

LIGA DE ENSINO DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO UNIVERSITÁRIO DO RIO GRANDE DO NORTE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

INGRID LANNAY RODRIGUES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE SUPLEMENTOS DE PROTEINAS ISOLADAS DE VEGETAIS
(SOJA, ERVILHA E ARROZ), NO GANHO DE PESO E NO CONSUMO
ALIMENTAR EM RATOS *wistar***

NATAL/RN

2018

INGRID LANNAY RODRIGUES DA SILVA

**AVALIAÇÃO DE SUPLEMENTOS DE PROTEINAS ISOLADAS DE VEGETAIS
(SOJA, ERVILHA E ARROZ), NO GANHO DE PESO E NO CONSUMO
ALIMENTAR EM RATOS *wistar***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Centro Universitário do
Rio Grande do Norte como requisito
básico para conclusão do Curso de
Graduação em Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Coelho
Serquiz

NATAL/RN

2018

**AValiação de Suplementos de Proteínas Isoladas de Vegetais
(Soja, Ervilha e Arroz), no Ganho de Peso e no Consumo
Alimentar em Ratos *wistar***

**EVALUATION OF PROTEIN SUPPLEMENTS OF VEGETABLES (SOY, PEARL
AND RICE), IN WEIGHT GAIN AND FOOD CONSUMPTION IN *Wistar* RATS**

Ingrid Lannay Rodrigues da Silva¹

Alexandre Coelho Serquiz²

RESUMO

A maior parte dos alimentos de origem vegetal possuem fatores antinutricionais, que quando presentes nos alimentos podem provocar efeitos fisiológicos adversos. O presente trabalho teve como objetivo verificar a presença de inibidores de protease assim como o ganho de peso e consumo alimentar de suplementos da base de proteínas isoladas de vegetais em ratos *wistar*. Os animais foram divididos em seis grupos, os grupos um e dois tratam-se de grupos controles (controle positivo e negativo), os demais receberam amostras de 4 suplementos (2 a base de soja, 1 de arroz e 1 de ervilha). Observou-se que os animais que receberam a suplementação obtiveram diminuição no ganho de peso e redução do consumo alimentar. Podendo-se sugerir que essa redução se deu pela saciedade provocada pelo aumento de CCK através de mecanismo dependente de inibidores proteolíticos presentes nesses suplementos. Fazendo acreditar que a utilização destes suplementos em decorrência da presença de inibidores enzimáticos, inviabilizaria sua funcionalidade para fins de hipertrofia.

PALAVRAS-CHAVE: Inibidores de serino proteinase. Tripsina. Quimotripsina. Suplementos nutricionais.

ABSTRACT

Most foods of plant origin have antinutritional factors, which when present in food can cause adverse physiological effects. The present work aimed to verify the presence of protease inhibitors as well as weight gain and dietary intakes of plant - based plant - based supplements in *wistar* rats. The animals were divided into six groups; groups one and two were control groups (positive and negative control); the others received samples of four supplements (2 soybean, 1 rice and 1 pea). It was observed that the

¹Graduanda do Curso de Nutrição, Centro Universitário do Rio Grande do Norte. E-mail: ingrid.lannay@hotmail.com

²Docente do Curso de Nutrição, Centro Universitário do Rio Grande do Norte. E-mail: alezandreserquiz@gmail.com

animals that received the supplementation obtained a reduction in the weight gain and reduction of the alimentary consumption. It may be suggested that this reduction was due to satiety caused by the increase of CCK through a mechanism dependent on proteolytic inhibitors present in these supplements. Realizing that the use of these supplements due to the presence of enzymatic inhibitors, would impair its functionality for purposes of hypertrophy.

KEY WORDS: Serine proteinase inhibitors. Trypsin. Chymotrypsin. Nutritional supplements.

1 INTRODUÇÃO

É comum serem reforçados padrões estéticos corporais estereotipados, e na busca por um corpo “esteticamente perfeito”, muitas pessoas testam dietas e regimes dietéticos de qualquer espécie, na esperança de atingir um novo nível de bem-estar ou desempenho físico (BRASIL, 2014).

