

Centro Universitário de Patos - UNIFIP
 Curso de Medicina
 v. 5, n. 2, abr/jun 2020, p. 38-47.
 ISSN: 2448-1394



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

*DETERMINATION OF TOTAL PROTEINS IN PROTEIN SUPPLEMENTS ADVENTED FROM
 MILK SERUM*

Paulo Cleverson de Souza Rego
 Universidade Federal de Campina Grande – UFCG – Cuité – Paraíba - Brasil
paulo.ufcg@outlook.com

Francisco Patricio de Andrade Júnior
 Universidade Federal da Paraíba – UFPB – João Pessoa – Paraíba - Brasil
juniorfarmacia.ufcg@outlook.com

Júlia Beatriz Pereira de Souza
 Universidade Federal de Campina Grande – UFCG – Cuité – Paraíba – Brasil
juliabtriz@gmail.com

RESUMO

Objetivo: Avaliar o teor de proteínas totais presentes em suplementos e comparar aos dados fornecidos nos rótulos.

Métodos: Foram utilizadas doze amostras de diferentes marcas de suplementos *whey protein*, obtidas a partir de doações. Tais amostras foram nomeadas de A a L, e utilizou-se o método de Biureto para a quantificação de proteínas totais.

Resultados: As amostras A, K e L apresentaram-se em desacordo com a legislação vigente, devido o teor de proteínas totais ser inferior ao permitido ($\pm 20\%$), sendo a amostra L a que mais divergiu dos dados fornecidos nos rótulos (-34,14%). Enquanto que os suplementos B, C, D, E, F, G, H, I e J apresentaram resultados dentro do teor permitido para comercialização, sendo a amostra C considerada a melhor por apresentar teor mais próximo do teor rotulado (-1,11%).

Conclusões: Das doze amostras analisadas, 75% destas apresentaram-se dentro dos limites de variação permitidos ($\pm 20\%$), sendo observadas variações entre 1,11% a 34,14%.

Palavras-Chave: Suplementos proteicos. Método de biureto. *Whey protein*. Controle de qualidade.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the total protein content in supplements and to compare the data provided in the labels.

Methods: Twelve samples of different brands of whey protein supplements obtained from donations were used. These samples were named from A to L, and the Biuret method was used for the quantification of total proteins.

Results: Samples A, K and L were found to be in disagreement with current legislation because the total protein content was less than allowed ($\pm 20\%$), with L being the most divergent from the data provided on the labels (-34, 14%). While supplements B, C, D,

E, F, G, H, I, and J presented results within the allowable commercialization level, sample C being considered the best because the content was closer to the labeled content (-1.11 %).

Conclusions: Of the twelve analyzed samples, 75% of these were within the allowed variation limits ($\pm 20\%$), being observed variations between 1.11% and 34.14%.

Keywords: Protein supplements. Biuret method. Whey protein. Quality control.

1. Introdução

Os suplementos alimentícios podem ser utilizados para suprir as necessidades nutricionais daqueles que não ingerem quantidades suficientes de macro e/ou micronutrientes, assim como, para permitir o aumento do desempenho físico e melhora estética, podendo estes produtos serem classificados em suplementos ergogênicos, termogênicos ou anabólicos, sendo estes últimos utilizados principalmente para melhorar a aparência física, uma vez que, são compostos principalmente por proteínas e aminoácidos.^{1,2}

O uso de suplementos a base de proteínas, por sua vez, vem sendo amplamente utilizados, devido possibilitar a perda de gordura, o ganho de peso por hipertrofia e aumento da performance física dos seus usuários.³⁻⁵

Dentre os diversos tipos de suplementos a base de proteínas, é possível destacar o *whey protein*, que é advindo do concentrado do soro do leite e é um dos principais suplementos consumidos por praticantes de atividades físicas.⁵

