

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Aproveitamento do farelo de soja no desenvolvimento de meios e processos para a
obtenção de produtos proteicos e derivados**

Flávia de Faria Caetano

Ribeirão Preto

2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Versão corrigida da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas no dia 11 / 05 / 2012. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP.

**Aproveitamento do farelo de soja no desenvolvimento de meios e processos para a
obtenção de produtos proteicos e derivados**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos

Orientado(a): Flávia de Faria Caetano

Orientador(a): Prof. Dr. Osvaldo de Freitas

Ribeirão Preto

2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Caetano, Flávia de Faria

Aproveitamento do farelo de soja no desenvolvimento de meios e processos para a obtenção de produtos proteicos e derivados. Ribeirão Preto, 2012.

165 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador: Freitas, Osvaldo de.

1. Soja. 2. Hidrolisado 3. Complexo metálico. 4. Viabilidade econômica.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Flávia de Faria Caetano

Aproveitamento do farelo de soja no desenvolvimento de meios e processos para a obtenção de produtos proteicos e derivados.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador (a): Prof. Dr. Osvaldo de Freitas

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

*Aos meus pais Carlos Alberto e Fátima,
que me apoiaram ao longo de toda minha trajetória
e são minha fonte de inspiração.*

*Aos meus irmãos Ciro, Carlos Moisés e César Vicente,
por me ensinarem a dividir e a compartilhar.*

*Ao Rafael, meu amor,
pelo carinho e dedicação.
Por me ajudar, me apoiar e sempre estar ao meu lado.*

*À Deus,
por cuidar de mim e firmar meus passos.
Por mostrar o caminho quando tudo parecia perdido.*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Osvaldo por toda a amizade e orientação ao longo desses anos. Ensinando com muito carinho, dedicação e paciência. Mostrando que a pesquisa é um complemento da minha vida.

À toda a minha família, por todo o apoio e carinho ao longo desses anos.

Aos amigos da graduação Rafael, Marcela, Marina, Vânia e Rosiane por todo carinho e companheirismo ao longo desses anos.

Às amigas Daina, Drielli e Franciana por me mostrarem que determinação e coragem são o princípio de tudo.

À Mônica pelos longos anos de amizade sincera e por ter me ensinado e ajudado a dar os meus primeiros passos na pesquisa.

À Katyana por toda a amizade, incentivo e ajuda. Por ter me ensinado a ter paciência e a superar as dificuldades.

Às amigas Nathalie, Iahel e Kariane pelos bons momentos com muitas risadas e solidariedade.

Ao José Maria, pela ajuda, boas conversas e cantorias.

Aos colegas de laboratório Roberto, Renê, Thaís, Patrícia e Cláudia pelo bom convívio, boas conversas e risadas.

Às colegas Camila, Cristiane, Maria Paula, Andréa, Mariana (Japa), Mariana (Joelma), Camila Kobayashi.

Ao Rodrigo por toda a ajuda, paciência e pela fundamental colaboração com esse trabalho.

Aos técnicos José Orestes, Jabor, Joana D'Arc, Aurea, Flávia e Maíra por toda a ajuda e colaboração fundamental para a execução desse trabalho.

Aos funcionários da pós-graduação, especialmente à Eleni e Rosana, por toda a ajuda e paciência.

A todos os funcionários da FCFRP, especialmente ao Sr. Antônio (portaria) e José Luiz (Zé pedreiro), pelas boas palavras e pelo simples *bom dia* que tornaram cada dia mais fácil de ser enfrentado.

À Clarisse Izumi e Hélen por toda a colaboração.

A todos os meus professores que contribuíram para a minha formação e para que esse sonho concretizasse.

À Cooperativa dos Agricultores da Região de Orlândia (CAROL) pela doação do farelo de soja.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro.

*Ora, a fé é o firme fundamento das coisas que se esperam,
e a prova das coisas que se não veem.*

Hebreus 11:1

RESUMO

CAETANO, F.F. **Aproveitamento do farelo de soja no desenvolvimento de meios e processos para a obtenção de produtos proteicos e derivados.** 2012. 165f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

A soja é uma leguminosa amplamente cultivada mundialmente, sendo o Brasil o segundo maior produtor mundial. Seu alto conteúdo proteico e baixo custo são fatores potenciais para o desenvolvimento de produtos tendo como base o isolado proteico de soja ou seus derivados. Neste sentido, a partir do farelo de soja (após extração do óleo) e métodos convencionais de extração foi obtido o concentrado proteico, substrato para o desenvolvimento de hidrolisados enzimáticos parciais de proteína. Para tanto, foram avaliadas endopeptidases (Neutrase® 0,8L, Alcalase® 2,4L e papaína) e exopeptidase (Flavourzyme® 1000L). A partir do hidrolisado foram preparados complexos/quelatos de metal-peptídeo. Em cada etapa foi avaliada a viabilidade econômica do produto gerado. A condição de extração proteica que proporcionou o melhor resultado foi a relação sólido/solvente de 1:30 (m/v), pH 9,0 ajustado com NaOH 4,0 M, com tempo de extração de 45 minutos, seguido de filtração e ajuste do pH para 4,5 com HCl 2,0 M para a precipitação de proteínas. Nestas condições foi obtido rendimento aproximado de 68,6 % de extrato com teor proteico de 84 %. O processo de hidrólise que proporcionou melhor perfil de peptídeos foi obtido com a Alcalase® 2,4L, cuja relação proteína/enzima foi de 7,5 mg:10 µL, com tempo de incubação de 30 minutos em solução de tampão fosfato de sódio 30 mM a 55 °C. Porém, não foi possível a secagem do hidrolisado devido ao teor de glicerol oriundo da enzima. Este inconveniente foi superado com a purificação parcial da mistura enzimática em coluna de Sephadex G25, eluída com tampão acetato de sódio (50 mM, pH 5,0), obtendo assim o concentrado enzimático sem prejuízo para a atividade da enzima. O hidrolisado assim obtido representa a proteína em seu conteúdo de aminoácido tanto qualitativamente quanto quantitativamente. Na preparação dos complexos metálicos de cobre, ferro, zinco e manganês, o ponto de equivalência metal/ligante foi determinado com a utilização de métodos eletroquímicos (voltametria cíclica ou titulação potenciométrica) e a quantificação do metal por absorção atômica revelou uma quantidade de metal ligado de 15,19; 5,55; 3,13 e 2,94 % de manganês, ferro, cobre e zinco respectivamente. A análise econômica mostrou a viabilidade para a produção de complexo de zinco, porém não se descartou a viabilidade dos outros produtos mediante ao ajuste da escala produtiva.

Palavras-chave: soja; hidrolisado; complexos metálicos; viabilidade econômica.

ABSTRACT

CAETANO, F.F. **Utilization of soybean meal in the development of means and processes for obtaining protein and derived products.** 2012. 165f. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

The soybean is a legume widely cultivated worldwide, with Brazil being the second largest world producer. Its high protein content and low cost are potential factors for the development of products based on isolated soybean protein or its derived products. In this way, from the soybean meal (after oil extraction) and conventional extraction methods, the protein concentrate was obtained, which is a substrate for the development of partial hydrolysates of protein. For this, were evaluated endopeptidases (Neutrase® 0.8L, Alcalase® 2.4L and papain) and a exopeptidase (Flavourzyme® 1000L). From the hydrolysate were prepared metal-peptide complexes / chelates. At each stage were evaluated the economic feasibility of the generated product. The protein extraction condition which provided the best result was the relationship solid/solvent 1:30 (w/v), pH 9.0 adjusted with 4.0 M NaOH, with extraction time of 45 minutes, followed by filtration and pH adjustment to 4.5 with 2.0 M HCl for proteins precipitation. In these conditions was obtained an income of about 68.6 % of extract with 84% of protein content. The hydrolysis process which provided the best peptides profile was obtained with Alcalase® 2.4L, whose ratio of protein / enzyme was 7.5 mg:10 µL, with incubation time of 30 minutes in a buffer solution of sodium phosphate 30 mM at 55 ° C. However, the drying of the hydrolyzed was not possible due to the glycerol content coming from the enzyme. This drawback was overcome by partial purification of the enzyme mixture on a column of Sephadex G25, eluted with sodium acetate buffer (50 mM, pH 5.0), thus obtaining the enzymatic concentrate without any loss to the enzyme activity. The thus obtained hydrolysate represents the protein in its amino acid content qualitatively and quantitatively. In the preparation of metal complexes of copper, iron, zinc and manganese, the equivalence point metal / ligand was determined using electrochemical methods (cyclic voltammetry or potentiometric titration) and metal quantification by atomic absorption revealed an amount of bounded metal of the 15.19; 5.55; 3.13 e 2.94 % of manganese, iron, copper and zinc respectively. The economic analysis showed the feasibility for the production of zinc complex, but not dismissed the feasibility of using the other products adjusting the scale of production.

Key words: soy; hydrolysate; metal complexes; economic feasibility.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representação esquemática do processo de extração padrão (Adaptado de L'Hocine, Boye e Arcand (2006))	22
Figura 2. Representação esquemática do processo com precipitação a quente (Adaptado de L'Hocine, Boye e Arcand (2006))	23
Figura 3. Representação esquemática do processo de extração com pré-tratamento ácido (Adaptado de L'Hocine, Boye e Arcand (2006))	24
Figura 4. Disposição dos hidrolisados de soja no gel de eletroforese produzidos nos crescentes tempos de hidrólise	34
Figura 5. Reação de derivação pré-coluna dos aminoácidos livres com fenilisotiocianato (PITC)	38
Figura 6. Exemplo dos resultados aleatórios gerados pela Simulação de Monte Carlo para o cálculo da viabilidade econômica do projeto	49
Figura 7. Fluxos de caixa obtidos para cada período e determinação do VPL	50
Figura 8. Distribuição do tamanho de partículas do farelo de soja	54
Figura 9. Representação esquemática da formação de canalículos na torta durante o processo de filtração (adaptado de Prista, Alves e Morgado (1975))	56
Figura 10. Curva analítica de tirosina em tampão fosfato 30 mmol/L (pH 7,5) ($\lambda = 280\text{nm}$)	70
Figura 11. Perfil de hidrólise da proteína de soja com Alcalase® 2,4L com base na absorvância do sobrenadante	71
Figura 12. Perfil de hidrólise da proteína de soja com Neutrase® 0,8L: com base na absorvância do sobrenadante	72
Figura 13. Perfil de hidrólise da proteína de soja com Flavourzyme® 1000L: com base na absorvância do sobrenadante	72
Figura 14. Atividade enzimática da enzima Alcalase® 2,4L	73
Figura 15. Atividade enzimática da enzima Neutrase® 0,8L	74
Figura 16. Atividade enzimática da enzima Flavourzyme® 1000L	74
Figura 17. Atividade enzimática das Alcalase® 2,4L (líquida) e 1,5 MG (sólida), nas proporções 1:100 e 1:200	76
Figura 18. Esquematização simplificada do mecanismo de ação de enzimas do tipo endo e exopeptidases (adaptado de DMS, (2009))	77
Figura 19. Perfil de eluição dos padrões utilizados na calibração da coluna Superdex TM Peptide 10/300 GL, em sistema de FPLC e fase móvel composta por Acetonitrila 30% e TFA 0,1%	79
Figura 20. Perfil de eluição da proteína integral e padrões, em sistema de FPLC e fase móvel composta por Acetonitrila 30% e TFA 0,1%, em sistema de FPLC e fase móvel composta por Acetonitrila 30% e TFA 0,1%	79

Figura 21. Perfil de eluição dos hidrolisados preparados com Alcalase® 2,4L, para reação de hidrólise nos tempos de 30 e 60 minutos, em sistema de FPLC e fase móvel composta por Acetonitrila 30% e TFA 0,1%	80
Figura 22. Perfil de eluição dos hidrolisados com Neutrase® 0,8L, para reação de hidrólise nos tempos de 30 e 60 minutos, em sistema de FPLC e fase móvel composta por Acetonitrila 30% e TFA 0,1%	81
Figura 23. Perfil de eluição dos peptídeos produzidos com adições subseqüentes de Alcalase® 2,4L, em sistema de FPLC e fase móvel composta por Acetonitrila 30% e TFA 0,1%	83
Figura 24. Perfil de eluição dos peptídeos produzidos com adições subseqüentes de Neutrase® 0,8L, em sistema de FPLC e fase móvel composta por Acetonitrila 30% e TFA 0,1%	84
Figura 25. Perfil de eluição dos peptídeos resultantes da combinação das enzimas Alcalase® 2,4L e papaína, em sistema de FPLC e fase móvel composta por Acetonitrila 30% e TFA 0,1%	85
Figura 26. Perfil de eluição dos peptídeos resultantes da combinação das enzimas Alcalase® 2,4L e Neutrase® 0,8L, em sistema de FPLC e fase móvel composta por Acetonitrila 30% e TFA 0,1%	85
Figura 27. Comparação do perfil de eluição da proteína integral, padrões e Alcalase® 2,4L com 30 minutos de reação, em sistema de FPLC e fase móvel composta por Acetonitrila 30% e TFA 0,1%	86
Figura 28. Proteína hidrolisada com Alcalase® 2,4L, fração solúvel (A) e fração insolúvel (B). Sendo da esquerda para a direita: proteína integral, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos de hidrólise	87
Figura 29. Proteína hidrolisada com Neutrase® 0,8L, fração solúvel (A) e fração insolúvel (B). Sendo da esquerda para a direita: proteína integral, 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos de hidrólise	88
Figura 30. Perfil de eluição da Alcalase® 2,4L em Sephadex G-25 com eluição isocrática e fase móvel constituída por tampão acetato de sódio 50 mM (pH 5,0).e determinação da atividade enzimática (determinação do pool enzimático)	91
Figura 31. Esquema básico de um voltamograma cíclico, adaptado de Brett e Brett (1996b).	96
Figura 32. Voltamograma obtido para a determinação do ponto de equivalência de ferro com hidrolisado de proteína de soja	97
Figura 33. Voltamograma obtido para a determinação do ponto de equivalência de zinco com hidrolisado de proteína de soja	98
Figura 34. Voltamograma obtido para a determinação do ponto de equivalência de manganês com hidrolisado de proteína de soja	98
Figura 35: Titulação potenciométrica para a determinação do ponto de equivalência do cobre em relação ao hidrolisado de proteína de soja .	102
Figura 36. Distribuição energética dos orbitais d em um campo cristalino octaédrico, adaptado de Atkins et al. (2006).	103
Figura 37. Espectro de absorção na região UV-visível para o hidrolisado, complexo de cobre e Cloreto de Cobre	105