As proteínas são componentes importantes da dieta humana e exercem um papel essencial como elementos estruturais e funcionais de sistemas vivos. São moléculas essenciais aos animais, devendo, portanto, estar presentes na alimentação em quantidades adequadas (ASSIS et al., 2018).

No entanto, existe uma crença popular antiga entre os atletas de que proteína adicional aumenta a força, melhora o desempenho e consequentemente aumenta a massa magra, isso fez com que o uso de suplementos crescesse amplamente nas últimas décadas (MAHAN; ESCOTT, 2005).

Atualmente, com a crescente comercialização de novas fontes alimentares e é notável o aumento de proteínas à base de vegetais, gerados a partir do beneficiamento de produtos in natura, como soja, ervilha e arroz (MOUTE et al., 2006; SACK et al., 2015; ASSIS, 2018).

Porém, é de comum conhecimento que a maioria desses suplementos proteicos vegetais possuam fatores antinutricionais e baixo níveis de aminoácidos essenciais (FERRI, 2006; PIRES et al., 2006). Os fatores antinutricionais podem interferir na absorção ou utilização de nutrientes e, se ingeridos em altas concentrações, podem acarretar efeitos danosos à saúde (BENEVIDES et al., 2011),

como causar reduções substanciais na digestibilidade de proteínas, além de poder causar diminuição no ganho de peso e crescimento (ARAÚJO, 2012; GILANI, COCKELL 2012; SERQUIZ, 2016).

Alguns estudos mostram que os inibidores em concentrações adequadas podem propiciar saciedade, o provável mecanismo que explica essa ação seja o maior tempo da presença de proteínas no intestino, ocorrido pela inibição das enzimas digestivas, assim aumentando o estímulo de colecistoquinina (CCK) que age no núcleo arqueado estimulando efeitos sacietogênicos (RIBEIRO, 2013; SERQUIZ, 2016).

Vários estudos com a purificação dessas substâncias, inibidores de protease, têm se destacado, positivamente, no controle de vários processos biológicos, pelo seu amplo espectro de ações heterólogas, agindo na regulação da hiperatividade de certas enzimas ou mesmo as inativando e favorecendo diversos processos com efeitos benéficos para saúde. São reconhecidos como moléculas bioativas, com funções anticâncer, antiinflamatória, antiobesidade, entre outras (FANG et al., 2010; RIBEIRO, 2013; SERQUIZ, 2012).

Com isso, o presente trabalho teve como objetivo verificar a presença de inibidores de protease assim como o ganho de peso e consumo alimentar de suplementos da base de proteínas isoladas de vegetais em ratos *wistar*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo de caráter experimental em corte transversal utilizou como fonte amostras de 4 suplementos de proteína isolada de vegetais nacionais e importados adquiridos no mercado local da cidade do Natal – RN, sendo estes 2 suplementos à base de proteína isolada de soja, e um de arroz e um de ervilha, totalizando 4 amostras.

2.1 OBTENÇÃO DO EXTRATO BRUTO

As amostras de suplementos foram extraídas separadamente em tampão Tris-HCl 0,05 M na proporção 1:10 (p/v). Na sequência, cada amostra foi mantida por cerca de 12 h a 8°C e centrifugada a 12.000 x g por 30 min, a 4°C obtendo-se as

proteínas precipitadas. O precipitado foi descartado e o sobrenadante obtido como extrato bruto.

2.2 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DE ENZIMAS DIGESTIVAS

2.2.1 Determinação da atividade anti-trípica do extrato e frações proteicas

As atividades anti-trípicas dos suplementos estudados foram determinadas utilizando a seguinte metodologia: alíquota de 20 µL da solução de tripsina bovina (0,3 mg/ml HCl 2,5 mM) foi pré-incubada com 560 µL de tampão Tris-HCl 0,05 M, pH 7,5, 120 µL de HCl 2,5 mM e 100 µL de suplemento por 15 minutos a 37°C. Após esse período a reação foi iniciada adicionando-se 500 µL de solução de substrato específico (BAPNA 1,25 mM). A reação foi processada por mais 10 minutos, nas mesmas condições de incubação, e em seguida, interrompida adicionando-se 120 µL de solução de ácido acético 30%. Todos os ensaios foram feitos em triplicatas e provas em branco foram realizadas. A absorbância foi medida a 405 nm. Os resultados foram expressos em porcentagem de inibição.

