



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE

CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE

UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE

CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA

**DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS EM SUPLEMENTOS
PROTEICOS ADVINDOS DO SORO DO LEITE**

PAULO CLEVERSON DE SOUZA REGO

CUITÉ – PB

2017

PAULO CLEVERSON DE SOUZA REGO

**DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS EM SUPLEMENTOS PROTEICOS
ADVINDOS DO SORO DO LEITE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Farmácia do Centro de Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande – Campus Cuité, como requisito obrigatório para obtenção de grau de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Júlia Beatriz Pereira de Souza

CUITÉ – PB

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

R343d Rego, Paulo Cleverson de Souza.

Determinação de proteínas em suplementos proteicos advindos do soro do leite. / Paulo Cleverson de Souza Rego. – Cuité: CES, 2017.

38 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2017.

Orientadora: Júlia Beatriz Pereira de Souza.

1. Proteínas. 2. Suplementos protéicos. 3. Método de quantificação. I. Título.

Biblioteca do CES - UFCG

CDU 543.384

PAULO CLEVERSON DE SOUZA REGO

**DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS TOTAIS EM SUPLEMENTOS PROTEICOS
ADVINDOS DO SORO DO LEITE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Bacharelado em Farmácia da Universidade Federal de Campina Grande – UFCG/CES como requisito obrigatório para obtenção do título de Bacharel em Farmácia

APROVADO EM 10/08/2017

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Júlia Beatriz Pereira de Souza
Orientadora
(UAS/CES/UFCG)

Prof^a. Dr^a. Maria Emília da Silva Menezes
(UAS/CES/UFCG)

Prof. Dr. Wellington Sabino Adriano
(UAS/CES/UFCG)

Dedico este trabalho a Deus, pois tudo só acontece na minha vida com a sua permissão.

AGRADECIMENTOS

Sou grato a Deus, por me abençoar e me proteger, por meu conhecimento e capacidade de questionar e evoluir meus pensamentos;

A agradeço aos meus pais por toda força e esforço para que eu chegasse até aqui, além do carinho e amor sempre demonstrado;

Aos meus irmãos Angleanne e Blaumer pelo apoio, cumplicidade e por sempre acreditar nos meus sonhos, me incentivando a realizá-los;

Ao meu sobrinho Eduardo, por ter trazido alegrias para a minha amada família e ser a maior razão do meu esforço;

À Coordenação do Curso de Bacharelado em Farmácia, seu corpo docente e demais funcionários do Centro de Educação e Saúde pela contribuição na minha formação acadêmica.

À minha querida orientadora Júlia Beatriz, por eu me identificar bastante, acredito que não seria outra pessoa a me orientar, senão ela pela paciência. Agradeço pelo encorajamento e todo conhecimento aplicado durante meu projeto de extensão e na elaboração deste trabalho;

Aos professores da banca examinadora Maria Emília e Wellington por me trazer tanta satisfação tê-los na minha banca examinadora e pela disponibilidade e generosidade de poder me avaliar;

À minha amiga Glória, que tanto facilitou meus trabalhos quando mais precisei;

Aos meus amigos que em Cuité formaram minha família, em especial a Joseph Neves, Joel Brito, Antônio Neto, Denner Alípio, Lima Junior, Jeovana Albuquerque, Nathália Andrade, Jessica Miranda e Rafaela Mendonça, pelos momentos de parceria e alegria;

A todos cuitenses que contribuíram de alguma forma para que concluir esta etapa em minha vida, em especial Vera, Verônica e Simonese. Serei eternamente grato a todos vocês.

“Um dia acaba, pois nenhuma reação é pra sempre.”

(Autor desconhecido.)

RESUMO

Atletas e praticantes de atividades físicas associam o consumo de suplementos proteicos a prática de atividades físicas para obter mais rapidamente melhores resultados. A comercialização de suplementos proteicos tem crescido bastante no Brasil, devido ao desejo de obtenção de músculos e melhores desempenhos em atividades físicas. Tendo em vista a variedade de suplementos proteicos no mercado, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a fidedignidade do teor de proteínas rotulado por meio do doseamento de proteínas totais, pelo método do Biuret. Foram utilizadas doze amostras de suplementos à base de proteínas do soro do leite, provenientes de diferentes fabricantes, obtidas por doação de consumidores denominadas de A à L. Os resultados obtidos revelam que as amostras A, K e L apresentaram não conformidade, por apresentarem teor de proteína fora dos limites permitidos ($\pm 20\%$). Os suplementos B, C, D, E, F, G, H, I e J apresentaram resultados dentro do teor permitido para comercialização. A partir dos dados obtidos das análises pelo método de biuret pode-se concluir que 25% das amostras de *whey protein* apresentaram resultados que refletem a falta de controle das indústrias produtoras de *whey protein*, principalmente as indústrias que apresentam falta de comprometimento na produção de seus suplementos, onde se pode ver que dois produtos da mesma marca apresentaram qualidade de solubilidade diferente, sendo o caso do suplemento C (melhor resultado) e K, esta reprovada e com problemas de solubilidade. Diante da necessidade dos usuários de produtos proteicos, o desenvolvimento de métodos confiáveis para determinação e quantificação das proteínas totais nos alimentos é essencial para a garantia da qualidade e segurança dos suplementos proteicos comercializados.

Palavras-chave: proteínas, suplementos proteicos, método de quantificação.

ABSTRACT

Athletes and physical activity practitioners associate consumption of protein supplements with physical activity to achieve better results faster. The commercialization of protein supplements has grown significantly in Brazil, due to the desire to obtain muscles and better performances in physical activities. In view of the variety of protein supplements on the market, the present work had as objective to evaluate the reliability of the protein content labeled by the total protein assay, using the Biutride method. Twelve samples of whey protein supplements from different manufacturers obtained by donation of consumers known as A to L. The results obtained show that samples A, K and L were non-compliant because they had a content of protein outside the allowed limits ($\pm 20\%$). The results showed that 25% of the samples of whey protein were obtained from the data obtained from the biuret method, Presented results that reflect the lack of control of the whey protein producing industries, mainly the industries that present lack of commitment in the production of their supplements, where it can be seen that two products of the same brand presented different solubility quality, being the case of the supplement C (best result) and K, this one fails and solubility problems. In view of the need of users of protein products, the development of reliable methods for determination and quantification of total proteins in foods is essential to guarantee the quality and safety of marketed protein supplements.