Figura 38. Espectro de absorção na região UV-visível para o hidrolisado, complexo de ferro e Cloreto de Ferro	105
Figura 39. Espectro de absorção na região UV-visível para o hidrolisado, complexo de manganês e Cloreto de Manganês	106
Figura 40. Espectro de absorção na região UV-visível para o hidrolisado, complexo de zinco e Cloreto de Zinco	106
Figura 41. Esquematização do processo produtivo e da distribuição dos equipamentos para produção de proteína de soja (Etapa 1), hidrolisado proteico (Etapa 2) e complexo peptídeo-mineral (Etapa 3)	110
Figura 42. Distribuição de frequência cumulativa do VPL para o complexo de zinco	118
Figura 43. Distribuição da frequência relativa do VPL para a produção do complexo de zinco	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Volumes utilizados para a reação com enzima na diluição 1:100.....	27
Tabela 2. Volumes utilizados para a reação com enzima na diluição 1:200.....	27
Tabela 3. Volumes utilizados para a determinação da atividade enzimática versus tempo com a concentração de substrato a 0,75% e diluição enzimática a 1:200.....	30
Tabela 4. Massa molecular dos padrões utilizados para o ensaio cromatográfico.....	33
Tabela 5. Gradiente de separação para a eluição dos PTC-aa.....	40
Tabela 6. Distribuição granulométrica cumulativa do farelo de soja cominuído.....	54
Tabela 7. Influência da redução do tamanho de partícula na extração da proteína de soja.....	55
Tabela 8. Influência da temperatura no processo de extração do farelo de soja cominuído.....	57
Tabela 9. Proteína recuperada após a extração e reextração do farelo de soja cominuído.....	57
Tabela 10. Efeito da relação farelo/solvente no rendimento extrativo da proteína de soja.....	59
Tabela 11. Rendimento em massa (g) dos extratos proteicos obtidos a partir de 40g de farelo de soja cominuído.....	60
Tabela 12. Massa (g) de farelo residual da extração proteica.....	60
Tabela 13. Teor de proteína (%) presente no extrato de soja.....	62
Tabela 14. Teor de proteína (%) presente no farelo residual da extração proteica.....	63
Tabela 15. Teor de proteína (%) recuperado em relação à proteína presente no farelo de soja.....	63
Tabela 16. Quantidade de proteína (%) remanescente no farelo residual da extração proteica em relação à proteína presente no farelo de soja.....	64
Tabela 17. Porcentagem de cinza presente nos extratos proteicos.....	65
Tabela 18. Porcentagem de cinza presente no farelo residual da extração proteica.....	66
Tabela 19. Porcentagem de umidade presente nos extratos proteicos.....	67
Tabela 20. Porcentagem de umidade presente no resíduo de farelo residual da extração proteica.....	67
Tabela 21. Porcentagem de resíduos presentes nos extratos proteicos e farelo residual.....	68
Tabela 22. Determinação da relação de substrato para enzima na diluição 1:100.....	69
Tabela 23. Determinação da relação de substrato para enzima na diluição 1:200.....	69
Tabela 24. Precisão e exatidão para a quantificação da tirosina.....	71
Tabela 25. Atividade enzimática específica para a Alcalase® 2,4L nas diferentes etapas do processo de purificação parcial.....	92
Tabela 26. Composição em aminoácido do hidrolisado e proteína integral.....	94
Tabela 27. Tempo de duração e consumo energético de cada etapa.....	111
Tabela 28. Custo mensal e anual de matéria-prima.....	113

Tabela 29: Custo de mão de obra direta.....	114
Tabela 30. Correlação simples (Pearson) das variáveis de margem de contribuição (2, 3 e total) com o VPL.....	120

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIOVE	Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais
ANEEL	Agência Nacional de Energia Elétrica
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AUFS	<i>Absorbance Units Full Scale</i>
BCB	Banco Central do Brasil
BSA	Albumina Sérica Bovina
Ca²⁺	Íon Cálcio
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
CRF-SP	Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo
CuCl₂	Cloreto de Cobre II
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DTT	Ditiotreitol
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
Fe³⁺	Íon Ferro
FeCl₃	Cloreto de Ferro III
FPLC	<i>Fast Protein Liquid Chromatography</i> (Cromatografia Líquida Rápida de Proteínas)
HCl	Ácido Clorídrico
ICP-MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i> (Espectrometria de Massas com Fonte de Plasma Indutivamente Acoplado)
KCl	Cloreto de Potássio
KW	Kilo Watts
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MC	Método de Simulação de Monte Carlo
MnCl₂	Cloreto de Manganês II
NaOH	Hidróxido de Sódio
pH	Potencial Hidrogeniônico
PITC	Fenilisotiocianato
PTC-aa	Feniltiocarbamil-aminoácidos
RNA	Ácido Ribonucléico

SDS	Dodecil Sulfato de Sódio
TCA	Ácido Tricloroacético
TFA	Ácido Trifluoroacético
UNICEF	<i>The United Nations Children's Fund</i> (Fundo das Nações Unidas para a Infância)
USDA	<i>United States Department of Agriculture</i> (Departamento de Agricultura do Estados Unidos)
VPL	Valor Presente Líquido
ZnCl₂	Cloreto de Zinco II

LISTA DE SÍMBOLOS

$^{\circ}\text{C}$	Graus Celsius
$\text{\textcircled{R}}$	Marca Registrada
λ	Comprimento de Onda
Σ	Somatório

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	vi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	viii
LISTA DE SÍMBOLOS	x
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Soja.....	5
1.1.1. Proteína de soja.....	6
1.2. Hidrolisados proteicos e complexos.....	7
1.2.1. Metais de interesse nutricional.....	12
1.2.1.1. Cobre.....	12
1.2.1.2. Ferro.....	13
1.2.1.3. Manganês.....	14
1.2.1.4. Zinco.....	14
2. OBJETIVOS	15
2.1. Objetivo Geral.....	16
2.2. Objetivos Específicos.....	16
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Material.....	18
3.2. Métodos.....	19
3.2.1. Redução do tamanho de partícula do farelo de soja.....	19
3.2.2. Determinação da distribuição do tamanho de partícula do farelo de soja.....	19
3.2.3. Variáveis do processo extrativo.....	20
3.2.4. Otimização do método extrativo.....	21
3.2.5. Caracterização dos extratos proteicos e dos resíduos obtidos pós-extração.....	25
3.2.5.1. Determinação do teor de proteínas (método de Kjeldahl).....	25

3.2.5.2. Determinação de cinza.....	25
3.2.5.3. Determinação da umidade das amostras.....	25
3.2.5.4. Determinação de carboidratos e outros componentes.....	26
3.2.6. Ensaio enzimáticos.....	26
3.2.6.1. Determinação da relação enzima/substrato.....	26
3.2.6.2. Atividade enzimática.....	28
3.2.6.2.1. Validação do método de quantificação da tirosina.....	28
3.2.6.2.2. Determinação da atividade enzimática versus tempo.....	29
3.2.6.3. Caracterização dos hidrolisados.....	30
3.2.6.3.1. Preparação dos hidrolisados proteicos.....	31
3.2.6.3.1.1. Variação do tempo de incubação.....	31
3.2.6.3.1.2. Combinações variadas de enzimas.....	31
3.2.6.3.1.3. Adições subsequentes de enzimas.....	32
3.2.6.3.2. Distribuição do tamanho dos peptídeos.....	32
3.2.6.4. Quantificação do teor de nitrogênio presente nas frações solúveis e insolúveis do hidrolisado proteico.....	33
3.2.6.5. Eletroforese dos peptídeos derivados da proteína de soja.....	34
3.2.7. Purificação parcial da enzima Alcalase® 2,4L.....	35
3.2.7.1. Comparação da atividade enzimática específica da enzima Alcalase® 2,4L nas etapas de purificação parcial.....	35
3.2.7.1.1. Determinação da atividade enzimática da Alcalase® 2,4L para cada etapa do processo de purificação parcial.....	36
3.2.8. Preparação do hidrolisado proteico.....	37
3.2.9.1. Derivação.....	39
3.2.9.2. Separação dos PTC-aa.....	39
3.2.9.3. Quantificação dos PTC-aa.....	40
3.2.10. Preparação dos complexos/quelatos de peptídeo-metal.....	40
3.2.11. Avaliação espectroscópica da interação peptídeo de soja com metal.....	42
3.2.12. Quantificação do metal ligado ao hidrolisado proteico de soja.....	42
3.2.13. Análise da viabilidade econômica do projeto.....	43
3.2.13.1. Esquematização do processo produtivo.....	43
3.2.13.2. Estruturação da análise de viabilidade econômica.....	44
3.2.13.2.1. Custos do projeto.....	45
3.2.13.2.1.1. Custo de implantação.....	45
3.2.13.2.1.2. Custos fixos.....	45
3.2.13.2.1.3. Custos diretos e custos variáveis de produção.....	46

3.2.13.2.2. Levantamento dos valores de mercado dos produtos derivados da soja.....	47
3.2.13.3. Cálculo da viabilidade econômica.....	47
3.2.13.3.1. Simulação de Monte Carlo.....	47
3.2.13.3.2. Determinação do Valor Presente Líquido (VPL).....	49
3.2.13.3.3. Determinação da correlação entre as variáveis do processo.....	51
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.1. Padronização do tamanho de partícula do farelo de soja.....	53
4.2. Padronização da temperatura de extração.....	56
4.3. Avaliação da relação massa de farelo/volume do líquido extrator.....	58
4.4. Métodos extrativos e teor de proteína.....	59
4.5. Ensaio enzimáticos.....	68
4.5.1. Determinação da relação enzima/substrato.....	68
4.5.2. Validação do método de quantificação de tirosina.....	70
4.5.3. Avaliação da atividade enzimática.....	71
4.5.4. Caracterização dos hidrolisados.....	78
4.5.4.1. Calibração da coluna.....	78
4.5.4.2. Avaliação do tempo de hidrólise enzimática.....	80
4.5.4.3. Comparação de adições subsequentes de enzimas.....	82
4.5.4.4. Combinações variadas de enzimas.....	84
4.5.5. Eletroforese dos peptídeos.....	86
4.5.6. Quantificação do teor de nitrogênio presente nas frações solúveis e insolúveis do hidrolisado proteico.....	88
4.6. Purificação parcial da Alcalase® 2,4L.....	89
4.7. Comparação da atividade enzimática específica da enzima Alcalase® 2,4L nas etapas seguintes à purificação parcial e obtenção do hidrolisado de soja seco.....	91
4.8. Composição em aminoácidos.....	93
4.8. Preparação dos complexos peptídeo-metal.....	95
4.8.1. Determinação da estequiometria peptídeo/metal.....	95
4.8.2. Avaliação espectroscópica da interação peptídeo de soja com metal e quantificação de metal ligado ao hidrolisado de proteína de soja.....	102
4.9. Avaliação econômica do projeto.....	108
4.8.1. Esquematização do processo produtivo.....	109
4.8.2. Determinação dos custos.....	112
4.8.2.1. Custos de implantação.....	112

4.8.2.2. Custos Variáveis de Produção.....	112
4.8.2.3. Custo fixo de produção.....	114
5. CONCLUSÕES.....	122
REFERÊNCIAS.....	125

1. INTRODUÇÃO

Segundo a Declaração sobre Segurança Alimentar Mundial, o acesso a alimentos seguros e com características nutricionais adequadas é um direito de todo indivíduo, entretanto, apesar de atualmente a quantidade de alimentos disponíveis no mundo serem suficientes para suprir toda a população, a incidência da fome e da desnutrição ainda é alarmante, constituindo-se a sua erradicação um desafio mundial (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO), 1992).

O bem estar nutricional é fundamental para o desenvolvimento da sociedade, a promoção e a proteção da saúde dos indivíduos, para isso é necessário utilizar-se do conhecimento científico, humano e tecnológico que detemos como ferramenta no combate à fome e a desnutrição (FAO, 1992).

A má nutrição e a desnutrição têm sido reconhecidas como um relevante problema de saúde em diversos países, sendo um expressivo fator de mortalidade. Apesar da predominância em países mais pobres, a desnutrição está presente tanto em países em desenvolvimentos quanto em países industrializados, manifestando de diferentes formas e intensidade (FAO, 2010).

Embora a proporção de pessoas famintas no mundo tenha caído na pós-crise econômica, a quantidade de indivíduos que sofrem com a fome ainda é considerada alta. Segundo a estimativa da FAO, em 2010 o número de pessoas desnutridas no mundo foi de 925 milhões (195 milhões são crianças que sofrem de má nutrição crônica) (FAO, 2010). No entanto deve-se enfatizar que a distribuição da população desnutrida ao redor do mundo ocorre de maneira marcadamente desigual, concentrando 80% nos países em desenvolvimento, principalmente aqueles que enfrentam períodos de crise prolongada (guerras e desastres naturais). Dois países se destacam nesse cenário, estes são a Índia e China e juntos respondem por 40% dos casos de desnutrição crônica infantil no mundo (FAO, 2010; UNICEF, 2009)

A desnutrição afeta a sobrevivência, o desenvolvimento, aprendizado, crescimento e produtividade no trabalho, proporcionando impacto marcante no desenvolvimento social e econômico de uma nação. A sobrevivência de crianças e mulheres também pode ser afetada, principalmente durante a gravidez e nos primeiros dois anos de vida. Segundo relatório da UNICEF divulgado em 2009, a desnutrição é responsável por mais de um terço dos casos de morte de crianças no mundo. A alimentação deficiente em nutrientes durante a infância pode acarretar em longo prazo, sérios problemas no desenvolvimento cognitivo, crescimento e

aumentar a predisposição a diversos tipos de doenças. No Brasil, a região do semiárido é uma das mais afetadas pela desnutrição infantil (UNICEF, 2005).

Quando falamos em desnutrição, os idosos merecem atenção especial. A partir da década de 1940 o envelhecimento da população brasileira tem ocorrido em grau acelerado e o avanço da idade, principalmente acima de 65 anos, está associado a um aumento do risco de desnutrição, especialmente devido à deficiência proteico-calórica o que pode elevar a susceptibilidade a infecções, reduzir a chance de sobrevivência em caso de internações e aumentar a probabilidade de óbito (OTERO et al., 2002).