2.2.2 Determinação da atividade anti quimiotríptica do extrato e frações proteicas

A atividade anti-quimiotríptica foi determinada incubando 100 µL do isolado proteico dos três produtos alimentícios analisados, a enzima quimotripsina a 0,02 mg mL⁻¹ e a azocaseína a 1% como substrato. A hidrólise do substrato foi mensurada por meio da leitura das absorbâncias em comprimento de onda a 440 nm medidas por espectrofotômetro. Provas em branco foram realizadas e os ensaios foram feitos em triplicata.

2.3 ENSAIO *in vivo* COM OS EXTRATOS DOS SUPLEMENTOS DO CONCENTRADO PROTEICO DE VEGETAIS (SOJA, ARROZ E ERVILHA)

Após a aprovação do comitê de ética em uso de animais (CEUA), os animais foram avaliados por um médico veterinário quanto à saúde. A pesquisa atendeu às leis vigentes nacionais, e os procedimentos envolvendo os animais e seus cuidados estiveram de acordo com as diretrizes institucionais, em conformidade com a lei nacional e internacional e Diretrizes para uso de Animais na Pesquisa Biomédica.

Os animais foram mantidos no biotério da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal-RN, Brasil, com temperatura controlada (20-24 °C), com ciclo claro-escuro de 12 horas, os mesmos foram separados em caixa de propileno, forradas com maravalha, esta por sua vez, era trocada diariamente. A ração e a água foram fornecidas *ad libitum* durante todo o experimento.

2.4 ANIMAIS

Após 6 dias de adaptação, os ratos *wistar* foram distribuídos casualmente em 6 grupos de ratos *wistar* machos (n=6), para avaliação do peso e consumo. A dieta utilizada pelo grupo controle negativo foi comercial Labina purina. O grupo controle positivo recebeu suplementação com inibidores de soja purificado. Os grupos de 3 a 6 foram suplementados com proteína isolada a base de vegetais, sendo utilizada para os grupos três e quatro os suplementos à base de soja (marcas distintas), o cinco suplemento a base de arroz e por fim o grupo seis que recebeu suplemento a base de ervilha. Todas as dietas foram oferecidas pela via oral, sendo administrada por gavagem na dosagem de 25 mg/kg adaptado de Serquiz, 2012.

2.5 CONSUMO ALIMENTAR

Depois de estabelecido o padrão de consumo alimentar habitual de cada grupo de animais (média em g de consumo de dieta) durante os 6 dias de adaptação, os animais foram submetidos aos testes com as dietas e avaliados quanto ao consumo alimentar (g) por meio da balança calibrada. Dessa forma, foi obtida, semanalmente a diferença entre a dieta fornecida (antes do consumo) e a dieta consumida: Consumo Alimentar por semana (g) = Dieta Fornecida – Dieta consumida e o resultado foi expresso feita a média do consumo alimentar, por

semana, por grupo (g), durante 14 semanas, considerando o padrão de consumo alimentar habitual individual dos animais.

O consumo das dietas e de água e o ganho de peso dos animais foram monitorados diariamente.

2.6 EVOLUÇÃO DO PESO CORPORAL

Os ratos foram pesados individualmente em balança calibrada uma vez por semana por um período de 14 semanas, em cada grupo. Dessa forma, foi feita a média do peso (g).

2.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tabulados e analisados por meio de estatística descritiva, usando medidas de tendência central e de dispersão (média e desvio padrão) utilizando o programa Microsoft Excel®, versão 2015.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os alimentos de origem vegetal são importante fonte de proteína e energia, porém possuem significativa toxicidade de compostos, conhecidos como substâncias antinutricionais, que quando consumidos, reduzem o valor nutritivo desses alimentos (SILVA; SILVA 2000).

