

ENRIQUECIMENTO DE PÃO COM LISINA: REVISÃO E PERSPECTIVAS

REGINALICE M.G.B. SAAB*, E. AQUARONE**, C.S. RAO*** e RUI SÉRIGIO F. DA SILVA****

RESUMO

Esta revisão apresenta um estudo do enriquecimento de pão com lisina sob os pontos de vista de formulação, adição e perda (ou retenção) de lisina e características (internas e externas) do pão. Ficou evidente a falta de padronização existente na literatura consultada, o que dificulta conclusões abrangentes. Sugere-se uma metodologia quantitativa, com base nas variáveis experimentais (teor de açúcares, binômio tempo-temperatura e geometria do pão), para permitir comparação (presente e futura) entre os dados disponíveis na literatura.

INTRODUÇÃO

Os cereais trigo, arroz e milho são alimentos largamente consumidos em todas as partes do mundo. No Brasil, destaca-se o consumo de trigo, em virtude da sua utilização em diversos produtos (pão, biscoito, macarrão) ser um hábito muito difundido entre nós, aliado ao baixo custo em relação a outros alimentos, devido aos subsídios a ele concedido.

O consumo total de trigo tem evoluído positivamente em função da expansão da população brasileira e do aumento do consumo per capita. Em 1940, o consumo per capita de trigo era de 23 kg, passando para 37,1 kg em 1960 e alcançando 52,5 kg em 1975. O consumo total do referido cereal nesse mesmo ano foi cerca de 4,5 milhões de toneladas (11).

Apesar dos cereais, e particularmente o trigo, serem as principais fontes de alimentos consumidos, apresentam baixo teor proteico e, além do mais, suas proteínas são nutricionalmente inferiores em razão de suas deficiências em alguns aminoácidos essenciais, especialmente lisina (ver tabela I). O melhoramento da qualidade nutricional do trigo, através do enriquecimento com lisina foi demonstrado em 1914 com o trabalho pioneiro de OSBORNE e MENDEL (21). A farinha de trigo apresenta 3,2% de proteína biologicamente disponível, sendo que ao ser enriquecida com 0,2% de

lisina aumenta a 5,3% (13).

Por outro lado, o enriquecimento ou fortificação com aminoácidos, por ser feita na forma de micronutrientes, não acarreta aumento de volume do alimento. Isso é particularmente importante no caso de crianças, cuja capacidade de ingestão de alimentos é bastante limitada.

Além dos benefícios nutricionais, o enriquecimento da farinha de trigo com lisina poderá ainda melhorar as propriedades funcionais (2, 25), sem alteração nas propriedades sensoriais do produto final (9, 14, 23, 25, 26), concorrendo para que o produto fortificado continue aceitável ao consumidor com benefícios e vantagens apreciáveis.

Na procura de soluções para resolver os problemas de desnutrição e baseado nas considerações acima é que alguns países realizaram experiências em larga escala, nesse campo. Entre outros, na Tunísia (3) e no Japão (28) foi efetuado o enriquecimento da farinha de trigo com lisina, na Tailândia, de arroz com lisina e treonina (3), e na Guatemala, do milho com lisina (3).

Todavia, os resultados não foram conclusivos a respeito de uma melhoria na saúde da população testada, em consequência de vários fatores, principalmente: deficiências energéticas (calóricas) da população, baixo consumo de alimento fortificado, adoção de planejamento tecnocrata que é contraproducente em programas nutricionais e variação na metodologia de avaliação dos re-

sultados (3).

Atualmente, programas de enriquecimento estão sendo reexaminados sob todos os aspectos, uma vez que se agravam as deficiências nutricionais das populações de baixa renda. No Brasil, a fortificação do pão com lisina, através da farinha de trigo, contribuiria muito para minimizar as carências nutricionais da população, em virtude do pão ser um alimento básico apresentando um consumo per capita de 27,74 kg em 1975 (1), servindo dessa forma de veículo para a ingestão de aminoácidos essenciais. A fortificação da farinha de trigo poderia ser centralizada nos moinhos, uma vez que o número de moinhos não é tão elevado, cerca de duas centenas (6).

