentar e índices de qualidade protéica, ao considerar dietas de mesma fonte protéica (caseína ou isolado protéico de soja).

2. Das duas fontes protéicas estudadas, a caseína apresentou quociente de eficiência alimentar superior ao isolado protéico de soja, independente da fonte lipídica.

3. A fonte lipídica influiu no ganho de peso dos ratos e no quociente de eficiência protéica, ao comparar proteínas diferentes: assim, a combinação caseína e óleo de soja proporcionou maior ganho de peso do que as dietas cuja fonte protéica era soja, enquanto a combinação caseína e banha de porco não; por outro lado, a combinação isolado protéico de soja e banha de porco apresentou um quociente de eficiência protéica que não diferiu daqueles das dietas de caseína e a combinação isolado protéico de soja e óleo de soja apresentou quociente inferior.

4. Com relação aos índices de qualidade protéica com base no balanço de nitrogênio, apenas a digestibilidade aparente foi influenciada pela fonte lipídica: o isolado protéico de soja combinado com a banha de porco mostrou digestibilidade que não diferiu das dietas de caseína e quando combinado com o óleo de soja mostrou digestibilidade inferior; o valor biológico e a utilização líquida aparentes das proteínas não diferiram para todas as dietas utilizadas.

#### ABSTRACT

#### INFLUENCE OF DIETARY LIPID ON UTILIZATION OF CASEIN AND SOYBEAN PROTEIN BY WISTAR RATS

*The interaction of two sources of dietary lipids (soybean oil and lard) and two sources of protein (casein and soybean protein isolate) was studied with respect to body weight gain, diet and protein efficiency ratio, apparent protein digestibility, biological value and net protein utilization. Growing rats of the Wistar strain were used in the experiment. It was*

INFLUÊNCIA DA FONTE LIPÍDICA...  
V. C. SGARBIERI et al.

*observed that for the same protein the source of dietary lipid did not affected significantly protein nutritive value, but the combination of casein and soybean oil gave the best results where as that of soybean protein isolate and soybean oil was the worse. However, soybean protein isolate when combined with lard gave as good protein value as casein.*

**Index terms:** *balanced diet, lipid source, protein utilization, casein, soybean, rat.*

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BLIGH, E. G. & DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, **37**: 911-17, 1959.
2. BURNS, R. A. et al. Effects of dietary protein quantity and quality on the growth of dogs and rats. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, **112**: 1843-53, 1982.
3. CAMPBELL, J. A. Methodology of protein evaluation. **WHO/FAO/UNICEF Nutrition Document**, New York, 1961. R. 10/Add. 37.
4. FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Amino-acid content of foods and biological data on proteins. **FAO Nutritional Studies**, Roma, (24), 1970.
5. HORWITZ, W., ed. **Official methods of analysis**. 12.ed. Washington, D.C., Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1975. p. 222, 857, 927-8.
6. JANSEN, G. R. Biological evaluation of protein quality. **Food Technology**, Chicago, p. 52-6, 1978.
7. LEES, R. **Manual de análisis de alimentos**. (Laboratory handbook of methods of food analysis). Zaragoza, Acribia, 1979. p. 18-20, 183-5.
8. MCQUEEN, R. E. & NICHOLSON, J. W. G. Modification of the neutral detergent fiber procedure for cereals and vegetables by using alpha-amylase. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, **62**: 676-80, 1979.

9. MITCHELL, H. H. A method of determining the biological value of protein. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, **58**: 873-903, 1923/24.
10. MOURA, E. C. V. & ZUCAS, S. M. Influência da cocção prévia no valor biológico de concentrados protéicos de sardinha obtidos por extração com etanol. **Archivos Lationamericanos de Nutrición**, Caracas, **31**(1): 73-92, 1981.
11. NUTRITIONAL BIOCHEMICALS CORPORATION. **ICN Diet catalog**. Cleveland, NBC, 1977/1978. p. 18, 24.
12. PEARSON, D. **Técnicas de laboratório para el análisis de alimentos**. (Laboratory techniques in food analysis). Zaragoza, Acribia, 1976. p. 68-9.
13. PIKE, R. L. & BROWN, M. L. **Nutrition: an integrated approach**. New York, John Wiley, 1967. p. 411.
14. PIMENTEL GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 11.ed.rev.ampl. Piracicaba, Nobel, 1985. p. 56-76.
15. PRESTON, M. L. et al. Control of food intake in the rat by dietary protein concentration. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, **111**: 1117-23, 1981.
16. SALGADO, J. M. et al. Efeito da suplementação de fontes de minerais sobre a mistura arroz/feijão. **Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação**, São Paulo, (58): 32-6, 1982.
17. SNEDECOR, G. W. & COCHRAN, W. G. **Statistical methods**. 6.ed. Ames, Iowa State College Press, 1967.
18. WILLIAMS, P. C. The use of titanium dioxide as catalyst for large-scale Kjeldahl determination of the total nitrogen content of cereal grains. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, London, **24**: 343-8, 1973.
19. WOLZAK, A. et al. A comparison of in vivo and in vitro estimates of protein digestibility of native and thermally processed vegetable proteins. **Qualitas Plantarum: Plant Foods for Human Nutrition**, The Hague, **31**: 31-43, 1981.