Os vegetais podem interferir na digestibilidade, absorção ou utilização de nutrientes e, se ingeridos em altas concentrações, podem acarretar efeitos danosos à saúde (SANTOS, 2006), pois possuem ação inibitória das enzimas digestivas, como por exemplo, a tripsina e quimotripsina, ocasionando diminuição a disponibilidade biológica dos aminoácidos essenciais e minerais, além de poder causar irritações e lesões da mucosa gastrointestinal, interferindo assim, na seletividade e eficiência dos processos biológicos (SGARBIERI, 1987; SERQUIZ, 2017).

Os níveis de inibidores nos vegetais podem variar, dependendo do estágio de maturação, sua localização nos tecidos, do tempo de colheita e de armazenamento, como também, da variedade da planta, podendo coexistir diferentes classes de inibidores em um único tecido e órgão (RYAN, 1990; RICHARDSON, 1997; BRZIN; KIDRIC, 1995).

Na tabela 1, mostra-se a atividade inibitória de proteases presentes nos suplementos proteicos comercializados a base de vegetais utilizados na pesquisa, na análise realizada constatou que houve uma maior quantidade de inibição nos suplementos a base de soja, ficando em torno de 90% de atividade inibitória para tripsina e 60% para quimotripsina, superando os suplementos a base de arroz e ervilha, que mantiveram percentuais de inibição para tripsina em torno de 50% e de quimotripsina com 45% e 38%, respectivamente.

	Atividade Inibitória para Quimotripsina	Atividade Inibitória para Tripsina
Inibidor de Soja	90 %	100 %
SV1 (soja) 1	60%	90%
SV2 (soja) 1	58 %	86 %
SV3 (arroz)	45%	53%
SV4 (ervilha)	38%	48%

Tabela 1 – Atividade inibitória de tripsina de suplementos proteicos a base de vegetais, (SV1) Suplemento de concentrado proteico de soja, (SV2) Suplemento de concentrado proteico de soja, (SV3) Suplemento de concentrado proteico de arroz, (SV4) Suplemento de concentrado proteico de ervilha. *diferença estatística com $p < 0,05$.

Fonte: própria

Os dados obtidos nessa pesquisa corroboram com os apresentados por Assis et al. (2018), os mesmos avaliaram atividade inibitória para enzimas proteolíticas em 15 suplementos à base de vegetais vendidos no comércio internacional e nacional. Os autores observaram que todos os suplementos analisados apresentaram atividade inibitória para as enzimas tripsina, quimotripsina e pepsina. No entanto, os suplementos de soja apresentaram maior atividade inibitória, o que era esperado, tendo em vista que os grãos de leguminosas, verifica-se a ocorrência natural nos mesmos (CONCEIÇÃO, 2010; MONTEIRO et al., 2004).

Quanto maior a quantidade de inibidores presentes nas leguminosas menor será sua qualidade nutricional (PETROVIC et al., 2014). Esses alimentos/suplementos quando consumidos em excesso, ocasionam complexação das enzimas tripsina e quimotripsina secretadas pelo pâncreas, impedindo a ação proteolítica (MONTEIRO et al., 2004; MIURA et al. 2005; SERQUIZ et al., 2012). Os inibidores atuam também de maneira prejudicial em relação ao aproveitamento de proteínas (ZANG et al., 2006). As proteínas são reduzidas nos processos digestivos, interferindo assim na biodisponibilidade e absorção de aminoácidos (CONCEIÇÃO et al., 2010).

Essa inibição é capaz de ocasionar excessiva perda fecal de proteínas secretadas pelo pâncreas, gerando balanço nitrogenado negativo, fato que gera prejuízo para os indivíduos (RACKIS; GUMBAMNN, 1982; BENDER, 1987; XAVIER-FILHO; CAMPOS, 1989; VAZ PATTO et al., 2015).

Apesar desses dados na literatura, outros estudos mostram que quando consumidos em doses adequadas geram efeitos benéficos para a saúde, no controle de vários processos biológicos, pelo seu amplo espectro de ações heterólogas, agindo na regulação da hiperatividade de certas enzimas ou mesmo as inativando. São reconhecidos como moléculas bioativas, com funções anticâncer, antiinflamatória, antiobesidade, entre outras (FANG et al., 2010; RIBEIRO, 2013; SERQUIZ, 2012).