Embora o custo com importação de lisina, de procedência européia (Cr\$ 173,26/kg em 1979) (4) seja o fator de maior entrave em programas de enriquecimento, do ponto de vista tecnológico, existem aspectos a considerar relativos ao processamento, estocagem e principalmente aceitação organoléptica. Assim é que o processamento térmico pode agravar as deficiências em lisina dos alimentos, sobretudo da lisina proveniente da fortificação devido à instabilidade frente ao calor em presença de açúcares e outros componentes (5, 18).

REVISÃO

A literatura apresenta diversos trabalhos de fortificação do pão com lisina

*Professora do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos da FUEL. Mestre em Tecnologia das Fermentações, USP.

**Professor Catedrático da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

***PhD em Cereais pela Universidade do Kansas, USA.

****Professor do Departamento de Tecnologia de Alimentos e Medicamentos da FUEL. Doutor em Tecnologia de Alimentos, UNICAMP.

relatando o grau de estabilidade da lisina adicionada ao produto.

◊ Todavia, verifica-se que não há uma uniformidade nos procedimentos de panificação, não só referentes à formulação da massa, que em geral foram feitos em conformidade com os processos usuais de cada região, bem como quanto às condições de tempo e temperatura do forno. Além disso, os autores empregam diferentes métodos para estimar a retenção de lisina no produto final. Assim, enquanto alguns determinam a lisina retida através de bioensaios com ratos em dieta padrão, já outros utilizam métodos microbiológicos, enquanto que outros ainda preferem usar métodos químicos. Em consequência dessa heterogeneidade torna-se difícil um consenso a respeito do grau de perda de lisina durante a panificação e do nível de adição que apresenta o máximo valor nutritivo no produto final.

Com o intuito de facilitar a comparação dos resultados, apresentamos um quadro com as condições em que foram realizados os experimentos dos autores mais representativos desse campo de estudo (tabela II).

Analisando-se a tabela II verifica-se que as condições de tempo e temperatura do forno, além de variarem em cada caso, não mostram uma relação com o grau de retenção de lisina, exceto nos estudos de JANSEN et al (15).

Quanto à formulação da massa, JANSEN et al (15, 16) encontraram duas vezes mais perda de lisina ao empregarem 4% de leite em pó desnatado na preparação da massa, comparativamente ao pão de água. A presença de moderadas quantidades de leite em pó desnatado aumentou efetivamente a degradação da lisina devido ao processamento térmico, provavelmente em decorrência de uma maior quantidade de lactose presente.

ERICSON e LARSSON (8) encontraram maior porcentagem de perda de lisina, 25-30%, utilizando alto teor de açúcar, 20% na forma de xarope no preparo da massa, enquanto que 5-10% de perda forma encontrados no procedimento usual de formulação da massa (9).

Quanto à metodologia usada para testar a retenção de lisina, ROSENBERG e ROHDENBURG (23) encontraram 15% de perda de lisina por métodos microbiológicos e não conseguiram detectar perdas em bioensaios com ratos (24), concluindo que, aparentemente, o método microbiológico é bastante preciso para medir a lisina em pão fortificado. Da mesma forma, MURATA et al (20)

obtiveram 14% de perda de lisina no pão fortificado, utilizando método químico, e não verificaram perdas por bioensaios.

◊ SAAB (25) obteve uma perda constante de lisina 11,3% estatisticamente significativa ao nível de 1% de probabilidade ($P < 0,01$), quando o pão foi enriquecido com diferentes quantidades de lisina: 0,1; 0,2; 0,3; 0,4 e 0,5% de lisina-HCl em relação à farinha de trigo, utilizando método químico para medir a lisina. Os pães foram assados a 220°C durante 20 minutos em forno elétrico comum, marca Ital-Bras, e a formulação da massa constou de farinha de trigo, marca Naná (100%), sal (2%), fermento Itaiquara (5%), amilase de origem fúngica, ácido ascórbico, emulsificante oleoso à base de polisorbato 60 (todos do Laboratório Okochi) e água (60%).

