



**Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"**

LINCOLN MORO

ANÁLISE DO TEOR DE PROTEÍNAS EM SUPLEMENTOS ALIMENTARES

**Assis/SP
2016**



**Fundação Educacional do Município de Assis
Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis
Campus "José Santilli Sobrinho"**

LINCOLN MORO

ANÁLISE DO TEOR DE PROTEÍNAS DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES

Projeto de conclusão de curso de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Química Industrial.

Orientador (a): Me^a. Elaine Amorim Soares

ASSIS/SP

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

MORO, Lincoln.

ANÁLISE DO TEOR DE PROTEÍNAS DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES/
Lincoln Moro. Fundação Educacional do Município de Assis – FEMA – Assis,
2016.

42 p.

1. Proteína. 2. Suplemento.

CDD: 660

Biblioteca
FEMA

ANÁLISE DO TEOR DE PROTEÍNAS DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES

LINCOLN MORO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Municipal de Ensino Superior de Assis, como requisito do Curso de Graduação, avaliado pela seguinte comissão examinadora:

Orientador(a):

Me^a. Elaine Amorim Soares

Examinador(a):

Me. Alexandre Mazzali

ASSIS/SP

2016

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos os professores que me ajudaram me dando todo conhecimento necessário para que este trabalho fosse feito; todas as pessoas que contribuíram com amostras de suplementos para realização da parte experimental do mesmo; e principalmente a disposição dos estagiários e técnicos do laboratório CEPECI que me ajudaram e contribuíram na conclusão deste trabalho.

RESUMO

Atualmente é perceptível o grande aumento da quantidade de fabricantes de suplementos alimentares dos mais variados tipos e pela quantidade de pessoas utilizando tais produtos. A busca pelo padrão estético corporal, por uma vida mais saudável, por uma dieta balanceada e por um melhor desempenho em qualquer área de atividade física fizeram com que as pessoas procurassem conhecer e consumir mais os suplementos alimentares. A fim de atender e aproveitar esta imensa demanda dos consumidores, diversas marcas e fabricantes surgiram no mercado com ideias inovadoras buscando satisfazer todas as necessidades de cada consumidor oferecendo uma enorme quantidade de suplementos termogênicos e ergogênicos. Porém, não apenas na área de suplementos, todos os fabricantes sempre buscarão também “lucrar mais e gastar menos”, fato este que nos faz questionar a confiabilidade dos produtos que nos são dispostos nas prateleiras das lojas do mundo todo. O objetivo deste trabalho foi analisar o teor proteico de 11 amostras destes suplementos vendidos comercialmente e comparar os resultados obtidos com as informações contidas em suas respectivas tabelas nutricionais. Foram analisadas 8 amostras de whey protein e 3 amostras de hipercalóricos, todos de marcas diferentes, nacionais e importadas. As análises foram feitas em triplicatas utilizando o método de Kjeldalh para determinação da quantidade de proteínas totais. Os resultados foram satisfatórios, pois apenas uma amostra, um hipercalórico, do total de 11 analisadas, apresentou diferença maior que 20% (vinte por cento) do valor informado pelo fabricante, isto é, todas as amostras de whey protein apresentaram teor proteico de acordo com o declarado no rótulo. O valor encontrado nas análises demonstra que os fabricantes estão cumprindo com as informações contidas na tabela nutricional de seus respectivos produtos, permitindo-nos adquirir tais produtos com maior confiabilidade.

Palavras-chave: Proteína; Suplemento.

ABSTRACT

Currently we were surprised by the large increase in the amount of food supplement manufacturers of all kinds and the amount of people using such products. The searches of a body aesthetic standards, a healthier lifestyle, balanced diet and the best performance in any physical activity area made people seek to know and consume more food supplements. In order to meet and enjoy this huge consumer demand, several brands and manufacturers appeared on the market with innovative ideas seeking out to satisfy all the needs of each consumer by offering a huge amount of thermogenic and ergogenic supplements. However, not only in the area of supplements, all manufacturers always seek to "earn more and spend less", a fact that makes us question the reliability of these products we are willing on store shelves around the world. Taking as its starting point the question of the reliability of these products, this study aimed to analyze the protein content of eight whey proteins and three hypercalorics of different brands and compare the results with the information contained in their nutritional tables. We analyzed eight samples of whey protein and 3 samples of hypercalorics, all from different brands, national and imported. The analyzes were made in triplicates using Kjeldalh method for determining the amount of protein. The results were satisfactory, because only a sample of hypercaloric, from the total of 11 analyzed, showed a difference higher than 20% (twenty percent) of the informed by the manufacturer value, that is, all samples of whey protein showed protein content according with the stated on the label. The value found in the analysis shows that manufacturers are complying with the information contained in the nutrition label of their products, allowing us to acquire such products with greater reliability.

Keywords: Protein; Supplement.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Presença de proteínas no organismo humano.....	02
Figura 2 – Representação de uma Ligação Peptídica.....	03
Figura 3 – Níveis de estrutura das proteínas.....	04
Figura 4 – Modelo de Rótulo Obrigatório.....	10
Figura 5 – Reação de Formação de Biureto.....	13
Figura 6 – Demonstração da ligação do Biureto com Cu^{2+}	16

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resultados Finais.....	21
------------------------------------------	-----------

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. PROTEÍNAS	2
2.1. ESTRUTURA DAS PROTEÍNAS.....	3
3. A IMPORTÂNCIA DA NUTRIÇÃO NA PRÁTICA DE ATIVIDADES	5
FÍSICAS	5
4. NUTRIÇÃO ESPORTIVA	6
4.1. HISTÓRIA DOS SUPLEMENTOS.....	6
4.2.OS SUPLEMENTOS	7
4.2.1.Classificação.....	7
4.2.2 Critérios para ingestão de suplementos.....	8
4.2.3. Consequências do uso indiscriminado dos suplementos	9
4.2.4. Rotulagem.....	9
5. MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS	11
5.1. MÉTODO DE KJELDAHL	11
5.1.1. Digestão.....	11
5.1.2. Destilação.....	12
5.1.3. Titulação.....	12
5.2. MÉTODO DE BIURETO	13
5.3. MÉTODO DE LOWRY	14
6. APLICAÇÃO PARA O ENSINO MÉDIO	15
6.1. TESTE DE BIURETO	16
6.1.1. Preparo do Reagente Biureto:	17
6.1.2. Materiais.....	17
6.1.3. Procedimento:.....	17
6.2. DISCUSSÃO:	17
7. MATERIAIS E MÉTODOS	18
7.1. MATERIAIS:	18

7.1.1. Suplementos:	18
7.1.2. Equipamentos:	18
7.1.3. Reagentes	18
7.2. MÉTODO	19
7.2.1. Digestão da amostra:	19
7.2.2. Destilação da amônia:	19
7.2.3. Titulação	19
7.2.4. Cálculos	20
8. RESULTADOS E DISCUSSÃO	21
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
REFERÊNCIAS	25

1. INTRODUÇÃO

Uma alimentação saudável é de extrema importância para todos os seres vivos pois além de suprir todas as necessidades do organismo, contribui para uma vida mais saudável. Cada vez mais pesquisas concluem que seguir uma alimentação equilibrada ajuda não apenas a saúde, mas também no controle do envelhecimento (ANDRIGUETTO et al., 2006).