Além disso, o presente estudo também avaliou a ação dos suplementos proteicos vegetais no ganho de peso e ingestão de alimentos. A análise realizada constatou que os animais que receberam os suplementos vegetais obtiveram uma redução no ganho de peso quando comparados ao grupo controle negativo. O grupo que recebeu o inibidor de soja (controle positivo), foi o que obteve maior redução no ganho de peso ($30,67 \pm 3,005$), seguido dos grupos suplementados, SV1 ($36,67 \pm 4,041$), SV3 ($38,0 \pm 2,0$), SV2 ($39,33 \pm 1,528$) e SV4 ($40,33 \pm 1,528$). Os resultados encontram-se na figura 1A.

A ingestão alimentar foi menor nos grupos que ingeriram os suplementos. Na Figura 1B podemos observar que o grupo controle negativo foi o que teve a maior média de consumo, chegando a $34,67 \pm 2,082$, em contrapartida a ingestão do inibidor de soja (controle positivo) fez com que os animais obtivessem a menor

média ($17 \pm 2,0$), por fim, pode-se observar que os animais suplementados a base de proteína isolada de vegetais obtiveram médias aproximadas quanto ao consumo alimentar, SV1 ($24,33 \pm 1,528$), SV2 ($27 \pm 1,0$), SV3 ($26,33 \pm 1,528$) e SV4 ($28 \pm 2,082$).

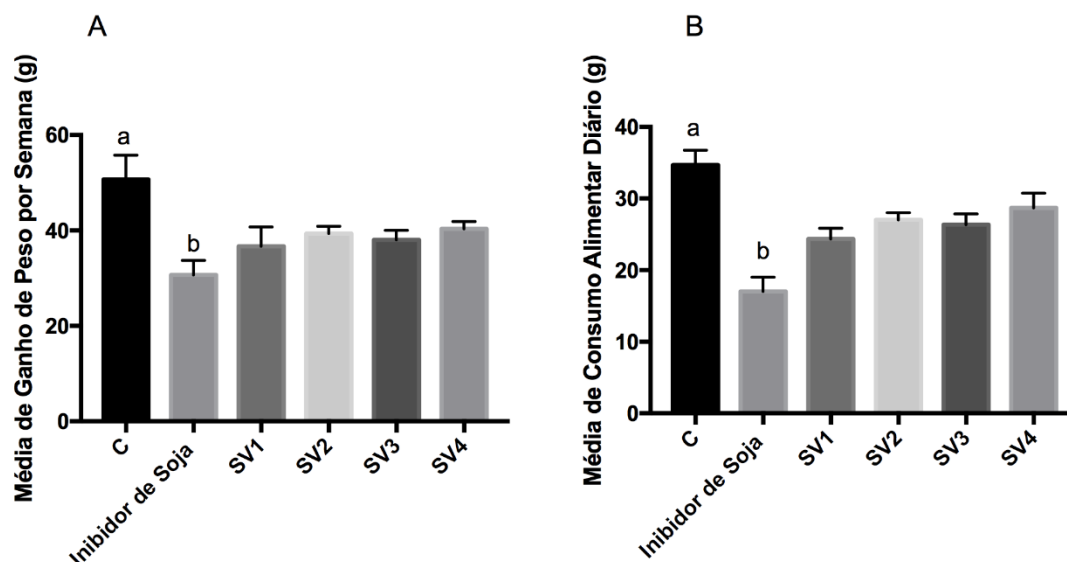


Figura 1 – Efeitos no ganho de peso e no consumo alimentar de ratos suplementados com suplementos proteicos a base de vegetais, (C) Controle negativo, Inibidor de soja (controle positivo), (SV1) Suplemento de concentrado proteico de soja, (SV2) Suplemento de concentrado proteico de soja, (SV3) Suplemento de concentrado proteico de arroz, (SV4) Suplemento de concentrado proteico de ervilha. *Letras diferentes significam diferença estatística com $p < 0,05$.