Entretanto, tem-se diversos protocolos acerca da quantidade ideal de proteínas que devem ser consumidas por atletas, que podem variar de 1,6 a 2,0 g/kg. Contudo, a quantidade ideal a ser consumida irá depender do tipo de exercício empregado, assim como, do objetivo a ser alcançado pelo atleta. Além disso, estima-se que cerca de 70% dos usuários de suplementos em academias, os utilizam sem qualquer orientação, o que pode gerar graves prejuízos a saúde, a exemplo de nefropatias e hepatopatias.^{2,6,7}

O consumo desenfreado do uso de suplementos a base de proteínas está geralmente relacionado a questões estéticas, assim como, aos rótulos dos produtos que muitas vezes apresentam propagandas estimuladoras que contribuem para que o consumidor faça a compra do produto e o utilize de forma indiscriminada, acreditando que não acarretará problemas a saúde devido a alta confiabilidade nas indústrias produtoras desses suplementos.

No entanto, tendo em vista a grande variedade de suplementos proteicos no mercado, 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. Dessa forma, foi proibida a distribuição e comercialização de 14 das 15 diferentes marcas analisadas de suplementos proteicos devido a diversos tipos de fraudes, evidenciadas nos valores obtidos nos testes de

doseamento de proteínas, que contradiziam com os valores encontrados nos rótulos dos produtos proteicos ou até mesmo presença de carboidratos em suplementos que acusavam não conter esse tipo de macronutriente.⁸

Assim, torna-se importante a existência de questionamentos sobre os suplementos proteicos comercializados no Brasil, com a finalidade de conferir a fidedignidade das informações nutricionais contidas na rotulagem desses produtos.⁹

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo quantificar proteínas totais advindas de suplementos proteicos de diferentes marcas comercializadas no Brasil e comparar o teor encontrado com os valores descritos nos rótulos destes produtos.

2. Métodos

2.1. Amostras

Foram utilizadas doze amostras de suplemento à base de proteínas do soro do leite, nomeadas de A a L e provenientes de diferentes fabricantes. Três porções de 5g de cada amostra foram gentilmente cedidas por consumidores.

2.2. Equipamentos e vidrarias

Para a realização da pesagem das amostras, foi utilizada a balança analítica, mod. AY 220, Marte, Minas Gerais – BR, enquanto que para a quantificação das proteínas totais, utilizou-se o espectrofotômetro UV-Vis Biospectro SP-220. Além disso, fez-se necessário o uso de balões volumétricos de 5 mL, 10 mL e 100 mL, béquer de 1000 mL, funil de vidro, bastão de vidro e micropipetador.

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

O teor de proteínas totais foi avaliado 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 as orientações de uso do produto.

Foi construído o gráfico da linearidade (concentração da solução x absorbância), a partir 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 10 minutos de contato com o reagente de biureto, 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.

2.3.1 Preparação das amostras

Foi preparada uma solução estoque de concentração de 50 mg/mL, seguida de filtração e coleta de 200 µL do filtrado e diluído em 5 mL em reagente de biureto. Após este processo, esperou-se 10 minutos para que a amostra reagisse com o biureto e, por fim, a solução foi levada para leitura no espectrofotômetro. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

3. Resultados e Discussão

A figura 1 apresenta o aspecto visual das 12 amostras de suplemento a base de soro do leite utilizadas para a verificação da concentração descrita nos rótulos e identificadas como A, B, C, D, E, F, G, H, I, K e L.

Figura 1- Aspecto visual das 12 amostras de suplemento de *whey protein* analisadas.