ERICSON et al (9) encontraram 5-10% de perda com métodos microbiológicos e não detectaram perda em bioensaios com ratos. Em um estudo posterior dos mesmos autores (8) foi encontrado 25-30% de perda de lisina utilizando-se ambos os métodos: microbiológicos e bioensaios com ratos, na fortificação de pão com alto teor de açúcar.

JANSEN et al (15) utilizando-se de temperatura de cozimento de 232°C e 30 minutos respectivamente, encontraram 30% de perda de lisina pelo calor, em bioensaios com ratos. Reduzindo-se para 20 minutos o tempo de cozimento, não foi possível detectar perda de lisina através de crescimento de animais, porém foi obtido 18% por cromatografia de coluna. No entanto, os autores compararam níveis de adição de lisina no pão antes e após o processamento térmico, que apresentaram a mesma resposta em PER ("protein efficiency ratio"), obtendo assim 30% de perda a partir de dados originados de interpolação gráfica onde as curvas não apresentaram linearidade em todos os trechos. Considerando-se que a porcentagem de perda de lisina foi normalmente calculada por outros autores (20, 24), a partir de um mesmo nível de adição antes e após cozimento no forno, obtivemos com os resultados de JANSEN et al aproximadamente 13,7% de perda de lisina.

Nestes exemplos, observamos que, com exceção de JANSEN et al (15) e ERICSON & LARSSON (8), a lisina aparentemente destruída, como mostram os métodos químicos e microbiológicos, não foi detectada por bioensaios. Isto é provavelmente decorrente de três fatos principais: 1) o erro inerente

te ao próprio método é de tal magnitude que a sua sensibilidade é consideravelmente reduzida, tornando-o incapaz de detectar a destruição de lisina (15); 2) variações na formulação da dieta à base de pão fortificado, bem como as respectivas respostas em PER, que conforme o caso foram ou não ajustadas para dieta com caseína e, finalmente; 3) o processo de panificação, incluindo desde a mistura dos ingredientes até o cozimento no forno, acarreta a perda de matéria seca (gás carbonico, álcool, etc.) (9) que, em geral, não é considerada para efeitos de cálculos, aumentando dessa forma a concentração relativa de lisina no produto final, apesar das perdas ocorridas.

GATES & KENNEDY (12) estudaram a qualidade proteica dos ingredientes usados para fazer pão, com vários teores de leite em pó desnatado, com ou sem suplementação de 0,2% de L-lisina e compararam com o correspondente produto panificado a 218°C e 25 minutos. Com os resultados obtidos através do teste de bioensaios, apresentados nesse estudo, pode ser calculada (25) a perda de lisina, sendo encontrado 19,5% de perda com 3% de leite em pó desnatado. Esse dado deve ser encarado com reservas, pois nesse caso particular, comparamos ingredientes não panificados com o respectivo pão, o que justifica a sua exclusão da tabela II.

Temos ainda que, SATO & EBISAWA (27) adicionaram 0,05% de DL-lisina no pão. A avaliação do mesmo foi feita por métodos microbiológicos e foram empregados 218°C e 20 minutos para o cozimento da massa. A perda total de lisina foi estimada em 39%, sendo que na casca a perda foi determinada em 55% e no miolo 27%.

Foi ainda encontrado na literatura um estudo a respeito da retenção de lisina usando vários agentes encapsuladores (17). Desta maneira, a perda estimada para a forma de lisina encapsulada foi cerca de 23%, enquanto que 18%; 13,9% e 7,8% de perda foram os valores encontrados quando foi usada lisina encapsulada em conjunto com caseína, clara de ovo e gordura (sebo), respectivamente.

Quanto às características organolépticas, há uma concordância a respeito de um maior escurecimento da crosta do pão fortificado com lisina (7, 9, 15, 19, 23, 26, 29).

Em relação ao sabor, ROSENBERG & ROHDENBURG (23) diferenciaram leve mudança de sabor no pão fortificado, enquanto que outros autores (9, 14, 19) relataram não haver qual-

quer mudança nessa propriedade. SAAB inclusive mostrou que o pão francês fortificado com 0,1; 0,3 e 0,5% de lisina - HCl não difere estatisticamente ao nível de 95% quanto ao sabor em relação ao pão não-fortificado.