Pacientes hospitalizados são mais suscetíveis à desnutrição tendo dentre as suas principais causas vômitos e náuseas, disfunções gastrointestinais, absorção reduzida de macro e micro nutrientes e alimentos não disponíveis ou com baixa qualidade nutricional. Pacientes mal nutridos apresentam complicações e taxas de mortalidade três vezes maior e aumento do tempo de internação quando comparados aos pacientes saudáveis, o que leva ao aumento do custo por paciente em até 50% (SAUNDERS; SMITH; STROUD, 2011).

Muitas doenças relacionadas à má nutrição estão intimamente ligadas à deficiência de minerais, dentre os mais comuns o ferro e iodo e sendo as crianças e mulheres na idade fértil dos países subdesenvolvidos e em desenvolvimento os grupos com maior carência desses nutrientes (LATHAM et al., 2001).

Diversos nutrientes inorgânicos são de extrema importância na manutenção do equilíbrio bioquímico e fisiológico do organismo, pois atuam diretamente nos sistemas enzimáticos, metabolismo de proteínas, carboidratos e lipídios, consolidação óssea, atividade neural e muscular, entre outros. Dentre os principais pode-se citar: ferro, iodo, manganês, selênio, cobalto, cobre, cromo e zinco (SAUNDERS; SMITH; STROUD, 2003; KOZLOWSKI et al., 2009; LOBO; TRAMONTE, 2004).

Apesar da carência de mineral ser marcante nos casos de desnutrição, esta não é o único tipo de carência nutricional que pode ocorrer. Idosos pertencem a um grupo que frequentemente sofrem de carência proteica devido à redução da capacidade de absorção de nutrientes e síntese proteica, o que acarreta na perda de massa muscular denominada como sarcopenia. A redução do apetite, muito comum nessa fase, pode agravar ainda mais essa perda de massa muscular e na maioria das vezes levar à desnutrição (ROUSSET; DROIT-VOLET; BOIRIE, 2006; THALACKER-MERCER et al., 2010).

Atletas também estão sujeitos à carência de proteínas e outros nutrientes, o alto consumo energético diário devido aos treinamentos intensos, requer uma dieta extremamente balanceada, assim não é raro estes serem vítimas de carência de diversos nutrientes os quais

são essenciais para um bom desempenho e a manutenção da saúde (GARCIN et al., 2009; MANORE, 1999).

Alguns grupos necessitam de uma suplementação proteica diferenciada, pois são incapazes de ingerir ou digerir o alimento em sua forma convencional, enquanto outros possuem necessidade fisiológica especial devido às alterações metabólicas ou erros inatos do metabolismo, tendo como exemplo os portadores de fenilcetonúria, fibrose cística, doença de Crohn, alergia e intolerância a alguns alimentos. Nestes casos, é recomendada a utilização de hidrolisados parciais de proteína para compor dietas específicas e compatíveis com a limitação fisiológica (CLEMENTE, 2000).

A ingestão de proteína integral, parcialmente hidrolisada ou a infusão de misturas de aminoácidos aumenta a concentração sanguínea de aminoácidos e estimula a síntese proteica. A magnitude do estímulo é dependente da dose administrada e do balanço entre componentes nitrogenados e substratos energéticos não nitrogenados (ANTONIONE et al., 2008; WOLFE, 2006).

Apesar da demonstração da eficácia dos suplementos a base de proteínas isoladas ou parcialmente hidrolisadas, o acesso aos suplementos ainda é limitado devido em parte ao elevado custo. Proteínas utilizadas para estas finalidades devem ter composição em aminoácidos equilibrada (alto valor nutricional) e que atendam as necessidades fisiológicas. Dentre as proteínas mais utilizadas têm-se as derivadas do leite como a caseína, principal proteína do leite e as lactoalbumina e lactoglobulina presentes no soro de leite que são consideradas subproduto da industrialização.

Atualmente grande ênfase tem sido dada à utilização de proteínas de origem vegetal, devido à diversidade, abundância e menor custo, quando comparadas as de origem animal. No entanto, normalmente estas proteínas são pobres em alguns aminoácidos tais como os sulfurados, requerendo portanto, que sejam adicionados às formulações à base de proteínas de origem vegetal (CLEMENTE, 2000; GILBERT et al., 2011; GRESSLER et al., 2010).

Entre as fontes vegetais aquela que tem demonstrado maior viabilidade para a obtenção de proteínas isoladas é a soja, devido ao seu alto conteúdo proteico, grande produção mundial e tendo o Brasil como o segundo maior produtor mundial (CAVALETT; ORTEGA, 2009; GIBBS et al., 2004).

1.1. Soja

A cultura da soja foi introduzida nas Américas inicialmente nos Estados Unidos, sendo utilizada inicialmente como forrageira e somente a partir de 1941 o enfoque passou a ser voltado para a produção de grãos. No Brasil, a soja, proveniente dos Estados Unidos, foi introduzida em 1882 por Gustavo Dutra (EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA), 2002).

De origem chinesa sua utilização remonta a períodos superiores a cinco mil anos, sendo um componente fundamental na dieta dessas antigas civilizações. Apesar de sua origem, a soja atualmente cultivada no Brasil, *Glycine max* (L.) Merrill, difere da planta original sendo uma cultura domesticada resultante do cruzamento de espécies selvagens (EMBRAPA, 2002).

No Brasil, a partir de sua introdução em 1882, a soja passou a ser submetida a diversos testes para a adaptação e em 1891 o Instituto Agrônomo de Campinas (Estado de São Paulo) passou a estudar a adaptação desta leguminosa nas condições climáticas brasileiras, promovendo a distribuição de sementes para os agricultores paulistas a partir de 1900. Nesse mesmo período começaram a surgir as primeiras culturas de soja no sul do país (Rio Grande do Sul), favorecidas pelas condições climáticas semelhantes às encontradas no sul dos Estados Unidos (EMBRAPA, 2002)

A produção de soja no Brasil começou a ganhar importância em meados de 1940, porém foi na década de 60 que, juntamente com programas de incentivo do governo para a produção de trigo, a soja passou a figurar como uma cultura de importância econômica para o país. Já na década de 70, a soja se consolidou como a principal cultura do agronegócio no Brasil. Com a evolução do cultivo no país observou-se uma expansão da cultura para a região Centro-Oeste, sendo esta atualmente a maior região produtora no país (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB), 2009; EMBRAPA, 2002).

Os Estados Unidos é o maior produtor mundial de soja, dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) mostram que a safra de 2010/2011 foi de aproximadamente 90,61 milhões de toneladas, com exportação de 41,91 milhões de toneladas (USDA, 2011). O Brasil, segundo maior produtor, de acordo com levantamento feito pela CONAB (2011) e o Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (2011), apresentou uma produção de soja para a safra 2010/2011 recorde e em valores de aproximadamente 74,99 milhões de toneladas com um aumento de aproximadamente 9,2% em relação à safra anterior.

Nesse mesmo período o Brasil exportou cerca de aproximadamente 31,85 milhões de toneladas.

A soja pode ser comercializada em grãos ou com a separação do óleo e do farelo. De acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE, 2011), as cotações médias alcançadas para os valores de soja no primeiro semestre de 2011, baseadas na bolsa de Chicago, foram de 504; 399 e 1261 US\$/tonelada, para a soja em grãos, farelo e o óleo bruto respectivamente.

O farelo de soja, subproduto da indústria de óleo, hoje utilizado principalmente na fabricação de rações tem grande potencial de ser utilizado como matéria prima para a extração de proteínas, as quais desde que obtidas a baixo custo, podem ser utilizadas como plataforma na obtenção de vários derivados e produtos (ABDALLA et al., 2008).

1.1.1. Proteína de soja

A soja é uma leguminosa rica em proteínas de qualidade nutricional adequada, sua composição pode variar de acordo com as condições climáticas, tipo de solo entre outros fatores. As proteínas presentes nos grãos se encontram armazenadas principalmente no corpo proteico do cotilédone e o farelo de soja sem óleo pode conter até aproximadamente 52% de proteínas (MARTINEZ et al., 2011).

Dentre os principais cultivares do Brasil analisados por Vieira e seus colaboradores (1999), o conteúdo total de aminoácidos essenciais variou de 39,5 a 45 g de aminoácidos/100g de proteína, apresentando de 3,2 a 3,8 g/100g de proteína dos aminoácidos sulfurados metionina e cisteína.

A maior parte da proteína de soja (90%) é constituída por proteínas de armazenamento, principalmente as β -conglucininas e glicininas (70%) que apresentam um coeficiente de sedimentação de 7S e 11S respectivamente (FUKUSHIMA, 2004).

A proteína de soja isolada tem sido aplicada extensivamente na indústria alimentícia para o processamento de carnes, bebidas nutricionais, fórmulas voltadas para crianças e suplementos alimentares (CASTRO et al., 2007; POTTER et al., 2007; TSUMURA et al., 2005).

Além do uso da proteína intacta há uma crescente demanda na utilização de hidrolisados proteicos de soja por apresentarem diversas vantagens tecnológicas muitas vezes desejadas no desenvolvimento de um produto. Além dessas vantagens, os hidrolisados levam

a uma melhora da biodisponibilidade da proteína da soja devido a uma melhor solubilidade e ao alto conteúdo de peptídeos do hidrolisado (TSUMURA et al., 2005; ZIEGLER et al., 1998).

1.2. Hidrolisados proteicos e complexos

O interesse na utilização de hidrolisados proteicos pela indústria alimentícia tem crescido a cada ano. As fontes de proteínas são as mais diversas, tais com a caseína e proteína do soro do leite (BIASUTTI et al., 2008), proteínas de origem vegetal como a soja (SCHMIDT; SALAS-MELLADO, 2009), carcaças de frango (SCHMIDT; SALAS-MELLADO, 2009) e pescado (SANTOS et al., 2009). As proteínas do leite (caseína e concentrado de proteínas do soro de leite) são as mais utilizadas na preparação de hidrolisados, devido ao alto valor nutricional. Hidrolisado oriundos destas proteínas tem ampla aplicação clínica (FREITAS et al., 1993; SALES et al., 1995).

Hidrolisados de proteínas apresentam diversas vantagens tecnológicas tais como: melhoria na solubilidade quando comparados à proteína integral, melhora das propriedades emulsificantes, estabilidade ao aquecimento, maior resistência à precipitação provocada pela alteração do pH e a presença de íons metálicos, além de poderem apresentar peptídeos com atividade biológica (CLEMENTE, 2000; YUST et al., 2010). Também apresentam várias aplicações industriais, dentre elas em produtos cosméticos e de beleza (SECCHI, 2008), alimentos fortificados, dietas enterais específicas e bebidas energéticas (FITZGERALD; O'CUINN, 2006), meios de cultura (MICHIELS et al., 2011) e fertilizantes (ORDÓÑEZ; BENÍTEZ; GONZÁLEZ, 2008). No entanto, deve-se enfatizar que esses hidrolisados, para serem utilizados na nutrição humana e animal, devem preservar a qualidade nutricional da proteína de origem, apresentar palatabilidade compatível com a via de administração e preço adequado ao seu mercado alvo (CAVE; GUILFORD, 2004; HOU et al., 2011).

Os hidrolisados proteicos têm sido amplamente empregados como suporte nutricional para pessoas que apresentam necessidades nutricionais especiais relacionadas a doenças crônicas que implicam na má absorção proteica ou a restrição a alguns tipos de aminoácidos. Dentre estas doenças podem ser citadas: doença de Crohn (WALKER-SMITH, 1997), fenilcetonúria (CARREIRA et al., 2010), fibrose cística, alergia e intolerância a alimentos (CLEMENTE, 2000; KIM et al., 2007a; LOPES; DELVIVO; SILVESTRE, 2005).

Quando consideramos o aspecto nutricional, o hidrolisado proteico apresenta como vantagem a redução do tamanho da proteína a peptídeos e aminoácidos, o que pode facilitar a absorção. Essa facilitação da absorção está fundamentada nos mecanismos de absorção de proteína pelo organismo, que ocorre na forma de aminoácidos livres, di e tri peptídeos. Ao longo dos anos, os mecanismos de absorção/transporte de aminoácidos e peptídeos têm sido amplamente estudados e elucidados facilitando uma abordagem terapêutica mais eficiente (CLEMENTE, 2000).

Os principais mecanismos de transporte dos aminoácidos livres são o transporte passivo por difusão simples dependente do gradiente de concentração e hidrofobicidade dos aminoácidos e o transporte passivo por difusão facilitada e mediada por carreadores. Estes sistemas são saturáveis e susceptíveis a competição entre aminoácidos que apresentam semelhanças estruturais como triptofano, histidina e fenilalanina. Já o transporte de di e tri peptídeos é independente do transporte de aminoácidos livres e ocorre via transporte ativo. São relatados alguns mecanismos de transportes como o cotransporte com íons de hidrogênio e com cátions (ex: Ca^{2+}). Após a absorção, os peptídeos são reduzidos a aminoácidos por peptidases citosólicas presentes nos enterócitos. Por fim, deve-se enfatizar que, devido às peculiaridades de cada um dos mecanismos relatados os di e tri peptídeos são mais eficientemente absorvidos quando comparados a uma quantidade equivalente de aminoácidos livres, justificando o uso preferencial de di e tri peptídeos em detrimento a aminoácidos livres principalmente em nutrição enteral (ADIBI, 1976; MATTHEWS, 1972; SILK, 1974; SILK; GRIMBLE; REES, 1985; WEBB; MATTHEWS; DIRIENZO, 1992).

A hidrólise de proteínas pode ser realizada por ação de ácidos, álcalis ou enzimas, sendo que os primeiros trabalhos de hidrólise proteica foram realizados com a utilização de álcalis (ex: hidróxido de sódio e de bário) e ácidos (ex: ácido clorídrico e trifluoroacético). O rendimento dos dois processos é dependente do tipo de álcali ou ácido utilizado, a temperatura e tempo de reação, porém a hidrólise alcalina é considerada mais fácil de ser conduzida do que a ácida devido a todo o aparato necessário para a sua realização. Apesar dos dois processos apresentarem altos rendimentos de hidrólise são grandes as desvantagens, pois resultam em produtos de baixa qualidade, podendo formar substâncias tóxicas tais como lisina-alanina e por fim, no caso da hidrólise alcalina levar a racemização (conversão de aminoácidos levógiros (L) em dextrógiros (D)), conversão de aminoácidos (cisteína em cistina) e até mesmo sua destruição (GRIGGS, 1921; TSUGITA; SCHEFFLER, 1982; WARNER, 1941). Já a hidrólise enzimática normalmente é feita em condições brandas de pH (6-8) e de temperatura (40-60 °C), minimizando a ocorrência de reações indesejáveis de

racemização e destruição dos aminoácidos (CHIANG; SHIH; CHU, 1999; CLEMENTE, 2000; SINHA et al., 2007).