Proteínas são macromoléculas constituídas pela união de várias cadeias de aminoácidos podendo ser de origem vegetal ou animal. São de extrema importância para todos os seres vivos, pois possuem funções estruturais e mecânicas, ajudam o sistema imunológico e participam de quase todos os processos celulares no organismo como a replicação de DNA, transporte de moléculas, etc. (ANDRIGUETTO et al., 2006)

Essas macromoléculas são diferenciadas pelas sequências de aminoácidos que as formam, podendo variar a estrutura e função da proteína. São encontradas em uma grande variedade de alimentos como ovo, carne, leite, cereais e vegetais. (FRANCISCO; FRANCISCO, 2006).

Segundo o autor Jaime Amaya (2008) se a pele de uma pessoa estiver em desequilíbrio pela falta de aminoácidos, os alimentos ricos em proteínas e a ingestão de água serão benéficos para a sua recuperação. Isso vale não somente para a pele, mas para todo o corpo, pois, como vimos, os aminoácidos são construtores e reparadores.

Motivado pelo grande aumento das vendas e uso de suplementos alimentares este trabalho tem como objetivo analisar o teor proteico destes produtos e comparar os resultados obtidos com as informações declaradas em suas respectivas tabelas nutricionais.

2. PROTEÍNAS

Segundo Ribeiro 2016, as proteínas são macromoléculas orgânicas formadas pela sequência de vários aminoácidos, unidos por ligações peptídicas (Figura 2) e desempenham diversas funções no organismo, sendo: estrutural, hormonal, enzimática, imunológica e nutritiva.



Figura 1: Presença de proteínas no organismo humano (FOGAÇA, 2016)

As proteínas são as macromoléculas mais abundantes nas células vivas. Elas ocorrem em todas as células e em todas as partes destas além de ocorrerem em grande variedade; milhares de diferentes tipos, desde peptídeos de tamanho relativamente pequeno até enormes polímeros com pesos moleculares na faixa de milhões, podem ser encontradas em uma única célula. Ainda mais, as proteínas exibem uma grande diversidade de funções biológicas, em um sentido, elas são os instrumentos moleculares por meio das quais a

conjugada a íon ferro, compondo os glóbulos vermelhos (hemácias ou eritrócitos do sangue), permitindo o transporte de oxigênio (RIBEIRO, 2016).

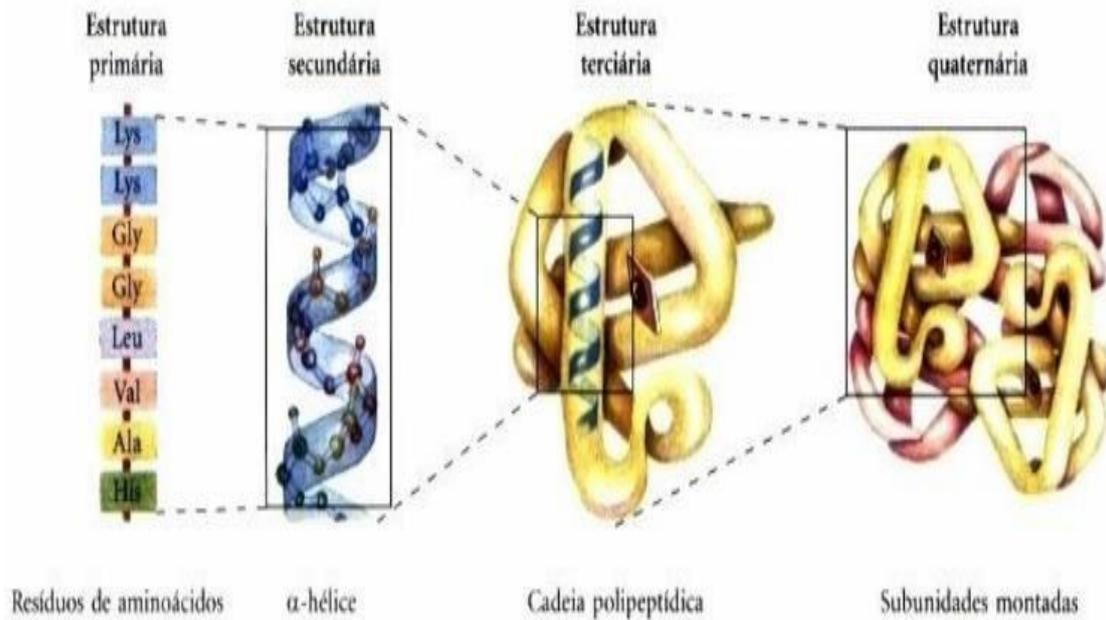


Figura 3: Níveis de estrutura das proteínas – Primária, secundária, terciária e quaternária (COX e NELSON, 2002, p. 100).

3. A IMPORTÂNCIA DA NUTRIÇÃO NA PRÁTICA DE ATIVIDADES FÍSICAS

A nutrição corresponde aos processos gerais de ingestão e conversão de substâncias alimentícias em nutrientes que podem ser utilizadas para manter a função orgânica. Esses processos envolvem nutrientes que podem ser utilizados com finalidade energética (carboidratos, lipídios e proteínas), para a construção e reparo dos tecidos (proteínas, lipídios e minerais), para a construção e manutenção do sistema esquelético (cálcio, fósforo e proteínas) e para regular a fisiologia corpórea (vitaminas, minerais, lipídios e água) (SANTOS, SANTOS, 2002).

Além disso, a nutrição é um dos fatores que pode otimizar o desempenho atlético pois se a mesma for bem equilibrada pode reduzir a fadiga, lesões, ou repará-las rapidamente, otimizar os depósitos de energia e para saúde geral do indivíduo (SANTOS, SANTOS, 2002).

Para aqueles que praticam alguma atividade física com regularidade, a alimentação é um fator fundamental para garantir um bom resultado. Por isso, ela deve ser equilibrada e completa, permitindo que o corpo realize todas as funções com a melhor performance. Contudo, uma correta nutrição ajuda a evitar a fadiga, otimiza o período de recuperação, diminui o risco de lesões, além de garantir a correta reposição dos estoques de energia. Por outro lado, não atingir as demandas nutricionais adequadas pode prejudicar a recuperação pós-treino e comprometer a saúde dos indivíduos. Por isso, é indispensável o acompanhamento de um nutricionista para avaliar quais nutrientes deverão ser inseridos na alimentação do praticante, de forma que ele alcance seus objetivos sem desenvolver uma carência nutricional (FREIRE, 2012).