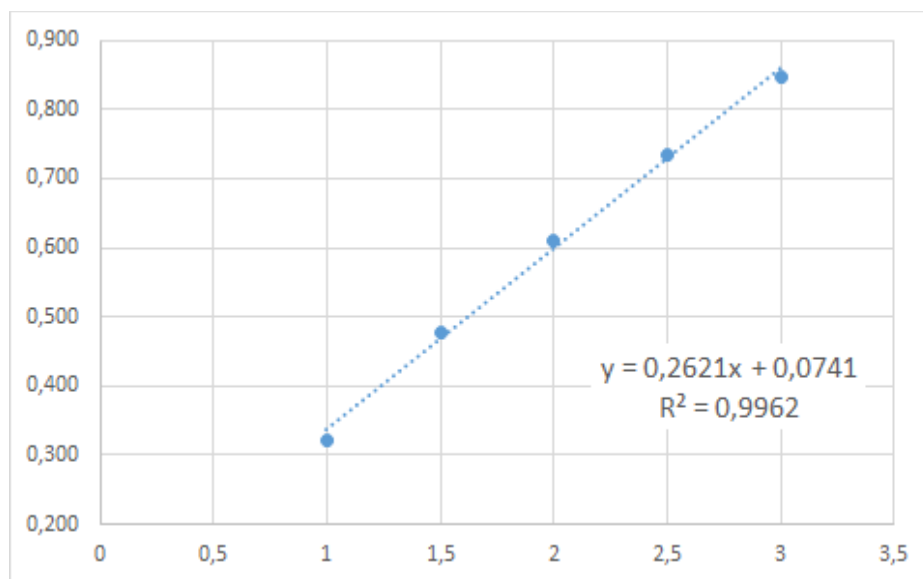
Fonte: Dados da pesquisa (2020).

Curva de Calibração

A curva de calibração utilizada para determinação do teor de proteínas nas

amostras analisadas está representada na Figura 2, 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 899.¹⁰

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



Fonte: Dados da pesquisa (2020).

Os dados encontrados a partir das análises feitas nas 12 amostras de suplementos de *whey protein* estão expressos na tabela 1.

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 (2020).

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 marcas 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.

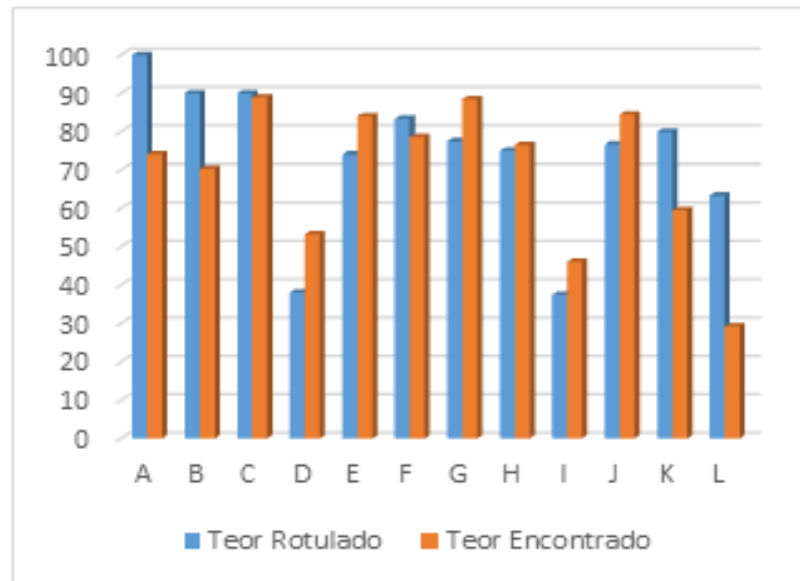
Os valores de coeficiente de variação das amostras F, G, H e K, nas mesmas condições de análise das demais amostras, apresentaram-se acima de 5%, o que pode refletir um problema de homogeneidade, pois diferem dos valores de repetição obtidos tanto para a curva de calibração, quando para as demais amostras.

A análise dos suplementos proteicos foi realizada a partir da comparação entre os resultados obtidos experimentalmente 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), apresentaram teor acima do rotulado variando de 1,53% a 15,23% e 3 amostras (B, C e F), tiveram teor abaixo do rotulado variando de 1,11% a 19,73% de diferença. Contudo, todas as nove amostras apresentaram-se em conformidade com a Resolução nº 360 da ANVISA que estabelece que a diferença entre os valores declarados e aqueles efetivamente presentes deve ser de no máximo $\pm 20\%$.¹¹ 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 rotulada, dando maior destaque as amostras C e H, devido a sua maior fidedignidade com o valor rotulado.