O grau de hidrólise está intimamente ligado à especificidade da enzima e, este altera as propriedades de solubilidade, emulsificante e gelificante. O controle do tamanho dos peptídeos é essencial para o uso do hidrolisado para fins dietéticos (FITZGERALD; O'CUINN, 2006; SINHA et al., 2007).

As primeiras enzimas utilizadas para a hidrólise de proteínas foram as proteases pancreáticas de origem animal, todavia as enzimas de origem vegetal, bacteriana e fúngica tem ganhado cada vez maior importância (GUADIX et al., 2000).

Várias enzimas isoladas ou associadas têm sido utilizadas nos processos de hidrólise de proteínas (SINHA et al., 2007), dentre as quais podemos destacar as enzimas papaína, Alcalase®, Neutrase® e Flavourzyme®.

A papaína é uma enzima de origem vegetal extraída do látex do fruto da *Carica Papaya* L., é uma hidrolase pertencente ao subgrupo das peptidases e cliva principalmente ligações internas da proteína (endopeptidase), preferencialmente aminoácidos que possuem grandes cadeias laterais hidrofóbicas na posição S2 (EXPASY, 2011b). É estável em pH entre 5 e 9 e com temperatura de atividade ótima por volta de 65 °C (RAO et al., 1998). A Alcalase®, endopeptidase de origem bacteriana produzida pelo *Bacillus licheniformis*, também é uma hidrolase do subgrupo das peptidases e apresenta preferência hidrolítica para regiões com resíduos não carregados em S1 (EXPASY, 2011a). Apresenta atividade e estabilidade em pH entre 6 e 10 e temperatura entre 50 e 70 °C. A Flavourzyme®, também conhecida como carboxipeptidase I (MEROPS, 2011), é um complexo de endo e exopeptidase, com maior atividade de exopeptidase, produzida pelo fungo *Aspergillus oryzae*, apresenta uma atividade ótima nos pHs entre 5 e 7 e temperatura ótima em torno de 50 °C (SANTOS et al., 2009). A Neutrase® é uma endopeptidase produzida pelo *Bacillus amyloliquefaciens* que apresenta atividade ótima em temperatura entre 45 e 55 °C e entre pH 5,5 e 7,5 (DAMRONGSAKKUL et al., 2008).

Apesar do amplo uso de proteínas de origem animal para a produção de hidrolisados proteicos (MORATO et al., 2000), a produção de hidrolisados a partir de proteínas de origem vegetal tem crescido sistematicamente. A diversidade e abundância de fontes, aliadas ao menor custo têm sido um grande estímulo para novas descobertas, porém tem como fator limitante a quantidade de alguns aminoácidos essenciais (sulfurados), sendo, portanto necessário, a adição destes em formulações à base de hidrolisados proteicos de origem vegetal (AGUIRRE; GARRO; SAVOY DE GIORI, 2008; CLEMENTE, 2000).

Dentre as proteínas vegetais estudadas, o glúten, proteína proveniente do trigo, foi estudado por Kong, Zhou e Qian (2007). A hidrólise aumentou a solubilidade da proteína e a enzima Alcalase® apresentou um melhor desempenho dando origem aos menores peptídeos (menores que 1355 Da). Já Kamnerdpetch et al (2007) estudaram a batata (*Solanum tuberosum*) como fonte de proteína para a produção de hidrolisado. Considerada como resíduo após a extração do amido, a polpa gerada é rica em proteína (74%), com base nisso, os pesquisadores, combinando as enzimas Alcalase® e Flavourzyme® desenvolveram um hidrolisado que apresentou alto grau de hidrólise (44%) e uma grande quantidade de aminoácidos livres devido à ação da exopeptidase Flavourzyme®.

As proteínas da soja, também tem sido alvo de estudos para a produção de hidrolisados, parte deste interesse é devido à grande produção mundial de soja e às ações benéficas atribuídas à proteína e seus peptídeos, como a redução do colesterol plasmático, alteração da atividade do receptor de LDL em hepatócitos e ação antioxidante (OMONI; ALUKO, 2005). A partir dessa diversidade de benefícios associados a proteína de soja, diversos pesquisadores têm estudado a viabilidade de produção de produtos derivados dessa proteína dentre os quais os hidrolisados têm recebido atenção especial.

A produção de hidrolisado de proteína de soja com o uso de pancreatina foi realizada por Netto e Galeazzi (1998), obtendo um grau de hidrólise de 14,5%. Os autores sugeriram que, devido ao reduzido conteúdo de aminoácidos aromáticos, especialmente fenilalanina, o hidrolisado seria adequado para compor dietas para portadores de fenilcetonúria.

Tsumura (2005) obteve hidrolisado de proteína de soja usando as enzimas papaína e Pepsina, a primeira demonstrou maior afinidade para a digestão de β -conglucina, já a segunda apresentou maior afinidade pela glicina. Os dois hidrolisados apresentaram um aumento da solubilidade em pH 4,5 (ponto isoelétrico da proteína de soja) e da atividade emulsificante.

Aguirre, Garro e Savoy de Giori (2008) estudaram a produção de hidrolisado de soja com a utilização de diferentes bactérias lácticas, os hidrolisados produzidos apresentaram melhora nas características da proteína (ex: solubilidade) e uma fonte rica em lisina podendo ser utilizado como fonte complementar deste aminoácido em misturas com outras fontes proteicas de cereais.

A partir da produção de hidrolisados de proteína, novas fronteiras têm sido exploradas para a utilização desses compostos. Um grande destaque tem sido dado para a produção de complexos de peptídeos com metais (ex: ferro e manganês) oriundos de sais minerais de interesse nutricional.

A importância dos metais para a manutenção do equilíbrio bioquímico-nutricional é incontestável. No entanto, as bases moleculares envolvidas na homeostase (absorção, distribuição, utilização e eliminação) destes elementos ainda não foram completamente elucidadas. Porém, vários estudos têm demonstrado que a forma de apresentação dos metais tem papel decisivo na biodisponibilidade dos mesmos. Sendo que aqueles naturalmente complexados com proteínas, ferritina (THEIL, 2004), hemoglobina (LAYRISSE et al., 1984) ou preparados a partir de proteínas ou aminoácidos (CREMONESI et al., 1984; FRANZONE et al., 1990) tem demonstrado maior biodisponibilidade e menores efeitos colaterais, quando comparados aos compostos inorgânicos.

Uma das vantagens do uso de metais na forma de complexos é que estes estão menos susceptíveis à interação com fatores antinutricionais (ex: ácido fítico) o que previne a formação de compostos insolúveis e aumenta a disponibilidade do metal para a absorção (ASHMEAD, 2001).

Bao et al (2007) estudaram a complexação de hidrolisados enzimáticos da proteína de soja com íons de cálcio. De acordo com os resultados obtidos, os autores concluíram que a complexação ocorre principalmente nos grupos carboxílicos dos aminoácidos ácidos e nos grupos imidazólicos da histidina, sendo dependente do número de aminoácidos dos peptídeos. A carga do aminoácido também foi sugerida como determinante para a formação do complexo.

Resultados promissores foram mostrados na complexação de hidrolisados parciais de proteínas do soro de leite com ferro por Kim et al (2007b), enquanto que Chaud et al (2002) demonstraram que hidrolisados parciais de caseína obtidos por Freitas et al (1993), em condições apropriadas, formam complexos com ferro. Tais complexos apresentaram características físico-químicas que contrastam com aquelas apresentadas pelo sulfato ferroso, ou seja, o complexo formado é estável e insolúvel quando em pH ácido (similar ao do estômago) permanecendo o ferro, na faixa de pH de 2,0 a 7,5, na forma complexada, porém, é solúvel em pH de neutro a alcalino (similar ao entérico). Os autores demonstraram também que a administração do complexo Fe^{+3} -peptídeo, por sonda gástrica, em ratos normais após jejum de 18 horas resultou em aumento e manutenção dos níveis séricos de ferro quando comparado à dose equivalente de sulfato ferroso.

A suplementação com Fe^{3+} -peptídeo preveniu, em ratos, o desenvolvimento de deficiência de ferro em situação de hipocloridria induzida por omeprazol (CONCEIÇÃO et al., 2001). Preveniu também a deposição hepática de ferro com a administração de altas doses do complexo por um período de 28 dias (MACHADO et al., 2005).

Em estudo prospectivo longitudinal realizado com gestantes (AMBRÓSIO, 1999), a suplementação com o complexo Fe^{+3} -peptídeo apresentou maior eficácia quando comparada ao sulfato ferroso, redução dos efeitos colaterais e conseqüentemente maior adesão ao tratamento.

Garcia-Aranda, Wapnir e Lifshitz (1983) mostraram que a absorção de manganês em ratos Wistar foi três vezes maior para o metal ligado a histidina quando comparados a administração deste sem o ligante. Para Wapnir e Stiel (1986), a administração conjunta de zinco com os aminoácidos triptofano, histidina e prolina levou a um aumento da sua absorção na região do jejuno em camundongos quando comparados ao metal administrado não complexado, os autores acreditam que a formação de complexos dos peptídeos com o zinco foi determinante para o resultado observado nesse estudo.

Os resultados dos autores descritos acima deixam evidente o benefício da utilização de complexos na nutrição e abrem a possibilidade de estender a utilização de complexos para outros metais, que são essenciais para a manutenção do equilíbrio bioquímico-nutricional, tais como o cobre, o manganês e o zinco, visando também a sua maior biodisponibilidade no organismo.

1.2.1. Metais de interesse nutricional

São diversos os metais essenciais para o funcionamento adequado do organismo. Cada um apresenta importante função na homeostase, agindo de maneira sinérgica em diferentes situações. Dentre esses temos os metais cobre, zinco, ferro e manganês com destacado papel.

1.2.1.1. Cobre

O cobre é um elemento essencial para todos os organismos vivos. Nos seres humanos o cobre é absorvido principalmente na região do duodeno e excretado no trato gastrointestinal principalmente via bile, além disso, uma grande parte do cobre eliminado é reabsorvido pelo organismo. A manutenção dos níveis de cobre no organismo é realizada pelo equilíbrio entre sua absorção e eliminação e está ligada ao seu status nutricional (HASSAN; NETCHVOLODOFF; RAUFMAN, 2000; ROMAÑA et al., 2011). O cobre atua principalmente como cofator de diversas enzimas tendo importante desempenho no

crescimento e desenvolvimento infantil, mecanismos de defesa, crescimento ósseo, maturação das células sanguíneas, transporte de ferro e colesterol, metabolismo energético e desenvolvimento cerebral (LINDER et al., 1998; OLIVARES; UAUY, 1996).

A deficiência de cobre é marcante em crianças mal nutridas e também pode estar associada a diversas doenças degenerativas, tais como Alzheimer, doença de Wilson e síndrome de Menkes (KLEVAY, 2008; OLIVARES; UAUY, 1996; ROMAÑA et al., 2011; STRAUSAK et al., 2001).

1.2.1.2. Ferro

O ferro é um dos elementos mais utilizados pelos seres vivos. Sua deficiência afeta aproximadamente 25 % da população mundial, sendo as crianças na fase pré-escolar, mulheres em idade reprodutiva e gestantes as mais afetadas. Estudos apontam uma prevalência de anemia entre 30% e 40% em população de crianças menores de cinco anos e de 55% a 77% em lactentes no Brasil (BRASIL, 2009; UNICEF, 2009).

A deficiência de ferro faz com que as crianças demonstrem-se cansadas, lentas e com o comportamento apático, afetando diretamente o aprendizado na fase escolar. Adultos anêmicos são menos produtivos que os não anêmicos (MONGA et al., 2010; PATTERSON; BROWN; ROBERTS, 1998; TORREJÓN et al., 2004; UNICEF, 2009).

A função mais notória do ferro é participação no transporte de oxigênio quando ligado às proteínas mioglobina e hemoglobina (DISILVESTRO, 2004), além disso, o ferro também está envolvido nos processos de síntese de proteínas, DNA e RNA, regulação da expressão gênica e proliferação celular (GANZ, 2003).

A deficiência de ferro está ligada à baixa qualidade da alimentação, biodisponibilidade do ferro, redução da capacidade absorptiva e até mesmo a sua perda excessiva (DENIC; AGARWAL, 2007).

A suplementação com ferro é recomendada como o tratamento mais utilizado para a sua deficiência. No entanto, devido às altas doses de ferro, ocorrem diversos efeitos colaterais o que reduz a adesão de pacientes, principalmente crianças, ao tratamento (MOREIRA-ARAÚJO; ARAÚJO; ARÊAS, 2008; STEPHENSON, 1995).

1.2.1.3. Manganês

O manganês é um metal essencial encontrado em diversos tecidos biológicos e está envolvido em diversos processos fisiológicos importantes como metabolismo de proteína, aminoácidos, lipídeos e carboidratos (ASCHNER et al., 2007).

Apesar de sua importância, o excesso pode causar acúmulo no cérebro na região do striatum, local responsável pelo controle da função motora. Esse acúmulo leva a uma doença neurodegenerativa com sintomas semelhantes à doença de Parkinson denominada Manganismo e também a manifestações semelhantes à Esquizofrenia (GREGER, 1998; QUINTANAR, 2008).

1.2.1.4. Zinco

A importância do zinco para os seres vivos é inquestionável, seu papel é marcante no crescimento e desenvolvimento de seres humanos, assim como no desenvolvimento e funcionamento do cérebro. Além disso, o zinco está envolvido nos processos de proliferação, diferenciação e apoptose das células (KOZLOWSKI et al., 2009; MARET; SANDSTEAD, 2006; TAKEDA; TAMANO, 2009).

A deficiência de zinco pode levar a diversos problemas dentre os quais retardamento no crescimento, deficiência cognitiva e disfunção imunológica são os mais relevantes. A perda do apetite com consequente anorexia também é relatada, assim como problemas relacionados ao aprendizado e a memória (PRASAD et al., 2004; SALGUEIRO et al., 2000; TAKEDA; TAMANO, 2009). A falta de zinco durante a gestação e desenvolvimento pós-natal, leva a sutis alterações no desenvolvimento neurológico do feto e da criança (MERIALDI et al., 2004).