Meirelles et al. (2012) pesquisaram sobre controle das doenças cardiovasculares, ressaltando que uma nutrição adequada pode alterar a incidência e a gravidade das coronariopatias, já que populações com diferentes dietas apresentavam variações na mortalidade cardiovascular.

4. NUTRIÇÃO ESPORTIVA

4.1. HISTÓRIA DOS SUPLEMENTOS

A preocupação do Homem pelo padrão estético e a alimentação diferenciada tiveram sua origem na antiguidade, quando atletas gregos se preparavam diariamente para as competições da época, a fim de vencerem os jogos olímpicos (CORREIA; GOSTON, 2009).

A origem do uso de suplementos ocorreu na antiguidade quando inúmeros soldados foram orientados a consumir partes específicas de animais, de forma a obter bravura, habilidade, velocidade ou força (características desses animais) (APPLEGATE; GRIVETTI, 1997).

A dieta dos atletas Gregos e Romanos era basicamente vegetariana, contendo vegetais, legumes, frutas, cereais e vinho diluído em água. Milo de Cróton, renomado e vitorioso lutador grego, consumiu até 9kg de carne, 9kg de pão e 8,5L de vinho por dia, nos Jogos Olímpicos da Antiguidade. Ele foi um dos primeiros atletas a dedicar cuidados com a alimentação e a ter sua rotina de treinamentos registrados e desde então, o Homem empenhou-se em melhorar o desempenho esportivo por meio de alterações dietéticas. O conhecimento da fisiologia e da nutrição humana foi enormemente incrementado a partir de então (CORREIA; GOSTON, 2009).

Como resultado, o conhecimento da fisiologia e da nutrição humana, a modulação dietética e/ou a suplementação de nutrientes específicos com a intenção de melhorar o desempenho físico humano deu origem à nutrição ergogênica. O termo ergogênico, comumente associado aos suplementos esportivos, é derivado de duas palavras gregas, a saber: “ergon” (trabalho) e “gennan” (produzir). A partir desse conceito, uma substância ergogênica poderá intensificar ou melhorar a capacidade de trabalho em pessoas saudáveis e eliminar a sensação dos sintomas de cansaço e fadiga física e mental, dessa maneira potencializando o desempenho esportivo, quando adequados corretamente com sua dieta (SANTOS; SANTOS, 2002).

4.2. OS SUPLEMENTOS

Suplementos são alimentos que servem para completar a dieta de uma pessoa saudável, em casos em que sua ingestão, a partir da alimentação, seja insuficiente ou quando a dieta requer suplementação (BRASIL, 1998).

4.2.1. Classificação:

Segundo Linhares e Lima (2006) podemos classificar os suplementos alimentares em: Ergogênicos, termogênicos e anabólicos.

4.2.1.1. Suplementos Ergogênicos:

A literatura científica identifica os suplementos ergogênicos como sendo as substâncias ou fenômenos que melhoram o desempenho de um atleta (LINHARES, LIMA, 2006).

4.2.1.2. Suplementos termogênicos:

São substâncias que aumentam a temperatura corporal, ocasionando uma maior queima de calorias, reduzem o apetite e auxiliam na metabolização de gorduras, convertendo-as em energia disponível. A L-carnitina é um suplemento termogênico muito utilizado pelos praticantes de atividades físicas em grande parte das academias. Esta é um aminoácido bastante utilizado, que atua no metabolismo dos ácidos graxos de cadeia longa, transformando a gordura armazenada em energia (LINHARES, LIMA, 2006).

4.2.1.3. Suplementos anabólicos:

Os anabolizantes são drogas que ajudam no crescimento das células musculares, geralmente o hormônio masculino (testosterona). Os esteróides anabolizantes androgênicos são associados a muitos efeitos adversos ou indesejados realizados em laboratório e tratamentos terapêuticos (LINHARES, LIMA, 2006).

4.2.2. Critérios para ingestão de suplementos

O educador físico André Dutra (2014) ressalta que é essencial entendermos que a função principal das proteínas é ajudar o corpo a construir massa muscular. Basicamente quando você treina, seu corpo literalmente destrói os músculos e os reconstrói só que mais fortes e com mais fibras musculares, esse processo é conhecido como hipertrofia, a ingestão de proteínas é essencial para que esse processo ocorra da melhor maneira possível. Já os hipercalóricos são utilizados para aumentar o ganho de massa muscular e prevenir a perda de massa magra, além de aumentar a energia durante o dia, pois mantém o corpo abastecido por uma grande quantidade de carboidratos.

De acordo com Camila Cotta (2014) os critérios para utilização de determinado suplemento são: necessidade de hidratar-se ou repor carboidratos (isotônicos); suprir deficiências dos gastos calóricos durante o treino (complexos vitamínicos); aumentar a massa muscular ou repor o aporte calórico (hipercalóricos); aumentar a massa muscular (proteínas e aminoácidos); prevenir ou retardar a fadiga em exercício de resistência (BCAA – aminoácidos de cadeia ramificada); redução ou queima de gorduras (*Fatburners* “termogênicos”) etc.

4.2.3. Consequências do uso indiscriminado dos suplementos

O uso de proteínas e suplementos de aminoácidos está relacionado com desenvolvimento de problemas renais e hepáticos; além de ter sido comprovado que uma dieta com excesso de proteínas não promove um aumento da massa muscular em relação ao consumo ideal para cada indivíduo (CARVALHO, 2010).

Segundo a nutricionista Silvia Tsutsumi (2014) os usos indiscriminados de suplementos esportivos podem trazer já a curto prazo danos no fígado, rins e ossos, fora que se encontra atualmente no mercado cerca de 33% de produtos contaminados com substâncias proibidas, logo trazendo risco à saúde podendo causar câncer, distúrbios hormonais, psicológicos e doenças cardiovasculares. Pessoas que fazem uso em excesso dos suplementos podem ter também o aparecimento de cravos, espinhas e flatulências. E vale ressaltar que diabéticos e hipertensos só podem fazer uso a partir de uma rigorosa avaliação nutricional. Já o uso de suplementos para indivíduos sem a prática de atividade física pode ser recomendado com indicação nutricional e médica para alcance de algum aporte de nutriente.