Fonte: própria

Um estudo recente avaliou as atividades inibitórias para tripsina, quimotripsina e pepsina em suplementos a base de proteínas vegetais isoladas. Os autores concluíram que a utilização desses suplementos sofre uma influência negativa em decorrência da presença de inibidores enzimáticos, diminuindo sua funcionalidade para fins de hipertrofia (ASSIS et al., 2018), no entanto são necessários mais estudos para que fique comprovado essa suposição dos autores.

Dados presentes na literatura, confirmam que o consumo de alimentos com alta atividade inibitória para enzimas proteolíticas, quando ingeridos em excesso, tem a capacidade de reduzir a digestão proteica de alimentos, proporcionando diminuição no ganho de peso e crescimento dos animais (MONTEIRO et al., 2004; MIURA et al. 2005; SERQUIZ et al., 2012; PEACE et al., 1991; BRUNE et al., 2010; RIBEIRO et al., 2015; CARVALHO et al., 2016).

Grant et al., (1988) e Hasdai et al., (1989) observaram que a ingestão de farinha de soja e feijão crus por animais acarretou depressão do ganho de peso corporal ou perda de peso de animais. Serquiz et al. (2016) mostraram que uma proteína isolada de amendoim com atividade anti-tripsina (AHTI) foi capaz de reduzir significativamente a glicose em jejum, a ingestão de alimentos e ganho de peso em um modelo experimental saudável.

A redução no ganho de peso pode ser explicada devido a ação dos inibidores presentes nesses alimentos, pois podem agir suprimindo a regulação da secreção pancreática aumentando o nível plasmático do hormônio colecistocinina (CCK) pela mucosa intestinal (LIDDLE et al., 1984; LIENER, 1994; NAKAJIMA et al., 2011). Esse hormônio é liberado em resposta à presença de gordura e proteína no trato gastrointestinal (KONTUREK et al., 2004). Apresentando grande relevância nos processos digestivos e de saciação, interferindo no consumo alimentar (NAKAJIMA et al., 2011; KOMARNYTSKY; COOK; RASKIN, 2011; CHEN et al., 2012; SERQUIZ, 2012).

Outros estudos corroboram a redução da ingestão de alimentos pelos inibidores de tripsina, atribuindo este efeito à indução de CCK (CHEN et al., 2012; LIMA et al., 2016; RIBEIRO et al., 2015; KOMARNYTSKY et al., 2007; SERQUIZ et al., 2016). Em 1982, Pi-Sunyer et al., descreveram pela primeira vez o efeito da CCK na saciedade humana utilizando infusão da CCK exógena. Ballinger et al., (1995) relataram uma redução de 20% na ingestão calórica após uma infusão fisiológica de CCK.

Em 1992, Weller et al., realizaram estudos com ratos neonatais administrados com inibidor de tripsina de soja (1 mg em 230 mL de solução salina), foi observado um aumento de 87% nas concentrações plasmáticas de CCK. Komarnytsky et al., (2011) também relatou que a administração oral de um concentrado inibidor de protease foi eficaz na redução da ingestão de alimentos e ganho de peso em ratos saudáveis, aumentando os níveis circulantes de CCK através de um mecanismo dependente de tripsina.

Acredita-se que o efeito CCK na saciedade pode ser explicado pelo seu efeito sinérgico com outros hormônios, aumentando a leptina e inibindo a secreção de

grelina, que também são responsáveis pelo controle do apetite (GOMES et al., 2004; PETERS et al. 2004).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos dados no presente estudo e tomando como base achados da literatura, pode-se sugerir que a redução no ganho de peso verificada nos animais em estudo provavelmente se deu pela saciedade, que consequentemente fez com que os mesmos reduzissem seu consumo alimentar e em consecutivo o calórico. Como citado anteriormente, sugere-se que essa redução de apetite seja devido ao aumento dos níveis de CCK, através de mecanismo dependente de tripsina e quimotripsina presentes nestes alimentos.