As necessidades de consumo diário de zinco variam de 2 a 3 mg, sendo os cereais e a carne vermelha suas principais fontes (TAKEDA; TAMANO, 2009).

5. CONCLUSÕES

A padronização dos processos extrativos se mostrou dificultosa em escala laboratorial. A dificuldade na execução de algumas etapas dos processos, tais como a filtração, impossibilitou de se obter um resultado com melhor reprodutibilidade. Optou-se pela utilização do extrato padrão 1:30 (m/v) devido as maiores facilidades na execução do processo e bom rendimento.

Os ensaios enzimáticos revelaram que a enzima Alcalase® 2,4L apresentou um melhor rendimento de hidrólise quando comparados às outras enzimas (Neutrase® 0,8L e Flavourzyme® 1000L), em menor diluição enzimática (1:100) a uma concentração de 0,75 % de substrato no meio, ou seja uma relação de 7,5 mg de proteína de soja:10 µl de enzima.

A análise do perfil de peptídeos formados quanto a sua distribuição de tamanho, comprovou o melhor desempenho da enzima Alcalase® 2,4L em relação às demais enzimas. Os resultados mostraram que a associação de enzimas ou novas adições não são relevantes para a mudança do perfil do peptídeo quando comparados ao uso exclusivo da Alcalase® 2,4L. Também ficou evidente que 30 minutos de reação de hidrólise são suficientes para a formação de um perfil de peptídeos adequados para a composição do hidrolisado.

A hidrólise com a Alcalase® 2,4L não alterou o padrão de aminoácidos do hidrolisado quando comparados à proteína de partida.

A remoção do glicerol contido no meio contendo a enzima, utilizando-se do método de cromatografia de exclusão, não reduziu a atividade da enzima e contribuiu para a melhora das características físicas do hidrolisado proteico de soja.

Na preparação dos complexos de peptídeos com os metais ferro, manganês, cobre e zinco a utilização dos métodos de voltametria cíclica e titulação potenciométrica mostrou ser reprodutível e eficiente para a determinação da estequiometria de reação. Sendo que a maior ou menor afinidade do metal pelo hidrolisado deveu-se às diferentes características intrínsecas de cada metal, o que refletiu diretamente na quantidade de cada metal ligado. Os resultados mostraram o teor de metal ligado de 15,19% para o manganês, 5,55% para o ferro, 3,13% para o cobre e 2,94% para o zinco.

A obtenção dos espectros na região do UV-visível comprovou a formação dos complexos metálicos. No entanto, a técnica de absorção na região do UV-Vis possibilita avaliar a formação do complexo, porém não fornece informações a respeito do modo de coordenação e quais grupamentos do hidrolisado interagem com o metal. Para isso outras técnicas poderão ser utilizadas, como por exemplo, espectroscopia vibracional Raman.

A análise da viabilidade econômica mostrou, para o volume de produção sugerido, a não viabilidade de produção dos produtos propostos excetuando-se uma probabilidade de viabilidade de 100% para o complexo de zinco.

A dificuldade ao acesso a informações sobre o custo de equipamentos e matérias-primas dificultou a projeção para uma maior escala de produção afetando diretamente os resultados da viabilidade econômica do projeto.

Apesar dos resultados desfavoráveis de viabilidade econômica, acredita-se que mediante ajustes de produção o projeto possa apresentar uma maior viabilidade comparada aos resultados obtidos.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, A. L. et al. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 37, p. 260-268, 2008.

ABIOVE. Complexo soja - evolução das cotações médias. Disponível em: <http://www.abiove.com.br/cotacoes_br.html>. Acesso em: 17 jul. 2011.

ADAMSON, N. J.; REYNOLDS, E. C. Characterization of casein phosphopeptides prepared using Alcalase®: Determination of enzyme specificity. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 19, n. 3, p. 202-207, 1996.

ADIBI, S. A. Intestinal phase of protein assimilation in man. **American Journal of Clinical Nutrition**, New York, v. 29, n. 2, p. 202-215, 1976.

AGÊNCIA NACIONAL DE ENERGIA ELÉTRICA (ANEEL). Tarifas médias por classe de consumo. Disponível em: <http://rad.aneel.gov.br/reportserverSAD?%2fSAD_REPORTS%2fSAMP_TarifaMedCCons umoRegiao&rs:Command=Render>. Acesso em: 6 out. 2011.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Resolução-RE nº 899 de 29 de março de 2003. Brasília, DF, 29 mar. 2003a. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15132&word#%27>>. Acesso em: 16 mar. 2009.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). RDC nº 210 - Regulamento técnico das boas práticas para a fabricação de medicamentos. Brasília, DF, 2003b.

AGUIRRE, L.; GARRO, M. S.; SAVOY DE GIORI, G. Enzymatic hydrolysis of soybean protein using lactic acid bacteria. **Food Chemistry**, London, v. 111, n. 4, p. 976-982, 2008.

AJINOMOTO. Alimentos e os aminoácidos. Disponível em: <<http://www.ajinomoto.com.br/enciclopedia/food.html>>. Acesso em: 20 out. 2009.

ALIBHAI, Z. et al. Production of soy protein concentrates/isolates: traditional and membrane technologies. **Desalination**, Amsterdam, v. 191, n. 1/3, p. 351-358, 2006.

AMBRÓSIO, V. L. S. **Avaliação do complexo ferro-peptídeo como fonte alternativa de fornecimento de ferro para gestantes**. 1999. 97 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1999.

ANDERSSON, L.-O.; AGELAND, H. **Stabilized protease composition**. US. 2009/0136474 A1, 28 maio 2009.

ANTONIONE, R. et al. Whey protein ingestion enhances postprandial anabolism during short-term bed rest in young men. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 138, n. 11, p. 2212-2216, 2008.

ARBIX, G. Caminhos cruzados: rumo a uma estratégia de desenvolvimento baseada na inovação. **Novos Estudos - CEBRAP**, n. 87, p. 13-33, 2010.

AREDA, C. A. **Estratégia de estudo farmacoeconômico para avaliação da viabilidade de produção de medicamentos em hospital de porte especial**. 2009. 176 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

ARNOLD, F. H. Metal-Affinity separations: a new dimension in protein processing. **Nat Biotech**, New York, v. 9, n. 2, p. 151-156, 1991.

ASCHNER, M. et al. Manganese: recent advances in understanding its transport and neurotoxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, San Diego, v. 221, n. 2, p. 131-147, 2007.

ASGHARIAN, B.; QUINTANA, R. P.; HONG, B.-S. **Liquid enzyme compositions containing aromatic acid derivatives and methods of use**. US. 005919313A, 6 jul. 1999.

ASHMEAD, H. D. The absorption and metabolism of iron amino acid chelate. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 51, n. 1, p. 13-21, 2001.

ATHERTON, D. Successful PTC amino acid analysis at the picomol level. In: HUGLY, T. E. **Techniques in protein chemistry**. San Diego: Academic Press, 1989. cap. 27, p. 273-283.

ATKINS, P. et al. *d*-Metal Complexes: eletronic structure and spectra. In: _____. **Inorganic chemistry**. 4th ed. New York: Oxford University Press, 2006. cap. 19, p. 459-490.

BANCO CENTAL DO BRASIL (BCB). Indicadores Econômicos Consolidados. Disponível em: <<http://www.bcb.gov.br/?INDECO>>. Acesso em: 27 set 2011.

BAO, X. L. et al. Calcium-binding ability of soy protein hydrolysates. **Chinese Chemical Letters**, Beijing, v. 18, n. 9, p. 1115-1118, 2007.

BIASUTTI, E. A. R. et al. Ação da pancreatina na obtenção de hidrolisados protéicos de soro de leite com elevado teor de oligopeptídeos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, p. 51-60, 2008.

BIDLINGMEYER, B. A.; COHEN, S. A.; TARVIN, T. L. Rapid analysis of amino acids using pre-column derivatization. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, Amsterdam, v. 336, n. 1, p. 93-104, 1984.

BOUGLÉ, D.; BOUHALLAB, S. Mineral-Binding proteins and peptides and bioavailability os trace elements. In: MINE, Y.; SHAHIDI, F. **Nutraceutical proteins and peptides in health and disease**. Canada: Taylor and Francis, 2006. cap. 3, p. 29-40.

BRASIL, P. Mercadante afirma que Brasil não pode se acomodar como exportador de *commodities*. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/noticias/arquivos/2011/06/28/mercadante-afirma-que-brasil-nao-pode-se-acomodar-como-exportador-de-commodities>>. Acesso em: 26 set. 2011.

BRASIL. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação. Lei do bem - capítulo III. Disponível em: <<http://www.mct.gov.br/index.php/content/view/8586.html>>. Acesso em: 12 ago. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Pesquisa nacional de demografia e saúde da criança e da mulher**. Brasília, DF, 2009.

BRASIL. Receita Federal. **Perguntas e respostas pessoa jurídica**. Brasília, DF, 2011.

BRESOLIN, I. T. L.; MIRANDA, E. A.; BUENO, S. M. A. Cromatografia de afinidade por íons metálicos imobilizados (IMAC) de biomoléculas: aspectos fundamentais e aplicações tecnológicas. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, p. 1288-1296, 2009.

BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. Técnica de voltametria cíclica e varrimento linear. In: _____. **Eletroquímica: princípios, métodos e aplicações**. 3. ed. Coimbra: Almedina, 1996b. cap. 9, p. 191-217.

BRETT, A. M. O.; BRETT, C. M. A. Sensores potenciométricos. In: _____. **Eletroquímica: princípios, métodos e aplicações**. 3. ed. Coimbra: Almedina, 1996a. cap. 13, p. 315-337.

BRIGHAM, E. F.; GAPENSKI, L. C.; EHRAHRDT, M. C. **Administração financeira: teoria e prática**. 9. ed. São Paulo: Atlas, 2001.

CAPOBIANGO, M. et al. Extração química e enzimática das proteínas do fubá de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, p. 884-890, 2006.

CARDOSO, D.; AMARAL, H. F. O uso da simulação de Monte Carlo na elaboração do fluxo de caixa empresarial: uma proposta para quantificação das incertezas ambientais. In: ENCONTRO NACIONAL DE ENGENHARIA DE PRODUÇÃO – ENEGEP, XX., 2000, São Paulo. **Anais...** São Paulo: ABEPRO, 2000. 1 CD-ROM.

CARREIRA, R. L. et al. Efeito de parâmetros hidrolíticos na obtenção de hidrolisados proteicos de farinha de trigo com baixo teor de fenilalanina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 30, p. 152-157, 2010.

CASTRO, F. et al. Determination of soybean proteins in commercial heat-processed meat products prepared with chicken, beef or complex mixtures of meats from different species. **Food Chemistry**, London, v. 100, n. 2, p. 468-476, 2007.

CAVALETT, O.; ORTEGA, E. Emergy, nutrients balance, and economic assessment of soybean production and industrialization in Brazil. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 17, n. 8, p. 762-771, 2009.

- CAVE, N. J.; GUILFORD, W. G. A method for in vitro evaluation of protein hydrolysates for potential inclusion in veterinary diets. **Research in Veterinary Science**, London, v. 77, n. 3, p. 231-238, 2004.
- CECCHI, H. M. Cinza e conteúdo mineral. In: CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2. ed. Campinas: UNICAMP, 2007b. cap. 5, p. 49-59.
- CECCHI, H. M. Nitrogênio e conteúdo protéico. In: CECCHI, H. M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. 2. ed. Campinas: UNICAMP, 2007a. cap. 6, p. 60-70.
- CHAUD, M. V. et al. Iron derivatives from casein hydrolysates as a potential source in the treatment of iron deficiency. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 50, n. 4, p. 871-877, 2002.
- CHIANG, W. D.; SHIH, C. J.; CHU, Y. H. Functional properties of soy protein hydrolysate produced from a continuous membrane reactor system. **Food Chemistry**, London, v. 65, n. 2, p. 189-194, 1999.
- CLEMENTE, A. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, Cambridge, v. 11, n. 7, p. 254-262, 2000.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**. Brasília, DF, 2009.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). **Acompanhamento da safra brasileira: grãos**. Brasília, DF, 2011.
- CONCEIÇÃO, E. C. et al. Iron supplementation prevents the development of iron deficiency in rats with omeprazole-induced hypochlorhydria. **Nutrition Research**, New York, v. 21, n. 8, p. 1201-1208, 2001.
- CONSELHO REGIONAL DE FARMÁCIA DO ESTADO DE SÃO PAULO (CRF-SP). Piso profissional por área de atuação. Disponível em: <<http://www.crfsp.org.br/piso-salarial.html>>. Acesso em: 19 jun. 2011.
- CREMONESI, P. et al. Iron derivatives of modified milk protein. **Arzneimittel-Forschung/Drug Research**, Aulendorf, v. 34, n. 9, p. 948-952, 1984.
- DAMRONGSAKKUL, S. et al. Enzymatic hydrolysis of rawhide using papain and Neutrase®. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, Washington, v. 14, n. 2, p. 202-206, 2008.
- DENIC, S.; AGARWAL, M. M. Nutritional iron deficiency: an evolutionary perspective. **Nutrition**, Los Angeles, v. 23, n. 7/8, p. 603-614, 2007.

DISILVESTRO, R. A. Iron. In: HANDBOOK of minerals as nutritional supplements. CRCnetBASE. 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1201/9780203489673.ch4>>. Acesso em: 11 jul. 2011.

DMS. Pet Food Enzymes - Application Sheets. Disponível em: <http://www.dsm.com/en_US/html/dnpus/an_enzymatic_appl.htm>. Acesso em: 7 out. 2009.

DUPONT, D. R. et al. A comprehensive approach to amino acid analysis. In: HUGLY, T. E. **Techniques in protein chemistry**. San Diego: Academic Press, 1989. cap. 28, p. 284-294.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **Tecnologias de produção de soja - região central do Brasil 2003**. Londrina, 2002.

ESTEVES, R. A. **Análise de sensibilidade do estudo de viabilidade na produção de medicamentos em hospital de porte especial**. 2010. 44 f. Trabalho de Conclusão de Curso. Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

EXPASY. Alcalase®. Disponível em: <<http://www.expasy.org/enzyme/3.4.21.62>>. Acesso em: 23 jun. 2011a.

EXPASY. Papain. Disponível em: <<http://www.expasy.org/enzyme/3.4.22.2>>. Acesso em: 24 jun. 2011b.