Keywords: Proteins, protein supplements, quantification method.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aspecto visual das 12 amostras de suplemento de <i>Whey Protein</i> analisadas.....	27
Figura 2. Gráfico representativo da curva de calibração do padrão de proteína em reativo de biureto a partir de dados obtidos em triplicata ($\lambda = 550 \text{ nm}$)	28
Figura 3. Representação gráfica da diferença entre o teor de proteína rotulado x teor encontrado nas amostras de suplemento de <i>Whey Protein</i> analisadas.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Avaliação entre o teor rotulado de proteínas com resultados obtidos pelo método de biureto.....	28
--	----

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Algumas substâncias que interferem na determinação de proteínas totais pelo método de biureto.....	24
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional De Vigilância Sanitária

g – Gramas

mg – Miligramas

mL – Mililitros

mm – Milímetros

dL – Decilitro

μL – Microlitro

nm – Nanômetro

% – Porcentagem

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo Geral	15
2.2 Objetivos Específicos	15
3. REFERENCIAL TEÓRICO	16
3.1 Proteínas	16
3.2 Suplementos proteicos	16
3.3 Consumo de proteínas	17
3.4 Tipos de Proteínas – <i>whey protein</i>	20
3.4.1 Classificação do <i>whey protein</i>	20
3.5 Rotulagem dos Suplementos proteicos	21
3.6 Principais métodos de quantificação de proteínas	22
3.6.1 Método de Biureto	23
4. METODOLOGIA	25
4.1 Amostras	25
4.2 Equipamentos	25
4.3 Vidrarias	25
4.4 Método de quantificação de proteínas totais pelo método de biureto ...	25
4.4.1 Preparação das amostras	26
5. RESULTADO E DISCUSSÃO	27
5.1 Curva de Calibração	27
6. CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS	34

1. INTRODUÇÃO

Na busca por uma melhor aparência física e por melhor qualidade de vida, atletas e praticantes de atividades físicas associam o consumo de suplementos proteicos a prática de atividades físicas para obter mais rapidamente melhores resultados (ALVES et al., 2012). Utilizam-se esses suplementos para substituição de proteínas da dieta, aumento do valor biológico das proteínas da refeição e principalmente por seus efeitos anticatabolizantes e anabolizante (MARANGON; MELO, 2012).

Dentre as fontes nutritivas mais completas, estão as proteínas que têm um papel fundamental no organismo, agindo na reparação e construção de tecidos. São essenciais em dietas para perder gordura e em exercícios físicos. Corresponde a aproximadamente 75% da matéria sólida do corpo (STANGARLIN et al., 2011).

O consumo de proteínas, quando aliada à atividade física ocasiona um aumento da performance, ganho de peso hipertrofia e prevenção da fadiga muscular, sendo que o *whey protein*, um produto composto pelo concentrado do soro do leite é a fonte mais consumida pelos praticantes de atividades físicas (LOVATO et al., 2014).

A comercialização de suplementos proteicos tem crescido bastante no Brasil, devido ao desejo de obtenção de músculos e melhores desempenhos em atividades físicas, em particular, os frequentadores de academia, sendo hoje o principal público a consumir esses produtos. Pesquisas mostram que mais de 70% dos atletas de academias fazem uso de suplementos alimentares sem qualquer orientação profissional, o que pode gerar riscos a saúde ao invés de benefícios. No Brasil, os usos abusivos de suplementos alimentares e drogas têm aumentado, sem qualquer prescrição médica ou orientação nutricional, profissionais qualificados para atuarem nesse contexto (SCHNEIDER et al., 2008.)

Hallak; Fabrine; Peluzio. (2012) salientam que as indústrias de suplementos proteicos apresentam seus produtos aos consumidores como uma forma de alcançar os resultados desejados em menor tempo, o que estimula uma maior procura desses produtos pelos atletas, o que gera maior uso indevido desses suplementos. A ingestão de proteínas é fundamental para o funcionamento do corpo, porém o excesso da proteína pode resultar em sérios problemas de saúde, como disfunções hepáticas e renais.

No entanto, tendo em vista a grande variedade de suplementos proteicos no mercado, devido à comercialização indiscriminada, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) promoveu em 2014 o monitoramento desses produtos, com o intuito de observar

se as proteínas comercializadas estavam dentro dos parâmetros, proibindo a distribuição e comercialização de 14 das 15 diferentes marcas analisadas de suplementos proteicos devido a diversos tipos de fraudes, onde os valores obtidos pelos testes de doseamento de proteínas se contradiziam com os valores encontrados nos rótulos dos produtos proteicos ou até mesmo presença de carboidratos em suplementos que acusavam não conter essa substância (BRASIL, 2014).

É relevante a importância de existir questionamentos sobre os suplementos proteicos comercializados no Brasil, com finalidade de conferir a fidedignidade das informações nutricionais contidas na rotulagem desses produtos, além dos monitoramentos da qualidade desses alimentos para que sejam atendidas as condições necessárias para a comercialização e consumo seguro dos suplementos (CRUZ, 2013).

Diante a necessidade dos usuários de produtos proteicos, o desenvolvimento de métodos confiáveis para determinação e quantificação das proteínas totais nos alimentos é essencial para a garantia da qualidade e segurança dos suplementos proteicos comercializados ou qualquer outro produto.

O intuito deste estudo foi de quantificar proteínas totais em suplementos proteicos consumidos por praticantes de atividades físicas, que foi realizado com 12 amostras de *whey protein* comercializados no Brasil. Todas as análises foram feitas em triplicatas, para assegurar um resultado preciso, visando comparar com os valores que foram encontrados nos rótulos de cada produto e assim observar a veracidade dos valores declarados nas suas embalagens.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Avaliar a autenticidade da rotulagem de suplementos alimentares proteicos, comercializados no Brasil, segundo a legislação brasileira vigente.

2.2. Objetivos específicos

- Avaliar a concentração de proteínas nos rótulos dos suplementos proteicos à base de proteínas do soro do leite, comercializados no Brasil, segundo a resolução n.18 de 2010 da ANVISA;
- Fazer o doseamento de proteínas totais em diferentes amostras de *Whey Protein* pelo método de biureto;
- Comparar os resultados encontrados com as informações impressas na rotulagem dos suplementos proteicos à base de proteínas do soro do leite.

3. REFERÊNCIAL TEÓRICO

3.1. Proteínas

As proteínas se caracterizam por ser o grupo mais abundante de macromoléculas, encontradas dentro e fora das células, e de importância vital aos seres vivos. Suas funções vão desde catálise de reações químicas, transporte de outras moléculas, transmissão de impulsos nervosos, proteção imunitária e função hormonal, entre outras. As proteínas são componentes essenciais a todos as células vivas e estão relacionadas a praticamente a todas as funções fisiológicas são necessárias na formação no crescimento e no desenvolvimento de tecidos corporais, na formação de enzimas que regulam a produção e a geração de energia (LOVATO et al., 2014).

Apresentam funções e estruturas diversificadas e são sintetizadas a partir de apenas 20 aminoácidos essenciais. São formados por conjuntos de 100 ou mais aminoácidos, que podem repetir entre si. Formam os hormônios, anticorpos, as enzimas (catalisam reações químicas) e os componentes estruturais das células. Encontram-se no tecido muscular, nos ossos, no sangue e outros fluidos orgânicos. As proteínas devem estar presentes na alimentação diária na faixa de 10 a 15% das calorias totais (BRASIL, 2008).

3.2. Suplementos proteicos

Os suplementos proteicos devem ser constituídos de, no mínimo, 65% de proteínas de qualidade nutricional equivalente às proteínas de alto valor biológico, sendo estas formuladas a partir da proteína intacta e/ou hidrolisada. Estes produtos podem conter vitaminas e ou minerais, além de carboidratos e gorduras, desde que a soma dos percentuais do valor calórico total de ambos não supere o percentual de proteínas (KUBOTANI, 2012).

A legislação vigente preconiza que o produto pronto para consumo deve conter, no mínimo, 10 g de proteína na porção e um limite de variação de 20% para mais ou para menos nas quantidades, segundo a Resolução n.18 de 27 de abril de 2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2010).