Com isso, supõe-se que esses suplementos de origem vegetal não sejam a melhor alternativa para o ganho de massa muscular como esperado, devido a uma diminuição da digestibilidade e até mesmo devido ao aumento da saciedade, fatores esses que não são interessantes para síntese proteica. Sendo assim, evidencia-se a necessidade de maiores estudos *in vivo* que possam avaliar e conhecer esses mecanismos fisiológicos e bioquímicos que possam comprovar o real motivo da perda de peso.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, J. M. A. **Química de Alimentos: Teoria e Prática**. Viçosa. UFV. 2011.

ASSIS, L.O.; et al. Determinação Da Atividade Inibitória De Enzimas Digestivas Em Suplementos Vendidos No Comercio Internacional Á Base De Proteína Vegetal. **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**. 2018.

BALLINGER A; MCLOUGHLIN L; MEDBAK S, CLARK M. Cholecystokinin is a satiety hormone in humans at physiological post-prandial plasma concentrations. **Clin Sci (Lond)**. 1995

BENEVIDES, C. M. J. et al. Fatores antinutricionais em alimentos: revisão. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 18, n. 2, p. 67-79, 2011.

CARVALHO, F.M.C ; BEZERRA, A.D.L.; SANTOS, E.A.; MACHADO, R.J.A.; DANTAS, M.B.V.C.; ARAUJO, A.H. Phenolic compounds and antitryptic activity from pulps and seeds of three varieties of grapes. **Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde**, Natal, v.4, p.39-50, 2014.

CHEN W, HIRA T, NAKAJIMA S, TOMOZAWA H, TSUBATA M, YAMAGUCHI K, et al. Suppressive Effect on Food Intake of a Potato Extract Involving Cholecystokinin Release in Rats. **Biosci Biotechnol Biochem**. 2012.

CONCEIÇÃO, L. L.; DUARTE, M. S. L.; PEREIRA, C. A. S.; SOUZA, E. C. G. Determinação da atividade in vitro de Inibidores de Tripsina em feijão (*Phaseolus Vulgaris* L.)-preto, albumina e globulina. *Alimentos e Nutrição*, A

FANG, E. F.; WONG, J. H; BAH, C. S. F.; LIN, P.; TSAO, S. W; Ng, T. B.; **Biochem. Biophys. Res. Commun**. Vol. 396. Num. 806. 2010.

FERRI, P. Extração de proteínas de folhas de mandioca (*Manihot esculenta* Crants) para obtenção de concentrado protéico. 2006. 112f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste), Cascavel, PR

GIRI, A. P.; KACHOLE, M.S. Amylase inhibitors of pigeon pea (*Cajanus cajan*) seeds. **Phytochemistry**. Vol. 47. p. 197-202. 2004.

GOMEZ, G.; Englander, E.W.; Greeley, G.H., Jr. **Nutrient inhibition of ghrelin secretion in the fasted rat**. **Regul. Pept**. 2004.

GRANT, G., WATT, W.B., STEWART, J.C., BARDOCZ, S., PUSZTAI, A. Intestinal and pancreatic responses to dietary soyabean (*Glycine max*) proteins. **Biochemical Society Transactions**, Colchester, v.16, n.4, p.610-611, 1988.

HASDAI, A., NITSAN, Z., VOLCANI, R. Growth, digestibility, and enzyme activities in the pancreas and intestines of guinea-pigs fed on raw and heated soya-bean flour. **British Journal of Nutrition**, London, v.62, n.3, p.529-537, 1989.

KOMARNYTSKY S, COOK A, RASKIN I. Potato protease inhibitors inhibit food intake and increase circulating cholecystokinin levels by a trypsin-dependent mechanism. **Int J Obes**. 2011.

LIDDLE RA, GOLDFINE ID, WILLIAMS JA. Bioassay of plasma cholecystokinin in rats: effects of food, trypsin inhibitor, and alcohol. **Gastroenterology**. 1984.

LIENER, I.E. Implications of antinutritional components in soybean foods. CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition, **Boca Raton**, v.34, n.1, p.31-67, 1994.