FIGUEIREDO FILHO, D., SILVA JUNIOR, J. Desvendando os Mistérios do Coeficiente de Correlação de Pearson (r). **Revista Política Hoje**, América do Norte, v. 18, n. 1, p. 115-146, jan. 2010. Disponível em: <http://www.politicohoje.ufpe.br/index.php/politica/article/view/6>. Acesso em: 08 nov. 2011.

FINANCIADORA DE ESTUDOS E PROJETOS (FINEP). O que é a FINEP? Disponível em: <http://www.finep.gov.br/o_que_e_a_finep/a_empresa.asp>. Acesso em: 26 set. 2011.

FISCHER, M. et al. Enzymatic extractability of soybean meal proteins and carbohydrates: heat and humidity effects. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 49, n. 9, p. 4463-4469, 2001.

FITZGERALD, R. J.; O'CUINN, G. Enzymatic debittering of food protein hydrolysates. **Biotechnology Advances**, New York, v. 24, n. 2, p. 234-237, 2006.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **World declaration on nutrition**. Roma, 1992.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO). **The state of food isecurity in the world**. Roma, 2010.

FRANZAN, R. **Preparação e caracterização físico-química de complexos de hidrolisados parciais de proteína com minerais**. 2006. 100 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

FRANZONE, J. S. et al. Synthesis of a new antianaemic iron lysozyme glutarate complex and pharmacological studies in animals. **Arzneimittel-Forschung/Drug Research**, Aulendorf, v. 40, n. 9, p. 987-993, 1990.

FREITAS, O. et al. Characterization of protein hydrolyzates prepared for enteral nutrition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 41, n. 9, p. 1432-1438, 1993.

FRENHANI, P. B.; BURINI, R. C. Mecanismos de absorção de aminoácidos e oligopeptídios. Controle e implicações na dietoterapia humana. **Arquivos de Gastroenterologia**, São Paulo, v. 36, p. 227-237, 1999.

FUKUSHIMA, D. Soy proteins. In: YADA, R. Y. **Protein in food processing**. Cambridge: CRC Press, 2004. cap. 6, p. 123-145.

FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO (FAPESP). A instituição. Disponível em: <<http://www.fapesp.br/2>>. Acesso em: 10 ago. 2011.

GANZ, T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. **Blood**, Washington, v. 102, n. 3, p. 783-788, 2003.

GARCIA-ARANDA, J. A.; WAPNIR, R. A.; LIFSHITZ, F. In vivo intestinal absorption of manganese in the rat. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 113, n. 12, p. 2601-2607, 1983.

GARCIN, M. et al. Athletes' dietary intake was closer to French RDA's than those of young sedentary counterparts. **Nutrition Research**, New York, v. 29, n. 10, p. 736-742, 2009.

GIBBS, B. F. et al. Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food. **Food Research International**, Barking, v. 37, n. 2, p. 123-131, 2004.

GILBERT, J. A. et al. Effect of proteins from different sources on body composition. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, Amsterdam, v. 21, n. 0, p. B16-B31, 2011.

GIRAULT, H. H. Cyclic voltammetry. In: _____. **Analytical and physical electrochemistry**. New York: EFPL Press, 2004. cap. 10, p. 375-409.

GREEN, D. W.; PERRY, R. H. **Perry's chemical engineers' handbook**. 8th ed. New York: The McGraw-Hill, 2008.

GREGER, J. L. Dietary standards for manganese: overlap between nutritional and toxicological studies. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 128, n. 2, p. 368S-371S, 1998.

GRESSLER, V. et al. Lipid, fatty acid, protein, amino acid and ash contents in four Brazilian red algae species. **Food Chemistry**, London, v. 120, n. 2, p. 585-590, 2010.

GRIGGS, M. A. The alkaline hydrolysis of casein. **Journal of Industrial & Engineering Chemistry**, Washington, v. 13, n. 11, p. 1027-1028, 1921.

GUADIX, A. et al. Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. **Ars Pharmaceutica**, Granada, v. 41, n. 1, p. 79-89, 2000.

GUÉRARD, F. et al. Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) wastes using Alcalase®. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 11, n. 4/6, p. 1051-1059, 2001.

GUJARATI, D. N. **Econometria básica**. 3. ed. São Paulo: Makron Books, 2002.

GUSHIKEM, Y. Espectros eletrônicos de alguns complexos de geometria octaédrica de Ni^{2+} : uma introdução prática à teoria do campo cristalino no curso de graduação. **Química Nova**, São Paulo, v. 28, n. p. 153-156, 2005.

HARRYS, D. C. **Quantitative chemical analysis**. 6th ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2003.

HASSAN, H. A.; NETCHVOLODOFF, C.; RAUFMAN, J.-P. Zinc-induced copper deficiency in a coin swallower. **The American Journal of Gastroenterology**, New York, v. 95, n. 10, p. 2975-2977, 2000.

HEALTHCARE, G. Sephadex. Disponível em: <<http://www.gelifesciences.com/aptrix/upp01077.nsf/Content/Products?OpenDocument&moid=6844>>. Acesso em: 24 ago. 2011.

HOSTETLER, C. E.; KINCAID, R. L.; MIRANDO, M. A. The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. **The Veterinary Journal**, London, v. 166, n. 2, p. 125-139, 2003.

HOU, H. et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of Alaska pollock frame for preparing protein hydrolysates with low-bitterness. **LWT - Food Science and Technology**, Zurich, v. 44, n. 2, p. 421-428, 2011.

HUHEEY, J. E.; KEITER, E. A.; KEITER, R. L. Acid-Base chemistry. In: _____. **Inorganic chemistry: principles of structure and reactivity**. 4th ed. New York: Harper Collins College Publishers, 1993a. cap. 9, p. 318-344.

HUHEEY, J. E.; KEITER, E. A.; KEITER, R. L. Coordination chemistry: bonding, spectra and magnetism. In: _____. **Inorganic chemistry: principles of structure and reactivity**. 4th ed. New York: Harper Collins College Publishers, 1993b. cap. 11, p. 301-459.

INOVA. Especialista inglês revela que dificuldades britânicas para transferência de conhecimento se assemelham às do Brasil. 2009. Disponível em: <<http://www.inovacao.rei.unicamp.br/report/noticias/index.php?cod=486>>. Acesso em: 23 set. 2011.

INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA (IPEA). **Radar: tecnologia, produção e comércio exterior**. Brasília, DF, 2011.

KAMNERDPETCH, C. et al. An improvement of potato pulp protein hydrolyzation process by the combination of protease enzyme systems. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 40, n. 4, p. 508-514, 2007.

KIM, S. B. et al. Peptic and tryptic hydrolysis of native and heated whey protein to reduce its antigenicity. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 90, n. 9, p. 4043-4050, 2007a.

KIM, S. B. et al. Separation of iron-binding protein from whey through enzymatic hydrolysis. **International Dairy Journal**, Barking, v. 17, n. 6, p. 625-631, 2007b.

KLEVAY, L. M. Alzheimer's disease as copper deficiency. **Medical Hypotheses**, New York, v. 70, n. 4, p. 802-807, 2008.

KONG, X. et al. Enzymatic preparation of immunomodulating hydrolysates from soy proteins. **Bioresource Technology**, Barking, v. 99, n. 18, p. 8873-8879, 2008.

KONG, X.; ZHOU, H.; QIAN, H. Enzymatic hydrolysis of wheat gluten by proteases and properties of the resulting hydrolysates. **Food Chemistry**, London, v. 102, n. 3, p. 759-763, 2007.

KOZLOWSKI, H. et al. Copper, iron, and zinc ions homeostasis and their role in neurodegenerative disorders (metal uptake, transport, distribution and regulation). **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 253, n. 21-22, p. 2665-2685, 2009.

KOZLOWSKI, H. et al. Specific structure-stability relations in metallopeptides. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 184, n. 1, p. 319-346, 1999.

KUMAR, R. et al. Adhesives and plastics based on soy protein products. **Industrial Crops and Products**, Amsterdam, v. 16, n. 3, p. 155-172, 2002.

KUNITZ, M. Crystalline soybean trypsin inhibitor. **The Journal of General Physiology**, New York, v. 30, n. 4, p. 291-310, 1947.

- LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, London, v. 227, p. 680-685, 1970.
- LATHAM, M. C. et al. Micronutrient dietary supplements - A new fourth approach. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, Caracas, v. 51, n. 1, p. 37-41, 2001. Supplement.
- LAYRISSE, M. et al. Effect of histidine, cysteine, glutathione or beef on iron absorption in humans. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 114, n. 1, p. 217-223, 1984.
- LENOIR, P. M. **Enzyme stabilization**. US. 7.928.052 B2, 19 abr. 2011.
- L'HOCINE, L.; BOYE, J. I.; ARCAND, Y. Composition and functional properties of soy protein isolates prepared using alternative defatting and extraction procedures. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 71, n. 3, p. C137-C145, 2006.
- LINDER, M. C. et al. Copper transport. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 67, n. 5, p. 965S-971S, 1998.
- LOBO, A. S.; TRAMONTE, V. L. C. Efeitos da suplementação e da fortificação de alimentos sobre a biodisponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 17, p. 107-113, 2004.
- LOPES, D. C. F.; DELVIVO, F. M.; SILVESTRE, M. P. C. Use of activated carbon for removing phenylalanine from reconstituted skim milk powder hydrolysates. **LWT - Food Science and Technology**, Zurich, v. 38, n. 5, p. 447-453, 2005.
- LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 193, n. 1, p. 265-275, 1951.
- MACHADO, A. A. et al. Iron deposition in rats liver and spleen were lower when the mineral was supplied as a derivative of casein hydrolysate in place of iron sulfate. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 2, p. 111-116, 2005.
- MANORE, M. M. Nutritional needs of the female athlete. **Clinics in Sports Medicine**, Philadelphia, v. 18, n. 3, p. 549-563, 1999.
- MARET, W.; SANDSTEAD, H. H. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 20, n. 1, p. 3-18, 2006.
- MARQUES, F. Avanços e desafios. **Pesquisa FAPESP**, v. 185, p. 26-33, 2011.
- MARTINEZ, A. P. C. et al. Alterações químicas em grãos de soja com a germinação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 31, p. 23-30, 2011.

- MARTINS, E. Algumas classificações e nomenclaturas de custos. In: _____. **Contabilidade de custos**. 9. ed. São Paulo: Atlas, 2006a. cap. 4, p. 44-52.
- MARTINS, E. Custo fixo, lucro e margem de contribuição. In: _____. **Contabilidade de custos**. 9. ed. São Paulo: Atlas, 2006b. cap. 15, p. 175-186.
- MATTHEWS, D. M. Intestinal absorption of amino acids and peptides. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 31, n. 2, p. 171-177, 1972.
- MERIALDI, M. et al. Randomized controlled trial of prenatal zinc supplementation and the development of fetal heart rate. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Saint Louis, v. 190, n. 4, p. 1106-1112, 2004.
- MEROPS. Flavourzyme®. Disponível em: <<http://merops.sanger.ac.uk/cgi-bin/pepsum?mid=S10.016>>. Acesso em: 23 jun. 2011.
- MICHIELS, J. F. et al. Characterization of beneficial and detrimental effects of a soy peptone, as an additive for CHO cell cultivation. **Process Biochemistry**, London, v. 46, n. 3, p. 671-681, 2011.
- MILLER, L.; HOUGHTON, J. A. The micro-kjeldahl determination of the nitrogen content of amino acids and proteins. **Journal of Biological Chemistry**, Bethesda, v. 159, n. 2, p. 373-383, 1945.
- MONGA, M. et al. Effect of iron deficiency anemia on visual evoked potential of growing children. **Brain and Development**, Tokyo, v. 32, n. 3, p. 213-216, 2010.
- MORATO, A. F. et al. Optimization of casein hydrolysis for obtaining high contents of small peptides: use of subtilisin and trypsin. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 13, n. 5, p. 843-857, 2000.
- MOREIRA-ARAÚJO, R. S. R.; ARAÚJO, M. A. M.; ARÊAS, J. A. G. Fortified food made by the extrusion of a mixture of chickpea, corn and bovine lung controls iron-deficiency anaemia in preschool children. **Food Chemistry**, London, v. 107, n. 1, p. 158-164, 2008.
- NETTO, F. M.; GALEAZZI, M. A. M. Production and characterization of enzymatic hydrolysate from soy protein isolate. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, London, v. 31, n. 7/8, p. 624-631, 1998.
- NEVES, V. A.; LOURENÇO, E. J.; SILVA, M. A. D. Características de solubilidade da fração protéica de semente de lentilha LENTILHA (*Lens Culinaris* MEDIK), var. Precoz. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 9, n. 1, p. 89-101, 1998.
- NIELSEN, H. P. **Stabilization of concentrated liquid enzyme additives**. US. 2007/0060493 A1, 15 mar. 2007.

- NORIEGA, P. et al. Avaliação por análise fatorial das condições da extração do 4-nerolidilcatecol de *Pothomorphe umbellata* (L). *Miq. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, São Paulo, v. 41, n. p. 261-269, 2005.
- OLIVARES, M.; UAUY, R. Copper as an essential nutrient. *The American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v. 63, n. 5, p. 791S-796S, 1996.
- OLIVEIRA, A. M.; GÓMEZ, R. J. H. C. Otimização da extração de proteínas da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 26, n. 4, p. 521-534, 2005.
- OMONI, A. O.; ALUKO, R. E. Soybean foods and their benefits: potential mechanisms of action. *Nutrition Reviews*, New York, v. 63, n. 8, p. 272-283, 2005.
- ORDÓÑEZ, C.; BENÍTEZ, C.; GONZÁLEZ, J. L. Amino acid production from a sunflower wholemeal protein concentrate. *Bioresource Technology*, Essex, v. 99, n. 11, p. 4749-4754, 2008.
- OTERO, U. B. et al. Mortalidade por desnutrição em idosos, região Sudeste do Brasil, 1980-1997. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, v. 36, n. p. 141-148, 2002.
- PANIAGO, E. B.; CARVALHO, S. Determinação de constantes de formação de complexos metálicos em soluções aquosas através de medidas de concentração hidrogeniônica. *Química Nova*, São Paulo, v. 11, n. 4, p. 405-411, 1988.
- PATTERSON, A. J.; BROWN, W. J.; ROBERTS, D. C. K. Development, prevention and treatment of iron deficiency in women. *Nutrition Research*, New York, v. 18, n. 3, p. 489-502, 1998.
- PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases, HSAB, part 1: fundamental principles. *Journal of Chemical Education*, Easton, v. 45, n. 9, p. 581-null, 1968a.
- PEARSON, R. G. Hard and soft acids and bases, HSAB, part II: underlying theories. *Journal of Chemical Education*, Easton, v. 45, n. 10, p. 643-null, 1968b.
- PIRES, C. V. et al. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Campinas, v. 26, p. 179-187, 2006.
- PLONSKI, G. A. Cooperação univesidade-empresa: um desafio gerencial complexo. *Revista de Administração*, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 5-12, 1999.
- POTTER, R. M. et al. Characteristics of wild blueberry-soy beverages. *LWT - Food Science and Technology*, Zurich, v. 40, n. 5, p. 807-814, 2007.
- PRASAD, A. S. et al. Antioxidant effect of zinc in humans. *Free Radical Biology and Medicine*, New York, v. 37, n. 8, p. 1182-1190, 2004.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Técnica farmacêutica e farmácia galénica**. 2. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1975.