Quanto à textura, ROSENBERG & ROHDENBURG (23) e MATTHEWS et al (19) não notaram qualquer diferença devido à fortificação do pão, embora SAAB (25) tenha relatado que as amostras de pão enriquecido diferem do controle, mas não diferem entre si quando foi utilizado um intervalo crescente de adição (0,1 a 0,5%) de lisina. Temos ainda que ERICSON et al (9) e SABISTON & KENNEDY (26) observaram textura mais compacta no produto fortificado.

JANSEN et al (15) obtiveram aumento no peso do pão fortificado, aumentando o tempo de panificação, bem como relataram um aumento na proporção da crosta em relação ao miolo, ao aumentar o tempo de cozimento no forno.

Relativamente ao volume dos pães fortificados, SAAB (25) verificou que praticamente não houve alteração, apesar de POMERANZ & SCHELLENBERG (22), utilizando 0,2% de lisina, observaram que houve uma ligeira redução no mesmo, enquanto que MATTHEWS et al (19), empregando 0,1 a 0,6% de lisina notaram um ligeiro aumento, embora este seja o único caso na literatura que indica aumento do volume.

SAAB (25) estudou, ainda, algumas características internas (granulometria, cor do miolo, aroma, gosto e textura do miolo) e externas (volume, cor da crosta, simetria ou forma, uniformidade de cozimento, aspecto da crosta e pestana) do pão enriquecido com diferentes níveis de adição de lisina (0,1 a 0,5%) e observou que em ambos os casos (interna e externamente) não houve diferenças significativas devido ao enriquecimento, com o emprego da análise de variância (teste F). A mesma autora (25), procurando quantificar a retenção de L-lisina-HCl no pão tipo francês (100 g) fortificado, mantendo constante: 1) formulação da massa (pão de água); 2) tempo de panificação, 20 minutos; 3) temperatura do forno, 220°C e 4) forma geométrica do pão, bengala e variando os níveis de adição de lisina (0,1 a 0,5%) obteve uma equação de regressão linear $Y = 0,05 + 0,92 X$, onde $Y = \%$ de L-lisina-HCl no pão fortificado e $X = \%$ de adição de lisina-HCl no pão, sendo o coeficiente de determinação (r^2) igual

a 0,9883, ou seja, 98,83% da variação pode ser explicada pela regressão.

PERSPECTIVAS

Com base na literatura consultada verifica-se que em geral os estudos compreendem um ou as vezes dois níveis de adição de lisina no pão. Apenas nos estudos de JANSEN et al (15, 16) e MATTHEWS et al (19) foi estudada uma faixa de adição de lisina-HCl. Nos estudos de JANSEN et al foi empregado um intervalo de 0,1-0,35% para pães feitos com 4% de leite em pó desnatado e de 0,1 a 0,4% para pães de água. Para o primeiro caso, em razão da não-linearidade das curvas em todos os pontos de adição, houve discrepância entre os valores obtidos pelo autor, 30% de perda de lisina, e aqueles calculados por SAAB (25), aproximadamente 13,7% de perda. Nos casos dos pães feitos com água, foi obtida a equação de regressão linear com 15% de perda, de maneira semelhante ao trabalho de SAAB (25). Pode-se no entanto, salientar que aqueles autores (15, 16, 19) utilizaram formulação diferente da empregada por SAAB (25) e ainda a lisina retida foi avaliada biologicamente.

Nos estudos de MURATA et al (20) a perda total de lisina foi estimada em 14%. A proporção média de miolo para casca foi cerca de 75: 25, sendo

obtido 46% de perda na casca e 5% de perda no miolo. O peso da massa usada no preparo do pão foi de 1,4 kg e o formato apresentado pelo pão, provavelmente tipo pão-de-forma (americano). Desse modo, poder-se-ia esperar menor perda em relação aos experimentos conduzidos por SAAB, onde o peso médio dos pães, tipo francês, foi cerca de 100 g apresentando possivelmente maior área superficial/unidade de massa. Entretanto, aqueles autores obtiveram perda maior, talvez por terem utilizado 5% de açúcar na formulação, e o tempo (43 minutos) foi superior ao de SAAB (20 minutos), embora a temperatura (210°C) tenha sido um pouco inferior (220°C).