Entretanto 25% (A, K e L) das amostras foram reprovadas quanto ao teor proteínas declarado pelo fabricante e a quantidade efetivamente encontrada, uma vez que, apresentaram diferença de teor inferior ao expresso no rótulo e fora do limite 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. Tais resultados diferem dos encontrados por Silva e Souza¹² que ao utilizarem o método de Kjeldahl para quantificar o teor de proteínas, observaram que das 10 marcas de *whey protein* analisadas, 100% destas estavam dentro do valor preconizado pela legislação brasileira.

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 (2020).

Durante a realização deste estudo, foram observados problemas de solubilidade nas amostras de suplementos C e K, devido serem as únicas que apresentavam dificuldade de filtração, durando até três vezes mais tempo que os outros suplementos. Ademais, estas amostras eram advindas de suplementos de mesma marca, porém com diferentes preços.

O filtrado das proteínas correspondentes as essas amostras eram quase incolor, muito diferente das outras que sempre apresentavam cor semelhante à solução estoque antes da filtração. Assim, a leitura dessas amostras confirmou a suspeita de que as 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 e torna-se desfavorável ao usuário, devido acarretar em má absorção. A baixa solubilidade das proteínas em pH gástrico é importante para o processo de coagulação, de forma que devem-se formar coágulos firmes, mas suficientemente macios para uma apropriada digestão no intestino delgado. A formação inapropriada de coágulos pode ocasionar em crescimento descontrolado de bactérias e desordens intestinais.¹³

Segundo Pelegrine e Gasparetto ¹⁴ 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) ¹⁴. 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 (suplemento A) que em uma porção do suplemento continha 100% de proteínas, entrando em discordância com os resultados obtidos, foi revelado que amostra analisada apresentava apenas 74,16%. 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, com cerca de 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 a saúde do consumidor, devido ao excesso de proteínas. 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, as indústrias não responsáveis podem comprometer tanto a conduta do profissional, quanto a saúde ou resultados estéticos que um atleta almeja.

Segundo Marchioni, Slater, Fisberg ¹⁵ a ingestão proteica acima das necessidades orgânicas leva ao aumento das reações catabólicas de seus aminoácidos, que por sua vez, pode ocasionar danos glomerulares, muitas vezes indicado pela proteinúria. ¹⁶

A partir dos dados obtidos pode-se observar que 25% das amostras de *whey protein* (3) apresentaram resultados que refletem a falta de controle de qualidade das indústrias produtoras desses suplementos quanto à composição centesimal.

É necessário que as indústrias sigam a legislação vigente de variação rótulo/realidade dos teores de proteínas, uma vez que das 12 marcas analisadas, somente 5 delas se encontraram de acordo com as concentrações impressas nos rótulos. Assim, o presente estudo pode servir tanto para guiar, sobretudo, ao profissional nutricionista a ter uma visão mais crítica em relação a esses produtos, uma vez que, a composição centesimal apresentada no rótulo nem sempre condiz com a realidade, como para nortear outros estudos que tenham a mesma temática como foco centralizador.

Ademais, os resultados expressos nesta pesquisa servem como um alerta para que as indústrias tornem-se mais rigorosas quanto ao processo de produção e garantia/controle de qualidade, com o intuito de se adequar a legislação vigente. Além disso, maior controle na produção de suplementos aliado a uma fiscalização mais efetiva da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, resultariam em produtos com uma melhor qualidade, resultando em maior fidelidade e confiabilidade por parte dos consumidores.

4. Conclusões

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 $CV = 2,31\%$.

Entretanto, das 12 amostras analisadas, 25%, encontravam-se fora dos limites permitidos pela legislação vigente. Ademais, uma considerável divergência nos teores de proteínas obtidas experimentalmente foi constatada ao serem comparadas com o teor proteico descrito nos rótulos, apresentando variações entre 1,11% a 31,14%.