QUINTANAR, L. Manganese neurotoxicity: a bioinorganic chemist's perspective. **Inorganica Chimica Acta**, Lausanne, v. 361, n. 4, p. 875-884, 2008.

RAO, M. B. et al. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, New York, v. 62, n. 3, p. 597-635, 1998.

ROMAÑA, D. L. et al. Risks and benefits of copper in light of new insights of copper homeostasis. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, Stuttgart, v. 25, n. 1, p. 3-13, 2011.

ROSS, S. A.; WESTERFIELD, R. W.; JAFFE, J. F. Alguns critérios alternativos de investimentos. In: _____. **Administração financeira**. São Paulo: Atlas, 2002b. cap. 6, p. 126-143.

ROSS, S. A.; WESTERFIELD, R. W.; JAFFE, J. F. Valor presente líquido. In: _____. **Administração financeira**. São Paulo: Atlas, 2002a. cap. 4, p. 73-94.

ROTHSCHILD, Z. Cromatografia por exclusão. In: COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora UNICAMP, 2006. cap. 6, p. 139-166.

ROUSSET, S.; DROIT-VOLET, S.; BOIRIE, Y. Change in protein intake in elderly french people living at home after a nutritional information program targeting protein consumption. **Journal of the American Dietetic Association**, Chicago, v. 106, n. 2, p. 253-261, 2006.

SALES, M. G. et al. Casein, hydrolyzed casein, and amino acids that simulate casein produce the same extent of mucosal adaptation to massive bowel resection in adult rats. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 62, n. 1, p. 87-92, 1995.

SALGUEIRO, M. J. et al. Zinc as an essential micronutrient: a review. **Nutrition Research**, New York, v. 20, n. 5, p. 737-755, 2000.

SANTANA, É. E. D. P.; PORTO, G. S. E agora, o que fazer com essa tecnologia? Um estudo multicaso sobre as possibilidades de transferência de tecnologia na USP-RP. **Revista de Administração Contemporânea**, Curitiba, v. 13, p. 410-429, 2009.

SANTORO, M. D.; CHAKRABARTI, A. K. Firm size and technology centrality in industry–university interactions. **Research Policy**, Amsterdam, v. 31, n. 7, p. 1163-1180, 2002.

SANTOS, E. M.; PAMPLONA, E. D. O. Teoria das opções reais: uma atraente opção no processo de análise de investimentos. **Revista de Administração da USP**, São Paulo, v. 40, n. 3, p. 1-41, 2005.

SANTOS, S. D. A. D. et al. Otimização dos parâmetros de produção de hidrolisados protéicos enzimáticos utilizando pescado de baixo valor comercial. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, p. 72-77, 2009.

SAUNDERS, J.; SMITH, T.; STROUD, M. Malnutrition and undernutrition. **Medicine**, Abingdon, v. 39, n. 1, p. 45-50, 2011.

SCHMIDT, C. G.; SALAS-MELLADO, M. Influência da ação das enzimas Alcalase® e Flavourzyme® no grau de hidrólise das proteínas de carne de frango. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, p. 1144-1150, 2009.

SCHMIDT, P.; SANTOS, J. L. D. **Contabilidade societária**. 4. ed. São Paulo: Atlas, 2011.

SECCHI, G. Role of protein in cosmetics. **Clinics in Dermatology**, New York, v. 26, n. 4, p. 321-325, 2008.

SEE, Y. S.; JACKOWSKI, G. Estimating molecular weights of polypeptides by SDS gel electrophoresis. In: CREIGTON, T. E. **Protein structure a practical approach**. New York: Oxford University, 1989. cap. 1, p. 1-19.

SEGATTO-MENDES, A. P.; SBRAGIA, R. O processo de cooperação universidade-empresa em universidades brasileiras. **Revista de Administração**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 58-71, 2002.

SEUFER-WASSERTHAL, P. et al. Probing the specificity of the S1 binding site of subtilisin Carlsberg with boronic acids. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 2, n. 1, p. 35-48, 1994.

SIGMA-ALDRICH. Papain. Disponível em: <<http://www.sigmaaldrich.com/life-science/metabolomics/enzyme-explorer/analytical-enzymes/papain.html>>. Acesso em: 25 jul. 2009.

SILK, D. B. A.; GRIMBLE, G. K.; REES, R. G. Protein digestion and amino acid and peptide absorption. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, v. 44, n. 1, p. 63-72, 1985.

SILK, D. B. Progress report. Peptide absorption in man. **Gut**, London, v. 15, n. 6, p. 494-501, 1974.

SILVA, M. S. et al. Composição química e valor protéico do resíduo de soja em relação ao grão de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 26, p. 571-576, 2006.

SIMPELKAMP, J.; JONES, J.B. Borinic acid inhibitors as probes of the factors involved in binding at the active sites of subtilisin carlsberg and [alpha]-chymotrypsin. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, New York, v. 2, n. 11, p. 1391-1394, 1992.

- SINHA, R. et al. Whey protein hydrolysate: functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. **Food Chemistry**, London, v. 101, n. 4, p. 1484-1491, 2007.
- SMYTH, M.; FITZGERALD, R. J. Characterisation of a new chromatography matrix for peptide molecular mass determination. **International Dairy Journal**, Barking, v. 7, n. 8/9, p. 571-577, 1997.
- STEPHENSON, L. S. Possible new developments in community control of iron-deficiency anemia. **Nutrition Reviews**, New York, v. 53, n. 2, p. 23-30, 1995.
- STRAUSAK, D. et al. Copper in disorders with neurological symptoms: Alzheimer's, Menkes, and Wilson diseases. **Brain Research Bulletin**, New York, v. 55, n. 2, p. 175-185, 2001.
- SULKOWSKI, E. The saga of IMAC and MIT. **BioEssays**, Cambridge, v. 10, n. 5, p. 170-175, 1989.
- SUYAMA, E. et al. Uma abordagem robusta de cálculo aplicada a um sistema potenciométrico de medida de concentrações hidrogeniônicas em soluções aquosas. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, p. 5-9, 2001.
- TAKEDA, A.; TAMANO, H. Insight into zinc signaling from dietary zinc deficiency. **Brain Research Reviews**, Amsterdam, v. 62, n. 1, p. 33-44, 2009.
- TARLOW, M. J. et al. Absorption of amino acids and peptides in a child with a variant of hartnup disease and coexistent coeliac disease. **Archives of Disease in Childhood**, London, v. 47, n. 255, p. 798-803, 1972.
- THALACKER-MERCER, A. E. et al. The skeletal muscle transcript profile reflects accommodative responses to inadequate protein intake in younger and older males. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 21, n. 11, p. 1076-1082, 2010.
- THEIL, E. C. Iron, ferritin, and nutrition. **Annual Review of Nutrition**, Palo Alto, v. 24, n. 1, p. 327-343, 2004.
- TORREJÓN, C. S. et al. Zinc and iron nutrition in Chilean children fed fortified milk provided by the complementary national food program. **Nutrition**, Tarrytown, v. 20, n. 2, p. 177-180, 2004.
- TSOU, M.-J. et al. The effect of limited hydrolysis with Neutrase® and ultrafiltration on the anti-adipogenic activity of soy protein. **Process Biochemistry**, London, v. 45, n. 2, p. 217-222, 2010.
- TSUGITA, A.; SCHEFFLER, J.-J. A rapid method for acid hydrolysis of protein with a mixture of trifluoroacetic acid and hydrochloric acid. **European Journal of Biochemistry**, Berlin, v. 124, n. 3, p. 585-588, 1982.

TSUMURA, K. et al. Functional properties of soy protein hydrolysates obtained by selective proteolysis. **LWT - Food Science and Technology**, Zurich, v. 38, n. 3, p. 255-261, 2005.

UEDA, E. K. M.; GOUT, P. W.; MORGANTI, L. Current and prospective applications of metal ion-protein binding. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 988, n. 1, p. 1-23, 2003.

UEDA, J. et al. Copper(II) complexes of l-histidylglycyl-l-histidylglycine and l-histidyl-l-histidylglycylglycine: coordination mode of histidyl residues. **Inorganica Chimica Acta**, Lausanne, v. 135, n. 1, p. 43-46, 1987.

UNITED NATIONS CHILDREN'S FUND (UNICEF). **Situação da infância brasileira: o direito à sobrevivência e ao desenvolvimento**. Brasília, DF, 2005.

UNITED NATIONS CHILDREN'S FUND (UNICEF). **Tracking progress on child and maternal nutrition: a survival and development priority**. New York, 2009.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). **Oilseeds: world markets and trade**. Washington, 2011.

VIEIRA, C. R.; CABRAL, L. C.; PAULA, A. C. O. D. Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, v. 34, p. 1277-1283, 1999.

WALKER-SMITH, J. A. Therapy of Crohn's disease in childhood. **Baillière's Clinical Gastroenterology**, London, v. 11, n. 3, p. 593-610, 1997.

WAPNIR, R. A.; STIEL, L. Zinc intestinal absorption in rats: specificity of amino acids as ligands. **The Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 116, n. 11, p. 2171-2179, 1986.

WARNER, R. C. The alkaline hydrolysis of egg albumin. **The Journal of Biological Chemistry**, San Francisco, v. 142, p. 741-756, 1941.

WEBB, K. E., JR.; MATTHEWS, J. C.; DIRIENZO, D. B. Peptide absorption: a review of current concepts and future perspectives. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 10, p. 3248-3257, 1992.

WOLFE, R. R. Optimal nutrition, exercise, and hormonal therapy promote muscle anabolism in the elderly. **Journal of the American College of Surgeons**, Chicago, v. 202, n. 1, p. 176-180, 2006.

YUAN, X.; GU, X.; TANG, J. Optimization of the production of *Momordica charantia* L. Var. *abbreviata* Ser. protein hydrolysates with hypoglycemic effect using Alcalase®. **Food Chemistry**, London, v. 111, n. 2, p. 340-344, 2008.

- YUST, M. D. M. et al. Improvement of functional properties of chickpea proteins by hydrolysis with immobilised Alcalase®. **Food Chemistry**, London, v. 122, n. 4, p. 1212-1217, 2010.
- ZIEGLER, F. et al. Pharmacokinetic assessment of an oligopeptide-based enteral formula in abdominal surgery patients. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 67, n. 1, p. 124-128, 1998.
- CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos**. Brasília, 2009. 39 p.
- CONAB. **Acompanhamento da Safra Brasileira: Grãos**. Brasília, 2011. 47 p.
- ABDALLA, A. L. et al. Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n. p. 260-268, 2008.
- ABIOVE. Complexo Soja - Evolução das Cotações Médias. Disponível em: <http://www.abiove.com.br/cotacoes_br.html>. Acesso em: 17 jul 2011.
- ADIBI, S. A. Intestinal phase of protein assimilation in man. **American Journal of Clinical Nutrition**, v.29, n. 2, p. 202-215, 1976.
- USDA. **Oilseeds: World Markets and Trade**. Washington, 2011. 33 p.
- EMBRAPA. **Tecnologias de Produção de Soja - Região Central do Brasil 2003**. Londrina, 2002. 200 p.
- AGUIRRE, L., GARRO, M. S. e SAVOY DE GIORI, G. Enzymatic hydrolysis of soybean protein using lactic acid bacteria. **Food Chemistry**, v.111, n. 4, p. 976-982, 2008.
- AMBRÓSIO, V. L. S., **Avaliação do complexo ferro-peptídeo como fonte alternativa de fornecimento de ferro para gestantes**. 1999. 97 f. Dissertação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1999.
- ANTONIONE, R. et al. Whey Protein Ingestion Enhances Postprandial Anabolism during Short-Term Bed Rest in Young Men. **The Journal of Nutrition**, v.138, n. 11, p. 2212-2216, 2008.
- ASCHNER, M. et al. Manganese: Recent advances in understanding its transport and neurotoxicity. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.221, n. 2, p. 131-147, 2007.
- ASHMEAD, H. D. The absorption and metabolism of iron amino acid chelate. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.51, n. 1, p. 13-21, 2001.
- BAO, X. L. et al. Calcium-binding ability of soy protein hydrolysates. **Chinese Chemical Letters**, v.18, n. 9, p. 1115-1118, 2007.
- BIASUTTI, E. A. R. et al. Ação da pancreatina na obtenção de hidrolisados protéicos de soro de leite com elevado teor de oligopeptídeos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.44, n. p. 51-60, 2008.
- CARREIRA, R. L. et al. Efeito de parâmetros hidrolíticos na obtenção de hidrolisados proteicos de farinha de trigo com baixo teor de fenilalanina. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.30, n. p. 152-157, 2010.
- CASTRO, F. et al. Determination of soybean proteins in commercial heat-processed meat products prepared with chicken, beef or complex mixtures of meats from different species. **Food Chemistry**, v.100, n. 2, p. 468-476, 2007.
- CAVALETT, O. e ORTEGA, E. Emergy, nutrients balance, and economic assessment of soybean production and industrialization in Brazil. **Journal of Cleaner Production**, v.17, n. 8, p. 762-771, 2009.