Entretanto, há ainda, uma deficiência de uma legislação rigorosa em relação aos suplementos alimentares que autorizam a sua venda sem receita médica falta de fiscalização periódica desses produtos e limites de variação mais estreitos em relação aos produtos

certificados pela ANVISA que hoje admite uma variação de 20% frente ao descrito no rótulo (LOVATO et al., 2014).

Ainda segundo a Resolução nº 18 de 27 de abril de 2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BRASIL, 2010) os alimentos proteicos devem obedecer alguns requisitos, ou seja, obter no mínimo 50% das calorias oriundas de proteínas; mínimo de 65% de proteína de alto valor biológico. É permitida adição de aminoácidos específicos para a correção do valor biológico. Opcionalmente, podem conter vitaminas e/ou minerais, além de poder conter carboidratos e gorduras desde que o somatório energético de ambos não ultrapasse o das proteínas (BRASIL, 2010).

Suplementos alimentares são considerados gêneros alimentícios indicados apenas em circunstâncias em que há impossibilidade de obter, a partir da dieta, um ou mais nutrientes em quantidade e disponibilidade necessária ao bom desenvolvimento ou manutenção da saúde. São facilmente encontrados em farmácias, academias, internet e lojas especializadas e, dependendo de sua categoria, podem ou não apresentar obrigatoriedade de registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e Ministério da Saúde (MS) (DALQUANO, 2006).

3.3. Consumo de proteínas

O mercado de suplementos alimentares e nutricionais no Brasil e no mundo tem crescido solidamente, em ritmo muito mais acelerado do que o de outros setores econômicos. Mesmo durante a crise econômica global iniciada em 2009, o setor de suplementos alimentares manteve ritmo acelerado de crescimento (ALMEIDA, 2014).

O consumo de suplementos alimentares tornou-se um fenômeno, as promessas de aumentar a força muscular, aumentar o desempenho, ou reduzir os excessos de gordura fizeram com que o consumo fosse otimizado, em treinamentos de força ou de atividades aeróbicas cíclicas os suplementos alimentares estão sempre presentes (PAGNONCELLI; GRIGOLLO; GRIGOLO, 2014).

O aumento do uso de suplementos proteicos cresce a cada dia devido à pressão da sociedade e da mídia em relação ao corpo padrão. As academias são os locais que favorecem a disseminação desses padrões estéticos estereotipados, como o corpo magro, com baixo percentual de gordura ou com elevado volume e tônus muscular (KUBOTANI, 2012).

Valendo destacar ainda que o consumo de suplementos ocorre, em sua maioria, pela indicação de professores de educação física, amigos ou pelo acesso à internet.

As proteínas presentes no mercado brasileiro de suplementos esportivos são normalmente compostas pelo concentrado proteico do soro, um produto com alto valor nutricional cuja concentração de proteínas varia entre 25 e 89%. (LOVATO et al., 2014).

O interesse da população por uma vida mais saudável vem crescendo nos últimos anos. Esta tendência está acompanhada do aumento da procura por alimentos com propriedades funcionais. Entre os mais recentes, encontram-se os suplementos nutricionais à base da proteína do soro do leite e da carne bovina, cujo efeito, segundo alguns autores, ocorre através do estímulo à síntese proteica devido ao maior aporte de aminoácidos essenciais (ALMEIDA et al., 2013).

A qualidade nutricional de uma proteína depende da sua composição, digestibilidade, absorção, biodisponibilidade de aminoácidos essenciais e de nitrogênios totais, sendo a digestibilidade o primeiro fator que reflete a eficiência da utilização proteica na dieta considerado um condicionante de qualidade (PIRES et al., 2006).

As principais funções biológicas das proteínas do soro do leite bovino incluem: reparação celular, construção e reparação de músculos e ossos, geram energia, essencial para quem pratica atividades físicas, além de outros benefícios que estão ligados a processos metabólicos do corpo, como atividade imunoestimulante, proteção ao sistema cardiovascular e atividade antimicrobiana e antiviral (ALMEIDA et al., 2013).

A proteína tem sido consumida em altas quantidades por atletas de várias modalidades, um fato preocupante em vista dos riscos que o consumo excessivo pode trazer à saúde, uma vez que acreditam que o maior consumo de suplementos proteicos está relacionado com a aceleração do desempenho muscular e o seu melhoramento (OLIVEIRA, 2010). Mas, segundo Dalquano (2006), até o momento não há um consenso de que existe uma relação direta entre o consumo de proteínas e desempenho do atleta, pois é observado que a pequena quantidade de proteína necessária para o desenvolvimento muscular durante o treinamento é facilmente atingida por uma alimentação balanceada regular.

Os promissores resultados que os fabricantes de suplementos protéticos têm encorajado o uso e aumentado a oferta de tais produtos no mercado, sem que haja uma legislação adequada para controlar esse mercado. A atuação dos profissionais de saúde e a educação do público em geral contribuem grandiosamente para que haja o uso seguro e eficiente desses produtos (ANVISA, 2014).

Para os fisiculturistas ou pessoas interessadas em aumentar a massa corporal, a mitologia das necessidades aumentadas de proteínas na dieta é assustadora. Os levantadores de peso consomem algo entre 1 g e 3,5 g de proteína por quilograma de peso corporal por dia e a maioria desta proteína está na forma de suplemento (ALMEIDA, 2014).

A utilização de suplementos com proteínas e aminoácidos comerciais tem aumentado entre os atletas e esportistas, tendo como objetivo a substituição de proteínas da dieta, o uso para aumentar o valor biológico das proteínas da refeição e, ainda, por seus efeitos anticatabolizantes e anabolizantes (MENON; SANTOS, 2012).

Os principais objetivos do consumo de suplementos entre os praticantes de atividades físicas é aumento do desempenho, ganho de peso, hipertrofia, definição e prevenção da fadiga muscular devido ao estresse oxidativo, sendo que o *whey protein* é a fonte consumida por mais de 60% dos consumidores (LOVATO et al., 2014).

Os suplementos dietéticos proteicos são classificados como alimentos para praticantes de atividade física, segundo a RDC 18/2010 (BRASIL, 2010). Nesse novo grupo foram incluídos, além da proteína, os suplementos energéticos, hidroeletrólíticos, substitutos parciais de refeições, creatina, cafeína e outros que podem ser autorizadas desde que haja segurança no uso e eficácia cientificamente comprovada (BRASIL, 2010).

As proteínas industrializadas são os suplementos alimentares mais consumidos por praticantes de atividade físicas, deve haver um controle efetivo das indústrias para que haja a conformidade com a legislação. Os consumidores que procuram uma maneira rápida e fácil para perder peso, ganhar massa muscular, melhorar a aparência ou mesmo obter outros benefícios à saúde devem ficar atentos à publicidade, pois em geral esses produtos não cumprem os benefícios anunciados e podem causar danos graves à saúde por conterem ingredientes que não são seguros para serem consumidos como alimentos ou, ainda, conter substâncias com propriedades terapêuticas, que não podem ser consumidas sem acompanhamento médico (ANVISA, 2014).

3.4. Tipos de proteínas – *whey protein*

O soro do leite é o líquido residual extraído a partir da coagulação do leite destinado à fabricação de queijos ou de caseína e pode ser obtido através de três processos principais: coagulação enzimática, resultando na precipitação de caseínas, matéria-prima para a produção de queijos; precipitação ácida ao atingir o pH isoeletrico da caseína; separação física das micelas de caseína por microfiltração (ALMEIDA et al., 2014).