Os cálculos de retenção de lisina merecem atenção, uma vez que podem ser distinguidos duas formas de perdas: 1) perdas absolutas, calculadas a partir da quantidade inicial em gramas de lisina, colocada na massa (em base seca) e comparadas com as correspondentes quantidades em gramas de lisina, do pão fortificado (em base seca); 2) perdas relativas, nas quais a concentração inicial de lisina (expressa em percentagem), ou seja, o nível de adição de lisina na massa é comparado com a percentagem final de lisina obtida no produto, após processamento térmico, desprezando-se a diminuição da massa total de pão após o processo de panificação.

TABELA I
COMPARAÇÃO DE AMINOÁCIDOS DA FARINHA DE TRIGO E DO OVO

AMINOÁCIDO	mg/g N ₂		TOTAL (a) RELAÇÃO DE	
	FARINHA DE TRIGO (b) (E)	OVO (A)	E/A x 100 "Escore"	
* Triptofano	67 (M)	—	—	
* Treonina	168	320	52,5	
* Isoleucina	228	393	58,0	
* Leucina	440	551	79,9	
* Lisina	130	436	29,8 **	
* Metionina + Cistina	250	362	69,1	
* Fenilalanina	304	358	84,9	
* Tirosina	145	260	55,8	
* Valina	258	428	60,3	
Arginina	221	381	58,0	
Histidina	130	152	85,5	

(a) — Referência: Amino-acid content of foods and biological data on proteins - FAO - 1976 (1).

(b) — Farinha de trigo com 70 - 80% de extração.

(M) — Método microbiológico. (Os demais por cromatografia de coluna)

* — Aminoácidos essenciais para o homem adulto.

** — Primeiro aminoácido limitante devido ao menor valor "Escore" em relação a outros aminoácidos essenciais.

Neste aspecto, a literatura fornece escassas informações, sendo às vezes omissa. Portanto, deve-se procurar estabelecer, tanto quanto possível, uma uniformização no cálculo da perda ou retenção de lisina para possibilitar uma comparação efetiva entre as diversas condições estudadas.

Em relação às perdas citadas na literatura, passada em revista neste trabalho, pode-se fazer as seguintes considerações:

— aumentando-se o teor de açúcar na formulação da massa, é bastante provável que haja um aumento na perda de lisina no pão fortificado

(8), possivelmente devido a uma concentração de açúcares redutores na superfície do pão. Além disso, as perdas parecem ser lineares nas faixas de adição normalmente empregadas (0,1 a 0,5%).

— analogamente, poder-se-ia prever comportamento similar para essas perdas, no caso de elevação do binômio tempo-temperatura (20).

— teores de lisina, que se afastam dos intervalos apresentados não foram mencionados, em vista de não apresentarem vantagens nutricionais (9).

Em virtude disso, parece estar patente a necessidade de maior pesqui-

sa no âmbito quantitativo, isto é, o estabelecimento de relações (modelagem matemática) entre as principais condições experimentais (açúcares, tempo-temperatura e geometria do pão) correlacionando-as com a retenção ou perda de lisina. Isto poderia ser obtido através de uma equação de regressão múltipla a partir de um delineamento estatístico apropriado. Desse modo, poderia ser evitada a repetição tediosa de experiências para determinação da perda de lisina, como acontece na literatura, onde em geral as formulações e o processamento seguem os procedimentos usuais de cada região.