4.2.4. Rotulagem

CARDOSO et. al (2013) definem que rotulagem é toda inscrição, legenda, imagem ou toda matéria descritiva ou gráfica, escrita, impressa, estampada, gravada, gravada em relevo, litografada ou colada sobre a embalagem do alimento. São canais de comunicação entre fabricante e consumidor, considerados um meio de assegurar o acesso a toda informação sobre um produto alimentício, pois quando são bem compreendidos permitem que as escolhas alimentares sejam feitas de forma mais sensata, com segurança. Para que a rotulagem exerça o seu papel, as informações disponibilizadas devem ser legíveis, verdadeiras e de fácil acesso a todos as classes.

De acordo com a Portaria nº 32, de 13 de janeiro de 1998 da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) é proibida toda e qualquer expressão que se refira ao uso do suplemento para prevenir, aliviar, tratar uma enfermidade ou alteração do estado fisiológico. Além disso, a ANVISA ainda ressalta que todos os rótulos devem constar: advertência em

destaque e em negrito: "Consumir este produto conforme a Recomendação de Ingestão Diária constante da embalagem"; Recomendação do modo de ingestão do produto (quantidade, frequência, condições especiais) e modo de preparo, quando for o caso; Quantidade de nutrientes ingerida por porção individual e em comparação percentual à IDR (Ingestão Diária Recomendada). A porção individual deve ser indicada pelo fabricante, bem como o número máximo de porções individuais para consumo diário; Cuidados de conservação e armazenamento, antes e depois de abrir a embalagem, quando for o caso.

A Resolução ANVISA RDC 360/03 - REGULAMENTO TÉCNICO SOBRE ROTULAGEM NUTRICIONAL DE ALIMENTOS EMBALADOS torna obrigatória a rotulagem nutricional baseada nas regras estabelecidas com o objetivo principal de atuar em benefício do consumidor e ainda evitar obstáculos técnicos ao comércio. A figura 3 demonstra um exemplo de como deve ser feita a tabela nutricional de acordo com esta resolução.

INFORMAÇÃO NUTRICIONAL		
Porção de..... g ou mL (medida caseira)		
	Quantidade por porção	%VD(*)
Valor Energético	kcal e kJ	%
Carboidratos	g	%
Proteínas	g	%
Gorduras Totais	g	%
Gorduras Saturadas	g	%
Gorduras Trans	g	-
Fibra Alimentar	g	%
Sódio	mg	%
Outros minerais (1)	mg ou mcg	
Vitaminas (1)	mg ou mcg	
(*)% Valores Diários de referência com base em uma dieta de 2.000 kcal ou 8400 kJ. Seus valores diários podem ser maiores ou menores dependendo de suas necessidades energéticas. (1) Quando declarados.		

Figura 4: Modelo de rótulo com informações obrigatórias segundo a Resolução ANVISA RDC 360/03 – Regulamento Técnico Sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados.

5. MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS

5.1. MÉTODO DE KJELDAHL

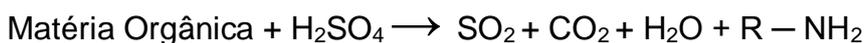
A determinação do nitrogênio total (NT) proposta por Kjeldahl em 1883, ainda é muito usada por ser uma técnica confiável, com rotinas bem estabelecidas e ao longo do tempo permaneceu praticamente a mesma com poucas modificações. Esta técnica possibilita a determinação indireta de proteínas em várias amostras biológicas, assim como o nitrogênio em plantas para a avaliação do estado nutricional (GALVANI, GAERTNER, 2006).

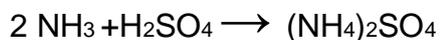
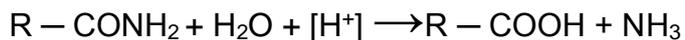
A amostra é aquecida com ácido sulfúrico para a digestão até que o carbono e o hidrogênio sejam oxidados. O nitrogênio da proteína é reduzido e transformado em sulfato de amônia. Logo em seguida será adicionado NaOH concentrado e aquecido para liberação da amônia dentro de um volume conhecido de uma solução de ácido bórico, formando borato de amônia. Esta solução será dosada com uma solução de HCl padronizada por titulação.

5.1.1. Digestão

Além dos agrupamentos proteicos, existe o nitrogênio sob a forma de amina, amida e nitrila, que é transformado em amônia (NH₃) a qual reage com o H₂SO₄, formando o sulfato de amônio ((NH₄)₂SO₄) (GALVANI, GAERTNER, 2006).

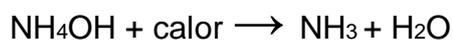
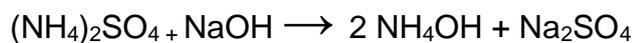
Durante a digestão ocorrem as seguintes reações:





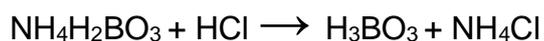
5.1.2. Destilação

Após a digestão inicia-se o processo de destilação que pode ser feita por aquecimento direto ou por arraste de vapor. O sulfato de amônio é tratado com hidróxido de sódio (NaOH), em excesso, ocorrendo a liberação de amônia (GALVANI, GAERTNER, 2006), conforme as reações:



5.1.3. Titulação

Nesta última etapa o borato de amônio é titulado com uma solução padrão de ácido clorídrico (HCl) de título conhecido até a viragem do indicador, conforme a reação:



5.2. MÉTODO DE BIURETO

Almeida et al. (2015) explicam que uma reação geral que caracteriza ligações peptídicas é chamada reação de biureto, nome dado à estrutura originada a partir da decomposição da ureia, quando esta é submetida a uma temperatura de aproximadamente 180°C que fornece resultado positivo nesse teste. Este método tem sido aplicado para determinar a concentração de proteínas totais em diversos meios como soro, urina, alimentos. Apesar de ser rápido, utilizar reagentes de baixo custo e não apresentar grande variação da absorvidade específica para diferentes proteínas, esse método apresenta a desvantagem de baixa sensibilidade, pois os métodos que envolvem a reação de biureto requerem alta concentração de proteína na amostra, tornando-o desvantajoso quando comparado a outros métodos existentes.

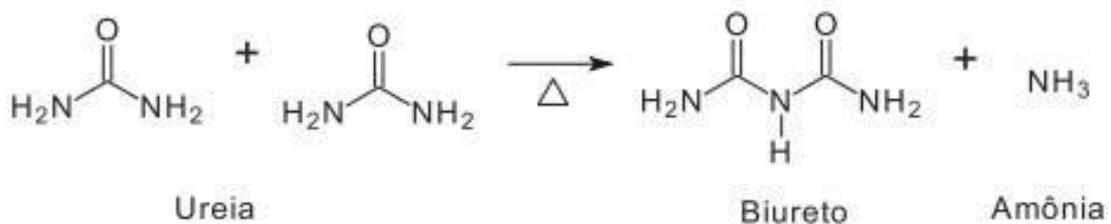


Figura 5: Reação de formação do Biureto.