Possuem alto valor nutricional, contendo alto teor de aminoácidos essenciais, especialmente os de cadeia ramificada. Entre os diferentes procedimentos de extração de proteínas do soro do leite, o *whey protein* pode ser classificado como *Whey Protein Concentrate* (WPC), produto processado por ultra filtração e composto de 35 a 80% de proteína; o *Whey Protein Isolate* (WPI), formulação proteica com mais de 90% de proteína em sua composição, obtido por troca iônica e diafiltração; e o *Whey Protein Hydrolyzate* (WPH), em sua composição apresenta cadeias de proteínas quebradas em menores segmentos, chamados peptídeos (OLIVEIRA et al., 2015).

3.4.1. Classificações do *whey protein*

Segundo Haraguchi; Abreu; Paula (2009) Carrilho (2013); Oliveira (2015); Vloger (2015) os diferentes tipos de *whey protein* podem ser classificados em:

- Proteína de soro de leite concentrada: não é considerada a proteína mais pura por passar por um processo mínimo de filtragem durante o seu processamento. Ela contém lactose, gorduras, carboidratos e minerais. Devido ao processo mínimo de filtragem, conservam-se mais frações benéficas da proteína do soro. É recomendada para quem está em dieta de redução calórica e foco em ganho de massa muscular. Quanto ao valor, é mais econômica entre as demais.
- Proteína de soro de leite isolada: apresenta praticamente 100% de pureza. Para se obter esse tipo de proteína, o soro é passado por processos mais rígidos de filtração, onde é eliminado o colesterol, gorduras, lactose e hidratos de carbono, aumentando assim o nível de proteína. Considerada uma proteína completa, possui todos os aminoácidos necessários para uma dieta, é isenta de carboidratos (lactose), auxilia na definição e na construção muscular.

Proteína funcional isolada, ideal para fortificação em nutrição clínica e esportiva. Apresenta alta estabilidade no aquecimento e forma soluções claras.

- Proteína de soro de leite hidrolisada: Tanto as Proteínas Concentradas quando as Isoladas podem ser Hidrolisadas. O processo de hidrólise consiste na quebra das moléculas de proteínas em peptídeos menores por processos químicos ou enzimáticos, o que torna a absorção mais fácil e completa pelo organismo. As proteínas Lacprodan WPH DI 3071 e Lacprodan Hydro 365 se destacam, ambas de alto valor nutricional, adequadas para nutrição clínica e esportiva, formam soluções de baixa viscosidade e possuem alta estabilidade térmica. Com destaque para Lacprodan Hydro 365, nova geração de hidrolisados, que é composta de peptídeos de cadeia curta, alto conteúdo de di e tripeptídeos e de sabor neutro.

3.5. Rotulagem dos suplementos proteicos

A rotulagem nutricional facilita ao consumidor conhecer as propriedades nutricionais dos alimentos, contribuindo para um consumo adequado dos mesmos. Devido a isso, as indústrias responsáveis pelos suplementos proteicos comercializados no Brasil devem se adequar de acordo com as leis vigentes no país, seguindo rigorosamente os regulamentos da ANVISA para que as quantidades declaradas na rotulagem sejam realmente verdadeiras com as quantidades encontradas no produto (LEITE, 2015).

A composição de rotulagem é considerada um elemento fundamental para a saúde pública, pois identifica a origem, as características nutricionais e composições dos produtos, meios pelos quais o consumidor é orientado sobre a qualidade e quantidade de nutrientes do alimento, o que propicia ao consumidor escolha mais apropriada, sendo indispensável à fidedignidade das informações apresentadas nos rótulos dos produtos (BRASIL, 2003).

A rotulagem dos alimentos permite ao consumidor, o acesso às informações nutricionais obrigatórias e aos parâmetros indicativos de qualidade e segurança de seu consumo. Bem como, o acesso a essa informação atende as exigências da legislação sanitária vigente e impulsiona investimento, por parte da indústria, na melhoria do perfil nutricional dos produtos, cuja composição declarada pode influenciar o consumidor quanto à sua aquisição (BRONZATTO et al., 2014).

O Regulamento Técnico da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estabelece a obrigatoriedade de declaração da quantidade do valor energético e de alguns

nutrientes, como carboidratos, proteínas, gorduras totais, gorduras saturadas, gorduras *trans*, fibra alimentar e sódio nos rótulos de suplementos proteicos (BRASIL, 2014).

Segundo a Resolução - RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003 (BRASIL, 2003) rotulagem nutricional é toda descrição destinada a informar ao consumidor sobre as propriedades nutricionais de um alimento. A rotulagem nutricional compreende: a declaração de valor energético e nutriente e a declaração de propriedades nutricionais.

Além do mais, nos rótulos de todos os produtos previstos neste regulamento deve constar a seguinte frase em destaque e negrito: "Este produto não substitui uma alimentação equilibrada e seu consumo deve ser orientado por nutricionista ou médico" (BRASIL, 2010).

3.6. PRINCIPAIS MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍAS

Existem vários métodos para a determinação de proteínas totais, que foram desenvolvidos para diferentes amostras, tais como células bacterianas (Biureto), proteínas dissolvidas (Bradford), alimentos (Biureto, Lowry, Bradford), plasma sanguíneo (Biureto, Lowry, Bradford), plantas (Lowry), entre outras (MIWA; FALCO; CALIJURI, 2008).

O método de Lowry se baseia numa mistura de molibdato, tungstato e ácido fosfórico (reagente de Folin Ciocalteu) que sofre uma redução quando reage com proteínas, na presença do catalisador Cu^{+2} e produz um composto em absorção máxima de 750 nm. Os aminoácidos cromógenos são tirosina e triptofano. O método de Lowry é altamente sensível, consome uma menor quantidade de amostras e dependendo do caso está menos suscetível a alguns tipos de interferentes (ZAIA; ZAIA; LICHIG, 1998).

Apesar dessas vantagens, o método apresenta longo tempo de análise, possui absorvidade específica altamente variável para diferentes proteínas e segue a lei de Lambert-Beer apenas numa pequena faixa de concentração de proteínas (LOWRY, 1951). Outra desvantagem do método seria a interferência dos íons magnésio (Mg^{2+}) e cálcio (Ca^{2+}). A hipótese para a interferência do cálcio não está muito bem definida, mas a do magnésio seria que o íon magnésio liga-se a proteína e a alguns constituintes do reagente B de Lowry e assim reduz a sua sensibilidade ao reagente de Folin (XIE; BURNELL, 1994).

No método de Bradford, as leituras são feitas a 595 nm e o limite de detecção é de 2×10^{-5} mg.L⁻¹ (WILSON; WALKER, 2000). Ocorre ligação do corante azul de Coomassie BG-250 com grupos funcionais básicos ou aromáticos das proteínas. Para isto ocorrer, a proteína deve ter estrutura macromolecular, ou seja, de 8-9 ligações peptídicas no mínimo. A

ligação ocorre em dois minutos e esta dura aproximadamente duas horas (BRADFORD, 1976).