TABELA II

PERDA DE LISINA DURANTE A PANIFICAÇÃO

ADIÇÃO DE LISINA ^a (%)	PERDA DE LISINA (%)	MÉTODO DE ANÁLISE DE LISINA	CONDIÇÕES DE PANIFICAÇÃO	REFERÊNCIA
0,20*	Não detectada	A	Comercial, 3% de leite em pó desnatado	ROSENBERG & ROHDENBURG, 1952 (24)
0,17	Não detectada	A	204-230°C; 30-35 minutos; pão de trigo integral	SABISTON & KENNEDY, 1957 (26)
0,32	Não detectada	A	190-220°C; 20-30 minutos; 3% de leite em pó desnatado	ERICSON et al, 1961 (9)
0,35	25	A	190-220°C; 20-30 minutos; 20% de xarope	ERICSON & LARSSON, 1961 (8)
0,24	30	A	232°C; 30 minutos; 4% de leite em pó desnatado	JANSEN et al, 1964 (15)
0,24	Não detectada	A	232°C; 20 minutos; 4% de leite em pó desnatado	JANSEN et al, 1964 (15)
0,24	15	A	232°C; 30 minutos; pão de água	JANSEN et al, 1964 (16)
0,48	Não detectada	A	210°C; 43 minutos; comercial	MURATA et al, 1979 (20)
0,20	32 (25-37)	M	Comercial — 3% de leite em pó desnatado	ROSENBERG & ROHDENBURG, 1951 (23)
0,20*	15 (10-24)	M	Comercial — 3% de leite em pó desnatado	ROSENBERG & ROHDENBURG, 1951 (23)
0,32 e 0,40	5-10	M	190-220°C; 20-30 minutos; 3% de leite desnatado	ERICSON et al, 1961 (9)
0,35	30	M	190-220°C; 20-30 minutos; 20% de xarope	ERICSON e LARSSON, 1962 (8)
0,24	18	Q	232°C; 20 minutos; 4% de leite em pó desnatado	JANSEN et al, 1964 (15)

1,28 0,8	26 – 30 11 – 22	Q Q	210°C 210°C	Essential Amino Acid Commitee (10)
0,24	16	Q	202°C; 70 minutos; fari- nha de trigo enriquecida c/ min. e vit.	CAKIRER & LACHANCE, 1975 (5)
0,48	14 ± 8 (5 ± 6 miolo) (46 ± 11 casca)	Q	210°C; 43 minutos; comer- cial	MURATA et al, 1979 (20)
0,08 e 0,48	25	—	227°C; 30 minutos	MATTHEWS et al, 1979 (19)
0,08; 0,16; 0,24; 0,32; e 0,40	11,3% para todos os níveis de adição	Q	220°C; 20 minutos; comer- cial pão tipo francês (pão de água)	SAAB, 1979 (25)

A – Bioensaios com animais
M – Métodos microbiológicos
Q – Métodos químicos

* – Proveniente da forma DL-lisina (Os demais provenientes da forma L-lisina).

a – Valores transformados de lisina monoclóridrato para lisina.