O procedimento baseia-se na separação de tubos de ensaio contendo as amostras que serão analisadas seguida pela adição gota a gota do reagente biureto e por fim observar e anotar os resultados. O aparecimento de coloração violeta indica que os íons Cu^{2+} provenientes do CuSO_4 formaram complexo com ligações peptídicas presentes na amostra, indica que se trata de uma proteína ou peptídeo (NEVES, SOUZA, 2013).

5.3. MÉTODO DE LOWRY

O método de Lowry para determinação de proteínas consiste, basicamente, em duas reações, a primeira delas é a de redução do íon cobre, em condições alcalinas, formando um complexo com as ligações peptídicas, o íon de cobre monovalente conjuntamente às cadeias laterais de alguns aminoácidos da proteína (tirosina, triptofano, cisteína, asparagina e histidina) levam à redução dos componentes ácidos presentes no reagente de Folin amplificando a coloração primeiramente obtida, sendo assim, as amostras com tons de azul mais fortes devem conter maior concentração de proteínas. A concentração de proteína, nesse método, é calculada a partir da leitura da absorvância ou quantidade de luz absorvida, que é medida por um espectrofotômetro (AGOSTINI, 2015).

6. APLICAÇÃO PARA O ENSINO MÉDIO

No ensino médio, a compreensão dos processos químicos e suas aplicações ambientais e tecnológicas devem estar relacionadas com a aprendizagem e a competência do aluno em saber fazer, saber conhecer e saber ser em sociedade. É preciso envolver efetivamente os estudantes no processo de construção de seus próprios conhecimentos, e para que esses objetivos sejam alcançados, a seleção e organização do conteúdo são extremamente importantes para com que a química baseada na memorização e formulas, equações e leis isoladas deixem de ser tradicionalmente utilizada. Juntamente a isso serão explicados temas abrangentes como fontes energéticas, grupos funcionais, aminoácidos e proteínas que são os nutrientes mais importante no nosso organismo (MÓL; SANTOS, 2015).

A Química pode ser um instrumento da formação humana, que amplia os horizontes culturais e a autonomia, no exercício da cidadania, se o conhecimento químico for promovido como um dos meios de interpretar o mundo e intervir na realidade (BRASIL, 2002).

Nosso corpo necessita diariamente de uma fonte de energia para manter o funcionamento dos metabolismos. Os carboidratos, proteínas e lipídeos fornecem a energia necessária para isto, e alguns destes atuam não só como fonte de energia, mas também na manutenção estrutural do organismo (GAVA, 2007).

6.1. TESTE DE BIURETO

O Biureto (figura 5) é um reagente feito de hidróxido de potássio (KOH) e sulfato de cobre (II) (CuSO_4), junto com tartarato de sódio e potássio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$). É utilizado como indicador quantitativo de proteína, molécula que quando identificada, faz com que a solução adquira cor violeta. O esquema abaixo representa a interação do cátion Cu^{2+} com a ligação peptídica dos aminoácidos:

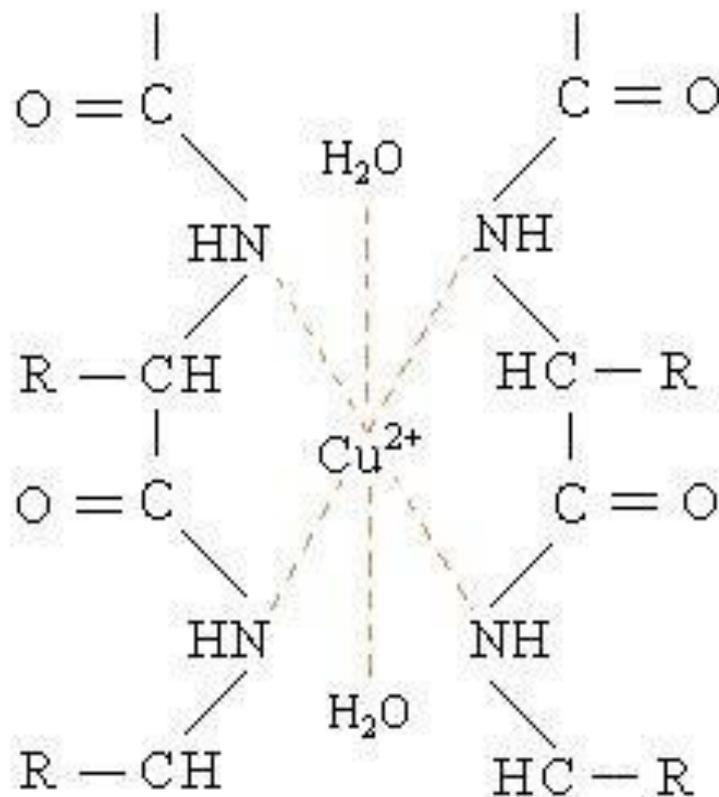


Figura 6: Demonstração de ligação da molécula de Biureto com o Cu^{2+} .

6.1.1. Preparo do Reagente Biureto:

Dissolva 1,5g de sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) e 6g de tartarato duplo de sódio e potássio ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) em 500 mL de água destilada. Adicione, sob agitação constante, 300 mL de solução NaOH 10% e em seguida adicione 1g de iodeto de potássio (KI). Complete o volume para 1L com água destilada.

6.1.2. Materiais:

- a) Solução de biureto
- b) Solução amostra de ovoalbumina
- c) Solução amostra desconhecida
- d) 4 Tubos de ensaio
- e) Conta-gotas

6.1.3. Procedimento:

Comece separando e enumerando dois tubos de ensaio, um deles contendo água e outro contendo uma amostra de ovoalbumina. Logo em seguida adicione algumas gotas do reagente biureto na solução. Agite-os, observe e anote os resultados.

6.2. DISCUSSÃO:

O aparecimento de coloração violeta indica que os íons Cu^{2+} provenientes do CuSO_4 formaram complexo com ligações peptídicas presentes na amostra, demonstrando assim, a presença de proteínas.

7. MATERIAIS E MÉTODOS

7.1. MATERIAIS:

7.1.1. Suplementos:

Foram adquiridas 11 amostras de suplementos alimentares sendo eles: 8 whey protein e 3 hipercalóricos.

7.1.2. Equipamentos:

- a) Tubo de Kjeldahl
- b) Bloco digestor
- c) Destilador
- d) Erlernmeyer 250mL
- e) Bureta

7.1.3. Reagentes:

- a) Ácido sulfúrico P.A, $d = 1,84$ - 10mL
- b) Mistura catalítica – 2g (Na_2SO_4 e $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)
- c) NaOH 40% - 25mL
- d) Solução de ácido bórico 3% - 35mL
- e) Solução de HCl 0,1N
- f) Solução indicadora: vermelho de metila 0,2% + azul de metileno 0,2%

7.2. MÉTODO:

Para a quantificação do teor proteico das amostras foi utilizado o método de Kjeldahl.