Segundo Zaia; Zaia; Lichig (1998), no pH de reação, a interação entre a proteína de alto peso molecular e o corante provoca o deslocamento do equilíbrio do corante para a forma aniônica, que absorve fortemente em 595 nm.

O método de Bradford, é mais rápido e sensível que o de Lowry e tem sido utilizado para a determinação de proteínas totais em diversos meios: plasma ou soro sanguíneo, líquido, saliva humana, produtos alimentícios, leite humano, tecidos de plantas, suspensões de células, avidina e estreptavidina, urina e detergentes (ZAIA; ZAIA; LICHIG, 1998).

3.6.1. Método de biureto

O método se baseia na reação do reativo do biureto, que é constituído de uma mistura de cobre e hidróxido de sódio com um complexante que estabiliza o cobre em solução. (GORNALL; BARDAWILL; DAVID, 1949). O cobre, em meio alcalino, reage com proteínas formando um complexo quadrado planar com a ligação peptídica. O produto de reação apresenta duas bandas de absorção, uma em 270 nm e outra em 540 nm. Apesar da banda na região de 270 nm aumentar em seis vezes a sensibilidade do método do biureto, a banda na região de 540 nm é a mais utilizada para fins analíticos, porque diversas substâncias, normalmente presentes na maioria dos meios analisados, absorvem na região de 270 nm causando muita interferência no método (ITZHAKI; GILL, 1964).

O método de biureto tem sido aplicado para determinar a concentração de proteínas totais em diversos meios, sendo eles: soro ou plasma sanguíneo, líquido cérebro espinhal (líquor), urina, alimentos, saliva, fibrinogênio e tecido animal. O método de biureto tem sido também, utilizado em análise por injeção em fluxo, assim como em alguns métodos cinéticos. Apesar de ser rápido, utilizar reagentes de baixo custo e não apresentar grande variação da absorvidade específica para diferentes proteínas, este método não é muito sensível, colocando-o em grande desvantagem, em relação a outras metodologias, e por isto tem sido, ao longo dos anos, substituído por métodos mais sensíveis. Mesmo assim, o método de biureto continua sendo recomendado para a determinação da concentração de proteínas totais em plasma sanguíneo pela Associação Americana de Análises Clínicas e por diversos autores, bem como para a determinação de proteínas totais em saliva e leite, quando comparado com outros métodos (ZAIA; ZAIA; LICHIG, 1998).

Observa-se que o método de biureto está sujeito à interferência de substâncias que possam reagir com os íons cobre (II).

Quadro 1. Algumas substâncias que interferem na determinação de proteínas totais pelo método de biureto.

Interferentes	Comentários
Bilirrubina	Absorve em 540 nm, sério interferente acima de 70 mg/L.
Amônio	Sulfato de amônio usado como precipitante de proteínas; em meio alcalino amônia complexa cobre.
Lipídios	Provoca turbidez nas amostras, com consequente aumento da absorção das mesmas.
Hemoglobina	Aumenta a absorção das amostras.
Dextran -40 e 70	Causa turbidez nas amostras, em meio alcalino com tartarato, devido à formação de um complexo insolúvel entre o dextran e cobre.
Peptídeos e aminoácidos livres (His, Ser, Thr)	Reagem com cobre, sendo interferentes em métodos baseados em cinética de reação.
Melanina	Provoca falso positivo
Tampão tris-HCL e glicose	Reage com o cobre presente no reativo de biureto.
Lactose	Provoca falso positivo.
Amido	Provoca falso positivo.

Fonte: ZAIA; ZAIA.; LICHIG, 1998.

Dessa forma, o método de biureto foi a metodologia utilizada para a quantificação de proteínas totais nos suplementos proteicos vindos do soro do leite, pretendendo-se chegar nos resultados mais fidedignos possíveis.

4. METODOLOGIA

4.1. Amostras

Foram utilizadas doze amostras de suplementos à base de proteínas do soro do leite, provenientes de diferentes fabricantes, sendo utilizada três porções (5 g cada), obtidas por doação de consumidores e denominadas de A a L.

4.2. Equipamentos:

- Balança analítica, mod. AY 220, Marte, Minas Gerais – BR;
- Espectrofotômetro UV-Vis Biospectro SP-220.

4.3. Vidrarias

- Balão volumétrico de, 100 mL, 10 mL, 5 mL
- Béquer de 1000 mL;
- Funil de vidro;
- Bastão de vidro;
- Micropipetador.

4.4. Método de quantificação de proteínas totais pelo método de biureto

A metodologia da análise estabelece que as amostras dos suplementos proteicos para atletas foram avaliadas quanto ao teor de proteínas totais pelo método de Biureto. Para esse método, foi utilizado o Kit reagente de proteínas totais (solução padrão proteínas totais 5,0 g/dL e reagente de Biureto) da marca Biotécnica, seguindo-se a técnica de uso a qual acompanha o kit.

Foi construído o gráfico da linearidade (concentração da solução x absorbância), através da média de três curvas de calibração utilizando concentrações de 1,0, 1,5, 2,0, 2,5, 3,0 mg/mL do padrão de proteínas totais. Após o tempo de 10 minutos, foi realizada a leitura em espectrofotômetro visível no comprimento de onda de 550 nm, conforme especificado no

kit. A partir da equação da reta obtida por regressão linear, foi realizado o cálculo do teor de proteínas totais das amostras.

4.4.1. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

- Todas as amostras foram analisadas em triplicata;
- Foi preparada uma solução estoque de concentração de 50 mg/mL;
- Houve a etapa de filtração e a partir do filtrado foi coletado 200 μ L e diluído e 5 mL em reagente biureto;
- Foi deixado reagir por 10 minutos, como indicado no kit;
- Em seguida foi levada a solução para leitura no espectrofotômetro.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação da concentração acusada nos rótulos dos suplementos a base de soro do leite foi realizada pelo método de biureto. Foram utilizadas 12 amostras, algumas com marcas em comum, de abrangência nacional, obtidas por meio de doações de praticantes de atividades físicas. Foram identificadas como amostras A, B, C, D, E, F, G, H, I, K e L (figura 1).

Figura 1. Aspecto visual das 12 amostras de suplemento de *Whey Protein* analisadas.



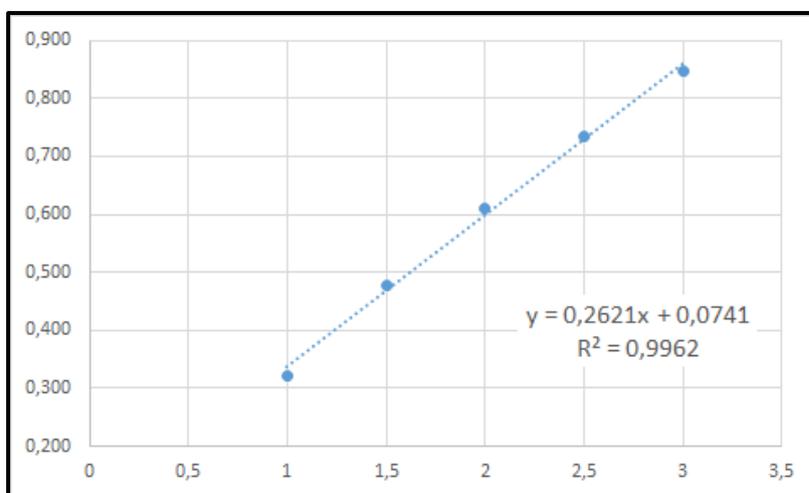
Fonte: Próprio autor, 2017.