ABSTRACT

This review presents a comprehensive study of bread fortification with lysine considering formulation, addition and loss of lysine and bread characteristics (internal and external). The lack of standartization is the major problem to draw conclusion. A quantitative methodology (response surface analysis) including the experimental variables (sugar level, time-temperature and bread geometry) is suggested for present and future comparison purposes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMINO-ACID content of foods and biological data on proteins. Roma, FAO, 1976. (FAO: Nutritional Studies, 24).
- ARAO, O. *Fortification of flours with L-lysine: the AACCC 61st Annual Meeting*. Tokio, 1976.
- AUSTIN, J.E. Cereal fortification reconsidered. *Cereal Foods World*, 23 (5): 229-33, 265, 1978.
- BRASIL. Ministério da Fazenda Secretaria da Receita Federal. Coordenadoria do Sistema de Informações Econômicas Fiscais. *Comércio exterior do Brasil: importação*. Rio de Janeiro, 1979. v. 2.
- CAKIRER, O.M. & LACHANCE, P.A. Added micronutrients: their stability in wheat flour during storage and the baking process. *Bakers' Dig.*, : 53-7, Feb., 1975.
- CURITIBA. Sindicato da Indústria de Trigo do Estado do Paraná. *Capacidade de moagem registrada na Sunab, dos moinhos do Brasil*. Curitiba, 1979.
- EHLE, S.R.; HAUSE, N.L.; PAUL, D.E. (1959). Apud HULSE, J.H. The protein enrichment of bread and baked products. In: ALTSCHUL, A. M., ed. *New protein foods: technology*. New York, Academic Press, 1974. (Food Science and Technology) cap. 4 p. 201.
- ERICSON, L.E. & LARSSON, S. The loss of added lysine during the baking of a soft bread with an exceptionally high content of reducing sugar. *Acta physiol. scand.* 55: 64-73, 1962.
- ____ & LID, G. The loss of added lysine and threonine during the baking of wheat bread. *Acta physiol. scand.*, 53: 85-98, 1961.
- ESSENTIAL AMINO ACID COMMITTEE Apud MURATA, K. (1979) p. 273.
- FIGUEIREDO, N.M.S.; CAMPOS, S.D.S.; VITTI, P.; TRAVAGLINI, N.M.E.; CIAMPI, C.M.S. *Estudo técnico econômico da obtenção de farinhas mistas para uso em panificação*. Campinas, Instituto de Tecnologia de Alimentos, 1978. (Estudos Econômicos. Alimentos Processados, 9).
- GATES, J.C. & KENNEDY, B.M. Protein quality of bread and bread ingredients. *J. Am. diet. Ass.*, 44: 374-7, 1964.
- HEGSTED, D.M. Nutritional research on the value of amino acid fortification experimental studies in animals. In: SCRIMSHAW, N.S. & ALTSCHUL, A.M., eds. *Amino acid fortification of protein foods*. Cambridge, MIT, 1971. p. 157-204.
- JANSEN, G.R. The amino acid⁷ fortification of cereals. In: ALTSCHUL, A.M. ed. *New protein foods: technology*. New York, Academic Press, 1974. cap. 2 p. 39-120.
- ____, EHLE, S.R. & HAUSE, N.L. I. Loss in a standard white bread containing 4% nonfat dry milk. Studies of the nutritive loss of supplemental lysine in baking. *Fd. Technol.*, (367): 109-13, 1964.
- ____. II. Loss in water bread and in breads supplemented with moderate amounts of nonfat dry milk. Studies on the nutritive loss of supplemental lysine in baking. *Fd. Technol.*, (372): 114-7, 1964.
- KOIZUMI, N. & MORI, N. Prevention of L-lysine loss from lysine fortified bread by using various coating agents. *J. Jap. Soc. Fd. Nutr.*, 29 (4): 193-7, 1976.
- LUND, D.B. Effect of commercial processing on nutrients. *Fd. Technol.*, 33 (2): 28-34, 1979.

-
19. MATTHEWS, R.H.; RICHARDSON, G.; LICHTENSTEIN, H. (1969) Apud POMERANZ, Y. (1971) p. 209.
20. MURATA, K.; TAKARADA, S.; NOGAWA, M. Loss of supplemental lysine and threonine during the baking of bread. *J. Fd. Sci.*, 44 (1): 271-3, 1979.
21. OSBORNE, T.M. & MENDEL, L.B. (1914). Apud ROSENBERG, H.R. (1952). p. 461.
22. POMERANZ, Y. & SCHELLENBERGER, J.A. *Bread science and technology*. Westport, AVI, 1971. p. 209.
23. ROSENBERG, H.R. & ROHDENBURG, E.L. I. The loss of lysine during baking. *J. Nutr.*, 45: 593-8, 1951.
24. _____. The fortification of bread with lysine. II. Nutritional value of fortified bread. *Archs Biochem. Biophys.*, 37: 461-8, 1952.
25. SAAB, R.M.G.B. *O enriquecimento do pão francês com lisina HCl: estudo de propriedades físicas, químicas e organolépticas*. São Paulo, Universidade de São Paulo, 1979. 57 p. (Tese Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo).
26. SABISTON, A.D. & KENNEDY, B.M. Effect of baking on the nutritive value of proteins in wheat bread with and without supplements of nonfat dry milk and lysine. *Cereal Chem.*, 34: 94-110, 1957.
27. SATO, T. & EBISAWA, H. (1957) Apud MURATA, K. (1979) p. 273.
28. SCRIMSHAW, N.S. & ALTSCHUL, A. M., eds. *Amino acid fortification of proteins foods*. Cambridge, MIT, 1971.
29. ZENTNER, H. Influence of glycine and lysine on dough fermentation. *J. Sci. Agric.*, 12: 812-7, 1961.
-