7.2.1. Digestão da amostra:

Foi pesado 0,3g da amostra em papel de filtro livre de Nitrogênio. Em seguida foi colocada a amostra com o papel dentro do tubo de Kjeldahl e adicionado 2g da mistura catalítica. Feito isso, foi adicionado, com cuidado, 10 mL de ácido sulfúrico e logo em seguida colocou-se no bloco digestor com a chapa a 450°C e deixado digerindo até que o conteúdo do balão ficasse verde claro, podendo levar entre uma a três horas.

7.2.2. Destilação da amônia:

Iniciou-se colocando 15 mL de água destilada no tubo até dissolver a amostra e em seguida o tubo foi resfriado em água corrente. O tubo com a amostra depois de digerida foi colocada no destilador, e adicionado 25 mL de NaOH 40% com a torneira do destilador fechada. Após colocado, foi aberta levemente para escorrer lentamente a solução e em seguida o aquecimento foi ligado. Feito isso, foi colocado 35 mL de ácido bórico 3% num erlenmeyer de 250 mL e aguardamos até que a amostra adquirisse cor verde e completasse um volume de aproximadamente 150 mL para em seguida o erlenmeyer ser retirado e o destilador desligado.

7.2.3. Titulação:

Titulou-se o borato de amônio com solução de ácido clorídrico 0,1N até a viragem da cor. O volume gasto na titulação foi anotado.

7.2.4. Cálculos:

O cálculo para a determinação de proteínas foi:

$$\text{Proteína total (\%)} = V \times f \times 0,0014 \times 6,25 \times 100 / P(\text{g})$$

$$\text{Proteína total (\%)} = V \times f \times 0,008755 \times 100 / P(\text{g})$$

Onde:

V = volume gasto de HCl 0,1N f

= fator do HCl 0,1N

0,0014 = miliequivalente grama do nitrogênio (ANVISA, Métodos Físico Químicos para Análise de Alimentos, 2005)

6,25 = fator de conversão geral do nitrogênio em proteína

P = peso da amostra

8. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram coletadas um total de onze amostras de suplementos alimentares de marcas variadas, nacionais e importadas, sendo eles oito whey protein e três hipercalóricos. As análises foram realizadas em triplicatas, utilizando o método de Kjeldalh para análise de proteínas totais nas dependências do laboratório CEPECI, localizado na Fundação Educacional do Município de Assis (FEMA – IMESA).

A tabela 1 mostra os resultados da quantidade de proteínas encontradas nas análises e a quantidade de proteínas declarada em cada rótulo:

RESULTADOS FINAIS					
AMOSTRA	Dosagem recomendada pelo fabricante (g)	Teor de proteínas informado na tabela nutricional (g)	Teor de proteínas resultante das análises (g)	Tipo de suplemento	Resultado
1	40g	24g	19,61g	Whey Protein	Conforme
2	62g	55g	44,23g	Whey Protein	Conforme
3	150g	17g	15,45g	Hipercalórico	Conforme
4	160g	17g	17,2g	Hipercalórico	Conforme
5	40g	21g	17,04g	Whey Protein	Conforme
6	40g	25g	22,3g	Whey Protein	Conforme
7	47g	22g	19,8g	Whey Protein	Conforme
8	150g	19,5g	9,5g	Hipercalórico	Não Conforme
9	40g	25g	23,7g	Whey Protein	Conforme
10	39,8g	26g	22,5g	Whey Protein	Conforme
11	40g	15g	13,52g	Whey Protein	Conforme

Tabela 1 – Tabela com os resultados obtidos no final das análises.

Quanto às análises realizadas neste trabalho, os resultados obtidos foram satisfatórios pois apenas uma amostra do total de 11 analisadas (9%), apresentou uma diferença superior a 20% (vinte por cento) na quantidade proteica informada pelo fabricante e pela quantidade proteica efetivamente encontrada pelas análises. A permissão na variação de 20% nos resultados de análises de qualquer nutriente alimentício a ser informado na tabela nutricional está prescrita na Resolução Anvisa RDC nº 360, de 23 de dezembro de 2003.

Almeida (2014) fez um estudo avaliando a qualidade das proteínas presentes em suplementos elaborados a partir das proteínas do soro de leite (whey protein) através do método de Kjeldalh de suplementos produzidos tanto por empresas brasileiras e norte-americanas. Os resultados demonstraram que os suplementos importados apresentaram melhores resultados para o conteúdo total de proteínas em relação aos suplementos nacionais e dentre as marcas avaliadas, quatro marcas de whey protein importados e sete marcas de whey protein nacionais obtiveram percentual de proteína abaixo do descrito nos seus respectivos rótulos e com isso pode-se concluir que os suplementos fabricados por empresas norte-americanas apresentaram melhor qualidade em relação ao conteúdo total de proteína.

Em outro trabalho, SILVA e colaboradores (2015) analisaram o teor de proteínas e compararam os resultados obtidos entre o método de Kjeldhal, que avalia o teor de proteínas indiretamente através da quantificação do nitrogênio total, e método espectrofotométrico de Biureto, que quantifica o teor de proteína por meio da geração de cor oriunda entre ligações peptídicas e íons cobre. Quanto às análises realizadas utilizando o método de Biureto, apenas uma amostra do total de 5 analisadas, apresentou uma variação abaixo da permitida na legislação brasileira de 20% (vinte por cento). Já para as análises feitas pelo método de Kjeldalh, todas as amostras exceto uma, apresentaram valor abaixo da variação máxima permitida. De acordo com estes resultados, o autor explica que esta grande diferença na capacidade de detecção dos dois métodos se deve ao fato de que a molécula de Biureto pode interagir com moléculas de carboidrato das amostras, podendo assim interferir nos resultados, isto é, não é recomendado realizar análises de whey protein com alto teor de carboidratos utilizando o método de Biureto. Esses autores encontraram maior não conformidade nas amostras analisadas.