5.1. Curva de Calibração

A curva de calibração utilizada para determinação do teor de proteínas nas amostras analisadas está representada na Figura 2. Foi obtida empregando-se soluções de padrão de proteína total nas concentrações de 1 a 3 mg/mL, tendo apresentado coeficiente de correlação (r^2) superior a 0,99 e Coeficiente de Variação de 2,31%, o que demonstra linearidade e

precisão aceitáveis na faixa estudada, conforme especificado pela Resolução 899 (BRASIL, 2003).

Figura 2. Gráfico representativo da curva de calibração do padrão de proteína em reativo de biureto a partir de dados obtidos em triplicata ($\lambda = 550 \text{ nm}$).



Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Os dados encontrados a partir das análises feitas nas 12 amostras de suplementos de *whey protein* estão expressos na tabela a seguir:

Tabela 1. Avaliação entre o teor rotulado de proteínas com resultados obtidos pelo método de biureto.

Amostra	Teor rotulado (%)	Teor encontrado		Diferença (%)
		(%)	CV (%)	
A	100	74,16	2,29	- 25,84
B	90	70,27	2,52	- 19,73
C	90	88,89	1,91	- 1,11
D	38	53,23	5,33	+15,23
E	74,07	84,03	3,93	+9,96
F	83,33	78,67	2,62	- 4,66
G	77,5	88,43	6,19	+10,93
H	75	76,53	6,15	+1,53
I	37,5	46,06	6,06	+8,56
J	76,67	84,48	4,41	+7,81
K	80	59,49	2,42	- 20,51
L	63,33	29,19	5,72	- 34,14

Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

De acordo com a metodologia empregada neste trabalho, os resultados das amostras A, K e L apresentaram teor de proteínas totais abaixo do permitido ($\pm 20\%$), sendo essas *whey proteins* consideradas reprovadas.

Apesar da presença de interferentes na composição das amostras, tais como, lipídios, lactose ou amido, os quais podem levar a um aumento da absorção espectrofotométrica pelo método de Biureto, os dados obtidos no presente estudo, revelaram teores de proteínas, tanto abaixo como acima dos valores rotulados, nas mesmas condições de análise. Contudo, sugere-se a realização de estudos adicionais comparativos utilizando outras metodologias para determinação de proteínas totais.

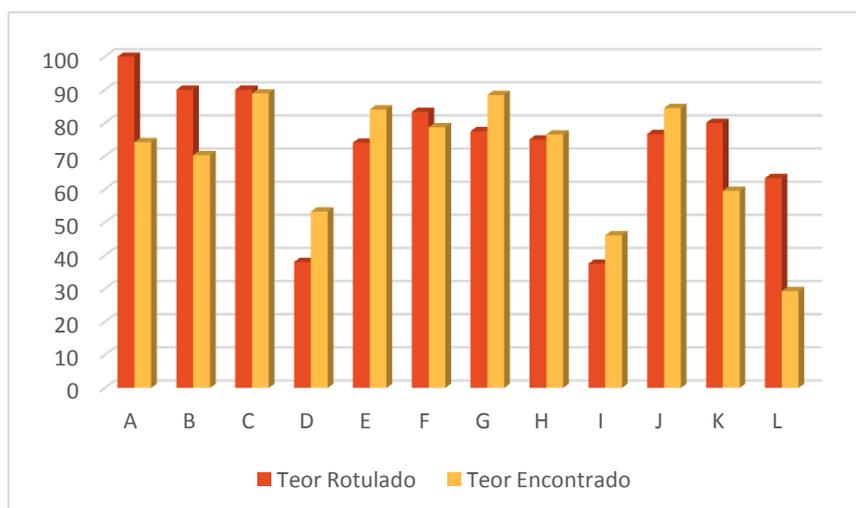
Os valores de coeficiente de variação das amostras F, G, H e K, nas mesmas condições de análise das demais amostras, apresentaram-se acima de 5% , o que pode refletir um problema de homogeneidade das amostras, pois diferem dos valores de repetição obtidos tanto para a curva de calibração, quando para as demais amostras.

A análise dos suplementos proteicos foi realizada com o objetivo comparativo entre os resultados obtidos e os resultados apresentados nos rótulos. 75% dos suplementos proteicos analisados foram aprovados, com diferença de teor variando de $1,1\%$ a $19,73\%$. Sendo que 6 amostras (D, E, G, H, I e J), com teor acima do rotulado variando de $1,53\%$ a $15,23\%$ e 3 amostras (B, C e F), apresentando teor abaixo do rotulado variando de $1,11\%$ a $19,73\%$ de diferença. Apesar dessa variação tão divergente, as nove amostras encontravam-se dentro do teor permitido para comercialização, estando de acordo com a variação da Resolução nº 360 da ANVISA estabelece que a diferença entre os valores declarados e aqueles efetivamente presentes deve ser de no máximo 20% , para mais ou para menos (BRASIL, 2010). Os suplementos C, F e H apresentaram os melhores resultados entre amostras aprovadas, com variação respectiva de $1,1\%$, $4,66\%$ e $1,53\%$ da concentração acusada no rótulo, dando maior destaque a amostra C, devido a sua maior fidedignidade com o valor rotulado.

Em relação às proteínas recusadas no teste, as amostras A, K e L (25%), os valores declarados pelo fabricante e a quantidade efetiva encontrada, apresentaram diferença de teor inferior ao expresso no rótulo e fora do limite de 20% permitido, salientando que o suplemento L foi a amostra com pior resultado no estudo ($34,14\%$) estando assim fora dos parâmetros estabelecidos pela resolução nº 360 da ANVISA.

Dessa forma, os produtos continham menos ou mais proteínas do que o apresentado no rótulo ao consumidor, conforme apresentado na figura 3.

Figura 3. Representação gráfica da diferença entre o teor de proteína rotulado x teor encontrado nas amostras de suplemento de *Whey Protein* analisadas.



Fonte: Dados da pesquisa, 2017.

Durante a realização deste estudo, foram observados problemas de solubilidade nas amostras de suplementos D e K, pois foram as únicas que apresentavam dificuldade de filtração, durando até três vezes mais tempo que os outros suplementos.

Outra observação importante foi que entre todas as amostras de suplementos, duas eram da mesma marca (C e K), mas apenas a amostra mais popular, ou seja, a de menor custo apresentou problemas de solubilidade. O filtrado dessa proteína era quase incolor, muito diferente das outras que sempre apresentavam cor semelhante à solução estoque antes da filtração. A leitura dessas amostras confirmou a suspeita de que tais amostras de proteínas estavam com problemas de solubilidade, pois foram as únicas que não reagiram com o biureto e que tiveram valores quase nulos no espectrofotômetro. Para resolver esse problema, houve uma alteração no método, tornando esses dois suplementos peculiares em relação a metodologia empregada, pela alteração da sequência da etapa de filtração, que foi realizada somente após a etapa de reação com o biureto, etapa que antecede a leitura. Essas alterações possibilitaram a obtenção de resultados adequados, solucionando, o problema de solubilidade apresentado nas amostras C e K.