- CAVE, N. J. e GUILFORD, W. G. A method for in vitro evaluation of protein hydrolysates for potential inclusion in veterinary diets. **Research in Veterinary Science**, v.77, n. 3, p. 231-238, 2004.
- CHAUD, M. V. et al. Iron Derivatives from Casein Hydrolysates as a Potential Source in the Treatment of Iron Deficiency. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n. 4, p. 871-877, 2002.
- CHIANG, W. D., SHIH, C. J. e CHU, Y. H. Functional properties of soy protein hydrolysate produced from a continuous membrane reactor system. **Food Chemistry**, v.65, n. 2, p. 189-194, 1999.
- CLEMENTE, A. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v.11, n. 7, p. 254-262, 2000.
- CREMONESI, P. et al. Iron derivatives of modified milk protein. **Arzneimittel-Forschung/Drug Research**, v.34, n. 9, p. 948-952, 1984.
- DA CONCEIÇÃO, E. C. et al. Iron supplementation prevents the development of iron deficiency in rats with omeprazole-induced hypochlorhydria. **Nutrition Research**, v.21, n. 8, p. 1201-1208, 2001.
- DAMRONGSAKKUL, S. et al. Enzymatic hydrolysis of rawhide using papain and neutrase. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v.14, n. 2, p. 202-206, 2008.
- DE FREITAS, O. et al. Characterization of protein hydrolyzates prepared for enteral nutrition. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.41, n. 9, p. 1432-1438, 1993.
- DENIC, S. e AGARWAL, M. M. Nutritional iron deficiency: an evolutionary perspective. **Nutrition**, v.23, n. 7-8, p. 603-614, 2007.
- DISILVESTRO, R. A. Iron. In: **Handbook of Minerals as Nutritional Supplements**. CRCnetBASE. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1201/9780203489673.ch4>>. Acesso em: 11 jul. 2011.
- EXPASY. Alcalase. Disponível em: <<http://www.expasy.org/enzyme/3.4.21.62>>. Acesso em: 23 jun. 2011.
- EXPASY. Papain. Disponível em: <<http://www.expasy.org/enzyme/3.4.22.2>>. Acesso em: 23 jun. 2011.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **World Declaration on Nutrition** Roma, 1992. 50 p.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **The State of Food Isecurity in the World**. Roma, 2010. 62 p.
- FITZGERALD, R. J. e O'CUINN, G. Enzymatic debittering of food protein hydrolysates. **Biotechnology Advances**, v.24, n. 2, p. 234-237, 2006.
- FRANZONE, J. S. et al. Synthesis of a new antianaemic iron lysozyme glutarate complex and pharmacological studies in animals. **Arzneimittel-Forschung/Drug Research**, v.40, n. 9, p. 987-993, 1990.
- FUKUSHIMA, D. Soy Proteins. In: YADA, R. Y. **Protein in Food Processing**. Cambridge: CRC Press, 2004. cap. 6, p. 123 - 145.
- United Nations Children's Fund. **Situação da Infância Brasileira: O Direito à Sobrevivência e ao Desenvolvimento**. Brasília, 2005. 233 p.
- GANZ, T. Hpcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. **Blood**, v.102, n. 3, p. 783-788, 2003.
- GARCIA-ARANDA, J. A., WAPNIR, R. A. e LIFSHITZ, F. In Vivo Intestinal Absorption of Manganese in the Rat. **The Journal of Nutrition**, v.113, n. 12, p. 2601-2607, 1983.
- GARCIN, M. et al. Athletes' dietary intake was closer to French RDA's than those of young sedentary counterparts. **Nutrition Research**, v.29, n. 10, p. 736-742, 2009.

- GIBBS, B. F. et al. Production and characterization of bioactive peptides from soy hydrolysate and soy-fermented food. **Food Research International**, v.37, n. 2, p. 123-131, 2004.
- GREGER, J. L. Dietary Standards for Manganese: Overlap between Nutritional and Toxicological Studies. **The Journal of Nutrition**, v.128, n. 2, p. 368S-371S, 1998.
- GRIGGS, M. A. The Alkaline Hydrolysis of Casein. **Journal of Industrial & Engineering Chemistry**, v.13, n. 11, p. 1027-1028, 1921.
- GUADIX, A. et al. Procesos tecnológicos y métodos de control en la hidrólisis de proteínas. **Ars Pharmaceutica**, v.41, n. 1, p. 79-89, 2000.
- HOSTETLER, C. E., KINCAID, R. L. e MIRANDO, M. A. The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock. **The Veterinary Journal**, v.166, n. 2, p. 125-139, 2003.
- HOU, H. et al. Optimization of enzymatic hydrolysis of Alaska pollock frame for preparing protein hydrolysates with low-bitterness. **LWT - Food Science and Technology**, v.44, n. 2, p. 421-428, 2011.
- KAMNERDPETCH, C. et al. An improvement of potato pulp protein hydrolyzation process by the combination of protease enzyme systems. **Enzyme and Microbial Technology**, v.40, n. 4, p. 508-514, 2007.
- KIM, S. B. et al. Separation of iron-binding protein from whey through enzymatic hydrolysis. **International Dairy Journal**, v.17, n. 6, p. 625-631, 2007.
- KONG, X., ZHOU, H. e QIAN, H. Enzymatic hydrolysis of wheat gluten by proteases and properties of the resulting hydrolysates. **Food Chemistry**, v.102, n. 3, p. 759-763, 2007.
- KOZLOWSKI, H. et al. Copper, iron, and zinc ions homeostasis and their role in neurodegenerative disorders (metal uptake, transport, distribution and regulation). **Coordination Chemistry Reviews**, v.253, n. 21-22, p. 2665-2685, 2009.
- LATHAM, M. C. et al. Micronutrient dietary supplements - A new fourth approach. **Archivos Latinoamericanos de Nutricion**, v.51, n. 1 SUPPL., p. 37-41, 2001.
- LAYRISSE, M. et al. Effect of Histidine, Cysteine, Glutathione or Beef on Iron Absorption in Humans. **The Journal of Nutrition**, v.114, n. 1, p. 217-223, 1984.
- LINDER, M. C. et al. Copper transport. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.67, n. 5, p. 965S-971S, 1998.
- LOBO, A. S. e TRAMONTE, V. L. C. Efeitos da suplementação e da fortificação de alimentos sobre a biodisponibilidade de minerais. **Revista de Nutrição**, v.17, n. p. 107-113, 2004.
- MACHADO, A. A. et al. Iron deposition in rats liver and spleen were lower when the mineral was supplied as a derivative of casein hydrolysate in place of iron sulfate. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v.16, n. 2, p. 111-116, 2005.
- MANORE, M. M. NUTRITIONAL NEEDS OF THE FEMALE ATHLETE. **Clinics in Sports Medicine**, v.18, n. 3, p. 549-563, 1999.
- MARET, W. e SANDSTEAD, H. H. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**, v.20, n. 1, p. 3-18, 2006.
- MARTINEZ, A. P. C. et al. Alterações químicas em grãos de soja com a germinação. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.31, n. p. 23-30, 2011.
- MATTHEWS, D. M. Intestinal absorption of amino acids and peptides. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.31, n. 02, p. 171-177, 1972.
- MERIALDI, M. et al. Randomized controlled trial of prenatal zinc supplementation and the development of fetal heart rate. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, v.190, n. 4, p. 1106-1112, 2004.

- MEROPS. Flavourzyme. Disponível em: <<http://merops.sanger.ac.uk/cgi-bin/pepsum?mid=S10.016>>. Acesso em: 23 jun. 2011.
- MICHIELS, J. F. et al. Characterization of beneficial and detrimental effects of a soy peptone, as an additive for CHO cell cultivation. **Process Biochemistry**, v.46, n. 3, p. 671-681, 2011.
- MORATO, A. F. et al. Optimization of Casein Hydrolysis for Obtaining High Contents of Small Peptides: Use of Subtilisin and Trypsin. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.13, n. 5, p. 843-857, 2000.
- MOREIRA-ARAÚJO, R. S. R., ARAÚJO, M. A. M. e ARÊAS, J. A. G. Fortified food made by the extrusion of a mixture of chickpea, corn and bovine lung controls iron-deficiency anaemia in preschool children. **Food Chemistry**, v.107, n. 1, p. 158-164, 2008.
- FAO. **World Declaration on Nutrition** Roma, 1992. 50 p.
- NETTO, F. M. e GALEAZZI, M. A. M. Production and Characterization of Enzymatic Hydrolysate from Soy Protein Isolate. **Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie**, v.31, n. 7-8, p. 624-631, 1998.
- OLIVARES, M. e UAUY, R. Copper as an essential nutrient. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.63, n. 5, p. 791S-796S, 1996.
- OMONI, A. O. e ALUKO, R. E. Soybean Foods and Their Benefits: Potential Mechanisms of Action. **Nutrition Reviews**, v.63, n. 8, p. 272-283, 2005.
- ORDÓÑEZ, C., BENÍTEZ, C. e GONZÁLEZ, J. L. Amino acid production from a sunflower wholemeal protein concentrate. **Bioresource Technology**, v.99, n. 11, p. 4749-4754, 2008.
- OTERO, U. B. et al. Mortalidade por desnutrição em idosos, região Sudeste do Brasil, 1980-1997. **Revista de Saúde Pública**, v.36, n. p. 141-148, 2002.
- POTTER, R. M. et al. Characteristics of wild blueberry-soy beverages. **LWT - Food Science and Technology**, v.40, n. 5, p. 807-814, 2007.
- PRASAD, A. S. et al. Antioxidant effect of zinc in humans. **Free Radical Biology and Medicine**, v.37, n. 8, p. 1182-1190, 2004.
- QUINTANAR, L. Manganese neurotoxicity: A bioinorganic chemist's perspective. **Inorganica Chimica Acta**, v.361, n. 4, p. 875-884, 2008.
- RAO, M. B. et al. Molecular and Biotechnological Aspects of Microbial Proteases. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v.62, n. 3, p. 597-635, 1998.
- ROUSSET, S., DROIT-VOLET, S. e BOIRIE, Y. Change in Protein Intake in Elderly French People Living at Home After a Nutritional Information Program Targeting Protein Consumption. **Journal of the American Dietetic Association**, v.106, n. 2, p. 253-261, 2006.
- SALES, M. G. et al. Casein, hydrolyzed casein, and amino acids that simulate casein produce the same extent of mucosal adaptation to massive bowel resection in adult rats. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.62, n. 1, p. 87-92, 1995.
- SALGUEIRO, M. J. et al. Zinc as an essential micronutrient: A review. **Nutrition Research**, v.20, n. 5, p. 737-755, 2000.
- SANTOS, S. D. A. D. et al. Otimização dos parâmetros de produção de hidrolisados protéicos enzimáticos utilizando pescado de baixo valor comercial. **Química Nova**, v.32, n. p. 72-77, 2009.
- Ministério da Saúde. **Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde da Criança e da Mulher**. Brasília, 2009. 302 p.
- SAUNDERS, J., SMITH, T. e STROUD, M. Malnutrition and undernutrition. **Medicine**, v.39, n. 1, p. 45-50, 2011.
- SCHMIDT, C. G. e SALAS-MELLADO, M. Influência da ação das enzimas alcalase e flavourzyme no grau de hidrólise das proteínas de carne de frango. **Química Nova**, v.32, n. p. 1144-1150, 2009.
- SECCHI, G. Role of protein in cosmetics. **Clinics in Dermatology**, v.26, n. 4, p. 321-325, 2008.

- SILK, D. B. Progress report. Peptide absorption in man. **Gut**, v.15, n. 6, p. 494-501, 1974.
- SILK, D. B. A., GRIMBLE, G. K. e REES, R. G. Protein digestion and amino acid and peptide absorption. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.44, n. 01, p. 63-72, 1985.
- SINHA, R. et al. Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. **Food Chemistry**, v.101, n. 4, p. 1484-1491, 2007.
- STEPHENSON, L. S. Possible New Developments in Community Control of Iron-Deficiency Anemia. **Nutrition Reviews**, v.53, n. 2, p. 23-30, 1995.
- TAKEDA, A. e TAMANO, H. Insight into zinc signaling from dietary zinc deficiency. **Brain Research Reviews**, v.62, n. 1, p. 33-44, 2009.
- THALACKER-MERCER, A. E. et al. The skeletal muscle transcript profile reflects accommodative responses to inadequate protein intake in younger and older males. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.21, n. 11, p. 1076-1082, 2010.
- THEIL, E. C. Iron, Ferritin, and Nutrition. **Annual Review of Nutrition**, v.24, n. 1, p. 327-343, 2004.
- TSUGITA, A. e SCHEFFLER, J.-J. A Rapid Method for Acid Hydrolysis of Protein with a Mixture of Trifluoroacetic Acid and Hydrochloric Acid. **European Journal of Biochemistry**, v.124, n. 3, p. 585-588, 1982.
- TSUMURA, K. et al. Functional properties of soy protein hydrolysates obtained by selective proteolysis. **LWT - Food Science and Technology**, v.38, n. 3, p. 255-261, 2005.
- United Nations Children's Fund. **Tracking Progress on Child and Maternal Nutrition**. New York, 2009. 124 p.
- VIEIRA, C. R., CABRAL, L. C. e PAULA, A. C. O. D. Composição centesimal e conteúdo de aminoácidos, ácidos graxos e minerais de seis cultivares de soja destinadas à alimentação humana. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.34, n. p. 1277-1283, 1999.
- WALKER-SMITH, J. A. Therapy of Crohn's disease in childhood. **Baillière's Clinical Gastroenterology**, v.11, n. 3, p. 593-610, 1997.
- WAPNIR, R. A. e STIEL, L. Zinc Intestinal Absorption in Rats: Specificity of Amino Acids as Ligands. **The Journal of Nutrition**, v.116, n. 11, p. 2171-2179, 1986.
- WARNER, R. C. The alkaline hydrolysis of egg albumin. **the journal of biological chemistry**, v.142, n. p. 741-756, 1941.
- WEBB, K. E., JR., MATTHEWS, J. C. e DIRIENZO, D. B. Peptide absorption: a review of current concepts and future perspectives. **Journal of Animal Science**, v.70, n. 10, p. 3248-3257, 1992.
- WOLFE, R. R. Optimal Nutrition, Exercise, and Hormonal Therapy Promote Muscle Anabolism in the Elderly. **Journal of the American College of Surgeons**, v.202, n. 1, p. 176-180, 2006.
- YUST, M. D. M. et al. Improvement of functional properties of chickpea proteins by hydrolysis with immobilised Alcalase. **Food Chemistry**, v.122, n. 4, p. 1212-1217, 2010.
- ZIEGLER, F. et al. Pharmacokinetic assessment of an oligopeptide-based enteral formula in abdominal surgery patients. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.67, n. 1, p. 124-128, 1998.