No ano de 2014, uma pesquisa feita pelo INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia) em parceria com ANVISA (Agência Nacional de Vigilância

Sanitária), ABENUTRI (Associação Brasileira das Empresas de Produtos Nutricionais), ABIA (Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação), ABIAD (Associação Brasileira da Indústria de Alimentos Dietéticos e Para Fins Especiais), ABIFISA (Associação Brasileira do Setor Fitoterápico, Suplemento Alimentar e de Promoção da Saúde) e BRASNUTRI (Associação Brasileira dos Fabricantes de Suplementos Nutricionais e Alimentos para Fins Especiais) teve como objetivo analisar 15 marcas de suplementos alimentares, em específico whey protein concentrado, a fim de informar o consumidor brasileiro sobre a adequação de produtos e serviços aos critérios estabelecidos em normas e regulamentos técnicos, contribuindo para que ele faça escolhas melhor fundamentadas em suas decisões de compra ao levar em consideração outros atributos além do preço e, por consequência, torná-lo parte integrante do processo de melhoria da indústria nacional. Por fim pode-se verificar que, em relação ao teor de proteínas, isto é, a relação entre os valores declarados pelo fabricante e a quantidade efetiva encontrada, 13% (treze por cento) das marcas analisadas apresentaram diferença superior a 20% (vinte por cento) em suas declarações de quantidade, concluindo assim que os produtos continham menos proteínas do que o apresentado no rótulo ao consumidor. Diante dos resultados apresentados, o INMETRO encaminhou um relatório à ANVISA para que fossem tomadas as devidas providências.

Neste trabalho, 9% das amostras apresentaram diferença superior a 20% do declarado nos rótulos, porém a quantidade de marcas analisadas foi um pouco menor (11 amostras).

Ressalta-se ainda que a Resolução Anvisa RDC-18 define os requisitos para que um produto possa ser considerado suplemento proteico para atletas. O inciso I do artigo 8º da referida resolução estabelece que o produto pronto para consumo deve conter, no mínimo, 10 g de proteína na porção.

Quanto à esta resolução, todas as marcas analisadas estão de acordo com o descrito no artigo 8º, pois nenhuma amostra apresentou teor de proteínas menor que 10g por porção.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Do total de 11 amostras analisadas, apenas uma amostra de hipercalórico apresentou teor de proteína menor que 20% (vinte por cento) do declarado em sua tabela nutricional. Todas as amostras de suplementos do tipo whey protein apresentaram resultados de acordo com o informado pelo fabricante e com a variação máxima permitida por lei.

Todos os produtos analisados se enquadram como suplemento proteico, pois apresentaram o mínimo de 10 g de proteína.

Sendo assim, é possível afirmar que a maioria dos fabricantes estão cumprindo com o que informam em suas respectivas tabelas nutricionais, nos permitindo adquirir produtos de maior confiabilidade.

REFERÊNCIAS

ABENUTRI (Associação Brasileira das Empresas de Produtos Nutricionais); ABID (Associação Brasileira das Indústrias de Alimentação); ABIAD (Associação Brasileira da Indústria de Alimentos Dietéticos e Para Fins Especiais); ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária); INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia). **Relatório final sobre análise em suplementos proteicos para atletas – Whey Protein.** 2014. 48p. Dissertação – Universidade Federal do Rio de Janeiro (Campus Xerém), Rio de Janeiro, Duque de Caxias, 214.

AGOSTINI, Caroline. **Método de Lowry: Determinação de proteína em amostra de leite.** 2015. 14p. Trabalho de Conclusão de Curso – Departamento de Ciências Básicas – USP (Universidade de São Paulo), São Paulo, São Paulo, 2015.

ALMEIDA, Eduardo S.; MELO, Claudia Maria T.; SILVA, Jorge Luiz da S. S.; **Análise do Teor de Proteína em Whey Protein Pelos Métodos de Kjeldahl e Biureto.** In: SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E INOVAÇÃO TECNOLÓGICA, 10, 2015. Uberaba, Brasil. **Resumos.** Uberaba: SIN IFTM, 2015.

ALMEIDA, Critine Couto de; **Avaliação de Suplementos Nutricionais à Base de Whey Protein.** 2014. 83p. Trabalho de Conclusão de Curso – Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, Niterói, 2014.

ANDRIGUETTO, José Milton; FILHO, Amadeu Bona; FLEMMING, José Sidney; GEMAEL, Alaor; MINARDI, Italo; SOUZA, Gilberto Alves. **Nutrição Animal.** 1. Ed. Tradução de José Milton Andriguetto. São Paulo: Editora Nobel, 2006.

APPLEGATE, E. A.; GRIVETTI, L. E. **Search for the competitive edge: a history of dietary fads and supplements.** The Journal of Nutrition, Davis, v. 127, n. May 1997.

AUGUSTO NEVES, Prof. Valdir. **Experimentos de Bioquímica/Reação do Biureto**. Universidade Estadual Paulista (UNESP). Disponível em: <http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/praticas_proteinas/reacoes_coradasdois3.htm>. Acesso em 07 set. 2015.

AZEREDO, Amanda Rodrigues de Souza; LOUREIRO, Isabel; MARTINS, Maria Luiza; NASCIMENTO, Larissa. **Programa de Análise de Produtos: Relatório Final Sobre a Análise em Suplementos Proteicos Para Atletas – Whey Protein**. 2014. 54p. Monografia. Laboratório da Divisão de Metrologia Química do Inmetro – Campus Xerém, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2014.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária; Gerência Geral de Alimentos; Ministério da Saúde. **Rotulagem Nutricional Obrigatória: manual de orientação às indústrias de Alimentos - 2º Versão**. 2005. 44p. Universidade de Brasília, Distrito Federal (DF), Brasília, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Métodos FísicoQuímicos para Análise de Alimentos**. Edição IV. Instituto Adolfo Lutz. Brasília: Ministério da Saúde, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 32, de 13 de janeiro de 1998. **Regulamento Técnico para Suplementos Vitamínicos e ou de Minerais**. Brasília, DF, 15 jan. 1998.

CARDOSO, Fabiane Toste; MOREIRA, Suellen Sereno Paz; SILVA, Elga Batista; SOUZA, Gisele Gonçalves; **Avaliação da Adequação da Rotulagem de Suplementos Esportivos**. 2013. 55p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

CARVALHO, Solange. **Os riscos do uso excessivo de proteínas e suplementação diária**. São Paulo; Paraná; Rio de Janeiro. Disponível em <<https://fisiologistas.wordpress.com/2010/08/07/os-riscos-do-uso-excessivo-de-proteina-esuplementacao-diaria/>>. Acesso em 17 jul. 2016.

CECCHI, Heloisa Máscia. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2ªed.rev. Campinas: Editora Unicamp, 2003.

CORREIA, Maria Isabel Toulsson Davisson; GOSTON, Janaina Lavalli. **Suplementos Nutricionais: Histórico, Classificação, Legislação e Uso em Ambiente Esportivo**. 2009. 7p. Monografia. UFMG (Universidade Federal de Minas Gerais), Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

COTTA, Camila. **Suplementos alimentares requerem critério para o consumo**. EPM (Escola Paulista de Medicina). Disponível em <http://www.saudeemmovimento.com.br/reportagem/noticia_print.asp?cod_noticia=1296>. Acesso em: 15 jul. 2016.

COX, Michael M.; NELSON, David L.; **Lehninger Princípios de Bioquímica**, 3. ed. Tradução de Arnaldo Antônio Simões e Wilson Roberto Navega Lodi. Rio de Janeiro: Editora Língua Portuguesa, 2002.