Problemas na solubilidade de suplementos proteicos comprometem sua funcionalidade, o que pode acarretar em resultados desfavorável para o usuário, devido a uma má absorção provocada por esses problemas. A baixa solubilidade das proteínas em pH estomacal é importante para o processo de coagulação. Devem-se formar coágulos firmes, mas suficientemente macios para uma apropriada digestão no intestino delgado. A formação

inapropriada de coágulos pode causar crescimento descontrolado de bactérias e desordens intestinais (OLIVEIRA, 2010).

Segundo Pelegrine e Gasparetto (2003) a diminuição na solubilidade proteica afeta de maneira desfavorável a sua funcionalidade. Por exemplo, a gelatinização e a viscosidade resultam das propriedades hidrodinâmicas das proteínas, que por sua vez são afetadas pelo tamanho e forma da proteína e são independentes da composição e distribuição dos aminoácidos.

Dentre os vários termos utilizados para designar a solubilidade proteica, encontram-se: proteínas solúveis em água (WPS), proteínas dispersas em água (WDP), índice de dispensabilidade da proteína (PDI) e índice de solubilidade do nitrogênio (NSI) (PELEGRINE; GASPARETTO, 2003)

É importante ratificar a questão das não conformidades dos suplementos proteicos, ou seja, a falta denexo entre a concentração encontrada nos testes com a concentração de proteínas acusada no rótulo. Uma das marcas afirmava que em uma porção do suplemento continha 100% de proteínas, entrando em discordância com os resultados obtidos, sendo revelado que apresentava apenas 74,16%, esse é o exemplo do suplemento A. No caso do suplemento D, o fabricante afirmava que em uma porção do suplemento continha 38% de proteína, sendo encontrada uma quantidade superior ao declarado: 53,23%.

Com relação à divergência dentre a concentração de proteínas rotulada e a encontrada nas amostras, reflete um tipo de falha que pode comprometer tanto o resultado esperado de um atleta por conter um percentual inferior ao necessário, como também levar a sérios danos de saúde ao consumidor, por conter mais proteínas que o necessário. Isso acaba tornando a conduta do nutricionista complicada, pois esse profissional faz toda a anamnese do paciente e chega a um resultado, sendo necessário prescrever um suplemento proteico para um paciente que não pode ultrapassar a quantidade necessária diária. Mas, o papel das indústrias não responsáveis podem comprometer tanto a conduta do profissional, quanto a saúde ou resultados estéticos que um atleta almeja.

Segundo Marchioni et al. (2004) a ingestão proteica acima das necessidades orgânicas leva ao aumento das reações catabólicas de seus aminoácidos, desencadeando a produção de subprodutos como ureia (H_2NCONH_2), trifosfato de adenosina (ATP), gás carbônico (CO_2), glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$); acetil coenzima A e corpos cetônicos. Alguns destes subprodutos podem resultar em efeitos adversos ao organismo. Proteinúria é a manifestação clínica mais comum do dano glomerular, que frequentemente progride para níveis tão altos quanto na síndrome

nefrótica e é descrita por uma circunstância em que a urina contém uma quantidade anormal de proteínas (MAGALHÃES, 2007).

A perda da função renal é diretamente relacionada à quantidade de proteinúria e, quando associada à hipertensão arterial e/ou diabetes mellitus, agrava o prognóstico da doença renal. Atualmente, tem sido também apontada como possível biomarcador de doença cardiovascular. O aumento na ingestão proteica pode ter relação direta ou indireta com o diagnóstico de proteinúria, uma vez que esse aumento promove maior oferta de produtos metabólicos e das próprias proteínas disponíveis no organismo, no caso, na urina, além de poder provocar também a acidose metabólica, uremia e outras complicações. Além disso, é recomendado valores entre 0,8 – 1,8g/kg de proteínas por dia. Esses valores abrangem a necessidade desde pessoas sedentárias até atletas de alto rendimento (MAGALHÃES, 2007; MENDES; BREGMAN, 2010).

A partir dos dados obtidos das análises pelo método de biureto, pode-se observar que 25 % das amostras de *whey protein* (3) apresentaram resultados que refletem a falta de controle de qualidade das indústrias produtoras de *whey protein* quanto à composição centesimal dos produtos. Alertando para as indústrias que apresentam falta de comprometimento na produção de seus suplementos, onde se pode ver que dois produtos da mesma marca apresentaram qualidade de solubilidade diferente, sendo o caso do suplemento C (melhor resultado) e K, observado que esta foi reprovada e com problemas de solubilidade.

É necessário que as indústrias sigam a legislação vigente de variação rótulo/realidade dos teores proteínas, uma vez que das 12 marcas analisadas, 5 delas se encontraram de acordo com as concentrações impressas nos rótulos. O nutricionista, portanto, deve ter uma visão crítica em relação a esses produtos, pois é esse profissional que prescreve com melhor racionalidade para pacientes. Conhecer a composição centesimal desses suplementos amplia a visão do profissional e também do consumidor, proporcionando através do conhecimento, a escolha adequada de suplementos proteicos.

Dessa forma, é de grande importância que as indústrias tornem mais rigorosos seus sistemas de produção e controle da qualidade para que entrem em acordo com a legislação vigente, aliado a uma fiscalização mais efetiva da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, resultariam em produtos com uma melhor qualidade comprovada, resultando em maior fidelidade e confiabilidade por parte dos consumidores.

6. CONCLUSÃO

Os dados obtidos permitiram avaliar a autenticidade da rotulagem de suplementos alimentares proteicos, comercializados no Brasil, segundo a legislação brasileira vigente.

- Das 12 amostras analisadas, 3 (25 %), encontravam-se fora dos limites permitidos pela legislação vigente;
- O doseamento de proteínas totais das amostras de *Whey Protein* pelo método de Biureto apresentou resultados satisfatórios dentro das condições experimentais empregadas com $r^2 = 0,9968$ e $CV = 2,31 \%$;
- Os resultados encontrados revelaram divergência variando de 1,11 a 34,14% com relação às informações impressas na rotulagem, no entanto 75% das amostras (9) encontravam-se dentro dos limites de variação permitidos ($\pm 20 \%$).

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, C. C. Avaliação de suplementos nutricionais à base de whey protein. **Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação da Universidade Federal Fluminense**, Niterói - RJ, 2014.

ALMEIDA, C. C.; CARLOS ADAM CONTE, C. A.; SILVA, A. C. O.; ALVARES, T. S. Proteína do soro do leite: composição e suas propriedades funcionais. **Enciclopédia biosfera**, v.9, n.16, 2013.

ALVES, O. T; MATOS, E. P; BARBOSA, K. V. S; CARDOSO, F. T; SOUZA, G. G; SILVA, E. B. Estimativa do consumo de proteínas e suplementos por praticantes de musculação em uma academia da Baixada Fluminense, Rio de Janeiro. **Corpus et Scientia**, v. 8, n. 1, p. 1-10, 2012.

ANVISA. **Alimentos para atletas, 2014**. Disponível em: <https://goo.gl/oMzEUj>. Acesso: 17 de junho de 2017.

ANVISA. **Suplementos alimentares, 2015**. Disponível em: <https://goo.gl/qmRcvo>. Acesso: 15 de junho de 2017.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.