LIMA, V.C.O.; et al. Gastroprotective and antielastase effect of protein inhibitors from *Erythrina velutina* seeds in an experimental ulcer model. **Biochem. Cell Biol**. 2016.

MAHAN LK, ESCOTT-STUMP S. **Alimentos, Nutrição & Dietoterapia**. São Paulo: Roca, 2005.

MONTEIRO MRP, COSTA NMB, OLIVEIRA MGA, PIRES CV, MOREIRA MA. Qualidade protéica de linhagens de soja com ausência do inibidor de tripsina kunitz e das isoenzimas lipoxigenases. **Rev Nutr**. 2004

NAKAJIMA S, Hira T, Tsubata M, et al. Potato extract (Potein) suppresses food intake in rats through inhibition of luminal trypsin activity and direct stimulation of cholecystokinin secretion from enteroendocrine cells. **J Agric Food Chem** 2011.

PETERS, J.H.; KARPIEL, A.B.; RITTER, R.C.; SIMASKO, S.M. Cooperative activation of cultured vagal afferent neurons by leptin and cholecystokinin. **Endocrinology** 2004.

PETROVIC, G.; NIKOLIC, Z.; DORDEVIC, V. Endonuclease heteroduplex mismatch cleavage for detecting matation genetic variation of trypsin inhibitors in soybean. **Institute of Field and Vegetables Crops**. Vol. 49. Num. 2. p. 102-108. 2014.

PIRES CV, OLIVEIRA MGA, ROSA JC, COSTA NMB. Qualidade nutricional e escore químico de aminoácidos de diferentes fontes protéicas. *Ciência e Tecnologia de alimentos (Campinas)* 2006.

PI-SUNYER X, KISSILEFF HR, THORNTON J, SMITH GP. C-terminal octapeptide of cholecystokinin decreases food intake in obese men. **Physiol Behav**. 1982.

RIBEIRO J, SERQUIZ A, SILVA P, et al. Trypsin inhibitor from *Tamarindus indica* L. seeds reduces weight gain and food consumption and increases plasmatic cholecystokinin levels. **Clinics** 2015.

RICHARDSON, M. Thue proteinase inhibitors of plants and micro-organisms. **Phytochemistry**, Inglaterra, v. 16, 1997

RYAN, C. A. Protease inhibitors in plants: genes for Improving defeses against insects and pathogens. **Anuu. Re. Phytopathol**. V. 28, p. 425-449, 1990.

SACK, M.; e colaboradores. The increasing value of plant-made proteins. **Current Opinion In Biotechnology**. Vol. 32. p. 163-170. 2015.

SANTOS EA, OLIVEIRA AS, RABELO LMA, et al. Affinity chromatography as a key tool to purify protein protease inhibitors from plants. **Affinity Chromatography. InTech**. 2012. p. 212–44

SANTOS, E.A.; OLIVEIRA, A.S.; RABÊLO, L.M.A.; UCHÔA, A.F.; MORAIS, A.H.A. Affinity Chromatography as a Key Tool to Purify Protein Protease Inhibitors from Plants (2012). **Affinity Chromatography**

SERQUIZ AC. Efeito sacietogênico de um novo inibidor de tripsina da paçoca do amendoim com aumento plasmático de colecistocinina (CCK). Universidade Federal do Rio Grande do Norte; 2012.

SERQUIZ, A. C.; e colaboradores. Supplementation with a new trypsin inhibitor from peanut is associated with reduced fasting glucose, weight control, and increased plasma CCK secretion in an animal model. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**. Vol. 31. Num. 6. p.1261-1269. 2016.

SGARBIERI VC. **Alimentação e Nutrição**. São Paulo: Almed; 1987.

SILVA, M. R.; SILVA, M. A. A. P. Fatores antinutricionais: inibidores de proteases e lectinas. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 13, n. 2, jan/abr., 2000.

WELLER A, et al. Trypsin inhibitor and maternal reunion increase plasma cholecystokinin in neonatal rats. **Peptides**. 1992.

ZANG J, LI D, PIAO X, TANG S. Effects of soybean agglutinin on body composition and organ weights in rats. **Arch Anim Nutr**. 2006.