DUTRA, André. **Guia de Suplementos – Quando, como e o que tomar**. Rio de Janeiro. Disponível em <<http://emanalise.com/guia-de-suplementos-quando-como-e-o-quetomar/>>. Acesso em: 11 jul. 2016.

El Khoury, Dalia; Antoine, S. Intake of Nutritional Supplements among People Exercising in Gyms in Beirut City. **Journal of Nutrition and Metabolism**. v.2012, jul/out, 2011, p.113.

FALCATO, Ana Raquel Quintaneiro. **Suplementos Alimentares: Consumo Nacional Estimado de Vitaminas e Minerais em 2012**. 2014. p.105. Dissertação (mestrado) Engenharia de Alimentos-Universidade de Lisboa, Portugal, Lisboa, 2014.

FARFAN, Jaime Amaya. **Química das Proteínas**. Unicamp (Universidade de Campinas). Disponível em <<http://www.todabiologia.com/saude/proteinas.htm>>. Acesso em: 26 abr. 2015.

FOGAÇA, Jennifer Rocha Vargas. **Função das proteínas e suas fontes na alimentação**. Brasil Escola. Disponível em <<http://brasilescola.uol.com.br/quimica/funcao-das-proteinas-suas-fontes-na-alimentacao.htm>>. Acesso em: 14 nov. 2016.

FRANCISCO, Wilmo Ernesto; FRANCISCO, Wellington. Proteínas: Hidrólise e precipitação e um tema para o ensino de química. **Química Nova na Escola**, v.13, n.24, nov, 2006, p.12-16.

FREIRE, Thiago Onofre. **A importância da alimentação na prática de atividade física**. UFBA (Universidade Federal da Bahia) – Bahia. Disponível em: <<http://www.isaudebahia.com.br/noticias/detalhe/noticia/a-importancia-da-alimentacao-na-pratica-de-atividade-fisica/>>. Acesso em: 15 jul. 2016.

GALVANI, Fabio; GAERTNER, Eliney. **Adequação da Metodologia Kjeldahl para determinação de Nitrogênio Total e Proteína Bruta**. Corumbá. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/812198/1/CT63.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2016.

GAVA, Altanir Jaime. **Princípios de tecnologia de alimentos**. ed. 1, NBL Editora, 1978. GRONK MORATONE VILLANOVA, Adriana. **Apostila de química – ensino médio**. Escola Estadual do Paraná. Disponível em <<http://www.cep.pr.gov.br/modules/conteudo/conteudo.php?conteudo=76>>. Acesso em 09 set. 2015.

LEHNINGER, Albert. **Lehninger Princípios de Bioquímica**, edição 3. David L. Nelson, Guarujá-SP: Sarvier, 2002.

LINHARES, Tatiana C.; LIMA, Rodrigo M. **Prevalência do uso de suplementos alimentares por praticantes de musculação nas academias de Campos dos Goytacazes/RJ, Brasil**. 2006. 22p. Monografia. CEFET (Centros Federais de Educação Tecnológica), Rio de Janeiro, Campos dos Goytacaze, 2006.

MEIRELLES, Claudia de Melo; RIQUE, Ana Beatriz Ribeiro; SOARES, Eliane de Abreu. Nutrição e exercício na prevenção e controle das doenças cardiovasculares. **Revista Brasil Medicina e Esporte**. v.8, n.6, nov/dez, 2002, p.1-11.

Ministério da Educação (MEC); Secretaria de Educação Média e Tecnológica (Semtec). **PCN + Ensino médio: orientações educacionais complementares aos Parâmetros Curriculares Nacionais - Ciências da Natureza, Matemática e suas Tecnologias**. Brasília: MEC/Semtec, 2002.

MÓL, Gerson de Souza; SANTOS, Wildsom Luiz Pereira. **Química Cidadã**, 2ª Edição. São Paulo: ASJ Ltda, 2013.

NOGUEIRA, Fabíola. **História da Suplementação**. Vitória. Disponível em: <<https://boavidafitness.wordpress.com/tag/historia-dos-suplementos/>> Acesso: 14 jun. 2015.

PRADO H.S., Danilo. Suplementação infantil: Adultos saudáveis. **Revista Suplementação**. v.1, n.1, março/abril, 2007. p.1-2.

RIBEIRO, Krukemberghe Divino Kirk Da Fonseca. **Proteínas**. Brasil Escola. Disponível em: <<http://brasilecola.uol.com.br/biologia/proteinas.htm>>. Acesso em 25 set. 2016.

SANTOS GONÇALVES, Fabiana. **Aminoácidos**. Disponível em: <<http://www.infoescola.com/bioquimica/aminoacido/>>. Acesso em 10 set. 2015.

SANTOS, R. P.; SANTOS, M. A. A. Uso de suplementos alimentares como forma de melhorar a performance nos programas de atividade física em academias de ginástica. **Revista Paulista de Educação Física**. São Paulo, v. 16, n. 2, p. 174-85, Jul./dez. 2002.

SANTOS, Wildson; MÓL, Gérson. **Caderno do Professor 3ª ano Ensino Médio**. 2015. p. 69, v.03.

SANTOS; Miguel Angelo Alves. SANTOS; Rodrigo Pereira. Uso de Suplementos Alimentares como forma de melhorar a performance em programas de atividade física em academias de ginástica. **Revista Paulista de Educação Física**, v.2, n.16, jul/dez, 2002, p.174-185.

ALMEIDA, Eduardo S.; MELO, Claudia Mayara T.; SILVA; Jorge Luis da S. S. **Análise do teor de proteínas em whey protein pelos métodos de Kjeldahl e Biureto**. 2015. Seminário de Iniciação Científica – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia, Minas Gerais (MG), Uberaba, 2015.

SOUZA, Karina Ap. De Freitas Dias; NEVES, Valdir Augusto **Experimentos de Bioquímica**. Universidade Estadual Paulista (UNESP). Disponível em: <http://www.fcfar.unesp.br/alimentos/bioquimica/introducao_proteinas/introducao_proteinas_dois.htm>. Acesso em 07 set. 2015.

TSUTSUMI, Silvia. **Benefícios, malefícios e indicações da maltodextrina, BCAA, creatina e whey protein**. Pará. Disponível em: <<http://nutrisilviatsutsumi.blogspot.com.br/2014/11/beneficios-maleficios-e-indicacoes-da.html>>. Acesso em: 14 nov. 2016.

VERLENGIA, Rozângela. **Análise de RNA, Proteínas e Metabólitos**. Unicamp (Universidade de Campinas). Disponível em <<http://www.todabiologia.com/anatomia>>. Acesso em: 12 jun. 2015.