BRASIL, **Ministério do desenvolvimento, indústria e comércio exterior. Instituto nacional de metrologia, qualidade e tecnologia – Inmetro**. Programa de análise de produtos: Relatório final sobre a análise em suplementos proteicos para atletas – Whey protein, 2014

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. . **Guia alimentar para a população brasileira: promovendo a alimentação saudável**. Brasília : Ministério da Saúde, 2008.

BRASIL. RDC n. 360, de 23 de dezembro de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento técnico sobre rotulagem nutricional de alimentos embalados**. Resolução de Diretoria Colegiada.

BRASIL. RDC n.18, de 27 de abril de 2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Dispõe sobre alimentos para atletas**. Resolução de Diretoria Colegiada.

BRASIL. RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**.

BRONZATTO, M. J.; GOULART, J. Q; FERREIRA, J. I.; PINTO, A. T. Análise da adequação de rotulagem de ovos de postura comercial comercializados no município de Itajaí/SC. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 12, n. 1, p. 49-49, 2014.

CRUZ, K. C. **Avaliação de suplementos nutricionais à base de proteína hidrolisada e aminoácidos livres**. Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2013.

DALQUANO, E. C. **Avaliação nutricional e da composição corporal de atletas brasileiros de luta olímpica durante competição. Dissertação de Mestrado**. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Paraná, 2006.

GORNALL, A. G.; BARDAWILL, C. J.; DAVID, M. M. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. **Journal of biological chemistry**, v. 177, n. 2, p. 751-766, 1949.

HALLAK, A; FABRINE, S; PELUZIO, M. C. G. Avaliação do consumo de suplementos nutricionais em academias da zona sul de Belo Horizonte, MG, Brasil. **RBNE-Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 1, n. 2, 2012.

HARAGUCHI, F. K.; ABREU, W. C.; PAULA, H. Influência das proteínas do soro sobre enzimas hepáticas, perfil lipídico e formação óssea de ratos hipercolesterolêmicos. **Rev. Nutr.** v. 22. n. 4, 2009.

ITZHAKI, R. F.; GILL, D. M. A micro-biuret method for estimating proteins. **Analytical biochemistry**, v. 9, n. 4, p. 401-410, 1964.

LEITE, Vanessa Cristina Corrêa et al. Análise dos rótulos de suplementos proteicos para atletas segundo as normas brasileiras em vigência. **Cadernos UniFOA**, v. 10, n. 28, p. 69-74, 2015.

LOVATO, F.; KOWALESKI, J.; SANTOS, L. R.; SILVA, S. Z. Avaliação da conformidade de suplementos alimentares frente a legislação vigente. **RBNE-Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 8, n. 47, 2014.

MARANGON, A. F. C; MELO, R. A. Consumo de proteínas e ganho de massa muscular. **Universitas: Ciências da Saúde**, v. 2, n. 2, p. 297-306, 2008.

MENON, D.; SANTOS, J. S. Consumo de proteína por praticantes de musculação que objetivam hipertrofia muscular. **Revista brasileira de medicina do esporte**, v. 18, n. 1, p. 8-12, 2012.

MIWA, A. C. P; FALCO, P. B; CALIJURI, M. C. Avaliação de métodos espectrofotométricos para determinação de proteína em amostras de lagoas de estabilização. **Engenharia Sanitária e Ambient**, Rio de Janeiro , v. 13, n. 2, p. 236-242, 2008

OLIVEIRA, L. C. B. P.; LARUCCIA, G. S.; KAMILA CARLA DE ALMEIDA MELO, K. C. A.; DINIZ, I. G.; ARAÚJO, L. B. A. Análise centesimal e comparativa de suplementos de proteínas do soro do leite bovino: Whey Protein. **RBNE-Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 9, n. 51, p. 223-231, 2015.

OLIVEIRA, R. A. Efeitos da combinação de diferentes suplementos alimentares na hipertrofia muscular em praticantes de treinamento de força. **RBPFEEX-Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, v. 7, n. 40, 2013.

PAGNONCELLI, N. V.; GRIGOLLO, L. R.; GRIGOLO, M. D. Consumo de suplementos alimentares por praticantes de exercícios resistidos em Joaçaba, SC. **Unoesc & Ciência-ACBS**, v. 5, n. 1, p. 57-62, 2014.

PIRES, C.V.; OLIVEIRA, M.G.A.; ROSA, J.C.; COSTA, N.M.B. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes proteicas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26. n. 1, p. 179-187, 2006.

WILSON, K; WALKER, J. Principles and techniques of practical biochemistry. **Cambridge University Press**, 2000.

STANGARLIN, J. C. B; ZAUPA, C; MENDONÇA, N. M; ROSSETO, S. R; SOUZA, L. B. G. Determinação de proteínas totais, nitrogênio proteico e não proteico para estimativa do teor de fenilalanina em sopas desidratadas. In: **VII EPCC – Encontro Internacional de Produção Científica Cesumar**. Maringá, PR. Anais Eletrônico, Editora Cesumar, 2011.

SCHNEIDER, C. et al. Consumo de suplementos nutricionais por praticantes de exercício físico em academias de musculação de Balneário Camboriú–SC. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**. v. 2, n. 11, p. 307-322, 2008.

KUBOTANI, G. K. **CONSUMO DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES POR ADOLESCENTES E ADULTOS PRATICANTES DE EXERCÍCIOS FÍSICOS DE UMA ACADEMIA DE PORTO VELHO-RO**. Fundação Universidade Federal de Rondônia. Núcleo De Saúde Departamento De Educação Física Consumo, Porto Velho – Rondônia 2012.

PELEGRINE, D. H.; GASPARETTO, C. A; estudo da solubilidade das proteínas presentes no soro de leite e na clara de ovo. **Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais**, v.5, n.1, 2003.

Proteína hidrolisada, de soro de leite concentrada, isolada e hidrolisada. **Vloger ingredientes**, 2016. Disponível em: < http://insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/artigos/153.pdf> Acesso: 12 de julho de 2017.

OLIVEIRA, G. F.; **Desenvolvimento e caracterização de isolados proteicos de soja modificado com hexametáfosfato de sódio**. Teses e dissertações defendidas no Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Viçosa, 2010.

MENDES, R.S. BREGMAN, R. Avaliação e metas do tratamento da proteinúria. **Rev. Bras. Hipertens**. v.17, n.3, p.174-177, 2010

CARRILHO, Luiz Henrique. Benefícios da utilização da proteína do soro de leite whey protein. **RBNE-Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 7, n. 40, 2013.

MARCHIONI, D. M. L et al. Aplicação das Dietary Reference Intakes na avaliação da ingestão de nutrientes para indivíduos. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 2, p. 207-216, 2004

MAGALHÃES, I.Q. Alterações renais nas doenças falciformes. **Revista brasileira de hematologia e hemoterapia**, v. 29, n. 3, p. 279-284, 2007.

XIE, Q.; BURNELL, G. M. Interference of Mg^{2+} and Ca^{2+} on protein determination with Lowry's method. *Comp. Biochemistry Physiol.* v. 107B, n. 4, p. 605 – 608, 1994.

ZAIA, D. A. M.; ZAIA, C. T. B.; LICHIG, J; Determinação de proteínas totais via espectrofotométrica: vantagens e desvantagens dos métodos existentes. **Química Nova**, v. 21, n. 6, 1998.

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal of biological chemistry**, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.