A falta de informações compatíveis do rótulo com os resultados experimentais, torna-se preocupante, uma vez que, pode ocasionar—problemas de saúde ao seus consumidores bem como, objetivos estéticos não alcançados.

Referências

1. Alves OT, Matos EP, Barbosa KVS, Cardoso FT, Souza GG, Silva EB. Estimativa do consumo de proteínas e suplementos por praticantes de musculação em uma academia da Baixada Fluminense, Rio de Janeiro. *Corpus et Scientia*. 2012; 8: 1-10.
2. Ferreira AB, Lima VA, Souza WC, Mascarenhas LPG, Leite N. Quais os suplementos alimentares mais utilizados?. *Cinergis*. 2016; 17.
3. Stangarlin JCB, Zaupa C, Mendonça NM, Rosseto SR, Souza LBG. 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.
4. Marangon AFC, Melo RA. Consumo de proteínas e ganho de massa muscular. *Universitas: Ciências da Saúde*. 2008; 2: 281-290.
5. Lovato F, Kowaleski J, Santos LR., Silva SZ. Avaliação da conformidade de suplementos alimentares frente a legislação vigente. *Revista Brasileira de Nutrição Esportiva*. 2014; 8.

6. Schneider C, Machado C, Laska SM, Liberali R. Consumo de suplementos nutricionais por participantes de exercícios físico em academias de musculação de Balneário Camboriú - SC Revista Brasileira de Nutrição Esportiva, 2008; 2: 307-322.
7. Hallak A, Fabrine S, Peluzio MCG. Avaliação do consumo de suplementos nutricionais em academias da zona sul de Belo Horizonte, MG, Brasil Revista Brasileira de Nutrição Esportiva. 2012; 1.
8. 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.
9. Cruz KC. Avaliação de suplementos nutricionais à base de proteína hidrolisada e aminoácidos livres [dissertação]. Recife: Universidade Federal de Pernambuco/UFPE; 2013. 65 p.
10. Brasil. RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2003.
11. 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, 2010.
12. Silva LV, Souza SVC. Avaliação da conformidade de suplementos alimentares frente a legislação vigente. Rev Inst Adolfo Lutz. 2016, 75, 17.
13. Oliveira GF. Desenvolvimento e caracterização de isolados proteicos de soja modificado com hexametáfosfato de sódio [dissertação]. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa/UFV; 2010. 49 .
14. Pelegrine DH, Gasparetto CA. Estudo da solubilidade das proteínas presentes no soro de leite e na clara de ovo. Revista Brasileira de Produtos Agroindustriais. 2003; 5: 57-65.
15. Marchioni DML, Slater B, Fisberg RM. Aplicação das Dietary Reference Intakes na avaliação da ingestão de nutrientes para indivíduos. Rev Nutr. 2004; 17: 207-216.
16. Magalhães IQ. Alterações renais nas doenças falciformes. Rev bras hematol hemoter. 2007; 29: 279-284.

Apêndices

Dados da curva de calibração com solução padrão de proteínas totais à 550 nm

| C [mg/mL] | Absorbância | | | Média | DP | CV % |
|--------------|-------------|-------|-------|-------|-------|------|
| | I | II | III | | | |
| 1 | 0,318 | 0,326 | 0,320 | 0,321 | 0,004 | 1,30 |
| 1,5 | 0,468 | 0,483 | 0,484 | 0,478 | 0,009 | 1,87 |
| 2 | 0,611 | 0,622 | 0,595 | 0,609 | 0,014 | 2,23 |
| 2,5 | 0,741 | 0,754 | 0,709 | 0,735 | 0,023 | 3,15 |
| 3 | 0,819 | 0,856 | 0,868 | 0,848 | 0,026 | 3,01 |

Equação da reta
 $Y = 0,2621x + 0,0741$

Coefficiente de linearidade
 $R^2 = 0,9962$